

Señales intracelulares que intervienen en el control de la glucosa

Miguel Cruz,* Eduardo Velasco,* Jesús Kumate*

Recepción: 4 de septiembre de 2000

aceptación: 6 de diciembre de 2000

Resumen

El evento inicial para el control de la glucosa principia con la unión de la insulina a su receptor. Como resultado de esta interacción, las cadenas α y β sufren cambios conformacionales y autofosforilación en la parte carboxilo terminal de la cadena β . Sólo en estas condiciones es posible que el sustrato del receptor de la insulina (IRS) se adose a la cadena β para fosforilarse. La activación del IRS permite que la PI 3-cinasa inicie otra serie de activaciones y asociaciones de proteínas que rodean a las vesículas que contienen a los transportadores de glucosa (GLUT). En la translocación del GLUT participan proteínas que se asocian a las vesículas y proteínas asociadas en la cara interna de la membrana plasmática. Lo anterior implica no solamente asociación, sino también movilización, participación de la red del citoesqueleto y fusión de las membranas. En el metabolismo de la glucosa participan enzimas que convierten la glucosa en energía o la almacenan en forma de glucógeno. En la diabetes tipo 2, enfermedad caracterizada por la falta de control de la glucosa y resistencia a la acción de la insulina, se presentan alteraciones múltiples como disminución en la expresión del receptor de la insulina en la membrana celular, disminución generalizada en la actividad de las fosfotirosinas y activación de las serinas del IRS-1 que disminuyen la señal. Aun cuando conocemos muchas de las funciones de las proteínas involucradas para el control de la glucosa, todavía no entendemos en términos moleculares el significado de la resistencia a la insulina en los pacientes con diabetes tipo 2.

Palabras clave: IRS, Sustrato del receptor de la insulina; PI 3-cinasa, fosfatidilinositol 3-cinasa; GLUT, transportador de glucosa; Ko, ratones knockout.

Summary

Many proteins are involved in glucose control. The first step for glucose uptake is insulin receptor-binding. Stimulation of the insulin receptor results in rapid autophosphorylation and conformational changes in the β chain and the subsequent phosphorylation of the insulin receptor substrate. This results in the docking of several SH2 domain proteins, including PI 3-kinase and other adapters. The final event is glucose transporter (GLUT) translocation to the cell surface. GLUT is in the cytosol but after insulin stimulation, several proteins are activated either in the GLUT vesicles or in the inner membrane. The role of the cytoskeleton is not well known, but it apparently participates in membrane fusion and vesicle mobilization. After glucose uptake, several hexokines metabolize the glucose to generate energy, convert the glucose in glycogen and store it. Type 2 diabetes is characterized by high glucose levels and insulin resistance. The insulin receptor is diminished on the cell surface membrane, tyrosine phosphorylation is decreased, serine and threonine phosphorylation is augmented. Apparently, the main problem with GLUT protein is in its translocation to the cell surface. At present, we know the role of many proteins involved in glucose control. However, we do not understand the significance of insulin resistance at the molecular level with type 2 diabetes.

Key words: IRS, insulin receptor substrate; PI 3-K, phosphatidylinositol 3-kinase; GLUT, glucose transporter; ko, knockout mouse.

*Unidad de Investigación Médica en Bioquímica, Hospital de Especialidades, Centro Médico Nacional Siglo XXI IMSS, México. Tel. 5627 6900 ext. 1179. Fax: 5761 2358.

Correspondencia y solicitud de sobretiros: Miguel Cruz López, Unidad de Investigación Médica en Bioquímica, CMN Siglo XXI, Cuauhtémoc 330, Col. Doctores, C.P.. 06725 México, D.F.

Generalidades

Los receptores celulares juegan un papel muy importante en la comunicación hacia el interior de la célula y su agrupación en familias se basa en la homología y funcionalidad. Tenemos la familia de los receptores con dominios parecidos a las inmunoglobulinas, la familia de receptores para los factores de crecimiento, las hormonas, las señales para desencadenar la apoptosis y la familia de las citocinas entre otras. Los receptores son proteínas que contienen tres dominios: dominio extracelular que es el sitio de la unión del ligando, región transmembranal y el dominio intracelular sitio de activación al interior de la célula.^{1,2} Los ligandos como los factores de crecimiento, citocinas, hormonas de crecimiento y otros, activan proteínas citosólicas y/o genes responsables de funciones celulares importantes para la proliferación y diferenciación celular. Con base en lo anterior, los receptores se clasifican como expresión-tejido específico y de etapa de diferenciación-específica. Al efectuarse la unión del ligando al receptor, pueden desencadenarse las siguientes actividades:

- 1). Activación de los receptores asociados a la proteína G. El ligando promueve la activación del receptor y la asociación de la proteína G. Como consecuencia se activan segundos mensajeros, que al asociarse a las proteínas promueven cambios conformacionales y cambios en los potenciales de membrana. Algunos receptores como el del glucagon, de la epinefrina y de la serotonina se asocian a proteínas G.
- 2). Receptores que sirven de canales de iones. La unión del ligando al receptor promueve el cambio en la conformación de la región interna del receptor para la facilitación de la entrada de los iones importantes a la economía de la célula. Dentro de esta categoría se encuentran aquellos receptores con potenciales eléctricos como es el caso de las uniones sinápticas para la liberación de los neurotransmisores.
- 3). Receptores con actividad de cinasas. Estos receptores tienen en su dominio intracelular residuos ricos en tirosinas, serinas y treoninas, que, en presencia del ligando, producen un cambio conformacional de la proteína y su autofosforilación. Bajo estas condiciones, los

receptores se asocian con proteínas citosólicas que a su vez se fosforilan. Algunos receptores monoméricos como el del factor de crecimiento epidérmico, del factor de crecimiento derivado de las plaquetas y de los interferones, se dimerizan en presencia del ligando como primera etapa de la señalización. Otros receptores como el del factor insulinoide y de la insulina se encuentran preasociados y en presencia del ligando se autofosforilan.

- 4). Receptores con actividad enzimática intrínseca. Esta función se presenta después de la unión del ligando. Dentro de esta familia tenemos a los receptores que catalizan la conversión de GTPa y GMPc y a la familia de las fosfatasa que inactivan los residuos de las tirosinas.

Para que se ejecute la acción al interior de la célula es necesario que el ligando se una al receptor. Algunos ligandos actúan de manera monomérica, otros como dímeros o trímeros. Al igual que los receptores, los ligandos se agrupan por su homología en la secuencia de aminoácidos, por su estructura e interacción con su receptor y por su radio de acción. La acción endocrina (propiamente de las hormonas) de los ligandos, se caracteriza por su efecto a grandes distancias de la célula que los produjo. La función paracrina es la acción del ligando en las células vecinas y la función autocrina se refiere a la utilización de los factores secretados por las mismas células productoras.²⁻⁵

Cascada de señalización vía insulina

Insulina

La insulina con un peso molecular de 5.8 kDa es la hormona anabólica más potente y esencial para el desarrollo, crecimiento y mantenimiento y para la homeostasis de la glucosa en el organismo. La insulina es sintetizada por las células β del páncreas en forma de prohormona. La preproinsulina, al perder 23 aminoácidos de la secuencia líder, se convierte a proinsulina unida por puentes disulfuro intracatenarios y por el péptido C o péptido conector. Posteriormente, la proinsulina se transforma en insulina por acción de las endoproteasas especifi-

cas, quedando como hormona funcional con cadenas A y B de polipéptidos unidos por puentes disulfuro.⁶ Por último, la insulina es secretada por las células β del páncreas (islotos de Langherhans) en respuesta al incremento en los niveles de glucosa. Además, en el hígado (a través de la disminución de la gluconeogénesis y glucólisis) disminuye la salida de glucosa y en el tejido muscular y adiposo promueve la incorporación de glucosa al interior de la célula (Figura. 1).

Receptor de la insulina

El receptor de la insulina, se clasifica dentro de aquellos receptores con actividad de tirosina cinasas. El gen del receptor de la insulina está localizado en el brazo corto del cromosoma¹⁹ humano y está constituido por 22 exones distribuidos a lo largo de 150 kb. Su transcripción da lugar a una

proteína precursora que al ser procesada origina dos cadenas α y dos cadenas β .^{7,8}

El receptor de la insulina solamente se expresa en músculo, tejido adiposo, hígado y páncreas como un tetrámero, donde las dos cadenas α (135 kDa) ricas en cisteínas y glicinas interactúan con la insulina. Estas cadenas se unen por puentes disulfuro a dos cadenas β (95 kDa) que atraviesan la membrana plasmática y cerca de la región carboxilo terminal se encuentran los residuos de tirosinas.⁹⁻¹¹ (Figura 2).

