

Univerzita Karlova v Praze
Přírodovědecká fakulta
Katedra antropologie a genetiky člověka

**Genetické příčiny diabetes mellitus 2. typu -
studium kandidátních genů**
**Genetic aspects of Type 2 diabetes mellitus
– study of candidate genes**

Bakalářská práce

Olga Bradnová

Školitelka: RNDr. Běla Bendlová, CSc.

V Praze 2006

Ráda bych poděkovala své školitelce RNDr. Běle Bendlové, CSc. a konzultantce RNDr. Markétě Vaňkové za jejich ochotu, odborné rady a především obrovskou pomoc při zpracování této práce. Dále děkuji celému týmu Oddělení molekulární endokrinologie za vytvoření příjemného prostředí a vstřícného přístupu.

Seznam zkratk

ACC.....	acetyl-CoA karboxyláza (Acetyl-CoA Carboxylase)
AMP.....	5'-AMP-aktivovaná proteinkináza
APM1.....	Adipose most abundant gene transcript-1
bHLH-ZIP.....	základní helix-otočka-helix a leucinový zip (basic Helix-Loop-Helix and Leucine Zipper)
BMI.....	body mass index
CRP.....	C-reaktivní protein (C-Reactive Protein)
CVD.....	kardiovaskulární choroby (CardioVascular Disease)
DM2.....	Diabetes Mellitus Type 2
GDM.....	gestační diabetes mellitus (Gestational Diabetes Mellitus)
GLUT4.....	transportér glukózy-4 (GLUcose Transporter-4)
gp130.....	glykoprotein 130
HAECs.....	lidské endoteliální buňky aorty (Human Aortic Endothelial Cells)
IL-6.....	interleukin-6
IL-6R.....	receptor interleukinu-6 (interleukin-6 receptor)
LDL.....	lipoproteiny s nízkou koncentrací (Low Density Lipoprotein)
PGC-1 α	koaktivátor receptoru aktivovaného proliferátory peroxisomů (Peroxisome Proliferator-Activated Receptor- γ Coactivator-1 α)
PPAR γ	receptor aktivovaný proliferátory peroxisomů (Peroxisome Proliferator-Activated Receptor γ)
SCAP.....	protien aktivující rozštěpení SREBP (SREBP-Cleavage-Activating Protein)
sIL-6R.....	rozpuštěný receptor interleukinu-6 (Soluble Interleukin-6 Receptor)
SNP.....	jednonukleotidový polymorfismus (Single Nucleotide Polymorphism)
SRE-1.....	sterol regulatory element
SREBP-1.....	Sterol regulatory element binding protein-1
TNF α	tumor nekrotický faktor (Tumor Necrotic Factor α)
UCP1.....	odpřahující protein-1 (Uncoupling Protein-1)
VLDL.....	lipoproteiny s velmi nízkou koncentrací (Very Low Density Lipoprotein)

Obsah

1. Úvod	5
2. Genetika diabetu mellitu 2. typu	6
2.1. Endokrinologie tukové tkáně	7
3. Studované kandidátní geny	12
3.1. PGC-1α	13
3.1.1. Role PGC-1 α v energetickém metabolismu	13
3.1.2. Polymorfismy PGC-1 α	16
3.2. Adiponektin	17
3.2.1. Biologická funkce adiponektinu	17
3.2.2. Polymorfismy adiponektinu	19
3.3. Interleukin-6	20
3.3.1. Charakteristika IL-6	20
3.3.2. Koncentrace IL-6	21
3.3.3. IL-6 a svalové cvičení.....	21
3.3.4. IL-6 a inzulínová rezistence	23
3.3.5. Polymorfismy IL-6 genu.....	24
3.4. SREBP-1	25
3.4.1. SREBP-1 a jeho role	25
3.4.2. Polymorfismy SREBP-1	26
4. Závěr	28
5. Seznam literatury	29

1. Úvod

Téma bakalářské práce jsem zvolila na základě svého působení v Endokrinologickém ústavu na oddělení molekulární endokrinologie pod vedením paní RNDr. Běly Bendlové, CSc. V ústavu se zabývám zjišťováním genotypových a alelických frekvencí polymorfismů vybraných kandidátních genů pro diabetes mellitus 2. typu (dále jen DM2) za pomoci metod PCR (polymerase chain reaction) a RFLP (restriction fragment length polymorphism).

Hledání genetických příčin je důležité z několika důvodů. Identifikace genů, které ovlivňují náchylnost k DM2 umožní lépe porozumět patofyziologickým příčinám DM2 a navíc povede ke zlepšení prevence DM2 a umožní poskytování lepší, cílené a individualizované terapie (Bendlová, 2006).

Diabetes dnes patří k nejrozšířenějším civilizačním chorobám. V České republice je registrováno přes 550 tisíc pacientů a na celém světě je více než 17 miliónů lidí s diagnostikovaným diabetem. Výskyt této choroby významně stoupá s věkem a prevalencí obezity (Bendlová a Hainer, 2004). Prevalence diabetu v rozvinutých zemích dosahuje 6 % a jeho manifestace se posouvá do stále nižších věkových skupin (Bendlová, 2006).

Stejně závažný je vztah diabetu k dalším civilizačním chorobám, jako je ateroskleróza, hypertenze a obezita. Orgánové následky aterosklerózy jsou nejčastější příčinou úmrtí diabetiků 2. typu. Klinické manifestaci diabetu předchází určité období, kdy osoba ohrožená diabetem je klinicky asymptomatická, ale při zátěžovém vyšetření jsou zjištěny odchylky sacharidového metabolismu a jeho regulace, které svědčí pro riziko vzniku diabetu v budoucnosti (Bendlová, 2006; Hainer a Bendlová, 2004).

Pacienti s diabetem 2. typu tvoří největší skupinu diabetiků (téměř 90 %). Zbylé procento případů tvoří LADA (late-onset autoimmune diabetes of the adult) a onemocnění způsobené chybou v jediném genu jako například MODY (maturity-onset diabetes of the youth), syndrom inzulinové rezistence (defekt v inzulinovém receptoru) a maternálně dědičný diabetes spojený s hluchotou (MIDD). Diabetes doprovází řada závažných komplikací, například diabetická mikroangiopatie (včetně nefropatie a retinopatie) diabetická neuropatie, kardiovaskulární onemocnění, diabetická noha a další změny, které vedou k urychlenému biologickému stárnutí (Bendlová, 2006).

2. Genetika diabetu mellitu 2. typu

Diabetes mellitus 2. typu je heterogenní onemocnění, které je způsobeno kombinací genetických a environmentálních faktorů. Hlavním rysem je rezistence tkání k účinku inzulínu – inzulínová rezistence a porucha sekrece inzulínu β -buňkami pankreatu.

