

# Factores transcripcionales en la célula $\beta$ adulta

María Luisa Lazo-de-la-Vega-Monroy,\* Cristina Fernández-Mejía\*

\* Unidad de Genética de la Nutrición, Instituto de Investigaciones Biomédicas, Universidad Nacional Autónoma de México/INP.

## **Transcription factors in the adult $\beta$ cell**

### **ABSTRACT**

*Insulin secretion by the pancreatic  $\beta$  cell is critical to maintain glucose homeostasis. This secretion is impaired in type 1 diabetes, by  $\beta$  cell autoimmune destruction, in type 2 diabetes, by multifactorial failures still not well determined, and in monogenic diabetes (MODY), by mutations in specific genes. During the last few years, several  $\beta$  cell-specific transcription factors that regulate insulin synthesis and secretion in response to glucose have been discovered. Knockout mice studies for these genes and MODY diabetes demonstrate their importance for normal development and function of the  $\beta$  cell. These factors are regulated not only in their expression by other genes, but also in their activity by other proteins and by post-translational modifications, therefore participating in physiologically important signaling pathways of the  $\beta$  cell. The study of transcription factors is crucial for understanding the normal function of the  $\beta$  cell, essential knowledge in developing new strategies for fighting diabetes.*

**Key words.**  $\beta$ -cell. Transcription factor. Insulin secretion. Diabetes mellitus.

### **RESUMEN**

La secreción de insulina por la célula  $\beta$  pancreática es crítica para mantener la homeostasis de la glucosa. Dicha secreción se encuentra alterada en la diabetes tipo 1, por destrucción autoinmune de la célula  $\beta$ ; en la diabetes tipo 2, por fallas multifactoriales aún no bien determinadas; y en las formas monogénicas de diabetes (MODY), por mutaciones en genes específicos. En los últimos años se han encontrado factores transcripcionales, varios de ellos específicos de la célula  $\beta$ , que modulan la síntesis y secreción de insulina en respuesta a glucosa. Estudios en ratones knockout para estos genes, así como las formas de diabetes MODY, demuestran su importancia para el desarrollo y funcionamiento normales de la célula  $\beta$ . Estos factores transcripcionales se regulan no solamente en su expresión por otros genes, sino también en su actividad por otras proteínas y modificaciones postranscripcionales, participando así en vías de señalización importantes dentro de la fisiología de la célula  $\beta$ . El estudio de estos factores transcripcionales es esencial en la comprensión del funcionamiento normal de la célula  $\beta$ , conocimiento necesario para el desarrollo de nuevas estrategias para el tratamiento de la diabetes.

**Palabras clave.** Célula  $\beta$ . Factor transcripcional. Secrección de insulina. Diabetes mellitus.

## **INTRODUCCIÓN**

La diabetes mellitus representa actualmente una de las enfermedades de mayor prevalencia a nivel mundial.<sup>1</sup> Se define como un grupo de enfermedades metabólicas caracterizado por hiperglucemia resultante de defectos en la secreción de insulina, en la acción de la insulina o en ambos. De acuerdo con la ADA (Asociación Americana de Diabetes), la diabetes se clasifica en: tipo 1 (DM1), tipo 2 (DM2), otras formas de diabetes entre las que se incluye la diabetes MODY, y la diabetes gestacional.<sup>2</sup>

La diabetes tipo 1 se debe a una destrucción autoinmune de las células  $\beta$  pancreáticas, ocasionando deficiencia de insulina, mientras que la diabetes tipo 2

se caracteriza por una disminución en la acción de la insulina (resistencia a la insulina), y/o una secreción anormal de insulina.<sup>3</sup> Existen otras causas de diabetes, ya sea por defectos genéticos en la célula  $\beta$  o la acción de la insulina, enfermedades del páncreas exocrino, endocrinopatías y otros síndromes genéticos. Tanto en la diabetes tipo 1 como en la tipo 2 se presenta una falla en el funcionamiento y/o sobrevivencia de las células  $\beta$ , y por ende en la producción y secreción de insulina. Actualmente se han logrado identificar factores transcripcionales que, además de regular de manera importante la producción y la secreción de la insulina, establecen y mantienen el fenotipo de la célula  $\beta$ . La importancia de dichos factores en la regulación del metabolismo de la glucosa se ve

**Cuadro 1.** Características, expresión en páncreas y fenotipos asociados a mutaciones de factores transcripcionales en la célula  $\beta$  adulta.

Factor Transcripcional	Otros nombres	Homeodominio	Expresión en páncreas	Fenotipos asociados a mutaciones en humanos
FOXO1	FKHR	FOX (Forkhead Box)	$\beta$	
PDX1	Ipf-1, Stf-1, Iuf-1, Idx-1	Parahox	$\beta$ y algunas $\delta$	MODY 4
FOXA2	HNF3 $\beta$ , Lhx1, Lim1	FOX (Forkhead Box)	Todas las células endocrinas del islote	PHHI
MafA	RIPE3b1	bZip, basic leucine zipper	$\beta$	
NeuroD1	BETA2	bHLH	$\beta$ , pocas $\alpha$ y pocas $\delta$	MODY 6
HNF1 $\alpha$	Tcf-1	superfamilia de receptores nucleares	$\beta$	MODY 3
HNF4 $\alpha$	TCF14	superfamilia de receptores nucleares	$\beta$	MODY 1
Pax4		Paired-homeodomain	$\beta$ y $\delta$	MODY9, DM2
Pax6		Paired-homeodomain	Todas las células endocrinas del islote	Aniridia, DM2
Nkx2.2		NK-homeodomain	$\alpha$ , $\beta$ y PP	
Nkx6.1		NK-homeodomain	$\beta$	

reflejada en las enfermedades ocasionadas por mutaciones en los genes que los codifican, mejor conocidas como diabetes del adulto de inicio juvenil MODY<sup>2</sup> Cuadro 1.

La expresión y actividad de estos factores transcripcionales están reguladas a diferentes niveles:

- Transcripcional
- Por sinergia con otras proteínas,
- Por modificaciones post-transcripcionales.

Entre los factores que regulan su expresión y actividad se encuentran diversos nutrientes, como los ácidos grasos,<sup>4</sup> la misma glucosa a través de la secreción de insulina,<sup>5-10</sup> las vitaminas<sup>11</sup> y el estrés oxidativo.<sup>6</sup>

En este artículo se revisa cómo algunos de los principales factores transcripcionales de la célula  $\beta$  participan de forma importante en el funcionamiento y mantenimiento del fenotipo adulto de la misma, integrando el conocimiento actual acerca de su regulación a nivel transcripcional y postraduccional, de las vías de señalización que participan en su expresión y actividad, y de las redes transcripcionales de las cuales forman parte, así como de su papel en la diabetes.

#### FUNCIÓN Y SEÑALIZACIÓN EN LA CÉLULA $\beta$

El páncreas es una glándula endocrina y exocrina. La porción exocrina comprende el tejido acinar

responsable de la secreción de enzimas digestivas en el jugo pancreático. La parte endocrina está representada por los islotes pancreáticos, que se componen de varios tipos celulares que secretan distintas hormonas: células  $\beta$  (insulina), células  $\alpha$  (glucagón), células  $\delta$  (somatostatina), células PP (polipéptido pancreático) y células  $\epsilon$  (ghrelina). El páncreas endocrino representa tan sólo de 1 a 5% de la masa pancreática total.<sup>12</sup> En el islote las células  $\beta$  abarcan de 70 a 80% del total de las células, de modo que la mayoría de los estudios acerca de los factores transcripcionales y su función en los islotes pancreáticos se centran en la célula  $\beta$  por la dificultad de evaluar otras células cuyo porcentaje en el páncreas es muy pequeño.

La célula  $\beta$  adulta es un tipo celular altamente especializado que se encarga de controlar la producción, procesamiento, almacenamiento y modulación de la secreción de insulina en respuesta a cambios en metabolitos, hormonas circulantes y neurotransmisores. Esta especialización está dada en gran medida por un grupo de factores transcripcionales que en su conjunto modulan la expresión tanto de la insulina como de otros componentes claves en el proceso de acoplar la síntesis y secreción de esta hormona en cantidades adecuadas para cubrir las demandas metabólicas del organismo.<sup>13,14</sup> Así, por ejemplo, la diabetes tipo 2 se desarrolla cuando las células  $\beta$  no logran secretar suficiente insulina para responder a la demanda ocasionada por la resistencia a la insulina, debido a una disfunción secretora

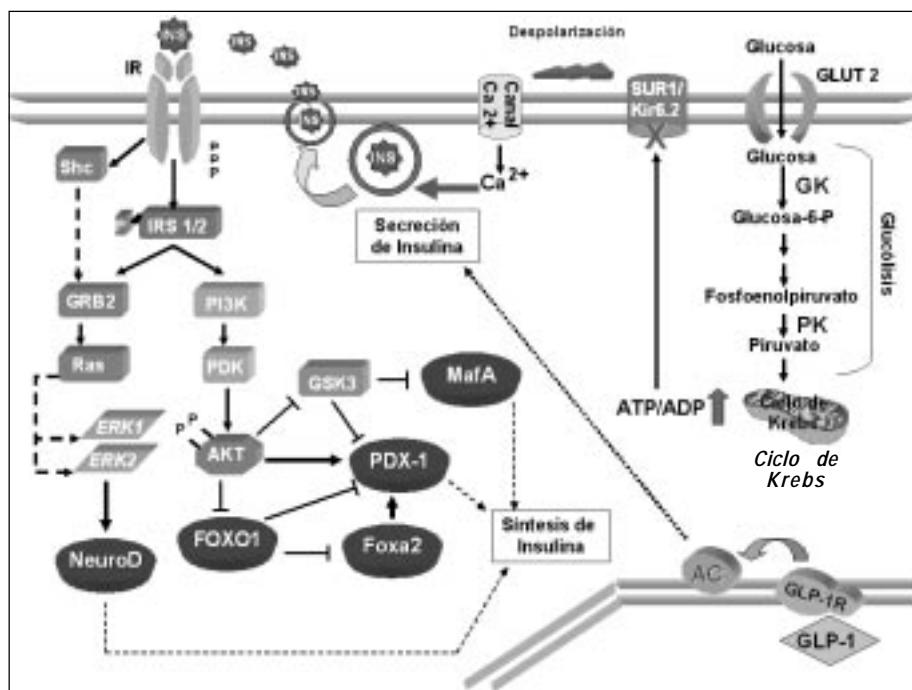
adquirida de la célula beta y/o a una disminución en la población de células beta.<sup>15</sup> Estas fallas pueden estar ocasionadas por defectos primarios de la célula beta, principalmente en factores transcripcionales, como en las formas monogénicas de diabetes MODY, o por defectos secundarios, causados por glucotoxicidad, aumento en los ácidos grasos libres, citocinas, disfunción mitocondrial y/o estrés metabólico.

El mecanismo molecular de secreción de insulina en respuesta a las concentraciones plasmáticas de glucosa es un mecanismo complejo que se inicia con la detección de estos niveles glucémicos por parte de la célula  $\beta$  (Figura 1). La glucosa entra a la célula  $\beta$  por GLUT2, en el caso de los roedores, y principalmente por la isoforma GLUT1 en el humano.<sup>16</sup> Una vez dentro de la célula, es fosforilada para formar glucosa-6-fosfato por la hexocinasa IV o glucocinasa, siendo éste el paso limitante de la glucólisis en la célula  $\beta$  pancreática. El aumento en la relación ATP/ADP debido a la generación de ATP por la glucólisis y el metabolismo mitocondrial provoca el cierre del canal de  $K^+$  sensible a ATP (formado por cuatro subunidades de receptor a sulfonilurea 1 (SUR1) y cuatro unidades del canal rectificador de entrada de  $K^+$  (Kir6.2)). Este evento ocasiona una despolarización de la membrana plasmática, la apertura de los canales de calcio dependientes de voltaje y un flujo

de calcio extracelular al interior de la célula, proceso que provoca la fusión de los gránulos de insulina con la membrana plasmática y la liberación de la insulina.<sup>17</sup> Los canales de sodio participan también en la despolarización de las células  $\beta$  y por tanto, en la secreción de insulina,<sup>18</sup> y se ha sugerido que los canales TRP contribuyen a esta despolarización y a la entrada de calcio a la célula y el flujo de calcio intracellular<sup>19</sup> (Figura 1).

