

## **TRATAMIENTO DE LA DIABETES METAALOXANICA POR LA INSULINA, FLORIDZINA O SUPRARRENALECTOMIA EN EL PERRO**

B. A. HOUSSAY y A. F. CARDEZA

(Instituto de Biología y Medicina Experimental, Costa Rica 4185, B. Aires)

La inyección endovenosa de aloxano puede modificar o no la glucemia. Cuando ésta queda invariada los islotes de Langerhans no se alteran o hay escasas lesiones de pocas células  $\beta$ . En cambio, cuando se produce una diabetes pasajera, se observan lesiones marcadas de las células  $\beta$ , las cuales persisten bastantes días después que la glucemia ha vuelto al nivel normal (Houssay, Brignone y Mazzocco, 1946).

Después de esa diabetes pasajera se puede observar que un tratamiento tiroideo prolongado produce una diabetes metatiroidea, mientras que no la provoca en animales normales o en aquellos que la inyección de aloxano no elevó la glucemia (Carrasco Formiguera, 1944 - 45; Houssay, Brignone, Cardeza y Sara, 1946).

Las lesiones insulares consisten en una desgranulación precoz de las células  $\beta$  y grados variables de alteración nuclear que va desde la deformación hasta la picnosis y desintegración nuclear. Estas lesiones producen la muerte paulatina de células  $\beta$ , y por lo tanto su disminución, mientras que las células  $\alpha$  se conservan o aumentan.

**PLAN EXPERIMENTAL.** — Se investigó si era posible atenuar la diabetes metaaloxánica o bien curarla mediante los tratamientos siguientes: a) por la insulina; b) por la floridzina; c) por la ablación bilateral de las glándulas adrenales; d) por la hipofisectomía.

TRATAMIENTO POR INSULINA. — *Métodos empleados.* -- En los experimentos con insulina se emplearon 23 perros que recibieron aloxano por vía endovenosa, en inyección rápida y tuvieron diabetes pasajera. La dosis de aloxano inyectada fué de 50 mg/kg 16 veces, 40 mg/kg 5 veces y de 30 mg/kg 2 veces. El tratamiento por insulina se comenzó estando los perros con glucemias superiores a 1,5‰; al día siguiente en 4 casos y al cabo de 2 días en 8 casos, 3 días en un caso, 4 días en 4 casos, 6 días en 2 casos, 7 días en 1 caso, 8 días en 1 caso y 36 días en 2 casos. El tratamiento se hizo con insulina-cinc-protamina que se inyectó por vía subcutánea, a la mañana, antes de dar la comida, a dosis variables entre 1 y 3 unidades por kilogramo y día. La comida consistió en carne bovina cruda (30 a 40 g/kg) y agua a voluntad. Diariamente se determinó la glucosa de la sangre obtenida por una pequeña incisión del borde de la oreja, valorándose por el método de Hagedorn - Jensen después de defecación según Somogyi.

*Evolución de los casos.* — Los resultados se pueden clasificar en cinco grupos diferentes.

a) En ocho perros la insulina redujo la diabetes aloxánica, pero se produjo la muerte en hipoglucemia insulínica, cuando recibían las dosis de: 1 unidad/kg/día en 1 caso; 1 ½ unidad/kg/día en 1; 2 unidades/kg/día en 3 casos; 2,5 unidades/kg/día en 1; 3 unidades/kg/día en 2 casos.

b) Seis perros más murieron durante el tratamiento con insulina; en 5 casos se hallaron manchás de esteatonecrosis, en 1 con abscesos pequeños; el sexto animal murió urémico.

c) Dos perros fueron tratados a los 36 días de diabetes, pero resultaron resistentes a la insulina y no bajó la glucemia. Uno recibió entre 1 y 3 unidades/kg/día durante 10 días y el otro entre 2 y 2,5 unidades/kg/día durante 10 días.

d) En otros cuatro perros la insulina produjo descenso de la hiperglucemia aunque con oscilaciones, pero al suspender el tratamiento reapareció la diabetes y los animales murieron. Los tratamientos duraron 25, 26, 34 y 45 días.

