

# INSULINA IMUNOREATIVA EM LÍQUIDOS BIOLÓGICOS<sup>1\*</sup>

**HÉLION PÓVOA JR., M. T. L. REZENDE, A. C. SOUZA, M. C. PATURY,  
P. C. ALMEIDA e L. SARGENTELLI.**

Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, Guanabara  
(Com 5 figuras)

**SUMÁRIO:** No presente trabalho, estudamos a insulina imunoreativa no sangue, urina e sêmen de 138 indivíduos. No sangue, verificamos a secreção de insulina em indivíduos normais e com diferentes afecções endócrinas. Na urina, estudamos a clearance de insulina em normais, assim como a possibilidade da existência de correlação entre insulinúria e proteinúria. Finalmente, estabelecemos os valores de insulina no sêmen de amostras humanas normospérmicas e azoospérmicas.

**I**NÚMERAS revisões têm surgido, ultimamente, sobre a secreção de insulina no homem. Dentre elas, avulta a de Porte, dando uma visão perfeita sobre os diferentes fatores envolvidos na liberação de insulina<sup>(13)</sup>.

Esta secreção é a resposta das células beta das ilhotas de Langerhans a um substrato como a glicose. O jejum provoca diminuição nos níveis de glicose e insulina imunoreativa (IIR) no sangue.

A insulinemia varia, rapidamente, com diferenças mínimas de glicemia. A injeção endovenosa de glicose provoca hiperinsulinemia após dois minutos, atingindo um pico entre três e cinco minutos.

Resumiremos alguns fatores envolvidos na secreção da insulina: glicídeos (glicose, frutose, sorbitol)<sup>(3)</sup><sup>(10)</sup><sup>(20)</sup>, aminoácidos<sup>(13)</sup><sup>(28)</sup>, ácidos graxos e entero-hormônios (glucagon intestinal, secretina e pancreozimina)<sup>(19)</sup>. O aumento de catecolaminas leva a uma inibição da secreção hormonal<sup>(13)</sup>.

Níveis elevados de IIR ocorrem na obesidade e insulinoma<sup>(1)</sup><sup>(16)</sup>. No diabetes mellitus, existe deficit de insulina, embora encontremos níveis elevados de insulina basal. Não existe de fato um "hiperinsulinismo", já que a secreção se encontra diminuída após estímulo pela glicose oral<sup>(4)</sup><sup>(16)</sup><sup>(17)</sup>.

<sup>1</sup> Recebido para publicação em 1 de agosto de 1973.

\* Trabalho realizado no Laboratório de Bioquímica da Light R.R., Seção de Imunologia do Instituto Estadual de Diabetes e Endocrinologia, SUSEME, GB. Departamento de Química e Terapêutica Experimental, Laboratório de Bioquímica, Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro — Brasil.

O coeficiente de insulino-secreção é um índice preciso e sofisticado: relação da insulinemia medida/glicemia dada pela insulinemia normal para este mesmo valor glicêmico (previamente estabelecida em indivíduos normais); seria um índice satisfatório de função beta insular (4).

Circula a insulina no sangue sob duas formas: uma livre (similar à cristalina) de baixo peso molecular (6000) e outra, em menor quantidade, encontrada em concentração elevada no insulinoma (proinsulina: peso molecular 9000). Ambas são imunologicamente reativas (IIR). ANTONIADES descreve outra insulina, não imunoreativa, de peso molecular compreendido entre 40000-60000 ("bound insulin") (2).

Embora já tenham surgido algumas publicações sobre o estudo da insulina na urina, os resultados são controversos e as interpretações duvidosas.

Em 1948, MIRSKY et al., usando técnicas de dosagem hoje obsoletas, estabeleceram que a insulinúria era mínima e apenas 1% da insulina produzida seria excretada pela urina (9).

O uso de técnicas radioimunológicas permitiu que estes estudos fossem atualizados. JORGENSEN verificou um certo paralelismo entre os níveis plasmáticos e urinários de insulina em ratos (6). O mesmo observou FRASER, o qual estabeleceu que, com função renal íntegra, esta correlação se observava, aumentando a clearance na lesão renal (5).

Alguns autores admitem valores muito baixos de insulinúria, explicando isto pela existência de insulina cir-

culante como um polímero de alto peso molecular (36000) (18).

O trabalho de MARSHALL, demonstrando a possibilidade de reabsorção tubular maciça de proteínas de baixo peso molecular como a insulina e a ribonuclease, sugere uma possível participação tubular na eliminação da insulina, o que explicaria as baixas clearances deste hormônio (8).

Embora a insulina tenha sido exaustivamente dosada no sangue e bem menos na urina, sobre outros líquidos biológicos (bile, líquido cefaloraquiano), encontramos escassas referências a respeito de IIR. Quanto ao conteúdo de insulina no sêmen, não encontramos dados na literatura mundial.

No presente trabalho, estudamos a IIR em indivíduos submetidos à curva glicêmica (0, 60, 120 e 180 minutos após sobrecarga de glicose: 100 g) num total de 56 casos. Destes mesmos indivíduos, o coeficiente de insulino-secreção era estabelecido e comparados os valores em relação aos normais.

Também estudamos a insulinúria em condições basais, assim como a clearance de insulina em indivíduos normais (ou não) num total de 47 amostras. Comparamos os valores de IIR na urina com a proteinúria e clearance de creatinina (os resultados encontrados na literatura são um tanto confusos e controversos).

Finalmente, dosamos a insulina no sêmen de indivíduos normospermicos e azoospermicos, num total de 35 casos.

## MATERIAL E MÉTODOS

a) *Insulinemia:*

Realizamos, em todos os pacientes estudados, curva glicêmica com colheitas aos 0, 60, 120 e 180 minutos, após ingestão oral de 100 gramas de glicose.

A glicemia foi dosada pelo método de Nelson (<sup>12</sup>), enquanto a IIR o era pelo método de Morgan e Lazarow modificado (<sup>11</sup>) (<sup>14</sup>) (a técnica por ser extremamente simples e ainda pouco realizada em nosso meio, será descrita pormenorizadamente mais adiante). De acordo com a curva (padronizada pelo Serviço de Saúde Pública nos Estados Unidos da América do Norte), a interpretação é a seguinte:

1<sup>a</sup> amostra:

Glicemia em jejum  $\geq 110$  mg%  
— 1 ponto

2<sup>a</sup> amostra:

Glicemia após 60 minutos  $\geq 170$  mg%  
— 1/2 ponto

3<sup>a</sup> amostra:

Glicemia após 120 minutos  $\geq 120$  mg%  
— 1/2 ponto

4<sup>a</sup> amostra:

Glicemia após 180 minutos  $\geq 110$  mg%  
— 1 ponto

0,5—1,5 pontos — diabetes suspeito

2 pontos — diabetes certo

A ausência de diabetes pode ser confirmada, estando as glicemias abaixo dos seguintes valores:

Glicemia em jejum  $\leq 100$  mg%

Glicemia após 60 minutos  $\leq 150$  mg%

Glicemia após 120 minutos  $\leq 110$  mg%

Glicemia após 180 minutos  $\leq 100$  mg%

Os valores são para glicose verdadeira.

