

TINJAUAN PUSTAKA

Mekanisme Molekuler dari Resistensi Insulin pada Diabetes Melitus Tipe Dua

Eva Decroli¹, Guptaja Kusumah Nagara², Alexander Kam³

1. *Bagian Ilmu Penyakit Dalam, Fakultas Kedokteran, Universitas Andalas/RSUP Dr. M.Djamil Padang*

Korespondensi: *Eva decroli;evadecroli@med.unand.ac.id*

Abstrak

Tujuan: Untuk mengetahui mekanisme molekuler dari resistensi insulin pada diabetes melitus tipe dua. **Metode:** Artikel ini ditulis berdasarkan studi kepustakaan yang berhubungan dengan mekanisme molekuler dari resistensi insulin pada diabetes melitus tipe dua. **Hasil:** Banyak molekul yang terlibat dalam pengolahan intraseluler dari *insulin signaling* yang diperankan oleh insulin, IRS-2, PKB, protein Foxo dan P85 subunit PI-3 kinase. Disfungsi-disfungsi dari molekul ini menyebabkan resistensi insulin in vivo. Identifikasi defek signaling dan pemahaman hubungan kompleks dari faktor yang berbeda dalam memodulasi sensitivitas insulin yang merupakan prasyarat penting untuk pengembangan senyawa anti-diabetes baru dan lebih spesifik. **Simpulan:** Dengan menjelaskan mekanisme molekuler pada *insulin signaling* yang bertanggung jawab untuk resistensi insulin, dapat dipahami sebagian besar dari resistensi insulin secara molekuler

Kata kunci: diabetes melitus; resistensi insulin; *insulin signaling*; substrat insulin; reseptor insulin

Abstract

Objective: To determine the molecular mechanism of insulin resistance in type two diabetes mellitus. **Method:** This article was written based on a literature study relating to the molecular mechanism of insulin resistance in type two diabetes mellitus. **Results:** Many molecules are involved in intracellular processing of insulin signaling which is played by insulin, IRS-2, PKB, Foxo protein and P85 PI-3 kinase subunits. Dysfunctions of this molecule cause insulin resistance in vivo. Identification of signaling defects and understanding of complex relationships of different factors in modulating insulin sensitivity which are important prerequisites for the development of new and more specific anti-diabetic compounds. **Conclusion:** By explaining the molecular mechanism of insulin signaling which is responsible for insulin resistance, it can be understood the most of insulin resistance molecular mechanism.

Keywords: diabetes mellitus; insulin resistance; *insulin signaling*; substrate insulin; insulin receptor

PENDAHULUAN

Diabetes melitus merupakan kelainan endokrin yang paling sering ditemukan, saat ini mengenai 170 juta orang di seluruh dunia dan secara potensial akan mengenai lebih 365 juta orang pada tahun 2030.¹ Diabetes mellitus tipe 2 (DMT2) menjadi satu dari tantangan kesehatan global di abad 21, karena akan memicu peningkatan komplikasi yang dihubungkan dengan diabetes, seperti penyakit jantung iskemia, stroke, neuropati, retinopati, dan nefropati.^{2,3} Secara klinis, makna resistensi insulin adalah adanya konsentrasi insulin yang lebih tinggi dari normal yang dibutuhkan untuk mempertahankan normoglikemia. Pada tahap seluler, hal ini maksudnya adalah adanya kemampuan yang tidak adekuat dari *insulin signaling* dari reseptor insulin terhadap zat pada proses aksi insulin.⁴

Meskipun sekuensi patofisiologi yang tepat yang menyebabkan resistensi insulin masih belum banyak diketahui, tetapi pemahaman yang detail dari *insulin signaling* sudah memberikan pemahaman yang memadai tentang resistensi insulin secara molekuler.⁵

METODE

Artikel ini ditulis berdasarkan studi kepustakaan yang berhubungan dengan mekanisme molekuler dari resistensi insulin pada diabetes melitus tipe dua.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Insulin signaling yang normal