e) Sólo tres perros curaron de su diabetes con el tratamiento por insulina y quedaron normoglucémicos (gráfico 1). Fueron sacrificados 10, 18 y 25 días después de suspender la insulina, para examinar sus órganos, cuyo aspecto era macroscópicamente nor-

mal. El examen histológico de los tres casos fué practicado por los Dres. Cardeza y Di Pietro. En el perro 127, sacrificado a los 10 días de interrumpir la insulina, los islotes tenían tamaño normal, pero en su mayor parte estaban constituidos por células  $\alpha$ , existiendo escasas células  $\beta$  con citoplasma desgranulado y pequeñas vacuolas. En el perro 133, a los 18 días de interrumpir la insulina, los islotes conservaron su número y tamaño, predominaban las células  $\alpha$ , había escasas células  $\beta$  desgranuladas, grandes y con citoplasma a veces vacuolado, algunas con núcleos retraídos, deformados y torcidos. En el perro 138, a los 25 días de interrumpir la insulina, el tamaño de los islotes estaba disminuído, predominaban las células  $\alpha$ , existían escasas células  $\beta$  de aspecto normal y con granulaciones típicas y poco abundantes.

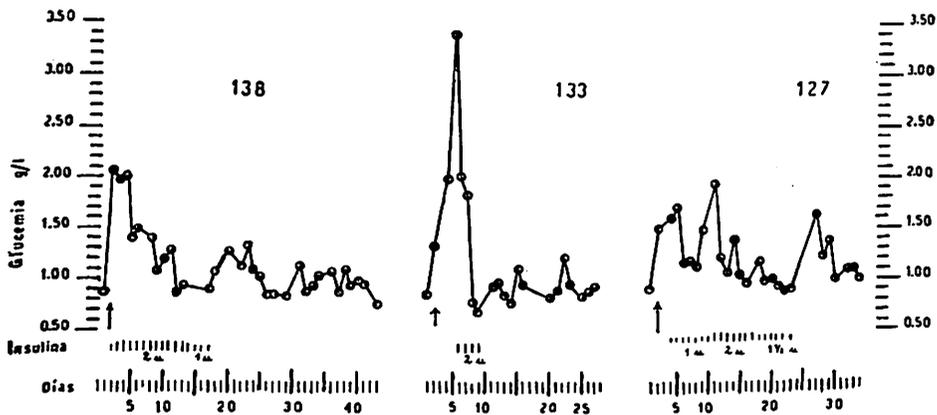


GRÁFICO 1

Tratamiento precoz de la diabetes aloxánica por insulina. La flecha indica la inyección de aloxano (50 mg/kg, vía venosa)

TRATAMIENTO CON FLORIDZINA. — Diez y seis perras recibieron 50 mg/kg de aloxano por vía endovenosa. Estando ya hiperglucémicos, al cabo de 1 a 4 días del aloxano fueron tratadas por floridzina (vía subcutánea, en aceite). El tratamiento duró 15 días: 5 con 0,5 g, 5 con 0,25 g y 5 con 0,1 g. En algunos pocos perros se empezó con 1 g, durante 3 días. En todos los casos la glucemia bajó al nivel normal en 2 a 5 días y se mantuvo así durante el tratamiento, a veces estuvo subnormal.

Hubo 10 muertes: 3 con esteatonecrosis (a los 3, 11, 11 días),

4 con congestiones en algunas áreas pulmonares (a los 3, 3, 6 y 12 días), 3 sin causa conocida (a los 4, 6 y 7 días). Había alguna lesión de los tubos renales en casi todos los perros muertos.

Vivieron 6 perros y fueron sacrificados para el estudio histológico a los 34, 45, 48, 50, 70 y 90 días de recibir el aloxano. Curaron 2 con un solo tratamiento, con floridzina; en uno osciló la glucemia y tenía 1,13 % al final. Recayeron 3 y se les trató otra vez durante 9 días, al morir dos estaban normoglucémicos y uno diabético. En total 5 estaban aparentemente curados desde: 9, 31, 30, 21 y 36 días (gráfico 2).

