

RESISTENS MOT INSULIN I SKELETTMUSKEL PÅ MOLEKYLÄR NIVÅ

Skelettmuskeln är det primära målorganet för det insulinberoende glukosupptaget, som är markant nedsatt vid typ 2-diabetes. Varför det är så kan förklaras av både arv och miljö och möjligen också av epigenetiska faktorer.



JULEEN R ZIERATH, PhD, professor, institutionen för molekylär medicin och kirurgi
ANNA KROOK, PhD, professor, institutionen för fysiologi och

farmakologi, Gruppen för integrativ fysiologi
anna.krook@ki.se
båda Karolinska institutet, Stockholm

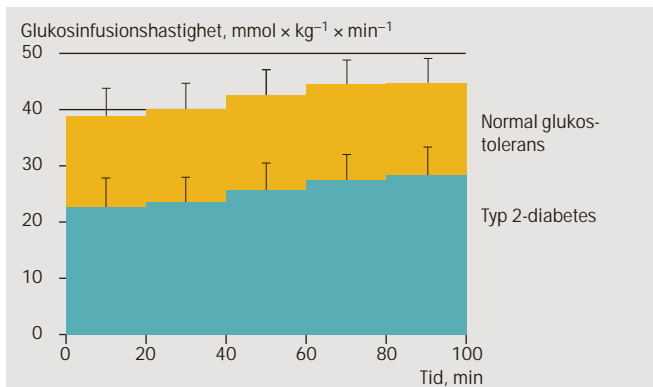
Typ 2-diabetes är en sjukdom som drabbar hela kroppen, och uppkomsten orsakas av att samspelet mellan flera organ rubbats. Detta illustreras av de olika artiklarna i detta temanummer om diabetes typ 2. Klart står att både arv och miljö spelar betydande roller när det gäller såväl utveckling som progress av denna metabola sjukdom. Diagnostiskt för diabetes mellitus är förhöjda blodglukosvärden. Skelettmuskeln är det primära målorganet för insulinberoende glukosupptag, då ca 80 procent av glukosen tas upp av skelettmuskeln som svar på insulin. Skelettmuskeln utgör ungefär halva kroppsvikten, vilket innebär att förändringar i skelettmuskels metabolism påverkar homeostasen i hela kroppen.

Hos personer med typ 2-diabetes är det insulinstimulerade glukosupptaget markant nedsatt. Detta är ett typiskt fynd såväl vid manifest typ 2-diabetes som vid nedsatt glukostolerans och kan även påvisas hos friska personer som har en förstgradssläkting med typ 2-diabetes. Hur detta manifesteras på molekylär nivå sammanfattas i denna artikel.

Varför muskeln inte svarar på insulin

De molekyler i skelettmuskelcellen som förmedlar insulinets signal till ökat glukosupptag har studerats intensivt under de senaste 20 åren. Glukosmolekylen kan inte diffundera in i cellen utan är beroende av en familj av transportproteiner för att kunna tränga igenom plasmamembranet. Således uttrycker alla celler i kroppen glukostransportörer som har till uppgift att möjliggöra för glukos att komma in i cellen.

Muskel och fettväv uttrycker en speciell glukostransportör, GLUT4, som i basalt tillstånd återfinns inuti själva cellen.



Figur 1. Glukosinfusion under insulinklamp hos friska med normal glukostolerans och hos typ 2-diabetiker. Källa: Krook et al [2].

Som svar på en insulinsignal förflyttas transportören till plasmamembranet, där den sedan gör det möjligt för glukos att passera cellmembranet och komma in i cellen. Detta fungerar dock inte som det ska i muskelceller vid typ 2-diabetes, vilket kan noteras under t ex en euglykemisk-hyperinsulinemisk klamp [1].

Figur 1 visar typiska resultat av glukosinfusion under insulinklamp med en ca 40-procentig nedsättning av glukosupptaget hos personer med typ 2-diabetes. Detta beror till största delen på ett nedsatt svar på skelettmuskeln.

Hur insulin ökar glukosupptaget i muskelcellerna

Insulin frisätts från bukspottkörtelns betaceller som svar på förhöjt blodglukos. Insulinet binds sedan till en specifik receptor på skelettmuskels cellmembran. Detta leder till en förändring i insulinreceptorers struktur på insidan av cellmembranet och till aktivering av receptorernas tyrosinkinaktivitet, vilket i sin tur leder till tyrosinfosforylering av såväl insulinreceptorn själv som andra substrat.

