



Ідентифікація та аналіз експресії генів, що беруть участь у передачі сигналів інсуліну за умов розвитку експериментального цукрового діабету 2 типу

Т. В. Іваненко^{1b}*A-F, А. В. Винокурова^{1b}B,C,D

Запорізький державний медико-фармацевтичний університет, Україна

A – концепція та дизайн дослідження; B – збір даних; C – аналіз та інтерпретація даних; D – написання статті; E – редагування статті; F – остаточне затвердження статті

Цукровий діабет 2 типу є надзвичайно актуальним через його поширеність і вплив на глобальне здоров'я. Наукові дослідження продовжують удосконалювати розуміння механізмів розвитку та перебігу цукрового діабету загалом та ефективних стратегій діагностики й лікування цукрового діабету 2 типу зокрема. Це включає розробку нових фармакологічних методів лікування, зокрема нових антидіабетичних препаратів та індивідуальних підходів до терапії.

Механізми розвитку та перебігу цукрового діабету 2 типу є складними та включають різні аспекти фізіології та біохімії організму. Розуміння цих механізмів за допомогою сучасних методів лабораторної діагностики має вирішальне значення для розроблення ефективних методів лікування й профілактики діабету.

Мета роботи – визначення та аналіз панелі генів, що беруть участь у передачі сигналів інсуліну, за умов розвитку експериментального цукрового діабету 2 типу.

Матеріали і методи. Аналіз експресії генів, що беруть участь у передачі сигналів інсуліну, здійснили за допомогою методу полімеразної ланцюгової реакції зі зворотною транскрипцією в режимі реального часу CFX-96 Touch™ (Bio-Rad, США) за допомогою набору RT²Profiler™ PCR Array Rat Diabetes (QIAGEN, Німеччина).

Результати. За результатами дослідження, активність генів, що беруть участь у передачі сигналів інсуліну, можна розподілити так: гени з низькою експресією порівняно з контрольною групою тварин, де $\Delta\Delta Ct < 30$ (*Akt2*; *Mapk14*; *Pik3r1*); гени, у яких не виявлено достовірних змін у зразках щодо контрольної групи (*Irs1*; *Irs2*; *Pik3cd*); гени з високою та невизначеною експресією порівняно з контрольною групою не виявлені.

Висновки. Гени, що беруть участь у передачі сигналів інсуліну (*Akt2*; *Mapk14*; *Pik3r1*), при розвитку експериментального цукрового діабету 2 типу мали достовірно (де $\Delta\Delta Ct < 30$) низьку (*Akt2* – 2,9 раза; *Mapk14* – 5,01 раза; *Pik3r1* – 8,87 раза) експресію порівняно з контрольною групою тварин. У генах *Irs1*, *Irs2*, *Pik3cd*, що беруть участь у передачі сигналів інсуліну, при розвитку експериментального цукрового діабету 2 типу не виявлено достовірних змін щодо експресії генів контрольної групи експериментальних тварин.

Ключові слова: підшлункова залоза, цукровий діабет, гени, інсулін, лабораторна діагностика.

Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики. 2024. Т. 17, № 1(44). С. 39-43

Identification and analysis of the expression of genes, involved in insulin signals transmission in the development of experimental type 2 diabetes mellitus

T. V. Ivanenko, A. V. Vynokurova

Type 2 diabetes mellitus is a significant concern due to its high prevalence and impact on global health. Ongoing scientific research aims to enhance our understanding of the mechanisms involved in the development and progression of diabetes and devise effective strategies for its treatment. This involves the development of new pharmacological treatments, including novel antidiabetic drugs, and the exploration of individualized approaches to therapy.

The mechanisms underlying type 2 diabetes are intricate, involving various aspects of physiology and biochemistry. Gaining insight into the development and progression of type 2 diabetes mellitus through modern laboratory diagnostic methods is crucial for the development of effective treatment and prevention strategies for diabetes.