La secreción de insulina en respuesta a la concentración plasmática de glucosa puede ser aumentada o disminuida por neurotransmisores (acetilcolina, noradrenalina entre otros) y hormonas (GLP-1) por medio de la activación de sus receptores en la célula  $\beta$  pancreática.<sup>20</sup>

Diversos estudios han demostrado un papel autocrino de la insulina sobre la función y sobrevivencia de la célula  $\beta$ .<sup>21-23</sup> En este proceso, la unión de la insulina a su receptor promueve la autofosforilación del mismo, catalizando a su vez la posterior fosforilación en tirosina de proteínas como IRS (IRS1 e IRS2). Una vez fosforiladas, estas proteínas interactúan con moléculas de señalización, lo cual resulta en una cascada de fosforilaciones en las que se activan secuencialmente PI3K, PDK y Akt, una cinasa de serina/treonina que regula procesos como la sobrevivencia celular, la proliferación, el crecimiento y el metabolis-



**Figura 1.** Proceso de secreción de insulina en respuesta a glucosa y papel autocrino de la insulina en la célula  $\beta$ . El metabolismo de la glucosa dentro de la célula  $\beta$  causa un incremento en la relación ATP/ADP, el cual ocasiona el cierre del canal de  $K^+$  sensible a ATP, lo que despolariza la membrana plasmática, abriendose los canales de calcio dependientes de voltaje que se traduce en un flujo de calcio extracelular al interior de la célula, proceso que provoca la fusión de los gránulos de insulina con la membrana plasmática y la secreción de la insulina. Este mecanismo puede ser potenciado por la acción del GLP-1 sobre su receptor en la membrana plasmática de la célula  $\beta$ . La insulina liberada puede tener efectos autocrinos sobre el receptor de insulina, autofosforilándolo y catalizando la posterior

fosforilación de IRS1/2 y/o Shc. Esto resulta en la activación de vías de señalización, particularmente la de PI3K-Akt y Ras-ERK. Entre otras acciones, estas vías activan factores transcripcionales que participan de forma directa (NeuroD, MafA, PDX1) o indirecta (FoxO1, Foxa2) en la transcripción del gen de la insulina.

mo de nutrientes mediante la fosforilación de distintas proteínas como GSK3, FOXO y CREB.<sup>24</sup> Tanto el receptor de insulina activado a través de Shc, como el IRS actúan también sobre la vía de señalización de Ras que activa las vías de las MAP cinasas ERK1/2, las cuales regulan el crecimiento y diferenciación celular y la síntesis de proteínas.<sup>25</sup>

Existen además otras vías que modulan la función de las células  $\beta$ . Entre ellas se encuentra la mediada por receptores que activan proteínas Gs y a la adenilato ciclase, que participa en la regulación de la secreción de insulina por algunos neurotransmisores como la acetilcolina y hormonas como el GLP-1. Los ligandos que aumentan la actividad de la adenilato ciclase y AMPc tienen un efecto positivo sobre la síntesis y secreción de insulina<sup>26</sup>, en tanto que los ligandos que disminuyen la actividad de la adenilato ciclase afectan la secreción de la insulina de manera negativa.

Estudios recientes han demostrado que el GLP-1, una hormona proteica producida por las células endocrinas del intestino, es un factor importante para la síntesis y secreción de insulina y posee un efecto trófico para las células  $\beta$ .<sup>27</sup>

En la célula  $\beta$  también se activan vías de señalización en respuesta al estrés oxidativo ocasionado por altos niveles de glucosa, como la vía de JNK, suprimiendo la síntesis de insulina e interfiriendo con su acción.<sup>28</sup>

#### FACTORES TRANSCRIPCIONALES

Los factores transcripcionales son proteínas que regulan la transcripción de mRNA al unirse a secuencias específicas en los promotores y otros elementos *cis* de un gen determinado. Estas secuencias específicas se denominan elementos de respuesta, y a pesar de ser indispensables para la unión del factor transcripcional al DNA, el efecto activador o repressor de los factores transcripcionales sobre sus genes blanco depende de:

- La cantidad, localización y actividad del factor en el núcleo.
- Su interferencia o sinergia con otros factores transcripcionales y/o la maquinaria de transcripción.
- El ambiente cromatínico del gen que regulan.<sup>29</sup>

Dada su participación en la modulación específica de la expresión de proteínas que le otorgan a una célula la capacidad de realizar las funciones características de su tipo celular diferenciado, los factores

transcripcionales juegan un papel crucial durante el desarrollo y mantenimiento del fenotipo de un organismo, incluyendo el páncreas.<sup>29</sup>

La identificación de los factores de transcripción y el estudio del fenotipo que se presenta en modelos de ratones knockout para estas proteínas, han permitido ampliar el conocimiento con respecto a las funciones de la célula  $\beta$  adulta y su regulación, revelando que muchos de ellos participan no sólo en la diferenciación sino también en el mantenimiento de las características propias de la célula  $\beta$  adulta.<sup>30</sup> Sus mecanismos de acción y regulación en la célula  $\beta$  apenas comienzan a ser elucidados; sin embargo, se ha encontrado que la gran mayoría se caracterizan por reclutar acetiltransferasas de histonas como CBP o p300 hacia el promotor de su gen blanco, descompactar estructuras cromatínicas o unirse a otros cofactores (Cuadro 2).

#### FACTORES TRANSCRIPCIONALES QUE REGULAN LA FUNCIÓN DE LA CÉLULA $\beta$ MADURA

##### FOXO1

FOXO1 (antes llamado FKHR) es un factor importante en la regulación de la respuesta de la célula  $\beta$  a los nutrientes y al estrés.<sup>6</sup> Pertenece a la familia de proteínas FOX, caracterizadas por poseer un dominio de unión a DNA de 100 aminoácidos en forma de *winged helix* (hélice alada) denominado Forkhead box, de donde proviene su nombre. A pesar de que las bases moleculares de su unión a DNA no han sido esclarecidas, se ha identificado una secuencia consenso denominada FRE (FoxO-recognized element).<sup>31</sup>

FOXO1 se expresa solamente en las células  $\beta$  adultas.<sup>32, 33</sup> La abundancia de su mRNA se encuentra elevada en isletos de pacientes diabéticos, sin existir una explicación para este fenómeno.<sup>34</sup> Por otro lado, cuando los ratones heterocigotos para *foxO1* son alimentados con una dieta rica en grasas no desarrollan hiperglucemia e hiperinsulinemia, a comparación de los ratones silvestres.<sup>35</sup>

Se ha propuesto que FOXO1 participa en la proliferación de la célula  $\beta$ . En un modelo transgénico de expresión nuclear constitutiva de FOXO1 se observó que dicha expresión previene la hiperplasia de las células  $\beta$ .<sup>36</sup> Además, en ratones knockout para *Irs2*<sup>-/-</sup>, los cuales presentan defectos funcionales de las células  $\beta$ , la ablación de un alelo de *foxO1* restaura la proliferación de la célula  $\beta$ , sugiriendo que FOXO1 es un blanco de IRS2 y su vía de señalización.<sup>32</sup>

**Cuadro 2.** Funciones, mecanismos de acción y regulación de los factores transcripcionales en la célula  $\beta$  adulta.

Factor Transcripcional	Fenotipos en Transgénicos y Knockouts (KO)	Funciones y efectos en cel $\beta$	Genes Blanco	Mecanismos de acción conocidos	Regulación transcripcional	Regulación postraduccional
FOXO1	<b>KO Homocigotos:</b> Muerte prenatal. <sup>140</sup>  <b>KO Heterocigotos:</b> protegidos contra diabetes inducida por dieta rica en grasas. <sup>35</sup>	Represor transcripcional. <sup>32</sup>  Disminuye hiperplasia de las células beta. <sup>36</sup>	<i>Pdx1</i> <sup>32</sup> <i>Foxa2</i> <sup>73</sup>  <i>PPAR<math>\gamma</math></i> <sup>74</sup>	Competencia con Foxa2. <sup>32</sup>  Unión a E47 <sup>59,145</sup> recluta co-activadores transcripcionales CBP/p300 <sup>61</sup> y (HDACs). <sup>146</sup> Aumenta acetilación de histonas. <sup>60</sup>		<b>Inhibición:</b> IRS2, IGF-1, insulina <sup>32</sup> fosforilaciones por PKB/Akt. <sup>37,141,142</sup> Inhiben translocación de núcleo a citoplasma favoreciendo ubiquitinación. <sup>32,37-39,141,142</sup> Acetilación por CBP <sup>143</sup> y p300 <sup>40</sup> limitan su acción, disminuyendo su unión a nucleosoma. <sup>41</sup> <b>Activación:</b> Translocación a núcleo por vía JNK. <sup>6</sup>
PDX1	<b>KO Homocigotos:</b> muerte posnatal, agénesis completa del páncreas. <sup>46</sup>  <b>KO Heterocigotos:</b> intolerancia a la glucosa y secreción defectuosa de insulina en respuesta a glucosa desde 8 semanas, aumenta con la edad. Generación de NADPH en respuesta a glucosa alterada. <sup>47</sup>  <b>Deleción en célula <math>\beta</math> adulta:</b> fenotipo diabético con la edad. <sup>44</sup>	Activador transcripcional. <sup>59</sup>  Mantenimiento y proliferación de las células beta. <sup>48</sup>  Correcto Procesamiento post-traduccional y secreción de insulina, expresión del receptor para GLP-1 en la célula beta. <sup>56</sup>	<i>Pdx1</i> <sup>52</sup> <i>glut2</i> <sup>44,47</sup> <i>pax4</i> <sup>52</sup> <i>Nkx6.1</i> <sup>44</sup> <i>MafA</i> <sup>53</sup>  <i>hnf4<math>\alpha</math></i> <sup>54</sup> <i>IAPP</i> <sup>47,52</sup> <i>insulina</i> <sup>44,52,144</sup> <i>nd1, TFAM</i> <sup>55</sup> <i>Bcl<math>_X</math></i> y <i>Bcl-2</i> <sup>8</sup>	Su unión a DNA es susceptible al estado cromatínico. <sup>52</sup> Unión a E47 <sup>59,145</sup> recluta co-activadores transcripcionales CBP/p300 <sup>61</sup> y (HDACs). <sup>146</sup> Aumenta acetilación de histonas. <sup>60</sup>	FoxA2 <sup>63,147</sup> <i>HNF1<math>\alpha</math></i> <sup>63,148</sup> <i>PDX1</i> <sup>65,147</sup> <i>PPAR<math>\gamma</math></i> <sup>64</sup> <i>SP1</i> y <i>SP3</i> , <sup>63</sup>	<b>Inhibición:</b> Fosforilación por GSK3 (degradación en el proteosoma). <sup>71</sup>  <b>Activación:</b> Fosforilación por PI3K <sup>7</sup> ERK1/2, <sup>7,70</sup> sumoilación, <sup>69</sup> glicosilación. <sup>9</sup>
FOXA2	<b>KO Homocigotos:</b> muerte embrionaria. <sup>81</sup>	Activador transcripcional. <sup>150,151</sup>	<i>Hadhs</i> <sup>82</sup> <i>Glucocinasa</i> <sup>84,149</sup> <i>Glut2</i> <sup>84</sup> <i>PDX1</i> <sup>82</sup>	Descompacta estructuras de cromatina. <sup>77,79,80</sup>		<b>Inhibición:</b> <i>miR-124a2</i> . <sup>152</sup>

	<b>KO Heterocigotos:</b> fenotipo normal. <sup>149</sup>	Participa en proceso de anclaje de vesículas y secreción de insulina. <sup>82,86</sup>	<i>HNF4<math>\alpha</math></i> <sup>84</sup> <i>HNF1<math>\alpha</math></i> <sup>84</sup> <i>MafA</i> <sup>53</sup> <i>Piruvato carboxilasa</i> <sup>85</sup> <i>Sur1</i> <i>Kir6.2</i> <sup>82,84</sup>			
MafA	<b>KO Homocigotos:</b> presentan DM entre las 8 y 12 semanas, secreción defectuosa de insulina en respuesta a glucosa, arquitectura de islotes afectada, y transcripción de insulina y GLUT2 reducida. <sup>87</sup>	Activador transcripcional. <sup>88</sup>  Regulador de genes que participan en procesamiento y secreción de insulina, y señalización de GLP-1. <sup>10,87</sup>	<i>PC1/3, Kir6.2</i> y <i>SUR1</i> , <i>GLP1-R</i> , <i>GLUT2</i> <sup>89</sup>  <i>GK</i> y <i>Piruvato carboxilasa</i> . <sup>10</sup>	Formación de homodímeros a través de sus dominios de cierre de leucina. <sup>153-155</sup>  Interacción y sinergia con PDX1 y NeuroD1. <sup>90</sup>  Aumenta el grado de acetilación de la histona H3. <sup>60</sup>	Glucosa aumenta su RNAm. <sup>4</sup>  PDX1, Nkx2.2 y Foxa2. <sup>53</sup>	<b>Activación:</b> Glucosa aumenta expresión y actividad. <sup>4</sup>  <b>Inhibición:</b> Fosforilación mediada por cinasa no identificada, y subsecuentemente por GSK3 (degradación en proteasoma). <sup>91</sup> Sumoilación disminuye actividad sobre promotor de insulina. <sup>92</sup>
NeuroD1	<b>KO Homocigotos:</b> Se detiene la expansión de la población de células beta y el desarrollo de los islotes pancreáticos en la etapa embrionaria. Diabetes severa (hiperglucemia y cetonuria, resistentes a la insulina) y muerte postnatales. <sup>94</sup>	Activador transcripcional. <sup>93, 156</sup>	<i>Insulina</i> <sup>93,156</sup> <i>SUR1</i> <sup>95</sup> <i>Glucocinasa</i> <sup>96</sup>	Forma dímeros con E47 <sup>93,156</sup> y une a p300. <sup>97</sup>		<b>Activación:</b> Fosforilación a través de ERK2 (regulan unión a DNA y formación de heterodímeros). <sup>70</sup>  <b>Localización</b> nuclear en respuesta a glucosa por ERK <sup>99</sup> o glicosilación. <sup>100</sup>

