

İNSÜLİN DİRENCİNDE İNSÜLİN RESEPTÖR SUBSTRAT 1 (IRS1) PROTEİNİNİN ROLÜ

Role of Insulin Receptor Substrate 1 (IRS1) Protein in Insulin Resistance

Gökhan GÖRGİŞEN

ÖZET

İnsülin direnci, iskelet kası, yağ ve karaciğer gibi insülinin hedef dokularının hücresel düzeyde insüline gereken yanıtı verememesi ya da az vermesi durumudur. İnsülin direncinin başta Tip 2 Diyabet olmak üzere birçok hastalığın öncülü olması nedeniyle patogenezinin aydınlatılması oldukça önem taşımaktadır. İnsülin direncine neden olan moleküler mekanizmalar tam olarak bilinmemektedir. Ancak son yıllarda yapılan çalışmalar, insülin direnci gelişimindeki etkin mekanizmaların başında insülin reseptör substrat (IRS) proteinleri üzerinden gerçekleşen hücre sinyali regülasyonundaki bozukluğun olduğunu ortaya koymuştur. Biz bu derlememizde IRS1 proteininin, normal ve patolojik durumdaki regülasyonu hakkındaki son gelişmeleri ortaya koyarak, insülin direnci oluşum mekanizmalarını aydınlatmaya yönelik yeni çalışmalara öncül olabilmeyi amaçlamaktayız.

Anahtar Sözcükler: *İnsülin direnci; İnsülin reseptör substrat proteini; IRS1; İnsülin sinyali*

ABSTRACT

Insulin resistance is defined as the reduced ability of insulin target tissues such as skeletal muscle, adipose and liver to respond properly to insulin actions. Insulin resistance is a precursor of Type 2 diabetes and other pathological conditions. Therefore, determining the pathogenesis of insulin resistance is important. Although molecular mechanisms of insulin resistance is not well-known, most of the studies showed that dysregulation of Insulin Receptor Substrate (IRS) signaling is a common situation that contribute to developing insulin resistance. In this review, we aim to play pioneering role that clarifies the molecular mechanism of insulin resistance by focusing on the recent studies about the normal and pathologic regulations of IRS1 signaling.

Keywords: *Insulin resistance; Insulin receptor substrate protein; IRS1; Insulin signaling*

¹Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Van

Gökhan GÖRGİŞEN, Dr. Öğr. Üyesi

İletişim:

Dr. Öğr. Üyesi Gökhan GÖRGİŞEN
(PhD)Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi Morfoloji Binası 2. Kat
Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı
Tuşba, Van
Tel: 04322150470- 5342
e-mail:
gokhangorgisen@yyu.edu.tr

Geliş tarihi/Received: : 01.11.2017

Kabul tarihi/Accepted: 17.01.2018

DOI: 10.16919/bozoktip.348488

Bozok Tıp Derg 2018;8(3):114-121

Bozok Med J 2018;8(3):114-121

GİRİŞ

İnsülin direnci, insülinin hedef dokularının hücresel düzeyde insüline gereken yanıtı verememesi ya da az vermesi durumu olarak tanımlanmaktadır (1). Bu durum, Tip 2 diyabetin, kardiyovasküler hastalıkların ve karaciğer hastalıklarının öncülü olarak değerlendirilebilmektedir (2).

İnsülin direnci moleküler seviyede incelendiğinde, insülin sinyal sistemine negatif etkisi olan serbest yağ asitlerinin, inflamatuvar sitokinlerin, serbest oksijen radikallerinin ve bir çok serin/treonin kinazın etkin rol oynadığı oldukça karmaşık bir sistem karşımıza çıkmaktadır (3). Son yıllarda yapılan çalışmalar, bir çok hücresel sinyal basamağındaki bozuklukların insülin direncine neden olabileceğini ortaya koymaktadır. Bunların bir kısmı insüline özgü hücresel yolakta meydana gelen bozukluklardır (4).