Dědičnost nejlépe vyjadřuje model s několika geny středního dopadu, které působí na polygenním pozadí. Genetický model DM2 též ovlivňují pozorování zvýšeného podílu přenosu DM2 z matky na dítě a mohou se tak předpokládat další mechanismy, například imprinting a mitochondriální mutace (Groop, 1997).

Diabetes mellitus 2. typu je diagnostikován na základě doporučení WHO z roku 1999 (World health organization expert committee, 1999), kde za použití jednoduchých klinických kritérií – z hodnoty lačné a stimulované glykémie ve druhé hodině orálního glukózového tolerančního testu (oGTT – podání 75g glukózy) můžeme rozhodnout, zda se jedná o manifestní diabetes, porušenou glukózovou toleranci nebo porušenou lačnou glykémii (Diabetes prevention program research group, 2002 (viz tab. 1).

	Glykémie (mmol/l) v 0. min	Glykémie (mmol/l) ve 120. min
normální glykémie	3,6 – 5,6	<7,8
porušená glukózová tolerance	5,6 – 7,8	7,8 – 11,1
diabetes	>7,8	>11,1

Tab. 1. Hodnoty glykémie při oGTT

Studie dvojčat jasně dokládají genetickou predispozici. Pro odlišení genetických a negenetických vlivů se využívá porovnání míry konkordance u dizygotních dvojčat, která sdílejí polovinu genetické výbavy, s geneticky identickými monozygotními dvojčaty. Výskyt onemocnění u obou z dvojčat, tedy míra konkordance se u monozygotních dvojčat pohybuje mezi 35 – 38 % ve srovnání se 17 – 20 % u dizygotních dvojčat. Vyšší míra konkordance u monozygotních dvojčat se může odrážet od sdílení stejného intrauterinního prostředí, což může ztěžovat interpretaci výsledků. Sdílení jediné placenty vede k retardaci růstu monozygotních dvojčat ve srovnání s dizygotními. A navíc, sama nízká porodní hmotnost je spojována se zvýšeným rizikem vzniku DM2 v pozdějším věku. Také sdílení stejných

vnějších rizikových faktorů může ovlivňovat míru konkordance. Důležitou roli hraje také věk, protože prevalence značně stoupá s věkem (Ghosh a Collins, 1996).

Pro genetickou predispozici svědčí také značné rozdíly v prevalenci DM2 u různých etnických skupin. Příkladem může být 40 % prevalence u Pima indiánů versus 1 % u čínské zemědělské populace (King a Rewers, 1993).

Evoluční teorie úsporného genotypu předpokládá, že v době pravěku, kdy byl příjem potravy nedostatečný, bylo evolučně zvýhodněno maximální ukládání energie. Úsporných („thrifty“) genů si poprvé všiml Neel, který se zabýval efektivním využitím glukózy jako biologického paliva. Navrhl hypotézu o evolučního tlaku, který by uchránil glukózu pro využití v mozku v době hladovění. To by potom vedlo ke genetickému posunu směrem k inzulinové rezistenci v periferních tkáních (Neel, 1962). Nejefektivněji se energie ukládá v podobě tuku, což podporují právě úsporné geny. V současném stylu života a neustálém nadbytku potravy, způsobují tyto geny patologické spojení obezity a diabetu. Je proto možné, že účinkem úsporných genů a dědičností polymorfismů se populace stávají více či méně náchylné k rozvoji obezity a diabetu (Diamond, 2003). Existují ale dvě oddělené sady úsporných genů. Geny, podporující ukládání tuků a geny, které způsobují inzulinovou rezistenci. Uvedený koncept je proto paradoxem: když hladina inzulínu stoupá, podporuje ukládání tuku do tukové tkáně a podporuje tak obezitu a zároveň sval je k inzulínu rezistentní.

Je téměř jisté, že genetická komponenta hraje v patogenezi diabetu významnou roli.

2.1. Endokrinologie tukové tkáně

Klasicky se na tukovou tkáň díváme jako na zdroj a zásobárnu energie, ze které se v době energetické potřeby uvolňují volné mastné kyseliny, jejichž oxidací v mitochondriích buněk různých tkáních dochází k uvolňování energie. Dnešní pohled je daleko komplexnější, tuková tkáň je považována za velmi účinný endokrinní orgán, který produkuje řadu biologicky aktivních látek a hormonů (Rajala a Scherer, 2003). Tyto látky pak mohou působit lokálně, ale i na jiném, často vzdáleném místě v organismu, a to prostřednictvím autokrinních, parakrinních či endokrinních účinků. Jejich hlavní úlohou je regulovat diferenciaci buněk a energetickou rovnováhu.

Mezi hlavní z těchto látek se řadí adipokiny, molekuly původně odvozené od imunitních buněk. Jinou skupinou látek též produkovaných adipocyty jsou cytokiny, které hrají důležitou roli v regulaci homeostázy, zánětlivých procesů, vasoregulačních mechanismů

a v metabolismu steroidů. Někdy proteiny secernované tukovou tkání označujeme pro časté překrývání metabolických účinků souhrnně adipocytokiny. Se zvýšeným množstvím tuku v organismu vzrůstá množství produkovaných adipocytokinů. Zvýšené hladiny TNF- α (tumor nekrotický faktor α), IL-6 (interleukin-6), rezistinu hrají významnou roli v rozvoji inzulínové rezistence, která je neoddělitelnou součástí obezity.

Naopak jiné adipokiny, jako adiponektin a leptin, mají inzulínsenzitizující účinky, a to hlavně prostřednictvím ovlivnění procesů oxidace mastných kyselin v kosterním svalu (viz tab. 2).

Tab. 2. Proteiny secernované tukovou tkání, které pravděpodobně hrají roli v inzulínové rezistenci asociované s obezitou (dle Kershaw a Flier, 2004; Lazar, 2005).

