

11227

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE
MÉXICO

94
207

FACULTAD DE MEDICINA

MECANISMOS FISIOLÓGICOS, BIOQUÍMICOS Y
MOLECULARES DE ACCIÓN DE LA INSULINA

TESIS QUE PARA OBTENER EL GRADO DE:

ESPECIALIDAD EN MEDICINA INTERNA

PRESENTA:

RINCÓN JARERO, JUAN PABLO DEL

1996

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

94
Zej

INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL

DELEGACIÓN No. 3 SUROESTE

HOSPITAL DE ESPECIALIDADES

"DR. BERNARDO SEPÚLVEDA"

CENTRO MÉDICO NACIONAL SIGLO XXI

T E S I S

**"MECANISMOS FISIOLÓGICOS, BIOQUÍMICOS Y
MOLECULARES DE ACCIÓN DE LA INSULINA"**

TESIS

11227

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

MÉDICO INTERNISTA

PRESENTA

DR. JUAN PABLO DEL RINCÓN JARERO

HOSPITAL DE ESPECIALIDADES "DR. BERNARDO SEPÚLVEDA"
CENTRO MÉDICO NACIONAL SIGLO XXI

ASESOR DE TESIS:

DR. JOSÉ HALABE CHEREM

JEFE DEL SERVICIO DE MEDICINA INTERNA
PROFESOR TITULAR DEL CURSO DE MEDICINA INTERNA
HOSPITAL DE ESPECIALIDADES "DR. BERNARDO SEPÚLVEDA"
CENTRO MÉDICO NACIONAL SIGLO XXI

MÉXICO, D.F., DICIEMBRE DE 1995

1996

T E S I S

**"MECANISMOS FISIOLÓGICOS, BIOQUÍMICOS Y MOLECULARES
DE ACCIÓN DE LA INSULINA"**

Halabe

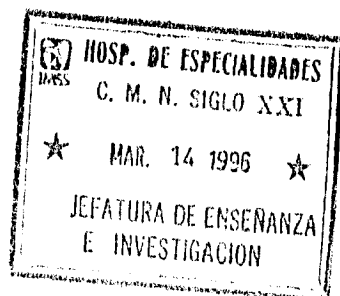
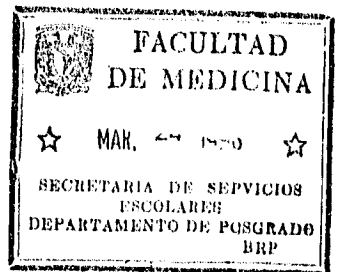
DR. JOSÉ HALABE CHEREM
JEFE DEL SERVICIO DE MEDICINA INTERNA Y
PROFESOR TITULAR DEL CURSO DE MEDICINA INTERNA
DEL HOSPITAL DE ESPECIALIDADES "DR. BERNARDO SEPÚLVEDA"
DEL CENTRO MÉDICO NACIONAL SIGLO XXI
ASESOR DE TESIS

Halabe

DR. JOSÉ HALABE CHEREM
JEFE DEL SERVICIO DE MEDICINA INTERNA Y
PROFESOR TITULAR DEL CURSO DE MEDICINA INTERNA
DEL HOSPITAL DE ESPECIALIDADES "DR. BERNARDO SEPÚLVEDA"
DEL CENTRO MÉDICO NACIONAL SIGLO XXI

wacher

DR. NIELS WACHER RODARTE
JEFE DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN
DEL HOSPITAL DE ESPECIALIDADES "DR. BERNARDO SEPÚLVEDA"
DEL CENTRO MÉDICO NACIONAL SIGLO XXI



ÍNDICE

I. INTRODUCCION	1
I.1. OBJETIVO:	1
I.2. MATERIAL Y METODOS:	1
II. ASPECTOS FISIOLÓGICOS Y BIOQUÍMICOS DE LA ACCIÓN DE LA INSULINA	2
II.1. GLUCOTRANSPORTADORES	2
II.2. VÍAS METABÓLICAS MODIFICADAS POR LA INSULINA	3
II.3. EFECTOS SOBRE VÍAS METABÓLICAS NO OXIDATIVAS	3
II.4. EFECTOS SOBRE LA PRODUCCIÓN HEPÁTICA DE GLUCOSA	5
II.5. EFECTOS SOBRE VÍAS OXIDATIVAS	5
II. 6. EFECTOS SOBRE EL METABOLISMO DE LÍPIDOS	6
II.7. EFECTOS SOBRE EL METABOLISMO DE PROTEÍNAS	7
III. ASPECTOS MOLECULARES DE LA ACCIÓN DE LA INSULINA	8
III.1. CARACTERÍSTICAS DEL RECEPTOR DE INSULINA	8
III.2. EL GEN DEL RECEPTOR DE INSULINA	10
III.3. EL RECEPTOR DE INSULINA COMO TIROSINA CINASA	12
III.4. SITIOS DE ACCIÓN DE LA TIROSINA CINASA	12
III.5. MECANISMOS DE TRANSDUCCIÓN DE SEÑALES A TRAVES DEL IRS-1	13
III.6. LA VÍA RAS COMO POSIBLE MEDIO DE TRANSMISIÓN DE SEÑALES	16
III.7. REGULACIÓN DEL TRANSPORTE DE GLUCOSA	17
III.8. ASPECTOS SOBRE LA REGULACIÓN DEL RECEPTOR DE INSULINA	17
III.9. IMPLICACIONES DE TRASTORNOS EN EL FUNCIONAMIENTO DEL RECEPTOR	18
IV. CONCLUSIONES	19
V. BIBLIOGRAFIA	20

MECANISMOS FISIOLÓGICOS, BIOQUÍMICOS Y MOLECULARES DE ACCIÓN DE LA INSULINA

I. INTRODUCCION

Una parte fundamental de la patogénesis de la diabetes mellitus no insulino dependiente (DMNID) es la insuficiencia de la insulina para estimular la captación muscular de glucosa y para suprimir su producción a nivel hepático.¹ De hecho, en este tipo de diabetes, la resistencia a la acción normal de la insulina parece estar presente por muchos años antes de que se manifieste clínicamente la enfermedad. Dado que esta resistencia a la insulina, es la alteración que se detecta en fase más temprana en individuos predispuestos a desarrollar DMNID, y que se sabe que esto está programado genéticamente², es esencial para conocer las causas potenciales de la DMNID, el comprender los mecanismos normales de acción de la insulina. De igual manera, la comprensión de estos mecanismos hace posible la comprensión de los efectos de una deficiencia severa de insulina, como la que se presenta en la diabetes mellitus insulino dependiente (DMID).

I.1. OBJETIVO:

El objetivo del trabajo fue el identificar los datos actuales más relevantes con respecto a los mecanismos de acción de la insulina a nivel fisiológico, bioquímico y molecular.

I.2. MATERIAL Y METODOS:

En este trabajo, se hizo una revisión extensa de los estudios publicados de 1984 a 1995, identificados por medio del sistema MEDLINE, acerca de los aspectos fisiológicos, bioquímicos y moleculares de la acción de la insulina. Adicionalmente, se revisaron referencias obtenidas a partir de la bibliografía de dichos estudios.