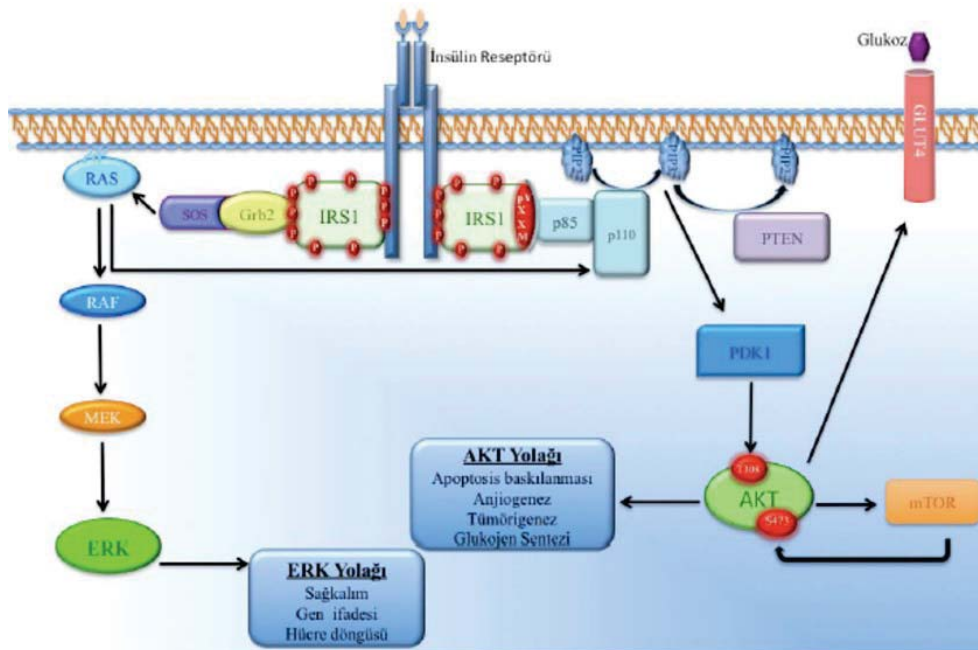
İnsülin, temel olarak glukoz homeostasisinden sorumlu primer anabolik hormondur. Vücut glukoz dengesini, oldukça kompleks ve sıkı bir şekilde kontrol edilen insülin sinyal yolu aracılığıyla sağlamaktadır (5) (Şekil 1).

İnsülin sinyal ağının devamlılığında, dağılımında ve regülasyonunda sorumlu olan temel moleküller ise insülin reseptör substrat (IRS) protein ailesidir. İnsülin reseptör substrat proteinleri, hücre yüzey reseptörlerinden gelen uyarıların hücre içine aktarımını sağlayan sitoplazmik adaptör proteinlerdir (6). IRS1, bu ailenin ilk tanımlanan ve yaygın ekspresyon göstermesi nedeniyle üzerinde en çok çalışılan elemanıdır. Günümüze kadar insan ve deney hayvanları üzerinde yapılan bir çok genetik ve fizyolojik çalışma, IRS sinyal bozukluğunun insülin direnci gelişiminde önemli ve yaygın bir mekanizma olduğunu ortaya koymaktadır (7).

Bu derlememizde amacımız, insülin direnci gelişiminde temel rol oynayan IRS1 proteininin normal ve patolojik durumdaki regülasyonu hakkındaki son gelişmeleri ortaya koyarak, insülin direnci oluşum mekanizmalarını aydınlatmaya yönelik yeni çalışmalara öncül olabilmektir.

IRS1 Proteini ve İnsülin Etkisinde Biyolojik Fonksiyonu
İnsülin, hücrede büyüme, farklılaşma, metabolizmanın gelişimi, protein ve DNA sentezi, gen ekspresyonunun regülasyonu gibi birçok etkiyi indükleyebilmektedir (8).

Şekil 1. Linear insülin sinyal yolu



Bu nedenle gen baskılama çalışmaları, insülin uyarımlı IRS proteinlerinin fizyolojik rolleri üzerine etkilerini ortaya koymakta yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu yönde yapılan çalışmalar, IRS1 -/- farelerin pre- ve postnatal dönemde gelişme geriliğinin olduğunu ve iskelet kasında insülin sinyalinde bozulmaya ek olarak orta derece sistemik insülin direnci geliştirdiğini ortaya koymuştur (9).

Organ spesifik IRS1'in susturulduğu çalışmalarda ise IRS1'in özellikle iskelet kası, karaciğer ve kalp gelişiminde önem taşıdığı göstermektedir (10).

Tokluk plazma glukoz seviyesinin düzenlenmesi, insülinin en önemli görevlerinden bir tanesidir. Moleküler düzeyde glukozun hücre içine alınımı insülin duyarlı dokularda Glukoz Transporter 4 (GLUT4)'ün membrana translokasyonu sonucunda gerçekleşmektedir (11). IRS1-/- farelerin insülin ve insülin benzeri büyüme faktörü (IGF-1) indüklü glukoz alınımlarının oldukça düştüğü görülmüştür. Bu hayvanlarda insülin direnci olmasına rağmen, açlık kan şekerlerinin normal olduğu, glukoz intoleransının ise hiperinsülinemi ile azaltıldığı belirtilmiştir (12). IRS1-/- farelerde hiperinsülinemiye bağlı gelişen beta hücre kitlesinin artışının yanında insülin sekresyonunda da defektlerin olduğu belirlenmiştir. Bunun nedeni ise intraselüler Ca²⁺ depolarından otokrin olarak aktive edilen Ca²⁺ salınımindaki bozukluğun gelişimidir (13).