Protein secernovaný tukovou tkání	Ovlivnění inzulínové senzitivity	Sekrece v jiných tkáních
Leptin	Zlepšení	Ne
Adiponektin	Zlepšení	Ne
Adipsin/ASP	Pokles	Ne
Rezistin	Pokles	Ne (hlodavci) Makrofágy (člověk)
TNF-alfa	Pokles	Makrofágy
IL-6	Pokles	Makrofágy
MCP-1	Pokles	Makrofágy
Visfatin (PBEF)	Zlepšení	Játra, lymfocyty
PAI-1	Pokles	Játra
Angiotensinogen	Pokles	Játra
Sérový amyloid A	?	Játra
Alfa1-kyselý glykoprotein	?	Játra

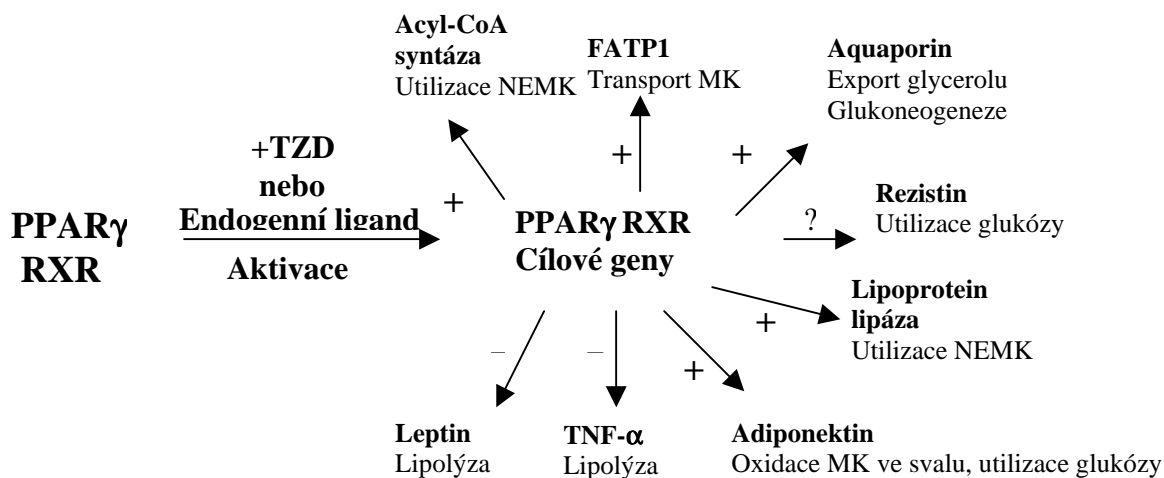
ASP, acylaci stimulující protein; TNF-alfa – tumor necrosis factor alpha; IL-6, interleukin 6; MCP-1, macrophage and monocyte chemoattractant protein 1; PBEF, pro-B cell colony enhancing factor; PAI-1, plasminogen activator inhibitor 1.

Dnes se připisuje velký význam při negativním ovlivňování přenosu inzulínového signálu všeobecně akceptované koncepci lipotoxicity, která je spojena s nadměrným ektopickým ukládáním tuku, zejména v hepatocytech, buňkách kosterního svalu a také v Langerhansových buňkách pankreatu, což vede k rozvoji inzulínové rezistence v těchto tkáních. Navíc zvýšená lipolytická aktivita tukové tkáně tento proces dále prohlubuje, a to prostřednictvím transportu mastných kyselin portální žilou do jater.

Další patologickou situací představuje lokální nadprodukce glukokortikoidů ve viscerálním tuku. Zvýšená aktivita 11-hydroxysteroidní dehydrogenázy vede ke zvýšeným hladinám kortizolu v tukové tkáni a následně k přesměrování tuku do viscerálních míst, což vede ke zvýšenému uvolňování metabolicky negativně působících adipokinů. Mnohé z nich působí lokálně, mnohé však i na centrální úrovni.

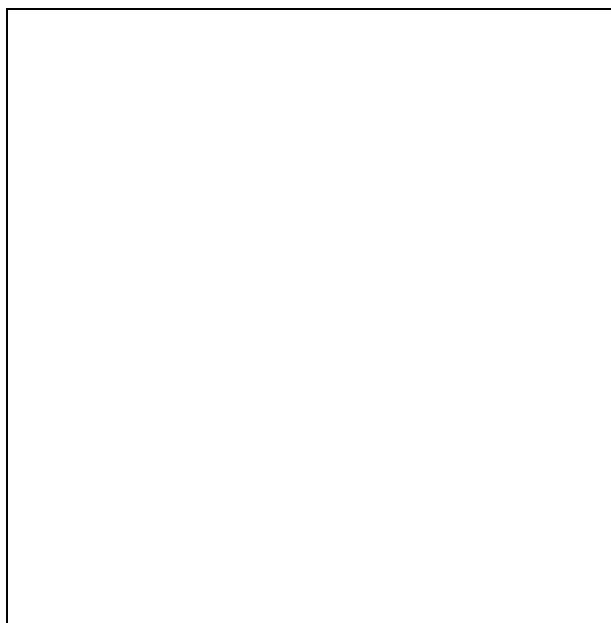
Leptin, TNF- α a IL-6 se aktivním transportem dostávají do hypotalamu, kde ovlivňují celou řadu procesů, jako aktivitu sympatického nervového systému, termogenezi, příjem potravy, reprodukční funkce, jakož i aktivaci hypotalamo-hypofyzární osy.

V rámci životního cyklu adipocytů je velmi důležitým krokem jejich diferenciaci, která je kontrolována prostřednictvím tzv. jaderných transkripčních faktorů systému PPAR (receptor aktivovaný proliferátory peroxisomů). Mezi důležité endogenní ligandy tohoto systému patří mastné kyseliny, prostaglandiny, eikosanoidy. Systém aktivují i synteticky připravené thiazolidindiony, používané jako inzulínsenzitizující látky v léčbě diabetu. PPAR γ tvoří po navázání ligandu heterodimer s retinoidním X receptorem. Spolu s dalšími koaktivátory (např. PGC-1 α) je vytvořen aktivní komplex. Systém PPAR γ reguluje nejen diferenciaci adipocytů, ale ovlivňuje transkripci řady genů účastných zejména v energetickém metabolismu, v metabolismu lipidů a v zánětlivých reakcích (obr. 1).



Obr. 1. Regulace genů tukové tkáně systémem γ (podle Šeboková, Klimeš, 2004).
 (Endogenní ligandy = NEMK (neesterifikované mastné kyseliny), eikosanoidy,
 TZD = thiazolidindiony)

PGC-1 α zřejmě rozhoduje o tom, zda se z preadipocytů stanou bílé nebo hnědé adipocyty. Bylo dokázáno, že PPAR γ je nezbytným a dostačujícím pro navození diferenciace ve bílé adipocyty a na druhé straně je sice nezbytným, ale ne dostačujícím pro diferenciaci hnědého tuku (Rosen *et al.*, 1999) (obr. 2.).



Obr. 2. Aktivace PPAR γ je klíčovou funkcí pro diferenciaci preadipocytů.

Preadipocyty se mohou diferencovat ve dva odlišné buněčné typy: bílé a hnědé. Aktivace PPAR γ je potřebná pro diferenciaci obou typů, ale pouze za pomoci koaktivátoru PGC-1 α je PPAR γ schopen aktivovat specifickou genovou expresi, která je spojená s konverzí preadipocytů na hnědé adipocyty (TRAP-Triiodothyronine Receptor Auxiliary Protein, PBP-Phosphatidylethanolamine-Binding Protein) (podle Puigserver et al., 2003).

