



UPPSALA  
UNIVERSITET

# Molekylär mekanism bakom mobilisering av GLUT4 till cellmembranet

- En insulininitierad signalväg

Oskar Idås

---

Independent Project in Biology  
Självständigt arbete i biologi, 15 hp, vårterminen 2012  
Institutionen för biologisk grundutbildning, Uppsala universitet

## Sammandrag

Diabetes typ 2 är en kraftigt växande sjukdom som orsakas av defekter i kroppens celler som gör dem okänsliga och i vissa fall helt resistent mot insulinstimulering. Insulin stimulerar signaler i cellen som styr dess hantering av glukos. En av dessa signalvägar stimulerar cellen att ta upp glukos genom att omlokalisera glukotransportproteinet GLUT4 till cellmembranet. Denna signalväg är väldigt komplex och involverar flera kritiska steg. Defekter som avbryter signaltransduktionen leder till nedsatt glukosupptag vilket i kombination med nedsatt insulinproduktion resulterar i diabetes typ 2. Faktum är att varje steg i signalsystemet är en potentiell brytpunkt för transduktionen, vilket gör det svårt att identifiera specifika mutationer eller defekter som leder till diabetes typ 2.

Mycket forskning har fokuserat på att identifiera viktiga komponenter i den insulinstimulerade GLUT4-transporten till cellmembranet. Arbetet fokuserar på att ge en bild av hur transduktionen fungerar på en molekylär nivå samt tar upp vilka fel i signalvägen som kan leda till diabetes typ 2. Avslutningsvis diskuteras även framtida mål för forskningen och vad som finns kvar att göra inom detta område.

## Inledning

Diabetes mellitus är idag en av världens största och snabbast växande kroniska sjukdomar då över 346 miljoner människor diagnostiserats med sjukdomen 2011 (WHO 2011). Diabetes mellitus är ett samlingsnamn på flera sjukdomar, gemensamt för sjukdomarna är att de beror på kroppens oförmåga att reagera på eller producera hormonet insulin. Insulin stimulerar kroppsvävnad att ta upp glukos ur blodet. Nedsatt insulineffekt som inte behandlas resulterar i ökad blodsockernivå som i längden leder till skador och förslitningar på bland annat njurar, blodådror och hjärta.

Det finns två typer av diabetes, typ 1 och 2. Diabetes typ 1 orsakas av defekta  $\beta$ -celler i bukspottkörteln som då inte är kapabla att producera insulin. Detta kan behandlas genom att injicera insulin direkt till kroppen. Diabetes typ 2 orsakas av att kroppens celler blir insulinresistent. Denna typ är mycket vanligare då cirka 90% av personerna med diabetes mellitus diagnostiserats som typ 2 diabetiker (WHO 2011).

Någonstans mellan att insulin producerats och en mottagarcell tar upp glukos finns defekten som resulterar i insulinresistans. Därför har en stor del av forskningen de senaste årtiondena fokuserat på att identifiera de centrala mekanismerna i den insulininitierade signaltransduktion som leder till glukosupptag. Resultatet av de senaste årens forskning har gett en bild av ett extremt komplext nätverk av signaler och signalvägar inuti cellen där mycket kan gå fel. Typ 2 diabetes beror alltså inte av en specifik defekt, utan fenotypen kan uppnås av en mängd typer av fel i signaltransduktionen.

Detta arbete kommer att fokusera på hur insulin stimulerar celler att ta upp glukos och hur denna signalväg på olika sätt kan avbrytas och resultera i diabetes mellitus typ 2.

## Cellkommunikation och cellsignalering

I multicellulära organismer är det extremt viktigt att celler kan skicka ut och ta emot

signaler från andra celler. Celler skickar ut signalmolekyler i sin närliggande omgivning (eller i blodomloppet), signalmolekylerna binder i sin tur till receptorer på mottagarens cellyta. Detta initierar en serie reaktioner inuti cellen som skickar signalen vidare och till slut resulterar i en respons i cellens beteende. Denna generella beskrivning av cellsignalerings reglerar mängder av processer i vår kropp, till exempel; prolifering, celldifferentiering, metabolism, livslängd och bibehållandet av homeostas.

Cellsignalerings behöver inte ske med hjälp av signalmolekyler, celler kan även kommunicera genom direktkontakt. Dock är kommunikation med signalmolekyler vanligare. Denna typ av signalering brukar delas upp i tre kategorier, baserat på vilka avstånd signaleringen sker. Vid autokrin signalering skickar cellen ut en signalmolekyl som binder till den egna cellens ytreceptor som i sin tur triggar en respons i cellen, den stimulerar alltså ett beteende på sig själv. Den andra typen av cellsignalerings, parakrin signalering, utsöndrar signalmolekyler som binder till närliggande celler. Den tredje cellsignaleringskategorin kallas endokrin signalering. Vid denna typ av signalering utsöndrar endokrina celler ett hormon (en signalmolekyl) ut i blodomloppet, hormonet transporteras därmed till en annan del av kroppen där det binder till en mottagarcell och stimulerar en respons.

### **Glukosupptag**

Glukos är en monosackarid som hos djur i första hand används som energikälla. Glukos finns i blodet så att celler snabbt ska kunna ta upp det och utvinna energi genom glykolysen. Koncentrationen av glukos i människors blod flukturerar normalt inom intervallet: 3,6 – 5,8 mM (millimol/L)(NDIC 2011). Men personer som lider av diabetes typ 2 har en blodsockernivå över 6,9. Detta beror på att dessa personer har utvecklat helt eller delvis insulinresistenta celler som resulterar i ett ineffektivt glukosupptag. glukosen stannar då kvar i blodomloppet och ackumuleras till en, på sikt, farligt hög koncentration (NDIC 2011).

### **Diabetes typ 2**

Insulinresistens hos cellvävnad kan orsakas av olika fel i olika insulininducerade signaltransduktioner som styr cellers hantering av glukos. En essentiell del i cellers glukoshantering är glukosupptaget. Signalvägen som styr när och hur mycket glukos som ska tas in i cellen är ett begränsande steg för övriga glukosrelaterade processerna i cellen eftersom cellen bara kan hantera och bryta ner den glukos som tas upp (Cline *et al.* 1999). Glukosupptag styrs av en komplex signaltransduktion som i muskel- och fettceller normalt leder till transport av GLUT4 (*Glucose transporter type 4*) till cellmembranet. GLUT4 är ett protein som sätter sig i cellmembranet och släpper in glukos i cellen, hur allt detta fungerar kommer att beskrivas i mer detalj senare i uppsatsen. När denna signaltransduktion inte fungerar normalt kan inte cellerna ta upp glukos på ett effektivt sätt vilket kan leda till förhöjda blodsockernivåer och diabetes. För att få diabetes typ 2 krävs i de flesta fall mer än bara en defekt som leder till minskad insulinkänslighet hos kroppens cellvävnad eftersom en normalt fungerande bukspottskörtel kan kompensera en nedsatt insulinkänslighet hos cellerna genom att producera en större mängd insulin (DeFronzo *et al.* 1985). Om en ökad insulinproduktion kan kompensera cellvävnadens reducerade insulinrespons beror på vilken grad av insulinresistens cellvävnaden har, då det finns en gräns för hur mycket insulin även en fullt fungerande bukspottskörtel kan producera. Även i de fall då ökad

insulinproduktion håller kroppens blodsocker på en normal nivå temporärt så är det påfrestande för bukspottkörteln i längden och utan behandling kommer körteln att ta skada och patienten utvecklar då diabetes typ 2. Så, i de flesta fall av diabetes typ 2 så är patienten insulinresistent i kombination med en reducerad insulinproduktion (DeFronzo *et al.* 1985). Detta gör sjukdomen än mer komplex och svårbotad eftersom man måste ta hänsyn till ytterligare ett system vid behandling.

## Insulin

Insulin är ett polypeptidhormon som i människor väger 5808 Dalton (Najjar 2003). Aminosyrasekvensen för insulin är väldigt välkonserverat och skiljer sig endast på några få ställen vertebrater emellan (Reinecke & Collet 1998). Insulinmolekylerna lagras tillsammans i en inaktiv form som hexamerer i bukspottkörteln (Dunn 2005). Hexamerkonfigurationen är stabil vilket gör den fördelaktig vid lagring. Insulinets aktiva form är sedan som monomerer, dessa strukturer är mindre vilket ökar deras diffunderingshastighet (Dunn 2005).