II. ASPECTOS FISIOLÓGICOS Y BIOQUÍMICOS DE LA ACCIÓN DE LA INSULINA

La insulina es una molécula pequeña, con peso molecular de 5,700. Está compuesta de 2 cadenas peptídicas, una cadena A de 21 aminoácidos y una B de 30. Ambas cadenas se encuentran unidas mediante enlaces disulfuro, que conectan los aminoácidos 7 de ambas cadenas y el 20 de la A con el 19 de la B.³

La insulina es la hormona anabólica y anticatabólica más importante del organismo. Se requieren niveles óptimos de ésta, como requisito indispensable para el metabolismo normal de carbohidratos, proteínas y lípidos.⁴ En términos generales, la insulina actúa como una hormona anabólica, al activar los sistemas de transporte y las enzimas involucradas en el almacenamiento y utilización de la glucosa, aminoácidos, y ácidos grasos. También actúa como una hormona anticatabólica, al inhibir la gluconeogénesis, la glucógenolisis, la lipólisis y el desdoblamiento de proteínas.¹

Los tejidos principales sobre los que ejerce sus efectos metabólicos son el hígado, el músculo esquelético y el tejido adiposo. Además, la insulina ejerce efectos sobre todo el organismo, a través del control del flujo de sustratos entre órganos. También tiene efectos reguladores y de crecimiento en casi todas las células.¹

El papel de la insulina en el metabolismo, en términos generales, consiste en almacenar sustratos, principalmente en el período postprandial, y permitir su movilización cuando se limita la disponibilidad de sustratos exógenos.¹ Esta limitación en la disponibilidad de sustratos ocurre en el período postabsortivo (definido, por convenio, como el estado metabólico a partir de las 10 horas y hasta las 14 horas posteriores a la ingesta de alimentos) y en el período de ayuno. De estos sustratos, la glucosa desempeña el papel principal.⁵

II.1. GLUCOTRANSPORTADORES

La insulina desplaza la glucosa fuera de la circulación, al estimular la captación hacia el interior de las células. Esta captación requiere de un sistema de transporte, a través de la membrana, cuyo mecanismo de acción es la difusión facilitada. Este sistema se basa en una familia de proteínas, conocidas como glucotransportadores.⁶ De estas proteínas, la insulina regula claramente a una de

ellas, conocida como el GLUT 4. En el músculo esquelético y el tejido adiposo, la insulina aumenta la translocación de los GLUT 4, desde las membranas microsomales, en el interior de la célula, hacia la membrana plasmática, donde ejercen su acción.⁷ También aumenta la expresión del GLUT 4 (tanto de la proteína como de su ARNm) en adipocitos (en ratas).⁸

En el hígado, a diferencia del músculo esquelético, el transporte de glucosa es independiente de insulina (a través del GLUT 2)^{6,7}, por lo tanto, en éste, el transporte aumenta si hay mayor disponibilidad de glucosa o si aumenta el metabolismo intracelular de la misma.⁹

II.2. VÍAS METABÓLICAS MODIFICADAS POR LA INSULINA

En los tejidos que no poseen el GLUT 4, la insulina puede aumentar la captación de glucosa, al incrementar su metabolismo, a partir de 2 vías principales: glucogénesis y glucólisis. El aumento de actividad de estas vías, disminuye la concentración de glucosa intracelular y aumenta el gradiente extracelular:intracelular, lo cual favorece la captación de glucosa. La insulina, además, favorece indirectamente el flujo de glucosa hacia una tercera vía: el ciclo de las pentosas. Esta vía provee una parte del NADPH que se requiere en la síntesis de ácidos grasos, y dado que la insulina promueve la síntesis de éstos, a partir de glucosa, indirectamente activa el ciclo de las pentosas para proporcionar más NADPH (figura 1).¹⁰

II.3. EFECTOS SOBRE VÍAS METABÓLICAS NO OXIDATIVAS

La glucogénesis, en la que la glucosa se convierte a su forma de almacenamiento, el glucógeno, se regula por la disponibilidad de glucosa, y por la actividad de las enzimas clave en el metabolismo del glucógeno: la glucógeno sintetasa y la glucógeno fosforilasa. La insulina estimula la actividad de la glucógeno sintetasa e inhibe la actividad de la glucógeno fosforilasa (que promueve glucógenolisis).¹¹ Este efecto se presenta, en su mayor parte, en dos tejidos fundamentales en la captación de glucosa y en el almacenamiento de glucógeno: el músculo esquelético y el hígado.^{11,12}

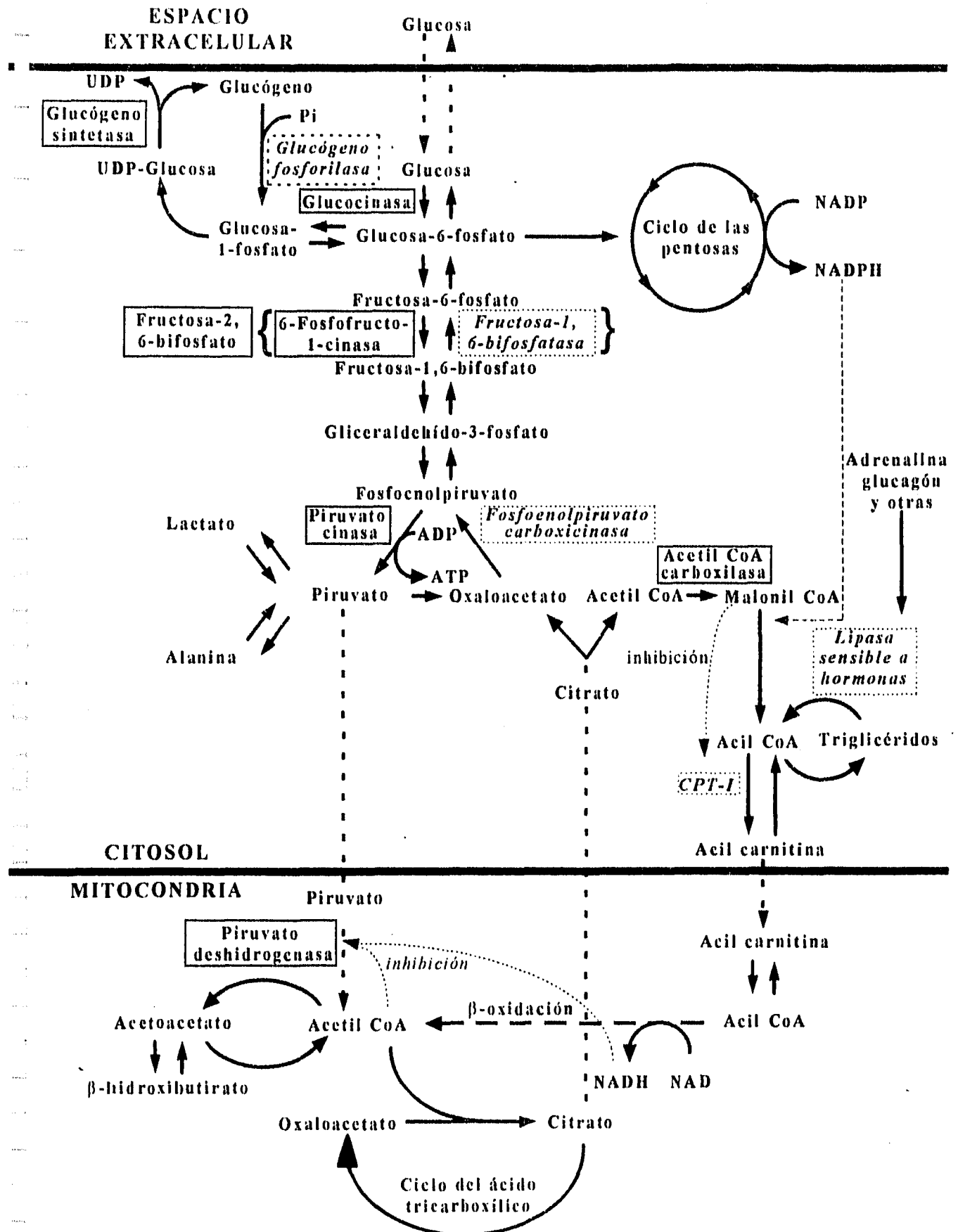


Figura 1. Representación esquemática de los efectos de la insulina sobre vías metabólicas. Las enzimas inhibidas por la insulina, directa o indirectamente, se representan en rectángulos con líneas discontinuas y en *italica*; las que estimula, con rectángulos de líneas continuas. Para una explicación detallada véase el texto. CPT= carnitina palmitoiltransferasa I. Construido con datos de las referencias 9, 10, 11, 13, 14, 16, 17, 18 y 19.