	<b>HNF1<math>\alpha</math></b>	<b>KO Homocigotos:</b> Dwarfismo, función hepática anormal, fenilcetonuria, glucosuria por disfunción del túbulo renal, secreción de insulina disminuida por alteraciones en metabolismo de glucosa de la célula $\beta$ , desarrollo de diabetes. <sup>107-109</sup>	Activador transcripcional <sup>105</sup>	<i>HNF4<math>\alpha</math></i> <sup>101,158</sup> <i>Insulina</i> <sup>104</sup> <i>L-PK</i> <sup>104,105</sup> <i>glut2</i> <sup>104-106,159</sup>	Recluta a p300 <sup>106</sup> , hiperacetilación de las histonas H3 en páncreas. <sup>105</sup>	<b>HNF4<math>\alpha</math></b> <sup>102</sup>
		<b>KO Heterocigotos:</b> Fenotipo normal. <sup>107</sup>				
		<b>Deleción en célula <math>\beta</math> embrionaria:</b> Diabetes a las 6 semanas de edad, apoptosis. <sup>157</sup>				
	<b>HNF4<math>\alpha</math></b>	<b>KO Homocigotos:</b> Muerte prenatal <sup>117</sup>	Activador transcripcional <sup>111,112,114</sup>	<i>HNF1<math>\alpha</math></i> <sup>102</sup> <i>L-PK</i> , 110-113,161 <i>AldoB</i> <sup>112</sup> <i>glut2</i> <sup>112,113</sup> <i>UCP2</i> <sup>112</sup> <i>insulina</i> <sup>112,114</sup> <i>PPAR<math>\alpha</math></i> <sup>160</sup>	Unión a CBP, <sup>115</sup> GRIP1, SRC-1 y p300. <sup>116</sup>	<b>HNF1<math>\alpha</math></b> <sup>101,158</sup>
		Necesario para correcta secreción de insulina en respuesta a glucosa, <sup>111,112,160</sup> función del canal de potasio sensible a ATP <sup>111,160</sup> y el equilibrio energético a nivel mitocondrial. <sup>112</sup>				
	<b>Pax4</b>	<b>KO Homocigotos:</b> Muerte postnatal, Deficiencia de producción de células $\beta$ y $\delta$ . <sup>162</sup>	Represor transcripcional. <sup>121,163,164</sup>	<i>IAPP</i> <sup>165</sup> <i>Glucagón</i> <sup>163</sup> <i>Ghrelina</i> <sup>166</sup> <i>Pax4</i> <sup>120</sup>  <i>Bcl-xL</i> <sup>122</sup>	Competencia con Pax6. <sup>163,164</sup>	<b>HNF1<math>\alpha</math></b> <sup>167</sup>
		Regulador esencial en la diferenciación de las células $\beta$ . <sup>118</sup>				

Pax6	<b>KO Homocigotos:</b> Muerte postnatal, Islotes desorganizados, falta de células $\alpha$ . <sup>123</sup>	Activador transcripcional. <sup>123,127</sup>  Diferenciación de las células alfa. <sup>123</sup>	<i>PC1/3</i> <sup>124</sup> <i>glut2</i> <sup>125</sup> <i>pdx1</i> <sup>126</sup> <i>Insulina</i> <sup>127</sup> <i>Glucagón</i> <sup>127, 169</sup>	Interacción con coactivador p300. <sup>129, 170</sup>	NeuroD1/Beta2 <sup>171</sup> SEF, Sp1. <sup>172</sup>	<b>Activación:</b> Fosforilación por ERK, p38 <sup>128</sup> y HIPK2. <sup>129</sup>
	<b>KO Heterocigotos:</b> Intolerancia a glucosa, hiposecreción de insulina. Disminución de GLP-1 en plasma. <sup>168</sup>	Esencial en expresión de marcadores de diferenciación final de la célula $\beta$ . <sup>125</sup>	<i>Somatostatina</i> <sup>127</sup>			
	<b>Deleción en célula <math>\beta</math> embrionaria:</b> Muerte postnatal, hiperglicemia, hipoinsulinemia, cetosis. <sup>125</sup>					
Nkx2.2	<b>KO Homocigotos:</b> Diabetes, muerte postnatal, falla en la diferenciación final de células $\beta$ . <sup>173</sup>	Activador Transcripcional en célula $\beta$ madura. <sup>53,130</sup>	<i>MafA</i> <sup>53</sup> <i>Insulina</i> <sup>131</sup>		<i>Foxa2, NeuroD1,</i> <i>Ngn3</i> . <sup>132</sup>	
	<b>Represión en célula <math>\beta</math> madura:</b> Intolerancia a la glucosa, disminución en la síntesis y secreción de insulina, baja expresión de <i>glut2</i> y <i>MafA</i> e <i>insulina</i> , alteraciones en la arquitectura del islete pancreático, localizándose las células $\alpha$ hacia el centro del islete. <sup>130</sup>	Represor transcripcional en desarrollo pancreático. <sup>174</sup>				
Nkx6.1	<b>KO Homocigotos:</b> Inhibición de la formación de células $\beta$ . <sup>175</sup>	Represor transcripcional. <sup>136</sup>  Activador transcripcional de su propio gen. <sup>135</sup>	<i>Glucagón</i> <sup>134</sup> <i>Insulina</i> . <sup>136</sup>	BID en carboxilo terminal. <sup>136</sup>	PDX-1, Nkx2.2 <sup>133,175</sup> , PPAR $\gamma$ . <sup>139</sup>	

FOXO1 puede ser regulado de manera postraduccional por factores de crecimiento como el IGF-1 o por la insulina<sup>32</sup> mediante fosforilaciones a través de la PKB/Akt<sup>37</sup> y otras cinasas,<sup>38</sup> ocasionando su translocación del núcleo al citoplasma, inhibiendo así su actividad.<sup>37</sup> La fosforilación también favorece la ubiquitinación de FOXO1,<sup>39</sup> y se considera que la acetilación y desacetilación de las proteínas FOXO también juegan un papel en su regulación.<sup>40</sup> A pesar de no ser un mecanismo determinante en la unión de FoxO1 al nucleosoma, la acetilación es un paso clave en la remoción de los factores FoxO de la cromatina.<sup>41</sup> Otras señales que pudieran estar implicadas en la fosforilación de FOXO1, son la glucosa (a través de un efecto autocrino/paracrino de insulina)<sup>5</sup> y el GLP-1.<sup>42</sup>

## PDX1

PDX1 es un miembro del conjunto de genes *Parahox*, importantes en el desarrollo embrionario, que; sin embargo, no se localizan dentro del conjunto clásico de los genes *Hox* (homeobox). En la etapa adulta, PDX1 se expresa solamente en las células  $\beta$  del islote, en algunas células  $\delta$ , y durante el desarrollo en mucho menor proporción en el tejido acinar y células ductales.<sup>43</sup> Este factor transcripcional es de primordial importancia para la función pancreática. Estudios de ratones transgénicos con ablaciones de *pdx1* tienen alterada la función de la célula  $\beta$  y presentan fenotipos diabéticos.<sup>44,45</sup>

Los ratones knockout para *pdx1*, aunque sobreviven al nacimiento, mueren poco tiempo después, y presentan agénesis completa del páncreas.<sup>46</sup> El fenotipo de haploinsuficiencia de *pdx1* en ratón desarrolla intolerancia a la glucosa y secreción defectuosa de insulina en respuesta a glucosa desde las ocho semanas de vida, características que se van acrecentando conforme los animales se hacen más viejos.<sup>47</sup> La delección de *pdx1* en ratones adultos también provoca un fenotipo diabético al aumentar la edad.<sup>44</sup> Se ha sugerido que la disminución en la actividad de PDX1 puede ser un factor de susceptibilidad para la aparición de la diabetes tipo 2.<sup>47</sup> Además, mutaciones en el homólogo humano de *pdx1* (*Ipf1*) son causantes de MODY4.<sup>45</sup>

PDX1 participa en el mantenimiento y proliferación de las células  $\beta$ .<sup>48</sup> Estudios en ratas Zucker obesas sugieren que la activación de PDX1 es posterior a la señalización de IR/IGF1R vía Akt.<sup>49</sup> Por otro lado, la sobreexpresión de *pdx1* en animales knockout para *Irs2* participa en la recuperación de la masa celular de las células  $\beta$  y ayuda al mejoramiento de la tolerancia a la glucosa,<sup>50</sup> mientras que la haploinsufi-

ciencia de *pdx1* provoca apoptosis de la célula  $\beta$ .<sup>51</sup>

Muchos de los genes blanco de PDX1 son cruciales para el funcionamiento de la célula  $\beta$ , ya que además de regularse a sí mismo,<sup>52</sup> este gen regula también al transportador de glucosa *glut2*,<sup>44</sup> a otros factores transcripcionales de la célula  $\beta$  de los cuales se hablará más adelante como *pax4*,<sup>52</sup> *Nkx6.1*,<sup>44</sup> *MafA*,<sup>53</sup> *hnf4 $\alpha$* ,<sup>54</sup> así como al gen del polipéptido amiloide del islote (*IAPP*) y a la misma insulina.<sup>52</sup>

Los genes mitocondriales también son un blanco importante para PDX1, y podrían regular el mecanismo de secreción de la insulina,<sup>55</sup> ya que como se señaló en secciones anteriores, la producción de ATP es crítica para la secreción de insulina en respuesta a la glucosa. Entre estos genes se encuentran la subunidad nd1 de la NADH deshidrogenasa del complejo I de la cadena respiratoria, y el factor transcripcional mitocondrial TFAM, importante para la expresión de genes de la mitocondria. De esta forma, la pérdida de función de PDX1 está asociada a una baja en la concentración total de ATP y NADPH.<sup>47,55</sup> La disminución de PDX1 también se ha asociado con apoptosis y la disminución de los genes antiapoptóticos *Bcl<sub>XL</sub>* y *Bcl-2*,<sup>8</sup> con defectos en el procesamiento postraduccional de la insulina, con la inhibición de la expresión del receptor para GLP-1,<sup>56</sup> y con glucotoxicidad<sup>57</sup> y lipotoxicidad.<sup>4,58</sup>

PDX1 reconoce secuencias específicas en el DNA con una gran afinidad, dependiendo del estado de apertura de la cromatina.<sup>52</sup> Hay evidencia de que PDX1 se une a otros factores de transcripción, como E47 (proteína de la familia bHLH que participa en la regulación de genes en respuesta a la glucosa a través de su unión con las cajas E de los promotores),<sup>59</sup> para llevar a cabo su papel como transactivador. También aumenta el grado de acetilación de las histonas H3 y H4 en el promotor del gen de *insulina*<sup>60</sup> y recluta coactivadores transcripcionales como CBP/p300,<sup>61</sup> lo cual incrementa la elongación transcripcional por componentes de la maquinaria basal de transcripción.<sup>62</sup>

El gen de PDX1 posee una región conservada 2kb antes del codón de inicio de la transcripción en mamíferos, llamada Área I-II-III, que abarca sitios de unión a diversos factores de transcripción como Foxa2,<sup>63</sup> HNF1 $\alpha$ ,<sup>63</sup> PPAR $\gamma$ <sup>64</sup> y el mismo PDX1.<sup>65</sup> Tanto Foxa2 como HNF1 $\alpha$ , en conjunto con SP1 y SP3, regulan cooperativamente la expresión de *pdx1*.<sup>63</sup> Las áreas I y II se han relacionado con la expresión específica de este gen en el islote durante el desarrollo tardío y la etapa adulta.<sup>66</sup> PDX1 está también regulado por FOXO1 (ver apartado sobre la regulación de *FOXO1* sobre *PDX1*).

Se sabe que PDX1 posee una secuencia de localización nuclear,<sup>67</sup> y se cree que pudiera estar regulado, como FOXO1, por medio de modificaciones que determinen su localización en el citoplasma, inactivándolo al localizarlo en el citosol en respuesta a palmitato<sup>4</sup> y estrés,<sup>8</sup> y activándolo<sup>68</sup> y translocándolo de la periferia nuclear al nucleoplasma en respuesta a glucosa o insulina,<sup>5, 7</sup> aunque hay estudios en los que no se ha encontrado translocación en respuesta a glucosa.<sup>67</sup> PDX1 también está sujeto a regulaciones posttraduccionales además de la fosforilación,<sup>7,68</sup> como sumoilación<sup>69</sup> y glicosilación.<sup>9</sup> Se ha sugerido que la fosforilación es el principal mecanismo responsable de su activación por niveles elevados de glucosa, modificación en la cual están involucradas diversas cinasas de proteína como ERK1/2<sup>70</sup> y PI3K.<sup>7</sup> Además, la fosforilación de PDX1 por GSK3 se ha asociado con su degradación en el proteosoma, regulando negativamente su actividad en estados de estrés oxidativo.<sup>71</sup>

En la actualidad existen estudios con miras a utilizar a PDX1 como blanco terapéutico para el tratamiento de diabetes y en el trasplante de células  $\beta$ , pues se ha visto que este factor transcripcional es capaz de inducir la reprogramación de células no pancreáticas hacia un fenotipo pancreático.<sup>72</sup>

#### REGULACIÓN DE FOXO1 SOBRE PDX1

Durante el desarrollo pancreático, la expresión de FOXO1 es paralela a la de PDX1 a pesar de que su localización en el núcleo es mutuamente excluyente.<sup>33</sup> Diversos estudios sugieren una correlación negativa entre la actividad de FOXO1 y los niveles de expresión de PDX1.<sup>32</sup> Por un lado FOXO1 y Foxa2 (que transactiva a PDX1) compiten por sitios de unión comunes en el promotor de *Pdx1*,<sup>32</sup> mientras que, por otro lado, FOXO1 reprime la transcripción del gen *Foxa2*.<sup>73</sup> Estudios en ratones haploinsuficientes para FOXO1 y líneas celulares han sugerido que este factor transcripcional inactiva a PDX1 a través de la regulación negativa sobre PPAR $\gamma$ , transactivador de PDX1.<sup>74</sup>

