

# *Unión de la insulina a su receptor en pacientes sometidos a diálisis*

C. Grande \*, R. Selgas, J. L. de Miguel, M. L. Fernández de Lis \*, M. Pérez-Fontán y L. F. Pallardo \*\*

Servicios de Nefrología, Bioquímica \* y Endocrinología \*\*. Hospital La Paz. Madrid.

## RESUMEN

*Estudiamos la unión de la insulina a su receptor en un grupo de diez pacientes en DPCA (diálisis peritoneal continua ambulatoria) y en ocho pacientes sometidos a hemodiálisis.*

*En ninguno de ellos se observó intolerancia después de una sobrecarga de 75 gramos de glucosa. Cuatro pacientes tratados con DPCA presentaban hiperinsulinemia, tanto basal como tras el estímulo con glucosa. En el resto del grupo, así como en los pacientes hemodializados, la respuesta insulínica fue normal.*

*El estudio de los receptores en eritrocitos manifestó en el grupo en DPCA una unión de la insulina francamente descendida en dos pacientes, asociándose en uno con una constante de afinidad disminuida. Cuatro, que presentaban una unión en el límite bajo de la obtenida para los controles, tenían su constante de afinidad dentro del rango normal.*

*En los pacientes hemodializados, la unión de la insulina permaneció dentro de la normalidad.*

*Los resultados obtenidos nos sugieren pensar que en algunos pacientes en DPCA existe una sensibilidad disminuida a la insulina, ya que consiguen normalizar la glucemia a expensas de mayores niveles de hormona, y que existe escasa incidencia de alteración a nivel del receptor como para que ésta explique dicha situación.*

**Palabras clave:** *Intolerancia a la glucosa. Hiperinsulinemia. Hemodiálisis. Diálisis peritoneal continua ambulatoria.*

## INSULIN BINDING IN DIALYSIS PATIENTS

### SUMMARY

*Chronic renal insufficiency is often associated with impaired glucose metabolism due primarily to tissue insensitivity to insulin. We studied the question of whether the binding of insulin to its receptors was altered or not in a group of ten patients treated with CAPD (continuous ambulatory peritoneal dialysis) and eight patients on hemodialysis.*

*In order to evaluate the pancreatic Beta-cell function, an oral glucose load of 75 g was administered after which glycemia and insulinemia were quantified. No patient had glucose intolerance. In four CAPD patients hyperinsulinemia was*

Recibido: 4-III-88.

En versión definitiva: 27-VII-88.

Aceptado: 2-X-88.

Correspondencia: Dr. C. Grande Aragón.  
Paseo de la Castellana, 231 - 8.º I.  
28046 Madrid.

*encountered before and after an oral glucose load. The insulin levels were normal in the rest of the group as well as in the hemodialysed patients.*

*The study of receptors in erythrocytes showed a great variability. Two patients had a low percentage of insulin binding associated in one of them with a low affinity constant and four patients had an insulin binding at the lower limit of normality together with a similar affinity constant.*

*There was no difference between the study group and the control group in the number of receptors. A significant difference was found in the maximum insulin binding ( $p < 0.001$ ).*

*The hemodialysed group showed no differences from the control group in the percentage of maximum binding, the number of receptors or the affinity constant.*

*The results obtained suggest a decreased sensitivity to insulin in patients on CAPD characterized by normoglycemia associated with high levels of insulin: a clear alteration did not exist in all of the cases at the receptor level.*

*The fact that insulin binding in hemodialysed patients stays within the normal range is probably due to hemodialysis removing toxic substances which inhibit the binding of insulin to its receptor.*

**Key words: Glucose intolerance. Hyperinsulinemia. Hemodialysis. Continuous ambulatory peritoneal dialysis.**

## Introducción

La intolerancia a los hidratos de carbono aparece con frecuencia asociada a la insuficiencia renal crónica. La mayoría de los autores<sup>1-3</sup> apuntan que el factor predominante que contribuye a dicha intolerancia en los pacientes urémicos es una sensibilidad disminuida de los tejidos a la acción de la insulina, lo que secundariamente conduce a un aumento de la secreción en un intento de superar esta resistencia. Ello explicaría la respuesta hiperinsulinémica que presentan la mayoría de estos pacientes.

Numerosas investigaciones han sido llevadas a cabo para dilucidar las posibles causas de las alteraciones del metabolismo de la glucosa en la insuficiencia renal. Se ha demostrado una inhibición de la utilización de glucosa en eritrocitos humanos expuestos a altas concentraciones de urea y creatinina<sup>4, 5</sup>.