Za normálních okolností je při nadbytku energie diferenciaci adipocytů a akumulaci lipidů v tukové tkáni zablokována prostřednictvím zpětné vazby, uplatňuje se především TNF- α , angiotenzinogen (AGT) a rezistin. Naopak při energetickém deficitu dochází k poklesu adiponektinu a leptinu a následně k aktivaci trofických proteinů, jako je acylaci stimulující protein (ASP) a angiotenzin II. Tyto signály jsou hlavním motorem pro vznik nových adipocytů a zvýšení akumulace triacylglycerolů v nich. Inzulín přitom hraje ústřední roli, neboť zvyšuje lipogenezi a uskladňování energie.

Vývoj inzulínové rezistence, která provází nadbytečné ukládání energie, může vést ve snaze o udržení energetické homeostázy tukových buněk, které jsou chronicky exponovány nadbytkem mastných kyselin a glukózy, k aktivaci protichůdných regulačních mechanismů. Zvyšování tělesného tuku tedy vede k potencování negativní odpovědi adipokinů a k prohlubování inzulínové rezistence, zánětlivých procesů, hypertenze a endoteliální

dysfunkce, tedy k potenciaci pro-aterogenní situace (Arner, 2003). Z hlediska vývoje metabolických komplikací je přitom rizikovější tuk viscerální než podkožní (Šeboková, Klimeš, 2004).

3. Studované kandidátní geny

Tradiční metodou pro identifikaci genů, které se uplatňují v patogenezi chorob, je výběr kandidátních genů. Kandidátní geny jsou vybírány zejména na základě:

- 1) biologické funkce, ať už známé nebo předpokládané, u níž lze předvídat, že porucha této funkce může vést k rozvoji onemocnění,
- 2) zvířecích a lidských modelů, u nichž byl gen identifikován jako monogenní příčina stavu spojeného s diabetem,
- 3) na základě expresních studií.

Studovaný kandidátní gen je nejprve podroben screeningu a jsou hledány jeho genetické varianty, často jednonukleotidové polymorfismy.

Poté, co jsou u jednotlivých polymorfismů zjištěny genotypové a alelické frekvence na souborech pacientů a kontrolních jedinců, se statisticky porovnává zastoupení studovaného genotypu v souborech (homozygoti pro variantní alelu, heterozygoti a homozygoti pro běžnou alelu). Dále se studuje, zda má studovaný polymorfismus vliv na vývoj DM2, popřípadě jeho dopad na fenotyp. Pokud je nalezena souvislost, jeví se tento polymorfismus jako geneticky predisponující. Jeden z prvních byl samozřejmě studován gen kódující inzulin a gen pro inzulinový receptor, pak následovalo studium genů pro glukózoové transportéry. V současné době se studují geny související s inzulinovou rezistencí, s energetickým metabolismem, geny zánětlivých faktorů a geny účastníci se metabolických drah, které by mohly souviset s rozvojem DM2. Ačkoliv již bylo studováno přes 250 kandidátních genů, bylo zatím zjištěno jen málo pozitivních asociací polymorfismů s DM2 a pokud byly nalezeny pozitivní asociace, ne vždy byly potvrzeny v jiných studiích.

Poměrně malá úspěšnost asociačních studií je dána především heterogenitou onemocnění, nedostatečnou statistickou silou, mnohonásobným testováním hypotézy, populační diferenciací, publikačním biasem a mnoha dalšími faktory.

Je jisté, že pro zjišťování skutečných genetických asociací u multifaktoriálního onemocnění jsou potřebné důkladně charakterizované soubory s více než tisícem jedinců.

Ve své práci se podrobněji budu zabývat několika kandidátními geny, jejichž produkty hrají roli při udržování energetické homeostázi a regulaci lipidového a glukózového metabolismu.

Prvním zde popisovaným kandidátním genem je gen pro PGC-1 α (Peroxisome proliferator-activated receptor γ -1 α), který kóduje protein, jež je specifickým jaderným koaktivátorem jaderného receptoru PPAR γ . Kontroluje energetickou a nutriční homeostázu a stimuluje mitochondriální oxidativní metabolismus v tukové tkáni. Má úlohu v diferenciaci adipocytů. Účinek PGC-1 α na absorpci glukózy a její metabolismus je zajímavý zejména při DM2, protože intenzita mitochondriální oxidace může ovlivňovat absorpci glukózy.

Gen pro adiponektin kóduje protein, který se účastní regulace energetické homeostázy a regulace metabolismu lipidů a glukózy. Adiponektin je specifickým proteinem pro tukovou tkáň. Má také protizánětlivé účinky na buněčné komponenty cévní stěny. Adiponektin se považuje za endogenní protizánětlivý a antiaterogenní faktor, který působí ochranně proti inzulinové rezistenci a makroangiopatii.

Interleukin-6 (IL-6) je cytokin, vylučovaný T-buňkami a makrofágy. Má výrazný vliv na metabolismus jaterní glukózy a inhibuje glykogenovou syntézu. Protein je produkován v kosterním svalu a podílí se na udržování metabolické homeostázy. IL-6 je jedním z nejdůležitějších mediátorů horečky. Ve svalech a tukové tkáni stimuluje IL-6 energetickou mobilizaci, což vede ke zvýšení tělesné teploty. Gen pro interleukin-6 byl vybrán proto, že v současnosti se dostaly i zánětlivé faktory do středu zájmu výzkumu s diabetem a obezitou.

Posledním popisovaným genem je gen pro transkripční faktor SREBP (Sterol regulatory element binding protein), který hraje důležitou roli v adipogenezi, inzulinové senzitivě a v homeostáze mastných kyselin. U savců existují tři formy tohoto genu: SREBP-1a, SREBP-1c a SREBP-2, jejichž exprese a funkce bude podrobněji popsána dále. Zajímavé je, že množství tohoto proteinu je redukováno v kosterních svalech diabetiků.

3.1. PGC-1 α

3.1.1. Role PGC-1 α v energetickém metabolismu

PGC-1 α (peroxisome proliferator-activated receptor γ coactivator-1 α) je zahrnut v mnoha biologických dějích spojených s energetickou homeostázou, tepelnou regulací a s glukózovým metabolismem.

Gen kódující PGC-1 α leží na chromozomu 4p15.1, zaujímá oblast o přibližně 67 kb a obsahuje 13 exonů (Esterbauer *et al.*, 1999).

Protein PGC-1 α je tvořen 798 aminokyselinami a jeho molekulová hmotnost činí 91 kDa. Transkripty jsou nalézány kromě tukové tkáně i v srdci, kosterním svalu a v ledvinách a v menší míře v játrech, mozku a pankreatu (Lehman *et al.*, 2000). N-konec všech proteinů, patřících do PGC-1 α genové rodiny, zahrnuje transkripci aktivující doménu a obsahuje motiv, který interaguje s hlavním jaderným hormonálním receptorem. C-terminální konec má RNA-vazebný motiv a doménu bohatou na serin a arginin (SR doména), který interaguje s C-terminální doménou RNA polymerázy-2. PGC-1 α dále obsahuje 3 místa pro fosforylaci proteinkinázou A (Lin *et al.*, 2002).