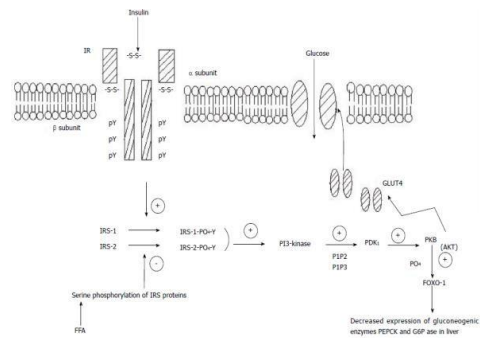
Insulin receptor (IR) adalah suatu heterotetramer yang terdiri dari dua subunit alfa dan dua subunit beta yang dihubungkan oleh ikatan disulfida. Insulin berikatan dengan subunit alfa dari IR dan mengaktifkan tirosin kinase di subunit beta. Ketika tirosin kinase teraktivasi, akan menyebabkan autofosforilasi dari subunit beta, dimana fosforilasi dari 3 residu tirosin (Tyr-1158, Tyr-1162, dan Tyr-1163) dibutuhkan untuk amplifikasi aktivitas kinase.⁶ Kebanyakan dari efek metabolik dan antiapoptosis insulin dimediasi oleh jalur sinyal yang mengikutsertakan fosforilasi dari protein *insulin receptor substrate* (IRS) dan aktivasi *phosphatidylinositol* (PI) 3-kinase, Akt (lebih dikenal dengan protein kinase B), *molecular target of rapamycin* (mTOR), dan p70 S6 kinase.

Tirosin kinase IR memfosforilasi protein IRS, dan residu phosphotyrosine pada protein IRS menjadi target yang baik untuk p85 *regulatory* subunit dari PI3 kinase. PI3 kinase yang teraktivasi menghasilkan 3'-phosphoinositides *phosphatidyl-inositol-3,4-bisphosphate* (PIP2) dan *phosphatidyl-inositol-3,4,5 trisphosphate* (PIP3), yang berikatan dengan *phosphoinositide-dependent kinase 1* (PDK1). Substrat yang dikenal dari PDKs adalah protein kinase B (PKB) dan juga bentuk atipikal dari protein kinase C (PKC).⁷

Protein Kinase B (PKB)

Hasil akhir dari PI3-kinase, serin/threonine kinase Akt (yang dikenal dengan PKB), memicu efek insulin di hati, seperti sintesis glikogen dan supresi produksi glukosa hati. Akt memainkan peranan penting dengan menghubungkan transporter glukosa (GLUT4), protein transporter glukosa *insulin-dependent*, kepada jalur *insulin signaling*. Akt mengaktifasi GLUT4 yang bergerak ke permukaan sel untuk mentransportasikan glukosa ke dalam sel. Data terbaru dari model hewan coba PKB-*knockout* menawarkan jawaban yang lebih jelas terhadap pertanyaan apakah PKB dibutuhkan untuk homeostasis glukosa normal.⁸ Ketika gangguan PKB/Akt1 isoform pada tikus tidak menyebabkan gangguan metabolisme yang signifikan, tikus-tikus dengan PKB (Akt2) isoform memperlihatkan resistensi insulin, dan berakhir dengan DMT2 yang persisten secara fenotip pada manusia.

