

## Anticuerpos antinsulina en diabéticos con distintos grados de afectación vascular

Por:

Lic. LUIS SORELL GOMEZ\*, Dr. JOSE FERNANDEZ MONTEQUIN\*\*  
Dr. LAZARO LOPEZ MORANGES\*\* y Dr. ALFREDO ALDAMA FIGUEROA\*\*\*

Sorell Gómez, L. y otros. *Anticuerpos antinsulina en diabéticos con distintos grados de afectación vascular*. Rev Cub Med 21: 1, 1982.

Se determinó el nivel de anticuerpos antinsulina, en un grupo de 55 diabéticos insulino-tratados, que presentaban distintos grados de afectación vascular, tanto desde el punto de vista de microangiopatía, como de macroangiopatía diabética. Se detectaron títulos considerables de anticuerpos antinsulina en el 91% de los pacientes estudiados. Se encontró una correlación significativa entre el título de estos anticuerpos y el grado de intensidad de las lesiones de retinopatía diabética, así como con la dosis diaria de insulina. No se encontró correlación entre el título de anticuerpos y distintos grados de afectación de macroangiopatía diabética, con el tiempo de tratamiento, ni con el tiempo de evolución conocida de la enfermedad.

### INTRODUCCION

Desde que *Banting y colaboradores*<sup>1</sup> y *Wasserman y colaboradores*<sup>2</sup> hace ya más de 40 años, sugirieron la aparición de anticuerpos con actividad antinsulina en el suero de pacientes que se trataron con insulina heteróloga y luego de la detección de los mismos por primera vez por *Berson y Yellow* en el año 1956,<sup>3</sup> muchos son los estudios que se han realizado para tratar de esclarecer las causas de la aparición de estos anticuerpos, así como las posibles consecuencias clínicas que podrían tener.

Como causa de la antigenicidad de las preparaciones insulínicas se ha indicado las diferencias que existen entre la secuencia de aminoácidos de las insulinas derivadas de páncreas bovino o porcino, respecto a la estructura primaria de la insulina humana;<sup>4-3</sup> mientras que para otros investigadores<sup>6,7</sup> la insulina por sí misma no es inmunogénica, sino que la aparición de estos anticuerpos se debe a las impurezas que se arrastran en el proceso de obtención de la misma,

\* Jefe de la sección de inmunología, Instituto de Angiología.

Especialista de I grado de angiología, Instituto de Angiología.

\*\*\* Médico fisiólogo del departamento de hemodinámica, Instituto de Angiología.

En los últimos años han aparecido en el mercado variedades de insulina denominadas "monocomponente", "de pico único", "pobremente inmunogénica", "cromatográficamente purificada", etc., que varían entre sí en cuanto a los métodos de obtención y purificación, donde se trata de minimizar el arrastre de sustancias extrañas en el proceso de obtención de la insulina. En general, se acepta que las insulinas derivadas de páncreas bovino son más inmunogénicas que las derivadas de páncreas porcino.<sup>8</sup>

El significado clínico de los anticuerpos antinsulina se ha investigado y han sido asociados a distintas complicaciones observadas en los diabéticos insulino-tratados, tales como: insulino-resistencia<sup>9-10</sup> reacciones de tipo alérgico,<sup>11</sup> requerimientos diarios de insulina y estabilidad y control de la diabetes.<sup>12-7</sup>

La función de estos anticuerpos en el desarrollo de las complicaciones vasculares del diabético es aún especulativa y controversial y si bien se acepta que no debe ser un factor causal primario, toda vez que estas complicaciones anteceden al descubrimiento y utilización de la insulina y están presentes en diabéticos que nunca han sido tratados con ella, algunos investigadores han indicado, a partir de estudios experimentales y en humanos,<sup>13,13</sup> su función en la progresión o agravamiento de las lesiones microvasculares del diabético, tales como la retinopatía y la nefropatía, probablemente a través de la formación de complejos insulina-anticuerpos antinsulina que podrían adherirse a la pared vascular, fijar complemento y elicitar procesos inflamatorios y destructivos del endotelio vascular.<sup>14</sup> Otros investigadores, sin embargo, no han llegado a los mismos resultados.<sup>15</sup>

El objetivo de nuestro trabajo fue analizar la presencia de anticuerpos antinsulinas en un grupo de pacientes insulino-tratados, que presentaban distinto grado de afectación vascular, tanto alteraciones microangiopáticas (retinopatía diabética), como alteraciones macroangiopáticas de las extremidades inferiores, toda vez que no encontramos ningún estudio anterior en que se analizara la posible repercusión de estos anticuerpos en la macroangiopatía diabética.