Calculamos, para cada indivíduo, o coeficiente médio de insulino-secreção (CIS) da seguinte maneira:

Primeiramente, estabelecemos os valores médios normais de I/G (insulinemia/glicemia) para cada amostra (0, 60, 120 e 180 minutos). A seguir, nos casos não-normais, obtivemos, para cada indivíduo, 4 relações I/G (0, 60, 120 e 180 minutos), dividindo-as pelas 4 normais respectivas. Apuramos, assim, 4 valores que foram multiplicados por 100. A seguir, determinamos os 4 logaritmos (correspondentes a estes valores), calculando então a média aritmética dos logaritmos. Este é o coeficiente médio de insulino-secreção.

$$\text{CIS} = \frac{\log (\text{I/G achado})}{\text{I/G normal}} \cdot 100 \quad (4)$$

b) *Insulinúria:*

Estudamos a insulinúria em 47 homens divididos em 2 lotes: no primeiro (26 casos), dosamos a insulina na primeira amostra da manhã, juntamente com a proteína, visando detectar possível correlação entre ambas; no segundo, determinamos a clearance de insulina (4 horas de duração) em 10 indivíduos normais, 6 indivíduos obesos (não-diabéticos) e 5 normoponderais apresentando hiperlipoproteinemia tipo IV de Fredrikson (esta hiperlipoproteinemia se encontra estreitamente associada ao diabetes mellitus). Todos estes apresentavam função renal íntegra; procuramos estabelecer alguma possível correlação entre insulinúria e insulinemia ou proteinúria.

O método usado para a dosagem de IIR foi o mesmo aplicado ao sangue (<sup>14</sup>).

c) *Insulina no sêmen:*

Utilizamos, em nosso trabalho, 35 amostras de sêmen colhidas manualmente, após abstinência sexual de 5 dias, e examinadas, logo após, para se aferir a qualidade do sêmen: Contagem global e específica, motilidade após 1, 2, 6 e 24 horas a 4°C, volume, pH, viscosidade, assim como a dosagem da frutose e transaminase glutâmico oxaloacética seminais. Estes testes apresentam grande importância para aferição da qualidade do esperma (<sup>15</sup>).

As amostras foram divididas em 2 grupos: 18 normospérmicas (contagens acima de 50 milhões/ml) e 17 azoospérmicas. O material para IIR tem que ser imediatamente congelado ou então adicionamos trasyolol, já que a insulina é rapidamente degradada por enzimas proteolíticas à temperatura ambiente.

#### Técnica:

O método usado para a dosagem de insulina foi o de Morgan e Lazarow modificado e adaptado por nós às condições encontradas em nosso meio em vista da dificuldade de obtenção de alguns reagentes <sup>(11)</sup> <sup>(14)</sup>.

Procuramos vencê-las, lançando mão de substâncias facilmente encontradas no Brasil, visando a impedir possível solução de continuidade em nossos estudos.

#### REAGENTES:

##### a) Tampão:

8,25 g de ácido bórico  
30 g de albumina bovina  
2,7 g de hidróxido de sódio  
3 ml de ácido clorídrico concentrado.

Completar a 1 litro com água destilada. Acertar a pH 8,0.

##### b) Padrão de insulina:

Estoque (10 mU/ml) — usamos insulina de porco liofilizada do "kit" da Hoechst (compramos este "kit" para insulínia que consiste em insulina padrão, insulina marcada e antiinsulina). Diluímos o conteúdo do frasco (10 mu) em 1 ml de tampão (estável no congelador).

##### c) Padrão diluído:

Dissolver a 1:10 o estoque em tampão (1 mU/ml). Utilizamos 7 padrões em duplicata, que são preparados da seguinte maneira: no primeiro tubo, colocar 1,84 ml de tampão e nos outros 1 ml. A seguir, jun-

tar 0,16 ml do padrão diluído. Misturar e pipetar 1 ml para o segundo tubo. O mesmo para o terceiro e assim até o sexto tubo, quando misturamos, retiramos e desprezamos 1 ml.

#### Teremos então:

1.º tubo: 80 microunidades /ml  
2.º tubo: 40 microunidades /ml  
3.º tubo: 20 microunidades /ml  
4.º tubo: 10 microunidades /ml  
5.º tubo: 5 microunidades /ml  
6.º tubo: 2,5 microunidades /ml  
7.º tubo: 0 microunidades /ml

Como os padrões são feitos em duplicata, teremos 14 tubos "standard".

##### d) Antiinsulina (1.º anticorpo):

Podemos usar a antiinsulina da Hoechst, dissolvendo o conteúdo do frasco em 25 ml de tampão (estável no congelador).

##### e) Insulina marcada ( $I^{125}$ ):

Usar a insulina da Hoechst diluindo-se o conteúdo do frasco em 25 ml de tampão. Como contém 2 mU, teremos 80 microunidades/ml (4-8 microcuries/mU).

Deve-se dissolver o conteúdo logo após o recebimento, já que o  $I^{125}$  lesa rapidamente a molécula de insulina. Pode ser usada até 2-3 meses depois de recebida, já que embora haja o "decay" radioativo, contamos as radiações gama por um tempo maior.

##### f) Segundo anticorpo (soro de coelho anti-soro de cobaia):

Usamos o anti-soro da Hoechst, facilmente encontrado no Brasil.

O mesmo não pode infelizmente ser dito dos anti-soros da Hyland, Sylvania e Miles, por nós já testados e de ótima qualidade.

Diluímos o anti-soro a 1:1 em tampão.

O 2.º anticorpo pode ser facilmente preparado do seguinte modo: injetar no músculo posterior do coelho 0,5 ml de uma

mistura 1:1 de soro de cobaia e gel de hidróxido de alumínio (usamos o produto Gel Hydral, um antiácido). 10 dias depois, repetir a injeção (0,8 ml da mistura). 15 dias depois, injetar 0,5 ml de soro puro. Sangrar uma semana depois. Testamos o anti-soro contra soro fresco de cobaia, por imunoelectroforese.

Para manter-se o coelho imunizado, basta injetar-se 0,5 ml de soro de cobaia uma vez por mês.

