INTERACCIONES ENTRE INSULINA Y CF - 4 + CF - 3

Dr. Pablo J. Cambar R. (*), Lic. Carlos A. Ponce G. (*), Lic. Elisa Mayen de Ponce (*), Sr. Benigno Alonso Bueso (*).

INTRODUCCIÓN

El uso simultáneo de insulina y otros medicamentos en los pacientes diabéticos constituyen una fuente de interacciones adversas que pueden complicar un cuadro clínico; tal es el caso de combinar la hormona con agentes bloqueadores Beta que aumentan la hipoglicemia; los diuréticos tiacídicos que producen hiperglicemia y la fenilbutazona que aumenta el efecto de la insulina (1). Puesto que algunos pacientes psoriáticos adolecen de diabetes mellitus y eventualmente pueden recibir una combinación de CF-4 + CF-3 e insulina el objetivo del presente estudio fue investigar si existe alguna interacción entre ambas. Se detectó un aumento de la hipoglicemia producida por dosis de 3 u/kg. S.C. de insulina; existiendo la posibilidad de un incremento de la utilización periférica tisular de la glucosa que explique dicha interacción.

MATERIAL Y MÉTODOS

A 125 ratas Wistar de 250 a 300 gramos de peso corporal, en ayunas de 18 horas, se les determinó la glicemia a tiempo cero, luego a las dos, cuatro y seis horas de practicar los siguientes procedimientos:

A.— Determinación de los efectos de la administración oral de 20, 60 y 180 mgs/kg. de CF-4 + CF-3; o insulina 1.5 u/kg. por vía subcutánea; sobre la glicemia de ratas.

B.— Efectos de la combinación de insulina 1.5 u/kg. S.C. con 20, 60 y 180 mgs/kg de CF-4 + CF-3 por vía oral sobre la glicemia de ratas.

C. — Efectos de la combinación de insulina 3 u/kg. S.C. con 20, 60 y 180 mgs/kg. de CF-4 + CF-3 por vía oral sobre la glicemia de ratas.

D. — Efectos de la combinación de insulina 15 u/kg S.C. con 20, 60 y 180 mgs/kg de CF-4 + CF-3 por vía oral sobre la glicemia de ratas.

E. — Efectos de la administración de CF-4 + CF-3 con 24 y 48 horas de antelamiento a insulina 3 u/kg. S.C. sobre la glicemia de ratas.

A las ratas controles se les administró aceite de oliva por vía oral (vehículo de las fracciones de CF-4 + CF-3).

Cuando se necesitó controlar la inyección subcutánea de insulina usamos solución salina isotónica. Las fracciones CF-4 + CF-3 se administraron por vía oral a las dosis de 20, 60 y 180 mgs/kg. La insulina de acción corta (Lilly) se administró subcutáneamente.

Se determinó la glicemia en sangre total por el método de la ortotoluidina de Hultman modificado(2) La glucosa reacciona con otoluidina en ácido acético glacial en la presencia de calor para producir un color azulagua 1N-glucosilamina, cuya absor-bancia se mide a 625 nm. Se tomó la muestra de la cola de las ratas usando 100 ul. de sangre.

Se usaron patrones de glucosa de 50.0, 100.0 y 200.0 mgs/dl.

RESULTADOS

GLICEMIA ANTES Y DESPUÉS DE CF-4 + CF-3

No se observó ninguna diferencia estadísticamente significativa entre los grupos controles (aceite de

(*) Unidades de Microbiología y Farmacología del Centro de Investigación y desarrollo de CONADI.

oliva) y los tratados con las fracciones a los tiempos: 0, 2 y 4 horas de estudio; sin embargo a las 6 horas o sean 24 horas de ayuno se detectó hipogli-cemia en todos los grupos, aunque menos acentuada en los tratados con 180 mgs/kg. de CF-4 + CF-3 por vía oral. Un grupo adicional aceite de oliva oral más insulina a la dosis de 1.5 u/kg. S.C. presentó hipoglicemia detectable desde las dos horas de observación siendo la misma estadísticamente significativa comparada con el respectivo grupo control. (ver gráfica No. "1" y tabla "1").

Gráfica No. 1

Efectos de Insulina o CF_4 + CF_3. Sobre Glicemia en ratas.