Estudios en líneas celulares han demostrado que FOXO1 se transloca al núcleo cuando en condiciones de estrés se activa la vía JNK, y que esta translocación reduce la presencia nuclear de PDX1. Por el contrario, la inhibición de la expresión de *FoxO1* por siRNA restaura la expresión nuclear de PDX1. La actividad de Akt está disminuida en respuesta al estrés oxidativo, lo cual pudiera participar en la localización nucleocitoplasmática de PDX1.<sup>6</sup>

En las células  $\beta$ , FOXO1 se localiza principalmente en el citoplasma dada la constante secreción autocrí-

na de insulina.<sup>21</sup> Si estas células son expuestas a situaciones de estrés oxidativo, como hiperglucemia, FOXO1 se transloca hacia el núcleo, lo cual se ha asociado con el aumento en la transcripción de MafA y NeuroD, dos factores de transcripción (de los cuales se hablará más adelante) relacionados con la expresión del gen de la insulina y el mantenimiento de la función de la célula  $\beta$ ; y con la disminución de la expresión nuclear de PDX-1.<sup>6</sup>

#### FOXA2

Foxa2 (HNF3 $\beta$ ) es un factor transcripcional que pertenece a la familia de proteínas winged helix/Forkhead (FOX).<sup>75</sup> Este factor es capaz de competir por sitios de unión comunes con otras proteínas de la misma familia, particularmente FOXO1 (ver apartado: regulación de *FOXO1* sobre *PDX1*), y durante el desarrollo del ratón su ocupación de sitios en los enhancers de *pdx-1* aumenta conforme aumenta la edad gestacional.<sup>76</sup> La estructura de la caja Forkhead (dominio de unión a DNA de 110 aminoácidos conservado en la familia Forkhead box)<sup>75</sup> es similar a la de la histona H1<sup>77</sup> y se ha visto que las proteínas Foxa son capaces de descompactar estructuras de cromatina *in vivo* al unirse a nucleosomas<sup>78</sup> e *in vitro*, esto último por un mecanismo independiente del que ocurre normalmente en las células mediado por el complejo SWI/SNF.<sup>77,79,80</sup> Son estos mecanismos por los cuales se ha propuesto que los factores de transcripción Forkhead box A facilitan la unión y estabilidad de otros factores de transcripcionales al DNA.

Los ratones knockout homocigotos para *foxa2* no sobreviven más allá de la etapa embrionaria E10-11, alrededor de la cual se diferencian el hígado y el páncreas, por lo que se ha propuesto como una proteína clave en la regulación de la morfogénesis hepática y pancreática.<sup>81</sup>

Otros modelos de mutación del gen *foxa2* exclusivamente en células  $\beta$  no sobreviven más allá de los días P9-P12, presentando hipoglucemia e hiperinsulinismo, y a pesar de que los islotes secretan insulina, lo hacen principalmente en respuesta a aminoácidos y no a altas concentraciones de glucosa.<sup>82</sup> Este fenotipo es similar al encontrado en la PHHI, padecimiento en el que la secreción de insulina se encuentra anormalmente elevada, provocando hipoglucemia.<sup>83</sup> Las mutaciones en el gen de la deshidrogenasa de ácidos grasos de cadena corta *SCHAD* (también llamado *Hadhsc*) se han asociado a la hipoglucemia hiperinsulinémica,<sup>83</sup> gen cuya regulación también está mediada por Foxa2.<sup>82</sup>

Foxa2 a través de sus efectos sobre diversos genes participa tanto en la síntesis como en la secreción de

insulina. Este factor transcripcional regula a genes que participan en la producción de insulina en respuesta a glucosa y el metabolismo de la célula  $\beta$ , como la *GK*,<sup>84</sup> *Glut2*,<sup>84</sup> *PDX1*,<sup>82</sup> *HNF4 $\alpha$* ,<sup>84</sup> *HNF1 $\alpha$* ,<sup>84</sup> *MafA*<sup>53</sup> y *piruvato carboxilasa*.<sup>85</sup> Se ha establecido su papel como transactivador de los genes *Sur1* y *Kir6.2* que forman las subunidades del canal de potasio sensible a ATP.<sup>82,84</sup> Además, se ha observado que *Foxa2* también participa en la regulación de genes del proceso de anclaje de vesículas y secreción de insulina.<sup>86</sup>

### MafA

El gen *MafA* pertenece a la familia Maf, un subgrupo de factores transcripcionales que poseen un cierre de leucina básico (*bZip*, *basic leucine zipper*). Los miembros de esta familia contienen un dominio altamente conservado de unión al DNA, denominado EHR (*extended homology region*), que reconoce de secuencias denominadas MAREs (Maf recognition elements), y forman homodímeros a través de sus dominios de cierre de leucina.

Los ratones knockout para *MafA* se desarrollan normalmente, sin embargo, presentan diabetes mellitus entre las 8 y 12 semanas de edad. Estos ratones poseen una secreción defectuosa de insulina en respuesta a glucosa y la transcripción de los genes de insulina y *GLUT2* se ve reducida. Además la arquitectura de sus islotes se ve afectada, localizándose células inmunopositivas a glucagón en el centro del islote y no en la periferia como normalmente se encuentran en roedores.<sup>87</sup>

*MafA* es un factor transcripcional clave en la activación directa de la transcripción de insulina,<sup>88</sup> así como un regulador importante para varios genes que participan en su secreción, procesamiento de proinsulina y señalización de *GLP-1*.<sup>10,87</sup> Estos genes incluyen la *PC1/3*, las subunidades del canal de potasio *Kir6.2* y *SUR1*, el receptor de *GLP1*, *GLUT2*,<sup>89</sup> la *GK* y la *Piruvato carboxilasa*.<sup>10</sup> Se ha sugerido que *MafA* tiene la capacidad de reclutar enzimas modificadoras de histonas, ya que este factor de transcripción aumenta el grado de acetilación de la histona H3 en el promotor del gen de la insulina.<sup>60</sup> También se ha visto que *MafA* es capaz de unirse a *PDX1* y *NeuroD1*, actuando de manera sinérgica para transactivar el gen de insulina en roedor.<sup>90</sup>

*MafA* se localiza sólo en el núcleo de las células  $\beta$ ,<sup>10,87</sup> y su expresión depende de las concentraciones de glucosa. A bajas concentraciones de glucosa, la proteína de *MafA* es casi indetectable, y una alta concentración de glucosa aumenta su mRNA y su expresión.<sup>4</sup>

Su actividad también depende de las concentraciones de glucosa. La unión de *MafA* al DNA tiene un comportamiento tipo campana, incrementándose progresivamente en un rango de 2.2 a 15 mM de glucosa y disminuyendo a 30mM de glucosa,<sup>10</sup> lo cual sugiere que la hiperglucemia reduce la transactivación de genes blanco de *MafA*. Este factor se regula tanto a nivel transcripcional como postraduccional.

Los factores transcripcionales *PDX1*, *Nkx2.2* y *Foxa2* regulan la expresión de *MafA* en el islote, transactivándolo en la región 3 de su promotor.<sup>53</sup> Por otro lado, *MafA* se encuentra fosforilado constitutivamente en residuos serina y treonina de su región amino terminal. Esta fosforilación, mediada por una cinasa no identificada y subsecuentemente por la *GSK3*, es un prerequisito para la degradación de *MafA* en el proteosoma a bajas concentraciones de glucosa.<sup>91</sup> Estudios recientes han encontrado una regulación de *MafA* a través de sumoilación, reduciendo su actividad transcripcional sobre el gen de la insulina.<sup>92</sup>

El palmitato inhibe la estimulación de la glucosa sobre el aumento de mRNA de este factor, lo que indica que *MafA* participa en el mecanismo de lipotoxicidad por el cual los ácidos grasos inhiben la expresión de insulina.<sup>4</sup>

### NeuroD1

*NeuroD1* (NeuroD/BETA2) es un factor de diferenciación neuronal y un activador de la transcripción de insulina.<sup>93</sup> En el páncreas, se expresa predominantemente en las células  $\beta$  maduras, mientras que se ha visto muy poca o nula localización de este factor en células  $\alpha$  o  $\delta$  maduras.<sup>94</sup> *NeuroD1* es requerido para el desarrollo pancreático y el mantenimiento de la homeostasis de la glucosa.

La delección de este gen en ratones detiene la expansión de la población de células  $\beta$  y el desarrollo de los islotes pancreáticos en la etapa embrionaria, además de ocasionar diabetes severa (hiperglucemia, cetonuria y resistencia a la insulina) y muerte postnatal.<sup>94</sup> Mutaciones en el gen humano *NeuroD1* se han asociado con susceptibilidad para desarrollar tanto DM1 como diabetes tipo MODY6 (revisado en<sup>93</sup>). Es un importante activador de la transcripción de insulina en páncreas, al formar un dímero con E47 y unirse a la caja E del promotor de insulina.<sup>93</sup> Este mecanismo es responsable también de sus efectos como transactivador del gen *SUR1*,<sup>95</sup> y de la *GK*.<sup>96</sup> *NeuroD1* también se une con el coactivador p300 en la célula beta y regula la expresión del gen de la insulina<sup>97</sup> y se ha propuesto que dicha interac-

ción juega un papel importante en la unión de NeuroD1 a la caja E, tanto en el desarrollo como en la célula  $\beta$  adulta.<sup>98</sup>

La regulación de NeuroD1 a nivel postranscripcional ocurre por fosforilación a través de ERK2 tanto de NeuroD1 como de E47, facilitando su unión al DNA y la formación de heterodímeros que le permiten activar al gen de la insulina en respuesta a glucosa.<sup>70</sup> Se ha propuesto que esta vía ERK1/2 también juega un papel importante en su translocación nuclear.<sup>99</sup> Sin embargo, aún se ignora si el verdadero mecanismo que regula la translocación de NeuroD1 al núcleo en respuesta a altas concentraciones de glucosa es la fosforilación en la serina 274<sup>99</sup> o la glicosilación en el mismo aminoácido.<sup>100</sup>

### HNF1 $\alpha$ Y HNF4 $\alpha$

En el páncreas, HNF1 $\alpha$  regula a HNF4 $\alpha$ <sup>101</sup> y viceversa,<sup>102</sup> formando un circuito de regulación positiva<sup>101,102</sup> y se ha propuesto que estos dos factores transcripcionales actúan en conjunto para regular la transcripción de algunos de sus genes blanco.<sup>102</sup> HNF1 $\alpha$  es el gen responsable de la forma más común de MODY (MODY3),<sup>103</sup> y se sabe que regula la transcripción de insulina,<sup>104</sup> L-PK<sup>105</sup> y de glut2.<sup>106</sup> Se ha visto además que ratones knockout para este gen, presentan un fenotipo diabético por alteraciones en el metabolismo de glucosa en la célula  $\beta$ , además de otras alteraciones hepáticas y renales.<sup>107-109</sup>

Existe evidencia de que la actividad transactivadora de HNF1 $\alpha$  ocurre a nivel epigenético, ya que es capaz de reclutar a la proteína coactivadora p300 al promotor de glut2.<sup>106</sup> También participa en la hiperacetilación de las histonas H3 y H4 de los promotores de glut2 y L-PK en el páncreas (no así en el hígado), lo cual le confiere un papel importante en la regulación de la expresión de genes relacionados con el metabolismo de la glucosa específicamente para la célula  $\beta$ .<sup>105</sup>

HNF4 $\alpha$  es un factor transcripcional de la superfamilia de receptores nucleares,<sup>110</sup> responsable de MODY1.<sup>103</sup> Se une a su sitio de reconocimiento como un dímero y funciona como transactivador de varios genes como la L-PK,<sup>111,112</sup> AldoB<sup>112</sup> glut2,<sup>113</sup> Kir6.2,<sup>111</sup> PPAR $\alpha$ ,<sup>111</sup> genes mitocondriales como UCP2<sup>112</sup> y el mismo gen de insulina,<sup>112,114</sup> este último tanto directa como indirectamente a través de HNF1 $\alpha$ .<sup>114</sup> Estudios en sistemas doble híbrido en levaduras han revelado que HNF4 $\alpha$  interactúa con el cofactor CBP, el cual es capaz de activar la trans-

cripción mediada por HNF $\alpha$ ,<sup>115</sup> mientras que en la línea celular HepG2 se han identificado otros coactivadores de receptores nucleares que se unen a este factor, como, GRIP1, SRC-1 y p300. Estos últimos dos sinergizan para aumentar la actividad transactivadora de HNF4 $\alpha$  sobre HNF1 $\alpha$ .<sup>116</sup> La importancia de este gen en el desarrollo del páncreas se observa en las mutantes nulas para HNF4 $\alpha$ , las cuales son letales y presentan deficiencias en el desarrollo del endodermo visceral, además de impedirse la gastrulación normal.<sup>117</sup>

HNF4 $\alpha$  es necesario para una correcta secreción de insulina en respuesta a glucosa<sup>111</sup> probablemente a nivel del canal de potasio sensible a ATP<sup>111</sup> o por un desequilibrio energético a nivel mitocondrial.<sup>112</sup>

## OTROS FACTORES TRANSCRIPCIONALES DE LA CÉLULA $\beta$

Existen otros factores transcripcionales como Pax4, Pax6, Nkx2.2 y Nkx6.1 también indispensables tanto para el desarrollo de las células del islote como para la diferenciación y la expresión tanto de glucagón en las células  $\alpha$  adultas como de insulina en las células  $\beta$ .