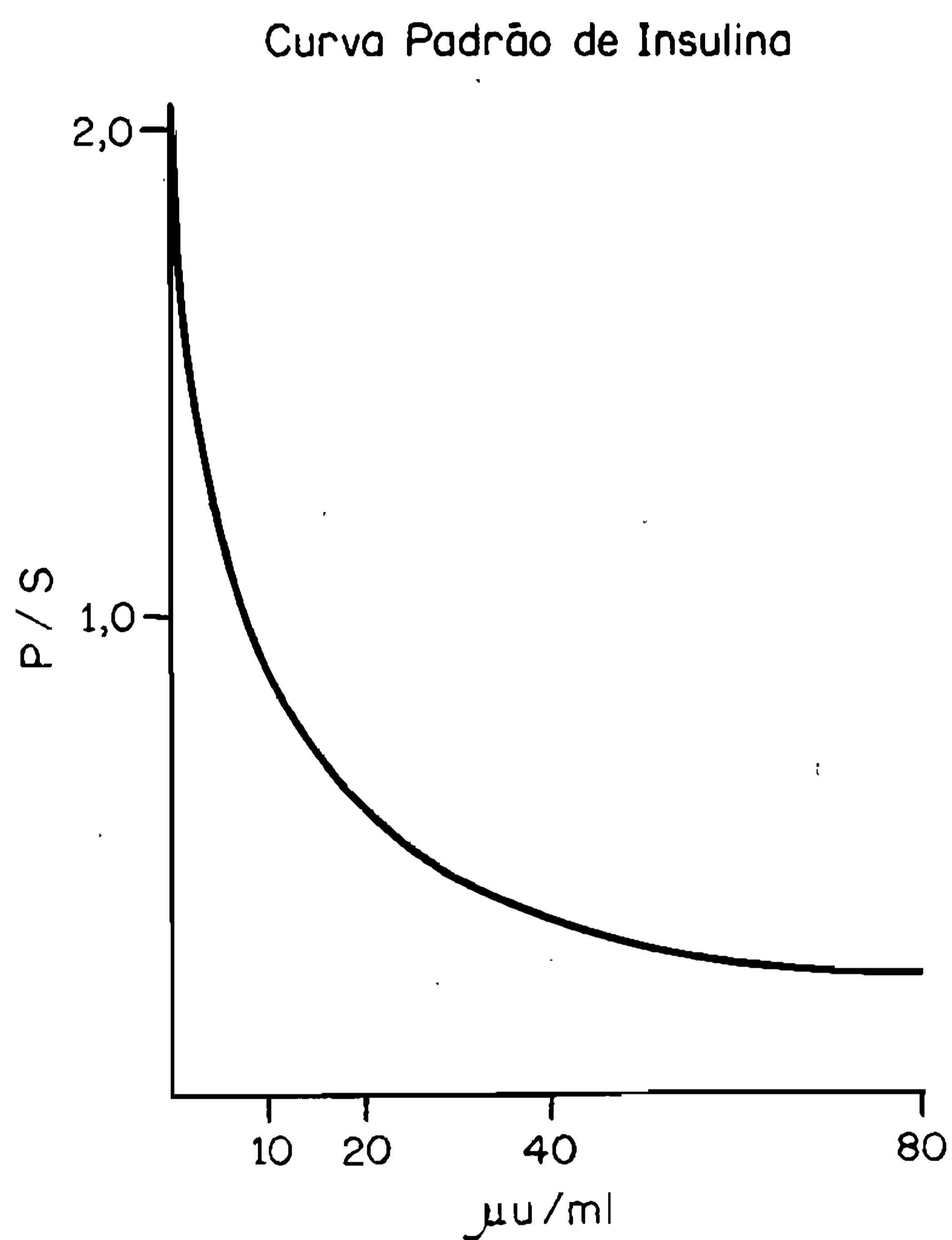


Fig. 1 — Curva Padrão de Insulina.

g) Complemento:

Diluir soro fresco de cobaia em tampão (1:200).

h) Técnica:

Depois de preparados os padrões, pipetar 0,75 ml do tampão em tubos de hemólise (10 × 80 mm). A seguir, colocar 0,25 ml de material (soro, sêmen ou urina) sempre em duplicata. Juntar 0,05 ml de in-

sulina marcada e 0,05 ml de antiinsulina. Incubar a 2-5°C durante 48 horas. Juntar 0,05 ml do 2.º anticorpo e igual volume de complemento. Agitar e incubar a 2-5°C durante 24 horas. Centrifugar à baixa temperatura, durante 60 minutos, a 2000 rpm e decantar o sobrenadante para outro tubo. Contar as radiações gama em um cintilador de poço (podemos usar o Gammacord), durante alguns minutos (o tempo depende da atividade da insulina, se recente ou não, e do aparelho usado). Em geral, usamos um tempo suficiente para a obtenção de uma contagem de 8000 a 10000 (descontado o background). Isto dá um erro bastante pequeno ( $\pm 6,6\%$ ).

Contam-se os tubos contendo o precipitado (P) e o sobrenadante (S). A relação P/S representa-se num gráfico com a concentração de insulina (uU/ml) da abscissa (Fig. 2).

## RESULTADOS

### a) Insulinemia:

Os resultados acham-se expressos na Tabela 1 e Figuras 2, 3, 4 e 5. Na tabela 1, acham-se expostos os resultados obtidos com 56 indivíduos. Os 10 normais apresentaram um coeficiente de insulino-secreção de  $1,948 \pm 0,04$ . Como a relação I/G achada /I/G normal deve ser 1 em indivíduos normais, o logaritmo desta relação multiplicada por 100 será 2,0, que é teoricamente o coeficiente médio de insulino-secreção (CIS) normal; o valor achado difere conseqüentemente muito pouco do teórico.

O peso destes indivíduos situava-se na faixa da normalidade, não havendo outrossim antecedentes diabéticos.

Os 8 chagásicos (infecção crônica) também apresentavam características similares. O coeficiente médio

não difere estatisticamente do normal ( $t = 1,3$ ;  $p > 0,2$ ).

5 indivíduos normoponderais com hiperlipoproteinemia tipo IV bem caracterizada apresentaram um coeficiente de insulino-secreção nitidamente diminuído:  $1,747 \pm 0,13$  ( $t = 2,2$ ;  $p < 0,05$ ). A curva glicêmica estava alterada (diabetes suspeito: 0,5-1,5 pontos).

23 obesos foram estudados. Destes, 14 apresentaram curva normal e 9 alterada (diabetes suspeito: 0,5-1,5 pontos). Nos dois grupos de obesos, o CIS se encontrava bastante elevado, com valores aumentados de IIR (especialmente após a administração de glicose).

Obesos com curva normal:

$$\text{CIS} = 2,226 \pm 0,05 \quad (t = 17,0; \quad p < 0,001).$$

Obesos com curva alterada:

$$\text{CIS} = 2,205 \pm 0,11 \quad (t = 7,5; \quad p < 0,001).$$

4 diabéticos (diabetes adulto) também foram incluídos nesta tabela. Confirmando dados de Duprey, o CIS se encontrava significativamente diminuído:

$$\text{CIS} = 1,495 \pm 0,071 \quad (t = 13,0; \quad p < 0,001).$$

Também 5 acromegálicos foram estudados, apresentando CIS muito altos como seria de se esperar:

$$\text{CIS} = 2,191 \pm 0,12 \quad (t = 6,5; \quad p < 0,001).$$

Por fim, foi estudado um indivíduo com um insulinoma extirpado cirurgicamente (Figs. 2, 3, 4 e 5). Tratava-se de um pequeno tumor adenomatoso. A evolução mostrou-nos que o CIS (muito elevado: 2,959) baixou, uma semana após a cirurgia para 1,806. Isto explica, inclusive, a curva francamente diabética de então (Fig. 3). Todavia, 50 dias após a operação, normalizou-se o CIS assim como a curva glicêmica (Fig. 4). Também a resposta à tolbutamida tornou-se então completamente normal (Fig. 5).