Secara konsisten, studi terbaru pada mutasi post-reseptor insulin yang didapat pada manusia mendeteksi adanya mutasi domain kinase dari PKB (Akt2) pada keluarga dengan pasien-pasien resistensi insulin yang berat. Mutant kinase tidak mampu memfosforilasi target dan memediasi inhibisi dari *phosphoenolpyruvate carboxykinase* (PEPCK), enzim kunci glukoneogenik. Hal ini menggambarkan adanya gangguan dari aktivitas insulin yang menyebabkan resistensi insulin yang berhubungan dengan defek *insulin signaling*. Jalur *insulin signaling* ditunjukkan di Gambar 1.⁹



Gambar 1. Jalur *insulin signaling*

Mutasi protein IRS

Pada manusia, mutasi protein IRS-1 dihubungkan dengan resistensi insulin. Gangguan gen IRS-1 pada tikus percobaan menyebabkan resistensi insulin, terutama di otot dan lemak.¹⁰ Hasil yang menarik didapat dengan mempelajari IRS pada tikus *knockout*. Tikus *knockout* heterozigot yang kekurangan alel tunggal kekurangan fenotip yang signifikan, sebaliknya disrupsi homozigot dari gen IRS-1 menyebabkan bentuk ringan resistensi insulin. Tikus dengan gangguan homozigot IRS-1 tidak memperlihatkan ekspresi fenotip diabetes yang jelas, diduga karena adanya kompensasi sel beta pankreas. Tikus dengan IRS-2^{-/-} di lain pihak mengalami diabetes sebagai dampak dari resistensi insulin yang berat yang disertai dengan kegagalan fungsi sel beta.^{6,11}

Peningkatan fosforilasi serin dari protein IRS

Fosforilasi serin dari protein IRS dapat mengurangi kemampuan protein IRS untuk menarik PI3-kinase, sehingga meminimalkan aktivasi dan juga dapat menyebabkan dipercepat degradasi IRS-1 protein.¹² Fosforilasi serin ini pada

gilirannya menurunkan fosforilasi tirosin IRS-1, dan merusak efektor hilir. Serin fosforilasi protein IRS dapat terjadi sebagai respon terhadap jumlah serin kinase intraseluler.¹³

Fosforilasi hiper-serin dari IRS-1 pada Ser³⁰², Ser³⁰⁷, Ser⁶¹², dan Ser⁶³² di beberapa model tikus resisten insulin serta pada pasien insulin resisten muda dan ramping dengan orangtua menderita DMT2. Bukti lebih lanjut untuk hipotesis ini berasal dari studi terbaru di *muscle-specific triple serine* untuk tikus mutan alanin (IRS-1 Ser → Ala³⁰², Ser → Ala³⁰⁷, dan Ser → Ala⁶¹²), yang telah terbukti dilindungi dari resistensi insulin yang dicetuskan diet tinggi lemak *in vivo*.^{12,13}

Berdasarkan penelitian *in vitro*, fosforilasi serin dapat menyebabkan pemisahan antara reseptor insulin/IRS-1 dan /atau IRS-1/PI3-kinase, mencegah aktivasi PI3-kinase atau meningkatkan degradasi IRS-1. Hal lain yang menyebabkan disfungsi IRS di otot rangka terhadap biologi dan lipotoksisitas adiposit di antaranya adalah asam lemak bebas (*free fatty acid*/ FFA) yang bersirkulasi dan *tumor necrosis factor* (TNF) adipokine yang dapat meningkatkan fosforilasi serin protein IRS, sehingga menyebabkan gangguan transduksi *insulin signaling*.^{12,13}

Forkhead box protein O-1

Fasting hyperglycemia pada pasien DMT2 terkait dengan meningkatnya produksi glukosa oleh hati karena resistensi insulin. Ini disebabkan kurangnya penghambatan dua enzim kunci glukoneogenik, yaitu PEPCK dan glukosa-6-

fosfatase (G6Pase) subunit katalitik. Telah terbukti bahwa protein *forkhead protein box O* (Foxo) secara kritis terlibat dalam regulasi insulin dependen dari ekspresi gen glukoneogenik dan resistensi insulin *in vivo*. Transkripsi dari gen reporter yang mengandung elemen respon insulin dari PEPCK dan promotor G6Pase diatur oleh Foxo-1 dan 3. Selanjutnya, Foxo1 terfosforilasi oleh Akt. Aktivitas yang berkurang dari Akt2 disebabkan karena menurunnya fosforilasi protein Foxo untuk memasuki nukleus dan mengaktifkan enzim-enzim transkripsi guna mengontrol glukoneogenesis.^{14,15}