1. A.— Aceite de Oliva oral + Solución Salina Isotónica S.C.
2. B.— CF-4 + CF-3, 20 mgs/Kg. oral + Solución Salina Isotónica S.C.
3. C.— CF-4 + CF-3, 60 mgs/Kg. oral + Solución Salina Isotónica S.C.
4. D.— CF-4 + CF-3, 180 mgs/kg. oral + Solución Salina Isotónica S.C.
5. E.— Aceite de oliva oral + Insulina 1.5 u/Kg. S.C.

** Hipoglicemia mayor de la normal.

* Hipoglicemia menor de lo esperado.

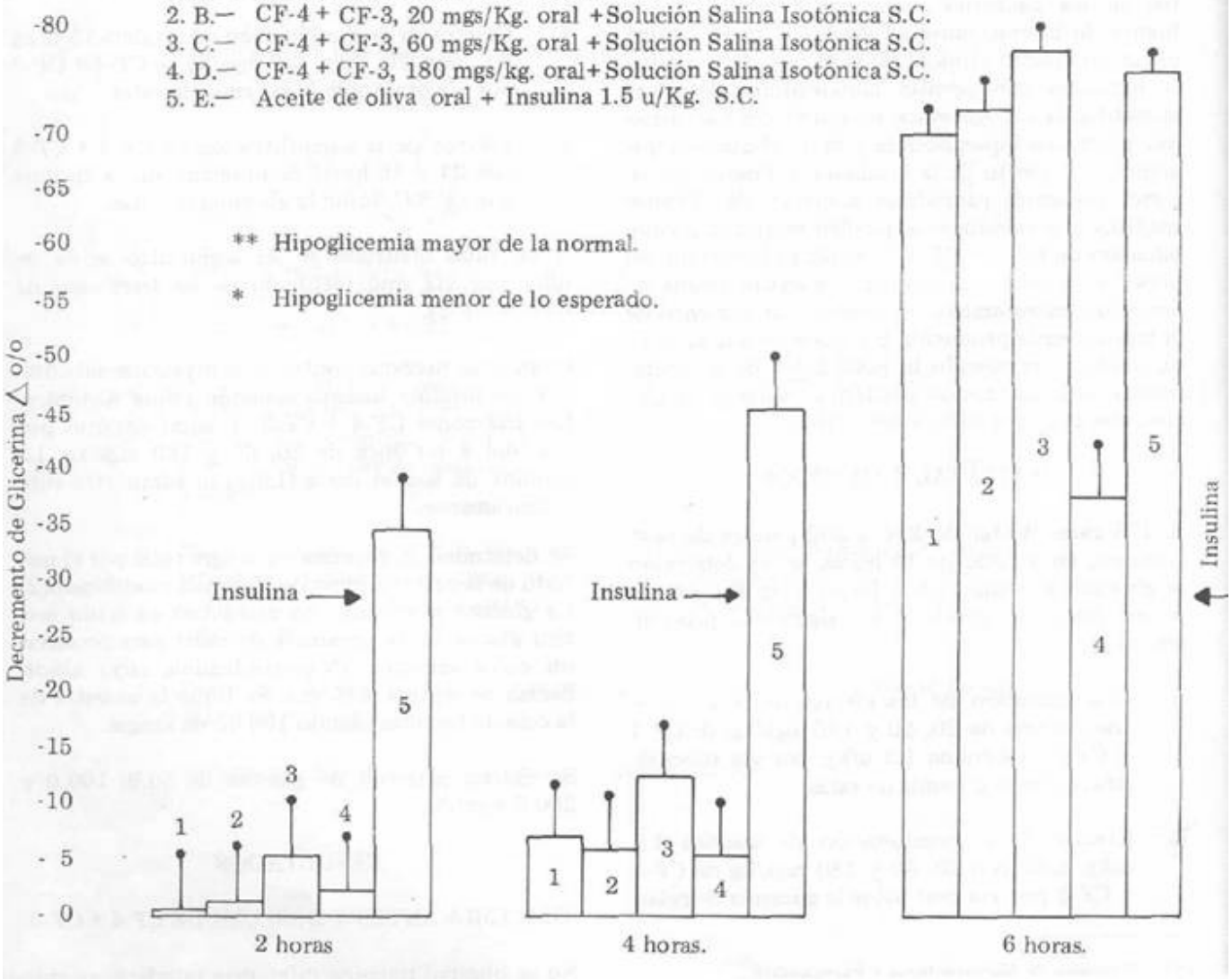

Tabla No. 1

GLICEMIA DESPUÉS DE LA ADMINISTRACIÓN DE CF-4 CF-3 ORAL O DE INSULINA S.C.: EN RATAS EN AYUNAS.