#### MATERIAL Y METODO

Se estudiaron 55 pacientes diabéticos (cuadro I), 35 del sexo femenino y 20 del sexo masculino, con una edad promedio de 56 años, provenientes del servicio de angiopatía diabética del Instituto de Angiología, y de consultas que angiólogos de este servicio realizan en distintas áreas de salud de la Ciudad de La Habana.

Todos los pacientes utilizaban para el control de su diabetes insulina lenta (80 unidades/cc) (Connaught Laboratories, Limited, Ontario, Canadá) al momento del estudio y por al menos un año antes. La dosis promedio que se administraba fue de 38 unidades diarias.

El promedio de evolución conocida de la enfermedad fue de 15 años y el tiempo promedio de tratamiento con insulina fue de 10 años.

## CUADRO I

### CARACTERISTICAS GENERALES DE LOS PACIENTES DIABETICOS ESTUDIADOS

No. pacientes	Sexo F M	Dosis diarias	Tiempo de evolución	Tiempo de
		(unidades) Edad insulina x ± DS x ± DS	conocido de la enfermedad (años) x ± DS	tratamiento (años) x ± DS
55	35 20	56 ± 12 38 ± 16	15 ± 6,9	10 ± 8

Instituto de Angiología, 1980.

#### *Examen vascular*

Para comprobar afectaciones de macroangiopatía diabética de las extremidades inferiores, se realizó un examen clínico para la detección de ausencia de pulsos periféricos. Se realizaron en estudios hemodinámicos consistentes en pletismografía por compresión alterna, y de ser ésta normal, hiperemia reactiva. A los pacientes ingresados se les realizó además, índice de presiones y arteriografía.

Se les realizó análisis de fondo de ojo a 45 de los 55 pacientes estudiados por el servicio de oftalmología del hospital docente "Dr. Salvador Allende", para la detección de alteraciones por retinopatía diabética.

#### *Anticuerpos antinsulina*

Para este estudio se obtuvo muestras de plasma de cada paciente a partir de sangre venosa recogida en heparina. En todos los casos los pacientes se encontraban en ayunas y a 24 horas de haberseles administrado la última dosis de insulina.

Las muestras se conservaron a -20°C hasta su análisis.

El título de anticuerpos antinsulina se determinó por radioinmunoensayo, según la técnica descrita por O.O. Andersen,<sup>16</sup> en el Instituto de Endocrinología y Enfermedades Metabólicas.

#### *Análisis estadístico*

La comparación de los resultados de los títulos de anticuerpos antinsulina entre los grupos con retinopatía diabética o sin ésta y entre los grupos con distintos grados de afectación de macroangiopatía, se realizó por el test U de Mann-Witney.

La correlación entre distintas variables que se analizaron se realizó por el coeficiente de correlación de Spearman o Kendall, según el caso.

## RESULTADOS

En los estudios para la detección de alteraciones de macroangiopatía diabética, los pacientes se clasificaron en grado I, cuando presentaran sólo alteraciones de las arterias del pie (macroangiopatía de las arterias

## CUADRO II

### AFECCIONES DE MACROANGIOPATA DIABETICA DE LAS EXTREMIDADES INFERIORES EN EL GRUPO DE PACIENTES ESTUDIADOS

	No. casos	% del total
Grado I	20	37
Grado II	31	56
Grado III	4	7
Total	55	100

Instituto de Angiología, 1980.

## CUADRO III

### RESULTADOS DE LOS ESTUDIOS DE FONDO DE OJO EN LOS DIABETICOS ESTUDIADOS

Fondo de ojo	No. casos	% del total
Sin signos de ret. diabética	11	24
Ret. diabética grado I (de un ojo o bilateral)	19	42
Ret. diabética grado II (de un ojo o bilateral)	12	27
Ret. diabética grado III-IV	3	7
Total	45	100

Fuente: Servicio de oftalmología, hospital docente "Dr. Salvador Allende".

plantares, dorsales con pulsos presentes o ambas); grado II cuando presentaban alteraciones de las arterias de las piernas (oclusión de tibial anterior, posterior o ambos) y grupo III cuando presentaban alteraciones de las arterias del muslo (oclusiones del sector femoropoplíteo).