La incorporación de la glucosa a las células se hace por mecanismos diferentes dependiendo del tejido. La insulina ejerce su acción para el control de la glucosa de manera indirecta a través del receptor de la insulina. El primer evento específico es la unión de la insulina a las cadenas α del receptor. La interacción de la insulina provoca un cambio conformacional en las cadenas α y autofosforilación de las cadenas β .⁶ Mediante el análisis

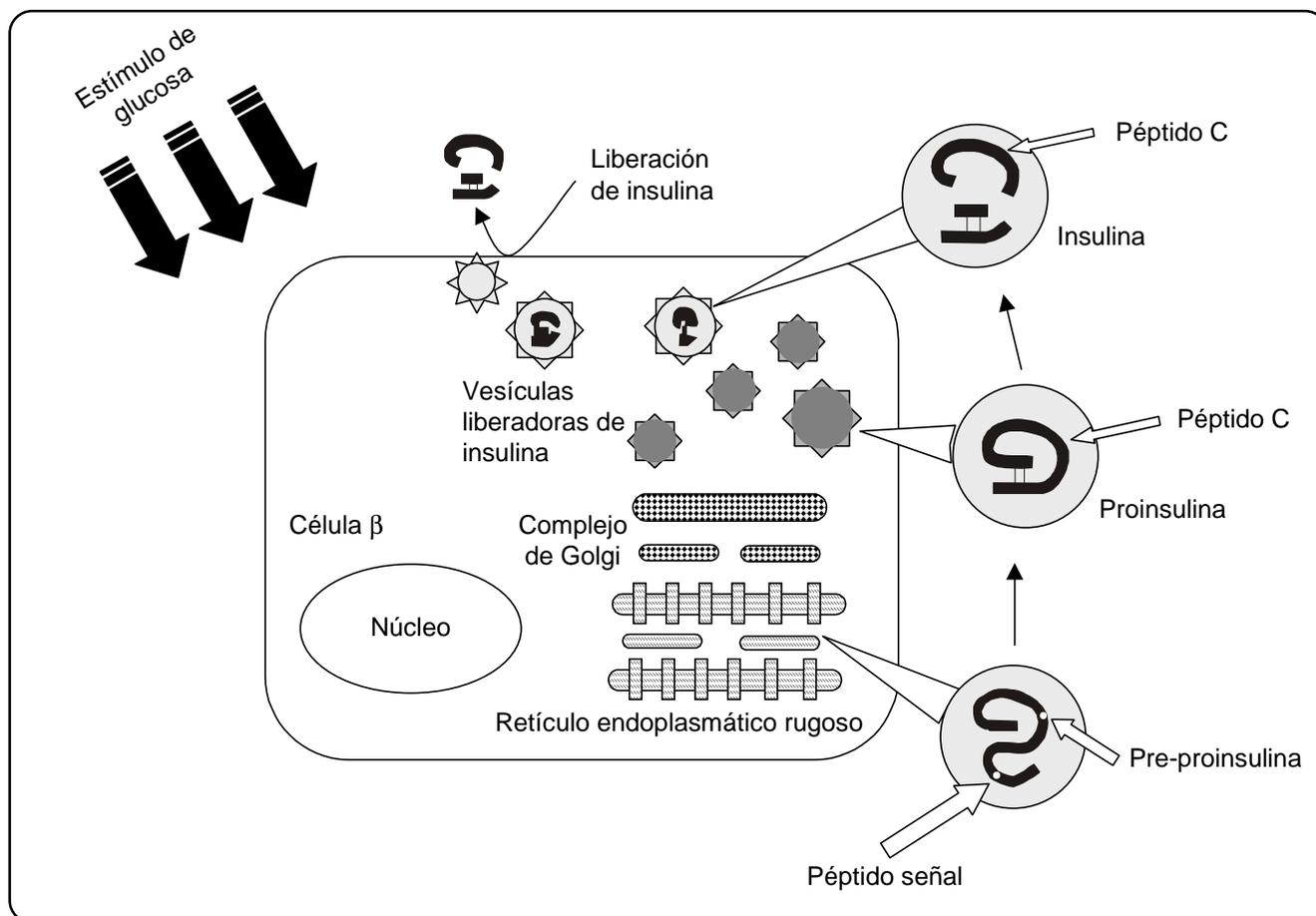


Figura 1. Síntesis y secreción de la insulina por las células β del páncreas.

mutacional de la región intracitoplásmica de la cadena β , se ha podido conocer cuantos residuos de tirosina contiene el receptor y cual es su función. Las tirosinas en las posiciones 1158, 1162 y 1163 son esenciales como mediadoras de la actividad de las tirosina cinasas, la tirosina 960 como sitio de regulación y la tirosina 972 para el anclaje y fosforilación del sustrato del receptor de la insulina (IRS).¹¹ Asimismo, dentro de esa región del receptor se encuentran las tirosinas 1328 y 1334 que sirven para activar a otras proteínas involucradas en la proliferación celular. Las tirosinas 1146, 1150 y 1151 participan en la internalización dependiente del ligando-receptor.¹² Además, se ha demostrado la presencia de residuos de serinas y treoninas que modulan la actividad de las tirosina cinasas y los sitios para la unión del ATP.⁹ (Figura 2).

Sustrato del receptor de la insulina

Después de la autofosforilación del receptor, se inicia la activación de las tirosina cinasas de los IRSs. Se han identificado cuatro proteínas de IRS

(del 1 al 4), siendo el IRS-1 e IRS-2 (185 y 195 kDa, respectivamente) responsables del control de la glucosa. El IRS-1 es codificado por un único exón en el cromosoma 2q36-37 y el IRS-2 por el cromosoma 13q34.1 humano.^{13,14} El papel de IRS-3 e IRS-4 no es del todo claro, experimentos de sobreexpresión de estas proteínas en adipocitos, muestran un ligero mimetismo con la acción de la insulina.

Las proteínas IRS contienen en su región N-terminal un grupo homólogo a pleckstrina (PH) que se asocia con fosfolípidos de membrana y/o proteínas intracelulares, seguido de una proteína de unión a fosfotirosina (PTB) la cual interactúa con la tirosina 960 en el motivo NPXY del receptor de la insulina.¹⁵⁻¹⁷ Otra región conservada es el motivo YXXM que se une al dominio SH2 de la subunidad p85 de PI 3-cinasa. En la región carboxilo terminal, la única similitud entre los IRSs son los sitios de fosforilación. Por ejemplo, IRS-1 e IRS-2 tienen un 35% de homología en regiones para la interacción de lípido-proteína o proteína-proteína (Figura 3). Además, estas proteínas a través de los residuos de tirosinas tienen la capacidad de unirse a protei-