PI3 Kinase

Mekanisme molekular yang secara potensial dapat menyebabkan resistensi insulin adalah gangguan keseimbangan antara jumlah subunit PI3 kinase. Famili PI3 kinase dibagi ke dalam 3 kelas berbeda, yaitu kelas 1a muncul sebagai heterodimers, terdiri dari subunit p85, yang secara kuat diasosiasikan dengan subunit katalitik, dan p110. Biasanya, subunit muncul pada stoikiometri melebihi yang katalitik, mengakibatkan *pool* monomer P85 bebas yang tidak terkait dengan katalitik subunit P110.¹⁶ Seharusnya terjadi suatu keseimbangan antara monomer P85 bebas dan P85-P110 heterodimer, dimana P85-P110 yang bertanggung jawab untuk aktivitas PI3-kinase. Karena monomer P85 dan P85-P110 heterodimer bersaing untuk berikatan di tempat yang sama pada protein IRS terfosforilasi tirosin, maka terjadilah suatu ketidakseimbangan yang menyebabkan peningkatan ataupun

penurunan aktivitas PI3-kinase. Pada obesitas, DMT2 dan *overfeeding* jangka pendek pada perempuan non-diabetes non-obese, ditemukan keadaan ketidakseimbangan fosforilasi seperti di atas. Selain itu, resistensi insulin yang dipicu kehamilan mungkin disebabkan karena meningkatnya ekspresi P85 otot rangka sebagai respon peningkatan konsentrasi hormon pertumbuhan plasenta manusia. Lebih lanjut lagi, pada wanita yang tetap mengalami resistensi insulin postpartum didapatkan kadar P85 yang lebih tinggi di jaringan otot mereka.^{17,18}

Protein Kinase C (PKC)

Mekanisme yang mendasari gangguan *insulin signaling* yang dipicu FFA masih belum jelas. Mekanisme molekular yang mendasari kecacatan aktivitas transport glukosa yang dipicu oleh insulin dapat dihubungkan dengan peningkatan metabolit intramioseluler lipid seperti *fatty acyl CoAs* dan *diacylglycerol* (DAG), yang mengaktifkan kaskade serin/threonine kinase, dan selanjutnya menyebabkan defek *insulin signaling* melalui fosforilasi Ser/Thr dari IRS-1. DAG telah menunjukkan peningkatan pada otot selama infus lipid dan pengasupan lemak dan juga suatu aktivator yang telah dikenal dari isoform PKC. Beberapa isoform novel PKC mewakili molekul sinyal.¹⁹ Isoform PKC diklasifikasikan sebagai klasik (cPKC α , β , β II, γ), novel (nPKC δ , ϵ , θ , η) atau atipikal (aPKC ζ , λ). cPKCs diaktifkan oleh Ca²⁺ dan DAG, nPKCs diaktifkan hanya dengan DAG dan aPKCs tidak berespon baik dengan Ca²⁺

atau DAG. Di antara semua Isoform PKC, nPKCs dikatakan memiliki peran modulasi pada *insulin signaling*. Laporan terbaru juga menunjukkan hubungan antara nPKCs dan resistensi insulin yang dipicu FFA; infus lipid pada tikus dan manusia dengan gangguan pembuangan glukosa ke dalam otot yang dirangsang insulin secara konkmitan mengaktifkan PKC θ dan PKC δ . Yang terakhir ini telah terbukti untuk menjadi calon yang mungkin untuk fosforilasi IR pada residu serin, sehingga timbul cacat pada jalur sinyal insulin dan terjadinya resistensi insulin.^{20,21}

