

Utilidad clínica del test de glucagón en el estudio de la función insular pancreática

I.Llorente, M.J. Goñi, L.Forga*, M.Monreal, F.Lizcano y E.Moncada.

Departamento de Endocrinología.

Clínica Universitaria.

Universidad de Navarra.

**Servicio de Endocrinología. Hospital de Navarra.*

RESUMEN Con objeto de valorar la utilidad del test de Glucagón (TG) en la evaluación de la función insular pancreática (FI) fueron estudiados 118 sujetos divididos en tres grupos: Diabéticos tipo I (I), Diabéticos tipo II (II) y controles sanos (CS). Se observó, en los tres grupos, una diferencia ($p < 0.001$) y una correlación ($r = 0.91$ en I, $r = 0.80$ en II y $r = 0.89$ en CS) significativas del PC basal (PCb) con el obtenido tras la inyección de glucagón (PC6). A su vez, se halló una relación significativa del PCb y PC6 con el índice de masa corporal en los tres grupos, con los niveles de colesterol en los grupos de diabéticos y con las necesidades de insulina en el grupo I.

Estudiado el incremento de PC (IPC=PC6-PCb), no se observó,

en ningún grupo, correlación significativa con el PCb ni con ninguno de los otros factores evaluados, siendo a la vez significativamente diferente ($p < 0.001$) en los tres grupos estudiados.

Por inducir una liberación significativa de PC y por sus características técnicas debe considerarse al TG como la prueba de elección en la valoración de la FI, siendo el IPC el parámetro más adecuado para su correcta interpretación.

SUMMARY In an attempt to assess the utility of glucagon test as an index of beta cell function, we have studied the C-Peptide response to intravenous injection of 1mg of glucagon in 77 patients with type I diabetes, 27 type II diabetics and 14 normal subjects. A significant difference between

basal and glucagon-stimulated C-Peptide levels as well as a good relationship between both values were observed in all groups (r values 0.91, 0.80 and 0.89 respectively). Both basal and stimulated C-Peptide concentrations showed significant relationship with the body mass index and total cholesterol levels, whereas both parameters were negatively related to insulin requirements in type I diabetic group. Absolute C-Peptide increment was different in all groups, despite it was not related to basal C-Peptide levels. These findings confirm the usefulness of glucagon test as an investigative tool to assess the secretory capacity of β -cell, suggesting that estimation of C-Peptide increment represents the best parameter to evaluate β -cell reserve.

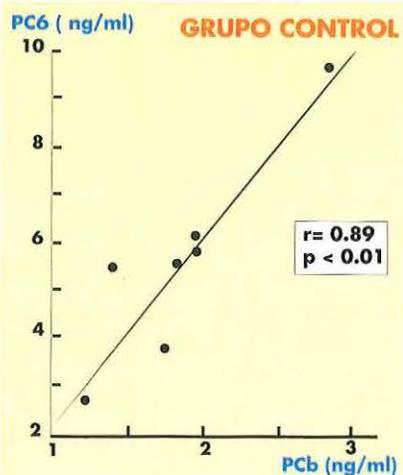
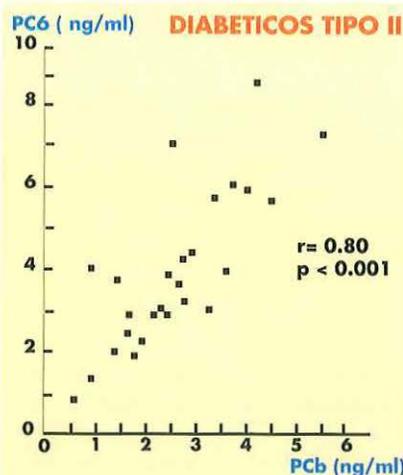
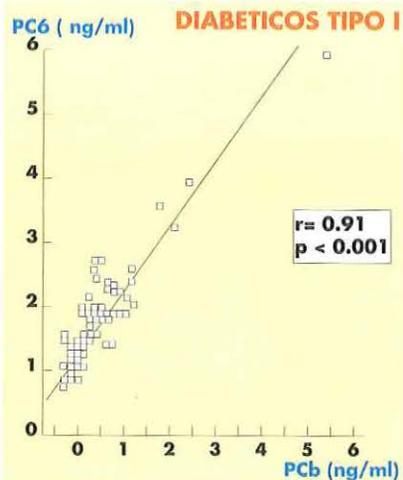


