

## ARCHIVO HISTÓRICO



El presente artículo corresponde a un archivo originalmente publicado en el **Boletín de la Escuela de Medicina**, actualmente incluido en el historial de **Ars Medica Revista de ciencias médicas**. El contenido del presente artículo, no necesariamente representa la actual línea editorial. Para mayor información visitar el siguiente

vínculo: <http://www.arsmedica.cl/index.php/MED/about/submissions#authorGuidelines>

# Relato histórico de mi investigación en el área de la diabetes mellitus

Dr. Luis Vargas Fernández  
Profesor Titular de la Facultad de Ciencias Biológicas  
Profesor Titular de la Facultad de Medicina  
Doctor Scientae et Honoris Causa  
Pontificia Universidad Católica de Chile  
Premio Nacional de Ciencias, 1985

## ORIGEN DE LA CURIOSIDAD

Se hace investigación biológica basado en la observación + curiosidad + hipótesis + imaginación + experimentación.

¿Es esta secuencia también válida en la investigación multidisciplinaria?

### Primera introducción

En mi experiencia, la curiosidad la he sentido como primer acicate. Aquello que no la despertó, pasó de largo. Por supuesto que esto tiene toda la subjetividad personal, pero jugó el papel de ser promotora para lo que después continuaría.

Me refiero a curiosidad en el sentido de **esa avidez para seguir averiguando**, y no aquella avidez para seguir mirando. Esa avidez interrogadora que se proyecta para aclarar el origen del fenómeno, su mecanismo de producción, su comprensión y manejo (aplicación).

El investigador básico se siente atraído por dilucidar lo desconocido, lo oculto, lo enigmático. En esta su curiosidad, hay una fuerza intelectual que lo lleva a no detenerse. Se trata de algo compulsivo, pero que sabe esperar, para volver con insistencia a lo que tanto le interesa develar. Conlleva la ilusión de entregar un aporte mínimo, que junto con millones y millones de otras mínimas contribuciones, se espera vayan a completar los conocimientos. En el caso de la Biología y Medicina, orientados hacia la naturaleza y patología humana.

### Segunda introducción

En aquellos años en que ejercía la Endocrinología, me correspondió atender a pacientes diabéticos. Rápidamente me fui viendo involucrado en la maraña de sus problemas, donde para solucionarlos los conocimientos eran del todo insuficientes. Por ejemplo, la hipoglucemia del estudiante diabético cuando jugaba fútbol; los problemas psicológicos, tan propios del diabético, donde aceptar la enfermedad y privarse del dulce ponen a prueba la voluntad del niño y del adulto. Y tal vez con el problema mayor, el complejo de inferioridad biológica, no siempre expresado, que disminuye la autoestima y, lo que es peor, introduce dudas sobre la propia capacidad intelectual, laboral y matrimonial. Elementos humanos descubiertos mientras la atención médica estaba orientada a la inyección de insulina. Aún hoy día es un desafío la educación del diabético, encontrándonos atrasados en el apoyo social.

Desde el ángulo fisiológico, un problema despertó nuestra curiosidad, problema que resultó responsable de nuestra entrada en la diabetes experimental: ¿Por qué niñas escolares con adecuado tratamiento insulínico y que se mantenían sin glucosuria, la presentaban con leve cetonuria cuando enfrentaban exámenes orales (1)? Esto ocurría en 1945 (Figura 1). El temor relatado, más la emoción inherente al examen oral, sugería una reacción adrenérgica que produciría la hiperglucemia. Pero sin poder determinar la adrenalinemia, el razonamiento permanecía hipotético. Además, no explicaba ni la aparición de la cetonuria, ni su prolongación por cuatro días. Aún más enigmático resultaba que la glucosuria persistiera a pesar de subir la dosis de insulina. Una incógnita adherida a la idea de resistencia insulínica, que yo no olvidaría.

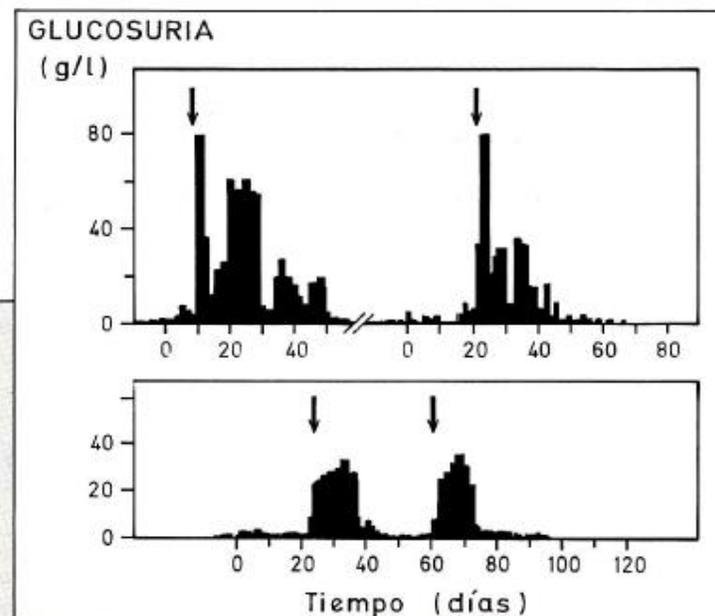


Figura 1

Agravación de la diabetes insulino dependiente con aparición de hiperglucosuria en dos niñas escolares, con ocasión de evento psicológico (examen oral del fin de año). Las flechas indican el momento del estrés psicológico. Figura tomada de la referencia 1.

## INTENTOS PARA INVESTIGAR EXPERIMENTALMENTE LA OBSERVACION CLINICA

Curiosidad e hipótesis incitaron a investigar el asunto. Pero su estudio estuvo impedido al no poder discurrir un modelo experimental apropiado. Si bien producíamos diabetes mellitus en la rata, por medio de aloxana y aloxantina intravenosa o por pancreatectomía total, y remediábamos el tratamiento con insulina (2, 3), no conseguíamos reproducir la situación emocional.

Esta fase, aparentemente sencilla, nos llevó gran inversión de tiempo. Debíamos sintetizar la aloxana y luchar por tener un vivero de ratas; adaptar el método para la glucemia y glucosuria, más otros detalles. Además, para una duda científica no teníamos a quién consultar, lo que fortificó la propia iniciativa.

Investigador solitario en el tema de la diabetes experimental en este mundo latinoamericano, recibí de la Asociación Latinoamericana de Diabetes la Medalla de Oro Hagedorn, en reconocimiento regional a nuestra contribución científica sobre diabetes.

## CARACTERISTICAS DE LA RATA DIABETICA

Si para una niña diabética de 45 kilos administrábamos 45 unidades internacionales (UI) de insulina lenta, es decir, 1 UI/kg, para una rata diabética de 200 gramos ensayamos la dosis equivalente, de 0,2 UI, sin ningún efecto. Fue éste un momento de suspenso, porque junto con dudar de si la rata iría a servir para nuestros planes, considerábamos que era el único mamífero que podíamos costear y mantener. Subimos la dosis de insulina hasta llegar a conocer que requería la enorme cantidad de 40 UI/kg, unas 40 veces superior a la humana! Tal enigma movió otra futura averiguación.

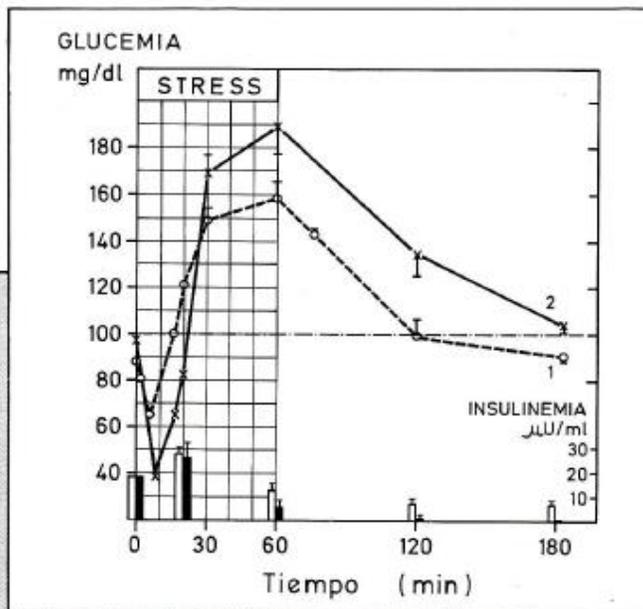
## ENTRADA AL ESTRES

Cuando conocimos en 1946 los trabajos de Hans Selye en Canadá, sobre su concepto del estrés y la importancia de la activación del sistema ACTH-suprarrenal, se nos amplió el camino experimental. La "activación" del sistema autónomo, como nuevo conocimiento, venía a explicar la inexplicable prolongación del efecto del examen oral (4).

