

---

# Revisions

---

ANNALS DE MEDICINA, LXVI, 993-1001, 1980

## **SITUACIÓN ACTUAL DEL CONOCIMIENTO SOBRE EL MECANISMO DE ACCIÓN DE LA INSULINA**

EMILIO HERRERA

Gran número de los efectos de una hormona pueden ser consecuencia indirecta de otros más primarios, que a su vez dependen de la interacción molecular entre la hormona y su célula (s) diana específica. Así pues cabe diferenciar los «efectos» de la «acción» de una hormona, de forma que los primeros constituyen los cambios fisiológicos que se observan tras la administración de la hormona, mientras la acción se refiere al primer mecanismo molecular por el que llega a alterarse la célula (s) diana hasta desencadenar la correspondiente respuesta (efectos).

Durante los últimos años se ha ido acumulando una gran evidencia, que permite sugerir que el primer paso en la acción de las hormonas peptídicas es el ligarse a la membrana plasmática de la célula diana. Aunque de diversas hormonas se conoce ampliamente el mecanismo de esta interacción entre su molécula y los receptores específicos de dicha membrana,<sup>1,2</sup> la base molecular del mecanismo de acción de la insulina se encuentra aún en fase de debate.<sup>3</sup> Esto ocurre, a pesar de haber pasado más de cincuenta años desde el aislamiento de la insulina por BANTING y BEST, y de ser la primera hormona peptídica de la que se llegó a establecer su estructura primaria.<sup>4</sup>

A nivel celular, la insulina parece actuar en cuatro lados distintos: 1) Unión a su receptor, localizado en la membrana plasmática; 2) Transformación del complejo insulina-receptor en alguna señal en la membrana; 3) Formación de un mensaje (o mensajero) intracelular; 4) Modificación de enzimas y sistemas de transporte intracelulares, lo cual desencadena la producción de los efectos correspondientes.

Otro de los problemas en el conocimiento de la acción de la insulina es el hecho de que esta hormona tiene efectos enormemente variados, que son desde «agudos», como es la captación de glucosa y transporte de aminoácidos por tejidos, hasta crónicos, como la estimulación de la síntesis de ADN y el crecimiento celular. Es difícil establecer si esta amplia gama de efectos, tanto en cuanto a su naturaleza como a tiempo de aparición, dependen o no de una misma acción molecular de la hormona.

**NATURALEZA DE LOS RECEPTORES DE INSULINA.** — Los receptores de insulina son enormemente abundantes, habiéndose encontrado en casi todos los tejidos de vertebrados donde se han investigado.<sup>5</sup> La presencia de receptores insulínicos en un tejido no implica necesariamente que éste responda a la hormona.

El receptor de insulina es una proteína de membrana que contiene carbohidrato, aunque no se cree que esta fracción participe en la unión con la hormona. En presencia de detergentes, el receptor llega a separarse de la membrana, habiéndose logrado una purificación parcial. Tiene un peso molecular de 300.000 a 1.000.000 daltons, con un radio de unos 700 Å, aunque en presencia de insulina llega a disociarse en unidades más pequeñas (de radio 38 Å, aproximadamente), que aún mantienen la capacidad para ligar a la hormona. Estas unidades más pequeñas están formadas por 3 ó 4 subunidades de las que el componente que liga a la insulina posee un peso molecular de unos 100.000 daltons.<sup>6</sup>

**RELACIÓN INSULINA-RECEPTOR.** — Mediante experimentos de cinética de la unión específica de la insulina a preparaciones de membranas purificadas, se ha llegado a establecer que existe un tipo único de lados de unión para hormonas con cooperatividad negativa. En otras palabras, la afinidad del receptor para la insulina disminuye cuando aumentan los niveles de saturación de la hormona.<sup>7</sup>

El número de unidades de receptor que se ligan con la insulina se correlaciona directamente con la respuesta aguda de la hormona. Sin embargo, esta relación es limitada, ya que se llega a un máximo de respuesta cuando solamente hay una pequeña proporción de receptores ocupados.<sup>8</sup>

Así, pues, existen receptores de reserva, que no son utilizados para facilitar un mayor efecto de la insulina.

