

Analisis Transkriptomik Mekanisme Molekuler Insulin pada Otot Skeletal Diabetes Melitus Tipe 2

Oleh: Indah Kurnia Klara

PENDAHULUAN

Diabetes melitus tipe 2 (DMT2) adalah gangguan metabolic yang ditandai dengan hiperglikemia akibat gangguan sekresi insulin, kerja insulin, ataupun keduanya (Yang et al., 2025). Otot rangka (*skeletal muscle*) memiliki peranan penting dalam menjaga homeostasis glukosa dalam tubuh karena jaringan ini bertanggung jawab pada sebagian besar penyerapan glukosa yang distimulasi oleh insulin (*insulin-stimulated glucose uptake*). Kegagalan otot rangka dalam merespon sinyal insulin secara optimal menjadi salah satu mekanisme patofisiologi utama yang mendasari kejadian resistansi insulin dan perkembangan penyakit DMT2 (González-Martín et al., 2023).

Studi yang telah dilakukan González-Martín et al. (2023) telah membuktikan validitas dataset *microarray* GSE22309 dengan mengidentifikasi *Differentially Expressed Genes* (DEG) sebagai *biomarker* untuk mengklasifikasikan kondisi klinis pasien (sensitif insulin, resisten insulin, dan diabetes) menggunakan model kecerdasan buatan. Berdasarkan studi tersebut, analisis DEG pada studi ini bertujuan mengidentifikasi mekanisme molekuler insulin pada otot rangka pada penderita DMT2. Hasil identifikasi ini diharapkan dapat mengungkap fluktuasi genetik utama (*up-regulation* maupun *down-regulation*), sehingga memberikan gambaran komprehensif mengenai jaras persinyalan normal yang diaktivasi oleh insulin di tingkat seluler.

METODE

Persiapan perangkat lunak dan *library*

Langkah awal dimulai dengan menginstal R dan mengunduh paket bioinformatika, seperti Bioconductor dan CRAN. *GEOquery* digunakan untuk pengunduhan data, *limma* untuk analisis statistik model linear, serta paket anotasi khusus seperti *hgu95a.db* (anotasi untuk *Affymetrix Hu95A array*) untuk memetakan ID probe mesin *Affymetrix* menjadi nama gen resmi (*Gene Symbol*).

Pengambilan data dari GEO

Data ekspresi gen mentah dari set data "GSE22309" diunduh dari pangkalan data NCBI *Gene Expression Omnibus* (GEO). Data ini terdiri dari *series matrix* yang memuat nilai intensitas cahaya dari *microarray* yang merepresentasikan tingkat ekspresi gen pada jaringan otot rangka manusia (González-Martín et al., 2023). Set data ini terdiri dari 110 sampel, 55 sampel yang diberi treatment insulin dan 55 sampel tidak diberi insulin (*untreated*).

Pra-pemrosesan dan normalisasi data

Data ekspresi diekstraksi dan diperiksa distribusinya. Mengingat variasi rentang nilai pada data *microarray*, dilakukan transformasi logaritma basis 2 (log2) untuk menormalkan distribusi data. Hal ini bertujuan agar data memenuhi asumsi statistik untuk pengujian selanjutnya dan mengurangi bias teknis antar sampel.

Pendefinisian grup dan matriks desain

Informasi kelompok sampel (metadata) dipisahkan untuk mendefinisikan variabel eksperimen. Sampel dikategorikan menjadi dua kelompok utama, yaitu kelompok yang menerima

perlakuan insulin (grup 1) dan kelompok kontrol *untreated* (grup 2). Matriks desain kemudian disusun di R untuk memetakan setiap sampel ke dalam kelompoknya masing-masing secara sistematis.

Analisis DEG (metode *limma*), penentuan ambang batas, serta ekstraksi hasil

Analisis DEG pada data microarray dilakukan dengan metode *limma* model linear. DEG signifikan apabila nilai adjusted P-value < 0,01 dan $|\log FC| > 1$. Hasil ini mencakup identifikasi gen yang mengalami peningkatan ekspresi (*up-regulated*) maupun penurunan (*down-regulated*) sebagai respons terhadap insulin.

Visualisasi hasil

Hasil analisis DEG diinterpretasi dengan menggunakan beberapa plot, seperti *volcano plot* untuk identifikasi sebaran gen upregulasi dan downregulasi. *Heatmap* untuk melihat pola clustering ekspresi gen pada setiap sampel berdasarkan daftar DEG. Plot lain yang digunakan seperti UMAP plot DAN *density plot*.