Figura 1. Correlaciones entre el Péptido C basal (PCb) y el obtenido tras glucagón (PC6) en los tres grupos.

INTRODUCCION La determinación de péptido C (PC), polipéptido de 31 aminoácidos sintetizado en las células β de los islotes pancreáticos a partir de una molécula precursora común con la insulina (1), ha sido clásicamente utilizada en la evaluación de la integridad funcional de las células β (2). Al ser secretado a la circulación portal en cantidad equimolar con la insulina (3) y experimentar, a diferencia de ésta, un mínimo aclaramiento hepático (4), su medición en sangre periférica refleja de una manera objetiva el grado de función insular. No obstante, las alteraciones en la capacidad secretora de las células β observadas en distintas situaciones patológicas como el hiper o hipotiroidismo (5), la pancreatitis (6), la cirrosis hepática (7) ó los distintos grados de insuficiencia renal (8), han de ser tenidas en cuenta en el momento de su evaluación.

En los pacientes diabéticos, la valoración del PC ha sido utilizada fundamentalmente para establecer límites de insulinodependencia (9,10) y realizar un seguimiento objetivo de éstos, valorando de esta manera la respuesta obtenida al tratamiento instaurado (11). La evaluación del PC se realiza fundamentalmente tras estimulación. Entre las diferentes pruebas de estímulo existentes destaca el denominado Test de Glucagón (TG) por su corta duración, la mínima y poco duradera descompensación que produce y la excelente correlación que presenta con los resultados obtenidos tras la administración de comida estandar (12), prueba más fisiológica que ha sido abandonada en la práctica clínica por su larga duración. Por otra parte, la sobrecarga oral de glucosa tiene, hoy en día, una finalidad fundamentalmente diagnóstica en el despistaje de la diabetes y de la intolerancia hidrocarbonada.

El objetivo del presente trabajo consiste en valorar la utilidad clínica del TG y en determinar cuál es el parámetro que sea de mayor objetividad

en la evaluación de la integridad funcional insular para, de esta manera, establecer límites de insulinodependencia en los pacientes diabéticos.

Pacientes y métodos

Pacientes

Ciento dieciocho individuos (77 diabéticos tipo I, 27 diabéticos tipo II y 14 sujetos sanos que constituyeron el grupo control) fueron estudiados tras obtener consentimiento informado.

Los diabéticos tipo I tenían una edad de 16.9 ± 1.1 años, siendo en todos los casos la duración de la diabetes inferior a los dos años (7.36 ± 0.73 meses). Ninguno de ellos estaba sometido a tratamiento farmacológico exceptuando la administración diaria de insulina ni presentaban complicaciones microangiopáticas.

Los diabéticos tipo II, cuyas edades oscilaban entre los 38 y 71 años, tenían un índice de masa corporal (IMC) de 21.48 ± 1.02 . Todos eran no insulinodependientes. Ocho de ellos seguían tratamiento hipoglucemiante oral a dosis submáximas, el cual fue suspendido el día anterior a la realización de la prueba, mientras el resto era controlado con dieta. Nueve presentaban signos de retinopatía diabética simple mientras que en todos los casos la función renal se encontraba dentro de la normalidad. El tiempo de evolución de la diabetes era 44.5 ± 9.04 meses.

El grupo de controles sanos estuvo constituido por sujetos de edades entre 21 y 29 años. El IMC era de 20.32 ± 1.23 .