The aim of the study is to identify and analyze a panel of genes, involved in insulin signals transmission in the development of experimental type 2 diabetes mellitus.

ARTICLE INFO



<http://pharmed.zsmu.edu.ua/article/view/297509>

UDC 616.379-008.64:577.175.72:575]-07-092.4
DOI: [10.14739/2409-2932.2024.1.297509](https://doi.org/10.14739/2409-2932.2024.1.297509)

Current issues in pharmacy and medicine: science and practice. 2024;17(1):39-43

Keywords: pancreas, diabetes mellitus, genes, insulin, laboratory diagnostics.

*E-mail: ivanenko.tv@zsmu.zp.ua

Received: 28.12.2023 // Revised: 19.01.2024 // Accepted: 23.01.2024

Materials and methods. The analysis of gene expression involved in insulin signal transmission was conducted using real-time reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-qPCR) on the CFX-96 Touch™ system (Bio-Rad, USA). The RT2Profiler™ PCR Array Rat Diabetes kit (QIAGEN, Germany) was employed for this purpose.

Results. Based on the study results, the activity of the genes involved in insulin signal transmission can be categorized as follows: genes with low expression compared to the control group of animals, where $\Delta\Delta Ct < 30$ (*Akt2*, *Mapk14*, *Pik3r1*); genes in which no significant changes were detected in the samples compared to the control group (*Irs1*, *Irs2*, *Pik3cd*); no genes with high expression were observed compared to the control group.

Conclusions. In the development of experimental type 2 diabetes mellitus, genes involved in insulin signal transmission (*Akt2*, *Mapk14*, *Pik3r1*) exhibited significantly low expression levels (*Akt2* – 2.9, *Mapk14* – 5.01, *Pik3r1* – 8.87) where $\Delta\Delta Ct < 30$, compared to the control group of animals. Conversely, no significant changes were observed in the expression of genes *Irs1*, *Irs2*, *Pik3cd*, also involved in insulin signal transmission, during the development of experimental type 2 diabetes mellitus, compared to the control group of experimental animals.

Keywords: pancreas, diabetes mellitus, genes, insulin, laboratory diagnostics.

Current issues in pharmacy and medicine: science and practice. 2024;17(1):39-43

Цукровий діабет 2 типу – хронічне порушення обміну речовин, що характеризується високим рівнем глюкози в крові, резистентністю до інсуліну та порушенням його секреції. Через свою поширеність та пов'язану з цим смертність цукровий діабет 2 типу становить складну проблему для сфери охорони здоров'я не лише в Україні, але й у всьому світі [1].

Перебіг цукрового діабету 2 типу спричиняє розвиток супутніх захворювань та ускладнень, що суттєво впливають на якість життя та призводять до смерті пацієнтів. До них належать серцево-судинні захворювання, ретинопатія, нефропатія, нейропатія та ризик ампутації нижніх кінцівок. Наукові дослідження постійно підкреслюють підвищення рівня захворюваності та смертності серед осіб із діабетом 2 типу порівняно з загальною популяцією [2].

Сидячий спосіб життя, нездорове харчування та ожиріння відіграють важливу роль у розвитку цукрового діабету 2 типу [3]. Наукові дослідження показали, що втрата ваги, здорове харчування та фізична активність запобігають або відтермінують початок діабету 2 типу в осіб із високим ризиком захворювання [4]. І генетичні, й екологічні фактори можуть вплинути на ризик розвитку цукрового діабету 2 типу [5].

Дослідження загальногеномних асоціацій показали численні генетичні варіанти, пов'язані з хворобою, що підкреслює її складну полігенну природу [6].

Наукові дослідження продовжують удосконалювати розуміння механізмів розвитку та перебігу цукрового діабету загалом та ефективних стратегій діагностики й лікування цукрового діабету 2 типу зокрема. Це включає розробку нових фармакологічних методів лікування, зокрема нових антидіабетичних препаратів та індивідуальних підходів до терапії [7]. Крім того, у дослідженнях підкреслюють важливість комплексного догляду, що передбачає зміну способу життя, регулярний моніторинг рівня глюкози в крові та навчання пацієнтів для оптимізації лікування захворювання і запобігання ускладненням [8].