Una de las dificultades en el estudio de la interacción insulina-receptor ha sido el llegar a determinar la estructura del lado activo de unión de ambos componentes. Hasta ahora, no se ha logrado establecer el lado correspondiente al receptor, pero sí el de la insulina. Este lado «bioactivo» contiene porciones correspondientes a las dos cadenas, A y B, de la hormona. En base a la estructura terciaria de la molécula, el indicado lado se ha llegado a representar de forma simplificada como se indica en la figura 1 a,<sup>9</sup> el cual corresponde a los aminoácidos que se indican en la figura 1 b.<sup>10</sup> El lado «bioactivo» de la insulina coincide tanto en su unión con el receptor como en su actividad para producir una respuesta, y ambos aspectos llegan a inactivarse por el tratamiento de la hormona con enzimas proteolíticas, incluso aquellas que producen la separación específica de los aminoácidos 22 y 23, de la cadena B de la hormona.<sup>11</sup>

La afinidad de la insulina a sus receptores y el número de éstos se encuentran regulados por numerosos factores,<sup>12</sup> de los que el más eficaz es la propia insulina. Así, niveles altos de la hormona producen la disminución



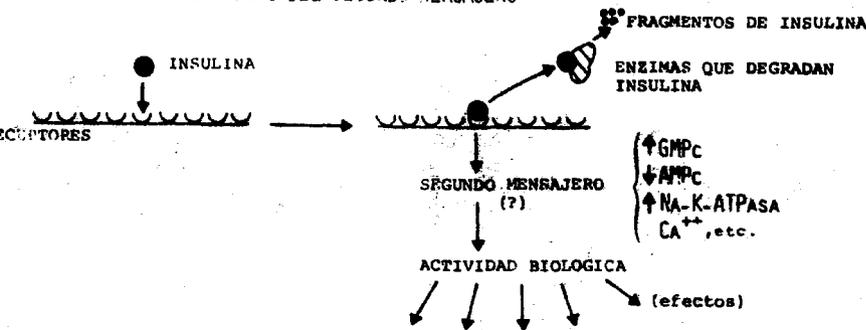
del número de receptores, siendo ésta una de las causas de la resistencia insulínica, que es responsable de determinados cuadros diabéticos.<sup>13</sup>

**TRANSDUCCIÓN Y MENSAJEROS INTRACELULARES.** — El mensaje extracelular de una hormona ha de ser «transducido» por la célula antes de producir los efectos correspondientes.<sup>14</sup> Es decir, una vez que la hormona se ha ligado a los receptores específicos de la membrana, ha de transmitirse la información al interior de la célula para producir la señal de la respuesta fisiológica. No está aún bien establecido el mecanismo de la «transducción» en el caso de la insulina. Se han propuesto dos posibilidades distintas, que se esquematizan en la figura 2: *a*) En base a una forma convencional, la hormona se liga reversiblemente a su receptor en la membrana. El complejo insulina-receptor activa a otra proteína de la membrana (efector), para formar un «segundo mensajero» intracelular, que es el responsable de iniciar la actividad biológica correspondiente. En la parte externa de membrana, la insulina ha de disociarse del receptor para ser degradada por sistemas enzimáticos extracelulares, modulando así la duración de la transducción. *b*) La segunda posibilidad implica la internalización de la hormona dentro de la célula, a través del receptor. Así, el receptor para la insulina sirve como transportador de la hormona hacia el interior de la membrana plasmática.<sup>15</sup> El procedimiento puede también llevarse a cabo mediante un mecanismo de endocitosis, en el que el complejo insulina-receptor es internalizado de forma global (fig. 2). Una vez dentro de la célula, la propia hormona o algún producto de su degradación puede actuar como «segundo mensajero».

**SEGUNDO MENSAJERO DE LA INSULINA** (fig. 2, parte sup.). — A pesar del amplio y prolongado esfuerzo realizado por numerosos investigadores para determinar la existencia del segundo mensajero de la insulina, y su naturaleza, el tema se encuentra aún en situación de debate.<sup>16</sup>

Puesto que existen diversos sistemas enzimáticos celulares que responden a la insulina y, a su vez, se encuentran ligados al AMP-cíclico, tales como la glucógeno sintetasa y fosforilasa, la lipasa sensible a las hormonas, etcétera, se ha propuesto a los nucleótidos como posibles candidatos del segundo mensajero para la hormona. Inicialmente se demostró que la insulina inhibía la actividad de varios sistemas enzimáticos y/u hormonales, que eran estimulados por el AMPc, por lo que se llegó a proponer que la insulina ejercería sus efectos disminuyendo los niveles de AMPc. Posteriormente se observó que la insulina estimulaba intensamente los niveles de GMPc en la célula del tejido adiposo,<sup>17</sup> por lo que este otro nucleótido pasó también a ser propuesto como posible segundo mensajero de la insulina. Sin embargo, se han ido describiendo en la bibliografía datos que discrepan sustancialmente con las anteriores propuestas, por lo que en la actualidad no se admite ya la mediación de los nucleótidos cíclicos en la acción de la insulina.