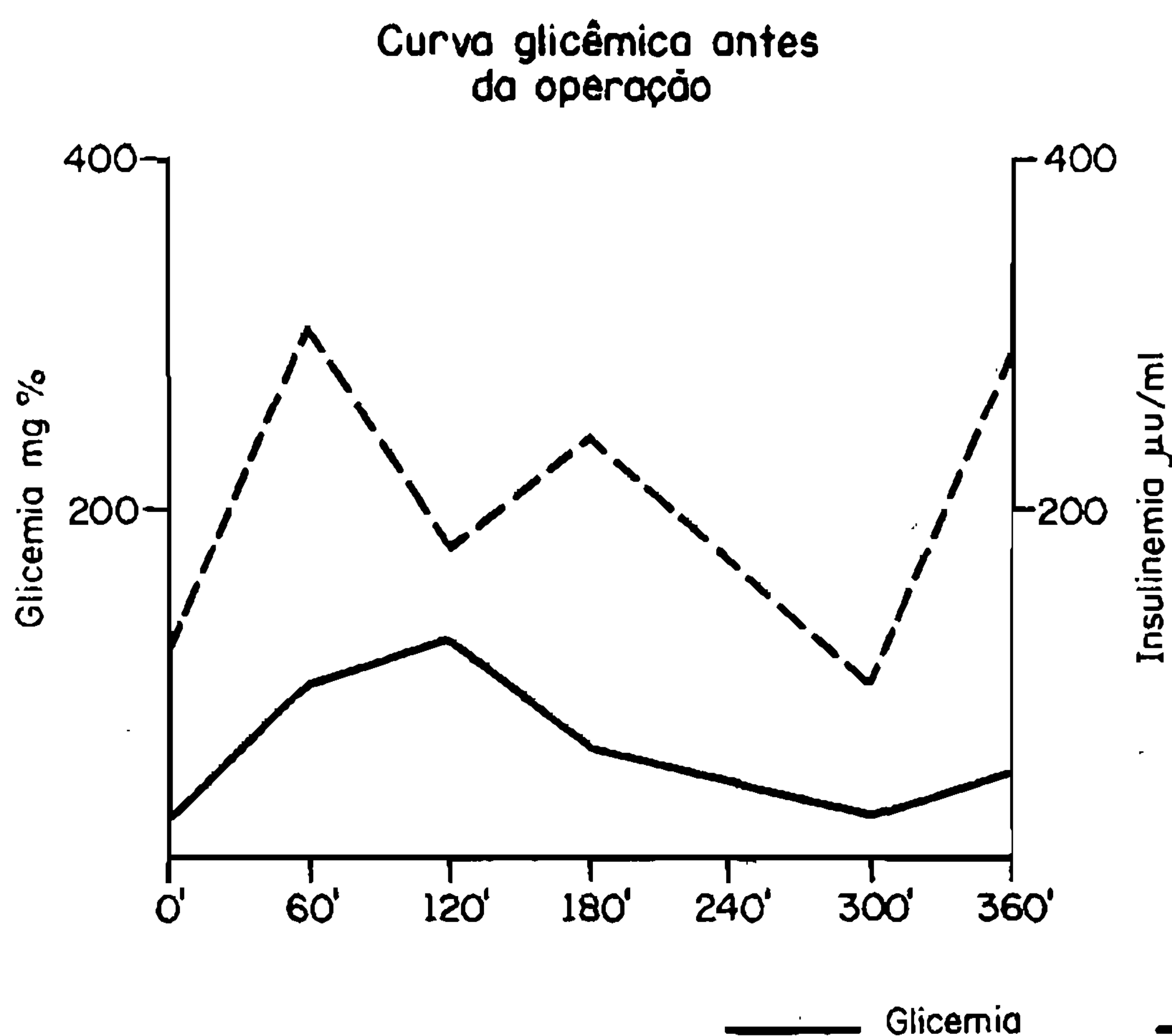


Fig. 2 — Curva Glicêmica antes da operação.

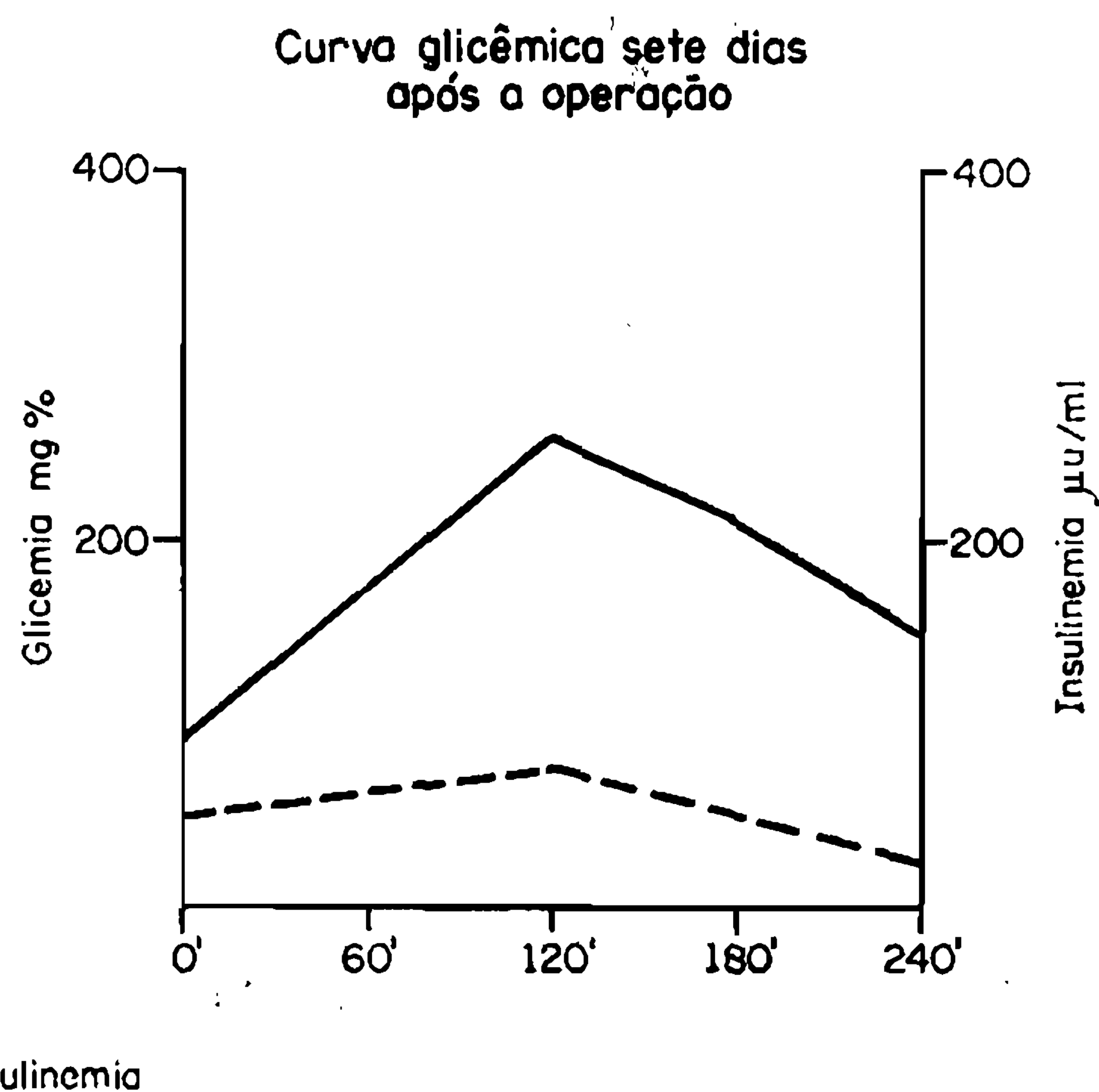


Fig. 3 — Curva Glicêmica sete dias após a operação.