Механізми розвитку та перебігу цукрового діабету 2 типу є складними та включають різні аспекти фізіології й біохімії організму. Покращення розуміння цих механізмів за допомогою сучасних методів лабораторної діагностики

має вирішальне значення для розроблення ефективних методів лікування й профілактики діабету.

Мета роботи

Визначення та аналіз панелі генів, що беруть участь у передачі сигналів інсуліну, за умов розвитку експериментального цукрового діабету 2 типу.

Матеріали і методи дослідження

Дослідження здійснили на 10 білих щурах лінії Вістар, яких поділили на 2 групи (по 5 тварин у кожній). Тварини 1 групи входили до контрольної (інтактної) групи. Щурам 2 групи моделювання експериментального цукрового діабету 2 типу здійснили так: 18-місячним щурам-самцям лінії Wistar протягом 30 днів до загального раціону додавали 5 % від харчової маси гідрогенізовані рослинні жири та через день замінювали питну воду на 20 % водний розчин фруктози. Паралельно зі зміною харчового раціону з першого до сьомого та з двадцять четвертого до тридцятого дня підшкірно вводили дексаметазон у дозі 0,125 мг/кг.

Для чистоти досліду та лабораторного підтвердження розвитку експериментального цукрового діабету в щурів другої групи через 2 тижні після введення на 30 день дексаметазону в усіх експериментальних тварин визначали концентрацію глюкози в крові за допомогою глюкометра Gluco Card-II (Японія).

Після декапітації експериментальних тварин під тіопенталовим наркозом (50 мг/кг) проводили забір крові (для біохімічного визначення в ній інсуліну) та підшлункової залози, яку фіксували в розчині Буена (20 годин) і після стандартної гістологічної обробки заливали в парапласт (Mk Cormick, США).

Для аналізу експресії генів використали метод полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) зі зворотною транскрипцією в режимі реального часу CFX-96 Touch™ (Bio-Rad, США) за допомогою набору RT²Profiler™ PCR Array Rat Diabetes (QIAGEN, Німеччина), де об'єктом дослідження в експериментальних тварин була підшлункова залоза.

Статистичний аналіз даних полімеразної ланцюгової реакції виконали за допомогою програмного забезпечення PCR GeneGlobe (QIAGEN, Німеччина) з використанням $\Delta\Delta Ct$ методу [9].

Таблиця 1. Активність експресії генів, що беруть участь у передачі сигналів інсуліну щодо показників інтактних щурів

Гени з високою експресією порівняно з контрольною групою тварин, де $\Delta\Delta\text{Ст} < 30$	Гени з низькою експресією порівняно з контрольною групою тварин, де $\Delta\Delta\text{Ст} < 30$	Гени, у яких не виявлено зміни в зразках щодо контрольної групи тварин	Гени, експресія яких не була виявлена
Немає	<i>Akt2</i> – в 2,9 раза; <i>Mapk14</i> – в 5,01 раза; <i>Pik3r1</i> – в 8,87 раза	<i>Irs1</i> ; <i>Irs2</i> ; <i>Pik3cd</i>	Немає

Результати

За результатами ПЛР-дослідження, активність генів, що беруть участь у передачі сигналів інсуліну, можна розподілити так: гени з низькою експресією порівняно з контрольною групою тварин, де $\Delta\Delta\text{Ст} < 30$, та гени, у яких не виявлені достовірні зміни в зразках щодо контрольної групи (табл. 1).