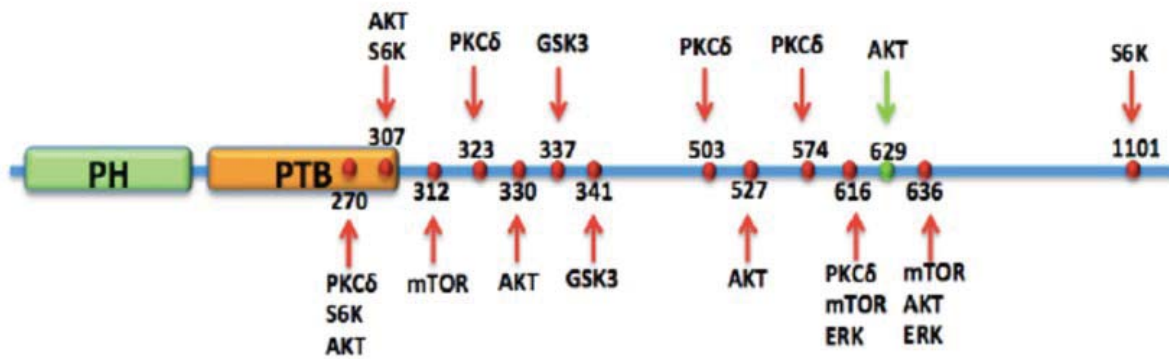
Gen susturma çalışmalarının yanı sıra, hiperinsülemik-öglisemik klampler, iskelet kası, karaciğer ve adipoz doku gibi başlıca insülin duyarlı dokulardaki IRS1'in in vivo koşullarda insülin direnci gelişimindeki anahtar etkisini ortaya çıkarmıştır. Buna bağlı olarak IRS1-/- modellerde insülin'e bağlı glukoz taşınımında ve kas glukojen sentezinde bozuklukların olduğu saptanmıştır. Bu durum moleküler olarak incelendiğinde iskelet kasında tirozin fosforile proteinlerle ilişkili olarak insülin indüklü fosfoinositol 3 kinaz (PI3K) aktivasyonunda azalmanın olduğu belirlenmiştir. Bu durum, sürekli eksprese edilen IRS2 proteini ve insülin indüklü aktivasyonuna rağmen telafi edilememiştir (14).

Tüm bu verilere ek olarak IRS1 -/- farelerde hipertrigliseridemi, hipertansiyon ve endotel-bağlı vasküler gevşemede bozulma gibi X sendromunun endikasyonlarının görülmesinin yanı sıra IRS1 -/- farelerde insülin ve IGF1 indüklü proliferasyon ve farklılaşmanın defekte uğraması nedeniyle osteoklastogenezde de bozulma ve ağır osteopeni de saptanmıştır. Dolayısıyla, IRS1'in insülin ve IGF1'in anabolik etkisine bağlı olarak kemik gelişiminde ve devamlılığında da önemli olduğu söylenebilmektedir (15, 16).

IRS1 Sinyal İletiminin Normal ve Patolojik Durumda Düzenlenimi

IRS1 proteininin yapısında hücre sinyalininin

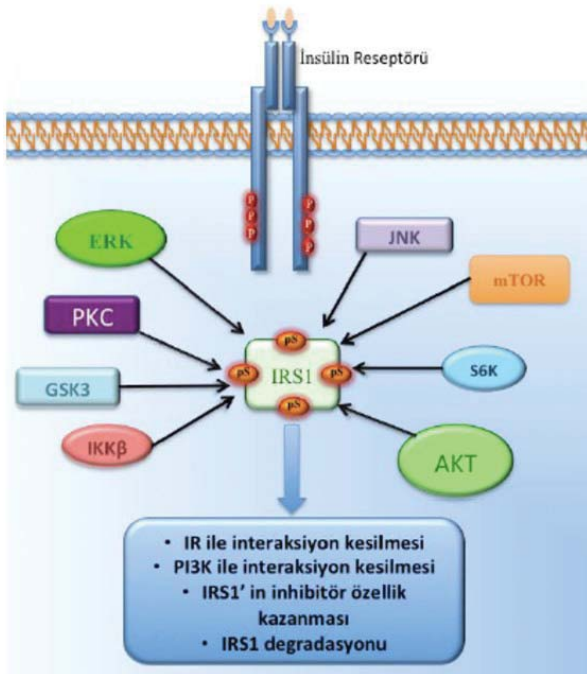
Şekil 2. IRS1' in insülinle indüklenen ve/veya hücre stresle indüklenen kinazlar tarafından gerçekleştirilen Ser/Thr Fosforilasyon bölgeleri ve etkileri (Kırmızı: Negatif etkiyi, Yeşil: Pozitif etkiyi göstermektedir.)



aktivasyonunu sağlayan 20-25 adet tirozin motifi bulunmaktadır. Bu motiflerin yanı sıra IRS1 aminosit dizisi, insülin sinyal yolağının regülasyonunu sağlayan bir çok serin/treonin (S/T) kinazların hedefi olan 50' den fazla korunmuş S/T fosforilasyon dizilerini de içermektedir. IRS1 tirozin fosforilasyonunun insülin sinyalini pozitif etkilemesine karşılık olarak, IRS1 serin/treonin motiflerinin fosforilasyonları, sinyali pozitif ya da negatif olarak etkileyebilmektedir. Bu duruma ek olarak S/T fosforilasyon bölgeleri sinyalin hangi alt sinyal yolağına dağılacakının da belirteci olmaktadır (17, 18) (Şekil 2).