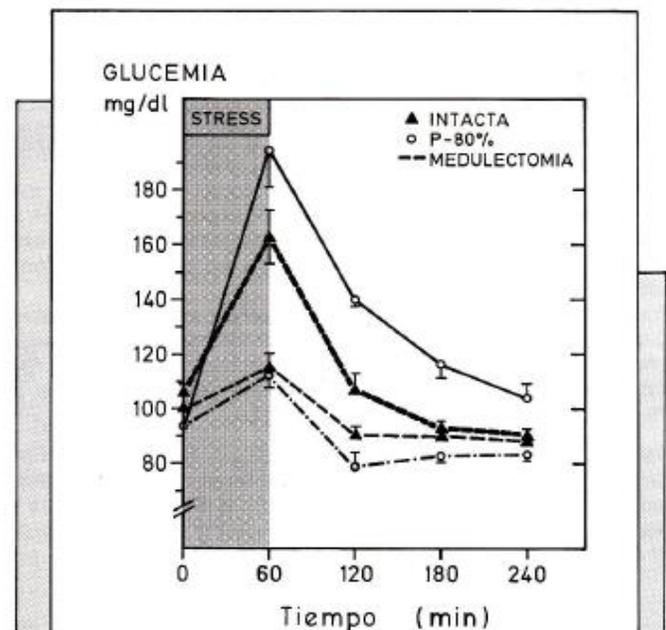
Selye estuvo interesado, e hizo los mayores aportes originales, en la participación del sistema hipotalámico-hipofisiario (5), dejando de lado al sistema adrenérgico, cuya participación en la emergencia era algo conocida (6). Tal vez nos favoreció para que Selye se interesara por nuestros trabajos (7).

## PARTICIPACION DEL SISTEMA ADRENERGICO EN LA PRODUCCION DE LA HIPERGLUCEMIA DEL ESTRES

Ya desde 1958 la hiperglucemia del estrés nos interesó conceptual y metodológicamente (Figura 2). Conceptualmente, porque la hiperglucemia representaba el signo típico de la diabetes y porque aparecía dependiente del sistema adrenérgico (8) (Figura 3). Si la activación adrenérgica era intensa, y la glucemia sobrepasaba el umbral renal de la glucosa, aparecía glucosuria, que al ser reversible configuraba la **diabetes transitoria**. Metodológicamente interesaba porque al existir una relación directa entre descarga de adrenalina adrenal (único sitio) y aumento de la glucemia, se hacía posible tener información sobre la adrenalina del estrés por medio de la glucemia (Figura 4). Este planteamiento fue utilísimo para desarrollar el trabajo investigador. Además, con el método empleado, en una gota de sangre se determinaba



**Figura 2**  
Curvas hiperglucémicas e insulinémicas de la rata sometida al estrés de contención. 1. Rata intacta-control. 2. Rata pancreatectomizada en un 80% (P-80%). En la rata P-80%, con nivel glucémico inicial normal, se observa una respuesta al estrés con perfil diabético, sin normalización a los 180 min ( $p < 0,01$ ). Además, hay aumento inicial de insulinemia, en relación con la hipoglucemia ( $p < 0,01$ ), seguido de descenso y agotamiento para la rata P-80% (barras negras). En colaboración con ME Kawada.



**Figura 3**  
La extirpación de la médula adrenal de la rata suprime la adrenalina y en su ausencia no se produce la hiperglucemia del estrés. La medulectomía adrenal, tanto de la rata intacta como en la P-80%, elimina el alza glucémica del estrés de contención (ANOVA  $p < 0,001$  y  $0,0005$ , respectivamente). Tomada de las referencias 8 y 11. En colaboración con los coautores de la referencia 8.

### RELACION DIRECTA ENTRE CATECOLAMINAS E HIPERGLUCEMIA

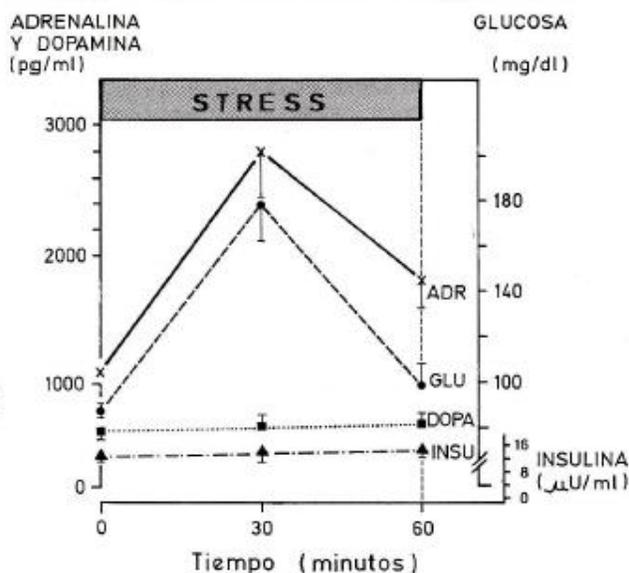


Figura 4

Relación, en el estrés, entre descarga de catecolaminas y glucemia (diagrama). El gráfico de la derecha confirma esta relación, demostrando un paralelismo entre la variación de la glucemia y la de la concentración de adrenalina. Dopamina, en cambio, no participa en el estrés. La falta de variación de la concentración de insulina significa inhibición de su secreción, ya que frente a hiperglucemia debe haber hiperinsulinemia.

la glucemia, utilizándose la misma rata para las siguientes determinaciones, sirviendo así de control de sus propias variaciones a lo largo del experimento y facilitando los resultados con un  $n = 5$ .

#### REPRODUCCION DE LA OBSERVACION CLINICA

Después de variados ensayos lográbamos un modelo experimental que nos permitiría imitar la observación de las niñas diabéticas.

La rata moderadamente diabética y no tratada con insulina se mantiene con glucosuria, pero sin cetonuria. Al ser sometida al estrés por inmovilización, aumentaban la glucemia y la glucosuria, apareciendo cetonuria durante tres a cuatro días. Tendía a reproducir la reacción de las pacientes escolares (9, 10).

Podía aceptarse que el estrés psicológico del examen oral hubiera sido el responsable de la agravación de la diabetes. Esta deducción era novedosa en ese tiempo en que la Medicina era renuente a reconocer que el estímulo psicológico, como susto o tristeza profunda, pudiera desencadenar un evento fisiopatológico.

Nosotros asumimos la concepción psicológica y buscamos el lazo de una posible unión entre estrés y producción de diabetes. Tardamos en encontrarla, hasta que ella llegó en 1978 al emplear el **estrés repetido** que imita la condición de permanencia del estrés crónico, provisto de potencialidad diabetogénica (11).

#### EL DIFICIL EQUILIBRIO ENTRE INVESTIGACION Y ADMINISTRACION ACADEMICA

En aquellos años, el recargo por la Docencia y Extensión era considerable: clases diarias, sin secretaria, sábados y domingos escribiendo, más la preocupación del desarrollo de un laboratorio casi inexistente, alternaron con altas responsabilidades, tales como Director de la Escuela de Medicina por seis años y, más tarde, Decano de Biología por nueve años. Estas últimas actividades, necesarias por no decir indispensables para la institución, interfirieron seriamente en la de-

dicación que exige la investigación científica. A pesar del gran recargo, nunca suspendí la investigación, que me es tan querida. Pero tuve que conformarme con proseguir a un ritmo lento en época de exigencia rápida, robando horas para sobrevivir en lo científico. Significó no publicar varias contribuciones o postergar publicaciones que quedaron como *abstracts*.

No exagero al decir que ha sido difícil caminar nuestra ruta científica y universitaria. Por otra parte, los obstáculos, más la fuerte motivación y las realizaciones, dieron sentido a nuestro quehacer, afortunadamente laborando en este medio humano privilegiado, más acompañado por una esposa y familia comprensiva. Junto a la percepción de que cooperábamos al desarrollo de la querida institución, se nos fue infundiendo una íntima satisfacción, apoyada por los pares y por la mística del medio. Semejante estímulo psicológico fue importante para resistir, y a pesar que quedó silencioso y no se comentó, subyace.

#### ESTRES Y PRODUCCION DE DIABETES

Deseo volver al experimento clave que dio base experimental para explicar el papel desempeñado por el estrés en la producción de la diabetes. El rol etiológico del estrés era un tema controvertido en diabetología, ya que según algunos era causa productora de diabetes, mientras que para otros no lo era. En la literatura revisada no encontramos estudios clínicos demostrativos de la posición "causa productora", sino sólo observaciones aisladas carentes de base científica.

¿Cómo logramos tal experimento aclaratorio?

Cambiamos la inmovilización en el interior de rejilla ajustada al cuerpo del animal por contención con elásticos en las extremidades, que permite movimientos de escape. Introdujimos el modelo de rata macho pancreatectomizada en un 80% (P-80%) no diabética. Lo primero facilitó la recolección de las muestras de sangre (de la punta de la cola) y lo segundo aumentó la respuesta al estrés, apareciendo glucosuria. Con este modelo, estreses repetidos, uno por semana hasta enterar 10, produjeron un 12% de **diabetes permanente**. Como controles

empleamos: a) la rata P-80% que no enferma espontáneamente y b) la rata intacta sometida al mismo tratamiento con estreses repetidos (10, 11).