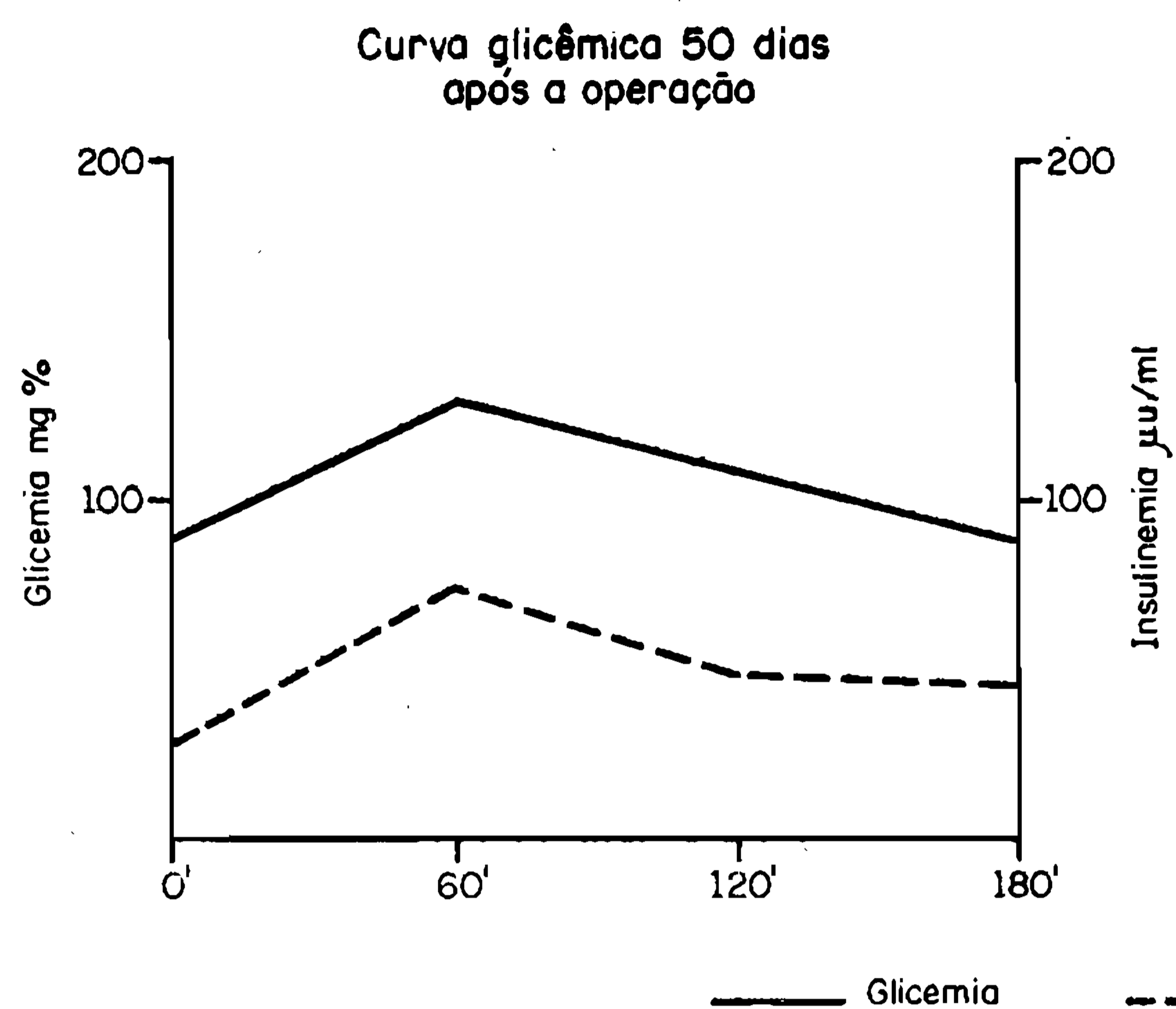


Fig. 4 — Curva glicêmica 50 dias após a operação.