İnsülin sinyal yolağının regülasyonu, IRS proteinleri tarafından fizyolojik geri bildirim "negative feedback" mekanizması şeklinde, kendi sinyalini kapatmaya yönelik gerçekleşmektedir. Buna karşın proinflamatuvar sitokinler, oksidatif stres ve yağ asitleri de IRS1'in S/T fosforilasyonunu indükleyerek insülin sinyal iletimine ciddi zararlar verebilmektedir (19, 20) (Şekil 3).

Şekil 3. IRS1 Ser/Thr fosforilasyonunun protein yapısı ve yolak üzerindeki etkileri



Son yıllarda bir çok çalışma "IRS1 kinazlar" üzerine yoğunlaşmıştır. IRS1 kinazlar genel olarak iki gruba

ayrılabilir. Birinci grup, insülin ve IGF1 sinyalinin mediyatörlerini içermektedir. Bu grupta bulunan kinazlar uzun süreli insülin uyarımlarında IRS1'i negatif etkilemektedir. Diğer grup ise insülin yolağı dışındaki yollara ait insülin ya da IGF1 etkisini inhibe eden kinazları içermektedir. Böyle bir gruplamanın yanında insülin sinyalinin diğer sinyal yollarıyla sıkı etkileşimde olması, bazı IRS kinazların hem insülin tarafından hem de insülin direncini indükleyen kinazlar tarafından aktive olmasına neden olmaktadır. Bu nedenle IRS1'in fosforilasyonuna neden olan hücre ortamının, uyarının, fosforilasyon bölgesinin ve etkilerinin belirlenmesi insülin direnci gelişiminin patogenezinin ortaya çıkarılması açısından oldukça önem taşımaktadır (6, 20, 21).

İnsülinle İndüklenen IRS1 Ser/Thr Fosforilasyonu

Bu grup IRS kinazlar, insülinle uyarılan sinyalin alt elemanlarını içermektedir. İnsülin uyarımlı IRS kinazların etkilerinin, PI3K inhibitörleri tarafından ortadan kaldırıldığı görülmüştür. Bu sayede PI3K yolağının alt elemanlarının, IRS1 fonksiyonunun negatif regülatörleri olduğu ortaya çıkarılmıştır (22).

İnsülin uyarımına bağlı olarak IRS1 Ser/Thr fosforilasyonu gerçekleştiren IRS kinazların başında mTOR ve S6K gelmektedir. mTORC1 ve S6K, IRS1'i sırasıyla S312, S616, S636 ve S307, S527, S270, S1101 bölgelerinden fosforilasyona uğratmaktadır. Bu fosforilasyonların IRS1 tirozin fosforilasyonunu inhibe ettiği gösterilmiştir (23, 24).

S6K' in insülin sinyalinin regülasyonundaki fizyolojik önemi S6K -/- modeller ile gösterilmiştir. Yüksek yağlı diyetle (HFD) beslenen S6K -/- farelerin IR'yi tam aktive edemedikleri saptansa da hayvanların insülin direnci geliştirmediği belirlenmiştir. Bunun nedeni ise IR'nin alt sinyal elemanlarının, insülin sinyal akışını hızlandırarak durumu telafi etmesidir (25). Bu farelerin adipoz dokularında S307, S636 ve karaciğer dokularında S1101 bölgelerinin fosforilasyonunda azalma olduğu görülmüştür. Buna karşın, HFD ile beslenen yabancıl tip farelerin insülin direnci geliştirdiği ve IR ile birlikte alt elemanlarının da aktivasyonlarında azalma olduğu saptanmıştır. Yabancıl tip hayvanların IRS1 S636 ve S307 pozisyonlarında fosforilasyon artışı görülmüştür (26).

Protein kinaz B (AKT)'nin IRS kinaz olarak etkisi hem pozitif hem negatif yöndedir. Membran lokalize AKT'yi ektopik eksprese eden CHO-T hücrelerinin 1 saatten daha uzun süreli insülin muamelerinde IRS1 tirozin fosforilasyonunun kalıcı duruma geçerek sabitlendiği ancak 2 dk. insülin muamelesinde böyle bir etkinin görülmediği ortaya çıkarılmıştır (27). Başka bir çalışmada ise IRS1'in AKT bağımlı S629 fosforilasyonunun IRS1 tirozin fosforilasyonuna ve p85'e bağlanmasına yardım ettiği saptanmıştır. Bu bölge ratlarda bulunmamaktadır. Ayrıca bu bölgenin fosforilasyonunun mTORC1 ve ERK1/2'nin hedefi olan S636 fosforilasyonunu da azalttığı belirlenmiştir (28). S629 fosforilasyonunun insülin sinyali üzerindeki pozitif etkisine karşın S527'nin AKT tarafından fosforilasyonunun sinyal üzerinde negatif etki yarattığı saptanmıştır. S527 fosforilasyonunun HEK293 hücrelerinde IRS1'in tirozin fosforilasyonunu azalttığı ve IRS1 - PI3K etkileşimini engellediği ortaya çıkarılmıştır. Ayrıca bu fosforilasyonun sağlıklı bireylerin kas dokusunda hiperinsülinemik klamp süresince de artış gösterdiği saptanmıştır (29, 30).