Pax4 se expresa en las células  $\beta$  y  $\delta$  y es un regulador esencial en la diferenciación de las células  $\beta$ .<sup>118</sup> Mutaciones en Pax4 se han asociado a diabetes tipo 2 (revisado en<sup>119</sup>), y, curiosamente, cuatro factores transcripcionales cuyas mutaciones ocasionan diabetes MODY (HNF4 $\alpha$ , Pdx-1, HNF1 $\alpha$  y NeuroD1) interaccionan con este gen activando su expresión, mientras que su represión está mediada por sitios de unión a sí mismo en su promotor.<sup>120</sup> También se ha establecido su papel como represor de glucagón en el desarrollo temprano de la célula  $\beta$ .<sup>121</sup> Sin embargo, en la etapa adulta la única función que se ha sugerido para este factor transcripcional es sobre la masa de células  $\beta$  adultas, a través de la inducción de la vía de proliferación c-myc/Id2 y promoviendo la sobrevivencia por medio de un aumento en la expresión del gen antiapoptótico Bcl-xL.<sup>122</sup>

El gen Pax6 se expresa en todas las células del islote pancreático, y se ha descrito principalmente como un gen requerido para la diferenciación de las células alfa.<sup>123</sup> Gracias a estudios en pacientes con mutaciones heterocigotas para este gen se ha establecido su función como un transactivador importante de la PC1/3 en la célula  $\beta$ , enzima clave en el procesamiento de la proinsulina, cuya disfunción provoca intolerancia a la glucosa en estos pacientes.<sup>124</sup> Su función transactivadora se ha observado también para genes como glut2,<sup>125</sup> pdx1,<sup>126</sup> Insulina,<sup>127</sup> Gluca-

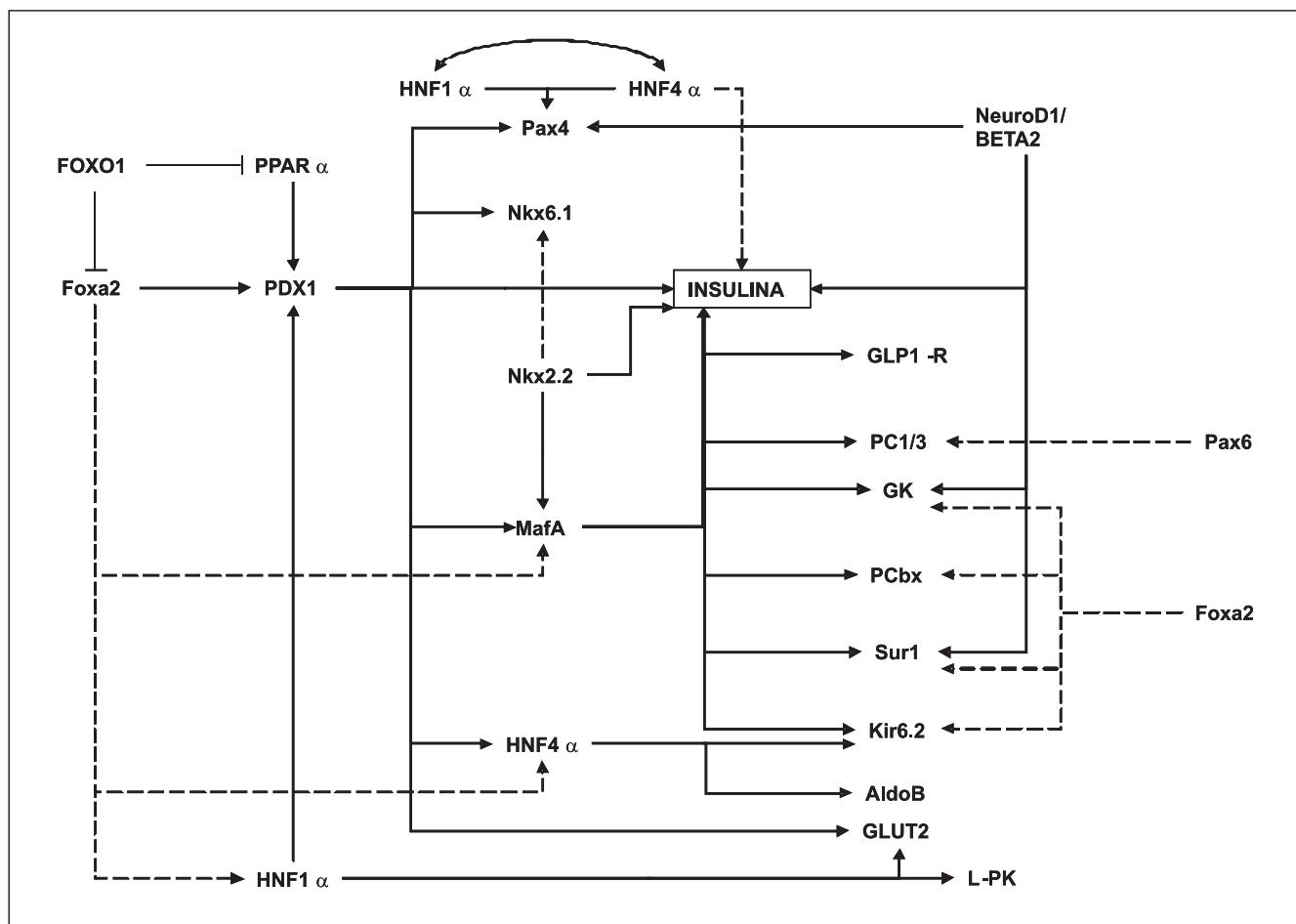
gón<sup>127</sup> y Somatostatina.<sup>127</sup> A pesar de que el mecanismo de acción y regulación de este gen en páncreas no se encuentra del todo elucidado, estudios en líneas celulares sugieren que la fosforilación de este factor transcripcional por cinasas como ERK, p38<sup>128</sup> y HIPK2.<sup>129</sup> La fosforilación por esta última incrementa la unión de PAX6 al coactivador p300, aumentando así su actividad transactivadora.<sup>129</sup>

El factor transcripcional Nkx2.2 actúa como un represor durante el desarrollo, sin embargo, en el islote adulto su principal función es activadora,<sup>130</sup> siendo unos de sus blancos principales el gen de la insulina<sup>131</sup> y MafA.<sup>53</sup> Esta bifuncionalidad puede estar dada por el splicing alternativo del primer exón en el cual las regiones promotoras son diferencialmente activadas dependiendo de los factores transcripcionales se encuentren en el ambiente celular,<sup>132</sup> así como por las interacciones de este gen con distintos cofactores.<sup>130</sup>

Nkx2.2 posee además un papel crucial en la regulación de las funciones de la célula β adulta, ya que al suprimir su expresión por medio de un transgén, los animales presentan intolerancia a la glucosa, disminución en la síntesis y secreción de insulina, baja expresión de *glut2* y alteraciones en la arquitectura del islote pancreático, localizándose las células a hacia el centro del islote.<sup>130</sup>

Nkx6.1 se expresa exclusivamente en células β.<sup>133</sup> Este factor transcripcional establece y mantiene el fenotipo adulto de este tipo celular en parte suprimiendo la expresión de glucagón.<sup>134</sup> A su vez, posee actividad transactivadora sobre su propio promotor, manteniendo así un nivel constante en su expresión.<sup>135</sup>

Nkx6.1 contiene un domino activador en su región carboxilo terminal y un dominio represor en su extremo amino. Ambos reconocen secuencias distintas dependiendo del promotor, y se ha sugerido que



**Figura 2.** Redes transcripcionales en la célula β adulta y sus genes blanco. Los factores transcripcional de la célula β se regulan entre ellos, y activan (→) o reprimen (→) cooperativamente la expresión de genes que participan en la secreción de la insulina en respuesta a glucosa.

el dominio represor puede ser regulado por un dominio de interferencia a unión de DNA (BID), disminuyendo la represión sobre sus genes blanco.<sup>135-137</sup>

La sobreexpresión de Nkx6.1 en islotes aislados promueve la proliferación de las células  $\beta$  a través del aumento en la expresión de ciclinas y cinasas reguladoras del ciclo celular tanto en ratas como humanos, además de modular la secreción de insulina en respuesta a glucosa.<sup>138</sup> Se sabe que su regulación transcripcional se da a través de otros factores transcripcionales como PDX-1, Nkx2.2<sup>133</sup> y PPAR $\gamma$ .<sup>139</sup>

## CONCLUSIONES

La búsqueda de genes candidatos para la etiología de la diabetes a finales de la década de los ochenta, usando como herramienta las formas monogénicas de ésta, fue determinante en el descubrimiento de la importancia de los factores transcripcionales como causas de dicha enfermedad. Estos conocimientos abrieron un nuevo concepto sobre los mecanismos que ocasionan la inadecuada función de las células  $\beta$  presente en las diferentes formas de diabetes. La información obtenida a través de los estudios generados desde entonces indican que los factores transcripcionales actúan de manera cooperativa para inducir la expresión tanto de la insulina como de otros genes importantes para la regulación y secreción de esta hormona de forma específica en la célula  $\beta$  (Figura 2), estableciendo y manteniendo así el fenotipo y la función de ésta.<sup>10,96</sup>

La investigación sobre el tema también ha revelado que los factores transcripcionales son regulados a través de varias vías de señalización y responden a diversos estímulos como la glucosa o el estrés oxidativo, y muy probablemente a otros nutrientes, como los ácidos grasos y las vitaminas.

Sin embargo, aún quedan por resolver varias interrogantes, entre ellas los mecanismos detallados por los cuales estos factores transcripcionales actúan sobre sus genes blanco, y la interrelación que existe entre la regulación de un solo gen por varios factores transcripcionales.

El estudio de los factores transcripcionales propios de la célula  $\beta$ , de su expresión y su regulación a distintos niveles, así como de su papel en este tipo celular han ayudado a comprender mejor los procesos de síntesis y secreción de insulina, la proliferación celular y el mantenimiento de su fenotipo adulto. Este conocimiento es de gran importancia para prevenir y/o corregir la falla de las células  $\beta$  característica de la diabetes mellitus, a través de la identificación y desarrollo de nuevos blancos terapéuticos.

## AGRADECIMIENTOS

María Luisa Lazo de la Vega-Monroy es becaria del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (número CVU/Becario: 217876/207055).

Trabajo apoyado por fondos del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (44266M), la Dirección General de Asuntos del Personal Académico (IN220908) y UC MEXUS (CNO7-87).

Agradecemos a la Dra. Cristina Revilla Monsalve y a la Dra. Marcia Hiriart Urdanivia por sus valiosas sugerencias en la revisión de este artículo.