La insulina también puede aumentar el nivel de glucólisis (paso de glucosa a piruvato o lactato), por los siguientes mecanismos: 1) aumento de actividad de glucocinasa (que cataliza el paso de glucosa a glucosa-6-fosfato)⁸; 2) a través del aumento de la concentración del activador fructosa-2,6-bifosfato, el cual activa a la 6-fosfofructo-1-cinasa, que cataliza el paso de fructosa-6-fosfato a fructosa-1,6-bifosfato¹³, efecto sobre el que hay controversia¹⁴; 3) incremento en la síntesis de piruvato cinasa (la cual cataliza la reacción en la que se sintetiza ATP)¹³ y su estado de fosforilación, que a su vez aumenta la afinidad de esta enzima por su sustrato (fosfoenolpiruvato) (figura 1).^{9,10}

II.4. EFECTOS SOBRE LA PRODUCCIÓN HEPÁTICA DE GLUCOSA

Otra de las acciones de la insulina, de enorme importancia, es el control de la producción hepática de glucosa. Esta producción de glucosa tiene un doble origen. Uno de estos orígenes es la glucógenolisis, la cual se presenta debido al aumento de la glucógeno fosforilasa, y a una disminución en la actividad de la glucógeno sintetasa. Lo anterior ocurre cuando disminuyen las concentraciones de insulina.¹⁵ El otro, es la gluconeogénesis, en la cual se sintetiza glucosa, a partir de precursores que no son carbohidratos (lactato, aminoácidos, glicerol). Esta vía también es inhibida por insulina, por su efecto negativo sobre la fosfoenolpiruvato carboxicinas, que cataliza el paso de oxaloacetato a fosfoenolpiruvato.¹⁶ Además, como se mencionó previamente, la insulina puede aumentar la concentración del activador fructosa-2,6-bifosfato (nótese la doble función de este activador), que aparte de su efecto antes mencionado, actúa como inhibidor de la fructosa-1,6-bifosfatasa, que a su vez cataliza el paso de fructuosa-1,6-bifosfato a fructosa-6-fosfato (figura 1).¹⁴

II.5. EFECTOS SOBRE VÍAS OXIDATIVAS

Hasta ahora, se han mencionado los efectos de la insulina hasta un nivel no oxidativo. Sin embargo, esta hormona tiene grandes efectos sobre el metabolismo oxidativo de la glucosa. Por ejemplo, a nivel muscular, aproximadamente se oxida el

50% de la glucosa captada, el 35% se almacena, básicamente como glucógeno, mientras que el 15% se libera, en forma de lactato y alanina, que pueden ser convertidos a glucosa (y glucógeno) a nivel hepático.¹⁷

La actividad del complejo de enzimas de la piruvato deshidrogenasa constituye el elemento principal en la tasa de oxidación de glucosa. En el paso regulado por este complejo enzimático, el piruvato se convierte en acetil CoA, capaz de entrar directamente al ciclo del ácido tricarboxílico o, indirectamente, después de haber pasado antes a ácidos grasos y de haberse almacenado temporalmente como triglicéridos.¹⁸ El papel de la insulina a este nivel se da a través del aumento en la actividad de la piruvato deshidrogenasa.¹⁴ Es probable que este efecto ocurra en forma indirecta. Se ha demostrado que la acetil CoA inactiva a la piruvato deshidrogenasa.¹⁸ Un mecanismo fisiológico determinante en el aumento de acetil CoA dentro de la mitocondria, es el aumento de β oxidación de ácidos grasos, por lo tanto, la actividad antilipolítica de la insulina, al reducir la β oxidación, puede disminuir la cantidad intramitocondrial de acetil CoA, y por lo tanto, reducir la inhibición de la piruvato deshidrogenasa, para dar finalmente un aumento neto (indirecto) en su actividad.¹⁹ Además, en la β oxidación se produce NADH, que también inhibe al complejo de la piruvato deshidrogenasa.¹⁸ En resumen, la insulina favorece el paso de piruvato a acetil CoA (y en cambio, bloquea la síntesis de acetil CoA a partir de ácidos grasos), y esto impide, casi totalmente, el paso reverso hacia glucosa.¹⁴ Así, la acetil CoA que no ingresa en forma directa al ciclo del ácido tricarboxílico, se utiliza para la síntesis de ácidos grasos. En otras palabras, se inhibe la gluconeogénesis y se favorece la lipogénesis (figura 1).¹⁰

II. 6. EFECTOS SOBRE EL METABOLISMO DE LÍPIDOS

Dentro del metabolismo de lípidos, la insulina activa hormonas lipogénicas. Una de estas es la acetil CoA carboxilasa, la cual cataliza el paso de acetil CoA a malonil CoA. El aumento de la malonil CoA produce una inhibición de la lipólisis, a través de una disminución en la actividad de la carnitina aciltransferasa I (también conocida como carnitina palmitoiltransferasa I), que participa en el transporte de acil CoA al interior de la mitocondria. A este último nivel, la acil CoA experimenta

β oxidación.⁸ Por otra parte, la insulina ejerce un efecto inhibitorio sobre la lipasa sensible a hormonas (también conocida como lipasa de triglicéridos). Esta última, se estimula principalmente por adrenalina y glucagón, y es la responsable de catalizar la conversión de triglicéridos a diglicéridos, lo cual constituye el paso limitante en la movilización de triglicéridos almacenados (figura 1).^{20,21}

II.7. EFECTOS SOBRE EL METABOLISMO DE PROTEÍNAS

Los efectos de la insulina sobre el metabolismo de proteínas se conocen con menor detalle que los anteriormente mencionados. En general, hay una promoción de síntesis e inhibición de degradación de proteínas. Probablemente, la mayor parte, o la totalidad de estos efectos, ocurra en forma indirecta. Lo que se ha logrado demostrar, como efecto directo de la insulina, es la expresión de algunos genes (p.ej. algunos genes que codifican enzimas metabólicas).²²