Aktivovaný PGC-1 α indukuje a koordinuje genovou expresi, která stimuluje mitochondriální oxidativní metabolismus, zejména v tukové tkáni a svalu.

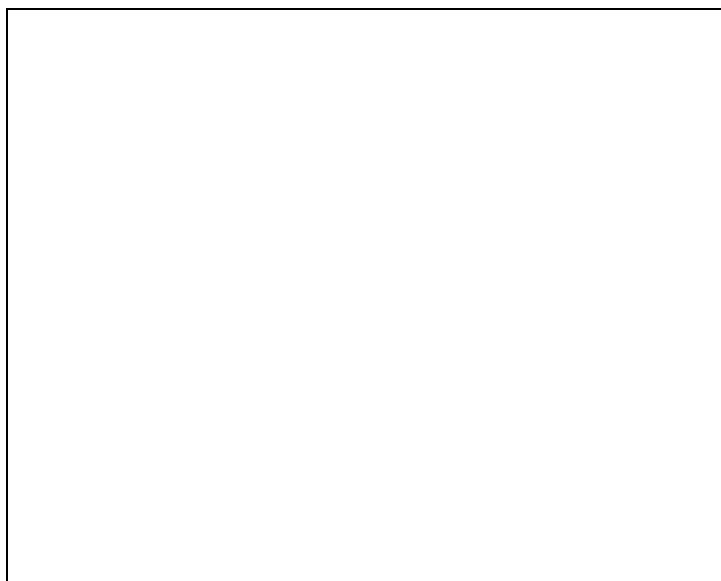
Jeho exprese je dramaticky zvýšená při chladu v hnědé tukové tkáni a kosterním svalu, hlavních termogenních tkáních. PGC-1 α aktivuje expresi UCP1 v hnědém tuku a klíčových mitochondriálních enzymů dýchacího řetězce a zvyšuje buněčný obsah mitochondriální DNA (Puigserver *et al.*, 1998, Wu *et al.*, 1999, Puigserver *et al.*, 2003) (obr. 3). PGC-1 α tak hraje klíčovou roli v zapojení jaderných receptorů do transkripčního programu adaptivní termogeneze (změny v uvolňování tělesného tepla v odpovědi na teplotu prostředí, nutriční stav nebo infekci (Cannon *et al.*, 1992)).

Transkripční aktivitu PGC-1 α mohou aktivovat cytokiny, jako například IL-1 α , IL-1 β a TNF- α přímou fosforylací p38 MAPK, a lipopolysacharidy (Puigserver *et al.*, 2001).



Obr. 3. Mitochondriální biogeneze a genová exprese zprostředkovaná PGC-1 α . β -adrenergní a cytokinové receptory na buněčném povrchu spouštějí signální kaskádu, která se týká metabolických cest PAK(p21-activated kinase) a p38 MAPK (mitogen-activated protein kinase). PAK fosforyluje transkripční faktor CREB (cAMP response element-binding protein), který pomáhá v genové expresi PGC-1 α . Stimulovaná p38 MAPK přímo fosforyluje protein PGC-1 α a výsledkem je jeho aktivace a stabilizace. PGC-1 α aktivuje expresi podjednotky respiračního řetězce a mtTFA (mitochondrial transcription factor A) indukci exprese NRF (nuclear respiratory factor) a koaktivací NRF-1 zprostředkovanou transkripcí. MtTFA je potom translokována do mitochondrie, kde zvyšuje transkripci a replikaci mtDNA (podle Puigserver *et al.*, 2003).

Významný je také účinek PGC-1 α na absorpci glukózy a její metabolismus. Mnoho studií dokazuje, že intenzita mitochondriální oxidace může ovlivňovat absorpci glukózy. Tento koaktivátor také přímo ovlivňuje expresi genu pro transportér glukózy (GLUT-4). Exprese PGC-1 α také koreluje s jaterní glukoneogenezí. Hormony regulující glukoneogenezí jsou schopné aktivovat expresi PGC-1 α v primárních hepatocytech (Yoon *et al.*, 2001, Puigserver *et al.* 2003) (obr. 4).



Obr. 4. Transkripční regulace jaterní glukoneogeneze prostřednictvím PGC-1 α .

Produkce jaterní glukózy je přísně kontrolována hormony. Glukagon a katecholaminy stimulují metabolické cesty cAMP a CREB, jež aktivují genovou expresi PGC-1 α
(podle Puigserver *et al.*, 2003).

PGC-1 α je tak zajímavým kandidátním genem obezity a DM2.

3.1.2. Polymorfismy PGC-1 α

Andrulionyte *et al.* (2004) prozkoumávali účinek častého polymorfismu Pro12Ala v genu pro PPAR- γ 2 a polymorfismus Gly482Ser v genu pro PGC-1 α . Zjistili, že genotyp Pro12Pro v genu pro PPAR-gama a alela 482Ser v genu pro PGC-1 α je asociována s konverzí z porušené glukózové tolerance na DM2.

Kim *et al.* (2005) též zjišťovali, zda je genový lokus pro PGC-1 α asociován s DM2. Dále prozkoumávali jeho asociaci s klinickými a metabolickými parametry u zdravých jedinců a diabetiků. Bylo genotypováno 8 jednonukleotidových polymorfismů v genu pro PGC-1 α , včetně promotorové oblasti. Nenašli sice žádnou silnou asociaci mezi polymorfismy PGC-1 α a DM2, ale byla nalezena asociace promotorových polymorfismů (-1789G/A a -1437C/T) s věkem, kdy byl DM2 diagnostikován. Polymorfismy v promotorové oblasti a haplotyp (-1789A a -1437T) jsou významně asociovány s raným nástupem DM2.

Vimaleswaran *et al.* (2005) vyšetřovali vztah tří polymorfismů v genu pro PGC-1 α (Thr394Thr, Gly482Ser a +2962A/G) s DM2 u Indů. Měli k dispozici 515 diabetiků

a 882 jedinců s normální glukózovou tolerancí. Tyto tři polymorfismy neměly stejné zastoupení. Co se týče polymorfismu Thr394Thr (G/A), frekvence alely A byla vyšší u diabetiků (genotyp GA mělo 20 % diabetiků ve srovnání s 12 % u kontrol). Navíc se zjistilo, že celkový cholesterol, LDL-cholesterol a systolický krevní tlak jsou vyšší u jedinců s normoglykemií s genotypy GA, AA ve srovnání s genotypem GG. U polymorfismů Gly482Ser a +2962A/G, nebyly nalezeny žádné odlišnosti v genotypové ani alelické distribuci mezi diabetiky a kontrolami. Závěrem autoři uvedli, že alela A polymorfismu Thr394Thr v genu pro PGC-1 α je asociována s DM2 v populaci Indů a že genotyp GA/AA představuje 1,6 krát vyšší riziko vzniku DM2 ve srovnání s genotypem GG v této populaci.

