

Olivares Reyes, Jesús Alberto; Arellano Plancarte, Araceli
BASES MOLECULARES DE LAS ACCIONES DE LA INSULINA
Revista de Educación Bioquímica, Vol. 27, Núm. 1, marzo-sin mes, 2008, pp. 9-18
Universidad Nacional Autónoma de México
México

Disponible en: <http://redalyc.uaemex.mx/src/inicio/ArtPdfRed.jsp?iCve=49011452003>



Revista de Educación Bioquímica
ISSN (Versión impresa): 1665-1995
reb@bq.unam.mx
Universidad Nacional Autónoma de México
México

BASES MOLECULARES DE LAS ACCIONES DE LA INSULINA*

Jesús Alberto Olivares Reyes y Araceli Arellano Plancarte

RESUMEN

La insulina es una hormona liberada por las células beta pancreáticas en respuesta a niveles elevados de nutrientes en sangre, controlando funciones energéticas críticas como el metabolismo de la glucosa y de lípidos. Cuando la insulina se une a su receptor, éste desencadena múltiples vías de señalización que median sus acciones biológicas. La incapacidad de las células blanco de responder a la insulina, debido presumiblemente a defectos en su señalización, estado conocido como resistencia a la insulina, es una de las principales características de manifestaciones patológicas asociadas con la Diabetes Mellitus tipo 2 (DM2), una de las primeras causas de muerte en México y a nivel mundial. El objetivo de la presente revisión es dilucidar las bases moleculares de las acciones de la insulina y de los mecanismos involucrados en regular sus efectos. El comprender estos mecanismos permitirá comprender cuales son las causas asociadas con el desarrollo de la resistencia a la insulina y la DM2.

PALABRAS CLAVE: Insulina, diabetes mellitus tipo 2, receptor de insulina, sustrato del receptor de insulina, cinasa Akt, resistencia a la insulina.

ABSTRACT

Insulin is a hormone released by pancreatic beta cells in response to elevated levels of nutrients in the blood, controlling critical energy functions such as glucose and lipid metabolism. When insulin binds to the insulin receptor (IR), the activated receptor triggers multiple signaling pathways that mediate the biological actions of insulin. Failure of target cells to respond to insulin presumably because of defects in the insulin signaling pathway, a state known as insulin-resistance, is a major attribute to the pathological manifestations associated with diabetes mellitus type 2 (DM2), one of the first causes of death in Mexico and worldwide. The objective of the present review is to unravel the molecular basis for insulin actions and the mechanisms involved in regulating its effects. Understanding these mechanisms will allow us to understand what are the causes associated with the development of insulin resistance and DM2.

KEY WORDS: Insulin, diabetes mellitus type 2, insulin receptor, insulin receptor substrate, Akt kinase,

INTRODUCCIÓN

El apropiado almacenamiento y liberación de energía durante los estados de alimentación y ayuno son esenciales para la sobrevivencia y son controlados principalmente por la acción de la insulina. La insulina es una hormona peptídica de 5.8 KDa, y es secretada por las células β en los islotes pancreáticos de Langerhans en respuesta a niveles elevados de nutrientes en la sangre. Su principal función es la de mantener la concentración de glucosa en sangre en un rango normal,

entre 80-105 mg/dl favoreciendo la entrada y almacenamiento de este nutriente en músculo y tejido adiposo y en hígado se favorece su almacenamiento y se inhibe su producción. Además, regula el metabolismo de los carbohidratos, lípidos y proteínas y promueve la división y el crecimiento celular a través de sus efectos mitogénicos. Las acciones de la insulina son mediadas por cascadas de señalización intracelular, en las cuales la fosforilación inicial del receptor en residuos de tirosina (Tyr) lleva a una

serie de eventos de fosforilación/desfosforilación de cinasas de Tyr y serina/treonina (Ser/Thr). Estas cinasas son las responsables de transmitir la señal de la insulina para la regulación de eventos metabólicos dentro de la célula (1, 2).

RECEPTOR DE INSULINA

La insulina inicia sus acciones biológicas por su unión a receptores específicos localizados en la membrana celular. El receptor de insulina (IR) es una glucoproteína que

*Recibido: 7 de febrero de 2008 Aceptado: 13 de mayo de 2008 (artículo publicado extemporáneamente)
Departamento de Bioquímica, Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del IPN, Av. IPN #2508, San Pedro Zacatenco, C.P. 07360, México, D.F. Correo E: jolivare@cinvestav.mx

pertenece a la familia de receptores para factores de crecimiento con actividad intrínseca de cinasas de Tyr (RTK's), los cuales al ser estimulados por su ligando se autofosforilan en residuos de Tyr (3).

El IR es un heterotetrámero compuesto por dos subunidades α y dos subunidades β unidas por puentes disulfuro. Las subunidades α se encuentran localizadas en el exterior de la membrana plasmática y contienen sitios de unión a la insulina, mientras que las subunidades β tienen una porción extracelular, una transmembranal y una porción intracelular en donde se localiza el dominio con actividad de cinasa de Tyr. En la región intracelular se han identificado tres regiones estructurales que incluyen: 1) región yuxtamembranal intracelular, que parece ser importante en la transmisión de la señal y en donde se localizan las tirosinas Tyr⁹⁶⁵ y Tyr⁹⁷² (4); 2) región reguladora en donde se encuentran las tirosinas Tyr¹¹⁵⁸, Tyr¹¹⁶² y Tyr¹¹⁶³. La autofosforilación de estos tres residuos aumenta de 10 a 20 veces la actividad de cinasa del receptor y 3) región con sitios de fosforilación en el extremo carboxilo terminal (Tyr¹³²⁸, Tyr¹³³⁴) que al parecer puede jugar un importante papel regulador pero no en la señalización del receptor (3) (Fig. 1).

En condiciones de no estímulo, las subunidades α ejercen un papel regulador sobre las subunidades β , inhibiendo la capacidad del receptor para autofosforilarse. Después de que la insulina se une a su receptor, las subunidades α sufren cambios conformacionales que permiten que las subunidades β se activen y sean capaces de autofosforilarse en residuos de Tyr. El mecanismo de autofosforilación al parecer se da por procesos de cis- y trans- autofosforilación mediante las cuales ciertos residuos son fosforilados por la

actividad de fosfotransferasa de la misma subunidad β (cis-), mientras que otros son sustrato de la actividad de cinasa de la subunidad β opuesta (trans-). Además, estudios recientes han reportado que se requiere de al menos 7 sitios de fosforilación en Tyr en el IR y de la actividad enzimática de cinasa de Tyr para el apropiado funcionamiento del receptor (5).