### *Insulinsyntes*

Förstadiet till insulin är preproinsulin som syntetiseras av bukspottkörtelns  $\beta$ -celler. Preproinsulinet translateras direkt in i det endoplasmatiska nätverket där ett proteas genast klyver av signalpeptiden. I och med denna process har preproinsulinet omvandlats till proinsulin. Proinsulinet består av två peptidkedjor, A och B, som hålls ihop av en C-peptidbrygga samt två disulfidbindningar (Najjar 2003). Proinsulinet transporteras till trans-golgiapparaten där endopeptidaser klyver bort C-peptidbryggan, denna process resulterar i en färdig insulinmolekyl.

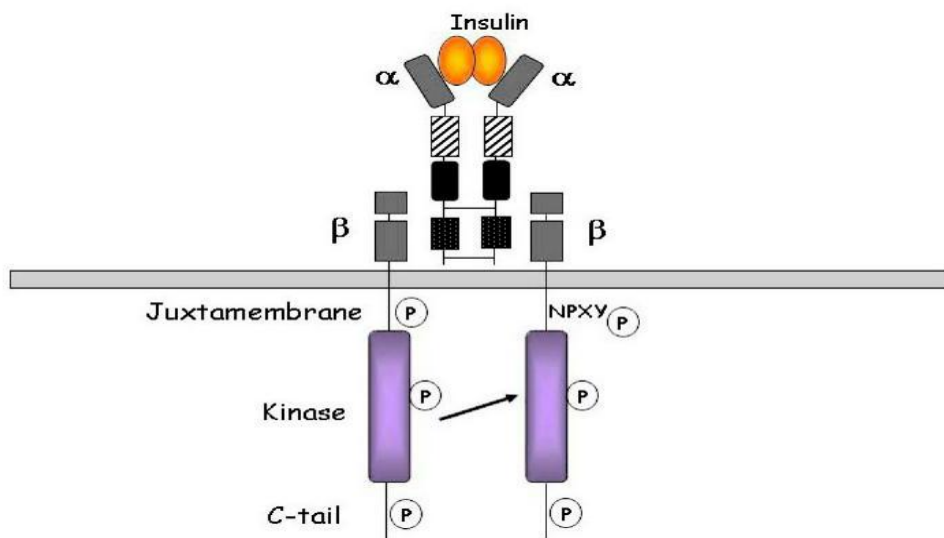
### *Utsöndring av insulin*

$\beta$ -cellerna lagrar insulinet i granula och inväntar en signal för dess utsöndring. Det finns ett flertal signaler som reglerar  $\beta$ -cellernas insulinutsöndring, den vanligaste är dock en fosforlyseringsmekanism som leder till att  $\beta$ -cellen depolariseras och exocyterar insulin (Najjar 2003). Signalen initieras av att glukokinas fosforlyserar glukos som med hjälp av glucose transporter 2 (Glut 2) transporterats in i  $\beta$ -cellen. Denna reaktion producerar glukos-6-fosfat som stegvis bryts ner och tillslut genomgår en oxidativ fosforlysering i mitokondrierna, processen resulterar i bildandet av adenosintrifosfat (ATP). I frånvaro av ATP är  $K^+$ -kanalerna öppna och ett konstant flöde bibehåller en jämn  $K^+$ -balans inuti cellen. Men i takt med att ATP-koncentrationen ökar, på grund av nedbrytningen av glukos-6-fosfat, så stängs allt fler  $K^+$ -kanaler. Detta leder till att  $\beta$ -cellens membran depolariseras. Depolarisationen öppnar spänningskänsliga  $Ca^{2+}$ -kanaler och  $Ca^{2+}$ -joner kan passera in i cellens cytoplasma (Arkhammar *et al.* 1987).  $Ca^{2+}$ -jonerna stimulerar utsöndringen av granula som innehåller det lagrade insulinet (Najjar 2003).

### *Insulinreceptorers uppbyggnad*

För att det utsöndrade insulinet ska kunna interagera med kroppens cellvävnad behöver cellerna receptorer som insulinet kan binda till, insulinreceptorer. Insulinreceptorerna är glykoproteiner bestående av fyra subenheter, två  $\alpha$ -subenheter och två  $\beta$ -subenheter. Dessa subenheter är sammanlänkade med disulfidbryggor till ett  $\alpha_2\beta_2$  heterotetrameriskt komplex (se figur 1) (Pessin & Saltiel 2000). Det är de extracellulära  $\alpha$ -subenheterna

som är insulinets bindningsställe. De fungerar också som negativa regulatorer för  $\beta$ -subenhetens tyrosinkinase (Patti & Kahn 1998).  $\beta$ -subenheterna sträcker sig huvudsakligen genom cellmembranet och in i cellen, förutom en liten del som är extracellulär och sammanlänkad med  $\alpha$ -subenheterna via disulfidbindningar. Från den extracellulära delen går en 23 aminosyror lång region genom cellmembranet till den intracellulära delen. Den intracellulära delen upptas av ett tyrosinkinaseprotein samt en katalyserande region vid C-terminalregionen (Patti & Kahn 1998). Det är från insulinreceptorn som insulin aktiverar cellens olika insulinberoende signalvägar (Patti & Kahn 1998).



**Figur 1. Insulinreceptorns struktur.** Insulinreceptorn består av två extracellulära  $\alpha$ -subenheter som insulinet binder till.  $\alpha$ -subenheterna är kopplade till två  $\beta$ -subenheter som går genom cellmembranet och in i cellen. På varje  $\beta$ -subenhet sitter ett intracellulärt tyrosinkinase som aktiveras när insulin bundit till  $\alpha$ -subenheterna. Denna aktivering leder till autofosforylering av insulinreceptorn vid nära cellmembranets insida och vid  $\beta$ -subenheternas C-terminal. Signalen går från C-terminalen till insulinreceptorsubstrat (IRS) och vidare i cellen. Från Chang *et al.* (2005), med tillstånd från upphovsrättsinnehavaren.

## Signaltransduktionen som ökar koncentrationen av GLUT4 vid cellytan

När man tittar närmare på vilka gener och proteiner som ingår i insulinsignalering inser man snabbt att systemet är för komplext att ta upp i sin detaljerade helhet. Efter bara några få steg in i signalsystemet så blir kombinationerna av signalvägar, typer av signalsubstanser och dess isoformer, proteiner och responser ohanterbara. För att kunna beskriva insulinsignaleringen på ett sätt som är förståeligt men samtidigt detaljerat kommer fokus ligga på de mest essentiella delarna av den insulininitierade signalvägen

som stimulerar exocytos av GLUT4-proteiner till cellmembranet. Den cellulära respons som ökar cellvävnadens glukosupptag och därmed minskar blodsockernivån. Trots att olika cellvävnader har en likartad respons på insulin-stimulans så skiljer sig signaltransduktionerna åt en aning. Arbetet riktar därför sig enbart in på hur signalen fortlöper i skelettmuskulatur för att ge en så klar bild som möjligt.

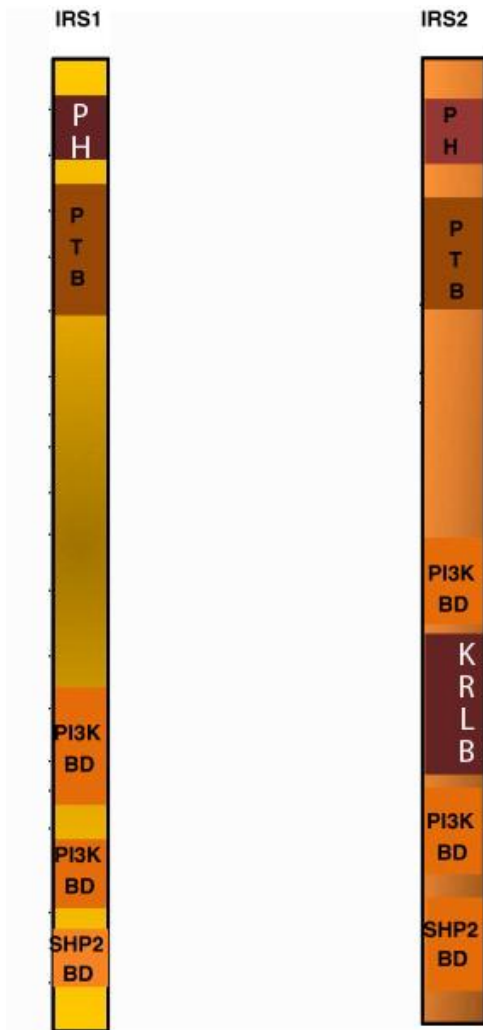
### **Initiering av signaltransduktionen**

Insulinet som utsöndrats från  $\beta$ -cellerna transporteras via blodomloppet ut till olika kroppsvävnader. När insulinet når en mottaglig cell binder det till de två  $\alpha$ -subenheterna som sitter på utsidan av cellen. När insulinet binder ändras receptorns konfiguration och  $\beta$ -subenhetens tyrosinkinaser aktiveras. Detta leder till receptorn binder ATP och autofosforyleras.