Ett av de viktigaste substraten är IRS1 (insulinreceptorsubstrat 1) som, när det tyrosinfosforylerats, initierar en signaleringskaskad som i slutändan leder till att vesiklar som innehåller GLUT4-glukostransportörer sänds ut till cellmembranet. Figur 2 visar insulin signaleringen schematiskt. Som nämnts förmedlas inte insulin signalen på ett adekvat sätt i muskel från typ 2-diabetiker. Detta beror för det mesta inte på avsaknad av vare sig insulinreceptorer eller GLUT4-transportörer. I stället är det själva signalen från insulinreceptorn som inte förstärks tillräckligt kraftfullt inne i cellen.

Mer specifikt har man kunnat påvisa att just insulinreceptorernas förmåga att tyrosinfosforylera IRS1 är nedsatt i diabetesmuskel, vilket sedan resulterar i att alla signaler som följer efter detta är dämpade [2]. Således har man kunnat visa att insulinstimulerad aktivering av fosfatidylinositolkinas (PI3-K)

■ sammanfattat

Skelettmuskeln är det primära målorganet för insulinberoende glukosupptag.

Cirka 80 procent av det insulinstimulerade glukosupptaget sker i skelettmuskeln.

Man har kunnat påvisa specifika defekter i den intracellulära signalöverföringen från

insulinreceptorn till de molekyler som svarar för ökat glukosupptag i skelettmuskeln vid typ 2-diabetes.

Den här artikeln sammanfattar hur vi i dagsläget förstår de molekylära orsakerna till insulinresistens i skelettmuskeln vid typ 2-diabetes.

är nedreglerad i muskel från personer med typ 2-diabetes [2]. Även fosforyleringen av viktiga signalmolekyler, som AKT (även kallat PKB) och AS160, är reducerad i diabetesmuskel [3]. Eftersom AKT/PKB reglerar ett flertal olika metabola processer medför nedsatt aktivering en förändring i glykogeninlagringen och proteinuppbyggnaden.

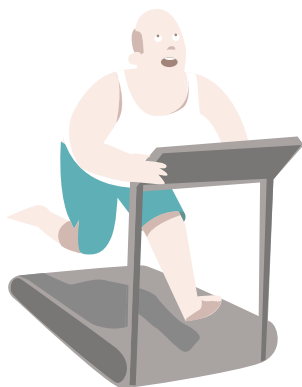
Den molekylära bakgrunden till att insulinreceptorn inte kan tyrosinfosforylera IRS-molekylen i muskel från typ 2-diabetiker på ett adekvat sätt är inte helt klarlagt. Dock har man kunnat visa att om IRS är kraftigt fosforylerat på serinrester så blockerar detta möjligheten för insulinreceptorn att »komma åt« tyrosinresterna [4]. Det finns ett flertal olika kinaser beskrivna som fosforylerar IRS på specifika serinrester, bl a proteinkinase C (PKC), som aktiveras av lipider, och IKKB, som aktiveras av inflammatoriska signaler och PKC [4]. Det är troligt att flera olika faktorer kan vara av betydelse för den ökade serinfosforyleringen av IRS och att detta också kan skilja sig mellan olika grupper av typ 2-diabetiker. Förutom ökad aktivering av serinkinaser påverkas förmedlingen av intracellulära signaler av aktiviteten hos fosfataser, dvs de enzymer som avlägsnar fosfatgruppen från serin- och tyrosinresterna. Hur fosfataserna är reglerade hos personer med typ 2-diabetes är dock mindre väl studerat.