HIPOTESIS DEL SEGUNDO MENSAJERO



HIPOTESIS DE LA INTERNALIZACION

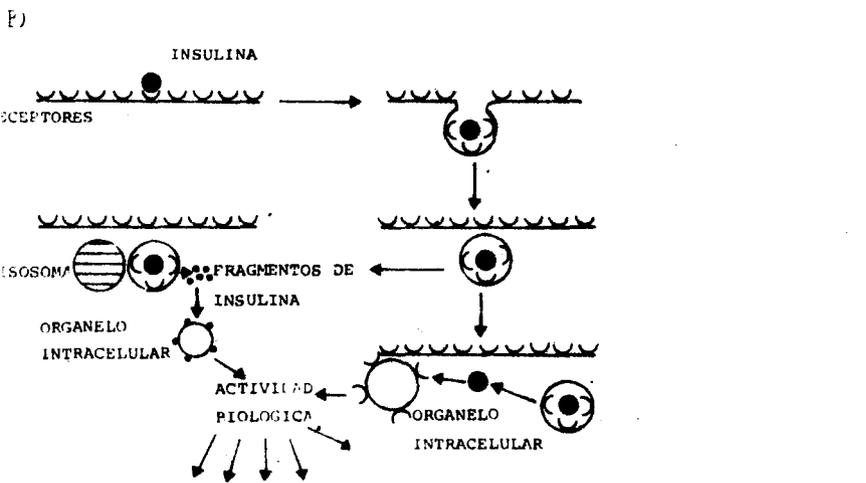
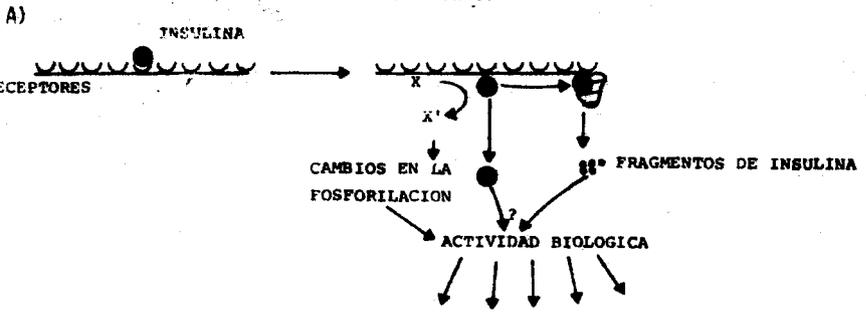


FIG. 2. — Modelos propuestos para el mecanismo de acción de la insulina. En la parte superior se representa la hipótesis del «segundo mensajero», por lo que la hormona (primer mensajero) se liga reversiblemente a su receptor de membrana. El complejo insulina-receptor activa la formación de un segundo mensajero, que es el responsable de la actividad biológica correspondiente. En la parte inferior se representan las formas propuestas de internalización de la hormona. Por un lado (A), el receptor puede servir como transportador de hormona hacia el interior de la membrana y por otro (B), el complejo insulina-receptor puede ser internalizado globalmente, por un mecanismo de endocitosis.

Más recientemente se han demostrado sistemas celulares enzimáticos, sensibles a la insulina, que son regulados por modificaciones en el grado de fosforilación covalente, que son independientes de nucleótidos cíclicos.<sup>16</sup> De hecho, se han demostrado efectos de la insulina sobre la fosforilación de determinadas proteínas solubles, aunque no se han llegado a aislar hasta ahora proteína-quinasas ni fosfatasa sensibles a la hormona. De todas formas, también algunos de los efectos de la insulina sobre el grado de fosforilación y la posterior respuesta celular a la hormona, son contradictorios. Así, por ejemplo, situaciones como anaerobiosis o adición de inhibidores metabólicos, que tienden a disminuir los niveles de ATP, mimetizan los efectos de la insulina facilitando el transporte de la glucosa por diversos tejidos, como el músculo<sup>18</sup> y las células adiposas.<sup>19</sup> Esto permite sugerir que la fosforilación juega un papel importante en el efecto. Sin embargo, la insulina también estimula la actividad de la piruvato deshidrogenasa, que es una enzima mitocondrial, estimulada cuando es defosforilada por una fosfatasa e inhibida tras su fosforilación, catalizada por una proteína quinasa dependiente de ATP.<sup>20</sup>