#### *IRS:s roll i signaltransduktionen*

Tyrosinkinaset fosforylerar sedan ett antal *insulin receptor substrate proteins* (IRS), hittills har elva proteiner av denna typ identifierats, av dessa är sex stycken värda att nämna här; IRS-1, IRS-2, IRS-3, IRS-4, IRS-5, IRS-6 (Bajaj & DeFronzo 2003, Karlsson & Zierath 2007). Proteinerna fungerar som sekundära budbärare (secondary messengers) i det intracellulära signalsystemet. Forskningsstudier av bland andra Kido *et al.* (2000) och Huang *et al.* (2005) visar att dessa proteiner har olika effekter och kan leda till olika signalvägar i olika typer av vävnad. Tester på möss visar att insulinsignalen som leder till glukosmetabolism och glukosupptag förmedlas vidare av IRS-1 och IRS-2 (Lee & White 2004, Shehata 2009).

Skillnaden mellan IRS-1 och 2 i rymdstruktur är relativt stor, men i uppbyggnad och funktion är de väldigt lika (se figur 2). Vid N-terminalen har bägge proteinerna en PH-region (*Pleckstrin homology domain*) och PTB-region (*Phosphotyrosine binding domain*) som kontrollerar interaktionen med andra proteiner. Vid C-terminalen sitter flera tyrosiner som, när de fosforylerats, bildar bindningsställen för SH2-protein (*Sarcoma homology 2 protein*) som ingår i signaltransduktionen. Bägge proteiner har även serin/treonin-rika regioner som spelar en viktig roll när signaleringen ska avslutas (White 1998).



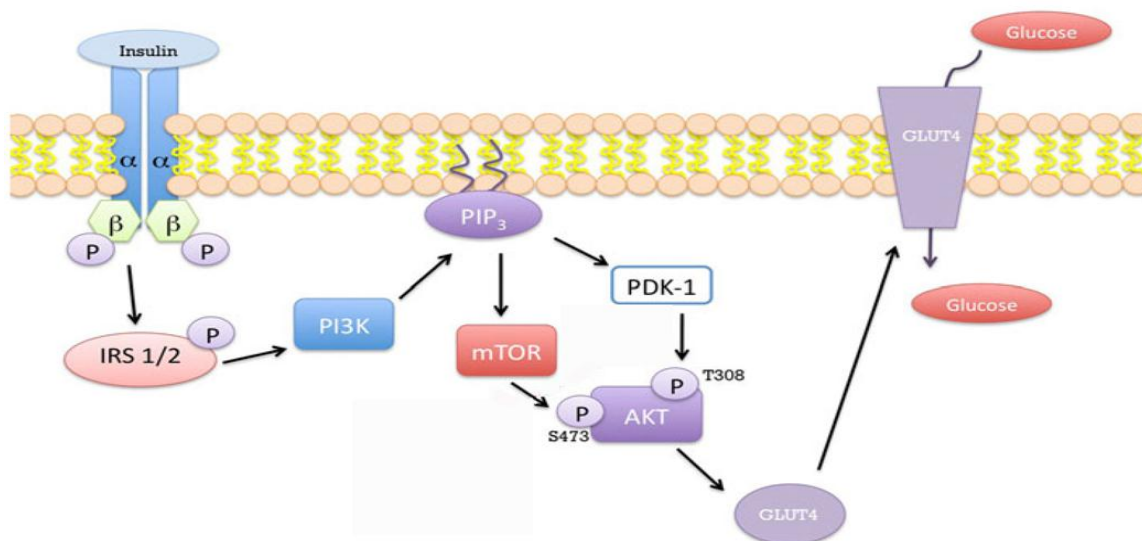
**Figur 2. IRS-1 och IRS-2 funktionella regioner.** Vid N-terminalen sitter PH- och PTB-regionen. Längst ut på C-terminalen sitter tyrosinerna som i fosforylerad form bildar SH2-domänernas bindningsställe. Ovanför SH2-bindningsställena har både IRS-1 och 2 två PI3-K-bindningsställena, men utöver dessa har IRS-2 ett kinase regulatory-loop binding (KRLB) region. KRLB-regionen begränsar tyrosinfosforylering av IRS-2. Wu *et al.* (2008) föreslår att syftet med denna begränsning är att signalen som IRS-2 förmedlar ska vara stark nog för att aktivera PI3-K men för svag för att aktivera andra signalvägar som IRS-1 kan stimulera. På detta sätt kan IRS-2 initiera en annorlunda signaltransduktion än IRS-1. Omritad efter Tanti och Jager (2009).

I skelettmuskulatur binder insulinreceptorn till IRS-1:s PH och PTB-region. Tyrosinkinaset känner igen och fosforylerar IRS-1:s tyrosiner som sitter i följande struktur; Y-x-x-x-M ("Y" står för tyrosin, "x" står för valfri aminosyra och "M" står för metionin) (Najjar 2003). Dessa "Y-x-x-x-M"-strukturer fungerar som bindningsställen med hög affinitet för SH2-domäner (*Scr homology 2 domain*) (White 1998).

Ett enzym som binder till IRS-1, och som är essentiellt för aktivering av glukosmetabolism och glukosupptag, är PI3-K (phosphatidyl-inositol-3 -OH-kinase). PI3-K består av två reglerande och en katalyserande subenhet (White 1998, Pons *et al.* 1995).

PI3-K:s reglerande subenheter, p85-kDa och p55<sup>PIK</sup>, har två SH2-domäner kopplade till sig. Med hjälp av dessa, binder de till IRS-1 och aktiverar på så sätt den katalytiska subenheten p110 (Bajaj & DeFronzo 2003, Pons *et al.* 1995). p110 stimulerar fosforylering av fosfatidylinositol på PI3-K:s inositolring vilket leder till bildandet av PIP<sub>3</sub> (*phosphatidylinositol-3,4,5-triphosphate*) plasmamembranet. PIP<sub>3</sub> binder till en PH-region på PKBβ (*Protein kinase Bβ*), även känt som serin/treonin kinas Akt2 (Bajaj & DeFronzo 2003). Utöver Akt2/PKBβ binder även PDK-1 (*phosphoinositide*

dependent protein kinases) till PIP<sub>3</sub> via sin PH-region. Detta leder till att Akt2/PKB $\beta$  fosforyleras av PDK-1 på Thr308 men för att Akt2/PKB $\beta$  ska aktiveras fullständigt krävs en fosforylering av Ser473 som förmodligen genomförs av mTOR-komplex 2 (*mammalian target of rapamycin complex 2*) (Sarbasov *et al.* 2005), vilket kinas som fosforylerar Ser473 diskuteras dock fortfarande. Eftersom fosforyleringen av Ser473 är en viktig del i aktiveringen av Akt2/PKB $\beta$  så har man febrilt försökt identifiera dess kinas och andra teorier har lagts fram. Bland andra att PDK-2 fosforylerar Ser473 (Balendran *et al.* 1999) eller att Akt2/PKB $\beta$  helt enkelt autofosforylerar (Toker & Newton 2000). Utöver Akt2/PKB $\beta$  så aktiveras även protein kinas C  $\lambda$  och  $\zeta$  (PKC  $\lambda/\zeta$ ) (Zick 2003).