PROCEDIMIENTO. (No. DE RATAS).	GLICEMIA BASAL TIEMPO CERO	Δ% 2 HORAS	Δ% 4 HORAS	Δ % 6 HORAS
Aceite de Oliva oral Salino Isotónico S.C. (5)	91 ± 3.7	+ 0.5 ± 2.6	− 7.9 ± 3.7	−70.3 ± 3.4
CF-4 CF-3 20 mgs/kg. oral Salino Isotónico S.C. (5)	95.8 ± 1.7	+ 0.78 ± 2.8	− 7.0 ± 1.9	−73.5 ± 3.0
CF-4 CF-3 60 mgs/kg. oral Salino Isotónico S.C. (5)	95.8 ± 1.7	− 3.8 ± 2.7	−12.46 ± 2.9	−78 ± 1.6
CF-4 CF-3 180 mgs/kg. oral Salino Isotónico S.C. (5)	95.6 ± 2.9	− 1.8 ± 2.3	− 5.6 ± 5.2	−38 ± 5.6*
Aceite de Oliva oral Insulina 1.5 u/kg. S.C. (5)	92.8 ± 2.4	− 35 ± 2.0**	− 46.3 ± 4.0**	−76.9 ± 1.6

Los valores se presentan como promedio y +/- error Standard del promedio. *p < 0.001 comparación con controles. La administración de CF-4 + CF-3 por vía oral no modificó de manera importante la glicemia; solo a las 24 hrs. de ayuno (Δ , o/o, 6 hrs.) se redujo la glicemia, pero no tanto a 180 mgs/kg. de la droga. La inyección de Insulina a un grupo de ratas redujo la glicemia de manera importante **comparado a control o a ratas con CF-4 + CF-3.

EFECTOS DE LAS COMBINACIONES DE INSULINA Y CF-4 + CF-3 SOBRE GLICEMIA

Las combinaciones de insulina 1.5 u/kg. S.C. y CF-4 + CF-3 a las dosis de 20, 60 y 180 mgs/kg. por vía oral produjeron una hipoglicemia igual a la observada en el grupo control que recibió insulina aceite de oliva por vía oral en lugar de las fracciones. (Ver tabla “II").

La hipoglicemia fue mayor en los grupos tratados con las fracciones y una dosis más alta de insulina (3 u/kg. S-C), comparada con el grupo control que recibió insulina mas aceite de oliva oral. Las diferencias fueron estadísticamente significativas. Este efecto se observó solamente con esa dosis de insulina, (ver gráfica No. "2" y tabla "III"}.

Todas las ratas presentaron hipoglicemia y muerte cuando se usó la dosis de 15 u/kg. de insulina por vía subcutánea tardando más en morir los grupos tratados con 20 y 60 mgs/kg. de CF-4 + CF-3. (ver tabla "IV").

EFECTO DE LA INSULINA DESPUÉS DE DOS DÍAS DE TRATAMIENTO CON CF-4 + CF-3.

El propósito de este procedimiento fue el determinar, con las reservas del caso - si el tratamiento con dos días de antelación con las fracciones puede aumentar los efectos hipoglicemiantes de la insulina por una inhibición del sistema enzimático responsable de la biotransformación de la hormona; sin embargo no se observó ninguna diferencia estadísticamente significativa entre los grupos controles y tratados. (Ver gráfica No. "3" y tabla "V").

Tabla No. 2

EFECTOS DE COMBINACION DE INSULINA 1.5u/KG. CON CF-4 + CF-3 SOBRE LA GLICEMIA DE RATAS "WISTAR"

PROECDIMIENTO (No. DE RATAS).	GLICEMIA BASAL TIEMPO CERO	△% 2 HORAS	△ % 4 HORAS	△ % 6 HORAS
Aceite de Oliva Insulina 1.5 u/kg.	98.8 ± 2.8	∓ 47.8 ± 6.6	− 69.1 ± 3.5	—
CF-4 + CF-3 20 mgs/kg. Insulina, 1.5 u/kg. (5)	92.8 ± 4.2	− 61.2 ± 2.3	− 60.1 ± 2.4	—
CF-4 + CF-3 60 mgs./kg Insulina, 1.5 u/kg.)5)	99 ± 2.8	− 43.7 ± 2.9	− 68.1 ± 3.3	—
CF-4 + CF-3 180 mgs/kg. Insulina, 1.5 u/kg.	97.8 ± 2.85	− 49.3 ± 3.6	− 60.3 ± 5.7	—

Los valores expresan promedio y + error típico del promedio.
La administración simultánea de Insulina y CF-4 + CF-3 redujo la glicemia de una manera parecida a los grupos controles.