İnsülin uyarımlı ERK1/2 aktivasyonları, bu kinazları metabolik hastalıklarda, kronik IRS Ser/Thr fosforilasyonu açısından iyi bir aday haline getirmektedir. Yapılan çalışmalarda insülin indüklü ERK1/2 aktivasyonunun artmasının HFD ile beslenen bireylerin adipositlerinde hücreleri insüline daha duyarlı hale getirdiği görülmüştür. Bunun nedeni olarak ERK aktivasyonunun adipositlerin büyümesine katkıda bulunması gösterilmiştir. Bu durumu destekleyici nitelikte HFD ile beslenen ERK1/- farelerde beyaz yağ dokusu kitlesinde azalma ve insüline olan duyarlılıkta artış olduğu saptanmıştır. Bu verilerden yola çıkarak ERK1/2'nin lipolizi indüklediği ve insülin direncine neden olabileceği söylenebilmektedir (31-33). Ayrıca, ERK1/2-aracılı IRS1 S616 fosforilasyonunun vasküler endotel hücrelerinde anjiyotensin II aracılı nitrik oksit sentetaz aktivasyonunu da bozduğu ortaya çıkarılmıştır (34). ERK bağımlı IRS1 fosforilasyonunun patolojik etkileri üzerine gerçekleştirilen tüm in vitro ve in vivo çalışmalara ek olarak Tip 2 diyabetli bireylerin kas hücrelerinde S636 fosforilasyonunda artış olduğu görülmüştür. Bu bölgenin fosforilasyon seviyesinin, ERK1/2 aktivitesinin kimyasal olarak baskılandığında ise azaldığı gözlemlenmiştir (35, 36).

Hücrel Stres ve İnsülin Direnci Uyarıları Tarafından İndüklenen IRS1 Ser/Thr Fosforilasyonu

Fizyolojik koşullar altında insülin sinyal yolağında, insülin etkisinin regülasyonunun sağlandığı bir çok hücrel kontrol bölgesi olmasının yanında insülin direncinde IRS sinyali dengede değildir. Bunun nedeni insülin direnci durumunda hiperinsülineminin sürekli devam etmesi ve insülin bağımsız geri bildirim yollarının da devreye girmesidir. Bu süreç ilerledikçe lipid ve inflamasyonla ilişkili yollar da IRS sinyaliyle etkileşime girmeye başlamaktadır. Böylece, IRS1 Ser/Thr fosforilasyonu aracılı insülin sinyal yolağı regülasyonunda, bir çok enzim IRS1'i aynı veya farklı bölgelerden fosforile ederek patolojik durumun gelişimine sebep olmaktadır (21, 37, 38).

mTOR ve S6K, insülin bağımlı ve normal fizyolojik koşullar altında insülin sinyalini geri bildirim mekanizması aracılığıyla kontrol etmekteydi. Ancak insülin direnci gibi patolojik durumlar altında insülin bağımsız olarak da aktive olabilmektedirler (39). Bu yolak aminoasit ve glukoz gibi besinlere karşı oldukça hassas bir yolaktır. Nitekim besin alımının artışı durumunda insülin duyarlılığında belirgin derecede azalma meydana gelmektedir (40). Yapılan çalışmalarda, hücrelerin yüksek glukoz ve lösin ile muamelesi sonucunda bu yolağın aktive olduğu ve IRS1'i S307 ve S1101 pozisyonlarından fosforile ettiği saptanmıştır (41). Benzer şekilde mTOR inhibitörleri olan TSC1/TSC2 ekspresyonu baskılanmış fare embriyonik fibroblast hücrelerinde, artan mTOR aktivasyonuna paralel olarak insülin direnci geliştiği de gözlemlenmiştir (42). Bu hücrelerde IRS1'in S307, S312, S616 ve S636 fosforilasyonlarında artış saptanmıştır (23). mTOR ve S6K yolağı aminoasit ve glukoz gibi besinler için bir sensör durumundadır. Dolayısıyla, besinlerin aşırı tüketimine bağlı olarak aktif hale gelmekte ve IRS1 Ser/Thr fosforilasyonunu gerçekleştirerek insülin direncine sebep olmaktadır (23). Bu açıdan bakıldığında mTOR inhibisyonu tedavi için bir hedef gibi gözükse de uzun süreli mTOR inhibitörü Rapamycin kullanımının insülin direncini artırdığı görülmüştür (43). Bunun nedeninin ise yüksek enerjili diyetle bağlı olarak kas ve adacıklarda stresle aktive olan enzimlerin miktarındaki artış olduğu düşünülmektedir. Dolayısıyla bu yolağın hem aktivasyonu hem de inhibisyonu farklı yollar üzerinden insülin direncine sebep olmaktadır (44).