**Figur 3. Signalvägen för translokation av GLUT4 till cellmembranet.** Figuren summerar de essentiella stegen i den insulinstimulerade signalvägen som leder till glukosupptag i skelettmuskulatur. Signaltransduktionen initieras av att insulin binder till insulinreceptorns  $\alpha$ -subenheter, vilket aktiverar  $\beta$ -subenheten som fosforylerar insulinreceptorns substratprotein IRS-1. PI3-K binder till IRS-1 vilket resulterar i bildandet av PIP<sub>3</sub> som i sin tur aktiverar Akt2/PKBB med hjälp av 3-phosphoinositid-dependent protein kinase 1 (PDK1) och *mammalian target of rapamycin complex 2* (mTOR). Akt2/PKB $\beta$  fosforylerar substraten AS160 och TBC1D1 och därmed kan Rab-GTPaser transportera GLUT4-vesiklar från cellens cytoplasma till cellmembranet (illustreras av en rund GLUT4-figur). Rab 8A och 14 tros spela viktiga roller men antagligen finns fler Rab-proteiner som är med och mobiliserar GLUT4. Väl vid cellmembranet kan GLUT4 släppa in glukos från blodet till cellen (illustreras av en kantig GLUT4-figur). Från Druwe & Vaillancourt (2010), med tillstånd från upphovsrättsinnehavaren.

### Akt/PKB reglerar glukosupptag

Serin/treonin-kinaset Akt2/PKB $\beta$  är en kritisk nod i signalsystemet då kinaset kan aktivera många andra kinaser och signalmolekyler som leder till metaboliska responser, initierade av insulin. En av de viktigaste responserna Akt/PKB kontrollerar är cellens förmåga att ta upp glukos. Det finns tre isoformer av Akt/PKB; Akt1/PKB $\alpha$ , Akt2/PKB $\beta$  och Akt3/PKB $\gamma$ . Dessa har vissa funktionella strukturer gemensamt; PH-region vid N-terminalen, kinasregion i mitten och ett hydrofobiskt fosforyleringsställe vid C-terminalen som reglerar kinasets aktivitet (Hanada *et al.* 2004). Ett flertal oberoende experiment på möss har visat att "Akt2/PKB $\beta$ "-isoformen är huvudansvarig för aktiveringen av glukostransport och upprätthållandet av glukoshomeostas i kroppen (Cho *et al.* 2001, Garofalo *et al.* 2003). Experiment där man slagit ut eller minskat

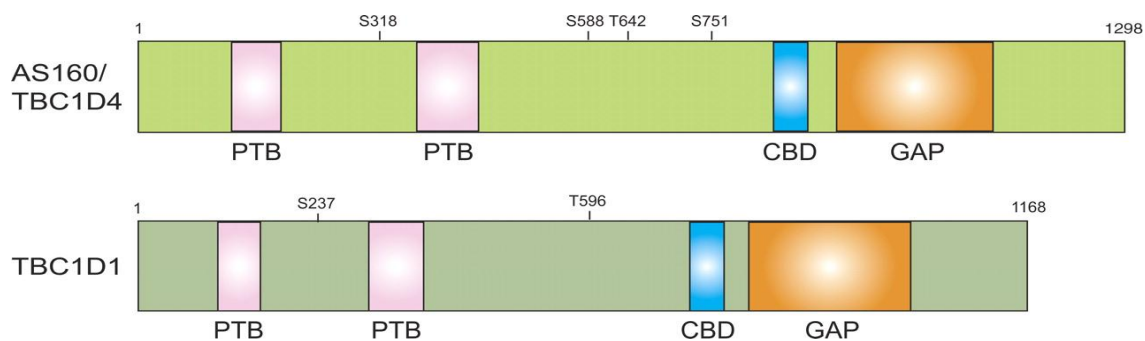


tillgången på Akt2/PKB $\beta$  har visat att Akt1/PKB $\alpha$  i viss mån tar Akt2/PKB $\beta$ :s plats i cellsignalen och har därmed en liten effekt på den insulinstimulerade glukostransporten (Katome *et al.* 2003, Jiang *et al.* 2003).

#### AS160 och TBC1D1

Akt2/PKB $\beta$  stimulerar cellen att ta upp glukos genom att mobilisera och transportera GLUT4-vesiklar till cellmembranet, men exakt hur Akt2/PKB $\beta$  gör detta är ännu inte helt klarlagt. Kane *et al.* (2002) identifierade ett Akt2/PKB $\beta$ -substrat som var ca 160 kDa och fick därmed namnet AS160 (*Atk substrate of 160 kDa*). AS160 har fem seriner/treoniner som kan fosforyleras av Akt2/PKB $\beta$ . När AS160 inte är fosforylerat har den en aktiv GAP-region (*GTPase activating protein*) där ett Rab-protein (Ras homologous from brain) sitter bundet. Rab-proteiner är den största gruppen i familjen ”lågmolekylära GTPaser”, de reglerar membran- och vesikeltransport i cellen, däribland transporten av GLUT4-vesiklar (Kane *et al.* 2002). När Akt2/PKB $\beta$  fosforylerar AS160 så inaktiveras dess GAP-region och Rab-proteinerna blir aktiva (Gonzalez och McGraw 2006).

Utöver AS160 har man identifierat ytterligare ett Akt2/PKB $\beta$ -substrat, TBC1D1. TBC1D1 och AS160 är strukturellt lika och delar flera karakteristiska regioner (se figur 3). Experiment utförda av Roach *et al.* (2007) visar att TBC1D1 aktiverar samma Rab-proteiner som AS160 och inhibering av TBC1D1 minskar mobiliseringen av GLUT4. Dessa experiment ses som bevis för att TBC1D1 bidrar i stimulering av GLUT4-translokation.



**Figur 4. Schematisk bild över substraten AS160 och TBC1D1 hos människor.** Bägge substraten har två PTB-regioner och en GAP-region. AS160 har fyra Akt2/PKB $\beta$ -fosforyleringsställen; Ser-318, Ser-588, Thr-642 och Ser-751. TBC1D1 har endast två fosforyleringsställen varav ett fosforyleras av Akt2/PKB $\beta$  (Thr-596) och ett fosforyleras av 5' *adenosine monophosphate-activated protein kinase* (AMPK) (Ser-237). AMPK är ett kinas som ingår i ett annat signalsystem som reglerar cellens energi-homeostas, men eftersom cellen använder glukos som energi stimulerar AMPK glukosupptag som en del av responsen på låga ATP-nivåer i cellen. Från Sakamoto och Holman (2008), med tillstånd från upphovsrättsinnehavaren.

#### Rab-proteinernas roll

Exakt vilka Rab-proteiner som har essentiella roller i GLUT4-translokationen är fortfarande oklart och omdiskuterat. Bland annat har Rab-proteinerna 2, 8A, 10 och 14 identifierats som målproteiner för AS160 samt lokaliserats i GLUT4-vesiklar (Miinea *et al.* 2007). Men i motsats till dessa resultat har knockout-experiment på möss visat att enbart knockout av Rab10 (men inte 2, 8A och 14) resulterat i inhibering av GLUT4-

translokation (Sano *et al.* 2008). En av orsakerna till att det är så svårt att identifiera vilka Rab-proteiner som är inblandade i GLUT4-transporten är GLUT4:s komplexa väg till cytoplasman. Innan GLUT4 lagras i cytoplasman så transporteras proteinet i olika steg genom flera delar i cellen, även dessa transporter är beroende av Rab-proteiner. Så när man försöker identifiera Rab-proteinerna som är kopplade till just GLUT4:s insulinberoende cellmembrantransport så är det svårt att sortera bort de Rab-proteiner som är inblandade i andra GLUT4-transporter (Rowland *et al.* 2011).

#### *Glukostransportörer mobiliseras till cellmembranet*

Människor har totalt 13 sockertransport-proteiner (GLUT1-12 och HMIT), dessa sköter transporten av vissa sockermolekyler genom cellmembranet (Joost & Thorens 2001). Hittills har man hittat och identifierat fyra medlemmar i denna familj som transporterar glukos (GLUT1, -2, -3 och -4). GLUT1 och 3 ansvarar för glukostransporten i nervceller och GLUT2 verkar i njurarna, levern och hos bukspottskörtelns  $\beta$ -celler (Watson & Pessin 2001). I muskel och fettvävnad är det GLUT4 som transporterar glukos.