Secara jelas, IR merupakan salah satu target utama pada gangguan aktivitas insulin yang dipicu FFA. Hal ini menunjukkan mekanisme di mana akumulasi asam lemak atau metabolitnya intraseluler menyebabkan penurunan sinyal melalui IRS/ PI3-kinase dan penurunan perekrutan transporter GLUT4 untuk membran sel.^{20,21}

PDK1 bisa langsung memfosforilasi semua PKCs termasuk nPKCs. PKC ϵ isotipe terkait dengan resistensi insulin. PKC ϵ juga menunjukkan fosforilasi PDK1 tidak tergantung FFA. Hal ini disebabkan fosforilasi konstitutif dari PKC ϵ oleh FFA. Fosforilasi ini adalah independen total dari PDK1, yang mana ditunjukkan oleh peneliti dengan menggunakan sel PDK1 *knockout*.^{19,20} Dengan cara yang sama, penambahan palmitat ke sel otot rangka atau adiposit dapat mempengaruhi *palmitoylation* dari PKC ϵ , menghasilkan fosforilasi konstitutif PKC ϵ . Jelas bahwa FFA menyebabkan fosforilasi PDK1-independen dari PKC ϵ , yang pada gilirannya translokasi

ke nukleus, dan waktu masuk ke dalam nukleus bertepatan dengan penghambatan transkripsi gen IR.^{20,21}

Mekanisme molekuler dari inhibisi transkripsi gen IR

Untuk memahami dasar molekuler dari peraturan IR ekspresi gen, harus diketahui pula gen promotornya. Gen promotor terdiri dari dua sekuensi AT yang unik, C2 dan E3, dan kedua urutan ini diatur oleh faktor transkripsi HMGA1.²² HMGA1 berinteraksi dengan daerah yang kaya akan AT dan mengatur aktivasi transkripsi banyak gen dengan memodifikasi konformasi DNA, yang memungkinkan perekrutan faktor transkripsi ke tempat awal transkripsi. HMGA1 menginduksi aktivasi transkripsi dari gen IR manusia dengan merekrut SP1 dan cEBP β , faktor transkripsi, ke daerah promotor. Cacat genetik yang mengurangi ekspresi intraseluler dari protein HMGA1 dapat mempengaruhi ekspresi IR dalam sel dan jaringan dari subjek dengan resistensi insulin dan DMT2. Ada juga kemungkinan bahwa PKC ϵ yang teraktivasi memfosforilasi HMGA1, yang menghambat mobilisasi untuk daerah promotor gen IR. Fosforilasi protein HMGA1 mengurangi kemampuan DNA-binding. Tanpa mobilisasi HMGA1 ke gen promotor IR, tidak ada perekrutan faktor transkripsi tambahan sehingga tidak ada ekspresi gen IR.^{23,24}

PPAR co-aktivator-1 (PGC1)

PPAR co-aktivator-1 (PGC-1) memainkan peran utama dalam

homeostasis glukosa pada organisme. PGC1 menunjukkan peran penting dalam pengaturan ekspresi gen GLUT4 dalam sel otot. PGC-1 secara kuat menginduksi ekspresi gen GLUT4 endogen di *myotubes*, menghasilkan ekspresi yang terlihat pada otot secara in vivo. Selain itu, PGC-1, suatu faktor yang mengintegrasikan efek glukokortikoid dan cAMP pada ekspresi gen glukoneogenik dalam hati, juga diatur oleh Akt dan Foxo-1. PGC-1 juga mungkin memainkan peran dalam peraturan gen yang terlibat dalam proses fosforilasi oksidatif yang biasanya menunjukkan ekspresi yang berkurang dalam otot-otot pasien diabetes.^{5,6,25}