Métodos

Tras diez horas de ayuno nocturno, en todos los sujetos, se administró 1 mgr de glucagón (Glucagón Novo®) por vía endovenosa, realizándose determinaciones de glucemia y PC plasmáticos

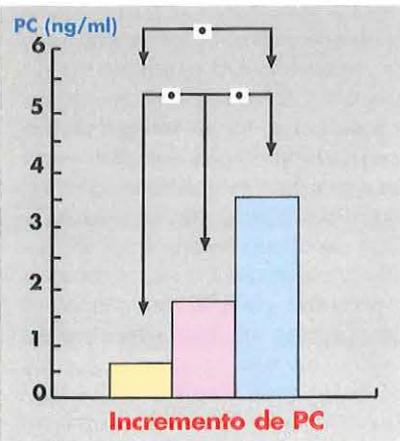
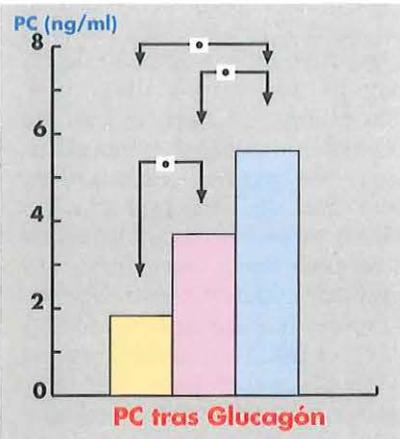
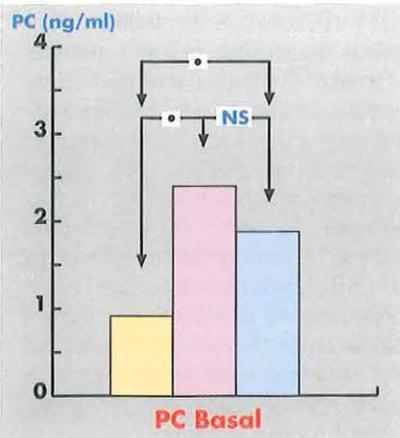


Figura 2. Diferencias del Péptido C basal (PCb), el medido tras glucagón (PC6) y el incremento absoluto de Péptido C (IPC=PCb- PC6) en los tres grupos. Barra oscura: Diabéticos tipo I; Barra blanca: Diabéticos tipo II; Barra rayada: controles sanos. *p<0.001. NS:diferencias no significativas.

basalmente y a los 6 minutos de la inyección del glucagón. En las extracciones basales se obtuvieron muestras para urea, creatinina, colesterol total, triglicéridos y hemoglobina glicosilada total (HbA1).

En ningún caso se objetivó la existencia de efectos secundarios relevantes.

La glucemia se determinó mediante el método hexagluosa hexoquinasa (Boehringer Mannheim) y el PC mediante RIA (kit CIS Biointernacional). El límite de detección de PC fue de 0.25 ± 0.03 ng/ml, siendo los coeficientes de variación intra e interensayo del 5.5 y 7.8% respectivamente.

Los resultados se expresan en $x \pm ES$. El análisis estadístico intra-grupo se realizó mediante correlaciones lineales (Coeficiente de Pearson) y el test de la t de Student para datos pareados. El Análisis de la Varianza (Anova) se aplicó para establecer las diferencias entre los grupos estudiados. Asimismo se evaluó la relación del PC con distintos factores mediante correlaciones lineales. El nivel de confianza se estableció en $p=0.05$.

Resultados
Diabéticos tipo I

El PC tras glucagón (PC6) fue significativamente superior ($p<0.001$) al PC basal (PCb). A su vez, ambos valores mostraron una correlación altamente significativa entre sí ($r=0.91; p<0.001$) como se muestra en la figura 1. El incremento de PC tras glucagón (IPC=PC6-PCb) no correlacionó con el PCb.

Tanto el PCb, el PC6 como el IPC fueron significativamente menores ($p<0.001$) en comparación con los otros dos grupos estudiados (Figura 2).