Under normala förhållanden förvaras GLUT4 i vesiklar i cellens cytoplasma, så kallade GSVs (GLUT4 storage vesicles) (Martin *et al.* 1998). Men när Rab-proteinerna binder GTP och aktiveras så binder de till GSVs och stimulerar dess transport. Transporten sker via cellens cytoskelett, från cytoplasman ut till cellmembranet (Olson *et al.* 2001). Hur transporten initieras av Rab-proteinerna, och antagligen andra inblandade proteiner, är på en molekylär nivå fortfarande oklart men både aktin och mikrotubuli är essentiella för transporten av GLUT4 (Olson *et al.* 2001). Dock har man nyligen kunnat visa att ett oligomeriskt proteinkomplex, Exo70, binder till GSVs och med största sannolikhet krävs i samarbete med ett antal Rab-proteiner för att transportera dessa längs aktinfilamenten till cellmembranet (Inoue *et al.* 2003, Das & Guo 2011). Forskning av Huang *et al.* (2001) visar även att motorproteinet dynein kan vara en av de proteiner som stimuleras av Rab-proteiner och transporterar GSVs längs mikrotubuli.

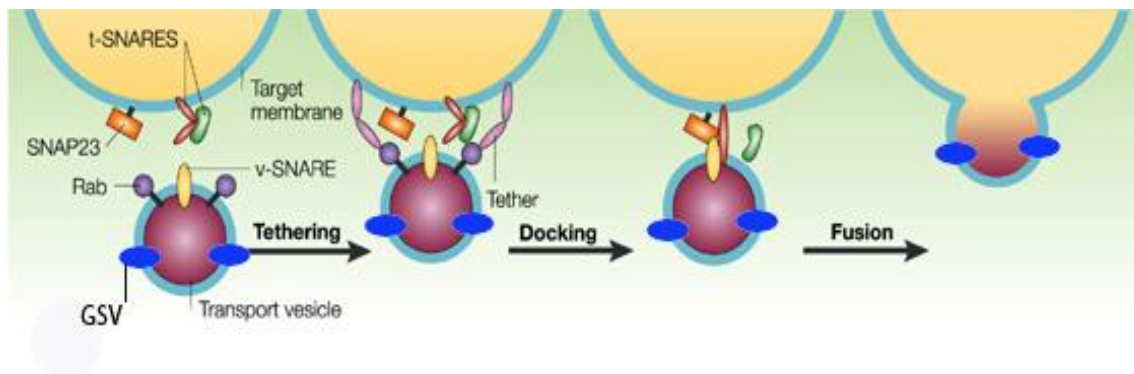
#### *I slutsteget hjälper SNARE-proteiner GLUT4 att fusera med cellmembranet*

När GLUT4 nått fram till cellmembranet spelar SNAREs (*soluble N-ethylmaleimide-sensitive factor attachment protein receptors*) en viktig roll (Hong 2005). SNARE-proteiner har i uppgift att katalysera fusionen av vesiklar med cellmembranet. Dessa proteiner kan delas upp i två funktionella grupper; vesicle membrane (v-SNAREs) och target membrane (t-SNAREs). v-SNAREs binder till vesikeln som ska fusera med cellmembranet och t-SNAREs är fysiskt kopplat till regionen på cellmembranet där proteinet ska inkopereras. Totalt har människan 36 olika SNARE-proteiner som har liknande funktion i olika signalvägar (Hong 2005).

Fusionen av GLUT4 styrs i huvudsak av v-SNARE-proteinet VAMP2 och t-SNARE-proteinerna Syn4 och SNAP23 (Cheatham *et al.* 1996, Volchuk *et al.* 1996). VAMP2 sitter i GSV-membranet tillsammans med ett antal Rab-proteiner (se figur 5). Rab-proteinerna hjälper GSV att binda till rätt del av cellmembranet genom att interagera med ett antal små proteiner i cellens cytosol. Sedan binder VAMP2 med Syn4 och SNAP23 som sitter i cellmembranet där GSV ska fusera (Kawanishi *et al.* 2000, Pessin *et al.* 1999). Dessa proteiner bildar ett stabilt komplex som drar GSV närmare cellmembranet, utan komplexet skulle repellerande krafter trycka bort GSV från cellmembranet (Melia *et al.* 2002). Till slut smälter membranerna samman och GLUT4

inkorporeras på detta sätt in i cellmembranet (Kawanishi *et al.* 2000, Pessin *et al.* 1999).

Väl i cellmembranet kan GLUT4 transportera in glukos i cellen. Glukoshalten sjunker därmed i blodet och lagras istället i cellvävnaden som sedan kan använda sockret som energikälla.



**Figure 5. GLUT4 storage vesicle (GSV) fuserar med cellmembranet.** Rab-proteinerna initierar fusionen genom att binda till effektormolekyler och hjälper därmed GSV att hitta vart vid cellmembranet vesikeln ska fuseras. Sedan bildar v-SNARE -och t-SNARE-proteinerna ett komplex som stabiliserar och ”drar” vesikeln närmare cellmembranet. Tillslut smälter membranerna samman och GLUT4-proteinerna kan transportera in glukos i cellen. Omritad efter Bryant *et al.* (2002).

## Vad orsakar insulinresistans?

När kroppens celler inte reagerar på insulinstimulans säger man att de har blivit insulinresistenta. Insulinresistens är den grundläggande orsaken till diabetes mellitus typ 2. Insulinresistensen kan bero på många olika defekter i många olika delar av den insulininitierade signaltransduktionen, inte bara i just den signaltransduktion som beskrivits i detta arbete, utan även defekter i parallella signalvägar kan leda till insulinresistens. Men precis som tidigare kommer inte alla insulininitierade signalvägar tas upp utan fokus kommer ligga på signalvägen som leder till translokation av GLUT4-proteiner till cellmembranet. Translokationen av GLUT4 till cellmembranet är en väldigt komplex process och det finns därför många steg som potentiellt skulle kunna gå fel och leda till nedsatt glukosupptag. Detta avsnitt kommer att belysa några av de defekter som ligger bakom signaltermineringen och kan leda till diabetes typ 2, det vill säga minskad insulinkänslighet eller i värsta fall total insulinresistens hos celler.

## Mutationer som slår ut viktiga delar av signalvägen

Experiment där man slagit ut enskilda gener som kodar för viktiga komponenter i signalvägen som styr GLUT4 mobiliseringen har utförts av flera oberoende forskargrupper (se summering i tabell 1). Intressant att notera är att utslagning av bland annat GLUT4 inte leder till diabetes som man kanske skulle tro, utan en förstoring av hjärtats kammare (kammahypertrofi). Denna sjukdom beror direkt av bristen på GLUT4 i hjärtmuskulaturen, inte av en förhöjd blodsockerhalt i kroppen (Abel *et al.* 1999). Dock har ytterligare experiment visat att genom att kombinera flera genutslagningar så kan man uppnå diabetes typ 2. Det är intressant att titta på hur signalvägen som styr mobiliseringen av GLUT4 påverkas eftersom det är denna

signalväg som bestämmer hur mycket glukos som ska tas upp av cellen. Detta gör signalvägen som beskrivits i detta arbete till ett begränsande steg för de andra glukosrelaterade processerna i cellen (Cline *et al.* 1999).

Tabell 1. Observerade fenotyper hos möss med enskilda gener utslagna, gener som ingår i insulinrelaterade signalvägar.

Utslagen genprodukt	Observerad fenotyp	Referens
Insulinreceptor	Dör av diabetisk ketoacidosis inom 3-7 dagar	Bruning <i>et al.</i> 1997
IRS-1	Blir insulinresistant	Tamemoto <i>et al.</i> 1994, Araki <i>et al.</i> 1994
IRS-2	Blir insulinresistant och nedsatt $\beta$ -cellsproduktion	Kido <i>et al.</i> 2000, Withers <i>et al.</i> 1998
IRS-3	Normal	Fantin <i>et al.</i> 2000
IRS-4	Normal	Fantin <i>et al.</i> 2000
Akt2/PKB $\beta$	Blir insulinresistant i lever- och muskelceller	Chu <i>et al.</i> 2001
GLUT4	Kammarhypertrofi	Katz <i>et al.</i> 1995
p85-kDa	Hypoglykemi	Fruman <i>et al.</i> 2000

### Defekter tidigt i signaltransduktionen

Desto tidigare signaltransduktionen avbryts, desto fler signalvägar blir drabbade. Graden av insulinresistens blir alltså värre ju tidigare signaltransduktionen avbryts, vilket gör dessa defekter lättare att upptäcka.