III. ASPECTOS MOLECULARES DE LA ACCIÓN DE LA INSULINA

La insulina produce efectos inmediatos, a mediano, y a largo plazo sobre el metabolismo celular. La forma en que la insulina produce la mayor parte, si no es que todos sus efectos, es a través de un sistema de señales, que se transmiten mediante la regulación de la fosforilación o desfosforilación de ciertas proteínas (figura 2).²³ Los efectos inmediatos se presentan entre segundos y minutos después de la unión de la insulina con su receptor. Entre estos efectos se encuentran la activación de sistemas de transporte para iones y glucosa, el reclutamiento de transportadores intracelulares hacia la membrana plasmática, y la modificación covalente (p.ej. fosforilación y desfosforilación) de enzimas preexistentes. Como resultado de éstos y otros cambios, -se activan ciertas enzimas que controlan pasos metabólicos limitantes, mencionadas en la sección previa, como la piruvato deshidrogenasa, la acetil CoA carboxilasa y la glucógeno sintetasa, en tanto que otras se inactivan, como la fosforilasa cinasa, la lipasa sensible a hormonas y la glucógeno fosforilasa (figuras 1 y 2).^{23,24}

Los efectos de la insulina a mediano plazo, incluyen la estimulación o la inhibición de la transcripción (síntesis de ARNm a partir de un gen de una cadena de ADN) de genes específicos. Los efectos a largo plazo de la insulina, que requieren desde muchas horas hasta algunos días, incluyen la estimulación de síntesis de ADN, así como la proliferación y diferenciación celular.^{23,24}

III.1. CARACTERÍSTICAS DEL RECEPTOR DE INSULINA

Las acciones de la insulina, al igual que las de todas las hormonas peptídicas, se inician al unirse a su receptor específico en la superficie celular.²⁵ El número de receptores es variable entre los diferentes tejidos, desde tan pocos como 40 por célula, en eritrocitos circulantes, hasta 200,000-300,000 en adipocitos y hepatocitos.²⁶ El receptor es una glucoproteína transmembrana, de peso molecular elevado (~ 330 a 440 kDa), formada por 4 subunidades, 2 α (~ 135 kDa), y 2 β (~ 95 kDa), unidas por puentes disulfuro, que forman un heterotetrámero $\beta\alpha\alpha\beta$ (ver figura 3).²⁷ Las subunidades α se componen de 735 aminoácidos, y son las que contienen los sitios de unión de la insulina. Ambas subunidades α se localizan fuera de la célula, y se unen

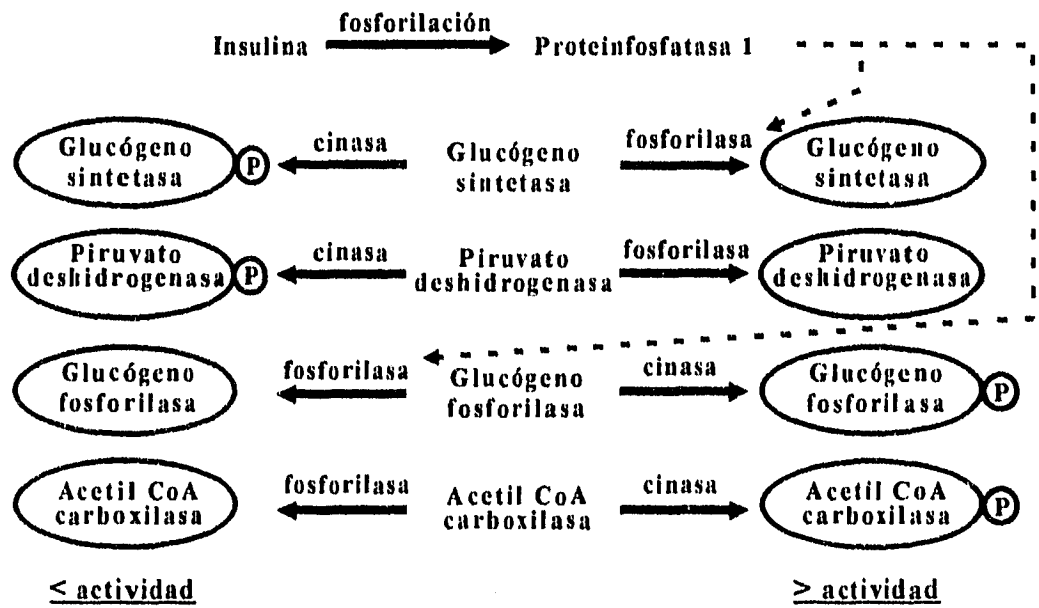


Figura 2. Esquema de ejemplos de cambios en actividad enzimática inducidos por cambios en el estado de fosforilación. Nótese como la fosforilación que inducen las cinasas, o la desfosforilación que producen las fosfatasas, son mecanismos reguladores de la actividad de diversas enzimas. Por ejemplo, como efecto de la insulina, la proteínfosfatasa 1 (que es una fosforilasa) se fosforila, lo cual la activa. Esta última, en su forma activada, desfosforila a la glucógeno sintetasa y a la glucógeno fosforilasa, lo cual activa a la primera e inactiva a la segunda, lo cual da un balance neto de aumento en los depósitos de glucógeno. Construído en base a las referencias 9, 11 y 18.

entre sí, en forma covalente, mediante puentes disulfuro. En contraste, las subunidades β son proteínas transmembrana, con un dominio extracelular de 193 aminoácidos, un dominio transmembrana α helicoidal (así se conoce a las formaciones peptídicas que se encuentran en una estructura espiral, denominada hélice alfa) de 23 aminoácidos, y un dominio intracelular de 402 aminoácidos, el cual contiene la actividad, regulada por insulina, de la enzima tirosina cinasa (ver figura 3).²³ El receptor de insulina pertenece a una familia de receptores denominados tirosina cinasas. Las tirosina cinasas son enzimas capaces de catalizar la transferencia de grupos fosfato de ATP a residuos tirosina en una proteína. Además de la insulina, se han descrito diversos factores de crecimiento con actividad de tirosina cinasa, como el factor de crecimiento semejante a insulina tipo I (IGF-1), el factor de crecimiento epidérmico (EGF), el factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF), el factor estimulante de colonias tipo I (CSF-1) y el factor de crecimiento de fibroblastos (FGF).²⁸

III.2. EL GEN DEL RECEPTOR DE INSULINA

El gen que codifica al receptor de insulina se localiza en el brazo corto del cromosoma 19. Contiene más de 150 kilobases (unidades de medida equivalente a mil pares de ácidos nucleicos en la doble cadena de ADN y que se representa con el símbolo "kb") de longitud y 22 exones (segmentos de un gen que se representan en un producto de ARN, que codifican para una proteína específica). Cada exón se encuentra separado por intrones (segmentos de un gen que no se representan en ARN maduro y, por lo tanto, que no codifican para una proteína) de gran longitud, por lo que el gen completo es mucho mayor que las 4.2 kb de ADNc (ADN complementario, esto es, una cadena sencilla de ADN obtenida mediante la unión de nucleótidos a otra cadena sencilla de ADN o de ARN, que a su vez es "complementaria" de la anterior) necesarias para codificar la molécula del receptor de insulina.^{29,30}

En forma similar a la insulina, en la que sus cadenas A y B se derivan de un sólo precursor, ambas subunidades del receptor de insulina se originan de una cadena sencilla de un mismo prorreceptor. Este prorreceptor contiene las secuencias completas de las cadenas α y β , unidas por un péptido conector corto, de sólo 4