İnsülin direnci gelişiminde en önemli etkenlerden bir tanesi inflamasyondur (45). İnflamasyon yollarının aktivitesine neden olan TNF α , IL-1 ve IL-6 gibi proinflamatuvar sitokinler insülin duyarlılığının azalmasına neden olmaktadır. Bunun nedeni bu sitokinler tarafından aktive edilen ERK, JNK ve IKK enzimlerinin IRS1 Ser/Thr fosforilasyonu yaparak insülin sinyali yolağını baskılamasıdır (38).

TNF α insülin sinyali üzerindeki negatif etkisini, JNK aktivasyonu aracılığıyla IRS1 S307 fosforilasyonu ile gerçekleştirmektedir. Bu fosforilasyon bölgesinin fosforile edilemeyen alanin aminoasiti ile değiştirilmesi durumunda TNF α 'nın negatif etkisi ortadan kalktığı görülmüştür (46). Benzer şekilde JNK aktivitesinin hayvanlarda inhibitör peptidler ya da hücre kültürü ortamında dominant negatif JNK ekspresyon ile engellendiği durumlarda insülin sinyalinin normale dönmesi söz konusudur (47).

Tip 2 diyabetli hastalarının dolaşımında, iskelet kasında ve adipoz dokusunda TNF α konsantrasyonu yüksek olduğu görülmüştür. Ayrıca sağlıklı bireylere TNF α infüzyonu durumunda da insülin direncinin geliştiği gösterilmiştir (48). Kaslarda TNF α aktivasyonu, yukarıda belirtilen yolların yanı sıra S6K, ERK1/2 gibi bir çok kinazın aktivasyonuna da sebep olmaktadır. Yapılan çalışmada böyle bir durumda S307 fosforilasyonunda artış saptanamazken, IRS1 tirozin fosforilasyonunun azaldığı görülmüştür. Bunun nedeninin ise TNF α infüze edilmiş bireylerde artan IRS1 S636 fosforilasyonu olduğu düşünülmektedir (48).

İnsülin direnci gelişimine katkıda bulunan çevresel faktörlerden bir tanesi de vücutta artış gösteren lipid türevleridir (49). Genellikle diyetlerde bulunan doymamış uzun zincirli yağ asitlerinin JNK aktivasyonuna etkisinin olmadığı gözlenirken, palmitat gibi doymuş yağ asitlerinin JNK aktivasyonuna ve IRS1 S312 fosforilasyonuna neden olduğu gösterilmiştir. Ayrıca seramidlerin de hem besin yolağı üzerinden hem de JNK, IKK, NF κ B ve TNF α aracılı IRS1 S312 fosforilasyonunu artırarak insülin direncine neden olduğu saptanmıştır (4, 38).

SONUÇ

Tüm bu veriler göz önüne alındığında, IRS1 Ser/Thr fosforilasyonunun, dışarıdan gelen uyarılara ve uyarılara bağlı olarak regüle edildiği söylenebilir. IRS1' in bu regülasyonu bir çok metabolik yolağın ortak noktasını oluşturmaktadır. Dolayısıyla IRS1 üzerinde fosforilasyona uğrayan bölgelerinin, uyarılarının ve etkilerinin belirlenmesi insülin direncinin moleküler patogenezinin ortaya konabilmesi açısından oldukça önemlidir.

KAYNAKLAR

1. Alghamdi F, Guo M, Abdulkhalek S, Crawford N, Amith SR, and Szewczuk MR. A novel insulin receptor-signaling platform and its link to insulin resistance and type 2 diabetes. *Cell Signal*. 2014;26(6):1355-68.
2. Perseghin G, Petersen K, and Shulman GI. Cellular mechanism of insulin resistance: potential links with inflammation. *Int J Obes Relat Metab Disord*. 2003;27 Suppl 3:S6-11.
3. Tanti JF and Jager J. Cellular mechanisms of insulin resistance: role of stress-regulated serine kinases and insulin receptor substrates (IRS) serine phosphorylation. *Curr Opin Pharmacol*. 2009;9(6):753-62.
4. Hancer NJ, Qiu W, Cherella C, Li Y, Copps KD, and White MF. Insulin and metabolic stress stimulate multisite serine/threonine phosphorylation of insulin receptor substrate 1 and inhibit tyrosine phosphorylation. *J Biol Chem*. 2014;289(18):12467-84.
5. Wilcox G. Insulin and insulin resistance. *Clin Biochem Rev*. 2005;26(2):19-39.
6. Draznin B. Molecular mechanisms of insulin resistance: serine phosphorylation of insulin receptor substrate-1 and increased expression of p85 α : the two sides of a coin. *Diabetes*. 2006;55(8):2392-7.
7. Lee YH and White MF. Insulin receptor substrate proteins and diabetes. *Arch Pharm Res*. 2004;27(4):361-70.
8. Bevan P. Insulin signalling. *J Cell Sci*. 2001;114(Pt 8):1429-30.
9. Tamemoto H, Kadowaki T, Tobe K, Yagi T, Sakura H, Hayakawa T, et al. Insulin resistance and growth retardation in mice lacking insulin receptor substrate-1. *Nature*. 1994;372(6502):182-6.
10. Guo S. Insulin signaling, resistance, and the metabolic syndrome: insights from mouse models into disease mechanisms. *J Endocrinol*. 2014;220(2):T1-T23.
11. Bryant NJ, Govers R, and James DE. Regulated transport of the glucose transporter GLUT4. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2002;3(4):267-77.
12. Araki E, Lipes MA, Patti ME, Bruning JC, Haag B, 3rd, Johnson RS, et al. Alternative pathway of insulin signalling in mice with targeted disruption of the IRS-1 gene. *Nature*. 1994;372(6502):186-90.
13. Aspinwall CA, Qian WJ, Roper MG, Kulkarni RN, Kahn CR, and Kennedy RT. Roles of insulin receptor substrate-1, phosphatidylinositol 3-kinase, and release of intracellular Ca²⁺ stores in insulin-stimulated insulin secretion in beta -cells. *J Biol Chem*. 2000;275(29):22331-8.