VIAS DE SEÑALIZACIÓN DE LA INSULINA

Una vez que la insulina interacciona con su receptor y éste es activado, se

inicia el encendido de cascadas de señalización que dependen de un orquestado número de interacciones proteicas. Dos vías principales de transducción son activadas por acción de la insulina: la vía de la fosfatidilinositol 3-cinasa (PI3K) y la vía de las cinasas activadas por mitógenos (MAP cinasas). Ambas vías regulan la mayoría de las acciones de la insulina asociadas a la regulación del metabolismo energético, de la expresión genética y de efectos mitogénicos (2, 3).

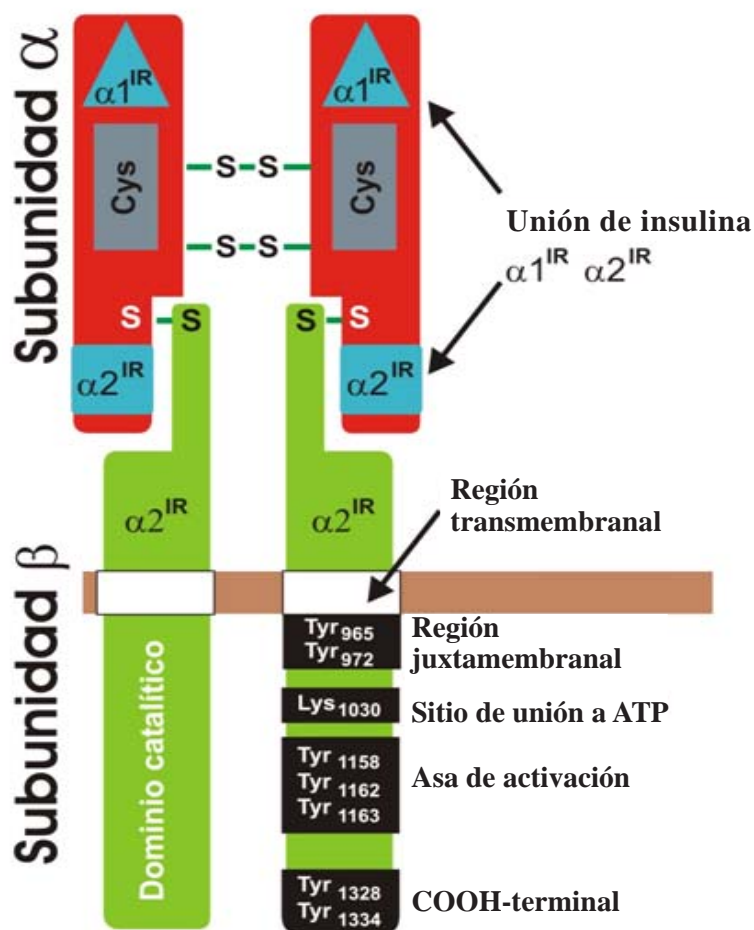


Figura 1. Estructura del Receptor de Insulina: dominios funcionales del receptor. El IR es un heterotetrámero que consiste de dos subunidades α extracelulares unidas a dos subunidades β por puentes disulfuro. Las subunidades α contienen las regiones de unión a insulina $\alpha 1^{IR}$ y $\alpha 2^{IR}$ en adición a una región rica en cisteínas (Cys). La subunidad β contiene una porción extracelular, una transmembranal y una intracelular. En su porción intracelular se localiza un dominio catalítico de cinasa de tirosina con un sitio de unión a ATP y sitios de fosforilación en tirosina que se localizan en las regiones yuxtamembranal (Tyr⁹⁶⁵, Tyr⁹⁷²), asa de activación (Tyr¹¹⁵⁸, Tyr¹¹⁶², Tyr¹¹⁶³) y carboxilo terminal (Tyr¹³²⁸, Tyr¹³³⁴).

a) Vía de señalización de las MAP cinasas.

Los efectos de la insulina en la regulación de la síntesis de proteínas son mediados principalmente a través de la activación de la vía de señalización de las MAP cinasas (Fig. 2). La fosforilación en residuos de Tyr del dominio citoplasmático del IR, promueve la asociación de la proteína Shc, la cual une al complejo Grb2/SOS; SOS es un factor recambiador de nucleótidos de guanina (GEF), capaz de activar a Ras. La activación de Ras (GTP-Ras) inicia el encendido de la cascada de las MAP cinasas. GTP-Ras se une y activa a Raf-1 que subsecuentemente lleva a la fosforilación y activación de la vía, que involucra el reclutamiento y activación de MEK (también llamada cinasa de MAP cinasa) y de las ERK1 (cinasa regulada extracelularmente 1) y ERK2. Alternativamente a esta vía de señalización que lleva a la activación de las ERK1 y ERK2 (conocidas genéricamente como MAP cinasas), la insulina es capaz de activar a estas proteínas por una vía independiente de Shc, pero que depende de la activación del IRS (sustrato del receptor de insulina). Una vez activo IRS, une al complejo Grb2/SOS y a partir de este punto la secuencia de activación de proteínas es la misma que se describió para Shc (Fig. 2). Las MAP cinasas tienen una amplia gama de sustratos potenciales, incluyendo factores de transcripción y otras cinasas, que participan principalmente en la regulación de la expresión genética en tejidos sensibles a la insulina pero no en la regulación del transporte de glucosa (2, 6).

b) Vía de señalización de la PI3K

La vía de la PI3K es el principal mecanismo por el que la insulina ejerce sus funciones en el metabolismo de la glucosa y de lípidos. La transducción de señales a