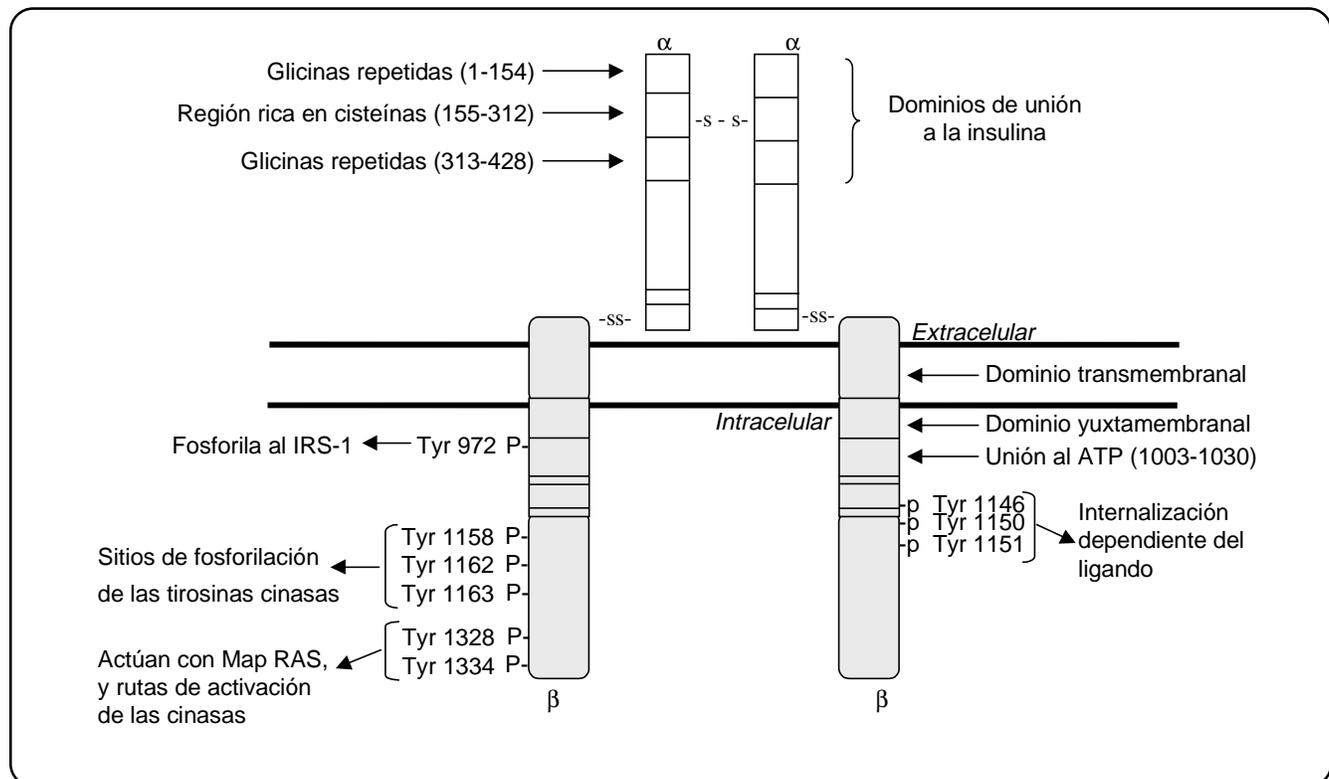


Figura 2. Receptor de la insulina.

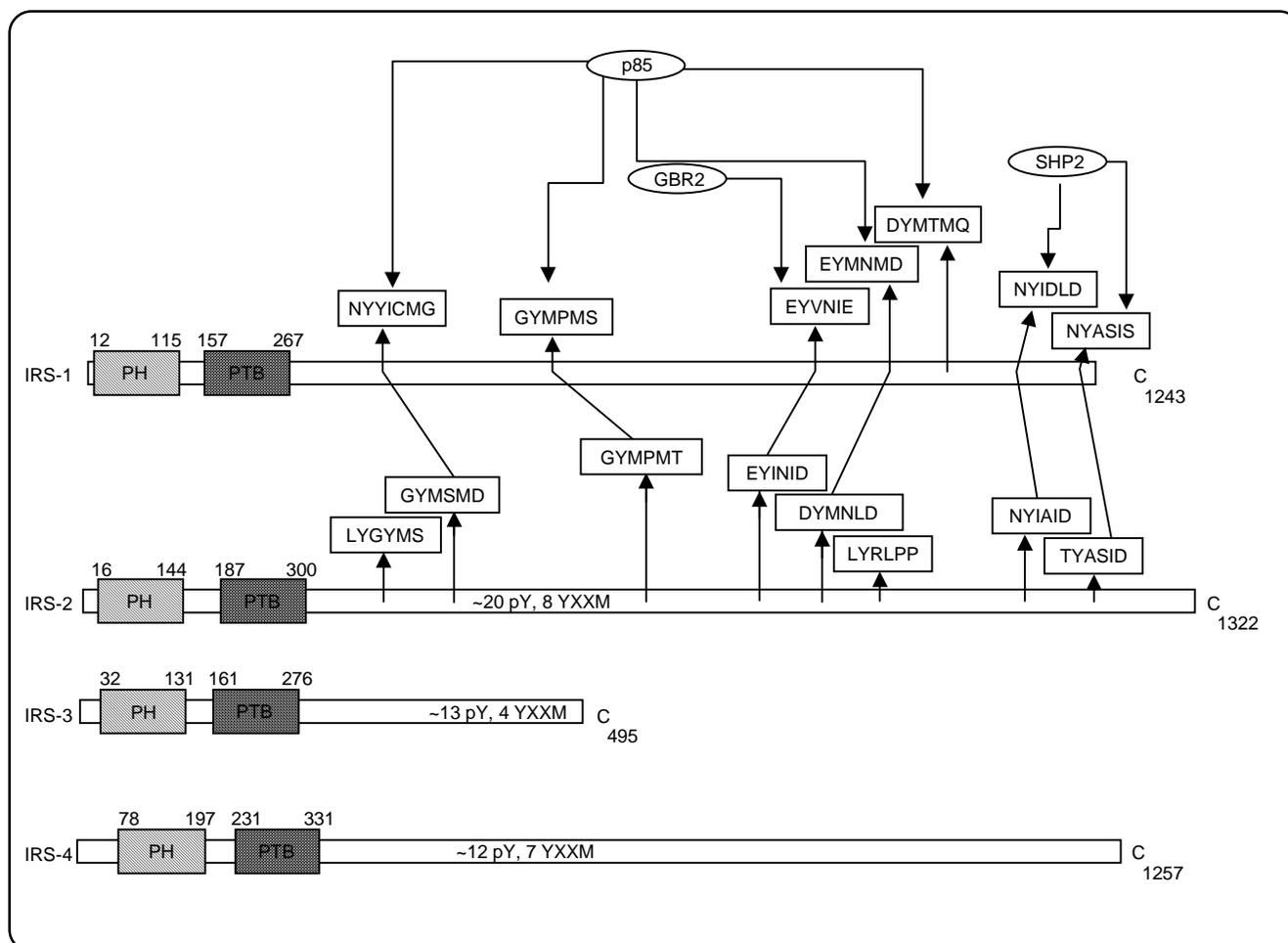


Figura 3. Familia de los sustratos del receptor de la insulina.

nas que presentan los dominios SH2 (homólogas al Sre-2) y los dominios SH3 (homólogas al Sre-3) que se unen a secuencias ricas en prolinas. Otras proteínas también contienen dominios SH2/SH3 como la proteína p85, la proteína Grb-2 (receptor de factor de crecimiento unido a la proteína 2), la tirosinafosfatasa SHP2 (necesarias para la activación de p21^{ras}), la tirosina cinasa fyn (que puede activar a PI-3 cinasa y de p21^{ras}), la proteína GAP o proteína activadora de GTPasa, la fosfolipasa (PLC- γ) C- γ y las proteínas Rho asociadas a la actividad de treonina/serina cinasas.¹⁸⁻²² Por análisis de la secuencia de los aminoácidos de los IRSs, se encontraron 70 residuos de tirosinas y 40 de serinas y treoninas.²³ El mecanismo de regulación de la actividad de las tirosina cinasas es por acción de las fosfatasa SHP2 que apagan la fosforilación. Las serinas son activadas por las proteínas cinasas

MAPK, PKC, akt/PKB, casein cinasa II y PI 3-cinasa y TNF- α que disminuyen la actividad de los IRSs.^{24,25} (Figura 4).