Concluimos que la rata intacta-normal no desarrollaba diabetes por la repetición del estrés y que sólo lo hacía la rata P-80%. Se deducía que para que el estrés produjera diabetes mellitus era prerequisite la existencia de una predisposición a la diabetes. Luego, el rol diabetogénico del estrés correspondía a una causa final que actuaba sobre un sustrato ya predispuesto, siendo, por lo tanto, una **causa desencadenante**. Aplicado al ser humano, esta causa actuaría cuando existiera susceptibilidad genética para la enfermedad. Así, en la publicación hicimos alcance a por qué algunas de las personas con la condición de disminución de tolerancia para la glucosa desarrollaban diabetes: serían aquellas que hubieran sufrido estrés crónico en el curso de sus vidas. De comprobarse, tendría repercusión en la prevención de la enfermedad.

Llama la atención que un factor desequilibrante de la diabetes, como es el estrés con base psicológica (por esto de especial interés para el ser humano) haya tardado en ser debidamente considerado en diabetología. ¿Desconfianza? ¿Resistencia a los nuevos conocimientos? ¿O ambos a la vez?

En 1974 comentábamos los datos proporcionados por el Dr. Antonio Arteaga (12) sobre las causas productoras del coma cetoacidótico del diabético en nuestro país (9). Señalábamos que sólo en el 30% la causa correspondía a suspensión de las inyecciones de insulina, mientras que en el 70% la causa no se conocía. Un resultado singular, ya que habríamos pensado todo lo contrario, es decir, que la mayoría fuera por suspensión de la insulina. Sugeríamos que una parte del porcentaje desconocido podría deberse a la acción del estrés agregado. Una base para pensar así la proporcionaba la aparición de cetonuria en la rata diabética sometida a estrés (10) y la demostración de lo mismo en pacientes diabéticos confrontados a estresores psicológicos ("va a quedar ciego"), donde cetonuria es manifestación de precoma (13).

los ritmos fisiológicos de la secreción de insulina con ocasión de la ingestión de hidratos de carbono, y b) la interferencia del estrés con sus brotes hiperglucémicos. Lo primero ya tiene aceptación universal, pero cuando años atrás nosotros decíamos que ningún diabético estaba bien tratado, el intenso reclamo indicaba que no se entendía o no se quería entender lo que nosotros decíamos.

Como el estrés es una reacción inevitable en el actual régimen de vida, recomendable sería que el diabetólogo incorporara el estrés psicológico en la educación y consejo de sus pacientes. En relación con este último punto, el bloqueo farmacológico del sistema adrenérgico con propranolol suprime tales alzas glucémicas y podría emplearse para prevenirlas (Figura 5-b). Otros experimentos, donde propranolol modificó favorablemente el comportamiento de la rata, demostraron que puede actuar como tranquilizante similar al diazepam (éste sin efecto sobre hiperglucemia), de modo que no sólo suprime las alzas glucémicas del estrés, sino que modifica la totalidad de la respuesta estresante (14). Esta observación merece investigación médica centrada en la demostración de si el propranolol inhibe la descarga del cortisol. En esta investigación, el estudiante J. Díaz de la Vega aportó una colaboración muy valiosa.

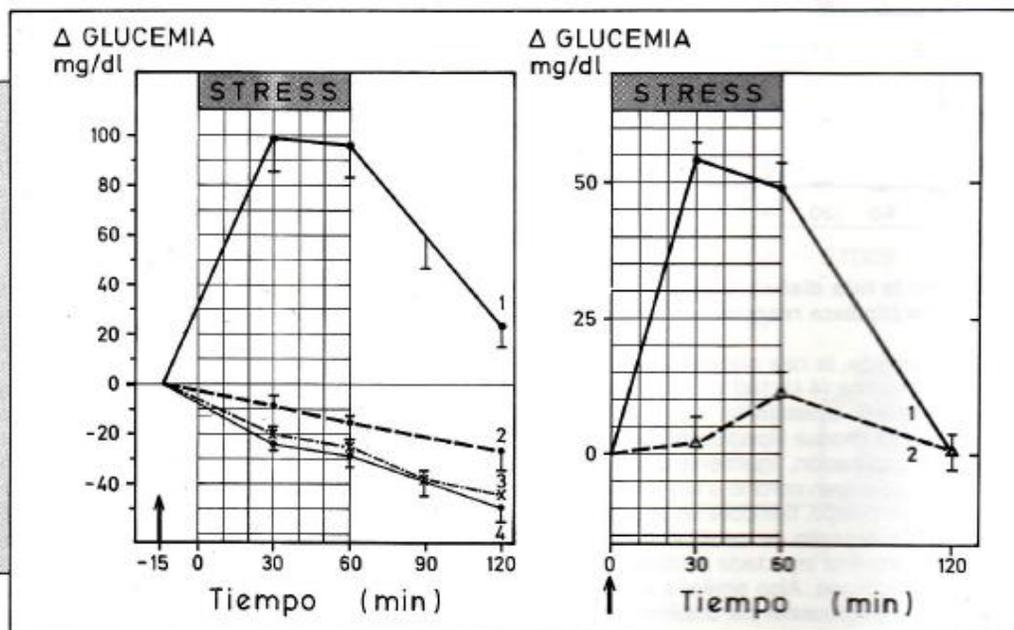
El otro hallazgo que apunta en la misma dirección se refiere a sulfonilurea, que dada 15 minutos antes del estrés no sólo suprime la hiperglucemia, sino que produce **hipoglucemia postestrés** (15) (Figura 5). Hemos demostrado que este efecto se debe a la liberación precoz de la insulina inducida por la droga, insulina que anula la acción de catecolaminas, las cuales llegan a los receptores hepáticos completamente atrasadas. La acción antagonista de insulina para catecolaminas es además poderosa, de modo que domina a adrenalina aun cuando se administren simultáneamente con insulina, en sitios diferentes. Nótese que propranolol actúa de inmediato (se inyecta y se aplica estresor), porque por la administración intracerebro-ventricular (I.C.V.) llega directamente a los centros regulatorios del hipotálamo, mientras que sulfonilurea por vía oral tarda en absorberse y exige una administración anticipada de 15 minutos, antes que llegue el estímulo del estresor. Luego, administrada al tiempo cero, sulfonilurea no actúa, pues no alcanza a dar tiempo para que salga la insulina de los islotes.

Es de interés investigar estos resultados en pacientes diabéticos tipo II, insulino dependientes, pues una confirmación de nuestros resultados ayudaría al difícil manejo glucémico intra y postoperatorio de estos pacientes.

#### PROPRANOLOL Y SULFONILUREA EN EL CONTROL HIPERGLUCÉMICO

Hemos insistido en que dos son los factores que nos parecen principalmente responsables de la imperfecta regulación glucémica del diabético tratado: a) la limitación del tratamiento insulínico para imitar

**Figura 5**  
El bloqueo de la hiperglucemia del estrés por sulfonilureas supera a la obtenida por propranolol e induce hipoglucemia postestrés. Izquierda: administración de sulfonilureas en dosis equivalentes a 200 µg/100 g de glipizida: 1. control; 2. tolbutamida; 3. glibenclámda; 4. glipizida. Derecha: administración de propranolol I.C.V., 50 ng/100 g: 1. control; 2. propranolol. Las flechas indican el momento de administración de las drogas. En colaboración con O Paredes y ME Kawada.



## OTRAS CONTRIBUCIONES

Mencionaré las contribuciones más relacionadas con el tema:

### Catéter uretral intravesical

Produce una respuesta que supera a todos los estresores ensayados por nosotros, incluso al estímulo eléctrico. La hiperglucemia sobrepasa el umbral renal y provoca glucosuria, es decir, diabetes transitoria, durante todo el experimento (16) (Figura 6). Con seguridad ocurrirá lo mismo en humanos.

### Diabetes transitoria por el estrés de la operación del corazón abierto

Este tipo de operación produce la mayor hiperglucemia, pudiendo sobrepasar los 500 mg/dl, con producción de diabetes transitoria. Tan fuerte estiramiento de la regulación glicémica nos recuerda a Selye cuando comparaba al estrés "a un elástico estirado que procura volver a su posición de reposo inicial". Experimentalmente él demostró que tal elástico puede cortarse (fase de agotamiento), por lo que puede postularse que en el operado del corazón existe el riesgo, en caso que tenga predisposición genética para diabetes, que pase de diabetes transitoria a permanente después de tan estresante operación. Esta reflexión nos permitió desarrollar la noción de "regulación límite", que puede aplicarse a otros casos (17).

### Hormona de crecimiento

En la rata macho diabética, la administración de hormona de crecimiento (STH) produce cetonuria de cuatro días de duración. Este efecto subsiste en ausencia de la médula adrenal (11), por lo que debe ocurrir por acción directa en el hígado. Esta observación apoya la idea propuesta en la literatura, de que esta hormona juegue un rol en la producción del coma diabético. Se conoce que el estrés agudo, muy amenazante, produce en humanos un incremento sostenido de hormona de crecimiento (18) (Figura 7).