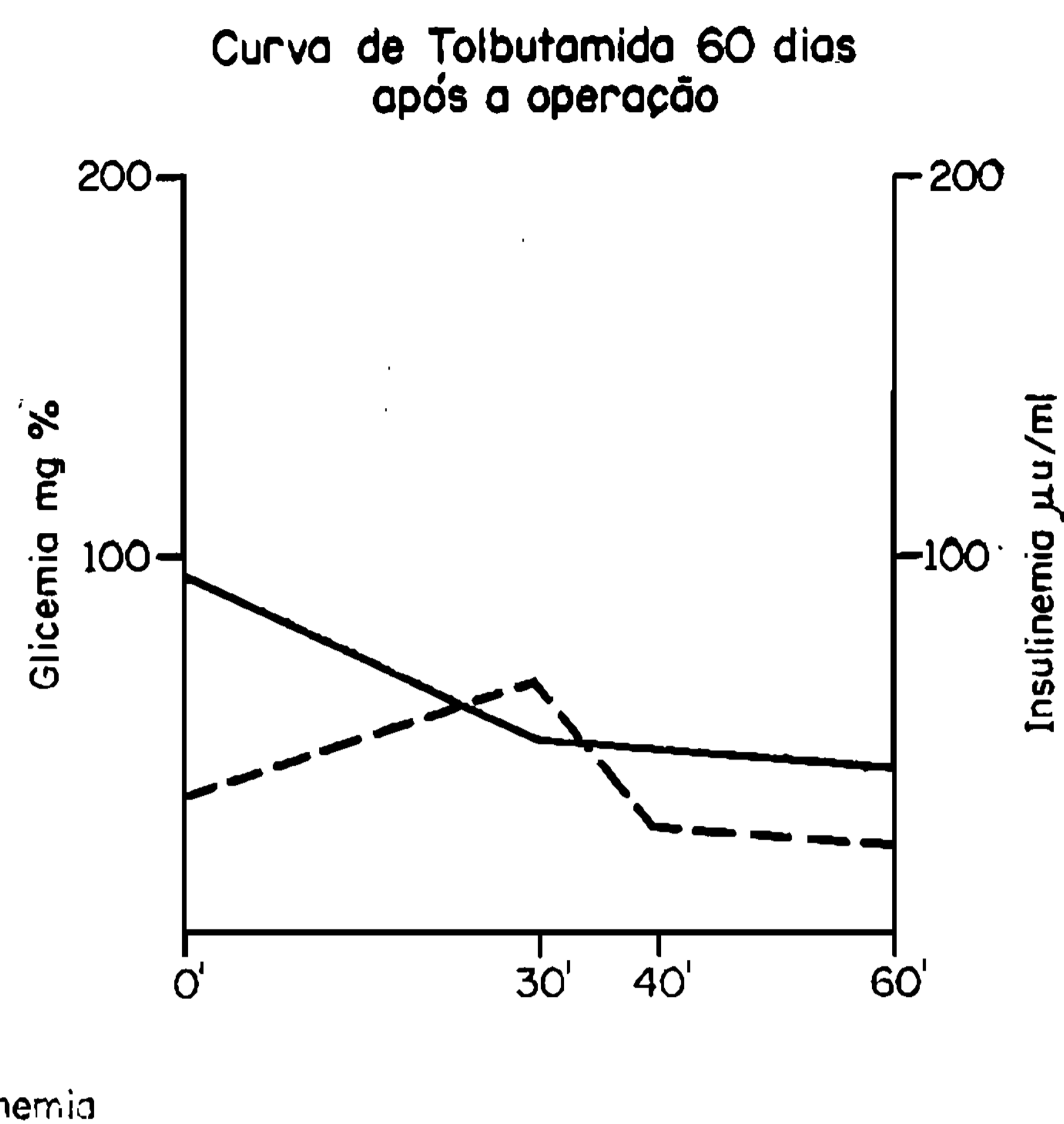


Fig. 5 — Curva de Tolbutamida 60 dias após a operação.

#### b) Insulinúria:

Os resultados encontram-se nas tabelas 2 e 3. Na tabela 2, as amostras eram recentes (primeira urina da manhã em jejum). Procuramos verificar a existência de uma possível correlação entre insulinúria e proteinúria. Pelo teste  $r$ , obtivemos:  $r = +0,02$ ;  $p > 0,1$ ; não existe pois correlação alguma entre ambas.

Na tabela 3, acham-se os valores obtidos em 10 indivíduos normais, 5 obesos (não diabéticos) e 6 normoponderais, nos quais ficou caracterizada no sangue uma hiperlipoproteinemia tipo IV.

O teste  $r$  de correlação nos forneceu os seguintes dados:

Insulinemia / Insulinúria:  
 $r = -0,52$  ;  $p > 0,1$

Proteinúria / Insulinúria:  
 $r = +0,40$  ;  $p > 0,1$

Clearance de insulina/Clearance de creatinina:

$r = +0,59$  ;  $p > 0,1$

Clearance de insulina/Uréia no sangue:

$r = +0,40$  ;  $p > 0,1$

Nenhuma destas se mostrou, estatisticamente, significativa. Não existe pois correlação, seja negativa, seja positiva, entre insulinúria e proteinúria ou insulinemia nem entre clearance de insulina e creatinina ou entre aquela e uréia no sangue.

Do mesmo modo, o teste  $t$  não mostrou diferenças significativas (em relação aos normais) de insulinúria, insulinemia, proteinúria, creatinúria, clearance de insulina e uréia no sangue. Contudo, a clearance de creatinina em obesos não diabéticos (embora ainda na faixa da normalidade) achava-se significativamente diminuída ( $t=9,1$  ;  $P < 0,001$ ).

c) **Insulina no sêmen:**

Os valores de insulina no sêmen foram de:

Normospérmicos (18 casos): Insulina seminal:  $45,8 \pm 15,1$  uU/ml

Azoospérmicos (17 casos): Insulina seminal:  $46,5 \pm 12,7$  uU/ml

**DISCUSSÃO**

Há duas maneiras de se apreciar a concentração de um hormônio no sangue: uma consiste em julgar-se em valores absolutos as cifras obtidas e outra em exprimi-las juntamente com a intensidade do estímulo que desencadeia a secreção.

Este outro meio de expressão é mais lógico e parece-nos que possa ser adotado quando se estuda a insulinemia.

O coeficiente de insulino-secreção é uma maneira um tanto sofisticada de se representar, deste modo, a IIR; é bem mais eficiente que o índice insulínogênico (Insulinemia/Glicemia), já que os valores encontrados são sempre referidos aos valores normais previamente estabelecidos.

Embora passível de críticas (como o índice insulínogênico), devemos considerar o CIS útil, por dois motivos: os resultados são bastante acordes com a realidade dos fatos e parece-nos tratar-se de um bom índice quantitativo para se representar de um modo global a secreção de insulina, no decurso de uma prova de tolerância à glicose.

No caso de obesos, por exemplo, confirmando achados de vários outros

autores <sup>(1)</sup> <sup>(4)</sup> <sup>(16)</sup> <sup>(17)</sup>, os coeficientes obtidos foram altos:

Obesos com curva glicêmica normal:  
CIS =  $2,226 \pm 0,05$

Obesos com curva glicêmica alterada:  
CIS =  $2,205 \pm 0,11$

Estes valores se encontram significativamente elevados e são bastante semelhantes aos de Duprey:  $2,22 \pm 0,07$  <sup>(4)</sup>.

O obeso, em realidade, possui uma certa resistência à insulina; não apresenta hipoglicemia apesar das taxas elevadas de IIR no sangue, enquanto um insulinoma pode determinar, em indivíduos normoponderais, hipoglicemias acentuadas. Os tecidos que utilizam, glicose, sob influência da insulina, são principalmente o músculo e o tecido adiposo. Provavelmente, é sobre eles que a insulina do obeso é pouco eficaz.

DUPREY relata valores diminuídos para o CIS <sup>(4)</sup>, em casos de diabetes juvenil e adulto, demonstrando a inexistência de um hiperinsulinismo no último: diabetes adulto:  $1,48 \pm 0,12$  contra  $1,495 \pm 0,07$  (nosso CIS).

Na doença de Chagas, embora as insulinemias se encontrem aumentadas 60 minutos após a ingestão de glicose (vide Tabela 1), os valores de CIS são normais:

$$\text{CIS} = 1,846 \pm 0,07$$

Na acromegalia, como seria de se esperar (em virtude dos valores elevados de somatotrofina circulante), o CIS se acha significativamente aumentado:

$$\text{CIS} = 2,191 \pm 0,12$$

$$(t=6,5 ; p < 0,001).$$



Em um grupo de indivíduos normoponderais (com curva glicêmica alterada: diabetes suspeito), apresentando hiperlipoproteinemia tipo IV, o coeficiente estava diminuído:

$$\text{CIS} = 1,747 \pm 0,13$$

$$(t=2,2 ; p < 0,05).$$

Nenhum destes casos apresentava uma curva francamente diabética, o que explica a diminuição do CIS, embora de menor intensidade que no diabetes adulto.

Finalmente, um caso de insuloma comprovado cirúrgica e histologicamente mostrou-nos valor elevadíssimo do CIS (2,939), que se normalizou dois meses após a operação (1,929), juntamente com anormalização das curvas glicêmica e de tolbutamida.