PI 3-cinasa

En la cascada de señalización, la siguiente proteína en activarse es la PI 3-cinasa, que pertenece a la familia de proteínas con actividad enzimática que fosforilan a lípidos de inositol de la membrana. La proteína es un dímero constituido por la subunidad catalítica de 110 kDa asociada a la subunidad reguladora de 85 kDa.²⁶ Se han identificado varias isoformas de la subunidad reguladora como la p55 α , la p55PIK, la p85 α , la p55 β y dos isoformas de la subunidad catalítica p110 α y p110 β (Figura 5). La subunidad p85 contiene un dominio SH3 en el

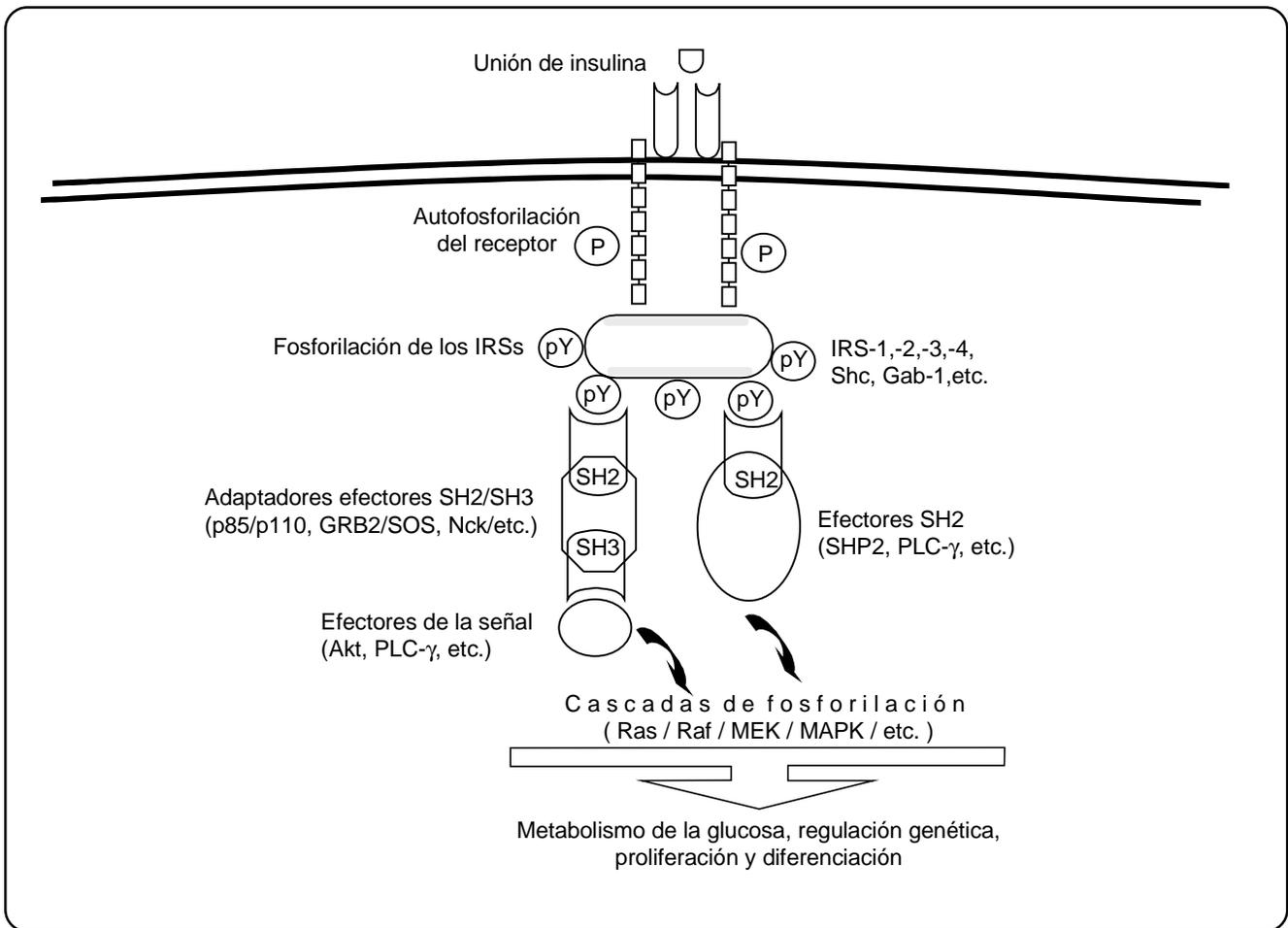


Figura 4. Señal de transducción del complejo insulina-receptor.

extremo amino-terminal y dos dominios SH2 uno en la parte media de la proteína y otro en la región carboxilo terminal. El dominio SH2 flanquea la región donde se asocia p110 con p85 e interactúa con los residuos de fosfotirosina permitiendo la activación de la subunidad catalítica p110. Además, p110 fosforila a los fosfoinosítidos en la posición 3' del anillo inositol para generar el PI 3-fosfato, el PI 3,4-bifosfato y el 3,4,5-trifosfato.^{27,28} Estas enzimas pueden ser activadas también por las cinasas de treonina/serina de la proteína Akt o por la proteína atípica cinasa C.^{27,29} Se sabe que la subunidad p85 de PI 3-cinasa puede unirse directamente a la cadena β del receptor de la insulina en el motivo YTHM. Otras proteínas asociadas al complejo PI 3-cinasa son la PDK1 con actividad de cinasas de treonina/serina, las proteínas con función reguladora a nivel de la membranas como las EEA1, la ARNO (función

reguladora en la membrana plasmática) y la citohesina-1 que contienen dominios PH para la unión de complejos de fosfatidil inositol.³⁰

En general, la PI 3-cinasa y otras proteínas, participan en la regulación de triglicéridos, en mitosis, en los procesos de diferenciación, síntesis y degradación de carbohidratos, lípidos y proteínas, activación de plaquetas, organización del citoesqueleto, señalización membranar y el transporte de glucosa mediada por la insulina.^{31,32}

Transportadores de glucosa

La etapa final para el control de la glucosa se efectúa mediante los transportadores de glucosa (GLUT). A la fecha se han identificado nueve transportadores del uno al cinco y del ocho al 11. El

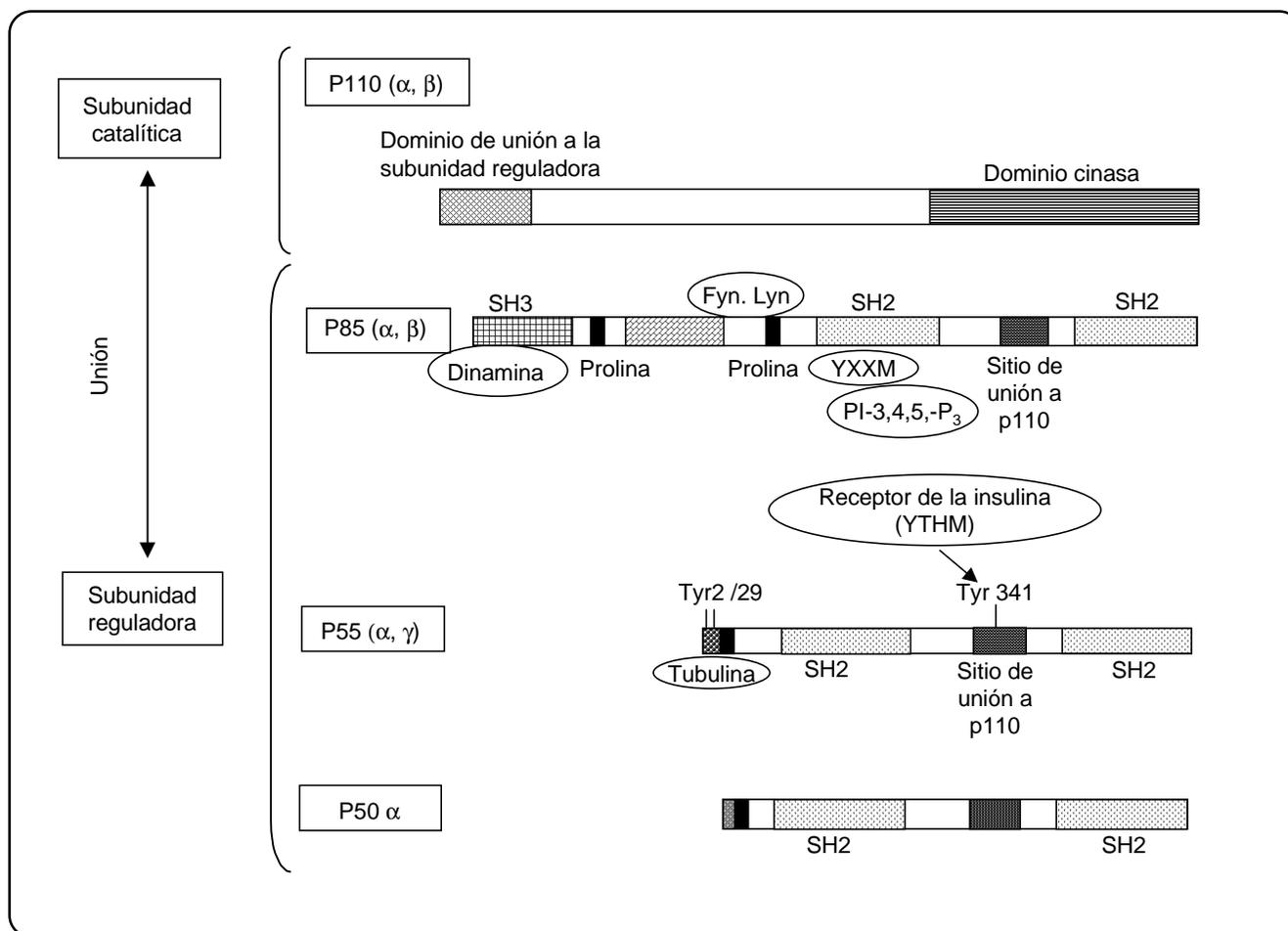


Figura 5. Estructura de la subunidad reguladora y la subunidad catalítica de PI 3-kinasa.