## ABREVIATURAS UTILIZADAS

**AC:** Adenilato Ciclase.

**AldoB:** Aldolas A.

**AMPc:** Adenosín Monofosfato Cílico.

**BID:** DNA binding interference domain.

**bHLH:** basic Helix-Loop-Helix domain.

**CBP:** CREB binding protein.

**CREB:** cAMP response element binding protein.

**DM:** Diabetes Mellitus.

**ERK:** Extracellular signal-regulated kinase.

**Foxa2:** Forkhead box A protein 2.

**FOXO1:** Forkhead box 'Other' protein 1.

**FRE:** FoxO Response Element.

**GK:** Glucocinasa.

**GLP-1:** Glucagon-Like Peptide 1.

**GLP-1R:** Glucagon-Like Peptide 1 Receptor.

**GLUT1/2:** Transportador de glucosa 1/2.

**GRB2:** Growth factor receptor-bound protein 2.

**GRIP 1:** glutamate receptor interacting protein 1.

**GSK3:** Glycogen Synthase Kinase 3.

**HDAC:** Histone Deacetylase.

**HIPK2:** Homeodomain-interacting protein kinase 2.

**HNF:** Hepatic Nuclear Factor.

**IGF-1:** Insulin Growth Factor-1,

**IR:** Insulin Receptor,

**IRS:** Insulin Receptor substrate.

**JNK:** c-Jun N-terminal kinase.

**L-PK:** Piruvato cinasa.

**MafA:** v-maf musculoaponeurotic fibrosarcoma oncogene family, protein A.

**MAPK:** Mitogen Activated Protein Kinase.

**MODY:** Maturity Onset Diabetes of the Young.

**PC1/3:** prohoromona convertasa.

**PCbx:** Piruvato Carboxilasa.

**PDX1:** Pancreatic Duodenum Homeobox 1.

**PGC-1 $\alpha$ :** peroxisome proliferator-activated receptor- $\gamma$  co-activator 1 $\alpha$ .

**PHHI:** Persistent Hypoglycemic Hyperinsulinemia of Infancy.

**PI3K:** Fosfatidilinositol 3 cinasa.

**PKB/Akt:** Proteína cinasa B.

**PPAR:** Peroxisome Proliferator-Activated Receptor.

**SCHAD:** short-chain 3-hydroxyacyl-CoA dehydrogenase.

**Shc:** Src homology and collagen homology adapter protein.

**SRC-1:** Steroid Receptor Coactivator 1.

**TRP:** Transien Receptor Potential.

**UCP2:** Uncoupling protein 2.

## REFERENCIAS

- Zimmet P, Alberti KG, Shaw J. Global and societal implications of the diabetes epidemic. *Nature* 2001; 414(6865): 782-7.
- ADA. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes care* 2009; 32(Suppl. 1): S62-S67.
- Jarret JR. The epidemiology of diabetes mellitus. Insulin-dependent diabetes mellitus. Oxford: Blackwell Science; 1991.
- Hagman DK, Hays LB, Parazzoli SD, Poitout V. Palmitate inhibits insulin gene expression by altering PDX-1 nuclear localization and reducing MafA expression in isolated rat islets of Langerhans. *J Biol Chem* 2005; 280(37): 32413-8.
- Martinez SC, Cras-Meneur C, Bernal-Mizrachi E, Permutt MA. Glucose regulates Foxo1 through insulin receptor signaling in the pancreatic islet beta-cell. *Diabetes*. 2006; 55(6): 1581-91.
- Kawamori D, Kaneto H, Nakatani Y, et al. The forkhead transcription factor Foxo1 bridges the JNK pathway and the transcription factor PDX-1 through its intracellular translocation. *J Biol Chem* 2006; 281(2): 1091-8.
- Elrick LJ, Docherty K. Phosphorylation-dependent nucleocytoplasmic shuttling of pancreatic duodenal homeobox-1. *Diabetes* 2001; 50(10): 2244-52.
- Johnson JD, Bernal-Mizrachi E, Alejandro EU, et al. Insulin protects islets from apoptosis via Pdx1 and specific changes in the human islet proteome. *Proc Natl Acad Sci USA* 2006; 103(51): 19575-80.
- Gao Y, Miyazaki J, Hart GW. The transcription factor PDX-1 is post-translationally modified by O-linked N-acetylglucosamine and this modification is correlated with its DNA binding activity and insulin secretion in min6 beta-cells. *Arch Biochem Biophys*. 2003; 415(2): 155-63.
- Wang H, Brun T, Kataoka K, Sharma AJ, Wollheim CB. MAFA controls genes implicated in insulin biosynthesis and secretion. *Diabetologia* 2007; 50(2): 348-58.
- Ye DZ, Tai MH, Lanning KD, Szabo C, Olson LK. MafA expression and insulin promoter activity are induced by nicotinamide and related compounds in INS-1 pancreatic beta-cells. *Diabetes* 2006; 55(3): 742-50.
- Kim SK, Hebrok M. Intercellular signals regulating pancreas development and function. *Genes Dev* 2001; 15(2): 111-27.
- Hellerstrom C. The life story of the pancreatic B cell. *Diabetologia* 1984; 26(6): 393-400.
- Weir GC, Sharma A, Zangen DH, Bonner-Weir S. Transcription factor abnormalities as a cause of beta cell dysfunction in diabetes: a hypothesis. *Acta Diabetol* 1997; 34(3): 177-84.
- Rhodes CJ. Type 2 diabetes-a matter of beta-cell life and death? *Science* 2005; 307(5708): 380-4.
- De Vos A, Heimberg H, Quartier E, et al. Human and rat beta cells differ in glucose transporter but not in glucokinase gene expression. *J Clin Invest* 1995; 96(5): 2489-95.
- Fernandez Mejia C. Molecular basis of type-2 diabetes. In: Joseph-Bravo P (ed.). *Molecular Endocrinology*. Kerala, India: Signpost; 2006, p. 87-108.
- Hiriart M, Matteson DR. Na channels and two types of Ca channels in rat pancreatic B cells identified with the reverse hemolytic plaque assay. *J Gen Physiol*. 1988; 91(5): 617-39.
- Jacobson DA, Philipson LH. TRP channels of the pancreatic beta cell. *Handb Exp Pharmacol* 2007; 179: 409-24.
- Flat PR. The hormonal and neural control of endocrine pancreatic function. Oxford: Blackwell Science; 1996.
- Aikin R, Hanley S, Maysinger D, et al. Autocrine insulin action activates Akt and increases survival of isolated human islets. *Diabetologia* 2006; 49(12): 2900-09.
- Xu GG, Rothenberg PL. Insulin receptor signaling in the beta-cell influences insulin gene expression and insulin content: evidence for autocrine beta-cell regulation. *Diabetes* 1998; 47(8): 1243-52.
- Navarro-Tableros V, Sanchez-Soto MC, Garcia S, Hiriart M. Autocrine regulation of single pancreatic beta-cell survival. *Diabetes* 2004; 53(8): 2018-23.
- Song G, Ouyang G, Bao S. The activation of Akt/PKB signaling pathway and cell survival. *J Cell Mol Med* 2005; 9(1): 59-71.
- Kahn SE, Hull RL, Utzschneider KM. Mechanisms linking obesity to insulin resistance and type 2 diabetes. *Nature* 2006; 444(7121): 840-6.
- Sharp GW. The adenylate cyclase-cyclic AMP system in islets of Langerhans and its role in the control of insulin release. *Diabetologia* 1979; 16(5): 287-96.
- Baggio LL, Drucker DJ. Biology of incretins: GLP-1 and GIP. *Gastroenterology* 2007; 132(6): 2131-57.
- Kaneto H, Nakatani Y, Kawamori D, et al. Role of oxidative stress, endoplasmic reticulum stress, and c-Jun N-terminal kinase in pancreatic beta-cell dysfunction and insulin resistance. *Int J Biochem Cell Biol* 2006; 38(5-6): 782-93.
- Sperling S. Transcriptional regulation at a glance. *BMC Bioinformatics* 2007; 8(Suppl. 6): S2.
- Habener JF, Kemp DM, Thomas MK. Minireview: transcriptional regulation in pancreatic development. *Endocrinology* 2005; 146(3): 1025-34.
- Huang H, Tindall DJ. Dynamic FoxO transcription factors. *J Cell Sci* 2007; 120(Pt 15): 2479-87.
- Kitamura T, Nakae J, Kitamura Y, et al. The forkhead transcription factor Foxo1 links insulin signaling to Pdx1 regulation of pancreatic beta cell growth. *J Clin Invest* 2002; 110(12): 1839-47.
- Kitamura T, Ido Kitamura Y. Role of FoxO Proteins in Pancreatic beta Cells. *Endocr J* 2007; 54(4): 507-15.
- Del Guerra S, Lupi R, Marselli L, et al. Functional and molecular defects of pancreatic islets in human type 2 diabetes. *Diabetes* 2005; 54(3): 727-35.
- Nakae J, Kitamura T, Kitamura Y, Biggs WH, 3rd, Arden KC, Accili D. The forkhead transcription factor Foxo1 regulates adipocyte differentiation. *Dev Cell* 2003; 4(1): 119-29.
- Okamoto H, Hribal ML, Lin HV, Bennett WR, Ward A, Accili D. Role of the forkhead protein FoxO1 in beta cell compensation to insulin resistance. *J Clin Invest* 2006; 116(3): 775-82.
- Brunet A, Bonni A, Zigmond MJ, et al. Akt promotes cell survival by phosphorylating and inhibiting a Forkhead transcription factor. *Cell* 1999; 96(6): 857-68.
- Rena G, Woods YL, Prescott AR, et al. Two novel phosphorylation sites on FKHR that are critical for its nuclear exclusion. *Embo J* 2002; 21(9): 2263-71.
- Matsuzaki H, Daitoku H, Hatta M, Tanaka K, Fukamizu A. Insulin-induced phosphorylation of FKHR (Foxo1) targets to proteasomal degradation. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003; 100(20): 11285-90.

40. Motta MC, Divecha N, Lemieux M, et al. Mammalian SIRT1 represses forkhead transcription factors. *Cell* 2004; 116(4): 551-63.
41. Hatta M, Liu F, Cirillo LA. Acetylation curtails nucleosome binding, not stable nucleosome remodeling, by FoxO1. *Biochem Biophys Res Commun* 2009; 379(4): 1005-08.
42. Buteau J, Spatz ML, Accili D. Transcription factor FoxO1 mediates glucagon-like peptide-1 effects on pancreatic beta-cell mass. *Diabetes* 2006; 55(5): 1190-6.
43. Guz Y, Montminy MR, Stein R, et al. Expression of murine STF-1, a putative insulin gene transcription factor, in beta cells of pancreas, duodenal epithelium and pancreatic exocrine and endocrine progenitors during ontogeny. *Development* 1995; 121(1): 11-8.
44. Ahlgren U, Jonsson J, Jonsson L, Simu K, Edlund H. Beta-cell-specific inactivation of the mouse Ipf1/Pdx1 gene results in loss of the beta-cell phenotype and maturity onset diabetes. *Genes Dev* 1998; 12(12): 1763-8.
45. Stoffers DA, Ferrer J, Clarke WL, Habener JF. Early-onset type-II diabetes mellitus (MODY4) linked to IPF1. *Nat Genet* 1997; 17(2): 138-9.
46. Jonsson J, Carlsson L, Edlund T, Edlund H. Insulin-promoter-factor 1 is required for pancreas development in mice. *Nature* 1994; 371(6498): 606-9.
47. Brissova M, Shiota M, Nicholson WE, et al. Reduction in pancreatic transcription factor PDX-1 impairs glucose-stimulated insulin secretion. *J Biol Chem* 2002; 277(13): 11225-32.
48. Holland AM, Gómez LJ, Naselli G, Macdonald RJ, Harrison LC. Conditional expression demonstrates the role of the homeodomain transcription factor Pdx1 in maintenance and regeneration of beta-cells in the adult pancreas. *Diabetes* 2005; 54(9): 2586-95.
49. Jetton TL, Lausier J, LaRock K, et al. Mechanisms of compensatory beta-cell growth in insulin-resistant rats: roles of Akt kinase. *Diabetes* 2005; 54(8): 2294-304.
50. Kushner JA, Ye J, Schubert M, et al. Pdx1 restores beta cell function in Irs2 knockout mice. *J Clin Invest* 2002; 109(9): 1193-201.
51. Kulkarni RN, Jhala US, Winnay JN, Krajewski S, Montminy M, Kahn CR. PDX-1 haploinsufficiency limits the compensatory islet hyperplasia that occurs in response to insulin resistance. *J Clin Invest* 2004; 114(6): 828-36.
52. Chakrabarti SK, James JC, Mirmira RG. Quantitative assessment of gene targeting in vitro and in vivo by the pancreatic transcription factor, Pdx1. Importance of chromatin structure in directing promoter binding. *J Biol Chem* 2002; 277(15): 13286-93.
53. Raum JC, Gerrish K, Artner I, et al. FoxA2, Nkx2.2, and PDX-1 regulate islet beta-cell-specific mafA expression through conserved sequences located between base pairs -8118 and -7750 upstream from the transcription start site. *Mol Cell Biol* 2006; 26(15): 5735-43.
54. Thomas H, Jaschowitz K, Bulman M, et al. A distant upstream promoter of the HNF-4alpha gene connects the transcription factors involved in maturity-onset diabetes of the young. *Hum Mol Genet* 2001; 10(19): 2089-97.
55. Gauthier BR, Brun T, Sarret EJ, et al. Oligonucleotide microarray analysis reveals PDX1 as an essential regulator of mitochondrial metabolism in rat islets. *J Biol Chem* 2004; 279(30): 31121-30.
56. Wang H, Iezzi M, Theander S, et al. Suppression of Pdx-1 perturbs proinsulin processing, insulin secretion and GLP-1 signaling in INS-1 cells. *Diabetologia* 2005; 48(4): 720-31.
57. Olson LK, Redmon JB, Towle HC, Robertson RP. Chronic exposure of HIT cells to high glucose concentrations paradoxically decreases insulin gene transcription and alters binding of insulin gene regulatory protein. *J Clin Invest* 1993; 92(1): 514-9.
58. Gremlich S, Bonny C, Waeber G, Thorens B. Fatty acids decrease IDX-1 expression in rat pancreatic islets and reduce GLUT2, glucokinase, insulin, and somatostatin levels. *J Biol Chem* 1997; 272(48): 30261-9.
59. Peshavaria M, Henderson E, Sharma A, Wright CV, Stein R. Functional characterization of the transactivating properties of the PDX-1 homeodomain protein. *Mol Cell Biol* 1997; 17(7): 3987-96.
60. Docherty HM, Hay CW, Ferguson LA, Barrow J, Durward E, Docherty K. Relative contribution of PDX-1, MafA and E47/beta2 to the regulation of the human insulin promoter. *Biochem J* 2005; 389(Pt 3): 813-20.
61. Mosley AL, Corbett JA, Ozcan S. Glucose regulation of insulin gene expression requires the recruitment of p300 by the beta-cell-specific transcription factor Pdx-1. *Mol Endocrinol* 2004; 18(9): 2279-90.
62. Iype T, Francis J, Garmey JC, et al. Mechanism of insulin gene regulation by the pancreatic transcription factor Pdx-1: application of pre-mRNA analysis and chromatin immunoprecipitation to assess formation of functional transcriptional complexes. *J Biol Chem* 2005; 280(17): 16798-807.
63. Ben-Shushan E, Marshak S, Shoshkes M, Cerasi E, Melloul D. A pancreatic beta-cell-specific enhancer in the human PDX-1 gene is regulated by hepatocyte nuclear factor 3beta (HNF-3beta), HNF-1alpha, and SPs transcription factors. *J Biol Chem* 2001; 276(20): 17533-40.
64. Gupta D, Jetton TL, Mortensen RM, Zhong Duan S, Peshavaria M, Leahy JL. In vivo and in vitro studies of a functional peroxisome proliferator-activated receptor gamma response element in the mouse PDX-1 promoter. *J Biol Chem* 2008; 283: 32462-70.
65. Marshak S, Benshushan E, Shoshkes M, Havin L, Cerasi E, Melloul D. Functional conservation of regulatory elements in the pdx-1 gene: PDX-1 and hepatocyte nuclear factor 3beta transcription factors mediate beta-cell-specific expression. *Mol Cell Biol* 2000; 20(20): 7583-90.
66. Van Velkinburgh JC, Samaras SE, Gerrish K, Artner I, Stein R. Interactions between areas I and II direct pdx-1 expression specifically to islet cell types of the mature and developing pancreas. *J Biol Chem* 2005; 280(46): 38438-44.
67. Moede T, Leibiger B, Pour HG, Berggren P, Leibiger IB. Identification of a nuclear localization signal, RRMKWKK, in the homeodomain transcription factor PDX-1. *FEBS Lett* 1999; 461(3): 229-34.
68. Petersen HV, Peshavaria M, Pedersen AA, et al. Glucose stimulates the activation domain potential of the PDX-1 homeodomain transcription factor. *FEBS Lett* 1998; 431(3): 362-6.
69. Kishi A, Nakamura T, Nishio Y, Maegawa H, Kashiwagi A. Sumoylation of Pdx1 is associated with its nuclear localization and insulin gene activation. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2003; 284(4): E830-E840.
70. Khoo S, Griffen SC, Xia Y, Baer RJ, German MS, Cobb MH. Regulation of insulin gene transcription by ERK1 and ERK2 in pancreatic beta cells. *J Biol Chem* 2003; 278(35): 32969-77.
71. Boucher MJ, Selander L, Carlsson L, Edlund H. Phosphorylation marks IPF1/PDX1 protein for degradation by glycogen synthase kinase 3-dependent mechanisms. *J Biol Chem* 2006; 281(10): 6395-403.
72. Ferber S, Halkin A, Cohen H, et al. Pancreatic and duodenal homeobox gene 1 induces expression of insulin genes in liver and ameliorates streptozotocin-induced hyperglycemia. *Nat Med* 2000; 6(5): 568-72.
73. Glauser DA, Schlegel W. The emerging role of FOXO transcription factors in pancreatic beta cells. *J Endocrinol* 2007; 193(2): 195-207.