GO dan KEGG enrichment analysis

Enrichment analysis dilakukan menggunakan ShinyGO (<https://bioinformatics.sdsu.edu/go/>). Analisis ini dilakukan untuk identifikasi proses biologis yang berhubungan dengan DMT2, seperti *Gene Ontology* (GO) yang terdiri dari *Biological Process* (BP), *Cellular Components* (CC), dan *Molecular Functions* (MF) serta *pathway* KEGG (Gudivada & Amajala, 2025).

HASIL DAN INTERPRETASI

Analisis DEG

Berdasarkan hasil analisis DEG, gen dinyatakan signifikan apabila memiliki nilai *adjusted p-value* < 0.01 dan $|\log FC| > 0$. Gen dengan nilai logFC positif dikategorikan mengalami upregulasi, sedangkan nilai negatif dikategorikan mengalami downregulasi (Gunes, 2023). Terdapat 108 gen yang berbeda signifikan, 14 gen mengalami downregulasi serta 94 gen upregulasi. Profil perubahan ekspresi gen secara keseluruhan divisualisasikan dengan *volcano plot* (Gambar 1). 50 Differently Expressed Genes teratas divisualisasikan pada Gambar 2.

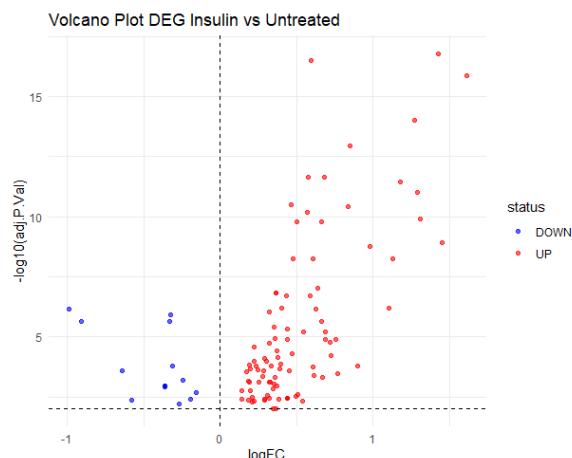
Gen *ZNF274*, *ADARB1*, *ZNF189*, *NECAP1*, *SREBF1*, *PDPN*, *CRK*, *TRIB1*, *SRSF3*, dan *DEGS1* merupakan gen yang mengalami upregulasi. Mounier and Posner 2006 mengemukakan bahwa gen *SREBF1* yang berperan penting dalam metabolisme lipid mengalami upregulasi dengan kehadiran insulin. Ekspresi gen metabolisme lipid lainnya, seperti *TRIB1* dan *DEGS1* juga mengalami upregulasi oleh insulin (Oberkofler et al., 2010). Gen *ARID15B*, *CITED2*, *IRS1*, *NR1D1*, *THRA*, *DYRK2*, *TLE1*, *MIA2*, dan *GADD45G* merupakan gen yang mengalami downregulasi. Gen *IRS1* merupakan protein signaling penting dalam jalur persinyalan insulin. Banyak studi yang telah membuktikan bahwa pemberian insulin berkepanjangan dapat mengurangi protein IRS1 (Ruiz-Alcaraz et al., 2005). Sayangnya untuk gen lain belum ditemukan bukti kuat penurunan ekspresinya ketika diberikan insulin.

GO dan KEGG enrichment analysis

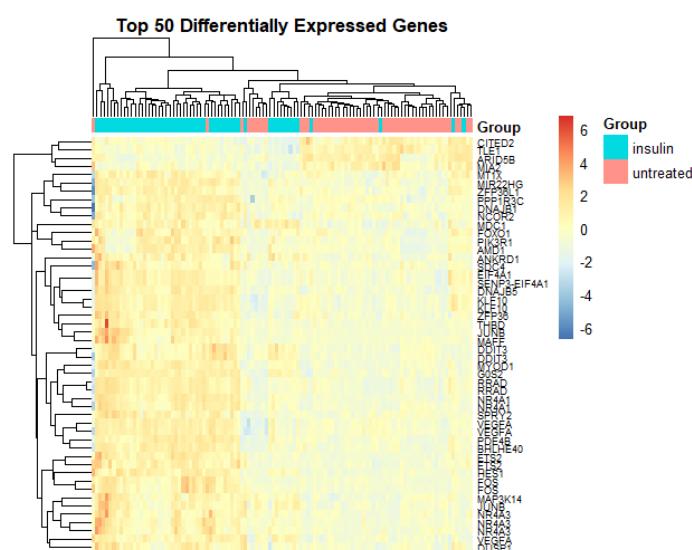
Baik gen upregulasi maupun downregulasi berhubungan dengan beberapa proses biologis pada analisis *enrichment analysis* GO *biological process* (BP), seperti *Glycogen biosynthetic proc* (GO:0005978), *Glycogen metabolic proc.* (GO:0005977), dan *Intracellular signal transduction* diketahui berhubungan dengan DMT2. Gangguan sintesis glikogen yang dirangsang insulin di otot dan hati berkontribusi pada resistensi insulin pada T2DM, sementara defek pada jalur pensinyalan insulin