Обговорення

Гени, що беруть участь у передачі сигналів інсуліну, кодуєть різноманітні білки, які відіграють ключову роль у внутрішньоклітинних сигнальних шляхах. Деякі з основних генів, що пов'язані з сигнальною трансдукцією інсуліну та залучені до дослідження: *Akt2*, *Mapk14*, *Pik3r1*, що показали низьку експресію порівняно з контрольною групою; *Irs1*, *Irs2*, *Pik3cd* – гени, у яких не виявлено зміни щодо контрольної групи.

Ген *Akt2* кодує протеїнкіназу В (ПКВ) або Akt2. *Akt2* – одна з ізоформ протеїнкінази В, що відіграє важливу роль в інсуліновому сигнальному шляху та регулюванні різних клітинних процесів. Коли інсулін зв'язується з інсуліновим рецептором на поверхні клітини, то це викликає активацію протеїнкінази В. Активована *Akt2* має ключове значення у регулюванні глюкозового обміну й інших процесів метаболізму, а також впливає на клітини. Зокрема, на глюкозовий транспорт – *Akt2* стимулює перенесення транспортного білка *GLUT4* на поверхню клітини, що полегшує поглинання глюкози; глікогеногенез – *Akt2* впливає на синтез глікогену, що призводить до збільшення зберігання глюкози як глікогену в клітинах, зокрема в м'язах та печінці; протеїнний синтез – *Akt2* стимулює синтез протеїнів та знижує їх розклад, сприяючи клітинному росту та відновленню. Мутації або дисфункції в цьому гені можуть призвести до порушень інсулінової чутливості та розвитку захворювань, зокрема цукрового діабету 2 типу [10].

Ген *Mapk14* кодує білок, відомий як Mitogen Activated Protein Kinase 14 (МАРК14), або p38 α . Це частина сімейства МАР-кіназ, що відіграють ключову роль у передачі сигналів різних зовнішніх стимулів: від факторів росту, стресу, запальних сигналів до внутрішньоклітинних процесів [11].

Mapk14 активується фосфорилляцією та має важливе значення в багатьох клітинних процесах, включаючи відповідь на стрес (відіграє роль у відповіді клітин на різноманітні стресові ситуації, як-от оксидативний або термічний стрес), апоптоз (може брати участь у регуляції апоптозу, впливаючи на шляхи, пов'язані з клітинною смертю), запальну відповідь (бере участь у відповіді

на запальні сигнали, де він може бути активований за допомогою різноманітних цитокинів та інших медіаторів запальної відповіді), регуляцію клітинного циклу (*Mapk14* може впливати на клітинний цикл, включаючи контроль над процесами проліферації та поділу клітин).

Дефекти або неадекватна активація *Mapk14* можуть бути пов'язані з розвитком різних захворювань, зокрема цукрового діабету 2 типу з відповідними ускладненнями, запальних процесів та пухлин [11].

Ген *Pik3r1* кодує регуляторну субодиницю класу І фосфоінозитид-3-кінази, відомої як PI3K (фосфатидилінозитол-3-кіназа), що відіграє ключову роль у внутрішньоклітинній передачі сигналів, особливо щодо інсуліну та інших факторів росту.

Pik3r1 має кілька варіантів сплайсингу, і його продукт p85 α може об'єднуватися з каталітичною субодиницею PI3K для утворення активного ферменту. Головні функції *Pik3r1* (p85 α) включають медіацію сигнальних шляхів (PI3K активується через p85 α та спричиняє відповідну активацію сигнальних шляхів, як-от шлях АКТ, що впливає на клітинні відповіді); вплив на клітинний цикл і проліферацію (активація PI3K може впливати на регуляцію клітинного циклу та проліферацію клітин) [12].

Мутації або зміни в гені *Pik3r1* можуть впливати на інсулінову чутливість і відігравати роль у розвитку різних захворювань, наприклад, цукрового діабету 2 типу та раку [13].

Ген *Irs1* (Insulin Receptor Substrate 1) кодує білок, відомий як інсуліновий рецепторний субстрат 1. Цей білок відіграє ключову роль у внутрішньоклітинній передачі сигналів від інсулінового рецептора, який знаходиться на поверхні клітин, до внутрішньої частини клітини.