Otros mediadores que se han propuesto en la acción de la insulina son el intercambio de iones monovalentes, como el  $K^+$  y  $Na^+$ , el flujo intracelular de  $Ca^{++}$ , el intercambio («turnover») de fosfolípidos, la formación de peróxidos o la oxidación de grupos sulfhidrilos en la membrana.

En consecuencia, la lista de posibles candidatos a mediadores en la acción de la insulina ha ido creciendo rápidamente. No sabemos aún si existe un mecanismo común de todos ellos y la propia hormona. El hecho de que los efectos de la hormona puedan demostrarse solamente cuando la célula diana se encuentra intacta, y de que ninguno de los mediadores propuestos mimetizan todas y cada una de las respuestas de la hormona, hace suponer que aún queda perdida la pieza fundamental en el «puzzle» de la acción de la insulina.

**INTERNALIZACIÓN DE LA INSULINA** (fig. 2, parte inf.: A y B). — Recientemente se ha venido utilizando la unión de la insulina con una molécula de gran tamaño (por ejemplo, la agarosa formada por poli-1-lisina-poli-1-alanina, o sefarosa) para evitar la entrada de la hormona en la célula. Esto ha permitido concluir que la insulina no tiene que ser internalizada para ejercer un efecto.<sup>21, 22</sup> Sin embargo, posteriormente esta metodología ha sido cuestionada seriamente: <sup>23</sup> en el complejo insulina-sefarosa existe algún grado de formación de insulina libre cuando se incuba en presencia de células y tampones conteniendo albúmina, de forma que la actividad biológica del complejo no tiene necesariamente porqué significar que la insulina no ha legado a entrar dentro de la célula.

Junto a las anteriores consideraciones, durante los últimos años se ha ido acumulando evidencia de que la insulina llega realmente a penetrar o internalizarse) en la célula diana y que, posiblemente, esto sea un aspecto

importante de su acción.<sup>24-27</sup> Una vez internalizada, la insulina (libre o acoplada a su receptor) llega a asociarse con los lisosomas.<sup>25</sup> El siguiente paso lo constituye la degradación parcial de la hormona (por las enzimas lisosomales o algún otro mecanismo aún no establecido), dando lugar a fragmentos, que aún mantienen actividad biológica.<sup>27</sup>

A pesar de estas evidencias experimentales, todavía no puede decidirse definitivamente si el modelo que implica la transducción-internalización y degradación parcial de la insulina constituye o no la forma universal por la que esta hormona realiza su acción.

**FLUIDEZ DE LA MEMBRANA.** — Otro aspecto importante y de enorme actualidad en la acción de la insulina es la influencia que la fluidez de la membrana plasmática en la célula diana pueda tener en la sensibilización de los receptores de la hormona. Se ha demostrado que los anticuerpos anti-receptores de insulina, de naturaleza bivalente, no solamente bloquean los lados de unión de la insulina, sino que cuando se unen a sus respectivos antígenos provocan efectos similares a los de la insulina. Esta respuesta no se manifiesta cuando los anticuerpos son monovalentes. En este caso, la acción similar a la insulina se restablece cuando dichos anticuerpos monovalentes, unidos a los receptores de insulina, se hacen reaccionar con un segundo anticuerpo, que facilita su agregación.<sup>28</sup>

La agregación de los receptores, facilitada por la participación cruzada de los anticuerpos monovalentes y un segundo anticuerpo, parece ser importante en la respuesta que mimetiza la acción de la insulina. Por otro lado, utilizando complejos ferritina-insulina, se ha demostrado la existencia de asociaciones de receptores insulínicos en la membrana celular.<sup>29</sup> El papel que el mecanismo de agregación de los receptores pueda tener en la acción de la insulina no está aún establecido, pues es evidente que puede participar de forma importante en la manera en que la hormona llega a activar a sus receptores para transducir la información intracelular que desencadene los efectos subsiguientes.