Alguns autores admitem a existência de insulina no sangue, sob forma de polímero ou complexo de alto peso molecular para explicar a baixa clearance de insulina <sup>(5)</sup> <sup>(18)</sup>. Do mesmo modo, foi relatado um certo paralelismo entre insulinúria e insulinemia. Também a lesão renal provocaria uma clearance aumentada de insulina, por maior permeabilidade glomerular <sup>(6)</sup> <sup>(18)</sup>.

No presente trabalho, estudamos a possível existência de uma correlação entre insulinúria e proteinúria ou entre insulinúria e insulinemia. Não encontramos estatisticamente nenhuma relação entre estes valores, assim como ficou comprovada a inexistência de correlação entre as clearances de insulina e creatinina.

Parece-nos que estudos sobre a reabsorção tubular de insulina em ratos (Marshall) <sup>(8)</sup> merecem ser ampliados para o homem, já que, a nos-

so ver, forneceria uma explicação bastante satisfatória para as baixas clearances de insulina no homem. Encontramos, também, valores um tanto mais elevados (0,87) que os relatados na literatura mundial (0,42) (no que se refere a valores de clearance de creatinina) <sup>(5)</sup> <sup>(6)</sup> <sup>(18)</sup>.

O sêmen humano é muito rico em frutose. É secretado pelas glândulas acessórias (no homem, origina-se das vesículas seminais). Os espermatozoides derivam sua energia de dois processos metabólicos: frutólise e respiração.

O pâncreas tem uma influência poderosa sobre a frutose seminal. Este efeito é mediado através da insulina, que altera a glicemia, aumentando a captação de frutose pelos espermatozoides. Em coelhos, a aloxanização aumenta a glicemia e frutose seminal (utilização diminuída desta ~~ose~~); após administração de insulina, retornam à normalidade.

O diabetes humano e o experimental se acompanham de alterações histológicas no testículo, com diminuição de síntese local de testosterona.

A arginina também aumenta a contagem e motilidade dos espermatozoides assim como a liberação de insulina "in vitro" e "in vivo" <sup>(7)</sup>.

Daí, o nosso interesse em dosar o IIR no líquido seminal do homem, já que não encontramos na literatura mundial valores deste hormônio no esperma.

A IIR se encontra no sêmen do homem em níveis bem mais altos que no soro sanguíneo (normais: IIR :  $14,6 \pm 3,1$  uU/ml).

No esperma, os valores são:

Normospérmicos (18 casos):

Insulina seminal:

$45,8 \pm 15,1$  uU/ml.

Azoospérmicos (17 casos):

Insulina seminal:

$46,5 \pm 12,7$  uU/ml.

O coeficiente de insulino-secreção parece ser um teste precioso no estudo da secreção beta insular: os valores da glicemia e insulinemia, ao decurso de uma prova de sobrecarga oral de glicose, isoladamente, nos dão uma idéia pouco fiel da capacidade de insulino-secreção, visto que a intensidade do estímulo difere de um indivíduo a outro.

Pudemos, no presente trabalho, demonstrar valores elevados deste coeficiente na obesidade e acromegalia e diminuídos no diabetes adulto e hiperlipoproteinemia tipo IV (com peso normal).

Não observamos correlação entre insulinúria e proteinúria ou insulinemia; o mesmo entre clearances de insulina e creatinina, como sugeridas por alguns autores.

Obtivemos, outrossim, valores mais elevados de clearance de insulina, em relação aos citados na literatura (0,87 ml/minuto contra 0,42) (6) (18).

A insulina se encontra no sêmen humano em concentração relativamente alta, seja em indivíduos normospérmicos ou em azoospérmicos (aproximadamente 45,0 uU/ml contra 14,0 uU/ml no soro humano normal).

### SUMMARY

Insulin secretion coefficient is quite a valuable test for studying beta cell function. It was increased in obesity and acromegalics and diminished in maturity-onset diabetes and hyperlipoproteinemia type IV.

We were unable in this work to establish any correlation between proteinuria and insulinuria or between insulinemia and insulinuria. No relation was also observed between clearances of insulin and creatinine.

Immunoreactive insulin is also present in human seminal fluid in a concentration of approximately 45,0 uU/ml.

**TABELA 1**  
**COEFICIENTE MÉDIO DE INSULINO-SECREÇÃO (CIS)**

	Nº de casos	Glicemia (mg%)				Insulinemia (uU/ml)				I/G				CIS	Significação estatística	
		0'	60'	120'	180'	0'	60'	120'	180'	0'	60'	120'	180'			
Normals	10	66,3 ±3,9	93,0 ±5,7	79,2 ±5,0	56,0 ±3,4	14,6 ±3,1	80,6 ±9,0	62,4 ±7,2	25,3 ±4,3	0,22 ±0,07	0,89 ±0,09	0,79 ±0,08	0,44 ±0,06	1,948 ±0,04	NS	
Chagas	8	69,0 ±4,1	107,0 ±6,2	82,7 ±5,5	66,5 ±4,1	10,0 ±2,5	131,7 ±8,9	49,7 ±6,8	17,3 ±4,0	0,14 ±0,06	1,19 ±0,11	0,53 ±0,06	0,32 ±0,05	1,846 ±0,07		
Tipo IV	5	79,6 ±4,9	123,0 ±7,1	102,2 ±7,2	78,8 ±6,1	11,4 ±2,9	72,6 ±8,1	54,2 ±7,0	27,8 ±4,1	0,12 ±0,06	0,59 ±0,06	0,51 ±0,05	0,34 ±0,04	1,747 ±0,13		t= 2,2 p<0,05
Obesos Curva normal	14	64,0 ±3,8	128,5 ±8,2	88,2 ±5,9	69,5 ±4,0	31,7 ±3,5	184,1 ±11,2	124,9 ±9,9	81,3 ±5,2	0,53 ±,17	1,80 ±0,21	1,61 ±0,20	1,49 ±0,19	2,226 ±0,05		t=17,0 p<0,001
Obesos Curva anormal	9	82,3 ±3,7	156,8 ±11,5	125,4 ±9,9	77,8 ±8,9	25,3 ±3,1	218,3 ±18,1	174,3 ±11,2	76,1 ±4,9	0,31 ±0,08	1,70 ±0,19	1,60 ±0,20	0,90 ±0,21	2,205 ±0,11		t=7,5 p<0,001
Diabéticos	4	131,3 ±7,6	247,0 ±21,5	253,3 ±24,6	224,6 ±21,3	22,6 ±2,9	44,0 ±5,1	45,3 ±5,5	30,3 ±4,3	0,19 ±0,07	0,18 ±0,07	0,19 ±0,06	0,13 ±0,07	1,495 ±0,07		t=13,0 p<0,001
Acromegálicos	5	73,8 ±4,1	132,4 ±10,1	139,4 ±10,2	100,2 ±9,0	26,0 ±2,9	220,8 ±18,0	185,6 ±15,4	95,2 ±10,1	0,35 ±0,09	1,75 ±0,29	1,22 ±0,19	0,49 ±0,06	2,191 ±0,12		t= 6,5 p<0,001
Insulinoma (antes da operação)	1	20,2	95,0	120,0	57,0	110,0	315,0	195,0	275,0	5,5	3,2	1,6	4,8	2,959		
7 dias após operação		85,0	170,0	248,0	215,0	38,0	42,0	54,0	38,0	0,44	0,24	0,21	0,17	1,806		
50 dias após operação		85,0	126,0	107,0	85,0	26,0	72,0	48,0	48,0	0,30	0,55	0,44	0,56	1,929		