Penyebab lain dari IR

Disfungsi mitokondria yang berat dapat mengakibatkan diabetes. Pada resistensi insulin otot yang berat, sekitar 40% pengurangan di aktivitas tingkat fosforilasi oksidatif berhubungan dengan peningkatan kadar lemak intramioseluler dan intrahepatik. Penurunan fungsi mitokondria terkait dengan penuaan mempredisposisi subjek lansia terhadap akumulasi lipid intramioseluler, yang menghasilkan resistensi insulin. Selanjutnya, ditemukan bahwa kepadatan mitokondria berkurang sebesar 38%, kadar lemak intramioseluler meningkat sebesar 60% dan serin fosforilasi IRS-1 meningkat sebesar 50% pada anak muda dengan resistensi insulin yang memiliki orang tua DMT2.^{11,12,26}

Insulin memiliki tiga sasaran utama jaringan – otot skeletal, jaringan adiposa dan hati. IR diekspresikan tidak hanya pada

3 sel-sel di atas, tetapi juga di tempat di mana glukosa dideposit dan disimpan.¹⁹ Sekitar 75% dari pembuangan glukosa postprandial *insulin-dependent* terjadi ke skeletal otot; sehingga merupakan organ target utama. Pasien yang menderita resistensi insulin dan DMT2 sering menampilkan tanda-tanda metabolisme lipid yang abnormal, peningkatan konsentrasi lipid dalam darah dan deposit lipid yang meningkat dalam rangka otot.¹⁸ Peningkatan FFA plasma mengurangi *uptake* glukosa yang distimuli insulin, sedangkan penurunan kadar lemak plasma meningkatkan aktivitas insulin dalam sel otot rangka, jaringan adiposa dan hati. Peningkatan plasma asam lemak mengurangi aktivasi insulin dari aktivitas PI3-kinase yang terkait IRS-1 di otot rangka.²⁷

Jaringan adiposa juga bertindak sebagai organ endokrin yang memproduksi adipokin yang memodulasi homeostasis glukosa. Beberapa adipokin yang sering dibahas adalah TNF- α , leptin, adiponektin dan resistin. Pada tingkat molekul, TNF- α meningkatkan fosforilasi serin IRS-1 dan *downregulates* ekspresi GLUT4, sehingga berkontribusi terhadap resistensi insulin.^{19,28} Leptin berperan dalam pengaturan asupan makanan dan pengeluaran energi. Manusia dengan defisiensi leptin atau gangguan reseptor leptin akan menderita obesitas yang berat. Leptin juga memiliki efek langsung pada sensitivitas insulin dan juga dapat memutarbalikkan resistensi insulin pada tikus dengan lipodistrofi bawaan.²⁹ Adiponektin memiliki efek *insulin-*

sensitizing, seperti meningkatkan penghambatan produksi glukosa hepatic serta penyerapan glukosa dan pemanfaatan glukosa lemak dan otot. Ekspresi adiponektin menurun pada manusia dan tikus obese. Dengan demikian, pada manusia tingkat adiponektin berkorelasi dengan sensitivitas insulin.³⁰ Karena efek antagonisnya terhadap insulin, maka resistin telah menarik banyak perhatian untuk penelitian terutama preklinik. Resistin menurunkan transportasi glukosa *insulin-dependent in vitro* dan meningkatkan konsentrasi glukosa darah puasa dan produksi glukosa hepatic *in vivo*.³¹

SIMPULAN

Dalam ulasan ini, telah disimpulkan perkembangan molekuler terbaru yang berkontribusi terhadap pemahaman kita tentang resistensi insulin, dan patogenesis DMT2. Beberapa molekul yang terlibat dari *insulin signaling* diperankan oleh insulin, IRS-2, PKB, protein Foxo dan P85 subunit PI-3 kinase, karena disfungsi-disfungsi tersebut menyebabkan resistensi insulin *in vivo*. Identifikasi defek *signaling* dan pemahaman hubungan kompleks dari faktor yang berbeda memodulasi sensitivitas insulin yang merupakan prasyarat penting untuk pengembangan senyawa anti-diabetes baru dan lebih spesifik. Dengan menjelaskan mekanisme molekuler pada *insulin signaling* yang bertanggung jawab untuk resistensi insulin, dapat dipahami sebagian besar dari resistensi insulin secara molekuler.