Los resultados que se obtuvieron según esta clasificación se observan en el cuadro II.

Los análisis del fondo de ojo para detectar alteraciones de retinopatía diabética arrojaron los resultados que se observan en el cuadro III.

### *Anticuerpos antinsulina*

De los 55 pacientes estudiados, en 50 de ellos (91%) se detectaron títulos considerables de anticuerpos antinsulina (por encima de 25 micro- unidades/ml),

#### CUADRO IV

NIVELES DE ANTICUERPOS ANTINSULINA EN EL GRUPO DE PACIENTES ESTUDIADOS

	No. casos	% del total
No. título (<25 U/ml)	5	9
Títulos bajos (25-100 nU/ml)	11	20
Títulos medios (101-500 U/ml)	24	44
Títulos altos (> 500 nU/ml)	15	27
Total	55	100

Instituto de Angiología, 1980,

Haciendo una clasificación en títulos bajos (entre 25-100 U/ml) títulos intermedios (entre 101-500 U/ml) y títulos altos (mayores de 500 microunidades/ml), los resultados fueron los que se muestran en el cuadro IV.

Cuando se comparan los títulos de anticuerpos antinsulina de los pacientes con signos de retinopatía diabética o sin éstos, se encontraron títulos más elevados para el grupo de pacientes que presentaban alteraciones de retinopatía diabética. Esta diferencia fue estadísticamente significativa ( $p < 0,01$ ) (gráfico 1).

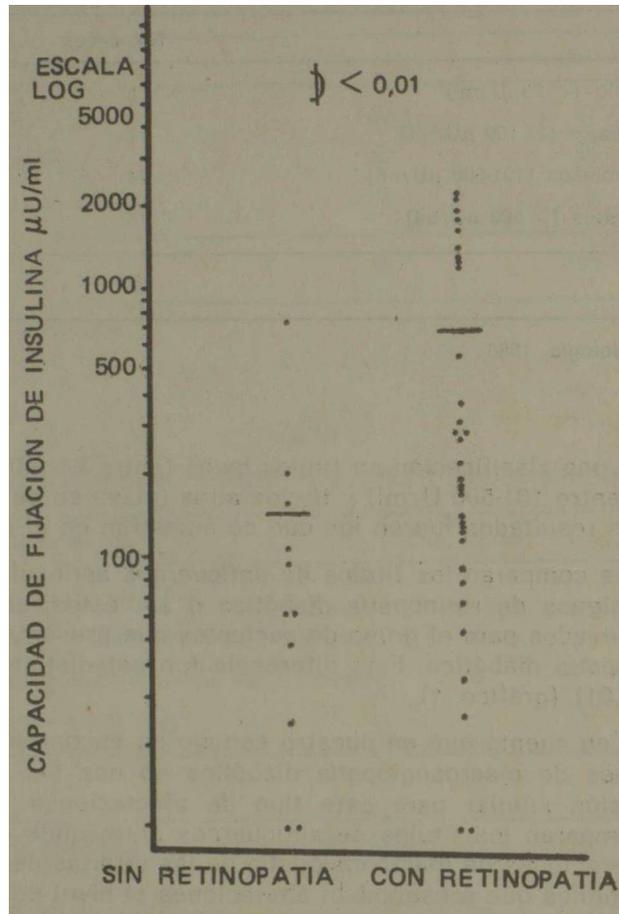
Tomando en cuenta que en nuestro estudio no encontramos pacientes sin alteraciones de macroangiopatía diabética no nos fue posible hacer una comparación similar para este tipo de afectaciones. Sin embargo, cuando se comparan los títulos de anticuerpos antinsulina del grupo que sólo tenía alteraciones de macroangiopatía de las arterias del pie (grado I), respecto a aquéllos que presentaban alteraciones al nivel de la pierna o el muslo (grados II y III), no se encontraron diferencias significativas entre ellos (gráfico 2).

Para analizar la relación del título de anticuerpos antinsulinas y distintas variables que se recogieron en el estudio, se hicieron los análisis de correlación respectivas y los resultados son los que se muestran en el cuadro V.