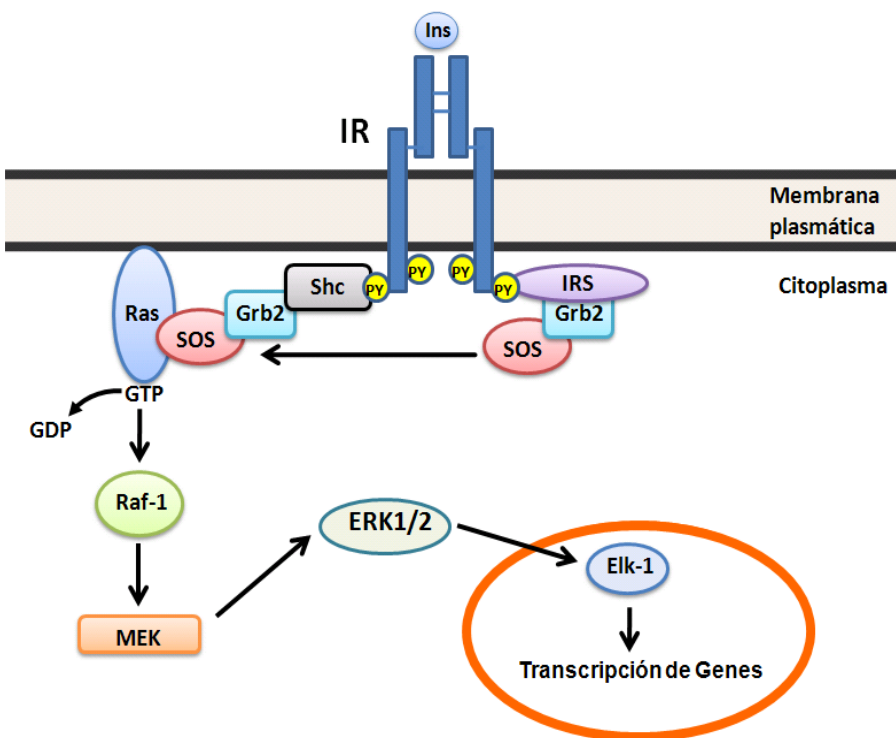


Figura 2. Activación de la vía de las MAPK por acción de la insulina. La insulina activa la vía de las MAPK a través de dos mecanismos: en el primero, la activación del IR promueve la asociación de la proteína Shc, la cual une al complejo Grb2/SOS; SOS activa a Ras, la cual inicia el encendido de la cascada de las MAPK. GTP-Ras une y activa a Raf-1 que subsecuentemente lleva a la fosforilación y activación de MEK y de las ERK1/2. Alternativamente existe una vía independiente de Shc pero dependiente de la activación del IRS por la que la insulina es capaz de activar a las MAPKs. En esta, una vez activo IRS, une al complejo Grb2/SOS y a partir de este punto la secuencia de activación de proteínas es la misma que se describió para Shc.

través de la vía de PI3K se esquematiza en la figura 3 y se inicia cuando el receptor activo y autofosforilado, interacciona con IRS y lo fosforila. Las proteínas IRS contienen un dominio amino-terminal de homología a pleckstrina (dominio PH) altamente conservado, seguido por un dominio de unión a fosfotirosinas (PTB), que en conjunto permiten el acoplamiento de IRS al IR activo. Adicionalmente, los IRSs contienen entre 8 y 18 sitios potenciales de fosforilación (en función del tipo de IRS, de los cuales se conocen 4 isoformas, IRS-1 a IRS-4), que al ser fosforilados por el IR, se convierten en sitios de unión y activación de proteínas que contienen dominios SH2 (de homología al dominio 2 de la proteína Src), muchas

de las cuales funcionan como proteínas adaptadoras, como es el caso de PI3K, Grb2 (proteína 2 unida al receptor del factor de crecimiento), Crk II, SHP-2 (proteína tirosina fosfatasa con homología a Src), entre muchas otras (6).

A pesar de que existen 4 isoformas de IRS, al parecer la que está involucrada en el transporte de glucosa a las células es la isoforma 1, por lo que en adelante se hará referencia principalmente a esta isoforma.

Las PI3Ks, son heterodímeros que constan de una subunidad reguladora (p85 α , p55 α , p50 α , p85 β ó p55^{PIK}) y de una subunidad catalítica (p110 α , p110 β ó p110 δ). Las subunidades reguladoras son proteínas adaptadoras que contienen dos dominios SH2, los