14. Yamauchi T, Tobe K, Tamemoto H, Ueki K, Kaburagi Y, Yamamoto-Honda R, et al. Insulin signalling and insulin actions in the muscles and livers of insulin-resistant, insulin receptor substrate 1-deficient mice. *Mol Cell Biol*. 1996;16(6):3074-84.
15. Abe H, Yamada N, Kamata K, Kuwaki T, Shimada M, Osuga J, et al. Hypertension, hypertriglyceridemia, and impaired endothelium-dependent vascular relaxation in mice lacking insulin receptor substrate-1. *J Clin Invest*. 1998;101(8):1784-8.
16. Ogata N, Chikazu D, Kubota N, Terauchi Y, Tobe K, Azuma Y, et al. Insulin receptor substrate-1 in osteoblast is indispensable for maintaining bone turnover. *J Clin Invest*. 2000;105(7):935-43.
17. Copps KD and White MF. Regulation of insulin sensitivity by serine/threonine phosphorylation of insulin receptor substrate proteins IRS1 and IRS2. *Diabetologia*. 2012;55(10):2565-2582.
18. Withers DJ and White M. Perspective: The insulin signaling system—a common link in the pathogenesis of type 2 diabetes. *Endocrinology*. 2000;141(6):1917-21.
19. Herschkovitz A, Liu YF, Ilan E, Ronen D, Boura-Halfon S, and Zick Y. Common inhibitory serine sites phosphorylated by IRS-1 kinases, triggered by insulin and inducers of insulin resistance. *J Biol Chem*. 2007;282(25):18018-27.
20. Zick Y. Insulin resistance: a phosphorylation-based uncoupling of insulin signaling. *Trends Cell Biol*. 2001;11(11):437-41.
21. Boura-Halfon S and Zick Y. Phosphorylation of IRS proteins, insulin action, and insulin resistance. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2009;296(4):E581-91.
22. Kim YB, Kotani K, Ciaraldi TP, Henry RR, and Kahn BB. Insulin-stimulated protein kinase C lambda/zeta activity is reduced in skeletal muscle of humans with obesity and type 2 diabetes: reversal with weight reduction. *Diabetes*. 2003;52(8):1935-42.
23. Shah OJ and Hunter T. Turnover of the active fraction of IRS1 involves raptor-mTOR- and S6K1-dependent serine phosphorylation in cell culture models of tuberous sclerosis. *Mol Cell Biol*. 2006;26(17):6425-34.
24. Zhang J, Gao Z, Yin J, Quon MJ, and Ye J. S6K directly phosphorylates IRS-1 on Ser-270 to promote insulin resistance in response to TNF-(alpha) signaling through IKK2. *J Biol Chem*. 2008;283(51):35375-82.
25. Um SH, D'Alessio D, and Thomas G. Nutrient overload, insulin resistance, and ribosomal protein S6 kinase 1, S6K1. *Cell Metab*. 2006;3(6):393-402.
26. Um SH, Frigerio F, Watanabe M, Picard F, Joaquin M, Sticker M, et al. Absence of S6K1 protects against age- and diet-induced obesity while enhancing insulin sensitivity. *Nature*. 2004;431(7005):200-5.
27. Paz K, Liu YF, Shorer H, Hemi R, LeRoith D, Quan M, et al. Phosphorylation of insulin receptor substrate-1 (IRS-1) by protein kinase B positively regulates IRS-1 function. *J Biol Chem*. 1999;274(40):28816-22.
28. Luo M, Langlais P, Yi Z, Lefort N, De Filippis EA, Hwang H, et al. Phosphorylation of human insulin receptor substrate-1 at Serine 629 plays a positive role in insulin signaling. *Endocrinology*. 2007;148(10):4895-905.
29. Giraud J, Haas M, Feener EP, Copps KD, Dong X, Dunn SL, et al. Phosphorylation of Irs1 at SER-522 inhibits insulin signaling. *Mol Endocrinol*. 2007;21(9):2294-302.
30. Langlais P, Yi Z, Finlayson J, Luo M, Mapes R, De Filippis E, et al. Global IRS-1 phosphorylation analysis in insulin resistance. *Diabetologia*. 2011;54(11):2878-89.
31. Frojdo S, Vidal H, and Pirola L. Alterations of insulin signaling in type 2 diabetes: a review of the current evidence from humans. *Biochim Biophys Acta*. 2009;1792(2):83-92.