Como puede observarse en el cuadro V, corroborando los resultados anteriores, se encontró una correlación significativa entre el título de anticuerpos antinsulina y una mayor gravedad de las lesiones de retinopatía diabética ( $T = 0,24$ ,  $p < 0,01$ ), mientras que no se encontró una correlación significativa ( $r_s = 0,08$ , NS) entre el título de anticuerpos antinsulina y el grado de afectación de macroangiopatía de las extremidades.

Teniendo en cuenta que se encontró una correlación significativa ( $T = 0,22$ ,  $p < 0,02$ ) entre el tiempo de evolución conocida de la enfermedad y la gravedad de las lesiones de retinopatía diabética y ante la posibi-

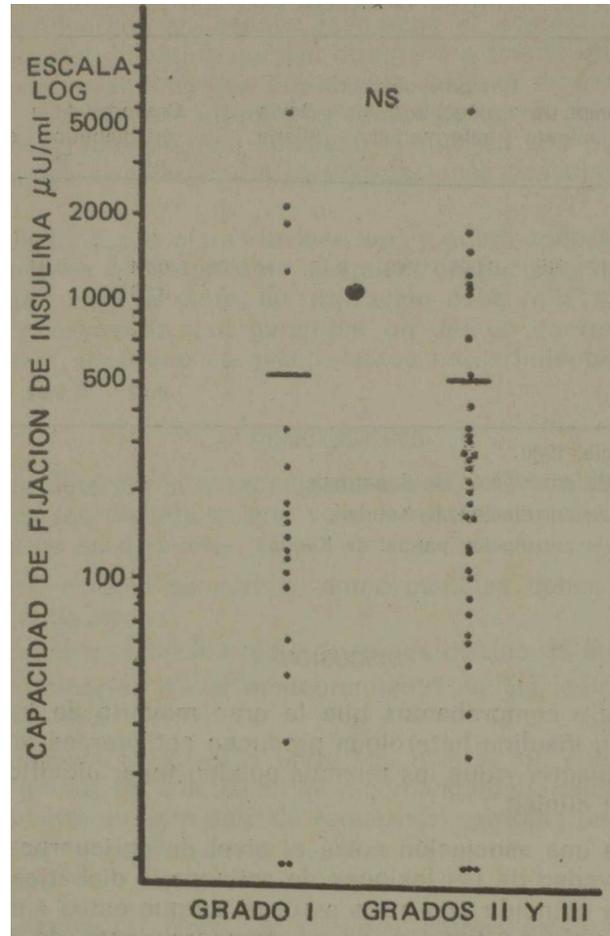
Gráfico 1



*Título de anticuerpos antinsulina en los pacientes con y sin signos de retinopatía diabética. Las barras horizontales señalan los valores promedios de uno y otro grupo.*

lidad de que la correlación encontrada entre el título de anticuerpos antinsulina y una mayor gravedad de las lesiones de retinopatía diabética estuviese influida por el distinto tiempo de evolución de la enfermedad de los pacientes en estudio, se halló el coeficiente de correlación parcial entre estas variables eliminando esta influencia. El resultado obtenido de  $T = 0,23$  es muy similar al encontrado anteriormente entre estas mismas variables ( $T = 0,24$ ), por lo que puede plantearse que en realidad existe

Gráfico 2



*Título de anticuerpos antinsulina en los pacientes con macroangiopatía diabética. Grado I y Grado II y III. Las barras horizontales señalan los valores promedio de uno y otro grupo.*

una correlación significativa entre mayores títulos de anticuerpos antinsulina y una mayor gravedad de las lesiones de retinopatía diabética y que dicha relación fue independiente del tiempo de evolución de la enfermedad.

En el estudio también se encontró una correlación significativa entre el título de anticuerpos antinsulina y la dosis diaria ( $r_s = 0,28$ ,  $p < 0,05$ ), mientras que no se encontró correlación significativa entre éste y el tiempo de tratamiento, ni con el tiempo de evolución de la enfermedad.