V zatím nejnovější studii prováděné na gestačních diabetičkách Leibold *et al.* (2006) dospěli k závěru, že polymorfismy Thr394Thr a Gly482Ser v genu pro PGC-1 α nejsou asociovány s vývojem gestačního diabetes mellitus.

3.2. Adiponektin

3.2.1. Biologická funkce adiponektinu

Adiponektin (také nazývaný gelatin-binding protein (GBP28) nebo adipocyt-specific secretory protein (Acrp30)) je hormonální sekreční protein, produkovaný adipocyty bílé tukové tkáně. Gen pro adiponektin, APM1 (adipose most abundant gene transcript-1) je lokalizován na chromozomu 3 (3q27) (Saito *et al.*, 1999). Byla izolována cDNA, kódující APM1, a sekvenční analýzou bylo zjištěno, že sekreční protein je tvořený 244 aminokyselinami. Obsahuje signální peptid, krátkou N-terminální sekvenci, následovanou repeticemi s motivem podobným kolagenu. Gen pro adiponektin je dlouhý 16 kb, obsahuje 3 exony, promotor a TATA-box. APM1 je exprimován adipocyty jako 33 kDa protein (Maeda *et al.* (1996).

Adiponektin zasahuje do regulací řady metabolických a zánětlivých procesů, výzkum jeho účinků je stále velmi intenzivní a zdaleka není uzavřen. Reguluje energetickou homeostázu a metabolismus lipidů a glukózy. Adiponektin působí synergicky s inzulínem - podporuje vstřebávání glukózy buňkami kosterních svalů a snížení produkce glukózy v játrech (Maeda *et al.*, 2002).

Adiponektin stimuluje 5'-AMP-aktivovanou proteinkinázu (AMPK), dále stimuluje fosforylaci acetyl-CoA karboxylázy (ACC), oxidaci mastných kyselin zejména v kosterním

svalu. Aktivace AMPK pomocí adiponektinu umožní přímou regulaci glukózového metabolismu a inzulínové senzitivity *in vitro* a *in vivo* (Yamauchi *et al.*, 2002).

Přímým cílem pro působení adiponektinu jsou preadipocyty. Parakrinně uvolňovaný adiponektin způsobuje negativní zpětnou vazbu pro regulaci tukových zásob. Redukcí tělesné hmotnosti se zvyšuje plazmatická hladina adiponektinu, ačkoliv je redukována tkáň, ve které je syntetizován. Exprese adiponektinu je při obezitě pod kontrolou zpětné inhibice (Yokota *et al.*, 2002). Bylo zjištěno, že syntézu a sekreci adiponektinu ovlivňují inzulín senzitivující sloučeniny - thiazolidindiony, které působí prostřednictvím jaderných receptorů PPAR γ a využívají se v léčbě DM2 (Phillips *et al.*, 2003) (obr. 1).

Adiponektin je také důležitým regulátorem hematopoézy a zánětlivých reakcí (Yokota *et al.*, 2000), proto jej řadíme mezi adipocytokiny. Potlačuje adhezi monocytů na endoteliální buňky aorty (human aortic endothelial cells, HAECs) indukovanou TNF- α , dále potlačuje expresi adhezivních molekul cévních buněk, selektinu, a intracelulárních adhezivních molekul na HAECs (Ouchi *et al.*, 1999). Adiponektin tak zeslabuje zánětlivou reakci spojenou s aterogenezí (Ouchi *et al.*, 2000).

Adiponektin též stimuluje produkci a fosforylaci endoteliálního NO. Mechanismus, kterým adiponektin způsobuje zvýšenou produkci NO a vasodilataci, je nepochybně odlišný od toho, kterým reguluje produkci NO inzulín (Chen *et al.*, 2003).

Adiponektin je hojně exprimován a secernován, takže jeho koncentrace v krvi dosahuje za fyziologických podmínek vysokých hodnot, přibližně od 5 do 10 $\mu\text{g/ml}$ (Maeda *et al.*, 1996), jsou nižší u mužů než u žen. Hladiny plazmatického adiponektinu jsou nižší u obézních jedinců, ale i u dalších patofyziologických stavů. Stanovení hladiny adiponektinu by mohlo být využito například pro odhalování rizika kardiovaskulárních chorob (Arita *et al.*, 1999), neboť hladiny adiponektinu v plazmě jsou nižší u pacientů s kardiovaskulárními chorobami (CVD, cardiovascular disease) ve srovnání se zdravými jedinci stejného věku a BMI (body mass index) (Ouchi *et al.*, 1999). Vysoké hladiny adiponektinu jsou naopak asociovány s menším rizikem srdečního infarktu u mužů (Pischon *et al.*, 2004). Jedinci s vysokými koncentracemi jsou méně náchylní k rozvoji diabetu 2. typu (Lindsay *et al.*, 2002). Nízká koncentrace adiponektinu v maternální plazmě předpovídá gestační diabetes mellitus (GDM), což je stav biochemicky i epidemiologicky podobný DM2. Koncentrace

proteinu byly signifikantně nižší u žen s GDM než u kontrol (4,4 vs. 8,1 µg/ml v plazmě) (Williams *et al.*, 2004).

Sivan *et al.* (2003) zjistili pozitivní korelaci koncentrace adiponektinu ve fetální krvi s novorozeneckou váhou. Novorozenecké hodnoty byly mnohem vyšší ve srovnání s maternálními.

Sérová koncentrace adiponektinu u nemocných s *anorexia nervosa* a *bulimia nervosa* byla signifikantně nižší, než-li u kontrolních jedinců s normální hmotností (Tagami *et al.*, 2004), což je pozoruhodné, když víme, že hodnoty adiponektinu korelují negativně s obezitou, respektive s BMI a množstvím tuku (Arita *et al.*, 1999) a že redukce váhy způsobuje zvýšení adiponektinu v plasmě (Yang *et al.*, 2001).

3.2.2. Polymorfismy adiponektinu

Polymorfismy v adiponektinovém genu jsou asociované s BMI, inzulínovou senzitivitou a DM2. V poslední době bylo provedeno několik studií.

Stumvoll *et al.* (2002) objevili záměnu T/G v nukleotidu 94 (exon 2) v genu pro adiponektin, která byla spojena se zvýšenou hladinou cirkulujícího adiponektinu. Inzulínová senzitivita byla významně nižší u jedinců nesoucích genotypy GG a GT ve srovnání s nositeli genotypu TT. Nebyly však zjištěny žádné další metabolické abnormality asociované s alelou G.