För att förutsättningslöst analysera förändringar i genuttryck vid typ 2-diabetes utförde vi en mikroarrayanalys, och bland de gener som var nedreglerade i muskel från typ 2-diabetiker identifierade vi diacylglycerolkinas (DGK) δ . Diacylglycerolkinaser är enzymer som reglerar fettmetabolismen i celler. Specifikt kontrollerar de balansen mellan två signalmolekyler i cellen och katalyserar nedbrytning av diacylglycerol, som är en PKC-aktiverande metabolit. Som resultat av denna process bildas inositoltrifosfat, en metabolit som är viktig för vesikelflyttningar. Reducerad DGK δ -aktivitet ökar PKC-aktiviteten och försämrar det insulinstimulerade glukosupptaget i muskel. Typ 2-diabetiker med högt fastebloodsocker hade den lägsta nivån av DGK δ i muskel [5]. Detta kan tyda på att reducerade DGK δ -nivåer hos de flesta diabetiker är en följd av förhöjda glukosvärden, som i sin tur bidrar till att ytterligare försämma insulinkänsligheten.

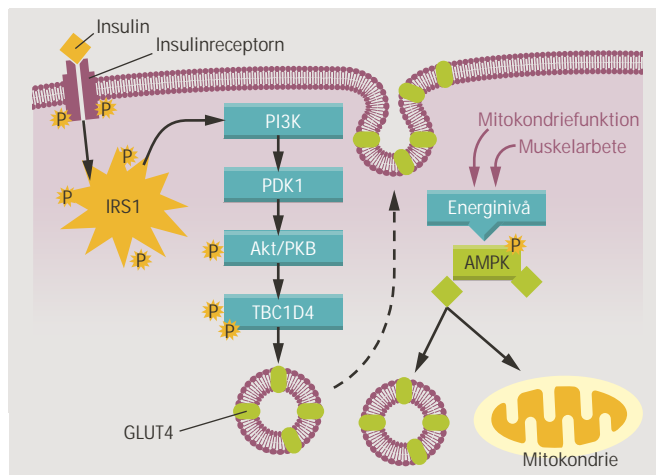
Intressant i detta avseende var att behandling av den förhöjda blodsockernivån normaliserade nivån av DGK δ i muskeln [5]. Även fysisk aktivitet ökade mängden DGK δ i muskel [6], vilket visar hur olika miljöfaktorer direkt kan påverka insulinsignalering i muskel.

Hur muskelns insulinkänslighet påverkas

Hur väl muskeln reagerar på insulin påverkas av flera faktorer. Exempelvis reducerar infusion av en fettemulsion snabbt insulinkänsligheten in vivo. Ett flertal olika cirkulerande faktorer, många med ursprung i fettväv, har också förknippats med ändrad insulinkänslighet. Leptin och adiponektin, liksom olika inflammatoriska markörer, är exempel på sådana faktorer. Muskelkontrak-



»Muskelarbete har en omedelbar effekt genom att på ett insulinberoende sätt öka glukosupptaget i muskeln.«



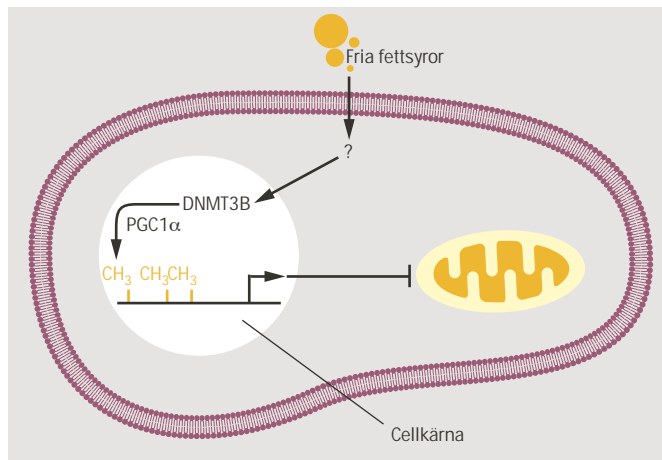
Figur 2. Insulinreceptorn aktiveras till följd av att insulin binder till receptorn, vilket i sin tur leder till aktivering av en intracellulär signaleringskaskad [17]. Fosforyleringar visas schematiskt med ett P. Signalen resulterar i att glukotransportören GLUT4, som i avsaknad av insulin återfinns i vesiklar inne i celler, transporteras upp till cellmembranet, där den kan möjliggöra för glukos att transporteras in genom cellmembranet. Utöver insulin kan muskelarbete resultera i GLUT4-förflyttning till membranet, bl a genom att aktivera AMP-aktiverat proteinkinase (AMPK), som reagerar på låga energinivåer i cellen. Mitokondrier är de organeller som genererar ATP från olika substrat genom oxidativ fosforylering i andningskedjan. Nedsatt mitokondriefunktion har förknippats med typ 2-diabetes, men den direkta kopplingen till hur detta påverkar insulinkänsligheten är inte helt klarlagt.

tion och fysisk aktivitet har en väldokumenterad positiv effekt på insulinkänsligheten.