## CUADRO V

### CORRELACION ENTRE DISTINTAS VARIABLES CON LOS RESULTADOS OBTENIDOS

Variables	Tiempo evolución tratamiento	Tiempo de conocida enfermedad diaria	Dosis r. P T P r <sub>s</sub> P	Gravedad de la ret. diabética T P	Afect. de macronang. de las extremidades r. p
Título de anticuerpos antinsulina	0,01 NS 0,095	NS 0,28 < 0,05		0,24 < 0,01 0,23*	0.08 NS
Tiempo da evolución conocida de la enfermedad				0,22 < 0,02	

Instituto de Angiología, 1980. r<sub>s</sub> = Coeficiente de correlación de Spearman.

T = Coeficiente de correlación de Kendall.

\* = Coeficiente de correlación parcial de Kendall.

### DISCUSION

En nuestro estudio comprobamos que la gran mayoría de los diabéticos que se tratan con insulina heteróloga producen anticuerpos antinsulina en mayor o menor cuantía y que los mismos pueden tener significación desde el punto de vista clínico.

Encontramos una asociación entre el nivel de anticuerpos antinsulina y una mayor gravedad de las lesiones de retinopatía diabética, lo que nos lleva a plantear y coincidir con otros autores, en que estos elementos pueden desempeñar alguna función en el empeoramiento de las lesiones microvasculares del diabético insulinotratado.

También encontramos una asociación entre el nivel de estos anticuerpos y las dosis diarias de insulina. Esto podría explicarse por una interferencia de los mismos en la acción metabólica de la insulina.

Por el contrario, no encontramos correlación entre los índices de anticuerpos antinsulina y distintos grados de afectación de macroangiopatía diabética de las extremidades inferiores. Hay que señalar que todos los pacientes de nuestro estudio tuvieron al menos alteraciones de las arterias plantares, lo que no nos permitió analizar cómo se comportaban los títulos de estos anticuerpos en pacientes libres de complicaciones de macroangiopatía diabética. Esto nos impide por el momento llegar a conclusiones más certeras en este sentido.

No obstante, nuestra investigación no nos permite relacionar *a priori* los anticuerpos antinsulina con una mayor gravedad de las afectaciones

de macroangiopatía diabética. Conclusiones definitivas en este sentido requerirán de estudios posteriores.

Si los anticuerpos antinsulina favorecen el empeoramiento de la microvasculatura del diabético por vía directa o a través de la formación de complejos insulina-anticuerpos antinsulina, es una interrogante que debe responderse, aunque esta última posibilidad parece la más plausible, pues investigaciones recientes han señalado la función que pudieran tener los inmunocomplejos circulantes en las afectaciones vasculares de los diabéticos.<sup>17"19</sup>

Una cosa sí queda clara: la insulina, y sobre todo la que utilizamos cotidianamente en el tratamiento de nuestros pacientes, no es en modo alguno inocua y, por lo tanto, su utilización debe regularse a la cantidad estrictamente necesaria que garantice un debido control metabólico de estos pacientes, pero que no exceda estos requerimientos.

#### CONCLUSIONES

1. Es factible detectar la presencia de anticuerpos antinsulina, en la gran mayoría de los diabéticos que se administran insulina heteróloga para el control de su diabetes.
2. De nuestro estudio se derivan como posibles consecuencias clínicas de estos anticuerpos:
  - a) Su influencia sobre los requerimientos diarios de insulina.
  - b) Su participación en el empeoramiento de las lesiones microvasculares de estos pacientes.
3. No encontramos asociación entre los niveles de estos anticuerpos y distintos grados de afectación de macroangiopatía diabética. Conclusiones definitivas en este sentido requerirán estudios posteriores.

#### Agradecimiento

*A los compañeros del servicio de angiopatía diabética del Instituto de Angiología, que tan apreciablemente colaboraron en el estudio.*

*Al doctor René Robaina, del Instituto de Endocrinología y Enfermedades Metabólicas, por el análisis de radioinmunoensayo.*

*A la doctora Sonia Vera y al servicio de Oftalmología del Hospital docente "Dr. Salvador Allende", por los análisis de fondo de ojo realizados.*

#### SUMMARY

Sorell Gómez, L. et al. *Antinsulin-antibodies in diabetics with different degrees of vascular involvement*. Rev Cub Med 21: 1, 1982.