intraseluler mengganggu homeostasis glukosa (Prats et al., 2011; Roden, Md and Shulman, Md, Phd, 1999; Zhen, 2020). Gen-gen tersebut juga berhubungan dengan berbagai GO *molecular functions*, seperti *Phosphotyrosine residue binding* (GO:0001784), *Sh2 domain binding* (GO:0042169), and *Signaling receptor complex adaptor activity* (GO:0030159) paling berhubungan dengan DMT2. Fungsi molekuler tersebut membantu protein terhubung dan mengirimkan sinyal di dalam sel. Fungsi-fungsi ini mendukung proses seperti pensinyalan insulin, yang penting dalam diabetes tipe 2, tetapi mereka bekerja sebagai bagian dari banyak jalur kompleks dan bukan sebagai faktor utama tunggal dalam penyakit tersebut (Dikic et al., 1995; Duan et al., 2004).

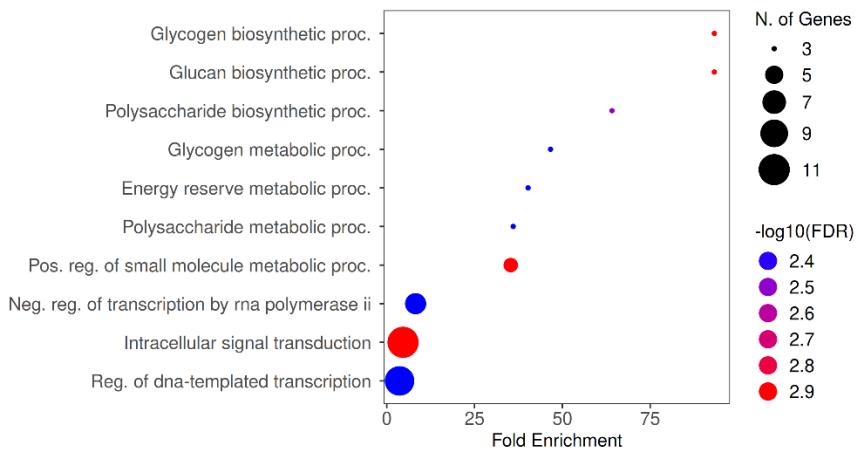
Insulin resistance (hsa04931) dan *Insulin signaling pathway* (hsa04910) merupakan dua pathway yang paling terkait dengan DMT2. Resistensi insulin merupakan *hallmark* diabetes melitus tipe 2 (T2DM), di mana gangguan sinyal insulin mengganggu homeostasis glukosa, berkontribusi pada hiperglikemia dan disfungsi metabolismik. Banyak penelitian menyoroti bahwa defek pada aktivasi reseptor insulin dan kaskade sinyal hilir, termasuk jalur PI3K/Akt, mendasari patofisiologi T2DM, menjadikan jalur-jalur ini sebagai target utama untuk memahami dan mengobati penyakit tersebut (Reza-Zaldívar and Jacobo-Velázquez, 2024; Liu et al., 2023; He et al., 2025). Hasil GO dan KEGG *enrichment analysis* divisualisasikan pada Gambar 3-5.