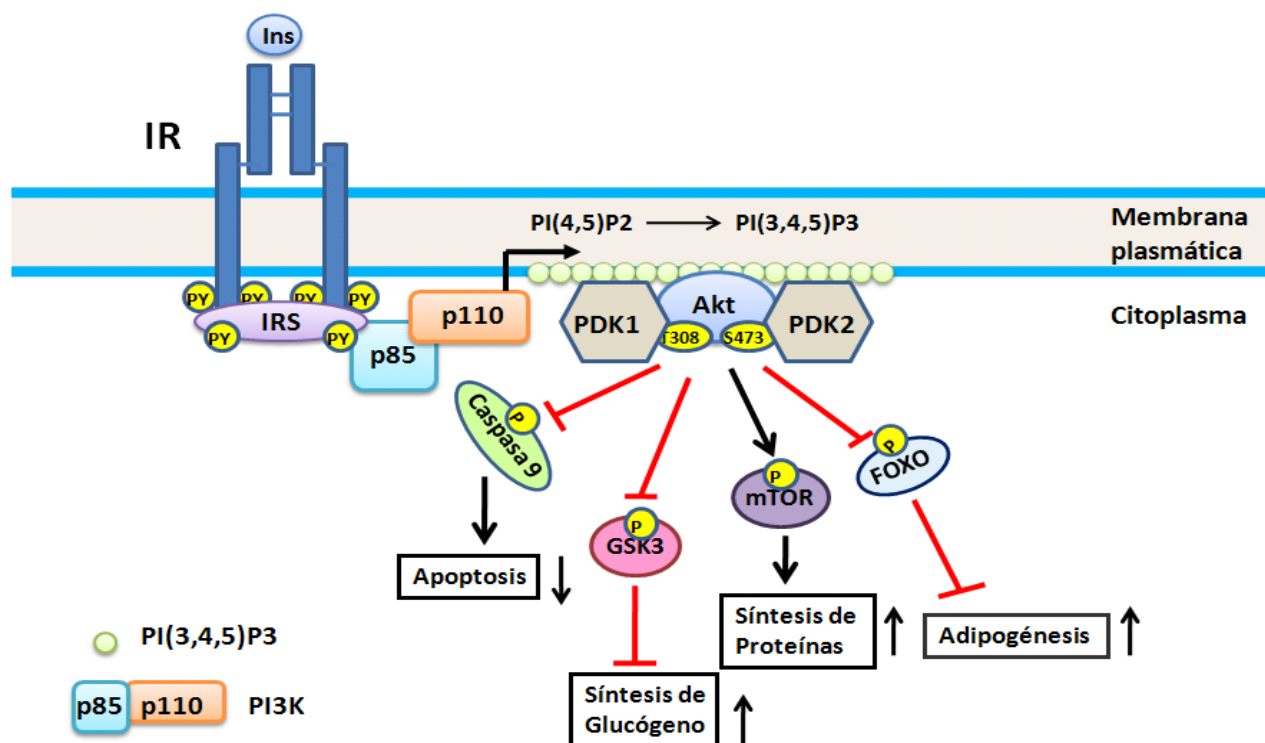


Figura 3. Activación de la vía de la PI3K/Akt por la insulina. Esta vía representa el principal mecanismo por el que la insulina ejerce sus funciones en el metabolismo. El IR activo y autofosforilado, activa a IRS la cual contiene varios sitios de fosforilación en residuos de Tyr (Y) que al ser fosforilados por el IR, se convierten en sitios de unión y activación de proteínas que contienen dominios SH2 como PI3K. La PI3K consta de una subunidad reguladora (p85) y de una subunidad catalítica (p110). La interacción entre p85/IRS-1 da por resultado la activación de p110 y a consecuencia de ello, p110 tiene acceso a su sustrato PI(4,5)P₂, el cual es fosforilado en la posición 3 del inositol, generando PI(3,4,5)P₃, que sirve como sitio de unión para cinasas de Ser como PDK1 y Akt. El complejo proteico PDK2 activa a Akt, induciendo una primera fosforilación en la Ser⁴⁷³ que es seguida por una fosforilación en la Thr³⁰⁸, esta última inducida por PDK1. Akt regula varios de los efectos metabólicos de la insulina a través de regular la activación de diferentes sustratos que propagan la respuesta, como mTOR, FOXO, GSK3 y caspasa 9.

cuales permiten su unión a las proteínas IRS-1. La interacción entre ambas proteínas provoca cambios alostéricos en la conformación de la subunidad reguladora dando por resultado la activación de la subunidad catalítica de PI3K. A consecuencia de ello, p110 se localiza cerca de la membrana plasmática en donde tiene acceso a sus sustratos PI4-P (fosfatidilinositol 4-fosfato) y PI4,5-P₂ (fosfatidilinositol 4,5-bisfosfato), los cuales son fosforilados en la posición 3 del inositol, generando los productos PIP₂ (PI3,4-bisfosfato) y PIP₃ (PI3,4,5-trisfosfato), respectivamente (Fig. 3). El PIP₃ sirve como sitio de unión para cinasas de Ser como PDK1 (cinasa dependiente de fosfoinositidos-1), y Akt o proteína cinasa B (PKB) (7).

En el caso de la cinasa Akt, después de su reclutamiento a la membrana plasmática es fosforilada en dos residuos, la Ser⁴⁷³ y la Thr³⁰⁸. La fosforilación en la Ser⁴⁷³ ocurre primero por acción del complejo proteico mTor/Rictor, también conocido como PDK2. Esta fosforilación parece promover la interacción entre el motivo hidrofóbico del carboxilo terminal de Akt y la cinasa PDK1 que la fosforila en la Thr³⁰⁸; estas dos fosforilaciones son importantes para que Akt se active completamente (8).

Existen tres isoformas de Akt (Akt1-3), de las cuales, la isoforma 2 parece ser la que juega un papel importante en la incorporación de glucosa inducida por la insulina. La

enzima Akt regula varios de los efectos metabólicos de la insulina a través de la fosforilación de una lista creciente de sustratos que propagan la respuesta de la insulina, incluyendo a la enzima glucógeno sintasa (GS), a la glucógeno sintasa cinasa 3 (GSK3), a la sintasa de óxido nítrico inducible (iNOS), a la fosfofructocinasa 2 (PFK2), a la proteína de unión al elemento de respuesta al AMP cíclico (factor de transcripción CREB), a la molécula blanco de la rapamicina en mamíferos (mTOR), a la caspasa 9 y a la proteína antiapoptótica antagonista de Bcl2 (BAD) (Fig. 3) (3). Entre estos destaca la fosforilación e inactivación de la enzima GSK3 (3, 7), una cinasa que en condiciones de no estímulo inhibe a la glucógeno sintasa; la