Основна функція *Irs1* включає такі аспекти: фосфорилляція під дією інсуліну (під впливом інсуліну інсуліновий рецептор фосфорилує *Irs1*, створюючи активацію для інших білків, та регулює активність інсулінового сигнального шляху); активація сигнальних шляхів (фосфорильований *Irs1* взаємодіє з різними сигнальними білками, як-от PI3K (фосфоінозитид-3-кіназа) та АКТ (протеїнкіназа В), що сприяє впливу інсуліну на клітинні процеси); регулювання глюкозового обміну (інсулін через взаємодію з *Irs1* сприяє поглинанню глюкози клітинами, що дає змогу знижувати рівень глюкози в крові). *Irs1* є ключовою ланкою у внутрішньоклітинній передачі сигналів інсуліну та глюкагону; регулювання обміну жирів і білків – сигнальні шляхи, активовані через *Irs1*, впливають на метаболічні процеси, включаючи синтез і збереження жирів, а також протеїновий обмін [14].

Дефіцит або дисфункція *Irs1* можуть призводити до порушень інсулінової чутливості та розвитку захворювань, зокрема цукрового діабету 2 типу [15].

Ген *Irs2* (Insulin Receptor Substrate 2) кодує іншу форму інсулінового рецепторного субстрату, яка відома як *Irs2*. Подібно до *Irs1*, цей білок відіграє ключову роль у внутрішньоклітинній передачі сигналів інсуліну та інших різних факторів росту. Основні функції *Irs2* включають активацію сигнальних шляхів (після того, як інсулін або інші фактори росту активують інсуліновий рецептор, *Irs2* стає фосфорильованим, що дає йому змогу взаємодіяти з різними сигнальними білками); поглинання глюкози (інсулін активує сигнальні шляхи через *Irs2*, що сприяє поглинанню глюкози клітинами); регулювання метаболізму (*Irs2* бере участь у регулюванні метаболічних процесів: синтезу білків, обміну глюкози та жирів) [16].

Зауважимо: хоча *Irs1* та *Irs2* виконують подібні функції у передачі сигналів інсуліну, вони можуть мати різні тканинно-специфічні властивості та взаємозамінювані функції в різних типах клітин і тканин. Мутації або дисфункція гена *Irs2* може впливати на інсулінову чутливість і розвиток цукрового діабету 2 типу [16].

Ген *Pik3cd* кодує каталітичну субодиницю класу І фосфоінозитид-3-кінази (PI3K), відомої як PI3K δ . PI3K δ є частиною класу фосфоінозитид-3-кіназ, що мають важливе значення для внутрішньоклітинної передачі сигналів. Конкретно PI3K δ здійснює фосфорильовання фосфоінозитидів, активуючи каскад сигналів, що призводить до різних клітинних відповідей. Основні функції PI3K δ включають активацію сигнального шляху АКТ (протеїнкіназа В – PI3K δ генерує фосфоінозитиди, що активують сигнальний шлях АКТ, який впливає на різноманітні клітинні процеси, як-от виживання, проліферація та метаболізм), регуляцію клітинного апоптозу (PI3K δ може впливати на різні шляхи, що регулюють апоптоз, включаючи шлях АКТ), вплив на клітинну міграцію та адгезію (PI3K δ відіграє роль у вирішальних клітинних процесах – міграції та адгезії клітин), участь у запальних відповідях (PI3K δ бере участь у виникненні запальних відповідей і може бути активованим через різні сигнали, включаючи сигнали від рецепторів запальних цитокінів). Мутації у гені *Pik3cd* або дисфункція PI3K δ можуть бути пов'язані з розвитком різних захворювань, включаючи цукровий діабет 2 типу [17,18].