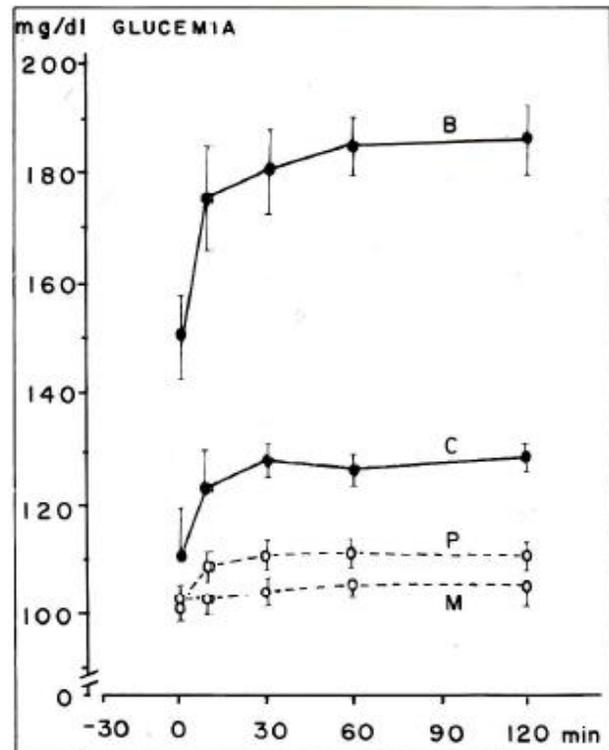


Figura 6

Producción de estrés agudo por colocación de catéter intravesical, vía uretral, introducido 30 minutos antes del tiempo 0. Curva B: rata normal, consciente, totalmente recuperada de la anestesia. Se observa acentuada hiperglucemia ( $p < 0,0005$ ), que se acompañó de glucosuria en el 100% de las ratas durante todo el periodo de observación. C = control sin catéter vesical; P = propranolol; M = medulectomía adrenal. Todos los grupos tienen cateterización vascular en el cuello para toma de muestras y reposición del volumen, que actúa como un leve estresor, que explica la diferencia entre el grupo control y los grupos P y M ( $p < 0,05$ ). Figura tomada de la referencia 16. En colaboración con R. Albertini.

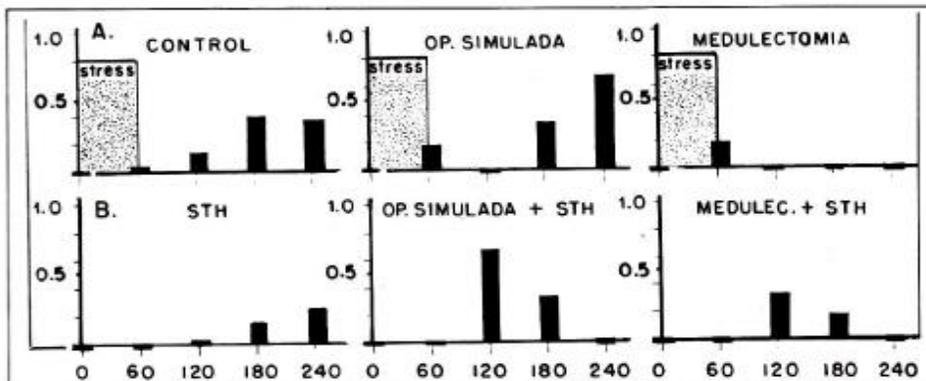


Figura 7

Cetonuria en ratas diabéticas sometidas a estrés de inmovilización (A) o administración de STH-rata (hormona somatotrófica o de crecimiento) (B). Inyección al tiempo 0. Obsérvese que la medulectomía adrenal (y no la operación simulada), suprime la cetonuria postestrés, pero no la producida por la administración de STH (50  $\mu\text{g}/100 \text{ g}$ , S.C.). Ordenada: Unidad Rothera para acetona; abscisa: tiempo en minutos. En colaboración con los coautores de la referencia 11.

### Estrés en la rata diabética "normalizada" por tratamiento insulínico produce respuesta paradójica

Curiosamente, la rata diabética "normalizada" (aglicosúrica) y tratada con insulina (4 UI/100 g, lenta NOVO), desarrolla una reacción inesperada ante el estrés: en lugar de la hiperglucemia de la rata normal, presenta choque hipoglucémico, fatal en el 50% de los casos.

Sin una explicación, finalmente ésta surgió en el campo inmunitario: la insulina de origen porcino o bovino produce en la rata una reacción antígeno-anticuerpo, fijándose en la gamaglobulina plasmática y constituyendo un depósito de insulina circulante. Saturado el depósito, el exceso de insulina inyectada o sobrante actúa sobre los tejidos aboliendo la glucosuria. Algo similar a lo hallado en pacientes diabéticos que sufren hipoglucemia por autoinmunidad. En esta situación, el cor-

tisol del estrés desprendería en forma aguda a la insulina acumulada en la gamaglobulina, provocando el coma hipoglucémico. En los experimentos con determinación de insulina ligada encontramos muy altas concentraciones, del orden de unas veinte veces lo normal, lo que confirmó la existencia de un gran depósito de insulina circulante.

En el diabético humano es excepcional tal reacción inmunitaria a la insulina, pero cuando se presenta tiene también altísimos requerimientos de insulina (600 o más UI diarias). Al contrario, en la rata Sprague-Dawley tal trastorno es la regla. El corticoide rompe la resistencia insulínica en los casos humanos y lo mismo sucede en la rata, tanto con cortisol como con el opioide met-enkefalina (19) (Figura 8).

Esta investigación aclaró por qué la rata diabética necesita altas dosis de insulina, al tener esa resistencia insulínica de origen inmunitario, en la situación de diabetes.

### Producción de la variedad genética KV o rata hiperreactiva al estrés (controlada hasta 26ª generación)

Interesaba disponer de un modelo genético que fuera hiperreactor adrenérgico y pudiera diabetizarse por el estrés repetido, es decir, sin intervención quirúrgica, como sucedía con la rata P-80%. Este modelo se consiguió por reproducción endogámica (*inbreeding*) a partir de dos progenitores excepcionalmente hiperreactores. Con gran rapidez se fijó el carácter hiperreactor al estrés, acompañado de disminución de la tolerancia para la glucosa, dos signos hiperadrenérgicos. Sin embargo, el estrés repetido, "estresor diabetogénico", produjo sólo diabetes transitoria, habiéndose repetido los experimentos con ratas jóvenes y adultas (20). ¿El mecanismo hiperadrenérgico no alcanza a dañar el

islole al disponer la rata KV del 100% del páncreas, logrando recuperarse en las pausas entre uno y otro estrés?

La rata KV es uno de los escasos modelos genéticos con un cambio del sistema adrenérgico, demostrado a nivel central y periférico. Central, por la mayor dosis de propranolol necesaria para inhibir la hiperglucemia del estrés (500 ng en vez de 50 ng de la cepa original); periférico, por el aumento significativo de la síntesis de noradrenalina en la médula adrenal (Figura 9), con el consiguiente aumento sanguíneo producido por el estrés (Figura 10).

Esta variedad de rata lleva la denominación de K y V, en reconocimiento a M.E. Kawada, que pacientemente realizó y controló la reproducción endogámica de las ratas, y V, por Vargas.

### Diabetogenicidad de clorpromazina

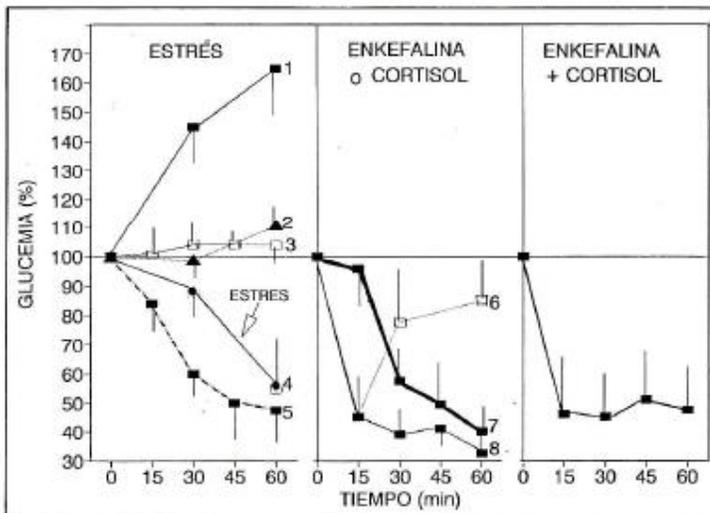
La clorpromazina S.C. produce en la rata, vía adrenérgica, hiperglucemia y glucosuria, aumento de STH y del inhibidor -2 (Figura 11). La intensa hiperglucemia causada por clorpromazina I.C.V. es anulada en un 70% con sólo 1,0 ng/100 g de somatostatina (Figura 11)(21). Estos experimentos adelantaron una participación regulatoria de somatostatina en el metabolismo glucídico, confirmada posteriormente en clínica humana.