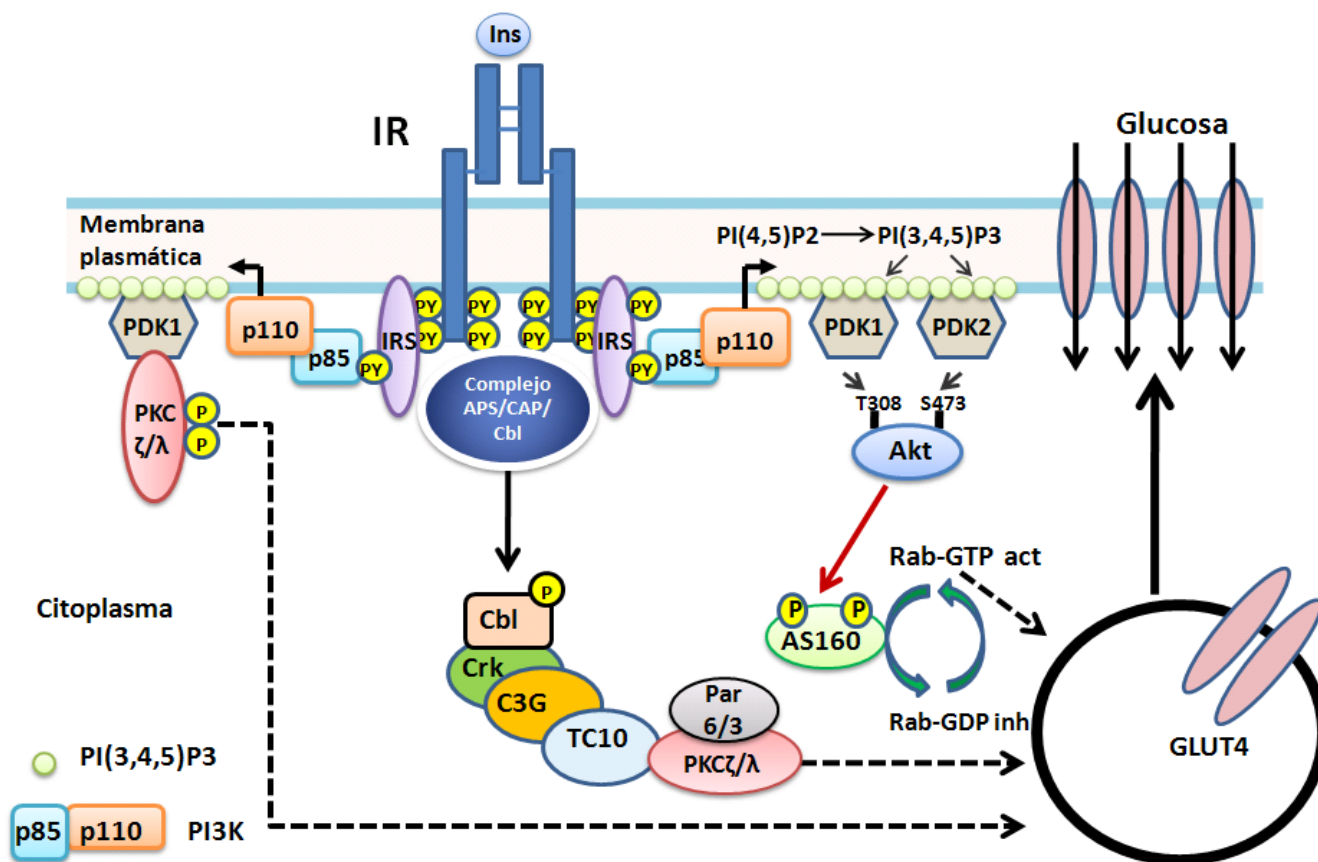


Figura 4. Regulación del transporte de glucosa por la insulina. La insulina promueve la translocación del transportador GLUT4 de compartimentos intracelulares a la membrana plasmática. La proteína AS160 en su estado no fosforilado y activo regula negativamente a las proteínas G pequeñas Rab, las cuales participan en el tráfico vesicular de GLUT4. AS160 estimula la hidrólisis del GTP unido a las Rab (generando Rab-GDP, inactivo) e inhibiendo el tráfico vesicular. Cuando AS160 es fosforilada por Akt se inhibe, por lo que se incrementa el tráfico-dependiente de Rab-GTP (activo) de GLUT4 a la membrana plasmática. Por otra parte, PDK1 induce también la fosforilación de sitios críticos en el asa de activación de dos formas atípicas de la PKC (PKCζ/λ), que contribuyen de manera significativa a la translocación de GLUT4 inducida por la insulina. Recientemente se describió un modelo alternativo independiente de PI3K/PDK1/Akt, mediante el cual la unión de insulina a su receptor activa la proteína G pequeña TC10 vía el complejo APS/CAP/Cbl. TC10 participa en la activación de las PKC-λ/ξ que produce la translocación de GLUT4.

inhibición de GSK3 por Akt favorece la activación de la glucógeno sintasa y el aumento en la síntesis de glucógeno (6).

La cascada de la PI3K incluye a otras cinasas de Ser que median la respuesta de la insulina, incluyendo a mTOR la cual regula la síntesis proteica a través de las vías de p70S6K/S6 y 4EBP1/eIF4 (6, 7).

REGULACIÓN DEL TRANSPORTE DE GLUCOSA

Quizás uno de los mecanismos de acción de la insulina más estudiado y aun poco comprendido es el relacionado a la regulación del transporte de glucosa

en células adiposas y musculares. La insulina promueve la translocación del transportador de glucosa GLUT4 de compartimentos intracelulares a la membrana plasmática, por una vía que depende de la activación de PI3K y de la cinasa Akt (8). Evidencias recientes indican que el tráfico de GLUT4 a la membrana plasmática depende de varios mecanismos entre los que se encuentra la participación de la AS160 (la cual contiene un dominio Rab/GAP). AS160 (sustrato de Akt de 160 KDa) es una proteína que en su estado no fosforilado y activo regula negativamente la actividad de las proteínas G pequeñas

Rab, las cuales participan en el tráfico vesicular de GLUT4, inhibiendo la exocitosis basal del transportador. AS160 es sustrato de Akt, y cuando es fosforilada por Akt, AS160 se inhibe, por lo que se incrementa el tráfico-dependiente de Rab del transportador GLUT4 a la membrana plasmática (Fig. 4) (8).

En años recientes fue descrita en adipocitos una vía de transporte de glucosa independiente de PI3K, e involucra a la proteína Cbl y a las proteínas adaptadoras APS y CAP. La formación de un complejo proteico entre APS/CAP/Cbl, permite la fosforilación de ésta última proteína

por el IR. El complejo CAP/Cbl fosforilado se disocia del IR y a través de CAP interactúa con la flotilina en microdominios de la membrana plasmática conocidos como balsas lipídicas (lipid rafts), en donde Cbl recluta al complejo proteico CrkII-C3G. C3G activa a la proteína TC10, proteína G pequeña, miembro de la familia de Rho, la cual al parecer lleva a la translocación de GLUT4 (Fig. 4) (1, 8).

Por otra parte, la activación de las PKCs atípicas λ y ζ inducida por la insulina también las involucra en favorecer el transporte de glucosa inducido por la insulina. Se ha descrito que la activación de PKC- λ/ζ podría darse río abajo de PI3K y de TC10, es decir, podrían ser proteínas en donde convergen ambas vías de señalización involucradas en el transporte de glucosa. Por un lado, se ha sugerido que ambas PKCs pueden asociarse con PDK1 cuando ésta se ancla al PIP_3 generado por la acción de PI3K, induciendo la fosforilación en los residuos de $\text{Thr}^{402}/\text{Thr}^{410}$ en el asa de activación de PKC. Por otra parte, cuando TC10 es activado interacciona con el complejo PKC atípica/Par6/Par3, lo que induce el reclutamiento de ambas PKCs en la membrana plasmática donde son activadas (9). Par3/Par6 son dos proteínas de andamiaje recientemente descritas como proteínas que interaccionan con PKC- λ/ζ , y que en complejo participan en mediar varias de las funciones celulares de la PKC. Finalmente, podemos decir que independientemente de la vía que lleve a la activación de PKC- λ/ζ , ambas contribuyen de manera significativa a la translocación de GLUT4 inducida por la insulina (Fig. 4) (8, 9).