DUKUNGAN FINANSIAL

-

DAFTAR PUSTAKA

1. Decroli E. Diabetes Melitus Tipe 2. Padang: Pusat Penerbitan Bagian Ilmu Penyakit Dalam Fakultas Kedokteran Universitas Andalas; 2019.
2. Decroli E, Kam A, Dillasamola D. The percentage of depressive symptoms in patients with type 2 diabetes mellitus in M Djamil General Hospital Padang, Indonesia. *Journal of Research in Pharmacy*. 2019;23(2):292-297.
3. Decroli E, Manaf A, Syahbuddin S, Syafrita Y, Dillasamola D. The Correlation between Malondialdehyde and Nerve Growth Factor Serum level with Diabetic Peripheral Neuropathy Score. *Open Access Maced J Med Sci*. 2019;7(1):103-106.
4. Decroli E, Manaf A, Syahbuddin S, Waspadji S, Dillasamola D. The Role of Survivin and RAF-1 Kinase Against Enhancement of Pancreatic Beta-Cell Apoptosis in Patient with Type 2 Diabetes Mellitus. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*. 2018;11(11):344-347.
5. Samuel VT, Shulman GI. The pathogenesis of insulin resistance: integrating signaling pathways and substrate flux. *J Clin Invest*. 2016;126(1):12-22.
6. Boucher J, Kleinridders A, Kahn CR. Insulin receptor signaling in normal and insulin-resistant states. *Cold Spring Harb Perspect Biol*. 2014;6(1):a009191.
7. Copps KD, White MF. Regulation of insulin sensitivity by serine/threonine phosphorylation of insulin receptor substrate proteins IRS1 and IRS2. *Diabetologia*. 2012;55:2565-2582.

UCAPAN TERIMA KASIH

-

KONFLIK KEPENTINGAN

-

8. Mackenzie RWA, Elliott BT. Akt/PKB activation and insulin signaling: a novel insulin signaling pathway in the treatment of type 2 diabetes. *Diabetes Metab Syndr Obes*. 2014;7:55-64.
9. Alessi DR, Cohen P. Mechanism of activation and function of protein kinase B. *Curr Opin Genet Dev*. 1998;8:55-62.
10. Honma M, Sawada S, Ueno Y, Murakami K, Yamada T, Gao J, et al. Selective insulin resistance with differential expressions of IRS-1 and IRS-2 in human NAFLD livers. *International Journal of Obesity*. 2018;42:1544-1555.
11. Albegali AA, Shahzad M, Mahmood S, Ullah MI. Genetic association of insulin receptor substrate-1 (IRS-1, rs1801278) gene with insulin resistant of type 2 diabetes mellitus in a Pakistani population. 2019;46(6):1-7.
12. Hancer NJ, Qiu W, Cherella C, Li Y, Copps KD, White MF. Insulin and metabolic stress stimulate multisite serine/threonine phosphorylation of insulin receptor substrate 1 and inhibit tyrosine phosphorylation. *The Journal of Biological Chemistry*. 2014;289(18):12467-12484.
13. Rajan MR, Fagerholm S, Jonsson C, Kjolhede P, Turkina MV, Stralfors P. Phosphorylation of IRS1 at serine 307 in response to insulin in human adipocytes is not likely to be catalyzed by p70 ribosomal S6 kinase. *PLoS ONE*. 2013;8(4):e59725.
14. Karki S, Farb MG, Ngo DT, Myers S, Puri V, Hamburg NM, et al. Forkhead box O-1 modulation improves endothelial insulin resistance in human obesity. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2015;35(6):1498-1506.
15. Lee S, Dong HH. FoxO integration of insulin signaling with glucose and lipid