Lacquemant *et al.* (2004) zjistili asociaci polymorfismu +45T/G s kardiovaskulárním onemocněním u francouzské a švýcarské populace.

Frekvence mutace Ile164Thr je častější u jedinců s kardiovaskulárními chorobami než u zdravých kontrol (Ohashi *et al.*, 2004). Také hladina adiponektinu v plazmě byla nižší u jedinců nesoucích tuto mutaci. Pacienti s mutací vykazovali klinický fenotyp metabolického syndromu, který zahrnuje hypertenzi, hyperlipidemii, DM2 a aterosklerózu. Mutace Ile164Thr v genu pro adiponektin se zdá být běžnou genetickou příčinou asociovanou s metabolickým syndromem a kardiovaskulárními chorobami u japonské populace.

Ve studii Fumeron *et al.* (2004) hodnotili vliv polymorfismů -11391G/A a +45T/G na rozvoj syndromu inzulínové rezistence. Promotorový polymorfismus -11391G/A ovlivňoval inzulínovou rezistenci, zvýšené riziko bylo spojeno s heterozygotním genotypem GA. U polymorfismu +45T/G bylo vyšší riziko vzniku inzulínové rezistence u nositelů genotypu GG, navíc byl tento genotyp spojen se zvýšeným BMI. Autoři uzavírají, že varianty

v lokusu pro adiponektin ovlivňují tělesnou hmotnost, distribuci tělesného tuku a vývoj hyperglykémie.

V nejnovější studii Qi *et al.* (2006) posuzovali asociaci variant v genu pro adiponektin s hladinou cirkulujícího adiponektinu a rizikem vzniku kardiovaskulárních chorob u žen s DM2. Celkem bylo detekováno pět polymorfismů u diabetiček i u kontrol. Polymorfismus v oblasti promotoru -11365C/G byl významně asociován s nižší hladinou adiponektinu v plazmě. U homozygotních jedinců alely -4034C bylo vyšší riziko vzniku CVD. Na tuto asociaci neměl vliv věk ani BMI. Naopak polymorfismus +276G/T je významně spojený se snížením rizika CVD u nositelů variantní alely.

3.3. Interleukin-6

3.3.1. Charakteristika IL-6

Interleukin-6 (také nazývaný interferon beta-2 (INFB2), B-cell stimulatory faktor 2 (BSF2), hepatocyte stimulatory faktor (HSF) nebo hybridoma growth faktor (HGF)) je cirkulující multifunkční cytokin. Gen kódující IL-6 je lokalizován na 7. chromozomu, přesněji 7p21 (Bowcock *et al.*, 1988).

IL-6 je glykosylovaný protein s molekulovou hmotností 22-27 kDa, jeho hmotnost závisí na buněčném zdroji a posttranslačních modifikacích. Je syntetizován jako prekurzorový protein o velikosti 212 aminokyselin - 28 aminokyselin tvoří signální sekvenci a 184 aminokyselin tvoří vlastní protein. Tato primární sekvence je odlišná od ostatních interleukinů. (Hirano *et al.*, 1994).

IL-6 působí prostřednictvím membránového receptoru (IL-6R) a signalizačního proteinu gp130 (glykoprotein 130). Výsledný hexamerní komplex se tvoří postupně. Nejprve se IL-6 naváže na receptor a pak se takto prezentují podjednotce gp130, teprve poté dochází k aktivaci komplexu (Boulangier *et al.*, 2003). Proteolytickým rozštěpením receptoru vzniká jeho rozpustná forma (sIL-6R), jež může aktivovat buňky exprimující podjednotku gp130 (Jones *et al.*, 2001).

IL-6 je produkován mnoha různými buňkami, ale hlavními zdroji jsou stimulované monocyty (makrofágy), fibroblasty a cévní endoteliální buňky. Dalšími buňkami, schopnými exprimovat IL-6 jsou keratinocyty, osteoblasty, T-buňky, B-buňky, neutrofilové, eozinofily, žírné buňky, buňky hladkých a příčně pruhovaných svalů. 10-35 % cirkulujícího IL-6 v těle pochází z tukové tkáně (Mohamed-Ali *et al.*, 1997, Fried *et al.* 1998). I když lidská tuková tkáň produkuje IL-6, jen 10% její produkce IL-6 pochází z adipocytů, hlavní podíl IL-6 se

tvoří ve stromální vaskulární frakci tukové tkáně. Jako mnoho dalších cytokinů je i IL-6 široce rozšířeným proteinem, stimulovaným mnoha fyziologickými i patologickými faktory. Typickými stimuly pro produkci IL-6 jsou interleukin-1, TNF- α a bakteriální endotoxin (Akira *et al.*, 1993), ale také například fyzická aktivita (viz níže).

3.3.2 Koncentrace IL-6

Hladina IL-6 je značně zvýšena při obezitě, kdy se v adipocytech tvoří až 30% plazmatické hladiny, přitom koncentrace jsou vyšší ve viscerálním tuku než v podkožním. Mnohé studie prokázaly jasný vztah mezi zvýšenými hladinami IL-6 a inzulínovou rezistencí. Bazální hladina IL-6 je vyšší u pacientů s diabetes mellitus 2. typu (Vožarova *et al.*, 2001). Na druhé straně snížené koncentrace IL-6 korelují se zlepšením inzulínové senzitivity a s nižší hladinou glukózy po glukózové zátěži (Fassauer a Paschke, 2003). Zvýšené hladiny IL-6 jsou spojeny s rizikem vzniku diabetické nefropatie (Kitamura *et al.*, 2002), osteoporózou (Ferrari *et al.*, 2003), zánětlivými (např. Crohnova nemoc (Sawczenko *et al.*, 2005)) a nádorovými onemocněními (např. Kapošiho sarkom (Gazouli *et al.*, 2004)). Hladiny IL-6 se zvyšují se stářím (Bruunsgaard *et al.*, 1999) a u kuřáků (Jerrard-Dunne *et al.*, 2004). Pozoruhodné je, že hladiny IL-6 se zvyšují při „zdraví prospěšné“ fyzické aktivitě.

3.3.3. IL-6 a svalové cvičení

Jak bylo řečeno, koncentrace interleukinu-6 v plazmě se zvyšuje při svalovém cvičení. Zvýšení sekrece IL-6 vede k uvolnění řady cytokinů a dochází k inhibici tvorby TNF- α (Ostrowski *et al.*, 1998, Febbraio *et al.* 2002) (obr. 5).