Ідентифікація сучасними методами лабораторної діагностики і наступний аналіз генів, що беруть участь у передачі сигналів інсуліну, дають змогу зрозуміти молекулярні механізми та зміни в них при експериментальному цукровому діабеті 2 типу, що надалі може бути використано як мішень терапевтичного впливу.

Висновки

1. Гени, що беруть участь у передачі сигналів інсуліну (*Akt2*; *Mapk14*; *Pik3r1*), при розвитку експериментального цукрового діабету 2 типу мали достовірно (де $\Delta\Delta Ct < 30$) низьку експресію порівняно з контрольною групою тварин.

2. У генах *Irs1*, *Irs2*, *Pik3cd*, що беруть участь у передачі сигналів інсуліну, при розвитку експериментального цукрового діабету 2 типу не виявлено достовірних змін щодо експресії генів контрольної групи експериментальних тварин.

Конфлікт інтересів: відсутній.

Conflicts of interest: authors have no conflict of interest to declare.

Відомості про авторів:

Іваненко Т. В., канд. мед. наук, доцент каф. патологічної фізіології з курсом нормальної фізіології, Запорізький державний медико-фармацевтичний університет, Україна.

ORCID ID: 0000-0001-6617-5178

Винокурова А. В., аспірант каф. клінічної лабораторної діагностики, Запорізький державний медико-фармацевтичний університет, Україна.

ORCID ID: 0009-0008-5380-6071

Information about authors:

Ivanenko T. V., MD, PhD, Associate Professor of the Department of Pathological Physiology with Course of Normal Physiology, Zaporizhzhia State Medical and Pharmaceutical University, Ukraine.

Vynokurova A. V., MD, Postgraduate student of the Department of Clinical Laboratory Diagnostics, Zaporizhzhia State Medical and Pharmaceutical University, Ukraine.

References

- Ahmad A, Lim LL, Morieri ML, Tam CH, Cheng F, Chikowore T, et al. Precision prognostics for cardiovascular disease in Type 2 diabetes: a systematic review and meta-analysis. *Commun Med (Lond)*. 2024;4(1):11. doi: 10.1038/s43856-023-00429-z
- Buso G, Aboyans V, Mazzolai L. Lower extremity artery disease in patients with type 2 diabetes. *Eur J Prev Cardiol*. 2019;26(2_suppl):114-24. doi: 10.1177/2047487319880044
- Shali S, Luo L, Yao K, Sun X, Wu H, Zhang S, et al. Triglyceride-glucose index is associated with severe obstructive coronary artery disease and atherosclerotic target lesion failure among young adults. *Cardiovasc Diabetol*. 2023;22(1):283. doi: 10.1186/s12933-023-02004-1
- Schmidt SK, Hemmestad L, MacDonald CS, Langberg H, Valentiner LS. Motivation and Barriers to Maintaining Lifestyle Changes in Patients with Type 2 Diabetes after an Intensive Lifestyle Intervention (The U-TURN Trial): A Longitudinal Qualitative Study. *Int J Environ Res Public Health*. 2020;17(20):7454. doi: 10.3390/ijerph17207454
- García-Chapa EG, Leal-Ugarte E, Peralta-Leal V, Durán-González J, Meza-Espinoza JP. Genetic Epidemiology of Type 2 Diabetes in Mexican Mestizos. *Biomed Res Int*. 2017;2017:3937893. doi: 10.1155/2017/3937893
- Mahajan A, Spracklen CN, Zhang W, Ng MC, Petty LE, Kitajima H, et al. Multi-ancestry genetic study of type 2 diabetes highlights the power of diverse populations for discovery and translation. *Nat Genet*. 2022;54(5):560-72. doi: 10.1038/s41588-022-01058-3
- Ferguson D, Finck BN. Emerging therapeutic approaches for the treatment of NAFLD and type 2 diabetes mellitus. *Nat Rev Endocrinol*. 2021;17(8):484-95. doi: 10.1038/s41574-021-00507-z
- Kanaley JA, Colberg SR, Corcoran MH, Malin SK, Rodriguez NR, Crespo CJ, et al. Exercise/Physical Activity in Individuals with Type 2 Diabetes: A Consensus Statement from the American College of Sports Medicine. *Med Sci Sports Exerc*. 2022;54(2):353-68. doi: 10.1249/MSS.0000000000002800
- Livak KJ, Schmittgen TD. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2(-Delta Delta C(T)) Method. *Methods*. 2001;25(4):402-8. doi: 10.1006/meth.2001.1262
- Xia T, Xu WJ, Hu YN, Luo ZY, He W, Liu CS, et al. Simiao Wan and its ingredients alleviate type 2 diabetes mellitus via IRS1/AKT2/FOXO1/GLUT2 signaling. *Front Nutr*. 2023;9:1012961. doi: 10.3389/fnut.2022.1012961
- Meng W, Veluchamy A, Hébert HL, Campbell A, Colhoun HM, Palmer CN. A genome-wide association study suggests that MAPK14 is associated with diabetic foot ulcers. *Br J Dermatol*. 2017;177(6):1664-70. doi: 10.1111/bjd.15787