Muskelarbete har en omedelbar effekt genom att på ett insulinberoende sätt öka glukosupptaget i muskeln. Det beror på att muskelkontraktionen i sig leder till att GLUT4 translokeras till cellmembranet, men hur muskelarbete resulterar i GLUT4-translokation är inte helt klarlagt. Muskelfiberkontraktion resulterar i flera olika förändringar i cellen, t ex aktivering av sträckkänsliga receptorer, förändringar i intracellulärt pH, ökad frisättning av Ca^{2+} och andra metaboliter samt en förändring av ATP/AMP-kvoten [7].

Frisättning av Ca^{2+} leder till aktivering av många olika signalkedjor, vilka i sin tur kan påverka metabolismen och insulinkänsligheten i muskeln. Känt är att AMP-aktiverat proteinkinase (AMPK) är en viktig signalmolekyl, vars aktivering kan leda till att GLUT4 translokeras till cellmembranet [8]. AMPK aktiveras då mängden ATP faller i relation till AMP. När muskeln utför arbete förbrukas ATP, vilket får till följd att ATP-nivåerna faller, AMP-nivåerna ökar och AMPK aktiveras. AMPK kan även aktiveras av andra omständigheter när ATP-nivåerna i cellen faller, t ex vid reducerat näringsintag eller stressituationer i cellen. När AMPK är aktivt ökar således glukosupptaget på ett insulinberoende sätt. Samtidigt ökar förbränningen av fettsyror för att på så sätt återställa energibalansen i cellen. Aktivering av AMPK utgör således ett potentiellt mål för att öka glukosupptaget i muskel genom att kringgå en nedreglerad insulinsignalering.

Fysisk aktivitet under längre tid (regelbunden träning) resulterar i, förutom mer eller mindre omedelbar aktivering av AMPK, ett förändrat genuttryck i den tränade muskeln, som sammantaget resulterar i en mer insulinkänslig muskel. Bland annat ökar mängden av GLUT4-protein i muskel som svar på träning [9], men även mitokondriernas antal och funk-



Figur 3. Olika faktorer, tex höga nivåer av fria fettsyror, kan direkt påverka metyleringsstatus i muskelcellens DNA. Effekten av fria fettsyror är beroende av det metyltransfererande enzymet DNMT3B, som kan vara en möjlig målmolekyl i framtida behandlingsstrategier [14].

tion påverkas i positiv riktning. Eftersom många olika signaleringskedjor aktiveras (eller tystas) av muskelkontraktion och aktiveringsgraden är beroende av muskelarbetets form, intensitet och varaktighet kvarstår mycket forskning för att förstå exakt hur de positiva metabola effekterna av motion förmedlas på molekylär nivå [10].

Metabol inflexibilitet i mitokondrierna

Mitokondrien är den intracellulära organell där olika energisubstrat bryts ned för att generera ATP. Mitokondrierna växlar mellan att använda olika energisubstrat, dvs mellan glukos, aminosyror och fettsyror. Under insulinstimulerade förhållanden är glukos det primära substratet. Däremellan använder mitokondrierna framför allt fettsyror för att generera ATP. Denna förmåga att växla mellan olika substrat har kallats för metabol flexibilitet [11]. Vid typ 2-diabetes är denna förmåga nedsatt, och inom forskningen fokuserar man nu på att förstå de underliggande orsakerna till denna metabola inflexibilitet.

Ett flertal studier har visat att mitokondriernas antal och storlek är reducerade i muskel vid såväl fetma som typ 2-diabetes. Uttrycket av ett antal gener kopplade just till mitokondriernas tillväxt och funktion har också visats vara nedsatt hos typ 2-diabetiker [12, 13]. En nyckelgen i detta avseende är den som uttrycker proteinet peroxisome proliferator-aktivator-receptor γ coactivator-1 α (PGC1 α). PGC1 α interagerar med olika transkriptionsfaktorer och påverkar olika genregleringsprocesser som är viktiga för styrning av såväl mitokondriernas funktion som deras antal. Vi har nyligen visat att PGC1 α -genens promotor (dvs den delen av DNA där reglering av uttryck sker) är metylerad i högre grad i muskel från personer med typ 2-diabetes [14].