Se obtuvieron correlaciones significativas del PCb y PC6 con los niveles de colesterol ($r=0.56$ y $r=0.46$ respectivamente; $p<0.05$), con el índice de masa corporal (IMC) ($r=0.32$ y $r=0.33$; $p<0.01$) y con las necesidades de insulina ($r=-0.37$ y $r=-0.38; p<0.001$). No se observaron correlaciones significativas de estos parámetros ni con el nivel de compensación previo a la prueba (medido mediante HbA1) ni con el tiempo de evolución de la diabetes. El IPC no mostró correlación significativa con ninguno de los parámetros medidos.

TABLA 2 VALORES OBTENIDOS TRAS TEST DE GLUCAGON EN LOS TRES GRUPOS ESTUDIADOS			
GRUPO	PC BASAL (ng/ml)	PC TRAS GLUCAGON (ng/ml)	IPC (ng/ml)
DIABETICOS TIPO 1	0.77 ± 0.08	$1,37 \pm 0.1$	0.6 ± 0.04
DIABETICOS TIPO 2	2.35 ± 0.23	3.77 ± 0.34	1.42 ± 0.24
CONTROLES SANOS	1.89 ± 0.13	5.66 ± 0.56	3.77 ± 0.45

IPC (Incremento de Péptido C = basal tras Glucagón). Valores expresados en $\pm ES$

Diabéticos tipo II

Al igual que en el grupo anterior, el PC6 fue significativamente superior ($p < 0.001$) al PCb mostrando también una correlación altamente significativa con éste ($r = 0.80$; $p < 0.001$) (Figura 1). Tampoco el IPC presentó esta correlación en este grupo. El PCb, aun cuando fue superior al observado en el grupo control, no mostró diferencias significativas con él. Sin embargo, tanto el PC6 como el IPC fueron significativamente menores ($p < 0.001$) al compararlos con este grupo. En relación al grupo de diabéticos tipo I, todos los parámetros medidos fueron significativamente ($p < 0.001$) superiores (Figura 2).

Únicamente se evidenciaron correlaciones significativas del PCb y el PC6 con los niveles de colesterol ($r = 0.41$ y $r = 0.44$ respectivamente; $p < 0.05$) y el IMC ($r = 0.49$ y $r = 0.42$ respectivamente; $p < 0.01$).

Grupo control

Con los datos obtenidos se establecieron los parámetros de normalidad. El PC6 fue significativamente superior ($p < 0.001$) y presentaba correlación ($r = 0.89$; $p < 0.01$) con el PCb (Figura 1). Al contrario que en los otros grupos, el IPC mostró correlación con el PCb ($r = 0.36$; $p < 0.01$).

El PCb, que era superior al de los diabéticos tipo I ($p < 0.001$), no presentó diferencias significativas con el medido en el grupo de diabéticos tipo II, mientras que el PC6 y el IPC fueron significativamente superiores ($p < 0.001$) en relación a este grupo y al de diabéticos tipo I (Figura 2).

Se obtuvieron correlaciones positivas del PCb y el PC6 con el IMC ($r = 0.47$ y $r = 0.43$ respectivamente; $p < 0.001$).

Los resultados se expresan en la tabla I.

Discusión

El estudio de la función insular pancreática surge, en la práctica clínica, ante la necesidad de valorar de una manera objetiva el grado de funcionalidad de las células β (13). La medición del PC aporta un parámetro de especial importancia en el momento de la elección del tratamiento crónico más conveniente en los pacientes diabéticos, normalmente los tipo II, ya que en los tipos I la insulino terapia supone la única alternativa terapéutica. Esta importancia viene determinada por la multiplicidad de factores que influyen en el grado de compensación metabólica (14,15).

Mientras que en los diabéticos tipo I la reserva insular es prácticamente inapreciable tras dos años de evolución (16), el declinar de la función insular en los tipo II no sigue un patrón homogéneo, aunque ha sido apuntada la importancia que factores como el tiempo de evolución (17), el sobrepeso o el grado de compensación metabólica previa (18) podrían tener en esta evolución.