GLUT1 es un transportador constitutivo de la glucosa que se expresa en varios tejidos como en el cerebro, eritrocitos y en las células endoteliales. El GLUT2 (con baja afinidad por la glucosa) es el sensor en las células β del páncreas para la liberación de la insulina en presencia de altas concentraciones de glucosa; también se expresa en el riñón, en el epitelio del intestino delgado y en el hígado. El GLUT3, transportador de alta afinidad para la glucosa, se expresa en neuronas y placenta. El GLUT 5 transportador de fructosa se expresa en intestino delgado, en células espermáticas, en riñón, en cerebro, en tejido muscular y adiposo. El GLUT8 transporta glucosa y es regulado hormonalmente a nivel testicular en el adulto.^{33,34}

El GLUT4, con peso molecular aproximado de 45 kDa, es el principal responsable de la incorporación de la glucosa al interior de las células musculares y

de los adipocitos.³⁴ El GLUT4 es una proteína que atraviesa 12 veces la membrana plasmática y es entre los dominios seis y siete donde se localiza el sitio de entrada de la glucosa (Figura 6). En ausencia de insulina, alrededor de 90% del GLUT4 se encuentra secuestrado intracelularmente en vesículas que son llevadas hacia la membrana plasmática por la activación previa del complejo proteico PI 3-kinasa, las proteínas PKB/Akt, la PKC y la cinasa JNK.³⁵⁻³⁷ Las vesículas transportadoras contienen proteínas V-SNARE (conocida como sinaptobrevina), VAMP2 y VAMP3 que interactúan físicamente con las proteínas T-SNARE (conocida como syntaxina 4 y SNAP23) que se encuentran localizadas en la cara interna de la membrana plasmática. Otras proteínas accesorias del tipo Munc18c, Synip y NSF se requieren en los eventos de anclaje y fusión de la membrana con las vesículas que contienen los GLUT.

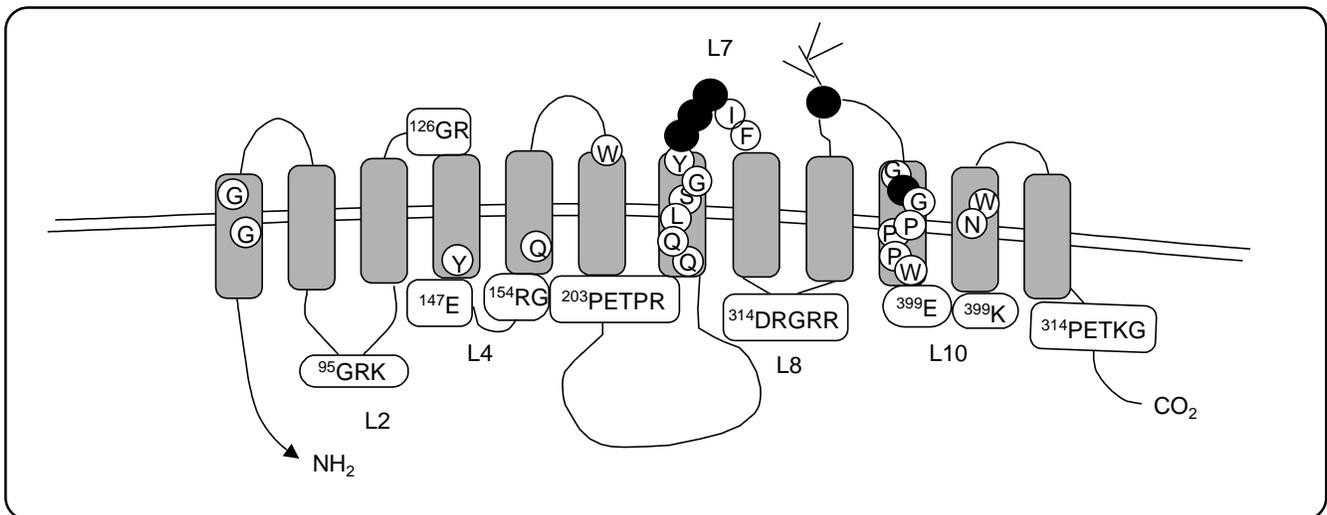


Figura 6. Estructura del transportador de glucosa (GLUT).

Además, en esta asociación participan las proteínas del citoesqueleto como la actina y la tubulina que interactúan con los complejos proteicos para la movilización y anclaje de los GLUT en la membrana plasmática.³⁴ (Figura 7).

Metabolismo de la glucosa

El metabolismo de la glucosa es importante no solamente como fuente de energía, también se relaciona estrechamente con diversas vías metabólicas. Para realizar dichas funciones, es necesaria la participación de diversas proteínas que regulan la utilización de la glucosa. El metabolismo de la glucosa es mediado por la enzima glucocinasa. La reacción es catalizada por una familia de enzimas, la hexocinasa I, II y III cuya actividad esta regulada por la concentraciones de la glucosa 6-fosfato, mientras que la glucocinasa IV (baja afinidad por la glucosa) no es regulada por la glucosa 6-fosfato.³⁷ Dependiendo de las necesidades de la célula, la glucosa puede seguir la ruta de la glucólisis y/o la síntesis de ácidos grasos.^{38,39}

Alteración celular en diabetes tipo 2

La diabetes tipo 2 es una enfermedad metabólica que se caracteriza por la presencia de niveles elevados de glucosa, resistencia a la acción de la

insulina en los tejidos periféricos (especialmente músculo esquelético y tejido adiposo), falla en la acción insulínica para inhibir la producción de glucosa en el hígado, y una producción y/o secreción anormal de insulina por las células β del páncreas.⁴⁰

Antiguamente, se consideraba que la resistencia a la insulina podría ser el resultado de modificaciones en la estructura primaria de la hormona que impedían la unión con las cadenas α del receptor. Al respecto, se ha secuenciado la insulina proveniente de pacientes diabéticos y aún cuando se presentan mutaciones, éstas, en raras ocasiones, afectan la unión y la señalización.⁴¹ Otro elemento importante es el receptor de la insulina que se encuentra disminuido en la superficie de las células de los pacientes diabéticos.⁴² Algunos reportes muestran mutaciones en las cadenas α que afectan la interacción con la insulina y otras la autofosforilación en las cadenas β y la interacción con el IRS-1.^{6,42} En el IRS-1 se ha demostrado polimorfismo en la secuencia de los aminoácidos sin que este afecte su funcionalidad.⁴³⁻⁴⁶ En conjunto, existe una disminución generalizada de la actividad de las tirosina cinasas por acción de la hiperfosforilación de las serinas/treoninas del IRS-1 y de otras proteínas intracelulares con la misma actividad como la glucógeno 3-cinasa sintetasa, la proteína cinasa C-alfa, la MAPK cinasa y la PKC/Akt.^{47,48} Asimismo, esta disminución de la actividad de las tirosina cinasas está íntimamente relacionada con el factor de necrosis tumoral alfa, el aumento de ácidos grasos libres y niveles elevados de insulina.⁴⁹