MECANISMOS DE REGULACION DE LA SEÑAL DE INSULINA

La duración y extensión de las señales inducidas por acción de la insulina son altamente reguladas para promover el

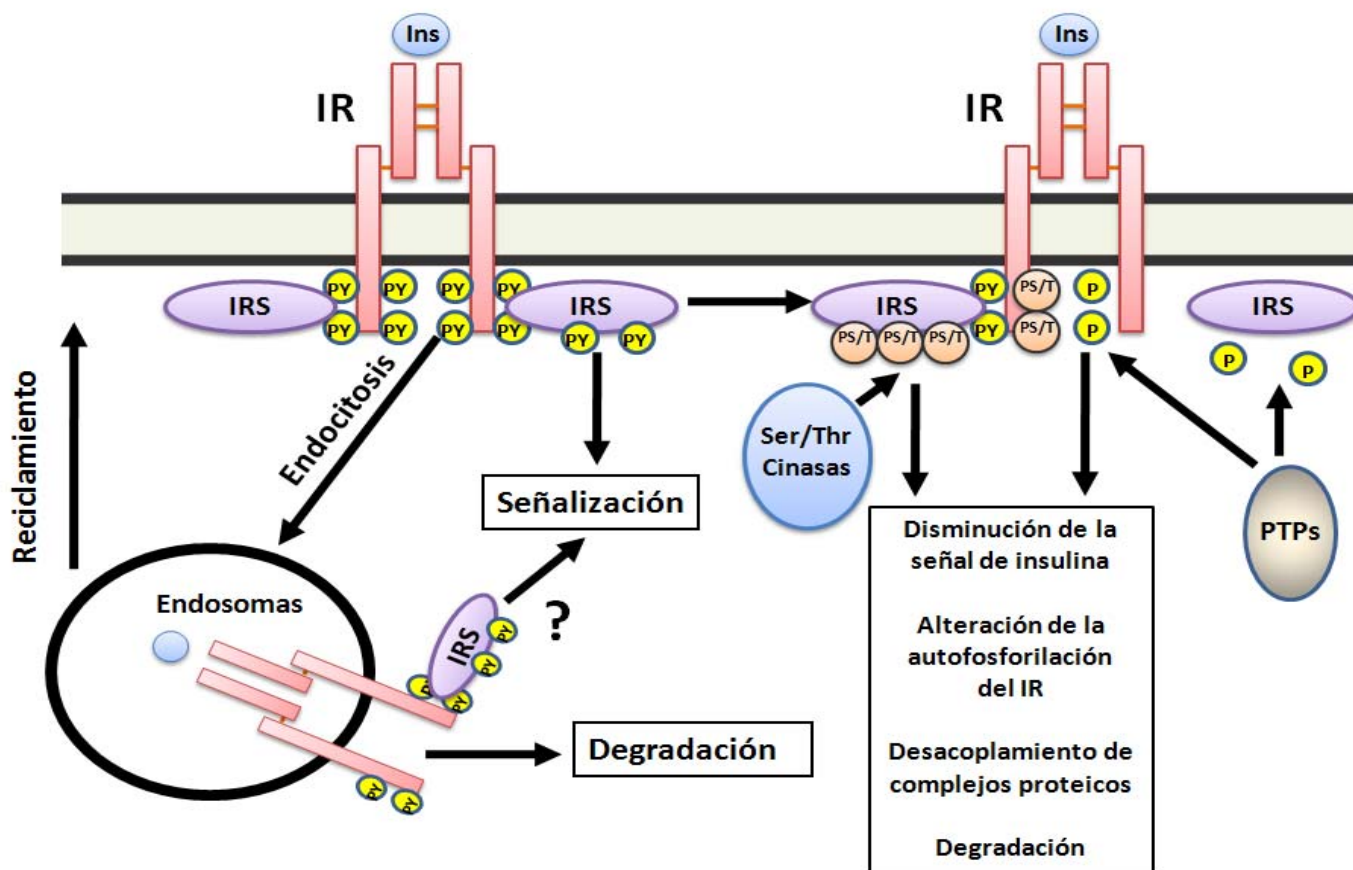
adecuado funcionamiento metabólico, el balance energético y el mantenimiento del peso corporal. El control de las acciones de la insulina se lleva a cabo gracias a mecanismos muy finos de autorregulación (desensibilización homóloga), en donde enzimas de la misma vía que fueron activadas por acción de la insulina inhiben la actividad de proteínas claves de la señalización, como lo son el IR o sus sustratos IRS. Alternativamente, señales de vías no relacionadas a la de la insulina pueden inhibir su señalización a través de mecanismos de desensibilización heteróloga. De esta forma, tanto el IR como su principal sustrato, el IRS, se encuentran sujetos a una combinación de mecanismos de desensibilización homóloga y heteróloga. A continuación se describen los principales puntos de regulación a nivel del IR y de IRS por acción de la insulina (Fig. 5).

a) Regulación a nivel del IR

Endocitosis. Una vez que la insulina se une con el IR, el complejo insulina-receptor es internalizado hacia los endosomas primarios, principalmente mediante su inclusión en vesículas recubiertas de clatrina, en donde el IR permanece activo y completamente fosforilado. El pH ácido de los endosomas induce la disociación de la insulina del IR; una vez que la insulina se disocia, ésta es degradada por acción de la enzima insulinasa ácida endosomal y el IR es reciclado a la membrana celular. Sin embargo, en condiciones de estimulación prolongada con niveles saturantes de insulina, el IR es transportado a los lisosomas para su degradación. De esta forma la internalización, el reciclamiento y la degradación del IR determinan el número de receptores presentes en la superficie celular disponibles para la unión de la insulina. Aunque la internalización del IR juega un papel crucial en la

atenuación de los efectos de la insulina, también se ha sugerido que es importante en la activación de Shc y la vía de las MAP cinasas (Fig. 5). Este fino mecanismo de regulación del número y de la activación del IR en la membrana plasmática es crucial para determinar la sensibilidad celular a la insulina, no únicamente en condiciones fisiológicas sino también en condiciones patológicas incluyendo a la resistencia a la insulina (10).

Acción de Proteínas fosfatasa de Tyr. Se ha postulado que el grado de activación del IR está determinado por acciones opuestas a su fosforilación en residuos de Tyr. Un mecanismo de regulación de la señal de insulina que actualmente es sujeto de un gran número de estudios, involucra la desfosforilación de residuos claves de Tyr en el asa de activación del receptor por la activación de proteínas fosfatasas de Tyr (PTPs) (Fig. 5). Las PTPs se clasifican en dos categorías: PTPs citosólicas y PTPs de membrana y ambos grupos han sido identificados como reguladores de la actividad del IR. Con respecto a las PTPs localizadas en la membrana PTP- α , PTP- ϵ y LAR al parecer juegan un papel importante en la regulación de la fosforilación del IR. En particular se ha observado que LAR (fosfatasa relacionada al antígeno común de leucocito) interactúa con el IR y lo desfosforila. Sin embargo, las evidencias experimentales más importantes de la participación de las PTPs en la regulación de las acciones de la insulina provienen de estudios realizados con PTPs citosólicas, principalmente con la PTP-1B y SHP-2. PTP-1B no únicamente disminuye la señal de la insulina cuando ésta es sobre expresada, sino también se asocia al IR en células intactas, lo que sugiere que puede funcionar como un regulador de las acciones de la insulina *in vivo*. De manera interesante, la eliminación del gen de PTP-1B en