32. Bard-Chapeau EA, Hevener AL, Long S, Zhang EE, Olefsky JM, and Feng GS. Deletion of Gab1 in the liver leads to enhanced glucose tolerance and improved hepatic insulin action. *Nat Med*. 2005;11(5):567-71.
33. Matsuo K, Delibegovic M, Matsuo I, Nagata N, Liu S, Beltaieb A, et al. Altered glucose homeostasis in mice with liver-specific deletion of Src homology phosphatase 2. *J Biol Chem*. 2010;285(51):39750-8.
34. Andreozzi F, Laratta E, Sciacqua A, Perticone F, and Sesti G. Angiotensin II impairs the insulin signaling pathway promoting production of nitric oxide by inducing phosphorylation of insulin receptor substrate-1 on Ser312 and Ser616 in human umbilical vein endothelial cells. *Circ Res*. 2004;94(9):1211-8.
35. Bouzakri K, Roques M, Gual P, Espinosa S, Guebre-Egziabher F, Riou JP, et al. Reduced activation of phosphatidylinositol-3 kinase and increased serine 636 phosphorylation of insulin receptor substrate-1 in primary culture of skeletal muscle cells from patients with type 2 diabetes. *Diabetes*. 2003;52(6):1319-25.
36. Liu X, Liu M, Zhang J, Bai X, Ramos F, Van Remmen H, et al. Downregulation of Grb2 contributes to the insulin-sensitizing effect of calorie restriction. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2009;296(5):E1067-75.
37. Greene MW and Garofalo RS. Positive and negative regulatory role of insulin receptor substrate 1 and 2 (IRS-1 and IRS-2) serine/threonine phosphorylation. *Biochemistry*. 2002;41(22):7082-91.
38. Gual P, Le Marchand-Brustel Y, and Tanti JF. Positive and negative regulation of insulin signaling through IRS-1 phosphorylation. *Biochimie*. 2005;87(1):99-109.
39. Destefano MA and Jacinto E. Regulation of insulin receptor substrate-1 by mTORC2 (mammalian target of rapamycin complex 2). *Biochem Soc Trans*. 2013;41(4):896-901.
40. Fisher TL and White MF. Signaling pathways: the benefits of good communication. *Curr Biol*. 2004;14(23):R1005-7.
41. Saha AK, Xu XJ, Balon TW, Brandon A, Kraegen EW, and Ruderman NB. Insulin resistance due to nutrient excess: is it a consequence of AMPK downregulation? *Cell Cycle*. 2011;10(20):3447-51.
42. Harrington LS, Findlay GM, Gray A, Tolkacheva T, Wigfield S, Rebholz H, et al. The TSC1-2 tumor suppressor controls insulin-PI3K signaling via regulation of IRS proteins. *J Cell Biol*. 2004;166(2):213-23.
43. Lamming DW, Ye L, Katajisto P, Goncalves MD, Saitoh M, Stevens DM, et al. Rapamycin-induced insulin resistance is mediated by mTORC2 loss and uncoupled from longevity. *Science*. 2012;335(6076):1638-43.
44. Fraenkel M, Ketzinel-Gilad M, Ariav Y, Pappo O, Karaca M, Castel J, et al. mTOR inhibition by rapamycin prevents beta-cell adaptation to hyperglycemia and exacerbates the metabolic state in type 2

diabetes. *Diabetes*. 2008;57(4):945-57.

45. de Luca C and Olefsky JM. Inflammation and insulin resistance. *FEBS Lett*. 2008;582(1):97-105.

46. Rui L, Aguirre V, Kim JK, Shulman GI, Lee A, Corbould A, et al. Insulin/IGF-1 and TNF-alpha stimulate phosphorylation of IRS-1 at inhibitory Ser307 via distinct pathways. *J Clin Invest*. 2001;107(2):181-9.

47. Solinas G and Becattini B. JNK at the crossroad of obesity, insulin resistance, and cell stress response. *Mol Metab*. 2017;6(2):174-184.

48. Plomgaard P, Bouzakri K, Krogh-Madsen R, Mittendorfer B, Zierath JR, and Pedersen BK. Tumor necrosis factor-alpha induces skeletal muscle insulin resistance in healthy human subjects via inhibition of Akt substrate 160 phosphorylation. *Diabetes*. 2005;54(10):2939-45.

49. Samuel VT, Petersen KF, and Shulman GI. Lipid-induced insulin resistance: unravelling the mechanism. *Lancet*. 2010;375(9733):2267-77.