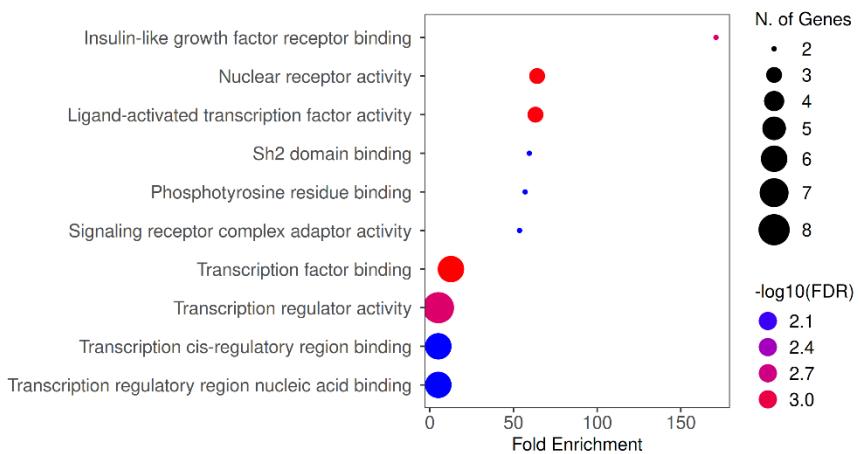
Gambar 1 *Volcano plot* hasil analisis DEGs. Hasil DEG signifikan jika *adjusted p value* < 0.01 dan $|\log FC| > 0$.



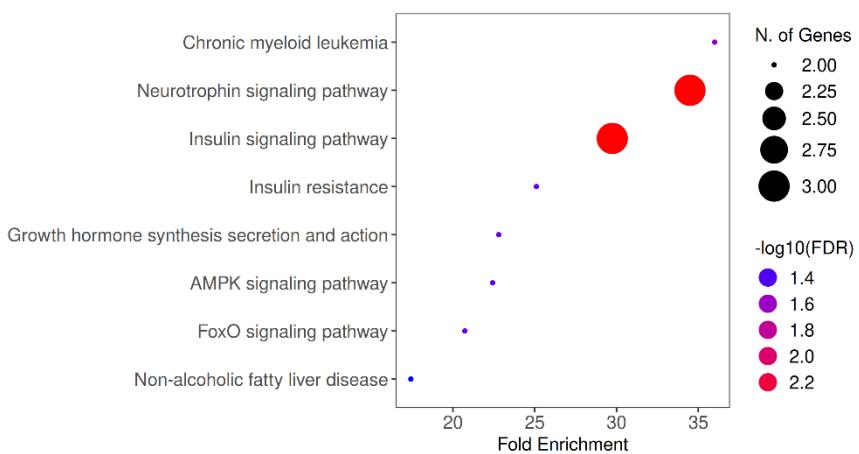
Gambar 2 Heatmap 50 Differently Expressed Genes teratas



Gambar 3 Hasil *enrichment analysis gene ontology* kategori *biological process* dari 10 gen upregulasi dan 10 gen downregulasi signifikan



Gambar 4 Hasil *enrichment analysis gene ontology* kategori *molecular function* dari 10 gen upregulasi dan 10 gen downregulasi signifikan



Gambar 5 Hasil *enrichment analysis gene ontology* kategori *molecular functions* dari 20 gen upregulasi dan downregulasi signifikan

SIMPULAN

Analisis transkriptomik metode *differential expressed genes* (DEG) menunjukkan pemberian insulin pada penderita diabetes melitus tipe 2 dapat meningkatkan ekspresi gen *ZNF274*, *ADARB1*, *ZNF189*, *NECAP1*, *SREBF1*, *PDPN*, *CRK*, *TRIB1*, *SRSF3*, dan *DEGS1* secara signifikan (upregulasi). Di sisi lain pemberian insulin menyebabkan gen *ARID15B*, *CITED2*, *IRS1*, *NR1D1*, *THRA*, *DYRK2*, *TLE1*, *MIA2*, dan *GADD45G* downregulasi. Gen-gen tersebut terlibat dalam patofisiologi DMT2, terutama pada *glycogen biosynthetic proc*, *glycogen metabolic proc.*, dan *intracellular signal transduction*. Selain itu, gen tersebut juga terlibat dalam jalur persinyalan insulin resistance dan insulin signaling pathway yang sangat erat kaitannya dengan DMT2.