#### *Muterad insulinreceptor*

Vissa former av insulinresistans kan bero på defekter hos insulinreceptorn. Defekter som inte slår ut insulinreceptorn helt (som i tabell 1) kan leda till minskad affiniteten mellan insulin och ligand ( $\alpha$ -subenheterna), inaktivt tyrosinkinaset och/eller ett icke-fungerande fosforyleringsstadium. Sjukdomar som är kopplade till en defekt insulinreceptor är; Typ A syndrom, Leprechaunism och Rabson Mendenhall syndrom (O'Rahilly & Moiler 1992). Gemensamt för dessa former av insulinresistans är att de ger väldigt hög insulinresistens och orsakas av mycket ovanliga mutationer i subenheternas gener (Pessin & Saltiel 2000).

#### *Nedsatt funktion av IRS-1 resulterar i nedsättning av cellens insulinkänslighet*

I en studie av Bouzakri *et al.* (2003) observerade man en nedsatt förmåga att ta upp glukos hos cellvävnaden för patienter med diabetes typ 2. Man misstänkte att detta berodde på försämrad funktion hos PI-3-kinaset, som tidigare nämnt är en viktig del av signaltransduktionen som leder till GLUT4-translokation och glukosupptag. Men när man jämförde patienterna med en frisk kontrollgrupp såg man inga skillnader på vare sig funktionell struktur eller nivå av PI-3-kinaserna varken före eller efter insulinstimulering. Då fann man istället en defekt hos IRS-1 som reducerade affiniteten mellan PI3-kinasets reglerande subenhet, p85-kDa, och IRS-1. Detta leder till minskad

fosforylering av PI3-kinaset som slutligen resulterar i att cellens respons på insulin inte blir lika kraftig som normalt. En mutation hos IRS-1-genen som minskar genproduktens affinitet med p85-kDa har associerats med diabetes typ 2, men denna mutation verkar inte påverka IRS-1:s struktur (Hitman *et al.* 1995). Defekten hos IRS-1 som funnits hos patienter med insulinresistens har istället kopplats till dess fosforyleringsaktivitet. Studier på människor och möss visar ökad fosforylering av IRS-1:s serin vid diabetes typ 2 (Morino *et al.* 2005, Dresner *et al.* 1999). Den ökade serin-fosforyleringen minskar tyrosin-fosforyleringen som är essentiell för att aktivera PI3-kinaset, alltså reduceras signalstyrkan i och med att serin-fosforyleringen ökar. Defekter hos IRS-1 är den främsta orsaken till insulinresistens hos cellvävnad som är huvudorsaken till diabetes typ 2 (Abdul-Ghani & DeFronzo 2010).

### **Muterade GLUT4-proteiner**

Eftersom GLUT4 måste binda till många proteiner för att transporteras till cellmembranet så är en naturlig tanke att proteinet är känsligt för mutationer som påverkar dessa integrationer negativt. Men olika experiment utförda av Buse *et al.* (1992) och O'Rahilly *et al.* (1992) visar att polymorfism bland de exoner som kodar för GLUT4-genen inte kan kopplas till varken reducerat glukosupptag eller diabetes typ 2. Man har observerat att GLUT4-generna är väldigt konserverade och mutationer i dessa gener är väldigt ovanliga. Detta är med största sannolikhet en konsekvens av stark selektion mot muterade GLUT4-gener. Den starka selektionen beror antagligen på den essentiella roll som GLUT4 spelar i kroppens vitala glukoshomeostas, vilket gör det väldigt svårt för individer med defekter i GLUT4 att överleva.

Som tidigare nämnt krävs även en ineffektiv insulinproduktion i kombination med någon av dessa defekter för att få diabetes typ 2, om inte insulinresistensen är väldigt hög (DeFronzo *et al.* 1985).

### **Diskussion**

Det senaste decenniet har stora forskningsframsteg gjorts som har ökat vår förståelse för hur GLUT4 transporteras runt i cellen och hur transporten styrs. Några av de viktigaste framstegen involverar identifierandet av GLUT4-vesiklarna (GSVs) (Hashiramoto & James 2000) och substraten AS160s (Kane *et al.* 2002) och TBC1D1s (Roach *et al.* 2007) roller i GLUT4-transporten. Trots dessa upptäckter är fortfarande vissa steg i denna signalväg oklara och kräver ytterligare forskning för att förklaras. En bättre förståelse för de molekylära mekanismerna bakom varje steg i denna, och andra insulinberoende, signalvägar skulle kunna leda till effektivare behandling av patienter med diabetes typ 2.

Det smått ironiska i forskningen kring cellers signaltransduktion är att ju fler proteiner, substrat och signalmolekyler man identifierar, ju mer inser man komplexiteten hos dessa system och hur lite man egentligen vet. Aktivering av substrat och förmedling av cellsignaler beror oftast inte på endast ett enzym/kinas från samma signalväg, signalvägar går ihop med varandra och signalmolekyler kan ansvara för fosforylering av flera substrat. Detta skapar ett problem när man försöker modellera verkligheten genom att rita upp hur molekyler interagerar med varandra i signalsystem. Dessa modeller blir då bara förenklingar av verkligheten eftersom signalsystemen blir för komplexa att beskriva i sin helhet, vilket i sin tur gör det svårare att förstå och hitta viktiga steg i

signaleringen.

Dagens behandling av patienter med diabetes typ 2 går ut på att på olika sätt sänka blodsockernivåerna med hjälp av andra mediciner än insulin (NLM 2011). Diabetes har associerats med övervikt (Nadler och Attie 2001) och forskningsstudier visar att även regelbunden fysisk aktivitet, som ger ökad livskvalitet i allmänhet, också kan hjälpa till att förebygga typ 2 diabetes (Tuomilehto *et al.* 2001, Shiroma & Lee 2010). Om träning verkligen har en förstärkande effekt på insulinsignalen och hjälper kroppen att bibehålla glukoshomeostasen är fortfarande oklart, och ytterligare forskning återstår för att förstå hur träning skulle kunna påverka kroppens glukosupptag positivt. Tanken är dock god eftersom man uppskattar att muskelceller står för cirka 85-90% av kroppens glukosupptag (DeFronzo *et al.* 1985) och stimulering av denna vävnad har därmed potential att öka kroppens totala glukosupptag markant.

## Tack

Ett varmt tack till min handledare Lage Cerenius samt mina medstudenter, Einar Olafsson, Kristina Gawelin och Martin Larsson som gett återkoppling på mina utkast.

## Referenser

- Abdul-Ghani MA, DeFronzo RA. 2010. Pathogenesis of insulin resistance in skeletal muscle. *Journal of Biomedicine and Biotechnology*. Doi:10.1155/2010/476279.
- Abel ED, Kaulbach HC, Tian R, Hopkins JCA, Duffy J, Doetschman T, Minnemann T, Boers ME, Hadro E, Oberste-Berghaus C, *et al.* 1999. Cardiac hypertrophy with preserved contractile function after selective deletion of GLUT4 from the heart. *Journal of Clinical Investigation*. **104**: 1703-1714.
- Araki E, Lipes MA, Patti ME, Bruning JC, Haag B, Johnson RS, Kahn CR. 1994. Alternative pathway of insulin signaling in mice with targeted disruption of the IRS-1 gene. *Nature*. **372**:186–190.
- Arkhammar P, Nilsson T, Rorsman P, Berggren PO. 1987. Inhibition of ATP-regulated K<sup>+</sup> channels precedes depolarization-induced increase in cytoplasmic free Ca<sup>2+</sup> concentration in pancreatic  $\beta$ -Cells. *Journal of Biological Chemistry*. **262**: 5448-5454.
- Bajaj M, DeFronzo RA. 2003. Metabolic and molecular basis of insulin resistance. *Journal of Nuclear Cardiology*. **10**: 311-323.
- Balendran A, Casamayor A, Deak M, Paterson A, Gaffney P, Currie R, Downes CP, Alessi RD. 1999. PDK1 acquires PDK2 activity in the presence of a synthetic peptide derived from the carboxyl terminus of PRK2. *Current Biology*. **9**: 393-404.
- Bouzakri K, Roques M, Gual P, Espinosa S, Guebre-Egziabher F, Riou JP, Laville M, Marchand-Brustel YL, Tanti JF, Vidal H. 2003. Reduced activation of phosphatidylinositol-3 kinase and increased serine 636 phosphorylation of insulin receptor substrate-1 in primary culture of skeletal muscle cells from patients with type 2 diabetes. *American Diabetes Association*. **52**: 1319-1325.