Hay pocos trabajos realizados, hasta ahora, en relación con el estado de los receptores de insulina en la uremia. Se ha descrito una disminución del número de receptores en la misma<sup>6</sup>, así como un aumento de la afinidad, y que la hemodiálisis normaliza dicho número<sup>7</sup>.

El objetivo de nuestro estudio fue evaluar si la unión de la insulina a sus receptores se encuentra alterada en pacientes sometidos a DPCA (diálisis peritoneal continua ambulatoria) y hemodiálisis.

## Material y métodos

El grupo en DPCA estaba formado por diez pacientes de edades comprendidas entre dieciocho y cin-

cuenta y nueve años, tratados durante uno a cuatro años. Ninguno era diabético ni obeso. El estudio se realizó en ayunas durante un intercambio, los pacientes seguían una pauta similar de DPCA: cuatro cambios al día, tres al 1,5 % y uno al 4,25 %. En este grupo se decidió no suspender previamente la diálisis, por reproducir el estado habitual de los pacientes con mayor fidelidad. Asimismo, dicho grupo era homogéneo para el número de peritonitis que le afectó.

El grupo de hemodiálisis lo constituían ocho pacientes con edades comprendidas entre veintidós y sesenta y cinco años, a los que se dializaba tres veces por semana durante cuatro horas. El estudio se realizó en el día intermedio entre dos sesiones de diálisis y descartamos en todos la presencia de diabetes y obesidad.

El grupo control incluía diez sujetos sanos de edades comprendidas entre dieciocho y cuarenta y tres años sin antecedentes diabéticos y con tolerancia a la glucosa normal.

Para evaluar la función beta pancreática se administró una sobrecarga oral de glucosa (SOG) de 75 gramos, tras la cual se determinaron la glucemia e insulinemia a la hora y a las dos horas.

La glucosa se cuantificó por el método enzimático de la hexoquinasa y la insulina por radioinmunoanálisis.

El estudio de los receptores de insulina se realizó por el método de Gambhir<sup>8</sup>, y ya que se ha demostrado que el hematíe refleja de una manera bastante exacta el estado de dichos receptores en los tejidos diana, utilizamos dicha muestra por su fácil disponibilidad.

**Tabla I.** Niveles de glucemia ( $\bar{X} \pm SD$ ) tras SOG (75 g.)

Grupo	N	Basal	Glucemia (mg/dl) Una hora	Dos horas
DPCA	10	89,5 $\pm$ 5,0	136,0 $\pm$ 23,5	97,9 $\pm$ 31,9
Hemodializados	8	85,8 $\pm$ 9,6	127,0 $\pm$ 22,3	122,0 $\pm$ 15,6
Controles	10	75,5 $\pm$ 8,1	123,0 $\pm$ 25,4	100,0 $\pm$ 11,8

**Tabla II.** Niveles de insulinemia ( $\bar{X} \pm SD$ ) tras SOG (75 g)

Insulinemia ( $\mu\text{g/ml}$ ) Grupo	N	Basal	Una hora	Dos horas
DPCA	10	28,0 $\pm$ 26,0	113,7 $\pm$ 114,9	96,9 $\pm$ 31,9
Hemodializados	8	11,0 $\pm$ 4,8	42,8 $\pm$ 12,3	57,0 $\pm$ 22,2
Controles	10	8,8 $\pm$ 3,4	51,2 $\pm$ 14,8	48,0 $\pm$ 26,5

**Tabla III.** Estudio de receptores de insulina ( $\bar{X} \pm SD$ )

Grupo	N	Unión máxima (% B)	N.º de receptores (sitios/cél.)	Cte. de afinidad (ke)
DPCA	10	7,98 $\pm$ 2,0	102 $\pm$ 30	1,86 $\pm$ 0,56
Hemodializados	8	9,10 $\pm$ 2,3	94 $\pm$ 32	2,22 $\pm$ 0,60
Controles	10	11,60 $\pm$ 2,0	87 $\pm$ 24	2,62 $\pm$ 0,80

Para el aislamiento de los eritrocitos seguimos el método de Boyum<sup>9</sup> y el paquete celular obtenido se lavó varias veces para minimizar la contaminación con leucocitos y reticulocitos que tienen mayor número de receptores para la insulina y podrían falsear los resultados. Los eritrocitos así obtenidos se suspendieron en un volumen de tampón G a pH 8 hasta obtener una concentración de  $4,4 \cdot 10^9$  células/litro.