12. Zheng Y, Lang Y, Qi Z, Gao W, Hu X, Li T. PIK3R1, SPNB2, and CRYAB as Potential Biomarkers for Patients with Diabetes and Developing Acute Myocardial Infarction. *Int J Endocrinol.* 2021;2021:2267736. doi: [10.1155/2021/2267736](https://doi.org/10.1155/2021/2267736)
13. Karadoğan AH, Arikoglu H, Göktürk F, İşçioğlu F, İpekçi SH. PIK3R1 gene polymorphisms are associated with type 2 diabetes and related features in the Turkish population. *Adv Clin Exp Med.* 2018;27(7):921-7. doi: [10.17219/acem/68985](https://doi.org/10.17219/acem/68985)
14. Yiannakouris N, Cooper JA, Shah S, Drenos F, Ireland HA, Stephens JW, et al. IRS1 gene variants, dysglycaemic metabolic changes and type-2 diabetes risk. *Nutr Metab Cardiovasc Dis.* 2012;22(12):1024-30. doi: [10.1016/j.numecd.2011.05.009](https://doi.org/10.1016/j.numecd.2011.05.009)
15. Martínez-Ramírez OC, Salazar-Piña A, Cerón-Ramírez X, Rubio-Lightbourn J, Torres-Romero F, Casas-Avila L, et al. Effect of Inulin Intervention on Metabolic Control and Methylation of *INS* and *IRS1* Genes in Patients with Type 2 Diabetes Mellitus. *Nutrients.* 2022;14(23):5195. doi: [10.3390/nu14235195](https://doi.org/10.3390/nu14235195)
16. Krause C, Geißler C, Tackenberg H, El Gammal AT, Wolter S, Spranger J, et al. Multi-layered epigenetic regulation of IRS2 expression in the liver of obese individuals with type 2 diabetes. *Diabetologia.* 2020;63(10):2182-93. doi: [10.1007/s00125-020-05212-6](https://doi.org/10.1007/s00125-020-05212-6)
17. Du X, Li X, Chen L, Zhang M, Lei L, Gao W, et al. Hepatic miR-125b inhibits insulin signaling pathway by targeting PIK3CD. *J Cell Physiol.* 2018;233(8):6052-66. doi: [10.1002/jcp.26442](https://doi.org/10.1002/jcp.26442)
18. He FT, Fu XL, Li MH, Fu CY, Chen JZ. USP14 Regulates ATF2/PIK3CD Axis to Promote Microvascular Endothelial Cell Proliferation, Migration, and Angiogenesis in Diabetic Retinopathy. *Biochem Genet.* 2023;61(5):2076-91. doi: [10.1007/s10528-023-10358-0](https://doi.org/10.1007/s10528-023-10358-0)