En todos los 6 casos de supervivencia larga se halló: a) islotes pequeños (en 5); b) predominio de células  $\alpha$  y disminución de células  $\beta$ , a veces solo 2 a 4 células  $\beta$  en cada corte de islote;

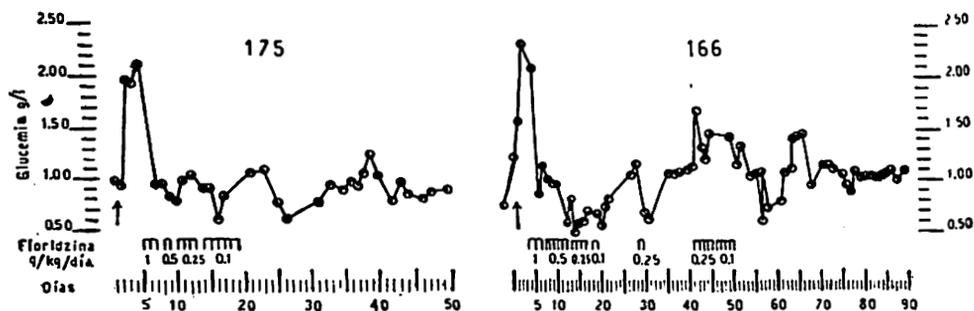


GRÁFICO 2

Tratamiento precoz de la diabetes metaaloxánica por floridzina. La flecha indica la inyección de aloxano (50 mg/kg, vía venosa)

c) las células  $\beta$  siempre tenían grados netos aunque variables de desgranulación y algunas eran vacuoladas; d) algunas células centroacinosas o de conductos se transformaron en células  $\alpha$  o neoformaron pequeños islotes de células  $\alpha$ .

Es decir que hubo curación aparente (normoglucemia) en 5 sobre 6 perros que vivieron largo tiempo, pero las células  $\beta$  eran escasas y la mayor parte estaban con grados variables de desgranulación. Hubo 10 muertos durante el tratamiento.

**SUPRARRENALECTOMÍA.** — A siete perros se les extirpó la suprarrenal derecha y al cabo de 26 a 54 días (media 37) se les administró aloxano (50 mg/kg, vía endovenosa). Estando hiper-

glucémicos (2,19 a 3,60 ‰, media 2,71 ‰), a los 2 - 7 días, (media 4) se extirpó la suprarrenal izquierda, bajo anestesia etérea. La glucemia bajó siempre paulatinamente, día por día: a las 24 horas estaba entre 1,05 y 3,02 ‰ (media 1,93 ‰). A las 48 horas estaba normal en 4 sobre 5, entre 0,78 y 2,01 ‰ (media 1,16 ‰); y al tercer día estaba entre 0,69 y 0,87 (gráfico 3).

Las supervivencias fueron de 2 días (un perro), 3 días (3 perros), 4 días (2 perros). Los animales recibían por día: 10 mg de acetato de desoxicorticosterona por vía subcutánea, 10 g de cloruro sódico por boca, 300 a 600 cm<sup>3</sup> subcutáneos de agua salada, por sonda 250 cm<sup>3</sup> de leche con 10 g de sacarosa; pan y carne a discreción, pero en general comieron poco y al final nada.

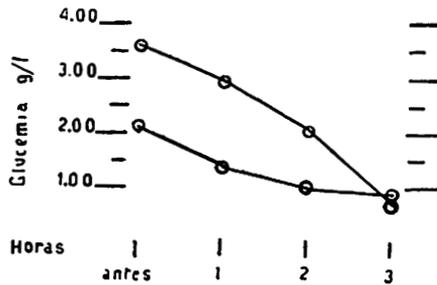


GRÁFICO 3

Glucemia de dos perros con diabetes metaaloxánica después de extirparles la segunda suprarrenal

A dos perros se les extirpó la suprarrenal derecha y 41 días después la izquierda, inyectándoles aloxano. Las glucemias quedaron bajas entre 0,69 a 0,96 en los tres primeros días; en uno subió a 1,99 el cuarto día y murió el quinto; el otro murió al cuarto día, sin hiperglucemia.