Fettsyror och metyleringsgrad

Metylgrupper kan länkas till olika proteiner och även direkt till cytosinrester på DNA – en form av epigenetisk modifiering. Ofta påverkar metylering av DNA dess tillgänglighet för olika proteiner, tex transkriptionsfaktorer, och kan på så vis reglera vilka DNA-sekvenser som är aktiva och vilka gener som uttrycks.

Genom att analysera metyleringsgraden i promotor-DNA från muskel från typ 2-diabetiker och jämföra med friska

»Dessa fynd visar att förmågan att svara på fysisk aktivitet och den mitokondriella plasticiteten är bevarad även i insulinresistent skelettmuskel.«

kontroller fann vi en signifikant skillnad i metyleringsgrad i fråga om ca 800 olika gener [14]. En av dessa gener var PGC1 α . Förändrad metylering av PGC1 α -promotorn har även noterats i betaceller från typ 2-diabetiker [15]. Vi fann att graden av metylering av PGC1 α -promotorn korrelerade med hur mycket PGC1 α som uttrycktes i muskeln på så sätt att personer med hög metyleringsgrad i PGC1 α -promotorn uppvisade lägre uttryck av PGC1 α -genen [14].

Således kan den ökade metyleringsgraden i PGC1 α -genen vara en starkt bidragande orsak till att typ 2-diabetiker har ett lägre uttryck av just PGC1 α i muskel. Intressant att notera är att i muskelceller odlade in vitro ökade metyleringsgraden i PGC1 α -promotorn som direkt svar på exponering för fettsyror i mediet, vilket visar att miljön runt muskeln påverkar metyleringsgraden. Fettsyrainducerad metylering av PGC1 α -promotorn var beroende av ett specifikt metyltransfererande enzym, DNMT3B, så att celler där DNMT3B saknades var skyddade från effekterna av fettsyror på metyleringsgrad och uttryck av PGC1 α (Figur 3).

Hur och om fettsyror är den faktor som reglerar PGC1 α -promotorns metyleringsgrad in vivo är ännu inte klarlagt. Det är dock känt sedan tidigare att livsstilsförändringar med vikt-nedgång och ökad fysisk aktivitet hos överviktiga är förknippat med att mitokondrierna ökar i såväl antal som storlek [16]. Dessa fynd visar att förmågan att svara på fysisk aktivitet och den mitokondriella plasticiteten är bevarad även i insulinresistent skelettmuskel. Ökningen av mitokondriernas storlek och antal var också förknippad med förbättringar i insulin-känsligheten [16]. Farmaka som påverkar cellers metyleringspotential används i dagsläget vid ett begränsat antal tumorsjukdomar, men resultaten ovan öppnar för att även metabola sjukdomar kan komma att behandlas på liknande sätt.

Arv, miljö och epigenetik

Framtida forskning kommer att avslöja i vilken grad epigenetiska förändringar bidrar till samspelet mellan arv och miljö med avseende på utveckling av typ 2-diabetes. Om – och i så fall hur – omgivningsfaktorer som diet och fysisk aktivitet påverkar olika geners metyleringsstatus och i förlängningen genernas funktion är också angeläget att förstå liksom hur denna kunskap kan användas för att behandla och förebygga metabola sjukdomar.

■ *Potentiella bindningar eller jävsförhållanden: Inga uppgivna.*

REFERENSER

1. DeFronzo RA, Gunnarsson R, Björkman O, Olsson M, Wahren J. Effects of insulin on peripheral and splanchnic glucose metabolism in noninsulin-dependent (type II) diabetes mellitus. *J Clin Invest.* 1985;76:149-55.
2. Krook A, Björnholm M, Galuska D, Jiang XJ, Fahlman R, Myers MG, et al. Characterization of signal transduction and glucose transport in skeletal muscle from type 2 diabetic patients. *Diabetes.* 2000;49:284-92.
3. Karlsson HKR, Zierath JR, Kane S, Krook A, Lienhard GE, Wallberg-Henriksson H. Insulin-stimulated phosphorylation of the Akt substrate AS160 is impaired in skeletal muscle of type 2 diabetic subjects. *Diabetes.* 2005;54:1692-7.
4. White MF. Regulating insulin signaling and beta-cell function through IRS proteins. *Can J Physiol*