74. Gupta D, Leahy AA, Peshavaria M, Leahy JL. Novel Mechanism for Foxo1-Induced Regulation of Pdx-1 mRNA Expression in Mature Beta-Cells: Foxo1 Inhibition of PPAR-Gamma Transcription. *68th ADA Annual Scientific Sessions*. San Francisco, California: American Diabetes Association; 2008.
75. Carlsson P, Mahlapuu M. Forkhead transcription factors: key players in development and metabolism. *Dev Biol* 2002; 250(1): 1-23.
76. Gao N, LeLay J, Vatamaniuk MZ, Rieck S, Friedman JR, Kaestner KH. Dynamic regulation of Pdx1 enhancers by Foxa1 and Foxa2 is essential for pancreas development. *Genes Dev* 2008; 22(24): 3435-48.
77. Clark KL, Halay ED, Lai E, Burley SK. Co-crystal structure of the HNF-3/fork head DNA-recognition motif resembles histone H5. *Nature* 1993; 364(6436): 412-20.
78. Chaya D, Hayamizu T, Bustin M, Zaret KS. Transcription factor FoxA (HNF3) on a nucleosome at an enhancer complex in liver chromatin. *J Biol Chem* 2001; 276(48): 44385-9.
79. Cirillo LA, Lin FR, Cuesta I, Friedman D, Jarnik M, Zaret KS. Opening of compacted chromatin by early developmental transcription factors HNF3 (FoxA) and GATA-4. *Mol Cell* 2002; 9(2): 279-89.
80. Holmqvist PH, Belikov S, Zaret KS, Wrangle O. FoxA1 binding to the MMTV LTR modulates chromatin structure and transcription. *Exp Cell Res* 2005; 304(2): 593-603.
81. Weinstein DC, Ruiz i Altaba A, Chen WS, et al. The winged-helix transcription factor HNF-3 beta is required for notochord development in the mouse embryo. *Cell* 1994; 78(4): 575-88.
82. Lantz KA, Vatamaniuk MZ, Brestelli JE, Friedman JR, Matschinsky FM, Kaestner KH. Foxa2 regulates multiple pathways of insulin secretion. *J Clin Invest* 2004; 114(4): 512-20.
83. Palladino AA, Bennett MJ, Stanley CA. Hyperinsulinism in infancy and childhood: when an insulin level is not always enough. *Clin Chem* 2008; 54(2): 256-63.
84. Wang H, Gauthier BR, Hagenfeldt-Johansson KA, Iezzi M, Wollheim CB. Foxa2 (HNF3beta) controls multiple genes implicated in metabolism-secretion coupling of glucose-induced insulin release. *J Biol Chem* 2002; 277(20): 17564-70.
85. Boonsaen T, Rojvirat P, Surinya KH, Wallace JC, Jitrapakdee S. Transcriptional regulation of the distal promoter of the rat pyruvate carboxylase gene by hepatocyte nuclear factor 3beta/Foxa2 and upstream stimulatory factors in insulinoma cells. *Biochem J* 2007; 405(2): 359-67.
86. Gao N, White P, Doliba N, Golson ML, Matschinsky FM, Kaestner KH. Foxa2 controls vesicle docking and insulin secretion in mature Beta cells. *Cell Metab* 2007; 6(4): 267-79.
87. Zhang C, Moriguchi T, Kajihara M, et al. MafA is a key regulator of glucose-stimulated insulin secretion. *Mol Cell Biol* 2005; 25(12): 4969-76.
88. Kataoka K, Han SI, Shioda S, Hirai M, Nishizawa M, Handa H. MafA is a glucose-regulated and pancreatic beta-cell-specific transcriptional activator for the insulin gene. *J Biol Chem* 2002; 277(51): 49903-10.
89. Matsuoka TA, Kaneto H, Stein R, et al. MafA regulates expression of genes important to islet beta-cell function. *Mol Endocrinol* 2007; 21(11): 2764-74.
90. Zhao L, Guo M, Matsuoka TA, et al. The islet beta cell-enriched MafA activator is a key regulator of insulin gene transcription. *J Biol Chem* 2005; 280(12): 11887-94.
91. Han SI, Aramata S, Yasuda K, Kataoka K. MafA stability in pancreatic beta cells is regulated by glucose and is dependent on its constitutive phosphorylation at multiple sites by glycogen synthase kinase 3. *Mol Cell Biol* 2007; 27(19): 6593-605.
92. Shao C, Cobb MH. Sumoylation regulates the transcriptional activity of MafA in pancreatic beta cells. *J Biol Chem* 2009; 284(5): 3117-24.
93. Chae JH, Stein GH, Lee JE. NeuroD: the predicted and the surprising. *Mol Cells* 2004; 18(3): 271-88.
94. Naya FJ, Huang HP, Qiu Y, et al. Diabetes, defective pancreatic morphogenesis, and abnormal enteroendocrine differentiation in BETA2/neuroD-deficient mice. *Genes Dev* 1997; 11(18): 2323-34.
95. Kim JW, Seghers V, Cho JH, et al. Transactivation of the mouse sulfonylurea receptor 1 gene by BETA2/NeuroD. *Mol Endocrinol* 2002; 16(5): 1097-107.
96. Moates JM, Nanda S, Cissell MA, Tsai MJ, Stein R. BETA2 activates transcription from the upstream glucokinase gene promoter in islet beta-cells and gut endocrine cells. *Diabetes* 2003; 52(2): 403-8.
97. Qiu Y, Sharma A, Stein R. p300 mediates transcriptional stimulation by the basic helix-loop-helix activators of the insulin gene. *Mol Cell Biol* 1998; 18(5): 2957-64.
98. Sharma A, Moore M, Marcora E, et al. The NeuroD1/BETA2 sequences essential for insulin gene transcription colocalize with those necessary for neurogenesis and p300/CREB binding protein binding. *Mol Cell Biol* 1999; 19(1): 704-13.
99. Petersen HV, Jensen JN, Stein R, Serup P. Glucose induced MAPK signalling influences NeuroD1-mediated activation and nuclear localization. *FEBS Lett* 2002; 528(1-3): 241-5.
100. Andrali SS, Qian Q, Ozcan S. Glucose mediates the translocation of NeuroD1 by O-linked glycosylation. *J Biol Chem* 2007; 282(21): 15589-96.
101. Odom DT, Zilzlsperger N, Gordon DB, et al. Control of pancreas and liver gene expression by HNF transcription factors. *Science* 2004; 303(5662): 1378-81.
102. Boj SF, Parrizas M, Maestro MA, Ferrer J. A transcription factor regulatory circuit in differentiated pancreatic cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001; 98(25): 14481-6.
103. Fajans SS, Bell GI, Polonsky KS. Molecular mechanisms and clinical pathophysiology of maturity-onset diabetes of the young. *N Engl J Med* 2001; 345(13): 971-80.
104. Wang H, Maechler P, Hagenfeldt KA, Wollheim CB. Dominant-negative suppression of HNF-1alpha function results in defective insulin gene transcription and impaired metabolism-secretion coupling in a pancreatic beta-cell line. *Embo J* 1998; 17(22): 6701-13.
105. Parrizas M, Maestro MA, Boj SF, et al. Hepatic nuclear factor 1-alpha directs nucleosomal hyperacetylation to its tissue-specific transcriptional targets. *Mol Cell Biol* 2001; 21(9): 3234-43.
106. Ban N, Yamada Y, Someya Y, et al. Hepatocyte nuclear factor-1alpha recruits the transcriptional co-activator p300 on the GLUT2 gene promoter. *Diabetes* 2002; 51(5): 1409-18.
107. Lee YH, Sauer B, Gonzalez FJ. Laron dwarfism and non-insulin-dependent diabetes mellitus in the Hnf-1alpha knockout mouse. *Mol Cell Biol* 1998; 18(5): 3059-68.
108. Pontoglio M, Sreenan S, Roe M, et al. Defective insulin secretion in hepatocyte nuclear factor 1alpha-deficient mice. *J Clin Invest* 1998; 101(10): 2215-22.
109. Dukes ID, Sreenan S, Roe MW, et al. Defective pancreatic beta-cell glycolytic signaling in hepatocyte nuclear factor-1alpha-deficient mice. *J Biol Chem* 1998; 273(38): 24457-64.
110. Sladek FM, Zhong WM, Lai E, Darnell JE, Jr. Liver-enriched transcription factor HNF-4 is a novel member of the steroid hormone receptor superfamily. *Genes Dev* 1990; 4(12B): 2353-65.
111. Gupta RK, Vatamaniuk MZ, Lee CS, et al. The MODY1 gene HNF-4alpha regulates selected genes involved in insulin secretion. *J Clin Invest* 2005; 115(4): 1006-15.
112. Wang H, Maechler P, Antinozzi PA, Hagenfeldt KA, Wollheim CB. Hepatocyte nuclear factor 4alpha regulates the expression of pancreatic beta -cell genes implicated in glucose