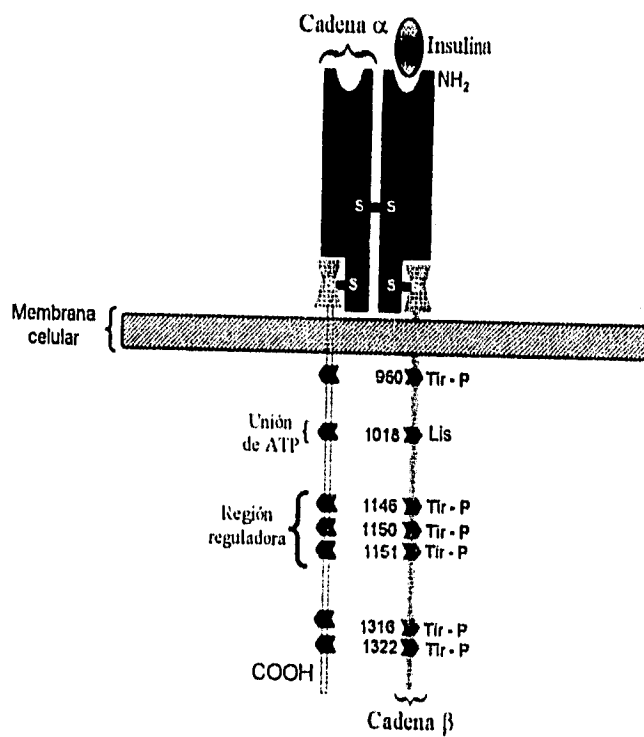


Figura 3. Representación esquemática del receptor de insulina. Se señalan las terminaciones amino de la cadena α y carboxilo de la cadena β. Construido con datos de las referencias 23, 30, 34, 35, 36 y 40.

aminoácidos.³¹ Normalmente el péptido conector se separa antes de la inserción del receptor en la membrana celular, aunque se ha descrito una mutación en la que esto no ocurre, con la consiguiente expresión de una baja actividad, del prorreceptor, en la superficie de la membrana.^{31,32}

El gen del receptor de insulina se regula de acuerdo al estado hormonal o metabólico de la célula y de diferenciación celular. Por ejemplo, durante la diferenciación de fibroblastos hacia adipocitos y de mioblastos hacia miocitos, se presenta un aumento importante en el número de receptores, asociado en ambos casos, con un incremento en los niveles de ARNm.³³

III.3. EL RECEPTOR DE INSULINA COMO TIROSINA CINASA

El receptor de insulina es una enzima alósterica. Estas enzimas se caracterizan por tener un sitio de unión para una sustancia, la cual modifica, a través de un cambio de conformación, el grado de actividad enzimática, por lo que la interacción con el centro activo o catalítico ocurre en forma indirecta. En el caso del receptor de insulina la subunidad α posee el sitio de unión, por lo tanto constituye la unidad reguladora. La subunidad β constituye la porción catalítica.³⁴ Cuando el receptor no está ocupado la subunidad α inhibe la actividad de la tirosina cinasa, que es propia de la subunidad β , y esta inhibición se interrumpe cuando se une la insulina, o bien, en caso de separarse, mediante proteólisis, las subunidades α .³⁵ La estimulación de la actividad de tirosina cinasa por la insulina, como se mencionó previamente, conduce a la transferencia de grupos fosfato, desde moléculas de ATP hacia residuos tirosina del propio receptor, lo cual se conoce como autofosforilación. Una vez que ocurre esta última, el siguiente paso, para continuar la cascada de señales, es el de fosforilación de sustratos proteicos intracelulares.²³

III.4. SITIOS DE ACCIÓN DE LA TIROSINA CINASA

Se han descrito, en la subunidad β , 7 sitios de fosforilación de tirosina (Tyr). Tres de estos sitios, localizados en los aminoácidos 1146, 1150 y 1151 se denominan

en conjunto la región reguladora. Al producir la tirosina cinasa la autofosforilación de esta región, aumenta la actividad de la propia cinasa. La mutación de alguno de los 3 residuos tirosina de la región reguladora, reduce en más del 50% la actividad de la cinasa estimulada por insulina (figura 3).³⁶

La región reguladora es uno de los 4 subdominios necesarios para la función normal del receptor. Otro de estos sitios, considerado como el más importante para la función, es un subdominio rico en residuos glicina y con un residuo lisina en la posición 1018, el cual es indispensable para la acción de la insulina. Otro subdominio se encuentra en la porción carboxiterminal (Tyr¹³¹⁶ y Tyr¹³²²). El otro subdominio se encuentra en la región adyacente a la membrana celular (Tyr⁹⁵³ y Tyr⁹⁶⁰) (figura 3). Al substituir ésta última tirosina por fenilalanina o alanina, la activación de cinasa ocurre normalmente *in vitro*, sin embargo, la transmisión de la señal del receptor se altera, aparentemente por la incapacidad de estos receptores para servir como mediadores de la fosforilación de sustratos endógenos, en particular, del llamado sustrato del receptor de insulina 1 (IRS-1).³⁵

III.5. MECANISMOS DE TRANSDUCCIÓN DE SEÑALES A TRAVES DEL IRS-1

De los sustratos endógenos del receptor de insulina el IRS-1 es el mejor caracterizado. El IRS-1 es una proteína citosólica de 185 kDa, conocida también como pp185. Esta proteína, después de la estimulación por insulina, es fosforilada rápidamente en sus residuos tirosina, en virtualmente todas las células. Su característica principal es que contiene múltiples sitios con tirosina que pueden ser potencialmente fosforilados. La función de estos sitios, en la transducción de señales, es la de servir como "muelles" (en su sentido de puertos) intracelulares, para otras moléculas torrente abajo, en la cascada de transducción de señales.³⁷ Estas moléculas poseen sitios específicos de reconocimiento, conocidos como dominios SH2 (abreviatura de src homology 2 domain), que son regiones de diversas proteínas, con dominios de ~100 aminoácidos, que son homólogos de una oncoproteína viral conocida como src, y que se unen con alta afinidad a otras proteínas, en los sitios de fosforilación de tirosina, tanto de tirosina cinasas como de sus sustratos.^{38,39} Al

menos tres diferentes dominios SH2 se unen al IRS-1, que posiblemente estén involucrados en la transmisión, torrente abajo, de señales del receptor de insulina:

1) una molécula llamada GRB2 (abreviatura de growth factor receptor binding protein 2, producto homólogo del gen *drk* de la *Drosophila*) que es una molécula de 23 kDa, con un dominio SH2, que se une a proteínas con fosfotirosina (como el IRS-1), y 2 dominios SH3, que a diferencia de los SH2, se unen a proteínas en dominios diferentes de los sitios de fosforilación de tirosina (las SH3 son dominios de ~50 aminoácidos, y son homólogas de una región no catalítica de la oncoproteína *src*).^{40,41} En el caso de la GRB2, sus dominios SH3 se unen al GNRP (abreviatura de guanine nucleotide-releasing protein) llamado mSOS (abreviatura del homólogo en mamíferos de la proteína *son-of-sevenless*, nombre que se derivó de la descripción original de la proteína en una mutante de *Drosophila* llamada "sevenless"). El mSOS participa en la activación de una vía de señales, conocida como p21^{ras} (figura 4)^{35,39,40}, que se describe en la siguiente sección;

2) una enzima metabolizante de lípidos, llamada fosfatidilinositol 3-cinasa (PI-3 cinasa). Esta enzima consiste en una subunidad reguladora sin actividad enzimática, denominada p85 α que contiene 2 dominios SH2 y uno SH3, la cual se une a una subunidad catalítica (p110), que específicamente produce fosforilación del fosfatidilinositol en la posición 3'-OH del anillo inositol. Aunque su papel no se ha identificado con exactitud, se cree que la actividad de la PI-3 cinasa pudiera relacionarse con mitogénesis, ya que se ha asociado con la transformación celular inducida por varios oncogenes.⁴² Recientemente se ha involucrado a la PI-3 cinasa en la síntesis de DNA y en la translocación de glucotransportadores (figura 4)³⁵;