- metabolism. *J Endocrinol.* 2017;233(2):R67-R79.
16. Winnay JN, Solheim MH, Dirice E, Sakaguchi M, Noh H, Kang HJ, et al. PI3-kinase mutation linked to insulin and growth factor resistance in vivo. *J Clin Invest.* 2016;126(4):1401-1412.
 17. Di Zazzo E, Feola A, Zuchegna C, Romano A, Donini CF, Bartollino S, et al. The p85 regulatory subunit of PI3K mediates cAMP-PKA and insulin biological effects on MCF-7 cell growth and motility. *The Scientific World Journal.* 2014; article ID 565839.
 18. Xing Y, Zhang J, Wei H, Zhang H, Guan Y, Wang X, et al. Reduction of the PI3K/Akt related signaling activities in skeletal muscle tissues involves insulin resistance in intrauterine growth restriction rats with catch-up growing. *PLoS ONE.* 2019;14(5):e0216665.
 19. Barouki R. Protein kinase C isoforms: mediators of reactive lipid metabolites in the development of insulin resistance. *FEBS Letters.* 2011;585(2):269-274.
 20. Ahmed MS, Pelletier J, Leumann H, Gu HF, Ostenson C. Expression of protein kinase C isoforms in pancreatic islets and liver of male Goto-Kakizaki rats, a model of type 2 diabetes. *PLoS ONE.* 2015;10(10):e0141292.
 21. Kitessa SM, Abeywardena MY. Lipid-induced insulin resistance in skeletal muscle: the chase for the culprit goes from total intramuscular fat to lipid intermediates, and finally to species of lipid intermediates. *Nutrients.* 2016;8(8):466.
 22. Chiefari E, Tanyolac S, Iiritano S, Sciacqua A, Capula C, Arcidiacono B, et al. A polymorphism of HMGA1 is associated with increased risk of metabolic syndrome and related components. *Sci Rep.* 2013;3:1491.
 23. Arcidiacono B, Chiefari E, Messineo S, Bilotta FL, Pastore I, Corigliano DM, et al. HMGA1 is a novel transcriptional regulator of the FoxO1 gene. *Endocrine.* 2018;60:56-64.
 24. Chiefari E, Nevolo MT, Arcidiacono B, Maurizio E, Nocera A, Iiritano S, et al. HMGA1 is a novel downstream nuclear target of the insulin receptor signaling pathway. *Sci Rep.* 2012;2:251.
 25. Wu H, Deng X, Shi Y, Su Y, Wei J, Duan H. PGC-1 α , glucose metabolism and type 2 diabetes mellitus. *J Endocrinol.* 2016;229(3):R99-R115.
 26. Montgomery MK, Turner N. Mitochondrial dysfunction and insulin resistance: an update. *Endocr Connect.* 2015;4(1):R1-R15.
 27. Sears B, Perry M. The role of fatty acids in insulin resistance. *Lipids Health Dis.* 2015;14:121.
 28. Yan Y, Ma R, Zhang J, He J, Ma J, Pang H, et al. Association of insulin resistance with glucose and lipid metabolism: ethnic heterogeneity in far western China. *Mediators of Inflammation.* 2016; article ID 3825037.
 29. D'Elia L, Strazzullo P, Iacone R, Russo O, Galletti F. Leptin levels predict the development of insulin resistance in a sample of adult men – The Olivetti Heart Study. *Nutrition, Metabolism, and Cardiovascular Diseases.* 2019;29(1):39-44.
 30. Yadav A, Kataria MA, Saini V, Yadav A. Role of leptin and adiponectin in insulin resistance. *Clin Chim Acta.* 2013;417:80-84.
 31. Su K, Li Y, Zhang D, Yuan J, Zhang C, Liu Y, et al. Relation of circulating resistin to insulin resistance in type 2 diabetes and obesity: a systematic review and meta-analysis. *Front Physiol.* 2019;10:1399.