El estudio de la unión de la insulina a los receptores se realizó incubando una alícuota de la suspensión celular con insulina porcina fría en un rango de concentraciones crecientes de 0-10 ng/ml junto con insulina porcina marcada con I<sup>125</sup> en una concentración fija de 80 pg durante 3,5 horas a 15° C, separando la fracción ligada mediante centrifugación en tubos conteniendo dibutil-ftalato y determinando la radiactividad del complejo ligado.

Los resultados se expresaron como tanto por ciento de unión máxima, que se calcula de la relación entre la radiactividad de la fracción ligada y la radiactividad total.

La radiactividad que permanecía ligada en presencia de una concentración de insulina no marcada de  $10^5$  ng/ml fue considerada como inespecífica y representó el 15-20 % de la unión total.

El coeficiente de variación intraensayo de dicha técnica fue del 7,8 % y de interensayo del 10,52 %.

El número de receptores se calculó de la intersección con el eje de abscisas de la curva obtenida mediante la representación de Scatchard<sup>10</sup>.

La constante de afinidad para bajo nivel de ocupación (ke) se obtuvo mediante el modelo matemático propuesto por De Meyts<sup>11</sup>.

El estudio estadístico se realizó mediante el test de la *t* de Student, adoptando como nivel de significación el 5 %.

## Resultados

La respuesta a la SOG (tabla I) manifestó que ninguno de los pacientes presentaba intolerancia a glucosa, siguiendo los criterios de la WHO<sup>12</sup>. No existía diferencia estadísticamente significativa en las glucemias basales, ni tras la sobrecarga, cuando las comparamos con las de los controles.

En cuanto a los niveles de insulina no encontramos diferencia con el grupo control como refleja la tabla II. No obstante, en el grupo sometido a DPCA, cuatro pacientes presentaron hiperinsulinemia, tanto basal como tras el estímulo con glucosa.

El potasio sérico osciló entre 4,5 y 5,6 mEq/l en todos los pacientes.

El estudio de los receptores de insulina queda recogido en la tabla III. Comparando las medias del grupo en DPCA con los controles se observó que existía diferencia en la unión máxima a insulina ( $p < 0,001$ ), no encontrando dicha diferencia ni en el número de receptores ni en la afinidad.

El análisis individual de estos pacientes revelaba

una marcada variabilidad, y así dos de ellos presentaban un porcentaje de unión bajo, el número de receptores fue normal y uniforme para todos, y en cuanto a la afinidad dos mostraban constantes bajas, cuatro en el límite bajo de la normalidad y el resto del grupo una afinidad normal.

En el grupo en hemodiálisis no se encontró diferencia con los controles, en el porcentaje de unión máxima, en el número de receptores, ni en la constante de afinidad.

## Discusión

La intolerancia a la glucosa es frecuente en los pacientes con fallo renal crónico y mejora cuando dichos pacientes son sometidos a hemodiálisis<sup>13-15</sup>. Aunque se han descrito diferentes mecanismos para explicar la alteración del metabolismo hidrogenado en la uremia, la mayoría de los trabajos apuntan a que dicha intolerancia es secundaria a una resistencia a la acción de la insulina<sup>1, 2, 16, 17</sup>.

En nuestro estudio, ningún paciente presentaba hiperglucemia, ni los sometidos a DPCA ni los hemodializados. Sin embargo, sí apareció hiperinsulinemia en los pacientes en DPCA, y en éstos el estudio de los receptores de insulina manifestó una unión a la hormona francamente disminuida en dos de ellos, asociándose en uno con una constante de afinidad disminuida. Cuatro, que presentaban una unión en el límite bajo de la normalidad, tenían su constante de afinidad similar.

Este descenso en la unión a la insulina parece estar relacionado con la presencia en los pacientes urémicos de sustancias, tales como indoles, fenoles, aminas y guanidinas<sup>6, 18</sup>, que tienen efecto sobre la interacción insulina-receptor. Esto se ha demostrado porque incubando eritrocitos normales con plasma urémico se produce una disminución de la unión del 60 %, lo que confirma la existencia en dicho plasma de un inhibidor de esa unión.

El que en los pacientes hemodializados la unión de la insulina permanezca en el rango normal se debe a que la hemodiálisis induce la extracción de moléculas de pequeño peso molecular de forma intensa<sup>7, 18</sup>.

La diferencia encontrada en nuestra serie entre pacientes hemodializados y en DPCA podría ser debida a una menor eliminación por esta última de toxinas urémicas. Asimismo, su carácter continuo y la consiguiente carga de glucosa, podría mantener una mayor producción de insulina como se recoge en nuestros resultados, y de ahí una hiperutilización de receptores eritrocitarios. Si este hecho modifica las características de esos receptores en los pacientes en DPCA deberá ser aclarado.