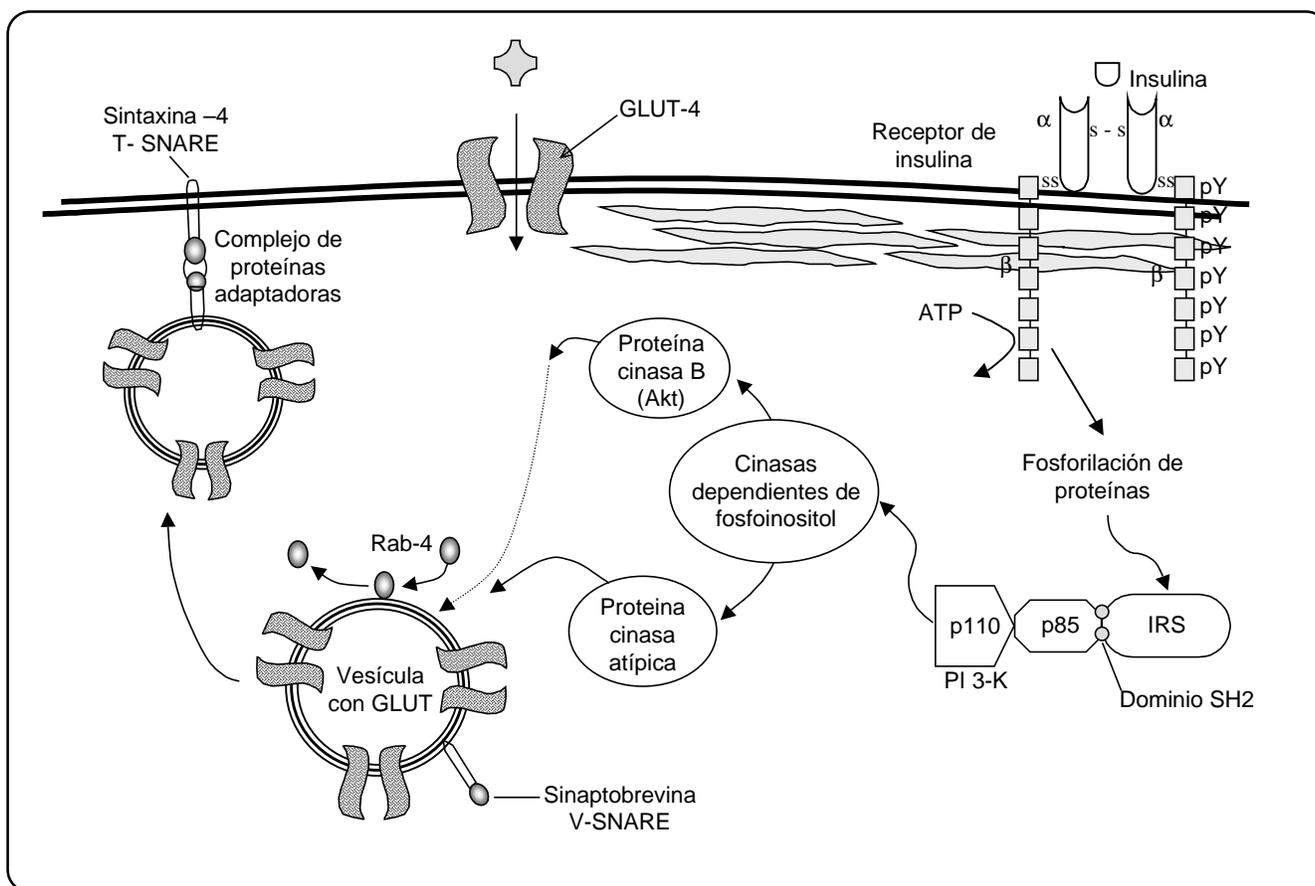


Figura 7. Ruta de señalización para el control de la glucosa.

Con la finalidad de entender el papel que desempeñan las proteínas en la cascada de señalización, se han realizado estudios en líneas celulares de fibroblastos, hepatocitos, células de ovario y células de insulinoma. Asimismo, se han empleado modelos animales con características similares a la diabetes (ratas Zucker, ratones obesos *ob/ob*, ratones *db/db*, ratones *lp/lp*, y ratas Goto-Kakizaki),⁵⁰⁻⁵³ animales transgénicos para la sobreexpresión de proteínas y animales con proteínas no funcionales (Ko, del inglés, knockout).⁵⁴⁻⁵⁶

Recientemente, se generó un modelo experimental de ratón Ko para el receptor de la insulina tejido-específico (células β del páncreas); estos animales presentan pérdida selectiva de la secreción de insulina en respuesta a la glucosa y una pérdida progresiva de la tolerancia a la glucosa.⁵⁷ Los ratones transgénicos para el IRS-1 exhiben un aumento tanto en la actividad de la glucocinasa como en la secreción de la insulina.^{55,56} La sobre-

expresión del GLUT4 en ratones diabéticos *ob/ob* mejora la incorporación de la glucosa en músculo y tejido adiposo.⁵⁸ La generación de los ratones Ko para las isoformas IRS-1 e IRS-2^{-/-} ha revelado aspectos importantes de la enfermedad. En el primer caso, se encontró una disminución en la talla de los animales, resistencia moderada a la insulina e hiperplasia en las células β .⁵⁵⁻⁵⁷ La resistencia moderada a la insulina sugiere la posibilidad de otras vías de compensación que se asocian con una hipersecreción de la hormona. En los ratones IRS-2^{-/-} se presenta resistencia severa a la insulina, hipoplasia de las células β del páncreas y una patología similar a la observado en los pacientes diabéticos.⁵⁷ La reducción en la expresión de la proteína GLUT4 es una de las características comunes en el tejido adiposo de modelos experimentales de diabetes con resistencia a la insulina.^{59,60} Al parecer, el defecto en la translocación de los GLUT ocurre por la disminución generalizada de la fos-

forilación de las tirosinas y por un incremento en la actividad de las serinas/treoninas. Simultáneamente, alteraciones en la organización de la red de filamentos de actina y proteínas asociadas a actina, que interactúan con las vesículas transportadoras y las proteínas asociadas a la cara interna de la membrana plasmática, afectan la movilización de los GLUT hacia la superficie celular.^{61,62} Lo anterior pone de manifiesto lo complejo que resulta entender el papel de las proteínas involucradas en los eventos de señalización para la regulación y metabolismo de la glucosa. (Figura 8).

Conclusiones

La fuente de energía en el organismo es la glucosa. La entrada de la glucosa a la célula es controlada por múltiples señales que se activan

después de la interacción de la insulina con el receptor. A la fecha, se han clonado muchas de las proteínas que intervienen en la señalización. Con estos genes se han hecho transfecciones en líneas celulares, animales transgénicos y animales con ausencia de los genes. También, mediante mutaciones específicas, se ha demostrado cuales aminoácidos intervienen de manera positiva o negativa en la activación de las proteínas. En general, se ha encontrado que las mutaciones presentes en los pacientes no correlacionan con la afección. Los defectos observados en la resistencia periférica a la acción de la insulina son atribuibles a una disminución en la fosforilación de los residuos de tirosinas e hiperfosforilación en los residuos de serinas y treoninas. Lo más difícil de explicar en la diabetes tipo 2 es el descontrol de la glucosa y los daños metabólicos que se desencadenan. De manera similar a la definición de la diabetes como una