- metabolism and nutrient-induced insulin secretion. *J Biol Chem* 2000; 275(46): 35953-9.
113. Stoffel M, Duncan SA. The maturity-onset diabetes of the young (MODY1) transcription factor HNF4alpha regulates expression of genes required for glucose transport and metabolism. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1997; 94(24): 13209-14.
  114. Bartoov-Shifman R, Hertz R, Wang H, Wollheim CB, Bar-Tana J, Walker MD. Activation of the insulin gene promoter through a direct effect of hepatocyte nuclear factor 4 alpha. *J Biol Chem* 2002; 277(29): 25914-9.
  115. Yoshida E, Aratani S, Itou H, et al. Functional association between CBP and HNF4 in trans-activation. *Biochem Biophys Res Commun* 1997; 241(3): 664-9.
  116. Wang JC, Stafford JM, Granner DK. SRC-1 and GRIP1 coactivate transcription with hepatocyte nuclear factor 4. *J Biol Chem* 1998; 273(47): 30847-50.
  117. Chen WS, Manova K, Weinstein DC, et al. Disruption of the HNF-4 gene, expressed in visceral endoderm, leads to cell death in embryonic ectoderm and impaired gastrulation of mouse embryos. *Genes Dev* 1994; 8(20): 2466-77.
  118. Sosa-Pineda B. The gene Pax4 is an essential regulator of pancreatic beta-cell development. *Mol Cells* 2004; 18(3): 289-94.
  119. Brun T, Gauthier BR. A focus on the role of Pax4 in mature pancreatic islet beta-cell expansion and survival in health and disease. *J Mol Endocrinol* 2008; 40(2): 37-45.
  120. Smith SB, Watada H, Scheel DW, Mrejen C, German MS. Autoregulation and maturity onset diabetes of the young transcription factors control the human PAX4 promoter. *J Biol Chem* 2000; 275(47): 36910-9.
  121. Smith SB, Ee HC, Conners JR, German MS. Paired-homeodomain transcription factor PAX4 acts as a transcriptional repressor in early pancreatic development. *Mol Cell Biol* 1999; 19(12): 8272-80.
  122. Brun T, Franklin I, St-Onge L, et al. The diabetes-linked transcription factor PAX4 promotes {beta}-cell proliferation and survival in rat and human islets. *J Cell Biol* 2004; 167(6): 1123-35.
  123. St-Onge L, Sosa-Pineda B, Chowdhury K, Mansouri A, Gruss P. Pax6 is required for differentiation of glucagon-producing alpha-cells in mouse pancreas. *Nature* 1997; 387(6631): 406-9.
  124. Wen JH, Chen YY, Song SJ, et al. Paired box 6 (PAX6) regulates glucose metabolism via proinsulin processing mediated by prohormone convertase 1/3 (PC1/3). *Diabetologia* 2008.
  125. Ashery-Padan R, Zhou X, Marquardt T, et al. Conditional inactivation of Pax6 in the pancreas causes early onset of diabetes. *Dev Biol* 2004; 269(2): 479-88.
  126. Samaras SE, Cissell MA, Gerrish K, Wright CV, Gannon M, Stein R. Conserved sequences in a tissue-specific regulatory region of the pdx-1 gene mediate transcription in Pancreatic beta cells: role for hepatocyte nuclear factor 3 beta and Pax6. *Mol Cell Biol* 2002; 22(13): 4702-13.
  127. Sander M, Neubuser A, Kalamaras J, Ee HC, Martin GR, German MS. Genetic analysis reveals that PAX6 is required for normal transcription of pancreatic hormone genes and islet development. *Genes Dev* 1997; 11(13): 1662-73.
  128. Mikkola I, Bruun JA, Bjorkoy G, Holm T, Johansen T. Phosphorylation of the transactivation domain of Pax6 by extracellular signal-regulated kinase and p38 mitogen-activated protein kinase. *J Biol Chem* 1999; 274(21): 15115-26.
  129. Kim EA, Noh YT, Ryu MJ, et al. Phosphorylation and transactivation of Pax6 by homeodomain-interacting protein kinase 2. *J Biol Chem* 2006; 281(11): 7489-97.
  130. Doyle MJ, Sussel L. Nkx2.2 regulates beta-cell function in the mature islet. *Diabetes* 2007; 56(8): 1999-2007.
  131. Cissell MA, Zhao L, Sussel L, Henderson E, Stein R. Transcription factor occupancy of the insulin gene in vivo. Evidence for direct regulation by Nkx2.2. *J Biol Chem* 2003; 278(2): 751-6.
  132. Watada H, Scheel DW, Leung J, German MS. Distinct gene expression programs function in progenitor and mature islet cells. *J Biol Chem* 2003; 278(19): 17130-40.
  133. Watada H, Mirmira RG, Leung J, German MS. Transcriptional and translational regulation of beta-cell differentiation factor Nkx6.1. *J Biol Chem* 2000; 275(44): 34224-30.
  134. Schisler JC, Jensen PB, Taylor DG, et al. The Nkx6.1 homeodomain transcription factor suppresses glucagon expression and regulates glucose-stimulated insulin secretion in islet beta cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 2005; 102(20): 7297-302.
  135. Iype T, Taylor DG, Ziesmann SM, Garmey JC, Watada H, Mirmira RG. The transcriptional repressor Nkx6.1 also functions as a deoxyribonucleic acid context-dependent transcriptional activator during pancreatic beta-cell differentiation: evidence for feedback activation of the nkkx6.1 gene by Nkx6.1. *Mol Endocrinol* 2004; 18(6): 1363-75.
  136. Mirmira RG, Watada H, German MS. Beta-cell differentiation factor Nkx6.1 contains distinct DNA binding interference and transcriptional repression domains. *J Biol Chem* 2000; 275(19): 14743-51.
  137. Taylor DG, Babu D, Mirmira RG. The C-terminal domain of the beta cell homeodomain factor Nkx6.1 enhances sequence-selective DNA binding at the insulin promoter. *Biochemistry* 2005; 44(33): 11269-78.
  138. Schisler JC, Fueger PT, Babu DA, et al. Stimulation of human and rat islet beta-cell proliferation with retention of function by the homeodomain transcription factor Nkx6.1. *Mol Cell Biol* 2008; 28(10): 3465-76.
  139. Moibi JA, Gupta D, Jetton TL, Peshavaria M, Desai R, Leahy JL. Peroxisome proliferator-activated receptor-gamma regulates expression of PDX-1 and NKX6.1 in INS-1 cells. *Diabetes* 2007; 56(1): 88-95.
  140. Furuyama T, Kitayama K, Shimoda Y, et al. Abnormal angiogenesis in Foxo1 (Fkhr)-deficient mice. *J Biol Chem* 2004; 279(33): 34741-9.
  141. Biggs WH, 3rd, Meisenhelder J, Hunter T, Cavenee WK, Arden KC. Protein kinase B/Akt-mediated phosphorylation promotes nuclear exclusion of the winged helix transcription factor FKHR1. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999; 96(13): 7421-6.
  142. Tang ED, Nunez G, Barr FG, Guan KL. Negative regulation of the forkhead transcription factor FKHR by Akt. *J Biol Chem* 1999; 274(24): 16741-6.
  143. Daitoku H, Hatta M, Matsuzaki H, et al. Silent information regulator 2 potentiates Foxo1-mediated transcription through its deacetylase activity. *Proc Natl Acad Sci USA* 2004; 101(27): 10042-7.
  144. Wang H, Maechler P, Ritz-Laser B, et al. Pdx1 level defines pancreatic gene expression pattern and cell lineage differentiation. *J Biol Chem* 2001; 276(27): 25279-86.
  145. Ohneda K, Mirmira RG, Wang J, Johnson JD, German MS. The homeodomain of PDX-1 mediates multiple protein-protein interactions in the formation of a transcriptional activation complex on the insulin promoter. *Mol Cell Biol* 2000; 20(3): 900-11.
  146. Mosley AL, Ozcan S. The pancreatic duodenal homeobox-1 protein (Pdx-1) interacts with histone deacetylases Hdac-1 and Hdac-2 on low levels of glucose. *J Biol Chem* 2004; 279(52): 54241-7.
  147. Gerrish K, Gannon M, Shih D, et al. Pancreatic beta cell-specific transcription of the pdx-1 gene. The role of conserved upstream control regions and their hepatic nuclear factor 3beta sites. *J Biol Chem* 2000; 275(5): 3485-92.

148. Gerrish K, Cissell MA, Stein R. The role of hepatic nuclear factor 1 alpha and PDX-1 in transcriptional regulation of the pdx-1 gene. *J Biol Chem* 2001; 276(51): 47775-84.
149. Shih DQ, Heimesaat M, Kuwajima S, Stein R, Wright CV, Stoffel M. Profound defects in pancreatic beta-cell function in mice with combined heterozygous mutations in Pdx-1, Hnf-1alpha, and Hnf-3beta. *Proc Natl Acad Sci USA* 2002; 99(6): 3818-23.
150. Pani L, Overdier DG, Porcella A, Qian X, Lai E, Costa RH. Hepatocyte nuclear factor 3 beta contains two transcriptional activation domains, one of which is novel and conserved with the *Drosophila* fork head protein. *Mol Cell Biol* 1992; 12(9): 3723-32.
151. Qian X, Costa RH. Analysis of hepatocyte nuclear factor-3 beta protein domains required for transcriptional activation and nuclear targeting. *Nucleic Acids Res* 1995; 23(7): 1184-91.
152. Baroukh N, Ravier MA, Loder MK, et al. MicroRNA-124a regulates Foxa2 expression and intracellular signaling in pancreatic beta-cell lines. *J Biol Chem* 2007; 282(27): 19575-88.
153. Aramata S, Han SI, Kataoka K. Roles and regulation of transcription factor MafA in islet beta-cells. *Endocr J* 2007; 54(5): 659-66.
154. Kataoka K, Noda M, Nishizawa M. Maf nuclear oncoprotein recognizes sequences related to an AP-1 site and forms heterodimers with both Fos and Jun. *Mol Cell Biol* 1994; 14(1): 700-12.
155. Kerppola TK, Curran T. A conserved region adjacent to the basic domain is required for recognition of an extended DNA binding site by Maf/Nrl family proteins. *Oncogene* 1994; 9(11): 3149-58.
156. Naya FJ, Stellrecht CM, Tsai MJ. Tissue-specific regulation of the insulin gene by a novel basic helix-loop-helix transcription factor. *Genes Dev* 1995; 9(8): 1009-19.
157. Wang H, Hagenfeldt-Johansson K, Otten LA, Gauthier BR, Herrera PL, Wollheim CB. Experimental models of transcription factor-associated maturity-onset diabetes of the young. *Diabetes* 2002; 51(Suppl. 3): S333-S342.
158. Hansen SK, Parrizas M, Jensen ML, et al. Genetic evidence that HNF-1alpha-dependent transcriptional control of HNF-4alpha is essential for human pancreatic beta cell function. *J Clin Invest* 2002; 110(6): 827-33.
159. Azzout-Marniche D, Becard D, Guichard C, Foretz M, Ferre P, Foufelle F. Insulin effects on sterol regulatory-element-binding protein-1c (SREBP-1c) transcriptional activity in rat hepatocytes. *Biochem J* 2000; 350(2): 389-93.
160. Miura A, Yamagata K, Kakei M, et al. Hepatocyte nuclear factor-4alpha is essential for glucose-stimulated insulin secretion by pancreatic beta-cells. *J Biol Chem* 2006; 281(8): 5246-57.
161. Miquerol L, Lopez S, Cartier N, Tulliez M, Raymondjean M, Kahn A. Expression of the L-type pyruvate kinase gene and the hepatocyte nuclear factor 4 transcription factor in exocrine and endocrine pancreas. *J Biol Chem* 1994; 269(12): 8944-51.
162. Sosa-Pineda B, Chowdhury K, Torres M, Oliver G, Gruss P. The Pax4 gene is essential for differentiation of insulin-producing beta cells in the mammalian pancreas. *Nature* 1997; 386(6623): 399-402.
163. Petersen HV, Jorgensen MC, Andersen FG, et al. Pax4 represses pancreatic glucagon gene expression. *Mol Cell Biol Res Commun* 2000; 3(4): 249-54.
164. Kalousova A, Benes V, Paces J, Paces V, Kozmik Z. DNA binding and transactivating properties of the paired and homeobox protein Pax4. *Biochem Biophys Res Commun* 1999; 259(3): 510-8.
165. Campbell SC, Cragg H, Elrick LJ, Macfarlane WM, Shennan KI, Docherty K. Inhibitory effect of pax4 on the human insulin and islet amyloid polypeptide (IAPP) promoters. *FEBS Lett* 1999; 463(1-2): 53-7.
166. Wang Q, Elghazi L, Martin S, et al. Ghrelin is a novel target of Pax4 in endocrine progenitors of the pancreas and duodenum. *Dev Dyn* 2008; 237(1): 51-61.
167. Smith SB, Gasa R, Watada H, Wang J, Griffen SC, German MS. Neurogenin3 and hepatic nuclear factor 1 cooperate in activating pancreatic expression of Pax4. *J Biol Chem* 2003; 278(40): 38254-9.
168. Ding J, Gao Y, Zhao J, et al. Pax6 haploinsufficiency causes abnormal metabolic homeostasis by down-regulating glucagon-like peptide 1 in mice. *Endocrinology* 2009; 150(5): 2136-44.
169. Ritz-Laser B, Estreicher A, Klages N, Saule S, Philippe J. Pax-6 and Cdx-2/3 interact to activate glucagon gene expression on the G1 control element. *J Biol Chem* 1999; 274(7): 4124-32.
170. Hussain MA, Habener JF. Glucagon gene transcription activation mediated by synergistic interactions of pax-6 and cdx-2 with the p300 co-activator. *J Biol Chem* 1999; 274(41): 28950-7.
171. Marsich E, Vetere A, Di Piazza M, Tell G, Paoletti S. The PAX6 gene is activated by the basic helix-loop-helix transcription factor NeuroD/BETA2. *Biochem J* 2003; 376(3): 707-15.
172. Zheng JB, Zhou YH, Maity T, Liao WS, Saunders GF. Activation of the human PAX6 gene through the exon 1 enhancer by transcription factors SEF and Sp1. *Nucleic Acids Res* 2001; 29(19): 4070-8.
173. Sussel L, Kalamaras J, Hartigan-O'Connor DJ, et al. Mice lacking the homeodomain transcription factor Nkx2.2 have diabetes due to arrested differentiation of pancreatic beta cells. *Development* 1998; 125(12): 2213-21.
174. Doyle MJ, Loomis ZL, Sussel L. Nkx2.2-repressor activity is sufficient to specify alpha-cells and a small number of beta-cells in the pancreatic islet. *Development* 2007; 134(3): 515-23.
175. Sander M, Sussel L, Conners J, et al. Homeobox gene Nkx6.1 lies downstream of Nkx2.2 in the major pathway of beta-cell formation in the pancreas. *Development* 2000; 127(24): 5533-40.

*Reimpresos:*

**Q.F.B. Ma. Luisa Lazo-de-la-Vega-Monroy**

Unidad de Genética de la Nutrición  
Instituto de Investigaciones Biomédicas,  
Universidad Nacional Autónoma de México  
Av. del Imán No. 1 4o. piso  
Col. Insurgentes Cuicuilco  
04530, México, D.F.  
Tel.: 5622-6420 y 5622-6421 Fax: 5606-3489  
Correo electrónico: marialuisaqfb@yahoo.com.mx

Recibido el 14 de abril de 2009.

Aceptado el 19 de agosto de 2009.