**HOMOGENEIDAD DE LOS RECEPTORES INSULÍNICOS.** — Mediante estudios comparativos de dosis-respuesta, se llegó a establecer inicialmente que la sensibilidad de la insulina dependía del parámetro metabólico en estudio. Así, se ha descrito que la actividad de la insulina, inhibiendo la lipólisis estimulada por otras hormonas (catecolaminas, ACTH, etc.) era superior a la que tiene estimulando la metabolización de glucosa.<sup>30-32</sup> Posteriormente se han realizado estudios muy minuciosos sobre este tema, utilizando distintas preparaciones de insulina, e incluso análogos de la hormona, demostrándose que la potencia relativa de la misma estimulando la lipogénesis a partir de glucosa es igual a la actividad anti-lipolítica.<sup>33, 34</sup> Estos resultados permiten sugerir que la insulina ejerce su acción sobre ambas vías metabólicas a través del mismo tipo de receptores.

Así pues, aunque existen datos conflictivos en la bibliografía, parece ser que la población de receptores insulínicos en la membrana es homogénea. Puede variar, sin embargo, el número de los receptores y su afinidad por la insulina en función de la situación fisiológica del animal: el ayuno incrementa la afinidad; <sup>35,36</sup> niveles altos de insulina circulante disminuyen el número de receptores insulínicos; <sup>37</sup> etc. En consecuencia, una vez que la insulina llega a ligarse a sus receptores, se desencadena la acción correspondiente, produciendo la serie de efectos de la hormona. El grado de esta respuesta dependerá pues del número de receptores que han sido ocupados por la hormona, y no de variaciones en la naturaleza de éstos.

**CONSIDERACIONES FINALES.** — Después de más de cincuenta años desde el aislamiento de la insulina y los estudios exhaustivos realizados por numerosos investigadores, hay que admitir que aún se desconoce en su totalidad el mecanismo de acción de esta hormona. Sabemos que la insulina se liga a receptores específicos de la membrana y que el complejo hormona-receptor contiene los requisitos necesarios para desencadenar la respuesta. Lo que ocurre entre dicho complejo y la respuesta es aún un enigma. Es posible que para lograr aislar e identificar un «segundo mensajero» de la insulina se requiera un replanteamiento completo del problema. Probablemente, después de la unión de la hormona con su receptor, no exista un mensajero único para la amplia respuesta que se produce. De hecho, la enorme diferencia que se observa entre los efectos agudos y crónicos de la insulina, permite apoyar esa posibilidad. Este nuevo planteamiento difiere sustancialmente del que se ha seguido para llegar a establecer el mecanismo de acción de otras hormonas, pero ésta no es la primera vez que los investigadores se han visto obligados a dar la vuelta a sus protocolos de trabajo para llegar a esclarecer algo que se separa del modelo clásico y que, sin embargo, no por ello es más complejo.

#### BIBLIOGRAFIA

1. KAHN, C. R.: *Methods in Membrane Biology*, vol. 3. Korn, E. D. (ed.). Plenum Press, New York, London, p. 81, 1975.
2. FREYCHET, P.: *Diabetologia*, 12, 83, 1976.
3. KAHN, C.: *Trends Biochem. Scienc.*, nov., 263, 1979.
4. SANGER, F.: *Science*, 129, 1.340, 1959.
5. FREYCHET, P.: *Diabetes Research Today. Symposia Medica Hoechst 12*, F. K. S. Verlag, Stuttgart, New York, p. 241, 1976.
6. YIP, C. C., YEUNG, C. W. T., MOULE, M. L.: *J. Biol. Chem.*, 253, 1.743, 1978.
7. DE MEYTS, P., VAN OBBERGHEN, E., ROTH, J., WOLLMER, S., BRANDERBURG, D.: *Nature*, 273, 504, 1978.
8. GLIEMANN, J., GAMMELTOFT, S., VINTEN, J.: *J. Biol. Chem.*, 250, 3.368, 1975.
9. PULLEN, R. A., LINDSAY, D. G., WOOD, S. P., TICKLE, I. S., BLUNDELL, T. L., WOLLMER, A., KRAIL, G., BRADENBURG, D., ZAHN, H., GLIEMANN, J., GAMMELTOFT, S.: *Nature*, 259, 369, 1976.
10. WOOD, S. P., BLUNDELL, T. L., WOLLMER, A., LAZARUS, N. R., NEVILLE, R. W.: *Eur. J. Biochem.*, 55, 531, 1975.
11. CARPENTER, F. H., BAUM, W. R.: *J. Biol. Chem.*, 237, 409, 1962.