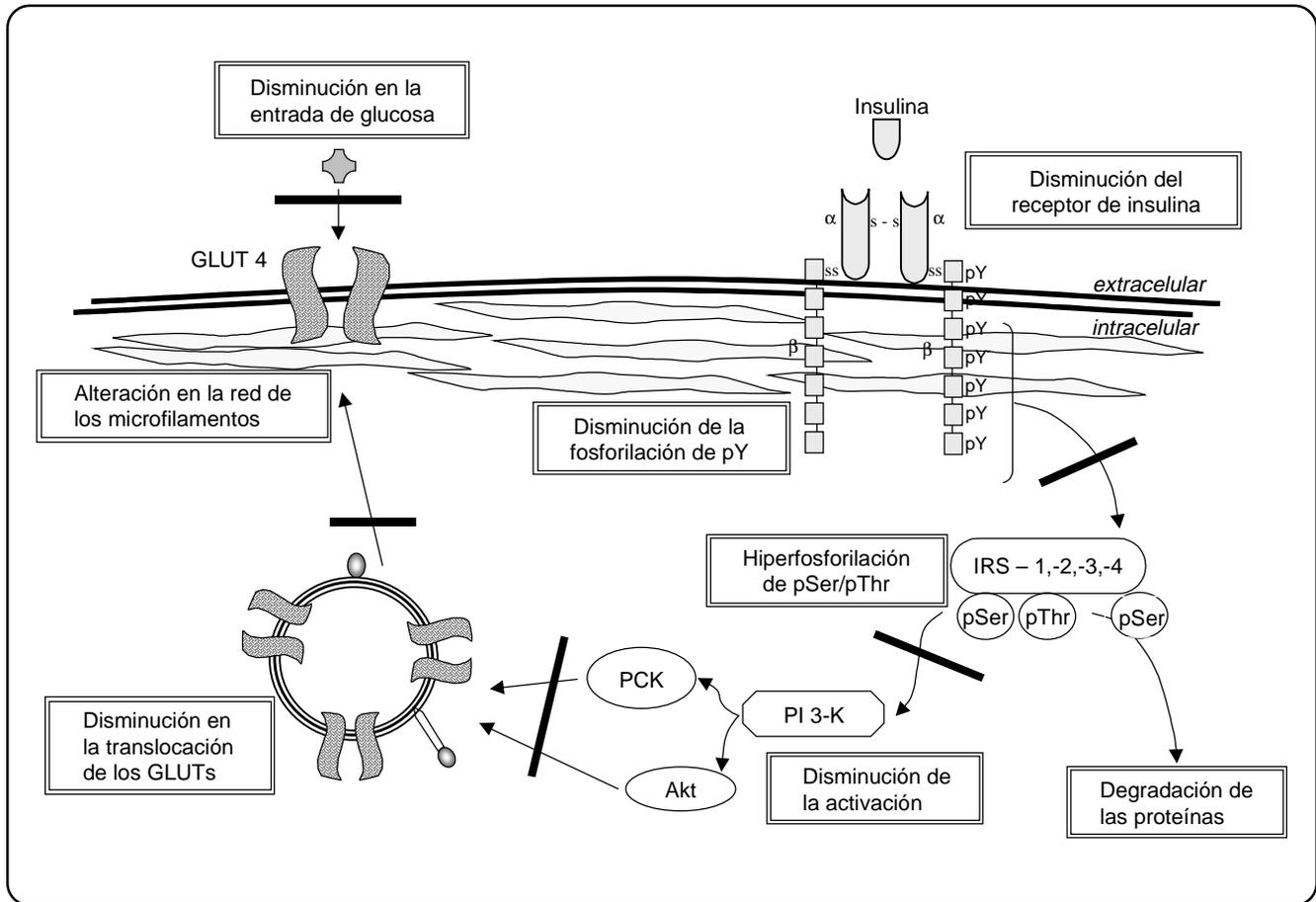


Figura 8. Alteraciones en la ruta de señalización para incorporación de la glucosa.

enfermedad multifactorial, a nivel celular no se han demostrado muchos mecanismos alterados. Probablemente, en el futuro, se encuentren nuevas proteínas y/o drogas que promuevan en la célula el control de la glucosa de manera fisiológica.

Agradecimientos

Agradecemos los comentarios y sugerencias del doctor Manuel Carrera Camargo al manuscrito. Al IMSS y al CONACYT por el apoyo económico otorgado a Eduardo Velasco Sánchez, quién es estudiante de Maestría adscrito a la Unidad. Además, agradecemos la contribución otorgada por el Fondo para el Fomento a la Investigación. (FOFOI).

Referencias

1. **Abbas AK, Lichtman AH, Pober JS.** Cellular and molecular immunology. 2nd ed. W.B. Saunders Company; 1994.
2. **Lodish H, Berk A, Lawrence SZ, Matsudaira P, Baltimore D, Darnell JE.** Molecular cell biology. HW Freeman and Company; 1999.
3. **Alberts B, Bray D, Lewis J, Raff M, Roberts K, Watson JD.** Molecular biology of the cell. Garland Publishing;. 1994.
4. **Lewin B.** Genes VI. Oxford University Press; 1997.
5. **Nystrom H, Quon J.** Insulin signaling: metabolic pathways and mechanisms for specificity. Cell Signal 1999;11:563-574.
6. **Hunter SJ, Garvey WT.** Insulin action and insulin resistance: diseases involving defects in insulin receptors signal transduction, and glucose transport effector system. AmJ Med 1998;105:331-345.
7. **Seino S, Seino M, Nishi S, Bell GI.** Structure of the human insulin receptor gene and characterization of its promoter. Proc Natl Acad Sci 1989;86:114-8.
8. **Seino S, Seino M, Bell GI.** Human insulin-receptor gene. Diabetes 1990;39:129-113.
9. **Cheatham B, Kahn CR.** Insulin action and the insulin signaling network. Endocr Rev 1995;16:117-142.
10. **Di Gugilemo GM, Drake PG, Baass PC, Authier F, Posner BI, Bergeron JJM.** Insulin receptor internalization and signalling. Mol Cell Biochem 1998;182:59-63.
11. **Wang B, Balba Y, Knutson VP.** Insulin-induced *in situ* phosphorylation of the insulin receptor located in the plasma membrane versus endosomes. Biochem Biophys Res Commun 1996; 227:27-34.
12. **Carpentier JL, Paceaude JP.** Molecular and cellular biology of insulin-receptor internalization. Ann NY Acad Sci 1994;733:266-278.
13. **Sun XJ, Rothenberg PL, Kahn CR, Backer JM, Araki E, Wilden PA, Cahill DA, Goldstein BJ, White MF.** The structure of the insulin receptor substrate IRS-1 defines a unique signal transduction protein. Nature 1991;352:73-77.
14. **Sun XJ, Pons S, Wang LM, Zhang Y, Yenush L, Burks D, Myers MG Jr, Glasheen E, Copciand NG, Jenkins NA., Pierce JH, White MF.** The IRS-2 gene on murine chromosome 8 encodes a unique signalling adapter for insulin and cytokine action. Mol Endocrinol 1997;11:251-262.
15. **Myers MG Jr, Zhang Y, Aldaz GAI, Gramer TC, Glasheen ET, Yenush L, Wang LM, Sun XJ, Blenis J, Pierce JH, White MF.** YMXM motifs and signalling by an insulin receptor substrate 1 molecule without tyrosine phosphorylation sites. Mol Cell Biol 1996;16:4147-4155.
16. **He W, Craparo A, Zhu Y, O'Neill TJ, Wang LM, Pierce, JH, Gustafson TA.** Interaction of insulin receptor substrate-2 (IRS-2) with the insulin and insulin-like growth factor 1 receptors. J Biol Chem 1996;271:11641-11645.
17. **Sawka-Verhelle D, Baron V, Mothe I, Filloux C, White MF, Van Obberghen E.** Tyr 624 and Tyr 628 in insulin receptor substrate-2 mediate its association with the insulin receptor. J Biol Chem 1997;272:16414-16420.
18. **Sun XJ, Pons S, Asano T, Myers MG. Jr, Glasheen, EM, White MF.** The Fyn tyrosine kinase binds IRS-1 and forms a distinct signaling complex during insulin stimulation. J Biol Chem. 1996;271(18):10583-10587.
19. **Pawson T.** Protein modules and signalling network. Nature 1995;373:573-580.
20. **White MF.** The IRS-signaling system: a network of docking proteins that mediate insulin action. Mol Cell Biol 1998; 182:3-1 1.
21. **Burks DJ, Wang J, Towery H, Ishibashi O, Lowe D, Riedel H, White MF.** IRS pleckstrin homology domains bind to acidic motifs in proteins. J Biol Chem 1998;273(47):31061-31067.
22. **Farah S, Agazie Y, Ohan N, Ngsee JK, Llu J.** A Rho-associated protein kinase, ROKA, binds insulin receptor substrate-1 and modulates insulin signaling. J Biol Chem 1998;273:4740-746.
23. **Bloomgarden ZT.** Insulin action and the development of type 2 diabetes. Diabetes Care 2000;23(2):248-252.
24. **Tanti J, Gremeaux T, Van OE, Le MB.** Serine/threonine phosphorylation of insulin receptor substrate 1 modulates insulin receptor signaling. J Biol Chem 1994;269: 6051-6057.
25. **Paz K, Hemi R, LeRolth D, Karasik A, Elbananyi E, Kanety H, Ziek Y.** A molecular basis for insulin resistance. J Biol Chem 1997;272:9351-9356.
26. **Shepherd PR, Whithers Dj, Siddle K.** Phosphoinositide 3-kinase: the key switch mechanism in insulin signalling. Biochem J 1998;333:471-490.
27. **Dhand R, Hara K, Hiles I, Bax B, Gout I, Panayotou G, Fry MJ, Yonezawa K, Kasuga M, Waterfield MD.** PI 3-kinase: structural and functional analysis of inter-subunit interactions. EMBO J 1994;13:511-521.
28. **Seeger R, Krebs EG.** The MAPK signaling cascade. FASEB J 1995;9:726-735.
29. **Alessi D, Cohen P.** Mechanism of activation and function of protein kinase B. Curr Opin Genet Dev 1998;8:55-62.
30. **Gzech MP, Corvera S.** Signaling mechanisms that regulate glucose transport. J Biol Chem 1999;274(4):1865-1868.
31. **Kimura K, Hattori S, Kbuyama Y, Shizawa Y, Takayanagi J, Nakamura S, Toki S, Matsuda Y, Onodera K, Fukui Y.** Neurite outgrowth of PC12 cells is suppressed by wortmannin, a specific inhibitor of phosphatidylinositol 3-kinase. J Biol Chem 1994;269:18961-18967.