Ser¹⁰³⁵ y Ser¹⁰³⁷) y carboxilo terminal (residuos Ser¹²⁸⁸, Ser¹³⁰⁵, Ser¹³⁰⁶, Ser¹³²¹, Ser¹³²⁷ y Thr¹³⁴⁸) (4). Aunque no es claro el papel de la fosforilación de cada uno de estos residuos en el estado de autofosforilación del IR o en su actividad de cinasa, varios de estos sitios se encuentran en cercana proximidad a los sitios de autofosforilación del IR o se encuentran dentro del sitio catalítico y podrían, por tanto, alterar la conformación del IR o el acceso a residuos de Tyr clave en su activación (5, 12).

b) Regulación a nivel del IRS

Fosforilación en residuos de Ser/Thr. Después del estímulo con insulina, el IRS-1 se fosforila de manera notable, no únicamente en residuos de Tyr sino también en residuos de Ser/Thr (Fig. 5). De un total de 232 residuos de Ser/Thr presentes en IRS-1, a la fecha se han identificado alrededor de 70 residuos como sitios potenciales de fosforilación para diferentes cinasas (conocidas como cinasas de IRS). Actualmente se sabe que, en la mayoría de los casos, la fosforilación de estos residuos está implicada en mecanismos de atenuación de la señal de insulina que desacopla la unión del IRS de proteínas efectoras de la vía de insulina como lo es la PI3K (13, 14).

La fosforilación en residuos de Ser/Thr de IRS puede llevarlo a: a) desacoplarse del IR lo que altera su capacidad de experimentar fosforilación en residuos de Tyr; b) su disociación de complejos intracelulares que lo mantienen en cercanía con el IR; c) su degradación o bien, d) convertirlas en proteínas inhibitoras de la actividad de cinasa del IR (13, 14).

Estudios recientes han identificado varios residuos de Ser/Thr como blancos potenciales de fosforilación de cinasas de IRS que afectan su activación. Entre ellos se encuentran la Ser³⁰⁷, fosforilada por la cinasa del

N-terminal de c-Jun (JNK) y por mTOR; la Ser⁷⁹⁴, fosforilada por la cinasa inducible por sal-2 (SIK-2); la Ser⁶¹⁶, fosforilada por ERK y mTOR; la Ser⁶³⁶, fosforilada por ERK y mTOR/S6K1; la Ser³²³ fosforilada por PKCζ, y la Ser¹¹⁰¹, fosforilada por PKCθ. En todos los casos, la insulina lleva a la activación de las cinasas mencionadas, resultando en la disminución de la señalización (7, 12-14).

Modulación por interacción con proteínas SOCS. Recientemente se ha demostrado que la familia de proteínas supresoras de proteínas de señalización de citocinas (SOCS) juega un papel importante en regular negativamente la activación del IRS, ya sea por interacciones directas o indirectas. Se ha demostrado que su expresión es inducida por el tratamiento con la insulina en varios tejidos y líneas celulares. Cuando se induce la síntesis de las proteínas SOCS estas son capaces de asociarse con las proteínas IRS, alterando su estructura y su unión tanto al IR como a proteínas efectoras como lo es la PI3K. Además, se ha observado que la asociación de SOCS con IRS promueve su degradación y disminución en el número de células (5).

c) Mecanismos de regulación río abajo de IRS.

Las fosfatasa de lípidos que desfosforilan los productos de la activación de PI3K están involucradas en la regulación de la vía de insulina río abajo de IRS. Entre estas se encuentran SHIP-2 (inositol fosfatasa con dominio SH2), y PTEN (fosfatasa y homólogo de tensina removido en el cromosoma 10), proteínas fosfatasa que inducen la desfosforilación del PIP₃ en las posiciones 5' y 3', respectivamente, generando fosfatidilinositol 3,4 bisfosfato, y fosfatidilinositol 4,5 bisfosfato. Al parecer, estas desfosforilaciones en los lípidos de la membrana tienen

efectos biológicos diferentes. Por ejemplo, PTEN parece funcionar como supresor de tumores ya que se ha observado que mutaciones en esta enzima llevan a síndromes neoplásicos sin tener efectos metabólicos. Sin embargo, en el ratón "knockout" de SHIP-2 hay un incremento en la sensibilidad a la insulina debido a un aumento en la producción de PIP₃ y por lo tanto a un aumento en la actividad de proteínas río abajo de PI3K involucradas en procesos relacionados con el transporte de glucosa (14).

RESISTENCIA A LA INSULINA

La resistencia a la insulina es un estado patológico en el que las células que ordinariamente responden a la insulina dejan de hacerlo. Los individuos con resistencia a la insulina están predispuestos al desarrollo de diabetes mellitus tipo 2 (DM2), además de asociárseles frecuentemente con un número importante de desordenes de salud entre los que se encuentran la obesidad, la hipertensión, infección crónica y enfermedades de tipo cardiovascular. Por lo anterior, entender los mecanismos que favorecen el desarrollo de la resistencia a la insulina con el fin de generar tratamientos que ataquen esta condición, ha sido y seguirá siendo tarea de muchos grupos de investigación.

De manera general, la resistencia a la insulina se manifiesta por una disminución en el transporte de glucosa inducido por la insulina en adipocitos y músculo esquelético, un aumento de la producción de glucosa hepática y alteraciones en el metabolismo de lípidos en tejido adiposo y hepático (14-16). A nivel molecular, los mecanismos por los que se genera la resistencia a la insulina pueden ser múltiples y variar de un individuo a otro. Sin embargo, la resistencia a la insulina es la

consecuencia de una deficiente señalización de la insulina causada por mutaciones o modificaciones post-traduccionales del IR o de moléculas efectoras río abajo del mismo. En algunos casos la resistencia a la insulina se debe a un defecto en la unión de la insulina a su receptor, pero más a menudo se atribuye a alteraciones posteriores a la unión de la insulina, que alteran desde la funcionalidad de su receptor hasta la actividad de proteínas localizadas río abajo del mismo y que desempeñan funciones importantes en la señalización de la insulina (1, 12, 14). Entre las alteraciones más comunes se encuentran la disminución en el número de receptores y de su actividad de cinasa; un aumento en el estado de fosforilación en residuos de Ser/Thr de proteínas clave como el receptor y su sustrato; la disminución de la actividad de las cinasas PI3K y Akt, y defectos en la expresión y función del transportador GLUT4 (15). De estas alteraciones el aumento en la fosforilación en residuos de Ser/Thr a nivel del IR y de IRS, ha sido considerado como uno de los mecanismos clave en el desarrollo de la resistencia a la insulina. Un aumento en el estado de fosforilación de ambas proteínas puede alterar su asociación a otras proteínas, bloquear sitios de fosforilación en Tyr, disminuir su activación e inducir su degradación (14-16).