- Buse JB, Yasuda K, Lay TP, Seo TS, Olson AL, Pessin JE, Karam JH, Seino S, Bell GI. 1992. Human GLUT4/muscle-fat glucose-transporter gene. Characterization and genetic variation. *American Diabetes Association*. **41**: 1436-1445.
- Bruning JC, Winnay J, Bonnier-Weir S, Taylor SI, Accili D, Kahn CR. 1997. Development of a novel polygenic model of NIDDM in mice heterozygous for IR and IRS-1 null alleles. *Cell* **88**: 561–572.
- Bryant NJ, Govers R, James DE. 2002. Regulated transport of the glucose transporter GLUT4. *Nature Reviews, Molecular Cell Biology*. **3**: 267-277.
- Chang L, Chiang SH, Saltiel AR. 2005. Insulin signaling and the regulation of glucose transport. *Molecular Medicine*. **10**: 65-71.
- Cheatham B, Volchuk A, Kahn CR, Wang L, Rhodes CL, Klip A. 1996. Insulin stimulated translocation of GLUT4 glucose transporters requires SNARE complex proteins. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. **93**: 15169-15173.
- Cho H, Mu J, Kim JK, Thorvaldsen JL, Chu Q, Crenshaw EB, Kaestner KH, Bartolomei MS, Shulman GI, Birnbaum MJ. 2001. Insulin resistance and a diabetes mellitus-like syndrome in mice lacking the protein kinase Akt2 (PKB $\beta$ ). *Science*. **292**: 1728-1731.
- Cline GW, Petersen KF, Krssak M, Shen J, Hundal RS, Trajanoski Z, Inzucchi S, Dresner A, Rothman DL, Shulman GI. 1999. Impaired glucose transport as a cause of decreased insulin-stimulated muscle glycogen synthesis in type 2 diabetes. *New England Journal of Medicine*. **341**: 240-246.
- Craig TJ, Ashcroft FM och Proks P. 2008. How ATP Inhibits the open K<sub>ATP</sub> channel. *Journal of General Physiology*. **132**: 131–144.
- Das A, Guo W. 2011. Rabs and the exocyst in ciliogenesis, tubulogenesis and beyond. *Trends in Cell Biology*. **21**: 383-386.
- DeFronzo RA, Gunnarsson R, Bjorkman O, Olsson M, Wahren J. 1985. Effects of insulin on peripheral and splanchnic glucose metabolism in non-insulin dependent diabetes mellitus. *Journal of Clinical investigation*. **76**: 149-155.
- Dunn FM, 2005. Zinc–ligand interactions modulate assembly and stability of the insulin hexamer – a review. *Biometals*. **18**: 295-303.
- Dresner A, Laurent D, Marcucci M, Griffin ME, Dufour S, Cline GW, Slezak LA, Andersen DK, Hundal RS, Rothman DL, *et al.* 1999. Effects of free fatty acids on glucose transport and IRS-1-associated phosphatidylinositol 3-kinase activity. *Journal of Clinical Investigation*. **103**: 253–259.
- Druwe IL, Vaillancourt RR. 2010. Influence of arsenate and arsenite on signal transduction pathways: an update. *Archives of Toxicology*. **84**: 585-596.
- Fantin VR, Wang Q, Lienhard GE, Keller SR. 2000. Mice lacking insulin receptor substrate 4 exhibit mild defects in growth, reproduction, and glucose homeostasis. *American Journal of Physiology: Endocrinology and Metabolism*. **278**: 127–133.
- Fruman DA, Mauvais-Jarvis F, Pollard DA, Brazil D, Bronson RT, Kahn CR, Cantley LC. 2000. Hypoglycaemia, liver necrosis and perinatal death in mice lacking all isoforms

- of phosphoinositide 3-kinase p85 $\alpha$ . *Nature Genetics*. **26**: 379-382.
- Gonzalez E, McGraw TE. 2006. Insulin signaling diverges into Akt-dependent and-independent signals to regulate the recruitment/docking and the fusion of GLUT4 vesicles to the plasma membrane. *Molecular Biology of the Cell*. **17**: 4484-4493.
- Garofalo RS, Orena SJ, Rafidi K, Torchia AJ, Stock JL, Hildebrandt AL, Coskran T, Black SC, Brees DJ, Wicks JR, *et al.* 2003. Severe diabetes, age-dependent loss of adipose tissue, and mild growth deficiency in mice lacking Akt2/PKB beta. *Journal of Clinical Investigation*. **112**: 197-208.
- Hanada M, Feng J, Hemmings BA. 2004. Structure, regulation and function of PKB/AKT-- a major therapeutic target. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Proteins & Proteomics*. **1697**: 3-16
- Hashiramoto M, James DE. 2000. Characterization of insulin-responsive GLUT4 storage vesicles isolated from 3T3-L1 adipocytes. *American Society for Microbiology*. **20**: 416-427.
- Hitman GA, Hawrami K, McCarthy MI, Viswanathan M, Snehathatha C, Ramachandran A, Tuomilehto J, Tuomelehto-Wolf E, Nissinen A, Pedersen O. 1995. Insulin receptor substrate-1 gene mutations in NIDDM; implications for the study of polygenic disease. *Diabetologia*. **38**: 481-486.
- Ho K. 2011. A critically swift response: Insulin-stimulated potassium and glucose transport in skeletal muscle. *Clinical Journal of the American Society of Nephrology*. **6**: 1513-1516.
- Hong W. 2005. SNAREs and traffic. *Biochimica et Biophysica Acta - Molecular Cell Research*. **1744**: 120-144.
- Huang C, Thirone ACP, Huang X, Klip A. 2005. Differential Contribution of insulin receptor substrates 1 versus 2 to insulin signaling and glucose uptake in L6 myotubes. *Journal of Biological Chemistry*. **280**: 19426-19435.
- Huang J, Imamura T, Olefsky JM. 2001. Insulin can regulate GLUT4 internalization by signaling to Rab5 and the motor protein dynein. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. **98**: 13084- 13089
- Inoue M, Chang L, Hwang J, Chiang SH, Saltiel AR. 2003. The exocyst complex is required for targeting of Glut4 to the plasma membrane by insulin. *Nature*. **422**: 629-633.
- Jiang ZY, Zhou QL, Coleman KA, Chouinard M, Boese Q, Czech M. P. 2003. Insulin signaling through Akt/protein kinase B analyzed by small interfering RNA-mediated gene silencing. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. **100**: 7569-7574.
- Joost HG, Thorens B. 2001. The extended GLUT-family of sugar/polyol transport facilitators: nomenclature, sequence characteristics, and potential function of its novel members (review). *Molecular Membrane Biology*. **18**: 247-256.
- Kane S, Sano H, Liu SCH, Asara JM, Lane WS, Garner CC, Lienhard GE. 2002. A method to identify serine kinase substrates. *Journal of Biological Chemistry*. **277**: 22115-22118.