El solapamiento existente en los niveles de PC basal entre los diabéticos tipo II y los sujetos normales, como demostramos en concordancia con otros autores (19,20), hacen que su evaluación para el estudio de la funcionalidad insular no sea lo más conveniente. Se hace, por lo tanto, necesaria la realización de pruebas de estímulo con objeto de estudiar la capacidad secretora de las células β .

La utilidad de toda prueba de estímulo viene determinada por su capacidad para inducir una liberación significativa de PC (9). Ha sido demostrado que la secreción de PC ante cualquier tipo de estímulo sigue la llamada «Ley del valor inicial» (21), tanto en diabéticos tipo I de corto tiempo de evolución como en los tipo II no insulino dependientes, consistente

en la presencia de correlación significativa entre el valor basal y el obtenido tras estímulo. Este aspecto supone la posibilidad de deducir el valor esperado tras estímulo a partir del basal mediante la aplicación de la fórmula de la recta de regresión. Dada esta circunstancia, como ya adelantamos previamente (19), era necesario el estudio de otro/s parámetro/s tras estímulo que no presentasen esta correlación y fuesen de rápida y sencilla interpretación para el clínico.

Como se ha demostrado en este trabajo, el TG induce un estímulo significativo en la liberación de PC en todos los grupos analizados. Sin embargo, el PC6, a pesar de presentar diferencias significativas entre los grupos estudiados, podría ser deducido a partir del PCb en todos los casos. Asimismo se ha objetivado una correlación significativa del PC6 con algunos parámetros como el colesterol total y el IMC (en los dos grupos de diabéticos y el grupo control) y con las necesidades de insulina (en los diabéticos tipo I). A pesar de no poder inferir, a partir de los datos obtenidos, que estos factores sean determinantes en la secreción de PC, es conveniente su valoración en la interpretación de su respuesta al estímulo con glucagón. Por el contrario, al analizar el incremento de PC obtenido (IPC), se observó que no es deducible a partir del PC basal medido ni presenta correlación con él ni con ninguno de los factores estudiados (incluso tampoco con las necesidades de insulina en los diabéticos tipo I), lo que le convierte en un parámetro en cierta medida independiente. El hecho de que existan diferencias muy significativas en el IPC entre los grupos comparados le convertiría, en nuestra opinión, en el parámetro a analizar en la valoración de la respuesta del PC al glucagón.

Las características técnicas del test de glucagón (12), la demostrada utilidad clínica que presenta y la sencillez en la evaluación del IPC obtenido, lo convertirían en la prueba de elección en la valoración de la función insular. Además, el IPC muestra una clara distinción entre las situaciones de insulino-dependencia e independencia y de éstas con el patrón de normalidad, estableciéndose,

según nuestros datos, en un IPC menor o igual a 1 ng/ml el límite de insulino-dependencia. Se aporta de esta manera un dato analítico de gran importancia en el momento de la elección del tratamiento crónico más conveniente.

En la práctica clínica, no obstante, no se debe establecer un criterio terapéutico en base a un único dato analítico. La valoración, bajo estricto control médico, de la compensa-

ción metabólica mediante la realización de perfiles glucémicos o la determinación de proteínas glicosiladas constituye asimismo un parámetro de bastante fiabilidad. Es necesaria, por lo tanto, la integración de todos estos factores a la hora de establecer la estrategia terapéutica más correcta en aquellos pacientes diabéticos en los que la insulino-terapia no es la única alternativa.

BIBLIOGRAFIA

1. Kemmler W, Peterson JD, Steiner DF. Studies on the conversion of proinsulin to insulin. *J Biol Chem.* 1971; 246:6786-6791.

2. Ashby JP, Frier BM. Circulating C-peptide: measurement and clinical application. *Ann Clin Biochem.* 1981;18:125-130.

3. Howirtz DL, Starr JI, Mako ME et al. Proinsulin, insulin and C-peptide concentrations in human portal and peripheral blood. *J Clin Invest.* 1975;55:1278-1283.