### Antidiabetogenicidad de metionina-enkefalina

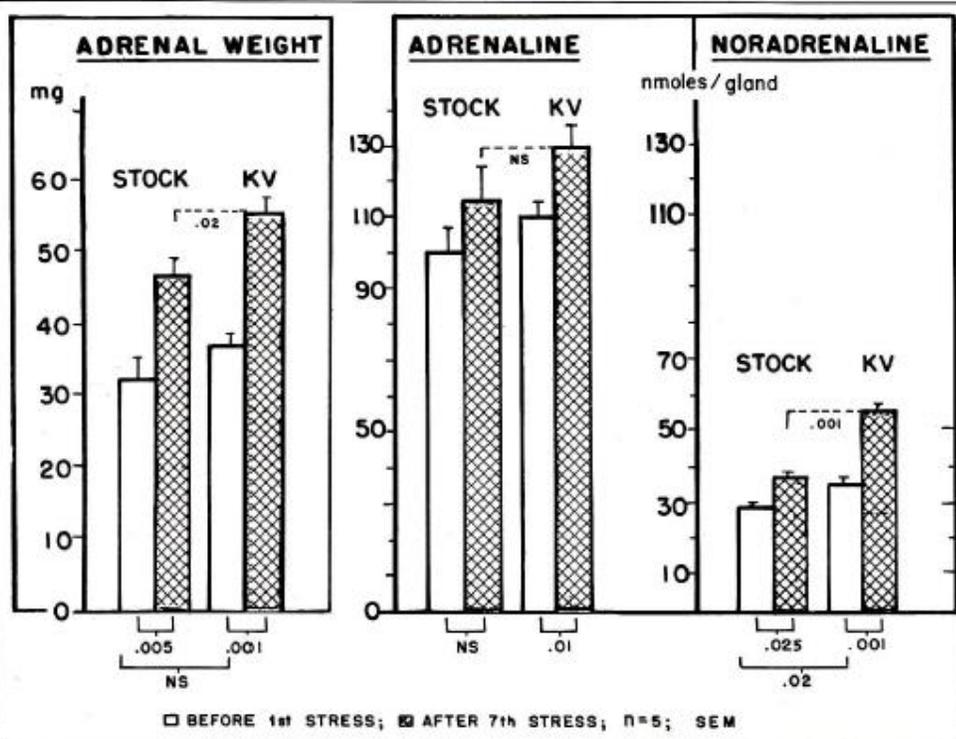
La metionina-enkefalina (met-enkefalina) es un opiáceo capaz de reducir en un 50% la hiperglucemia del estrés de la rata. Esto es válido para la met-enkefalina endógena y exógena. La respectiva publicación estuvo entre las primeras sobre la influencia de un opioide en el metabolismo hidrocarbonado. Se demostró que actúa por estimulación de los alfa adrenoreceptores centrales (contrarios a los beta, que son estimulados por el estrés) (22).

### Función antiinsulinica de la $\alpha 2$ -glicoproteína plasmática humana o "inhibidor- $\alpha 2$ " (23-26)

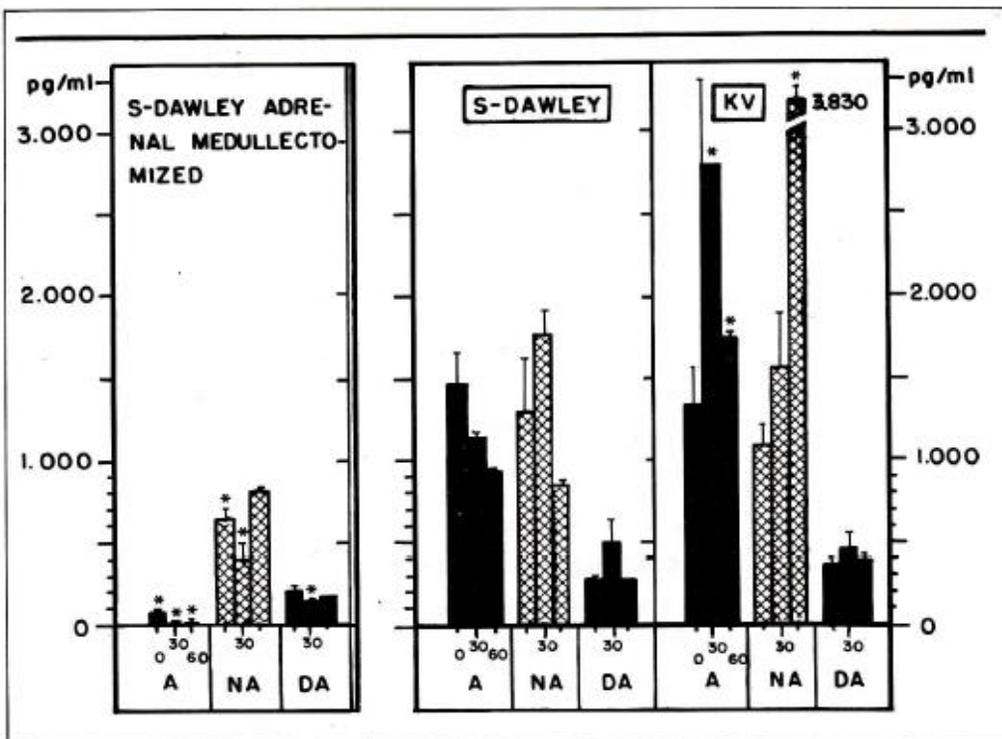
Esta  $\alpha 2$ -glicoproteína inhibe la captación de la glucosa del diafragma aislado (Figura 12-a) y la secreción de insulina de la rata, con producción de hiperglucemia (Figura 12-b). Depende de la hormona de crecimiento (STH) (27) y aumenta su actividad si se induce la secreción de STH por medio de clorpromazina (Figura 11), o si se inyecta



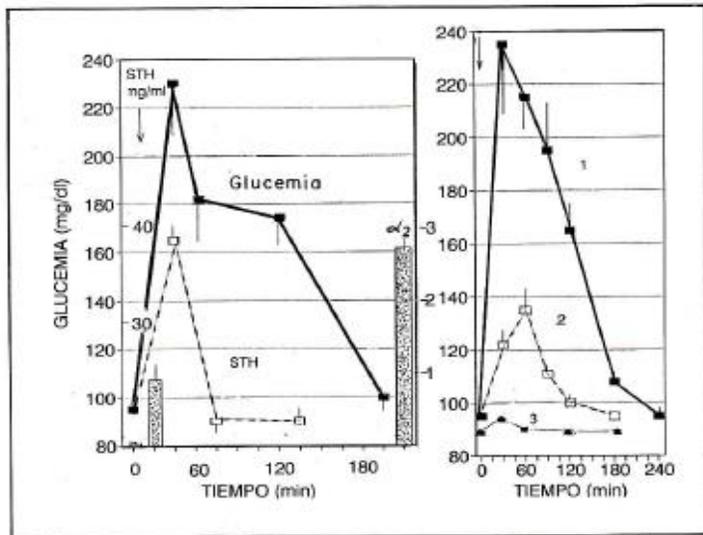
**Figura 8**  
Rata diabética "normalizada" (aglicósúrica) con tratamiento de insulina, presenta hipoglucemia paradójica ante el estrés por contención o por administración de opioide (tiempo 0). Glucemia = variación porcentual. 1. Rata normal + estrés; 2. diabética, variación espontánea; 3. diabética + salino i.v.; 4. estrés en rata diabética tratada con insulina; 5. idem + cortisol; 6. idem + endorfina; 7. idem + enkefalina; 8. idem + cortisol + enkefalina. Cortisol y met-enkefalina por vía I.P. y beta-endorfina I.V. Dosis: 200  $\mu$ g/100 g. Cortisol y met-enkefalina reproducen el efecto hipoglucémico del estrés, poseyendo ambas sustancias similar actividad, sin sinergismo. Beta-endorfina carece como opioide del efecto enkefalina, aunque actúa a los 15 minutos. En colaboración con ME Kawada y J Gutiérrez.



**Figura 9**  
Cambio genético del sistema adrenérgico de la rata Sprague-Dawley (Vivero de la Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile). Se muestra el aumento de noradrenalina de la médula adrenal de la rata variedad genética KV, con respecto a la rata de la cepa stock original, junto con hipertrofia adrenal. Existe una tendencia al aumento de adrenalina sin alcanzar significación estadística. En colaboración con P Alessandri, A Daniels y ME Kawada.



**Figura 10**  
Aumento de catecolaminas plasmáticas en la rata KV sometida a estrés de contención (derecha). Se compara con la cepa stock (centro). El mayor aumento de noradrenalina es coincidente con el mayor contenido encontrado en la médula adrenal (Figura 9). Se agrega el efecto de la medulectomía adrenal (izquierda) que confirma lo ya demostrado: supresión de adrenalina y mantención del 70% de noradrenalina, que tiene origen periférico, extrasuprarrenal. A: adrenalina; NA noradrenalina; DA dopamina. Abscisa: tiempo en minutos. En colaboración con A Foradori y ME Kawada.