3) la fosfotirosina fosfatasa (PTPasa), que es una enzima capaz de remover fosfato de proteínas que contengan fosfotirosina.⁴⁰

Además del IRS-1 se ha descrito una proteína similar a éste, que se denomina IRS-2. Recientemente, se ha encontrado que las proteínas IRS participan en otros sistemas de señales, incluidos los del IGF-1, la hormona de crecimiento (en forma independiente de IGF-1) y diversas citocinas, como IL-4, IL-9, factor inhibidor de leucemia (LIF), e interferones (IFN) de tipo I, como el IFN α , IFN β e IFN ω .⁴³ En cuanto al hecho de que las proteínas IRS-1 participan en la transmisión de señales metabólicas y mitogénicas de diversos factores, como insulina, IGF-1 y hormona de crecimiento, está el desarrollo reciente de un modelo murino, deficiente en IRS-1

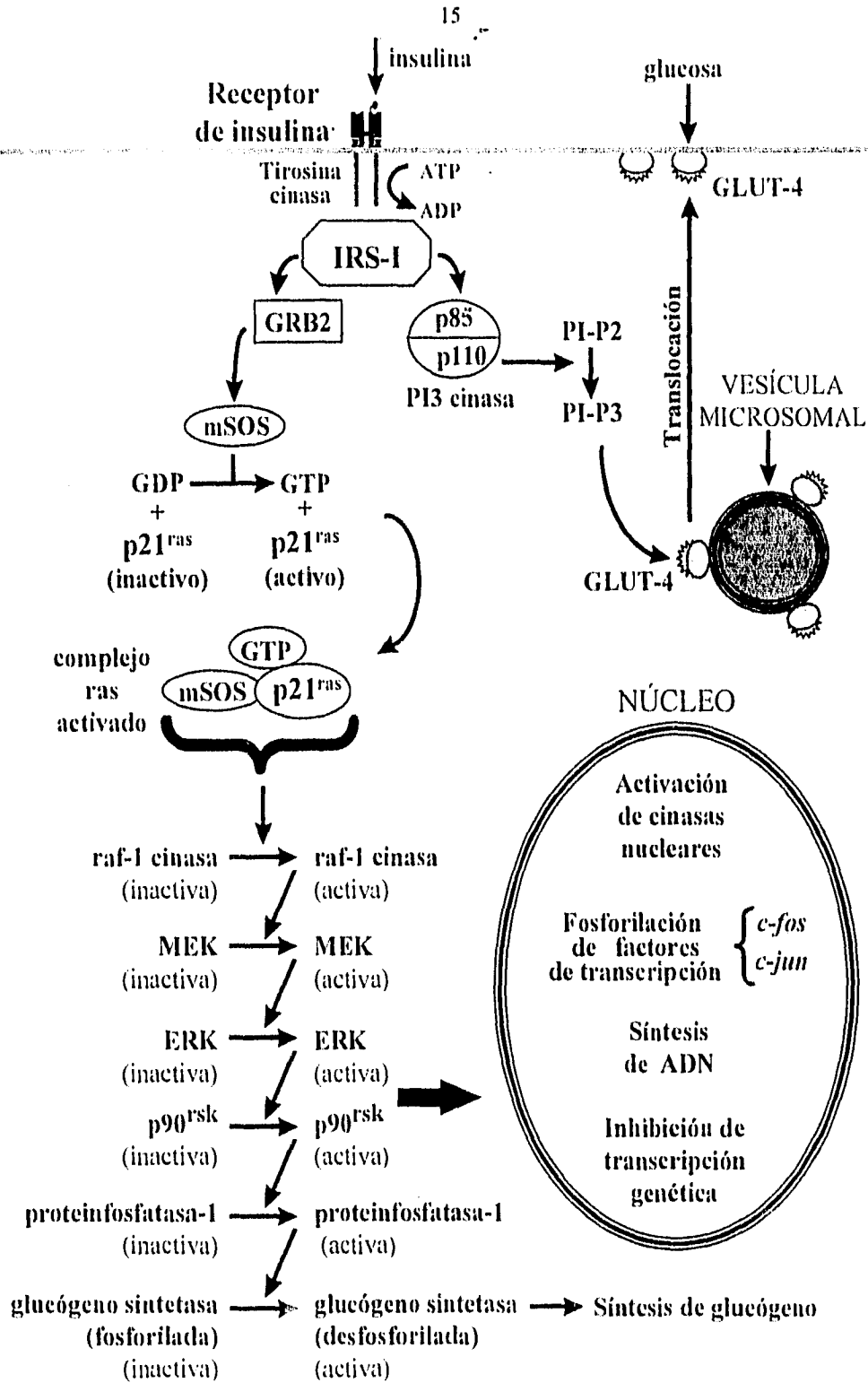


Figura 4. Representación esquemática de los mecanismos moleculares de transmisión de señales de insulina. Se representan los pasos, algunos hipotéticos, desde la unión de la insulina con su receptor, hasta algunos de sus efectos finales, como la síntesis de glucógeno, la síntesis de DNA, la inhibición de transcripción genética (p. ej. de algunas enzimas) y la translocación del GLUT-4. Para una explicación detallada véase el texto.

PI-P2= fosfatidilinositol bifosfato. **PI-P3**= fosfatidilinositol trifosfato.
 Construída en base a las referencias 2, 35, 39, 40, 41, 42 y 47.

(IRS-1^{-/-}). Estos ratones, no sólo presentan trastornos en la depuración de glucosa, sino que son 50% más pequeños que los ratones de su camada, heterocigotos en cuanto a la alteración del IRS-1. Se cree que estos ratones pueden sobrevivir gracias a la acción del IRS-2, o alguna otra vía alterna.^{44,45}

III.6. LA VÍA RAS COMO POSIBLE MEDIO DE TRANSMISIÓN DE SEÑALES

Las proteínas relacionadas con el ras constituyen una familia, con miembros de 21 kDa, que originalmente se identificaron como oncogenes de ciertos tumores. En la actualidad, se les atribuye un papel en la regulación normal del crecimiento celular y del metabolismo. En el caso de su activación por insulina, parecen ser importantes en la regulación de la expresión genética y en la estimulación de mitogénesis. Característicamente, se unen al trifosfato de guanosina (GTP) y al difosfato de guanosina (GDP), que son estructuralmente semejantes al ATP y al ADP, y que sirven en la regulación de varias proteínas que transducen señales. El ras parece servir como un interruptor biológico, que se enciende con la unión de GTP y se apaga cuando se hidroliza el GTP hacia GDP. De esta forma, el mSOS produce su efecto regulador al promover el cambio de GDP a GTP del ras.^{35,41} La activación de p21^{ras} estimula una cascada de fosforilación, que a diferencia de lo hasta ahora mencionado respecto a residuos tirosina, involucra residuos serina (Ser) y treonina (Thr). La forma de p21^{ras} unida a GTP, forma complejos con una enzima llamada Raf-1 cinasa y la activa. Torrente abajo, se encuentra otra enzima, la llamada cinasa MAP (abreviatura de mitogen activated protein kinase, nombre utilizado por el hecho de ser activada por muchos mitógenos), también conocida como ERK (abreviatura de extracellular-regulated kinase, nombre utilizado por ser regulada por diversos ligandos extracelulares). Hasta ahora se han descrito 2 tipos de ERK, de 44 y 42 kDa, conocidas como ERK-1 y ERK-2. Regresando a la Raf-1 cinasa, esta es una cinasa de serina que no parece producir fosforilación directamente de la ERK, sino que aparentemente actúa en un paso previo, sobre la cinasa denominada MEK (abreviatura de MAP/ERK kinase) o MAPKK (abreviatura de MAP kinase kinase). La MEK, una vez activada, tiene una doble especificidad, ya que es capaz de producir fosforilación, tanto de residuos treonina, como tirosina. Las ERK, al ser activadas parecen a su vez ser las activadoras