Tabla No. 3

EFECTOS DE LA COMBINACION DE 3 u/kg S.C. CON CF-4 * CF-3 SOBRE LA GLICEMIA DE RATAS "WISTAR"

PROCEDIMIENTO	GLICEMIA BASAL TIEMPO CERO	Δ % 1 HORAS	Δ % 4 HORAS	Δ % 6 HORAS
[illegible]	Aceite de Oliva oral Sol. Salina Isotonica S.C. (5)	98.8 ± 2.78	— 9.3 ± 1.65	— 14.4 ± 2
[illegible]	Aceite de Oliva oral Insulina 3 u/kg. S. C. (5)	99.6 ± 2.98	— 31.0 ± 3.3	— 41.5 ± 4
—68.8 ± 3.3*	CF-4 + CF-3 20 mgs/kg. oral Insulina 3 u/kg. S. C. (5)	100.4 ± 2.6	— 43.5 ± 4.5*	— 43.5 ± 3
—77.7 ± 3.0*	CF-4 + CF-3 60 mgs/kg oral Insulina 3 u/kg. S. C. (5)	98.0 ± 2.8	— 58.5 ± 8.9*	— 52 ± 1
—74.9 ± 4.2*	CF-4 + CF-3 180 mgs/kg. S. C. Insulina 3 u/kg. S.C. (5)	99.0 ± 2.8	— 46 ± 3.6*	— 47.8 ± 4

Los datos expresan el promedio y el + error standard del promedio.
La administración de 3 u/kg. S.C. de Insulina produjo una respuesta hipoglicemia mayor en el grupo tratado con CF-4 + CF-3 que el grupo control (Aceite de Oliva). En el grupo que no recibió Insulina o CF-4 + CF-3 se observó hipoglicemia solamente a las 24 horas de ayuno.

Los datos corresponden a promedio y + error standard del promedio.
Dosis elevadas de Insulina produjeron hipoglicemia acentuada y similar en las ratas controles y tratadas.
La administración de CF-4 + CF-3 no protegió a las ratas de los efectos letales de la Insulina (15 u/kg. S.C)-

Gráfica No. 3

Hipoglicemia a Insulina Después de Pre-Tratamiento con $CF_4 + CF_3$.

1.- Aceite de Oliva oral + Solución Salina Isotónica S.C.
2.- Aceite de Oliva oral + Insulina 3uKg. S.C.
3.- CF—4 + CF—3, 20 mgs/kg. oral + Insulina 3u/Kg. S.C.
4.- CF—4 + CF—3, 60 mgs/kg. oral + Insulina 3u(Kg. S.C.
5.- CF—4 + CF—3, 180 mgs/Kg. oral + Insulina 3u/Kg. S.C.

X 24 y 48 hrs. 72 hs

Tabla No. 5

EFECTOS DE INSULINA SOBRE LA GLICEMIA DE RATAS A LAS QUE SE ADMINISTRO PREVIAMENTE ACEITE DE OLIVA O CF-4 + CF-3 DURANTE DOS DIAS.

PROCEDIMIENTO (No. DE RATAS)	GLICEMIA BASAL TIEMPO CERO	CAMBIOS OBSERVADOS △o/o CADA 2 HORAS		
		△o/o 2 HORAS	△o/o 4 HORAS	△o/o 6 HORAS
Aceite de Oliva oral Salino Isotónico S.C. (5)	93.4 ± 1.32	−3.6 ± 1.12	−9.2 1.2	−57.6 ± 0.3
Aceite de Oliva oral Insulina 3 u/kg. S. C. (5)	94.3 ± 1.47	−25.3 ± 0.94	−35.1 ± 1.33	−68.4 ± 1.12
CF-4 + CF-3 20 mgs/kg. oral Insulina 3 u/kg. S.C. (5)	92.4 ± 1.16	−23.3 ± 0.93	−33.7 ± 0.62	−65.4 ± 1.3
CF-4 + CF-3 60 mgs/kg oral Insulina 3 u/kg. S. C. (5)	96. ± 1.8	−26 ± 1.16	−37.5 ± 1.0	−67.4 ± 1.3
CF-4 + CF-3 180 mgs/kg. oral Insulina 3 u/kg. S. C. (5)	97.6 ± 2.3	−25 ± 1.0	−38.9 ± 0.8	−68.4 ± 1.1

Los resultados se presentan como promedio y ± error standard del promedio.