32. **Evans JL, Honer CM, Womelsdorf BE, Kaplan EL, Bell PA.** The effects of wortmannin, a potent inhibitor of phosphatidylinositol 3-kinase, on insulin-stimulated glucose transport, GLUT4 translocation, antilipolysis, and DNA synthesis. *Cell Signal* 1995;7:367-376.
33. **Shepherd PR, Khan, BB.** Glucose transporters and insulin action. *N Engl J Med* 1999;22:248-57.
34. **Doerge H, Schürmann A, Babrenberg G, Brauers A, Joost HG.** GLUT8, a novel member of the sugar transport facilitator family with glucose transport activity. *J Biol Chem* 2000;275(21):16275-16280.
35. **Kandror KV, Pilch PF.** Compartmentalization of protein traffic in insulin-sensitive cells. *Am J Physiol.* 1996;271:E1-14.
36. **Gould GW, Holman GD.** The glucose transporter family: structure, function and tissue-specific expression. *Biochem J* 1993;295:329-341.
37. **Lamothe B, Baudry A, Desbois P, Lamotte L, Bucchini D, Meyts PD, Joshi RL.** Genetic engineering in mice: impact on insulin signalling and action. *Biochem J* 1998; 335:193-204.
38. **Ebeling P, Koistinen HA, Koivisto VA.** Insulin-independent glucose transport regulates insulin sensitivity. *FEBS Lett* 1998;436:301-303.
39. **Proud CG, Denton RM.** Molecular mechanisms for the control of translation by insulin. *Biochem J* 1998;328:329-341.
40. **Kahn BB, Rossetti L.** Type 2 diabetes-Who is conducting the orchestra?. *Nat Gen*1998;20:223-226.
41. **Kahn CR, Vicent D, Doria A.** Genetics of non-insulin-dependent (type II) diabetes mellitus. *Annu Rev Med* 1996;47:509-531.
42. **Meyts O.** The diabetogenes concept of NIDDM. *Adv Exp Med Biol* 1993;334:89-100.
43. **Laakso M, Malkki M, Kekäläinen P, Kuusisto J.** Dech 88. Insulin receptor substrate-1 variants in non-insulin-dependent diabetes. *J Clin Invest* 1994;94:1141-1146.
44. **Carvalho E, Jansson PA, Axelsen M, Eriksson JW, Huang X, Groop L, Rondinone C, Sjöstrom L, Smith U.** Low cellular IRS-1 gene and protein expression predict insulin resistance and NIDDM. *FASEB J* 1999;13:2173-2178.
45. **Porzio O, Federici M, Hribal MT, Lauro D, Accili D, Lauro R, Borbón P, Sesti C.** The Gly972 → Arg aspartic acid polymorphism in IRS-1 impairs insulin secretion in pancreatic β cells. *J Clin Invest* 1999;104:357-364.
46. **Kido Y, Burks DJ, Withers D, Bruning JC, Kahn CR, White MF, Accili D.** Tissue-specific insulin resistance in mice with mutations in the insulin receptor, IRS-1, and IRS-2. *J Clin Invest* 2000;105:199-205.
47. **Rotamisligil GS, Murray DL, Choy LN, Spiegelman BM.** Tumor necrosis factor alpha inhibits signaling from the insulin receptor. *Proc Natl Acad Sci* 1994;91:4854-4858.
48. **Qiao L, Goldberg JL, Russell JC, Sun XJ.** Identification of enhanced serine kinase activity in insulin resistance. *J Biol Chem* 1999;274:10625-10632.
49. **Hotamisligil GS, Peraldi P, Budvari A, Ellis RW, White MF, Spiegelman BM.** IRS-1-mediated inhibition of insulin receptor tyrosine kinase activity in TNF-alpha and obesity-induced insulin resistance. *Science* 1996;271:665-668.
50. **Portha B, Serradadas P, Balibe D, Sukuki KI, Goto Y, Giroix MH.** β -cell insensitivity to glucose in the GK rat, a spontaneous non obese model for type II diabetes. *Diabetes* 1991;40:486-49.
51. **Ortiz A, Ziyadeh FN, Nelison EG.** Expression of apoptosis-regulatory genes in renal Gottlieb proximal tubular epithelial cell exposed to high ambient glucose and in diabetic kidneys. *J Invest Med* 1997;45:50-56.
52. **Pick A, Clark J, Kubstrup C, Levisetti M, Pugh W, Bonner-Weir S.** Role of apoptosis in failure of β -cell mass compensation for insulin resistance and β -cell defects in the male Zucker diabetic fatty rat. *Diabetes* 1998;47:358-364.
53. **Shimabukuru M, Wang MY, Zhou YT, Newgard CB.** Protection against lipoapoptosis of β cells through leptin-dependent maintenance of Bcl-2 expression. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998;95:9558-9561.
54. **Araki E, Lipes MA, Patti ME, Bruning JC, Haag B III, Johnson RS, Kahn CR.** Alternative pathway of insulin signalling in mice with targeted disruption of the IRS-1 gene. *Nature* 1994;372:186-190.
55. **Tamemoto H, Kadowaki T, Tobe K.** Insulin resistance and growth retardation in mice lacking insulin receptor substrate-1. *Nature* 1994;372:182-186.
56. **Whiters DJ, Gutierrez JS, Towery H.** Disruption of IRS-2 causes type 2 diabetes in mice. *Nature* 1998; 391:900-904.
57. **Kulkarni RN, Bruning JC, Winnay JN, Psotie C, Magnuson MA, Kahn CR.** Tissue-specific knockout of the insulin receptor in pancreatic β cells creates an insulin secretory defect similar to that in type 2 diabetes. *Cell* 1999;96:329-339.
58. **Kerouz N, Horseh D, Pons S, Kahn CR.** Differential regulation of insulin receptor substrates-1 and -2 (IRS-1 and IRS-2) and phosphatidylinositol 3-kinase isoforms in liver and muscle of the obese diabetic (ob/ob) mouse. *J Clin Invest* 1997;100:3164-3172.
59. **Zierath JR, He L, Guma A, Odegaard WE, Klip A, Waliberg-Renriksson H.** Insulin action on glucose transport and plasma membrane GLUT4 content in skeletal muscle from patients with NIDDM. *Diabetologia* 1996;39(10):1180-1189.
60. **Koranyi L, James D, Mueekler M, Permutt MA.** Glucose transporter levels in spontaneously obese (db/db) insulin-resistant mice. *J Clin Invest* 1990;85:962-967.
61. **Tsakiridis T, Vranic M, Klip A.** Disassembly of the actin network inhibits insulin-dependent stimulation of glucose transport and prevents recruitment of glucose transporters to the plasma membrane. *J Biol Chem* 1994; 269:29934-29942.
62. **Wang Q, Somwar R, Bilan PJ, Liu Z, Jin J, Woodgett JR, Klip A.** Protein kinase B/Akt participates in GLUT4 translocation by insulin in L6 myoblasts. *Mol Cell Biol* 1999;19:4008-4018.