de una proteína ribosomal de 90 kDa, la cinasa S6 (p90^{isk}).^{35,39} Se ha descrito que la p90^{isk}, estimulada por insulina, produce fosforilación de la subunidad G de la proteínofosfatasa-1, que aumenta la tasa de desfosforilación de la glucógeno sintetasa, lo cual la activa, y de la fosforilasa cinasa, lo cual inactiva a esta última (figura 2 y 4).¹¹ Los datos mencionados, sitúan a la p21^{ras} como componente importante en la comunicación intracelular, al participar en las señales relacionadas con complejos de membrana y la activación de proteínas citosólicas torrente abajo. Adicionalmente a los efectos mencionados, Las ERK puede producir la fosforilación de factores que se conocen como mediadores de transcripción, como el c-jun y el p62^{TFC}.³⁵

III.7. REGULACIÓN DEL TRANSPORTE DE GLUCOSA

Previamente, en la sección II se trató el tema de los glucotransportadores. Cabe hacer mención de algunos avances recientes, en cuanto a la importancia de la tirosina cinasa y el transporte de glucosa mediado por insulina. En adipocitos de rata, transfectados para expresar receptores de insulina normales, o mutantes carentes de actividad de tirosina cinasa, se observó una falla en cuanto a la translocación de GLUT 4.⁴⁶ Además de lo anterior, recientemente se ha implicado a la PI-3 cinasa en el transporte de glucosa, a través del uso de inhibidores específicos de su actividad en adipocitos de rata, con la consiguiente demostración de que dicha inhibición también disminuye la translocación de los GLUT 4 a la membrana plasmática.⁴⁷ Estos datos aportan nueva información en cuanto a la regulación del transporte de glucosa por insulina.

III.8. ASPECTOS SOBRE LA REGULACIÓN DEL RECEPTOR DE INSULINA

Como se mencionó previamente, los sitios de unión de insulina se localizan en las cadenas α del receptor. Existe controversia en cuanto a si se unen 1 o 2 moléculas de insulina a cada receptor. Aparentemente, cada subunidad α tiene un sitio de unión con capacidad para una molécula de insulina. Parece que también existe una

interacción entre estos sitios de unión, en la que la unión de una primera molécula de insulina disminuye la afinidad del receptor para la unión de una segunda molécula.⁴⁸

Después de unirse a su receptor, la insulina entra, junto con el receptor, al interior de la célula, en un proceso denominado endocitosis mediada por receptores.²⁵ La internalización del receptor participa en el control de la acción de la insulina, mediante la disociación de la hormona de su receptor (y por lo tanto su inactivación), y mediante la modulación del número de receptores de superficie, lo que controla la sensibilidad celular a la insulina.²⁵ Además, la internalización lleva a la insulina hacia lisosomas, donde se degrada, en tanto que los receptores pueden ser reciclados hacia la superficie celular, donde se pueden reutilizar.²⁵

El receptor de insulina, además de regularse por la unión de insulina y por autofosforilación de tirosina, también se regula mediante la fosforilación de serina (Ser) y treonina (Thr). Varios de estos sitios se han localizado en la región carboxiterminal, y aparentemente su fosforilación disminuye o inhibe la actividad de cinasa estimulada por insulina, lo cual tal vez constituya un sistema de regulación de asa corta en la acción de la insulina.³⁵

III.9. IMPLICACIONES DE TRASTORNOS EN EL FUNCIONAMIENTO DEL RECEPTOR

Gracias a los avances en el conocimiento del receptor de insulina, ha sido posible demostrar algunas alteraciones, principalmente en pacientes con síndromes de resistencia severa a la insulina. En estos pacientes se han descrito mutaciones que producen alteraciones diversas en el funcionamiento del receptor. Taylor³¹ las ha clasificado de la siguiente manera: las que incluyen trastornos en la síntesis del receptor (clase 1), disminución del transporte de receptores a la superficie celular (clase 2), disminución en la afinidad de unión con la insulina (clase 3), disminución de la transducción de la señal de insulina (deficiencia de actividad de tirosina cinasa) (clase 4) y disminución en la tasa de internalización y reciclaje del receptor (clase 5).³¹

IV. CONCLUSIONES

Desde el descubrimiento de la insulina, ha sido muy difícil explicar los mecanismos por los cuales esta hormona produce sus efectos. El descubrimiento de que el receptor de insulina es una tirosina cinasa, y que ésta produce fosforilación del IRS-1, han sido avances notables. Ahora se conoce que el IRS-1 se une a varios componentes citosólicos y los activa, lo cual modula varios de los efectos, torrente abajo, de la insulina. Si bien, en los últimos años, han habido descubrimientos de gran importancia, existen aún vastas zonas desconocidas, con un enorme número de interrogantes. Existe una intensa investigación a este respecto, principalmente en busca de los defectos postreceptor, que pudieran contribuir a una mayor comprensión la etiopatogenia de la DMNID. El ritmo de los avances recientes es prometedor, por lo que es muy probable que se obtengan aportaciones de gran interés en pocos años.

ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA

V. BIBLIOGRAFIA

1. De Fronzo RA, Bonadonna RC, Ferrannini E. Pathogenesis of NIDDM. A balanced overview. *Diabetes Care* 1992;15:318-68.
2. Beck-Nielsen H, Groop LC. Metabolic and genetic characterization of prediabetic states: Sequence of events leading to non-insulin-dependent diabetes mellitus. *J Clin Invest* 1994;94:1714-21.
3. Steiner DF, Bell GI, Tager HS, Rubenstein AH. Chemistry and biosynthesis of the islet hormones. En: DeGroot LJ, Besser M, Burger HG, et al., eds. *Endocrinology*. 3th ed. Philadelphia: WB Saunders, 1995:1296-328.
4. Smith U. Insulin action. Biochemical and clinical aspects. *Acta Med Scand* 1987;222:7-13.
5. De Fronzo RA, Ferrannini E. Regulation of intermediary metabolism during fasting and feeding. En: DeGroot LJ, Besser M, Burger HG, et al., eds. *Endocrinology*. 3th ed. Philadelphia: WB Saunders, 1995:1389-410.
6. Elsas LJ, Longo N. Glucose transporters. *Annu Rev Med* 1992;43:377-93.
7. Bell GI, Kayano T, Buse JBN. Molecular biology of mammalian glucose transporters. *Diabetes Care* 1990;13:198-208.
8. Assimakopoulos-Jeannot F, Brichard S, Rencurel F, Cusin I, Jeanrenaud B. In vivo effects of hyperinsulinemia on lipogenic enzymes and glucose transporter expression in rat liver and adipose tissues. *Metabolism* 1995;44:228-33.
9. Cooney GJ, Storlien LH. Insulin action, thermogenesis and obesity. *Baillière's Clin Endocrinol Metab* 1994;8:481-507.
10. Taylor S. Diabetes Mellitus. En Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS & Valle D, eds. *The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease*. 7th ed. New York: McGraw Hill, 1995:843-96.
11. Dent P, Lavoigne A, Nakielnny S, et al. The molecular mechanism by which insulin stimulates glycogen synthesis in mammalian skeletal muscle. *Nature* 1990;348:302-7.
12. Henriksen EJ, Bourey RE, Rodnick KJ, et al. Glucose transport protein content and glucose transport capacity in rat skeletal muscles. *Am J Physiol* 1990;259:E593-8.