La importancia de un aumento en el estado de fosforilación en residuos de Ser/Thr de las proteínas IRS también ha sido documentado en estudios clínicos, en donde se ha demostrado que en hígado, músculo y tejido adiposo de pacientes obesos (tejidos que desempeñan un papel

importante en el desarrollo de la resistencia a la insulina), la expresión de las proteínas IRS-1 disminuye alrededor del 54%, y este aumento en la degradación de IRS puede estar dado por un aumento en la fosforilación de IRS en residuos de Ser/Thr.

Varios agentes y condiciones metabólicas han sido implicados como inductores de la resistencia a la insulina. Los más comunes son los ácidos grasos libres y sus metabolitos; el factor de necrosis tumoral- α (TNF- α) y otras citocinas; hormonas catabólicas como la epinefrina, el glucagon y la angiotensina II y hormonas secretadas por el tejido adiposo como la resistina. De esta forma parece que la resistencia a la insulina es consecuencia de la acción de una multitud de diferentes inductores. Por ejemplo, el incremento en la concentración plasmática de ácidos grasos libres se encuentra asociado con muchos estados de resistencia a la insulina, incluyendo obesidad y DM2. En humanos, el contenido y composición de triglicéridos y fosfolípidos en músculo correlaciona directamente con la presencia de resistencia a la insulina. Inicialmente, el incremento en la concentración plasmática de ácidos grasos libres, induce resistencia a la insulina por la inhibición del transporte de glucosa estimulado por la insulina, que es seguido por una reducción en la síntesis de glucógeno en músculo y la oxidación de la glucosa. Estudios a nivel molecular han determinado que el incremento en la concentración de ácidos grasos libres puede llevar a cambios en la expresión del IR y alterar, tanto la unión de la insulina con el receptor

como el estado de fosforilación de su dominio de cinasa. Así mismo, pueden inhibir la activación de la enzima PI3K dependiente de IRS-1. La inhibición de la PI3K por los ácidos grasos libres ha sido asociada a un aumento en la fosforilación en residuos de Ser/Thr del IRS-1. Recientemente se ha descrito que los ácidos grasos libres también pueden alterar la activación de Akt debido a un aumento en la cantidad de ceramida y diacilglicerol en células musculares en cultivo (16).

CONCLUSIONES

En la presente revisión se han abordado los principales mecanismos de activación y de regulación de la señalización de la insulina, y se ha presentado un panorama general de uno de los principales factores involucrados en el desarrollo de enfermedades como la DM2, la obesidad y la hipertensión: la resistencia a la insulina. Esta, nos es más que la incapacidad de la insulina de ser reconocida y/o de generar una respuesta intracelular adecuada por fallas en su transducción de señales. Comprender los mecanismos moleculares involucrados en las acciones de la insulina y en el desarrollo de la resistencia a la insulina es importante para el desarrollo de nuevas herramientas terapéuticas en el tratamiento de estos desordenes.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen al CONACYT por el apoyo recibido (JAOR, proyecto de investigación No. 48777; AAP, becaria CONACYT No. 169944). También agradecen a la DG Norma Cirnes por su ayuda en el diseño de las figuras.

REFERENCIAS

1. Saltiel AR, Kahn CR (2001) Insulin signalling and the regulation of glucose and lipid metabolism. *Nature* 414:799-806.
2. Avruch J (1998) Insulin signal transduction through protein kinase cascades. *Mol Cell Biochem* 182:31-48.
3. Myers MG Jr, White MF (2002) The Molecular Basis of Insulin Action. En: *Insulin Signaling: From cultured cells to animal models*. Editor: Gruenberg G, Zick Y. Taylor and Francis, New York, pp 55-87.
4. Ebina Y, Ellis L, Jarnagin K, Edery M, Graf L, Clauser E, Ou JH, Masiarz F, Kan YW, Goldfine ID (1985) The human insulin receptor cDNA: the structural basis for hormone-activated transmembrane signalling. *Cell* 40:747-758.
5. Youngren J (2007) Regulation of insulin receptor function. *Cellular and Molecular Life Sciences* 64:873-891.
6. Virkamaki A, Ueki K, Kahn CR (1999) Protein-protein interaction in insulin signaling and the molecular mechanisms of insulin resistance. *J Clin Invest* 103:931-943.
7. Engelman JA, Luo J, Cantley LC (2006) The evolution of phosphatidylinositol 3-kinases as regulators of growth and metabolism. *Nat Rev Genet* 7:606-619.
8. McCarthy AM, Elmendorf JS (2007) GLUT4's itinerary in health & disease. *Indian J Med Res* 125:373-388.
9. Liu XJ, He AB, Chang YS, Fang FD (2006) Atypical protein kinase C in glucose metabolism. *Cellular Signalling* 18:2071-2076.
10. Carpentier J-L, Hamer I, Foti M (2002) Insulin receptor trafficking. En: *Insulin Signaling: from cultured cells to animal models*. Editor: Grunberger G, Zick Y. Taylor and Francis, New York, pp 243-258.
11. Cheng A, Dube N, Gu F, Tremblay ML (2002) Coordinated action of protein tyrosine phosphatases in insulin signal transduction. *Eur J Biochem* 269:1050-1059.
12. Paz K, Zick Y (2002) Ser/Thr phosphorylation of insulin receptor signaling molecules and insulin resistance. En: *Insulin Signaling: From cultured cells to animal models*. Editor: Gruenberg G, Zick Y. Taylor & Francis, New York, pp 259-280.
13. Gual P, Marchand-Brustel YL, Tanti JF (2005) Positive and negative regulation of insulin signaling through IRS-1 phosphorylation. *Biochimie* 87:99-109.
14. Le Roith D, Quon MJ, Zick Y (2003) Molecular and cellular aspects of insulin resistance: Implications for diabetes. En: *Signal Transduction and Human Disease*. Editor: Finkel T, Gutkind JS. Hoboken, New Jersey Wiley-Interscience, pp 171-200.
15. Sesti G (2006) Pathophysiology of insulin resistance. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* 20:665-679.
16. Bhattacharya S, Dey D, Roy SS (2007) Molecular mechanism of insulin resistance. *J Biosci* 32:405-413.