12. ROTH, J., KAHN, C. R., LESNIAK, M. A., GORDEN, P., DE MEYTS, P., MEGYESI, K., NEVILLE, D. M. Jr., GAVIN, J. R. III, SOLL, A. H., FREYCHET, P., GOLDFINE, I. D., BAR, R. S., ARCHER, J. A.: *Recent Prog. Horm. Res.*, 31, 95, 1975.
13. STEINER, D. F.: *Diabetes*, 26, 322, 1977.
14. PIMENTEL, E.: *Acta Cient. Venezolana*, 29, 73, 1978.
15. TERRIS, S., STEINER, D. F.: *J. Biol. Chem.*, 250, 8.399, 1975.
16. CZECH, M. P.: *Ann. Rev. Biochem.*, 46, 359, 1977.
17. ILLIANO, G., TELL, G. P. E., SIEGEL, M. I., CUATRECASAS, P.: *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 70, 2.443, 1973.
18. MORGAN, H. E., RANDLE, P. J., REGEN, D.: *Biochem. J.*, 73, 573, 1959.
19. CARTER, J. R.: *Diabetes*, 23, suppl. 1, 347, 1974.
20. COOPER, R. H., RANDLE, P. J., DENTON, R. M.: *Biochem. J.* 143, 625, 1974.
21. CUATRECASAS, P.: *J. Biol. Chem.*, 247, 1.980, 1972.
22. CUATRECASAS, P.: *Science*, 179, 1.142, 1973.
23. BUCHER, R. W., CROFFORD, O. B., GAMMELTOFF, S., GLIEMANN, J., GAVIN, J. R. III, GOLDFINE, I. D., KAHN, C. R., ROBBELL, M., ROLH, J., JARETT, L., LARNER, J., LEFKOWITZ, R. J., LEVINE, R., MARINETTI, G. V.: *Science*, 182, 396, 1973.
24. KAHN, C. R., BAIRD, K.: *J. Biol. Chem.*, 253, 4.900, 1978.
25. GORDEN, P., CARPENTIER, J. L., FREYCHET, P., LECAM, A., ORCI, L.: *Science*, 200, 782, 1978.
26. SCHLESSINGER, J., SHECHTER, Y., WILLINGHAM, M. C., PASTAN, I.: *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 75, 2.659, 1978.
27. WEITZEL, G., EISELE, K., GUGLIELMI, H., STOCK, W., RENNER, R.: *Hoppe-Seylers Z. Physiol. Chem.*, 352, 1.735, 1971.
28. KAHN, C. R., BAIRD, K. L., JARRETT, D. B., FLIER, J. S.: *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 75, 4.209, 1978.
29. JARETT, L., SMITH, R. M.: *J. Clin. Invest.*, 63, 571, 1979.
30. HEPP, K. J., POFFENBARGER, P. L., ENSICK, J. W., WILLIAMS, R. H.: *Metab. Clin. Exp.*, 16, 393, 1967.
31. JACOBSSON, B., HOLM, G., BJORNTORP, P., SMITH, V.: *Diabetologia*, 12, 69, 1976.
32. FAIN, J. N., KORACEV, V. P., SCOW, R. O.: *Endocrinology*, 78, 738, 1966.
33. ELLIS, M. J., DARRY, S. C., JONES, R. H., SÖNKSEN, P. H.: *Diabetologia*, 15, 403, 1978.
34. THOMAS, S. H. L., WISHER, M. H., BRANDENBURG, D., SÖNKSEN, P. H.: *Biochem. J.*, 184, 355, 1979.
35. BAR, R. S., GORDON, P., ROTH, J., KAHN, C. R., DEMEYTS, P.: *J. Clin. Invest.*, 58, 1.123, 1976.
36. OLEFSKY, J. M.: *J. Clin. Invest.*, 58, 1.450, 1976.
37. GAVIN, J. R., ROTH, J., NEVILLE, D. M., DEMEYTS, P., BUELL, D. N.: *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 71, 84, 1974.

*Càtedra de Fisiologia General. Facultat de Biologia.  
Universitat de Barcelona.*

*Departamento de Investigación.  
Centro Ramón y Cajal. Madrid.*