13. Pilkis SJ, El-Maghrabi MR, Claus TH. Fructose-2,6-bisphosphatase in control of hepatic gluconeogenesis. From metabolites to molecular genetics. *Diabetes Care* 1990;13:582-99.
14. Mandarino LJ, Wright KS, Verly LS, et al. Effects of insulin infusion on human skeletal muscle pyruvate dehydrogenase, phosphofructokinase, and glycogen synthase. *J Clin Invest* 1987;80:655-63.
15. Björkman O, Gunnarsson R, Hagstrom E, et al. Splanchnic and renal exchange of infused fructose in insulin-deficient type 1 diabetic patients and healthy controls. *J Clin Invest* 1989;83:52-59.
16. O'Brien RM, Granner DK. PEPCK gene as a model of inhibitory effects of insulin on gene transcription. *Diabetes Care* 1990;13:327-39.
17. Kelley D, Mitrakou A, Marsh H, et al. Skeletal muscle glycolysis, oxidation, and storage of an oral glucose load. *J Clin Invest* 1988;81:1563-71.
18. Randle PJ, Priestman DA, Mistry S, Halsall A. Mechanisms modifying glucose oxidation in diabetes mellitus. *Diabetologia* 1994; 37 [Suppl 2]:S155-61.
19. Cooney GJ, Denyer GS, Jenkins AB, et al. In vivo insulin sensitivity of the pyruvate dehydrogenase complex in tissues of the rat. *Am J Physiol* 1993;265:E102-7.
20. Illiano G, Cuatrecasas P. Modulation of adenylate cyclase activity in liver and fat cell membranes by insulin. *Science* 1972;175:906-8.
21. Saltiel AR, Fox JA, Sherline P, Cuatrecasas P. Insulin-stimulated hydrolysis of a novel glycolipid generates modulators of cAMP phosphodiesterase. *Science* 1986;233:967-72.
22. Karnick AM, Kimball SR, Jefferson LS. Alterations in protein metabolism in diabetes mellitus. In: Kahn CR, Weir GC, eds. *Joslin's Diabetes Mellitus*. 13th ed. Philadelphia: Lea & Febiger, 1994:116-38.
23. Kahn CR, Goldfine AB. Molecular determinants of insulin action. *J Diab Comp* 1993;7:92-105.
24. Granner DK, O'Brien RM. Molecular physiology and genetics of NIDDM. *Diabetes Care* 1992;15:369-95.
25. Carpentier JL. Insulin receptor internalization: Molecular mechanisms and physiopathological implications. *Diabetologia* 1994;37 (Suppl 2):S117-24.
26. Cuatrecasas P. Isolation of the insulin receptor of liver and fat cell membranes. *Proc Natl Acad Sci USA* 1972;69:318-22.

27. Caro LH, Ohali A, Gorden P, et al. Mutational analysis of the NH₂-terminal glycosylation sites of the insulin receptor α -subunit. *Diabetes* 1994;43:240-6.
28. Hanks SK, Quinn AM, Hunter T. The protein kinase family: Conserved features and deduced phylogeny of the catalytic domains. *Science* 1988;241:42-52.
29. Selno S, Selno M, Nishi S, Bell GI. Structure of the human insulin receptor gene and characterization of its promoter. *Proc Natl Acad Sci USA* 1989;86:114-8.
30. Becker AB, Roth RA. Insulin receptor: Structure and function in normal and pathological conditions. *Annu Rev Med* 1990;41:99-115.
31. Taylor SI. Lilly Lecture: Molecular mechanisms of insulin resistance. Lessons from patients with mutations in the insulin-receptor gene. *Diabetes* 1992;41:1473-90.
32. Taylor SI, Cama A, Accili D, et al. Mutations in the insulin receptor gene. *Endocr Rev* 1992;13:566-95.
33. Mamula PW, McDonald AR, Brunetti A, et al. Regulating insulin receptor gene expression by differentiation and hormones. *Diabetes Care* 1990;13:288-301.
34. Oefsky JM. The insulin receptor: A multifunctional protein. *Diabetes* 1990;39:1009-16.
35. Cheatham B, Kahn CR. Insulin action and the insulin signaling network. *Endocr Rev* 1995;16:117-42.
36. Wilden PA, Siddle K, Haring E, et al. The role of insulin receptor kinase domain autophosphorylation in receptor-mediated activities. *J Biol Chem* 1992;267:13719-27.
37. Sun XJ, Rothenberg P, Kahn CR, et al. Structure of the insulin receptor substrate IRS-1 defines a unique signal transduction protein. *Nature* 1991;352:73-7.
38. Koch A, Anderson D, Moran MF, et al. SH2 and SH3 domains: Elements that control interactions of cytoplasmic signaling proteins. *Science* 1991;252:668-74.
39. Myers MG, White MF. The new elements of insulin signaling: Insulin receptor substrate-1 and proteins with SH2 domains. *Diabetes* 1993;42:643-50.
40. Kahn, CR. Banting Lecture: Insulin action, diabetogenesis, and the cause of type II diabetes. *Diabetes* 1994;43:1066-84.
41. Quon MJ, Butte AJ, Taylor SI. Insulin signal transduction pathways. *Trends Endocrinol Metab* 1994;5:369-76.
42. Pleiman CM, Hertz WM, Cambier JC. Activation of phosphatidylinositol-3' kinase by Src-family kinase SH3 binding to the p85 subunit. *Science* 1994;263:1609-12.

43. Myers, MG, White, MF. New frontiers in insulin receptor substrate signaling. *Trends Endocrinol Metab* 1995; 6: 209-215.
44. Tamemoto H, Kadowaki T, Tobe K, et al. Insulin resistance and growth retardation in mice lacking insulin receptor substrate-1. *Nature* 1994;372:182-86.
45. Araki E, Lipes MA, Patti ME, et al. Alternative pathway of insulin signalling in mice with targeted disruption of the IRS-1 gene. *Nature* 1994;372:186-90.
46. Quon MJ, Guerre-Millo M, Zarnowski MJ, et al. Tyrosine kinase-deficient mutant human insulin receptors (Met¹¹⁵³ Ile) overexpressed in transfected rat adipose cells fail to mediate translocation of epitope-tagged GLUT 4. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994;91:5587-91.
47. Okada T, Kawano T, Sakakibara, et al. Essential role of phosphatidylinositol 3-kinase in insulin induced glucose transport and antilipolysis in rat adipocytes. *J Biol Chem* 1994;269:3568-73.
48. Pang DT, Shafer JA. Evidence that insulin receptor from human placenta has a high affinity for only one molecule of insulin. *J Biol Chem* 1984; 259: 8589-96.