El número de receptores de insulina en eritrocitos

se encontró normal en los dos grupos de pacientes, hecho que está en contra de otros autores que describen un aumento de los lugares de unión cuando los enfermos se someten a hemodiálisis<sup>6</sup>.

Por tanto, la presencia en cuatro pacientes en DPCA de una hiperinsulinemia, tanto basal como tras SOG, nos sugeriría pensar en estos casos de la existencia de una disminuida sensibilidad a la insulina, es decir, se necesitan niveles más altos de la hormona para conseguir mantener la normoglucemia, con lo que existiría una desviación hacia la derecha de la curva dosis-efecto de la insulina.

No obstante, algunos autores han confirmado mediante la técnica de clamp<sup>2, 19</sup> la existencia en la uremia de una desviación a la derecha de la curva dosis-efecto de la insulina, así como un descenso en la respuesta máxima, hecho compatible con un defecto combinado a nivel receptor y postreceptor. Estos autores apuntan que la resistencia a la insulina es debida primariamente a un defecto a nivel del receptor y que estas alteraciones mejoran con la diálisis.

Nuestros resultados nos permiten concluir que en algunos de los pacientes sometidos a DPCA existe una sensibilidad disminuida a la insulina, siendo escasa la incidencia a nivel del receptor, como para que ésta explique dicha situación. Para confirmarlo son necesarios posteriores estudios en este sentido.

## Agradecimientos

Agradecemos a Rosa Ecija Peiró y Gloria Pérez Muela su valiosa colaboración técnica.

## Bibliografía

1. Caro FJ y Lanza-Jacoby S: Insulin resistance in uremia. *J Clin Invest* 72:882-892, 1983.
2. Kauffman JM y Caro JF: Insulin resistance in uremia. *J Clin Invest* 71:698-708, 1983.
3. De Fronzo RA, Smith D y Alvestrand A: Insulin action in uremia. *Kidney International*. Suppl 16:S102-S114, 1983.
4. Balestri PL, Rindi P, Biagini M y Giovannetti S: Effects of uremic serum, urea, creatinina and methyl guanidine on glucose metabolism. *Clin Sci* 42:395-404, 1972.
5. Metcoff J, Lindeman R, Baxter D y Pederson J: Cell metabolism in uremia. *Am J Clin Nutr* 30:1627-1643, 1978.
6. Gambhir KK, Archer J, Neruzkar SG, Cruz AI y Sanders M: Erythrocyte insulin receptors in chronic renal failure. *Nephron* 28:4-10, 1981.
7. Milutinovic S, Breyer D, Molnar V, Stefovic A, Jankovic N, Skrabalo Z y Rocic B: Changes in insulin binding during hemodialysis in uremic patients. *Nephron* 41:307-313, 1985.
8. Gambhir KK, Archer JA y Bradley CJ: Characteristics of human erythrocyte insulin receptors. *Diabetes* 27:701-708, 1978.
9. Boyum A: Separation of leucocytes from blood and bone marrow. *Scand J Clin Invest* 21 (Suppl 97):77-89, 1968.
10. Scatchard G: The attractions of proteins for small molecules and ions. *Ann N Y Acad Sci* 51:660-672, 1949.

11. De Meyts P y Roth J: Cooperativity in ligand binding: a new graphic analysis. *Biochem Biophys Commun* 66:1118-1126, 1975.
12. Who Study Group: Diabetes mellitus Technical Report. Series 727:9-13, Geneva, 1985.
13. De Fronzo RA, Tobin JD, Rowe JW y Andres R: Glucose intolerance in uremia. *J Clin Invest* 62:425-434, 1978.
14. Feldman HA y Singer I: Endocrinology and metabolism in uremia and dialysis: a clinical review. *Medicine* 54:345-348, 1974.
15. Lindholm B, Bergstrom J y Karlender SG: Glucose metabolism in patients on CAPD. *Trans ASAID* 27:58-60, 1981.
16. Mondon CA, Dolkas CB y Reaven GM: The side of insulin resistance in uremia. *Diabetes* 27:571-576, 1978.
17. De Fronzo RA, Alvestrand A, Smith D, Hendler R y Wahren J: Insulin resistance in uremia. *J Clin Invest* 67:563-576, 1981.
18. Milutonovic S, Breyer D, Jankovic N, Molnar V, Stefovic A y Rocic B: Inhibitor of insulin binding to erythrocytes in plasma of uremic patients. *Nephron* 34:99-103, 1983.
19. Smith D y De Fronzo RA: Insulin resistance in uremia mediated by postbinding defects. *Kidney Int* 22:54-62, 1982.