- Karlsson HKR, Zierath JR. 2007. Insulin signaling and glucose transport in insulin resistant human skeletal muscle. *Cell Biochemistry and Biophysics*. **48**:103-113.
- Katome T, Obata T, Matsushima R, Cantle LC, Gotoh Y, Kishi K, Masuyamahiota HSN, Ebina Y. 2003. Use of RNA interference-mediated gene silencing and adenoviral overexpression to elucidate the roles of Akt/protein kinase B isoforms in insulin actions. *Journal of Biological Chemistry*. **278**: 28312-28323.
- Katz EB, Stenbit AE, Hatton, K, DePinho R, Charron, MJ. 1995. Cardiac and adipose tissue abnormalities but not diabetes in mice deficient in GLUT4. *Nature*. **377**: 151–155.
- Kawanishi M, Tamori Y, Okazawa H, Araki S, Shinoda H, Kasuga M. 2000. Role of SNAP23 in insulin-induced translocation of GLUT4 in 3T3-L1 adipocytes, mediation of complex formation between syntaxin4 and VAMP2. *Journal of Biological Chemistry*. **11**: 8240-8247.
- Kido Y, Burks DJ, Withers D, Bruning JC, Kahn CR, White MF, Accili D. 2000. Tissue-specific insulin resistance in mice with mutations in the insulin receptor, IRS-1 and IRS-2. *Journal of Clinical Investigation*. **105**: 199-205
- Lee YH, White MF. 2004. Insulin receptor substrate proteins and diabetes. *Archives of Pharmacal Research*. **27**: 361-370.
- Martin LB, Shewan A, Millar CA, Gould GW, James DE. 1998. Vesicle-associated membrane protein 2 plays a specific role in the insulin-dependent trafficking of the facilitative glucose transporter GLUT4 in 3T3-L1 adipocytes. *Journal of Biological Chemistry*. **273**:1444-1452.
- Melia TJ, Weber T, McNew JA, Fisher LE, Johnston RJ, Parlati F, Mahal LK, Söllner TH, Rothman JE. 2002. Regulation of membrane fusion by the membrane-proximal coil of the t-SNARE during zippering of SNAREpin. *Journal of Cell Biology*. **158**: 929-940.
- Miinea PC, Sano H, Kane S, Sano E, Fukuda M, Peranen J, Lane WS, Lienhard GE. 2005. AS160, the Akt substrate regulating GLUT4 translocation, has a functional Rab GTPase-activating protein domain. *Biochemical Journal*. **391**: 87-93.
- Morino K, Petersen KF, Dufour S, Befroy D, Frattini J, Shatzeks N, Neschen S, White MF, Bilz S, Sono S, *et al.* 2005. Reduced mitochondrial density and increased IRS-1 serine phosphorylation in muscle of insulin-resistant offspring of type 2 diabetic parents. *Journal of Clinical Investigation*. **115**: 3587–3593.
- Nadler ST, Attie A. D. 2001. Please pass the chips: Genomic insights into obesity and diabetes. *Journal of Nutrition*. **131**: 2078-2081.
- Najjar S. 2003. Insulin action: Molecular basis of diabetes. *Encyclopedia of Life Sciences*. Doi: 10.1038/npg.els.0001402.
- National Diabetes Information Clearinghouse. 2011. Diagnosis of diabetes. WWW-dokument 2011-12-05: <http://diabetes.niddk.nih.gov/dm/pubs/diagnosis/>. Hämtad 2012-02-09.
- National Library of Medicine. 2011. Type 2 Diabetes. WWW-dokument 2011-06-28: <http://www.nlm.nih.gov/medlineplus/ency/article/000313.htm>. Hämtad 2012-02-27.
- Olson AL, Trumbly RA, Gibson VG. 2001. Insulin-mediated GLUT4 translocation is dependent on the microtubule network. *Journal of Biological Chemistry*. **276**: 10706-

10714.

- O'Rahilly S, Krook A, Morgan R, Rees A, Flier JS, Moiler DE. 1992. Insulin receptor and insulin-responsive glucose transporter (GLUT 4) mutations and polymorphisms in a Welsh Type 2 (non-insulin-dependent) diabetic population. *Diabetologia*. **35**: 486-489.
- O'Rahilly S, Moiler DE. 1992. Mutant insulin receptors in syndromes of insulin resistance. *Clinical Endocrinology*. **36**: 121-132.
- Patti ME, Kahn CR. 1998. The insulin receptor – A critical link in glucose homeostasis and insulin action. *Journal of Basic & Clinical Physiology & Pharmacology*. **9**: 89-110.
- Pessin JE, Saltiel AR. 2000. Signaling pathways in insulin action: molecular targets of insulin resistance. *Journal of Clinical Investigation*. **106**: 165-169.
- Pessin JE, Thurmond DC., Elmendorf JS., Coker KJ, Okada S. 1999. Molecular basis of insulin-stimulated GLUT4 vesicle trafficking. Location! Location! Location! *Journal of Biological Chemistry*. **274**: 2593–2596.
- Pons S, Asano T, Glasheen EM, Miralpeix M, Zhang Y, Fisher TL, Myers MG Jr, Sun XJ, White MF. 1995. The structure and function of p55PIK reveals a new regulatory subunit for the phosphatidylinositol-3 kinase. *Molecular Cell Biology*. **15**: 4453-4465.
- Reinecke M, Collet C. 1998. The phylogeny of the insulin-like growth factors. *International Review of Cytology*. **183**: 1-94.
- Roach WG, Chavez JA, Miinea CP, Lienhard GE. 2007. Substrate specificity and effect on GLUT4 translocation of the Rab GTPase-activating protein Tbc1d1. *Biochemical Journal*. **403**: 353-358.
- Rowland AF, Fazakerley DJ, James D. E. 2011. Mapping insulin/GLUT4 circuitry. *Traffic*. **12**: 672–681
- Sakamoto K, Holman GD. 2008. Emerging role for AS160/TBC1D4 and TBC1D1 in the regulation of GLUT4 traffic. *American Journal of Physiology*. **295**: 29-37.
- Sano H, Roach WG, Peck GR, Fukuda M, Lienhard GE. 2008. Rab10 in insulin-stimulated GLUT4 translocation. *Biochemical Journal*. **411**: 89-95.
- Sarbassov DD, Guertin DA, Ali SM, Sabatini DM. 2005. Phosphorylation and regulation of Akt/PKB by the rictor-mTOR complex. *Science*. **307**: 1098-1101.
- Shehata MF. 2009. Role of the IRS-1 and/or -2 in the pathogenesis of insulin resistance in Dahl salt-sensitive (S) rats. *Heart International*. Doi: 10.4081/hi.2009.e6.
- Shiroma JE, Lee I. 2010. Exercise in cardiovascular disease. *American Heart Association*. **122**: 743-752.
- Tamemoto H, Kadowaki T, Tobe K, Yagi T, Sakura H, Hayakawa T, Terauchi Y, Ueki K, Kaburagi Y, Satoh S, *et al.* 1994. Insulin resistance and growth retardation in mice lacking insulin receptor substrate-1. *Nature*. **372**: 182–186.
- Tanti JT, Jager J. 2009. Cellular mechanisms of insulin resistance: role of stress-regulated serine kinases and insulin receptor substrates (IRS) serine phosphorylation. *Current Opinion in Pharmacology*. **9**: 753-762.

- Toker A, Newton CA. 2000. Akt/Protein Kinase B is regulated by autophosphorylation at the hypothetical PDK-2 site. *Journal of Biological Chemistry*. **275**: 8271-8274.
- Tuomilehto J, Lindström J, Eriksson GJ, Valle TT, Hämäläinen V, Ilanne-Parikka P, Keinänen-Kiukaanniemi S, Laakso M, Louheranta A, Rastas M, *et al.* 2001. Prevention of type 2 diabetes mellitus by changes in lifestyle among subjects with impaired glucose tolerance. *New England Journal of Medicine*. **344**:1343-1350
- Volchuk A, Wang Q, Ewart HS, Liu Z, He L, Bennett MK, Klip A. 1996. Syntaxin 4 in 3T3-L1 adipocytes: regulation by insulin and participation in insulin-dependent glucose transport. *Molecular Biology of the Cell*. **7**: 1075-1082.
- Watson T, Pessin JE. 2001. Intracellular organization of insulin signaling and GLUT4 translocation. *Recent Progress in Hormone Research*. **56**: 175-194.
- White MF. 1998. The IRS-signalling system: A network of docking proteins that mediate insulin action. *Molecular and Cellular Biochemistry*. **182**: 3-11.
- Withers DJ, Gutierrez JS, Towery H, Burks DJ, Ren JM, Previs S, Zhang Y, Bernal D, Pons S, Shulman GI, *et al.* 1998. Disruption of IRS-2 causes type 2 diabetes in mice. *Nature*. **391**: 900–904.
- Wu J, Tseng YD, Xu CF, Neubert TN, White TF, Hubbard SR. 2008. Structural and biochemical characterization of the KRLB region in insulin receptor substrate-2. *Nature Structural & Molecular Biology*. **15**: 251 – 258.
- World Health Organization. 2011. Diabetes. WWW-dokument 2011-08-01: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs312/en/>. Hämtad 2012-02-09.
- Zick Y. 2003. Role of ser/thr kinases in the uncoupling of insulin signaling. *International Journal of Obesity*. **27**: 56-60.