4. Kühl C, Faber OK, Hornnes P, Lindkaer-Jansen S. C-peptide metabolism and the liver. *Diabetes* 1978;27(Suppl.1):197-200.

5. Besser E, Parr JH. The effect of thyroid disease on proinsulin and C-peptide levels. *Clin Endocrinol* 1989;30:379-383.

6. Bonora E, Rizzi C, Leci C et al. Insulin and C-peptide levels in patients with severe chronic pancreatitis and fasting normoglycemia. *Dog Dis-Sci* 1988;33:732-736.

7. Marchesini G, Melli A, Chicchia GA et al. Pancreatic β -cell function in cirrhotic patients with and without over diabetes. C-peptide response to glucagon and to meal. *Metabolism* 1985;34:695-701.

8. Regeur L, Faber OK and Binder C. Plasma C-peptide in uraemic patients. *Scand J Clin Lab Invest* 1978;38:771-775.

9. Gjessing HJ, Matzen LE, Faber Ok, Froland A. Fasting plasma C-peptide, glucagon stimulated plasma C-peptide, and urinary C-peptide in relation to clinical type of diabetes. *Diabetología.* 1989;32(5):305-311.

10. Hother-Nielsen O, Faber OK, Schwartz-Sorensen N, Beck-Nielsen H. Classification of newly diagnosed diabetic patients in insulin-requiring or non-insulin-requiring based on clinical and biochemical variables. *Diabetes Care.* 1988;11(7):519-526.

11. Moncada E, Subirá ML, Oleaga A et al. Insulin requirements and residual Beta-cell function 12 months after concluding immunotherapy in type I diabetic patients treated with combined azathioprine and thymoestimulin administration for one year. *Journal of autoimmunity Autoimmun.* 1990;3:625-638.

12. Hoekstra JBL, Van Rijn HJM and Thijssen JVH. C-peptide. *Diabetes Care.* 1982;5:438-446.

13. Faber OK, Binder C. C-peptide response to glucagon. A test for residual β -cell function in diabetes mellitus. *Diabetes.* 1977;26:605-610.

14. Madsbad S, Krarup T, Mc Nair P et al. Practical clinical value of the C-peptide response to glucagon stimulation in the choice of treatment in diabetes mellitus. *Acta Med Scand* :1981; 210:153-156.

15. Laakso M, Ronnema T, Sarlund H et al. Factors associated with fasting and postglucagon plasma C-peptide in middle-aged insulin-treated diabetic patients. *Diabetes Care.* 1989;12(2):83-88.

16. Hendrikson C, Faber OK, Drejer J, Binder C. Prevalence of residual β -cell function in insulin-treated diabetics evaluated by the plasma C-peptide response to intravenous glucagon, *Diabetologia.* 1977;13:615-619.

17. Laakso M, Sarlund H, Korhonen T et al. Stopping insulin treatment in middle-aged patients with postglucagon plasma C-peptide. Effect on glycaemic control, serum lipids and lipoproteins. *Act Med. Scand.* 1988;233(1):61-68.

18. García-Webb P, Bonser A and Whating D. Importance of fasting plasma glucose concentration and obesity in the interpretation of fasting serum C-peptide levels. *Clin Chim Acta* 1982;118:323-326.

19. MJ Goñi, I Llorente, L Forga et al. Valoración de la función insular pancreática mediante prepruebas clásicas de estimulación. Estudio de la reserva insular y del patrón de secreción. *Endocrinología* 1991;38(8):237-243.

20. Mirel RD, Ginsberg-Fellner I, Harwitz DL and Rayfield EJ. C-peptide reserve in non-insulin dependent diabetics. *Diabetologia* 1980;19:183-188.

21. Bierman EL. Law of the initial value. *Lancet.* 1976;1:1076-1077.=10.