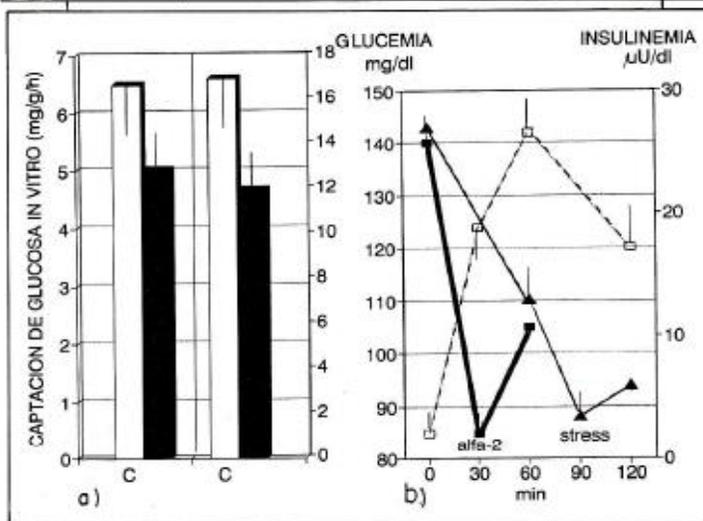
**Figura 11**  
Efecto diabetogénico de clorpromazina en rata normal y su neutralización por somatostatina. Ordenada: Glucemia mg/dl, STH ng/ml y concentración de inhibidor- $\alpha$ 2 medido como captación muscular de glucosa/error estándar. Flechas: momento de administración. Izquierda: clorpromazina (6,9 mg/100 g, S.C.) produce intensa hiperglucemia con glucosuria, más estimulación de hormona de crecimiento (STH), que induce aparición del inhibidor- $\alpha$ 2. Derecha: intensa hiperglucemia por CPZ I.C.V. (50  $\mu$ g/100 g) que es neutralizada por 1 ng/100 g de somatostatina I.C.V. ( $p < 0,001$ ). 1. control; 2. somatostatina; 3. solución salina. Con la colaboración de ME Kawada, L Aguilera, A Ortúzar y D Videla.

STH (23). El inhibidor  $\alpha$  aumenta frente a la hipoglucemia patológica o experimental (28) (Figura 13) y en dosis farmacológica provoca hiperglucemia que se normaliza a los 120 minutos.

Se logró alta purificación del inhibidor- $\alpha$ 2 por cromatografía de afinidad del sobrenadante obtenido por precipitación fraccionada de la muestra, por medio del sulfato de amonio.

**Figura 12**  
Propiedades del inhibidor- $\alpha$ 2.  
a) Test *in vitro*: inhibición de la captación de glucosa del diafragma de animales normales. Columnas de la izquierda: hemidiafragma de rata ( $p < 0,05$ ). Columnas de la derecha: diafragma entero de ratón ( $p < 0,005$ ). Captación = mg glucosa  $\times$  g $^{-1}$  diafragma  $\times$  hora $^{-1}$

b) Inhibición de la secreción de insulina y producción simultánea de hiperglucemia, en rata P-80%, por la administración I.P. de 50  $\mu$ g/ml del inhibidor- $\alpha$ 2. Línea punteada: glicemia; línea continua gruesa: insulinemia. La línea continua delgada ilustra la insulinemia postestrés, como comparación.  $p < 0,001$  para puntos del mayor descenso de la insulinemia. En colaboración con U Bronfman y ME Kawada, tomado de referencia 23.



### Implantación subcutánea de insulina

Fue una investigación pionera, exigente en creatividad y trabajo, realizada con los Drs. O. Koref, J. Lewin, L. Silva, A. Winter.

Me basé en la hipótesis de que tal vez la implantación S.C. de "pellets" de insulina diera resultados tan favorables como los obtenidos con las hormonas esteroideas (29). Era prerequisite que existiera una concentración basal permanente de insulina, idea contrapuesta a lo más aceptado, que postulaba desaparición en los descansos alimentarios para evitar hipoglucemias. Los primeros experimentos en conejos con implante de insulina pura demostraron que ésta, al ser hidrosoluble, se hidrataba y absorbía en tres días, provocando hipoglucemia.

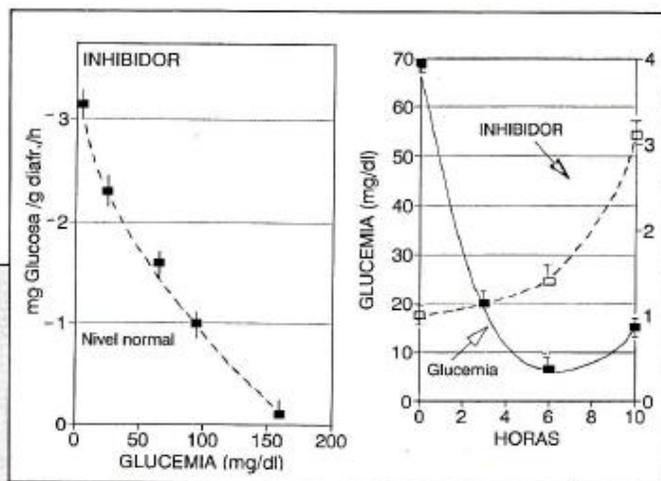


Figura 13

**Propiedades del inhibidor- $\alpha$ 2.**

**Izquierda: aumento proporcional del inhibidor en relación con magnitud de la hipoglucemia.** Los datos corresponden, respectivamente, a pacientes con hepatoma; hipoglucemia recién nacido; absceso parapancreático; individuos normales adultos ( $n = 14$ ) y pacientes con diabetes insulino dependiente ( $n = 10$ ). Inhibición de captación muscular de glucosa, en valores negativos. Datos tomados de L Vargas, I Faerman, M Charln, V Bakovic. Arch Biol Med Exper, 1969; 6:54-56.

**Derecha: caso del hepatoma:** en crisis hipoglucémica se observa correlación temporal inversa entre glucemia e inhibidor- $\alpha$ 2. Existe una tendencia al ascenso de la glucemia cuando el inhibidor está en el mayor nivel.

Los experimentos con insulina insoluble en medio acuoso, con protamina-zinc-insulina, demostraron una absorción promedio de 100 días, sin producción de hipoglucemias y con una absorción diaria del 1%. Estos extensos experimentos dieron la pauta para su aplicación en pacientes diabéticos (30), a algunos de los cuales se les mantuvo sin inyecciones de insulina mediante un solo implante durante 60 a 70 días (31). La repetición inmediata del implante insulínico reveló una creciente menor duración, por lo cual no resultó práctica su aplicación (Figura 14). Pero la diabetes tuvo mejor control glucémico y glucosúrico, junto con mejor tolerancia a la glucosa, confirmando la mayor actividad de la administración continua. A la mejoría metabólica se acompañó beneficio psicológico y tisular. Recuerdo, por ejemplo, a una paciente diabética insulino dependiente con úlcera recidivante supurada del pie, que estaba en lista para ser amputada. El cirujano aprobó el ensayo del implante, observándose tan rápida cicatrización, que se evitó la operación (Figura 1, referencia 31). Fue emocionante asistir a la primera implantación de 2.123 UI que, por ser el primer caso, correspondía sólo al 50% de la dosis total calculada para reemplazar la dosis de insulina inyectada diariamente. Visto que los resultados seguían la evolución prevista y sin hipoglucemia, se implantó el otro 50%, obteniéndose completa normalización glucémica.

Y un hecho anecdótico: investigadores ingleses no supieron preparar el complejo protamina e insulina a pH 7,3 y mezclaron ambos componentes en seco, en forma de polvo, en el mortero. Raro desconocimiento, en investigadores de un país tan avanzado, de un hecho ya establecido por Hagedorn. Con semejante método no obtuvieron el efecto prolongado.

Se necesitó esperar unos veinte años para que con el advenimiento del radioinmunoensayo de Berson y Yalow se demostrara que existe una concentración basal de insulina. Y unos veinticinco años para corroborar la mayor efectividad de la administración continua de la insulina, al emplear el método de la bomba con catéter introducido en el celular subcutáneo.

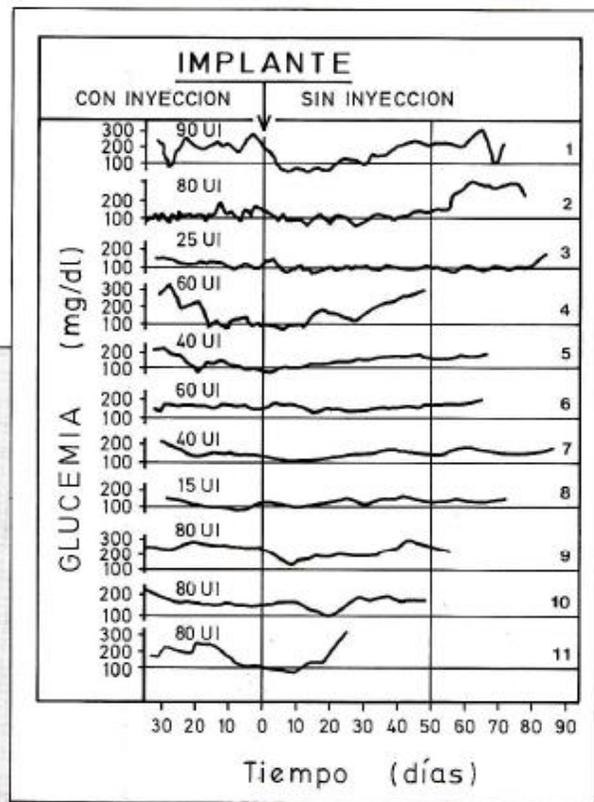


Figura 14

**Implante subcutáneo de insulina.** Curvas glucémicas de 11 diabéticos insulino dependientes, tratados con un solo implante S.C. de protamina-zinc-insulina + colesterol 50% (5 mujeres y 6 hombres). La dosis del implante fue calculada como múltiplo 100 de la dosis diaria de insulina, basado en el dato experimental del 1% de absorción diaria del implante en el conejo. El caso 10 recibió el mayor implante (26.800 UI múltiplo de 167). El caso 11 ilustra la menor duración del efecto al repetir de inmediato el implante subcutáneo, una vez cesado el efecto del implante anterior. Las curvas se suspenden cuando se reinician las inyecciones. Los dos primeros casos fueron estudiados durante su hospitalización. Tomado de L Vargas y L Silva. Acta Physiol Latinoamer, 1955; 5:10-21.