ASPECTOS GENERALES

No existió ninguna diferencia estadísticamente significativa entre los grupos a tiempo cero por lo que las ratas estaban en iguales condiciones de glicemia.

En casi todos los procedimientos se incluyeron grupos que solo recibieron aceite de oliva oral y solución salina isotónica por vía subcutánea en los mismos se observó hipoglicemia solamente a las 6 horas de estudio o sean 24 horas de ayuno.

DISCUSIÓN

El objetivo del presente estudio fue dilucidar si existe alguna interacción entre insulina y CF-4 + CF-3 cuando se administran simultáneamente; siendo la glicemia el parámetro de referencia y las ra tas Wistar el animal escogido. La insulina administrada a la dosis de 1.5 u/kg. produjo una hipoglicemia fácilmente detectada por nuestro método de análisis químico. La administración de las fracciones a las dosis 20, 60 y 180 mg/kg. por vía oral no produjo una hipoglicemia mayor que la observada en las ratas controles sometidas a iguales condiciones de ayuno y a las 24 horas la dosis de 180 mgs/kg. de CF-4 + CF-3 protegió un poco de la hipoglicemia observada en todos los grupos.

La combinación de CF-4 + CF-3 con insulina 3.0 u/kg. S.C. produjo una hipoglicemia mayor en los grupos tratados que en la de los controles (aceite de oliva; aceite de oliva más insulina); dicho efecto no se observó a la dosis de 1.5 o 15 u/kg. S.C. de insulina; esta última dosis resultó excesiva, tanto para los grupos controles y tratados observán dose severa hipoglicemia y muerte en el 100% de las ratas.

La mayor hipoglicemia que se observó en el grupo que recibió 20, 60 y 180 mgs/kg. de CF-4 + CF-3 combinada con insulina 3 u/kg. S.C. todavía es difícil de explicar; sin embargo por los estudios cardiovasculares existentes sabemos que las fracciones carecen de propiedades bloqueadoras Beta que pudiesen aumentar los efectos hipoglicemiantes de la insulina al inhibir los mecanismos compensatorios a la misma de carácter simpatoadrenal.

Las fracciones aparentemente no inhiben la bio-transformación de la insulina, puesto que su administración con 24 y 48 horas de antelación a la dosis de 3 u/kg. S.C. no aumentó el efecto hipoglice-miante de dicha hormona. La unión de la insulina a las proteínas plasmáticas normalmente es pobre, pero carecemos de información del efecto de las fracciones CF-4 + CF-3 sobre este particular.

No existen evidencias de que en forma aguda In vivo las fracciones per se produzcan algún efecto hipoglicemiante; por lo contrario en estudios to-xicológicos crónicos se ha observado hipoglicemia transitoria. No se descarta la posibilidad de que en las fracciones existan principios activos antagónicos o con acciones polifacéticas en sus acciones sobre glicemia cuestión abierta al estudio.

En investigaciones bioquímicas realizadas hace varios años, se encontró que la adición de Calagualina a cortes tisulares normales o tumorales aumentó la Conversión de glucosa a Dióxido de Carbono en hígado, disminuyendo la conversión de glucosa en proteínas y lípidos en los tejidos normales, pero en los tumorales disminuye la producción de Dióxido de Carbono {CO2) a partir de glucosa y la conversión a proteínas en lípidos (3).

Una mayor utilización periférica de la glucosa en la presencia de insulina talvez explique la mayor hipoglicemia observada cuando se combinan las fracciones y la hormona.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1.-Goodman, L.S., and Gilman, A.: "THE PHARMACOLOGICAL BASES OF THERAPEUTICS". 1975. Fith. Mac-Millan Publishing Co., Inc. pp. 340, 552, 832.

2.-Hultman, E. 1959. "IN CLINICAL CHEMISTRY PRINCIPLES AND TECHNICS". Edited by Richard J. Henry: Donald C. Cannon and James W. Wínkel-man. 1978. Harper and Row Publishers New York, pp. 1285 - 1289.

3.- Horvath, A. et al.: "METABOLIC EFFECTS OF CALAGUALINE, AN ANTITUMORAL SAPONINE OF POLYPODIUM LEUCOTOMOS". Nature, 1967, Vol. 214, pp. 5094,1226.