DAFTAR PUSTAKA

- Dikic, I., Batzer, A. G., Blaikie, P., Obermeier, A., Ullrich, A., Schlessinger, J., & Margolis, B. (1995). Shc Binding to Nerve Growth Factor Receptor Is Mediated by the Phosphotyrosine Interaction Domain. *Journal of Biological Chemistry*, 270(25), 15125–15129. <https://doi.org/10.1074/jbc.270.25.15125>
- Duan, C., Yang, H., White, M. F., & Rui, L. (2004). Disruption of the SH2-B Gene Causes Age-Dependent Insulin Resistance and Glucose Intolerance. *Molecular and Cellular Biology*, 24(17), 7435–7443. <https://doi.org/10.1128/mcb.24.17.7435-7443.2004>
- González-Martín, J. M., Torres-Mata, L. B., Cazorla-Rivero, S., Fernández-Santana, C., Gómez-Bentolila, E., Clavo, B., & Rodríguez-Esparragón, F. (2023). An Artificial Intelligence Prediction Model of Insulin Sensitivity, Insulin Resistance, and Diabetes Using Genes Obtained through Differential Expression. *Genes*, 14(12), 2119. <https://doi.org/10.3390/genes14122119>
- Gudivada, I. P., & Amajala, K. C. (2025). Integrative Bioinformatics Analysis for Targeting Hub Genes in Hepatocellular Carcinoma Treatment. *Current Genomics*, 26(1), 48–80. <https://doi.org/10.2174/0113892029308243240709073945>
- Gunes, B. A. (2023). Integrated Bioinformatic Analysis To Evaluate Target Genes and Pathways in Chronic Lymphocytic Leukemia. *Ankara Universitesi Eczacilik Fakultesi Dergisi*, 47(1), 239–249. <https://doi.org/10.33483/jfpau.1205775>
- He, Y., Yang, X., He, X., Wang, G., Li, C., Yuan, P., & Li, C. (2025). Mechanisms and therapeutics of insulin signaling transduction genes in diabetic cardiomyopathy: a comprehensive updated review. *Frontiers in Endocrinology*, 16. <https://doi.org/10.3389/fendo.2025.1589695>
- Liu, Y., Zhang, J., An, C., Liu, C., Zhang, Q., Ding, H., Ma, S., & Xue, W. (2023). Identification of Potential Mechanisms of Rk1 Combination with Rg5 in the Treatment of Type II Diabetes Mellitus by Integrating Network Pharmacology and Experimental Validation. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(19), 14828. <https://doi.org/10.3390/ijms241914828>
- Mounier, C., & Posner, B. I. (2006). Transcriptional regulation by insulin: from the receptor to the geneThis paper is one of a selection of papers published in this Special issue, entitled Second Messengers and Phosphoproteins—12th International Conference. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*, 84(7), 713–724. <https://doi.org/10.1139/y05-152>
- Oberkofer, H., Pfeiferberger, A., Soyal, S., Felder, T., Hahne, P., Miller, K., Kremler, F., & Patsch, W. (2010). Aberrant hepatic TRIB3 gene expression in insulin-resistant obese humans. *Diabetologia*, 53(9), 1971–1975. <https://doi.org/10.1007/s00125-010-1772-2>
- Prats, C., Gómez-Cabello, A., & Hansen, A. V. (2011). Intracellular compartmentalization of skeletal muscle glycogen metabolism and insulin signalling. *Experimental Physiology*, 96(4), 385–390. <https://doi.org/10.1113/expphysiol.2010.052860>
- Reza-Zaldívar, E. E., & Jacobo-Velázquez, D. A. (2024). Targeting Metabolic Syndrome Pathways: Carrot microRNAs As Potential Modulators. *ACS Omega*, 9(20), 21891–21903.

- <https://doi.org/10.1021/acsomega.3c09633>
- Roden, M., & Shulman, M., Phd, G. I. (1999). Applications of NMR spectroscopy to study muscle glycogen metabolism in man. *Annual Review of Medicine*, 50(1), 277–290.
<https://doi.org/10.1146/annurev.med.50.1.277>
- Ruiz-Alcaraz, A. J., Liu, H.-K., Cuthbertson, D. J., Mcmanus, E. J., Akhtar, S., Lipina, C., Morris, A. D., Petrie, J. R., Hundal, H. S., & Sutherland, C. (2005). A novel regulation of IRS1 (insulin receptor substrate-1) expression following short term insulin administration. *Biochemical Journal*, 392(2), 345–352. <https://doi.org/10.1042/bj20051194>
- Yang, J., Wang, Y., Xu, Y., Jia, X., & Lu, F. (2025). Mechanisms of skeletal muscle atrophy in type 2 diabetes mellitus. *Frontiers in Physiology*, 16(June), 1–12.
<https://doi.org/10.3389/fphys.2025.1607873>
- Zhen, M. (2020). Gadofullerene for Type 2 Diabetes Mellitus Treatment. *Electrochemical Society Meeting Abstracts*, MA2020-01(9), 767. <https://doi.org/10.1149/ma2020-019767mtgabs>