**DEFINICION DE ESTRES E IMPACTO CONCEPTUAL**

Por haber sido importante el estrés en la indagación sobre diabetes, hacemos un alcance a su definición, que de una manera sintética refleje el estado del conocimiento. La definición última y definitiva dada por Selye, de "reacción inespecífica del cuerpo ante cualquier demanda", nos parece equivocada, porque no es inespecífica, ya que en forma específica responde el sistema adrenérgico e hipotalámico-hipofisario. Lo que sí es inespecífico es el estresor. Además, "cualquier demanda" es ambigua, pudiendo referirse al reflejo, por ejemplo, para el cual calza toda la definición. A diferencia de la definición excesivamente descriptiva que originalmente proponíamos (32), llegábamos a definir el estrés "como respuesta neuroendocrina típica ante cualquier estresor" (33), donde "estresor" superaba en precisión a "demanda".

Hoy proponemos definir el estrés desde un punto de vista muy diferente. Porque lo que ocurre en el medio interno son cambios fisiológicos (hormonales, enzimáticos, hematológicos e inmunitarios), que llamamos estrés "mirado por dentro", y que es sólo parte del asunto. Porque lo que más cuenta es la respuesta integrada, es decir, el comportamiento, donde lo básico, atacar o arrancar (6), es gatillado por el estrés, ahora "mirado desde fuera" y con la percepción de tensión psicológica.

Sin relatar los experimentos que dieron énfasis al comportamiento, diré que ellos modificaron nuestro concepto global sobre estrés.

Debe tenerse presente que el estrés es un programa fijado en los genes, dicese instintivo, y que por lo tanto se nace con él (34), noción fundamental que nosotros vislumbramos a través de las variaciones de la hormona melanocito-estimulante, inducidas por el estrés en la madre e hijo en el momento de nacer (35).

El programa responde a la amenaza que pone en peligro la integridad psicofísica.

Nuestra concepción actual define al estrés como "el comportamiento heredado, defensivo y adaptativo ante la amenaza" (33). Vemos que ya ni figura el sistema endocrino que tanto nos interesó en la mayor parte del trayecto. Sucesión típica en Ciencia, donde la superposición de los conocimientos va dejando la base en el olvido.

### LO QUE NO PUDO REALIZARSE

Se trata de un sueño de los años 44-45 que no pudo hacerse realidad, pero que pienso que podría haber sido una importante investigación en el tema del trasplante pancreático en el niño diabético.

Pretendía seguir el siguiente plan:

- Obtención del páncreas humano con la mayor capacidad adaptativa (por ejemplo: feto nacido muerto).
- Cultivar *in vitro* a 37° C en cápsulas de petrim trocitos de páncreas, al principio en el plasma del dador.
- Reemplazo progresivo del medio de cultivo, por el plasma del niño diabético receptor.
- Implantación de los trocitos pancreáticos ya adaptados en el bazo del receptor, para tener absorción directa al hígado.

Pensábamos que al cultivar el páncreas en el plasma del receptor, se adaptaría a sus proteínas específicas, evitando la formación de anticuerpos y el rechazo.

Yo había estudiado el cultivo celular *in vitro* en el Wistar Institute de Filadelfia y sabía que se podía reproducir en Santiago.

El animal de elección era el perro

El injerto intraesplénico del páncreas fue bien tolerado, encontrándose en perfectas condiciones al examen histológico después de doce días. Primer paso iniciado con el Dr. Alberto Lucchini, que tuvo que interrumpirse por la escasez presupuestaria y por las deficientes condiciones ambientales e higiénicas del vivero. En una visita al Laboratorio CIBA en Nueva York, se me había advertido que no hiciera investi-

gación en perros si no tenía vivero con territorio fuera de la jaula, porque era necesario para la mantención normal del animal, que saliera a caminar y tomar contacto con el exterior. Nuestra decisión estaba justificada, y nos consolamos pensando que la mala calidad ambiental habría mantenido estresados a los animales, interfiriendo posiblemente en los resultados.

Alrededor de 1975, connotados investigadores estadounidenses, especialmente del grupo de P.E. Lacy, demostraban que el cultivo *in vitro* de los islotes pancreáticos, previo al trasplante, era el mejor procedimiento para disminuir el rechazo, procedimiento usado hasta el presente (36-37). En el periodo del cultivo *in vitro*, desaparecían los linfocitos matadores (37). Esta interesante explicación difería de la propuesta por nosotros, no investigada por ellos y que aún no aparece propuesta.

Me impresiona comprobar que nuestra idea principal merecía ser ensayada... unos treinta años atrás y que tal vez aún hoy día procedería intentar investigarla.

**Reflexión:** La escasez de medios materiales inhibe el progreso científico.

El buen vivero llegó cuando mi carrera científica estaba por terminarse.

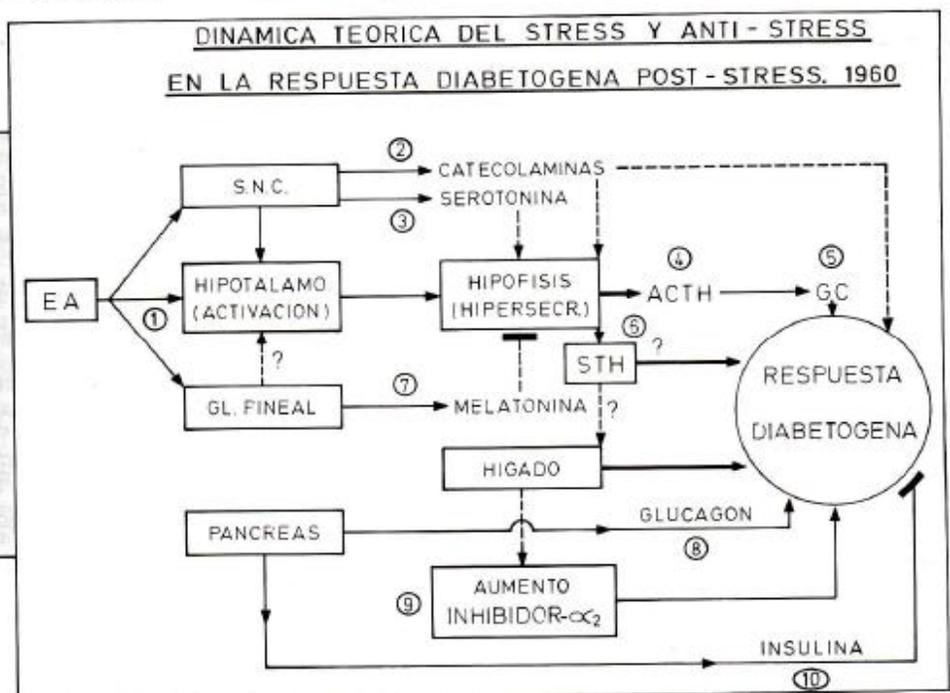
**Corolario:** El científico del Tercer Mundo se encuentra en inferioridad de condiciones para producir Ciencia, lo cual contribuye al atraso científico y del desarrollo de ese Mundo. Aunque algo se produce, esto no quita lo que puede perderse al no poder realizar ideas costosas y de alto riesgo. Pero felizmente Chile ha mejorado en los medios en los últimos años.

### PROGRAMA PARA INVESTIGAR LA POTENCIALIDAD DIABETOGÉNICA DEL ESTRÉS

Representó un intento de orden en el aparente desorden en que se realiza la investigación. La Figura 15 resume el plan que trazáramos en 1960 sobre los factores que podrían influir en la potencialidad diabétogénica del estrés y su posibilidad de realización. Todos los factores que figuran en el diagrama fueron explorados. Sirvió de base para llegar al experimento más decisivo descrito anteriormente. El diagrama fue un instrumento de trabajo interno, no publicado. Pareció propicio incluirlo ahora que procuramos dar una visión general sobre esta línea de investigación.

Figura 15

Diagrama teórico de los factores que en 1960 se postuló que podrían influir en el efecto diabétogénico del estrés.