In a group of 55 insulin-treated patients presenting different degrees of vascular involvement, either from diabetic microangiopathy or macroangiopathy view, antinsulin-antibody level was determined. Large antinsulin-antibody titers were detected in 91% of the studied patients. A significant correlation was found between these antibodies' titer and intensity degree of diabetic retinopathy lesions, as well as with insulin daily dose. No correlation was found between antibodies' titer and different degrees of diabetic macroangiopathy involvement, with treatment period, neither with the disease known evolution period.

## RÉSUMÉ

Sorell Gómez, L. et al. *Anticorps anti-insuline chez des diabétiques avec différents degrés d'atteinte vasculaire.* Rev Cub Med 21: 1, 1982.

Les auteurs ont déterminé le niveau d'anticorps anti-insuline chez un groupe de 55 diabétiques traités par insulinothérapie, lesquels présentaient différents degrés d'atteinte vasculaire, aussi bien du point de vue de microangiopathie que de macroangiopathie diabétique. Ils ont trouvé des titres importants d'anticorps anti-insuline dans 91% des patients étudiés. Une corrélation significative entre le titre de ces anticorps et le degré d'intensité des lésions de rétinopathie diabétique a été observée, ainsi qu'avec la dose d'insuline par jour. On n'a pas constaté de corrélation entre le titre d'anticorps et les divers degrés d'atteinte de macroangiopathie diabétique avec le temps de traitement, ni avec le temps d'évolution connue de la maladie.

## BIBLIOGRAFIA

1. *Banting, F. G. et al.* Anti-insulin activity of serum of insulin-treated patients. *Am J Psychiat* 95: 562-564, 1938.
2. *Wasserman, P. et al.* The antigenic properties of insulin. *J Immunol* 38: 213-19, 1940.
3. *Bersan, S. A.; P. S. Yallow.* Quantitative aspects of the reactions between insulin and insulin-binding antibody. *J Clin Invest* 35: 170, 1956.
4. *Deckert Grundahl, E.* The antigenicity of pig insulin. *Diabetologia* 6: 15-20, 1970.
5. *Leck, K.* Ir gene control immunogenicity of insulin and A-chain loop as a carrier determinant. *Nature* 254: 78-79, 1975.
6. *Root, M. A. et al.* Immunogenicity of insulin. *Diabetes* 21 (Supp. 2): 657-660, 1972.
7. *Schlichtkrull, J.* Purity and antigenicity of insulin preparations. *Acta Paediatr Scand.*
8. *Chance, R. E. et al.* The immunogenicity of insulin preparations. *Acta Endocrinol (Supp. 205)* 83: 185, 196, 1976.
9. *Faulk, W. P. et al.* Insulin resistance in juvenile diabetes mellitus. *Am J Med* 49: 133-39, 1970.
10. *Davidson, J. K. et al.* Immunologic insulin resistance. *Diabetes* 27: 3, 307-18, 1978.
11. *Dolovich, J. et al.* Insulin allergy and insulin resistance. *J Allergy* 46: 127-37, 1970.
12. *Andersen, O. O.* Clinical significance of anti-insulin antibodies. *Acta Endocrinol (Supp. 205)* 83: 231-238, 1976.
13. *Faulk, W. P. et al.* Human anti-insulina antibodies. *J Immunol* 196: 4, 1112-1116, 1971.
14. *Ivar Folling.* Insulin-anti-insulin complexes. *Acta Endocrinol (Supp. 205)* 83: 199-209, 1976.
15. *Hagg, E.* On the pathogenesis of glomerular lesions in the alloxan diabetic rat. *Acta Med Scand (Supp. 558)*, 1974.
16. *Andersen, O. O.* A method for quantitative determination of insulin antibodies in human plasma. *Acta Endocrinol* 69: 195-208, 1972.
17. *Irvine, W. J. et al.* Immune complexes and diabetic microangiopathy. *J Clin Lab Immunol* 1 (3): 187-191, 1978.
18. *Irvine, W. J.* Immune complexes in diabetes mellitus. *Clin Exp Immunol* 30: 16, 1977.
19. *Aziz, S.* Diabetes mellitus with immunocomplexes glomerulonephritis. *Nephren* 23 (1): 231, 1979.

Recibido: agosto 9, 1981. Aprobado: diciembre 3, 1981.

Lic. *Luis Sorell Gómez.* Instituto de Angiología. Ciudad de La Habana.