La extirpación de las suprarrenales produjo en todos los casos la caída paulatina de la hiperglucemia provocada por el aloxano hasta llegar a niveles normoglucémicos el día antes de la muerte. Las células  $\beta$  de los islotes estaban desgranuladas y con alteraciones nucleares (deformación, retracción, picnosis).

**HIPOFISECTOMÍA.** — Se extirpó la hipófisis a 5 perros con diabetes desde 5, 5, 5, 6 y 9 días después de inyectarles aloxano

(50 mg/kg). Murieron todos antes de las 24 horas de la hipofisectomía.

### RESUMEN Y CONCLUSIONES

De los 23 perros con diabetes aloxánica tratados con insulina hubo 14 muertos por causas varias (8 en hipoglucemia, 5 con esteatonecrosis y 1 por uremia). Dos perros tratados tardíamente resultaron resistentes a la insulina, quizás por alguna deficiencia nutritiva (¿colina o lipocaico?).

De los 7 supervivientes no curaron su diabetes 4 y la curaron sólo 3, con el tratamiento insulínico prolongado. Sin embargo, sólo en 1 de estos 3 había granulaciones de las células  $\beta$  casi normales.

De los 16 perros con diabetes aloxánica tratados con flordizina murieron 10 durante el tratamiento. De los 6 supervivientes, 1 quedó diabético, 2 curaron bien, 3 recayeron y volvieron a mejorar con el tratamiento. A pesar de ser normoglucémicos desde 21 a 36 días, las células  $\beta$  de los islotes no eran normales.

A 7 perros con diabetes aloxánica se les extirpó las suprarrenales, observándose una caída paulatina de la glucemia hasta morir con nivel normal o subnormal dentro de los cuatro días siguientes.

El tratamiento precoz con sustancias hipoglucemiantes cura pocas veces la diabetes aloxánica. Por ejemplo, con insulina: 3 curaciones sobre 4 supervivientes y 14 muertos por hipoglucemia o esteatonecrosis. Con flordizina, 2 curaciones sobre 6 supervivientes y 10 muertos.

La curación clínica (normoglucemia) no significa la curación histológica de los islotes. En los animales aparentemente curados de los 3 lotes había predominio de células  $\alpha$  y escasez de células  $\beta$ , que estaban desgranuladas y a veces vacuoladas. Esto al cabo de 10 - 18 días de suspender la insulina o 21 a 36 de suspender la flordizina. Sólo en 1 perro, a los 25 días de interrumpir la insulina, se hallaron granulaciones  $\beta$  típicas, aunque no tenían la abundancia normal.

La acción rápida e intensa del aloxano sobre las células  $\beta$  hace que el tratamiento por los agentes hipoglucemiantes (insulina y flordizina), aunque normalice la glucemia en algunos casos, no

cura las lesiones irreversibles de los islotes y mejora las células  $\beta$  muy lentamente y en forma a menudo deficiente, debido probablemente a la capacidad regenerativa muy limitada de esas células.

Agradecemos a la casa Squibb la donación de la insulina-cincoprotamina empleada.

#### BIBLIOGRAFIA

*Carrasco Formiguera R.*: J. Amer. Med. Assoc., 1945, 127, 482. — *Carrasco Formiguera R., Mendoza Ortiz E., López Pinto J.*: Boletín Biológico (Puebla), 1944, 3. — *Houssay B. A., Brignone R. F., Cardeza A. F. y Sara J.*: Rev. Soc. Argent. Biol., 1946, 22, 241. — *Houssay B. A., Brignone R. F. y Mazzocco P.*: Rev. Soc. Argent. Biol., 1946, 22, 195.