## AGRADECIMIENTOS

Sin la noble rata, nada podría haberles relatado. Está entonces en nuestro agradecimiento, con el pensamiento de lo que se pudo aprender con tan sencilla investigación.

Agradecido de la Endocrinología, cuyo rápido desarrollo nos sugirió muchas de las ideas en esta línea de investigación, como también en la tumorigénesis y antitumorigénesis.

Me veo limitado para agradecer a los colaboradores por haber sido numerosos y con distinta intensidad de participación. Nombro a María Eugenia Kawada por haber sido colaboradora creativa y crítica de prácticamente todos los experimentos realizados en los últimos veinticinco años.

Menciono a los talentosos estudiantes de Medicina por su excelente colaboración y gratas experiencias. Algunos aparecen como coauto-

res en las referencias aquí citadas. La creación en 1945 del Seminario Práctico-Científico de Fisiopatología, interesantemente perfeccionado por los Drs. Federico Leighton y Héctor Orrego en 1965, abrió una oportunidad para que el estudiante aprendiera en forma práctica cómo se hace investigación científica, al trabajar en calidad de ayudante al lado de un investigador (38).

Agradecimiento especial a la Escuela de Medicina por la efectiva comprensión para este tipo tutorial de docencia, primero en su género en nuestro país, y que me parece tuvo repercusión formativa en muchos de los responsables del desarrollo científico de nuestra institución.

Y gracias por la oportunidad conferida para narrar algo sobre lo que podría llamar "mi" diabetes. La Facultad de Medicina ha sido parca para publicar su historia. Estas páginas pueden ayudar a completar algún punto del vacío.

## REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Vargas L. Respuesta diabética del postestrés. *Rev Méd Chile*, 1976; 104:644-650
2. Koref O, Vargas L, Telchi A. Aloxa y compuestos afines en la diabetes experimental. *Rev An Soc Biol (Bogotá)*, 1946; 2:92-96.
3. Koref O, Vargas L, Rodríguez H, Telchi A. Alloxantin as a diabetogenic agent in rabbits. *Endocrinol*, 1944; 35:391-393.
4. Selye H. The general adaptation syndrome and the diseases of adaptation. *J Clin Endocrinol*, 1946; 6:117-127.
5. Selye H. The story of adaptation syndrome. Acta Inc, Montreal, Canada, 1952.
6. Cannon WB. Bodily changes in pain, hunger, fear and rage. 2nd edition, NY, D. Appleton and Co., 1929.
7. Selye H. The stress in health and disease. Butterworths, Boston, London, 1976. En la página 1040 comenta el trabajo citado en la referencia 23.
8. Romero G, Valdés EM, Yáñez MT, Kawada ME, Vargas L. Stress hyperglycemia response after central and peripheral monoaminergic neuron destruction, or adrenal catecholamines deprivation. *Arch Biol Med Exp*, 1982; 15:339-345.
9. Vargas L. Fisiopatología del coma acidótico. II Congreso Latinoamericano de Diabetes, Asunción, Paraguay, 1974.
10. Capponi R, Carrasco T, Navarrete I, Ramos M, Reyes J, Sandoval S, Varela C, Kawada ME, Vargas L. Papel epigenético del stress de origen ambiental en la etiología de la diabetes. *Rev Méd Chile*, 1979; 107:523-533.
11. Capponi R, Kawada ME, Varela C, Vargas L. Diabetes mellitus by repeated stress in rats bearing chemical diabetes. *Horm Metab Res*, 1980; 12:411-412.
12. Arteaga A, Soto S. Emergencias en diabetes. *Rev Asist Pública*, 1975; 4:20
13. Hinkle LE, Conger CB, Wolf S. Studies on diabetes mellitus: relation of stressful life situations to the concentration of ketone bodies in the blood of diabetic and nondiabetic humans. *J Clin Invest*, 1950; 29:754-759.
14. Díaz de la Vega J, Del Valle J, Kawada ME, Vargas L. Correlación entre comportamiento y respuesta humoral de la rata sometida a estrés de inmovilización. *Arch Biol Med Exper*, 1987; 20:R 194.
15. Vargas L, Paredes O, Kawada ME. Inhibición de la activación simpático-adrenal y de la hiperglucemia del estrés por glipizide VI Congreso Latinoamericano de Diabetes, Quito, Ecuador, 1986.
16. Albertini R, Vargas L. Intravesical catheterization through the urethra induces stress hyperglycemia in conscious rat. *Horm Metab Res*, 1990; 22:449-450.
17. Vargas L. Bases neuroendocrinas del estrés. En: Goic A: Aspectos psicopatológicos de enfermedades comunes. Series Clínicas Soc. Médica de Santiago, 1982; 1(2):21-40.
18. Weitzman EC, Ursin H. Growth hormone in coping process. En: Ursin H, Brade E, Levine S, ed.: *Psychobiology of stress. A study of coping men.* Behavioral Biology An International Series, Academic Press, NY, 1975; 91-97.
19. Vargas L, Kawada ME, Gutiérrez J. Acute hypoglycemic in diabetic rats produced by restraint stress or met-enkephalin administration. *Diabetes Res and Clin Pract, Suppl 1, Abstract 1514, XII Congr Internat Diab Fed, Madrid, Elsevier, 1985.*
20. Vargas L, Nonaka NO, Kawada ME. Genetical adrenergic changes in a variety of rats hyperreactive to stress. *Ibid, Abstract 1516, 1985.* Kawada ME, Vargas L. Décima generación filial de un linaje de rata con susceptibilidad al estrés y a "diabetes química". V Congreso Latinoamericano de Diabetes, Santiago. *Rev Med Chile*, 1983; 111(8): 23.
21. Vargas L, Kawada ME, Aguilera L, Ortúzar A, Videla D. Clorpromazina y respuesta diabética poststress de la rata. VIII Congreso Panamericano de Endocrinología, Buenos Aires, Argentina, 1974.
22. Sánchez R, Vargas L. Inhibition of stress-induced hyperglycemia by tail-pinching or intraventricular enkephalin administration in the rat. *Brain Res*, 1988; 252:149-155.
23. Vargas L, Bronfman M, Kawada ME. Stress, insulin antagonist and transient diabetes mellitus in the rat. *Horm Metab Res*, 1974; 6:275-280.
24. Vargas L, Charlin M. Cinética de la captación de glucosa del diafragma aislado de la rata en presencia de insulina e inhibidores- $\alpha$ 2. *Acta Physiol Latinoamer*, 1966; 16(Suppl 1):132.
25. Vargas L, Bronfman M, Foradori A. Identification of the  $\alpha$ 2-glucose inhibitor with  $\alpha$ 2-glycoproteins. VII International Congress on Diabetes, Buenos Aires, Excerpta Med Internat Congress Series 209, Abstract 182, 1970.
26. Vargas L, Bazaes S, Kawada ME, Silva E. Plasma anti-insulin  $\alpha$ 2-glycoprotein: a neighbor molecule to C1-esterase inhibitor (C1-INH). *Diabetes Res and Clin Pract, Suppl. 1, Abstract 1514, XII Congr Internat Diab Fed, Madrid, Elsevier, 1985.*
27. Taylor KW, Vargas L, Randle PJ. A pituitary-dependent inhibitor of glucose uptake by muscle in protein fractions of human plasma. *Lancet*, 1960; 1:1313-1315.
28. Vargas L, Kawada ME. Somatomedin,  $\alpha$ 2-inhibitor and hypoglycemic stress. *Horm Metab Res*, 1985; 17:259. Short communication.
29. Lipschutz A, Vargas L. Experimental tumorigenesis with subcutaneous tablets of oestradiol. *Lancet*, 1939; 1:1313-1318.
30. Vargas L, Koref O. Retarded absorption of pellets of piroctamine zinc-insulin. *J Clin Endocrinol*, 1949; 9:818-827.
31. Vargas L. Subcutaneous implantation of insulin in diabetes mellitus. *Lancet*, 1949; 1:598-601.
32. Vargas L. Stress desde el Angulo Fisiopatológico. Edit. Universidad Católica de Chile, Santiago, 1977.
33. Vargas L. Discusión teórica del estrés y su proyección a la patología. *Acta Pharmacol Physiol*, 1988; 38:369-375.
34. Lagercrantz H, Slotkin TA. The "Stress" of Being Born. *Sc Amer*, 1986; 92:102.
35. Vargas L. Influencia de diferentes tipos de tensión o violencia sobre el nivel sanguíneo de hormona melanofórica hipofisaria en el hombre. *Arch Biol Med Exper*, 1981; 1:210-215.
36. Keding M, Haffan K, Grenier J et al. In vitro culture reduces immunogenic of pancreatic endocrine islets. *Nature*, 1977; 736.
37. Lacy PE, Davie JM, Finke EH, Scharp DW. Prolongation of islets allograft survival. *Transplantation*, 1979; 27:171-174.
38. Leighton F, Orrego H, Vargas L. Introducción práctica de los estudiantes de Medicina a la investigación biomédica. *Educ Med Salud, OPS (Washington)*, 1981; 15:219-231.