NS — Não Significativo

Os valores acham-se representados em Média Aritmética ± Desvio Padrão da Média

TABELA 2

## INSULINA NA PRIMEIRA URINA DA MANHÃ

Pacientes	Insulina/ Creatinina (mU/g)	Proteína/ Creatinina (mg/g)
JVS	17,5	62
CAPA	45,0	52
AS	6,6	100
MS	10,0	150
LMA	34,1	41
LA	16,2	72
CEP	13,1	131
RS	0,6	65
RT	15,3	250
ZBN	8,1	112
LAG	39,0	73
EASR	0,12	78
MGM	5,5	63
MMM	31,0	28
RAQ	1,5	90
WGO	11,0	71
RS	5,6	89
JHC	19,8	4
HSP	1,4	42
DR	7,6	28
AFF	28,0	1240
EMF	1,2	2200
JPL	22,0	100
CRA	12,0	1080
AP	12,0	18
NCP	11,0	39

**TABELA 3**  
**CLEARANCES DE INSULINA**

	N.º de casos	Insulinemia (uU/ml)	Insulinúria (uU/ml)	Insulina/Creatinina (mU/g)	Proteinúria (mg%)	Proteína/Creatinina (mg/g)	Creatinúria (mg%)	Clearance insulina (ml/min.)	Clearance Creatinina (ml/min.)	Clearance Insulina/Clearance Creatinina	Uréia no sangue (mg%)
Normais	10	19,0 ± 1,6	10,5 ± 0,09	10,5 ± 0,09	3,9 ± 1,1	69,2 ± 4,3	105,0 ± 5,3	0,87 ± 0,07	112,8 ± 2,0	0,007 ± 0,005	31,4 ± 0,7
Obesos não diabéticos	5	18,6 ± 2,2	18,0 ± 7,0	20,5 ± 8,5	3,6 ± 1,6	88,2 ± 10,5	106,0 ± 8,6	1,18 ± 0,6	84,0 ± 5,2	0,016 ± 0,008	32,2 ± 0,7
Significação estatística		NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	t=9,1 p <0,001	NS	NS
Tipo IV	6	22,0 ± 8,0	5,1 ± 3,4	8,1 ± 3,4	6,1 ± 2,8	86,0 ± 10,0	93,0 ± 8,1	0,76 ± 0,18	116,0 ± 5,2	0,006 ± 0,002	26,2 ± 0,7
Significação estatística		NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS

NS — Não significativo

Estes valores acham-se representados em Média aritmética ± Desvio Padrão da Média

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1 — ALBEAUX-FERNET, M., BELLOT, L., CANET, L., DERIBREUX, J. et GELINET, M. 1971 — "Insuline plasmatique et l'obésité" — *Année Endocrinologique* 23, 171.
- 2 — ANTONIADES, H. N., HUBER, A. M., BOSHELL, B. R., SARAVIS, C. and GERSHOFF, S. N. 1965. — "Studies on the state of insulin in blood: properties of circulating free and bound insulin" — *Endocrin.* 76, 709.
- 3 — CERASI, E., EFENDIC, S. and LUFT, R. 1969 — "Role of the adrenergic receptors in glucose-induced insulin secretion in man" — *Lancet* 2, 301.
- 4 — DUPREY, J., LUBETZKI, J. et AZERAD, E. 1970 — "Vers une meilleure approche de la fonction beta langerhansienne dans le diabète sucré" — *Presse Méd.* 78, 2057.
- 5 — FRASER, T. R., LOWY, C. and RUBENSTEIN, A. H. — "Radioimmunoassay (hormones in urine samples)" — *Protein Polypept. Horm., Proc. Int. Symp.* 1968 (publ. 1969) — pg. 14 (edited by M. Margoulies).
- 6 — JORGENSEN, K. R. 1966 — "Immunoassay of insulin in human urine" — *Acta Endocrin.* 51, 1.
- 7 — MANN, T. 1964 — "The Biochemistry of semen and of the male reproductive tract" — *London, Methuen. Co. Ltd.*
- 8 — MARSHALL, C., SAWIN, L. and WEISS, D. 1970 — "Renal tubular protein absorption in the rat" — *J. Clin. Invest.* 49, 1.
- 9 — MIRSKY, A., PODORE, C. I., WACHAMN, J. and BROH-KAHN, R. H. 1948 — "The urinary excretion of insulin by normal and diabetic subjects" — *J. Clin. Invest.* 27, 515.
- 10 — MONTAGUE, W., HOWELL, S. I. and TAYLOR, P. H. 1967 — "Pen-  
titols and the mechanisms of insulin release" — *Nature (Lond.)* 215, 1088.
- 11 — MORGAN, C. R. and LAZAROW, A. 1963 — "Immunoassay of insulin two antibody system. Plasma insulin levels in normal, subdiabetic and diabetic rats" — *Diabetes* 12, 115.
- 12 — NELSON, S. apud VARLEY, H. 1954 — "Practical Clinical Biochemistry" *Interscience Publ.*, pg. 34.
- 13 — PORTE JR., D. and BAGDADE, J. D. 1970 — "Human insulin secretion: an integrated approach" — *Ann. Rev. Med.* 21, 219.
- 14 — POVOA, JR., H. 1972 — "Dosagem da insulina imunoreativa com duplo anticorpo" — *Bol. Inst. Est. Diab. Endocr.*, a publicar.
- 15 — POVOA JR., H. 1964 — "Transaminases in human semen" — *Invest. Urol.* 2, 1.
- 16 — RABINOWITZ, D. 1970 — "Some endocrine and metabolic aspects of obesity" — *Ann. Rev. Med.* 21, 241.
- 17 — REAVEN, G. M., SHEN, S. W., SILVERS, A. and FARQUHAR, J. W. 1971 — "Is there a delay in the plasma insulin response of patients with chemical diabetes mellitus" — *Diabetes* 20, 416.
- 18 — RUBENSTEIN, A. H., LOWY, C., WELBORN, T. A. and FRASER, T. R. 1967 — "Urine insulin in normal subjects" — *Metab.* 16, 234.
- 19 — SIROTICH, G., FEDERSPIL, G. and FRAMARIN, F. 1970 — "An analogue model of the blood glucose and serum insulin response to the oral glucose tolerance test" — *Acta Diabet. Lat.* 7, 1004.
- 20 — SUSSMAN, K. E. and GEORG, R. H. 1970 — "Metabolic control of insulin secretion" — *Acta Diabet. Lat.* 7, 889.