- Pharmacol. 2006;84:725-37.
- Chibalin AV, Leng Y, Vieira E, Krook A, Björnholm M, Long YC, et al. Downregulation of diacylglycerol kinase delta contributes to hyperglycemia-induced insulin resistance. *Cell*. 2008;132:375-86.
 - Fritz T, Krämer DK, Karlsson HKR, Galuska D, Engfeldt P, Zierath JR, et al. Low-intensity exercise increases skeletal muscle protein expression of PPARdelta and UCP3 in type 2 diabetic patients. *Diabetes Metab Res Rev*. 2006;22:492-8.
 - Hawley JA, Hargreaves M, Zierath JR. Signaling mechanisms in skeletal muscle: role in substrate selection and muscle adaptation. *Essays Biochem*. 2006;42:1-12.
 - Long YC, Zierath JR. AMP-activated protein kinase signaling in metabolic regulation. *J Clin Invest*. 2006;116:1776-83.
 - O'Gorman D, Karlsson H, McQuaid S, Yousif O, Rahman Y, Gasparro D, et al. Exercise training increases insulin-stimulated glucose disposal and GLUT4 (SLC2A4) protein content in patients with type 2 diabetes. *Diabetologia*. 2006;49:2983-92.
 - Sakamoto K, Goodyear LJ. Exercise effects on muscle insulin signaling and action: invited review: intracellular signaling in contracting skeletal muscle. *J Appl Physiol*. 2002;93:369-83.
 - Kelley DE. Skeletal muscle fat oxidation: timing and flexibility are everything. *J Clin Invest*. 2005;115:1699-702.
 - Mootha VK, Lindgren CM, Eriksson KF, Subramanian A, Sihag S, et al. PGC-1 α -responsive genes involved in oxidative phosphorylation are coordinately downregulated in human diabetes. *Nat Genet*. 2003;34:267-73.
 - Patti ME, Butte AJ, Crunkhorn S, Cusi K, Berria R, Kashyap S, et al. Coordinated reduction of genes of oxidative metabolism in humans with insulin resistance and diabetes: Potential role of PGC1 and NRF1. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2003;100:8466-71.
 - Barrès R, Osler ME, Yan J, Rune A, Fritz T, Caidahl K, et al. Non-CpG methylation of the PGC-1 α -promoter through DNMT3B controls mitochondrial density. *Cell Metab*. 2009;10:189-98.
 - Ling C, Del Guerra S, Lupi R, Rönn T, Granhall C, Luthman H, et al. Epigenetic regulation of PPARC1A in human type 2 diabetic islets and effect on insulin secretion. *Diabetologia*. 2008;51:615-22.
 - Toledo FGS, Watkins S, Kelley DE. Changes induced by physical activity and weight loss in the morphology of intermyofibrillar mitochondria in obese men and women. *J Clin Endocrinol Metab*. 2006;91:3224-7.
 - Krook A, Zierath JR. Specificity of insulin signaling in human skeletal muscle as revealed by siRNA. *Diabetologia*. 2009;52:1231-9.

Köp den nya boken

Inflammatorisk tarmsjukdom

– en medicinsk kunskapsbok från Läkartidningen

IBD HAR BLIVIT EN FOLKSJUKDOM

IBD har blivit en folksjukdom. En procent av Sveriges befolkning lider numera av IBD (inflammatory bowel disease), en grupp sjukdomar som tidigare var ovanliga. Sjukdomarna kan ge svåra, ibland mångåriga besvär som sänker livskvaliteten. Boken speglar den snabba medicinska utvecklingen på området.

Redaktör Robert Löfberg, professor, institutionen för medicin, Karolinska Institutet; verksamhetschef, IBD-enheten/Stockholm Gastro Center, Sophiahemmet.



Köp och beställ
på Lakartidningen.se
under fliken butiken
Pris 210 kr inkl moms

Läkartidningen
förlag ab