Obr. 5. Hladiny plasmatických cytokinů při namáhavé fyzické aktivitě (podle Febbraio et al., 2002)

Výskyt IL-6 v oběhu záleží na intenzitě cvičení, jeho trvání, technice a mnoha dalších faktorech. Existuje tedy korelace mezi intenzitou cvičení a zvýšením IL-6 v plazmě (Ostrowski *et al.*, 2001). Důležitým faktorem je také množství svalů zapojených při cvičení. Faktem je, že například při jízdě na kole je nižší koncentrace IL-6 v oběhu ve srovnání s běháním, kdy pracuje více svalů (Starkie *et al.*, 2001).

Místní produkce IL-6 je spojena s kontrakcí svalu a rozhodně není následkem systemického účinku; tělo se jako celek neuplatňuje. Dále se zjistilo, že exprese genu pro IL-6 v kontrahovaném svalu není ovlivněna příjmem sacharidů, ty pravděpodobně jen působí na jeho uvolňování ze svalu (Stith *et al.*, 1994). Velmi důležitá je koncentrace vápenatých iontů (Ca^{2+}), protože vápník kontroluje buněčné funkce jako genovou expresi a proliferaci. Ca^{2+} se uvolňují z laterálních váčků sarkoplasmatického retikula. Ca^{2+} jsou účinným signalizačním faktorem pro transkripci genu pro IL-6 (Ghosh *et al.*, 1995).

Transkripce a uvolňování IL-6 během dlouhodobého cvičení jsou spojené s obsahem glykogenu v játrech.



Obr. 6. Schéma účinku interleukinu-6 v udržování glukózové homeostázy během svalové kontrakce (podle Febbraio *et al.*, 2002).

Produkce IL-6 v kosterním svalu podporuje udržování metabolické homeostázy (obr. 6, 7) (Febbraio *et al.*, 2002). IL-6 zlepšuje inzulínovou senzitivitu podporou vychytávání glukózy svalem a adipocyty (aktivace glukózových transportérů GLUT4), zvýšením absorpce glukózy ve střevu (Gleeson *et al.*, 2000) a inhibicí tvorby TNF- α (Šeboková, Klimeš, 2004; Saghizadeh *et al.*, 1996). Z uvedeného vyplývá, že IL-6 by mohl být využíván jako medikament k léčení metabolických poruch jako je obezita, diabetes mellitus 2. typu a ateroskleróza.

3.3.4. IL-6 a inzulínová rezistence

Účinky IL-6 jsou však velmi různorodé a závisí na typu tkáně. Na jedné straně IL-6 sice zlepšuje vychytávání glukózy a utilizaci glukózy na úrovni celého organismu, na druhé straně zvyšuje produkci glukózy játry, snižuje aktivitu lipoproteinové lipázy, což vede ke sníženému vychytávání triacylglycerolů z cirkulace, a zvyšuje syntézu triacylglycerolů v játrech. To naopak přispívá k rozvoji inzulínové rezistence. Skutečně existuje řada důkazů, že zvýšené hladiny IL-6 jsou spojeny s inzulínovou rezistencí (obr. 7).

Mechanismy, které se mohou podílet na vzniku a rozvoji inzulínové rezistence zahrnují více možností: 1) Jestliže viscerální tuk, který je přímo spojen cévami s játry, produkuje třikrát více IL-6 než tuk podkožní, zvýšená sekrece triacylglycerolů játry může přispívat k hypertriacylglycerolémii a stejně tak ke zvýšené akumulaci lipidů v kosterním svalu a játrech a následně k inzulínové rezistenci. 2) Uvažuje se též o poruše přenosu IL-6

signalizace na postreceptorové úrovni, kde by mohl být narušený signální systém JAK-STAT (JAnus Kinase – Signal Transducers and Activators of Transcription). 3) V úvahu přichází i zvýšená produkce glukózy játry. 4) Kromě toho je IL-6 primárním stimulem reaktantů akutní fáze zánětu, jako jsou C-reaktivní protein, fibrinogen a haptoglobin, čímž přispívá k vytváření prokoagulační a protrombotické situace a podporuje též uvolňování adhezivních molekul z endotelu cévní stěny.

Úloha IL-6 v metabolismu tedy není jednoznačná. Jedním z důvodů protichůdných účinků IL-6 mohou být rozdíly v akutním a chronickém působení tohoto cytokinu, stejně tak regulace na lokální či centrální úrovni (Šeboková, Klimeš, 2004).



Obr. 7. Schematické znázornění biologického účinku interleukinu-6, produkovaného svaly (podle Febbraio *et al.*, 2002).

3.3.5. Polymorfismy IL-6 genu

V IL-6 genu bylo zkoumáno několik polymorfismů a zkoumána jejich asociace s různými zánětlivými či nádorovými onemocněními a patologickými metabolickými stavy. Patří sem zejména čtyři promotorové polymorfismy (-598A/G, -597G/C, -572G/C, -174G/C), z nichž nejintenzivněji byl studován polymorfismus -174G/C. Fishman *et al.* (1998) poprvé identifikovali tento polymorfismus a zjistili, že frekvence alely C byla u zdravé populace 40%. Tato alela byla spojena s nižší expresí IL-6. Alela G byla asociována s vyššími koncentracemi triacylglycerolů (TG), VLDL-TG, volných mastných kyselin (Fernandez-Real *et al.* 2000). Berthier *et al.* (2003) studovali asociaci mezi -174G/C a obezitou. Homozygoti

GG měli nejnižší WHR. Villuendas *et al.* (2002) studovali promotorové polymorfismy IL-6 u hyperandrogenních žen. Zjistili, že výskyt alely -597G a -174G byl spojen s vyššími koncentracemi IL-6 a zvýšenými hladinami kortizolu a androgenů a že jsou tedy pravděpodobně z hlediska rozvoje hyperandrogenismu u žen rizikové. Kristiansen *et al.* (2003) genotypizovali polymorfismus -174G/C u pacientů a rodin s diabetem 1. typu. Vazba alely C s diabetem 1. typu byla v této studii prokázána pouze u žen.

Zmíněný polymorfismus -174G/C byl studován i u pacientů s diabetem 2. typu, výsledky studií jsou nejednoznačné. V jedné studii autoři prokázali, že tento polymorfismus modifikuje korelaci mezi BMI a hladinou IL-6. Obézní jedinci s genotypem CC měli 5x vyšší riziko DM2 ve srovnání s ostatními genotypy (Mohling *et al.*, 2004). Illing *et al.* (2004) studovali též vliv polymorfismů -174G/C a -598A/C na parametry DM2 a metabolického syndromu. I když v této studii nebylo prokázáno, že by G alely ovlivňovaly hladiny IL-6, přesto byly signifikantně asociovány s DM2.

Otázka vlivu polymorfimů IL-6 na parametry obezity a jejich vliv na rozvoj diabetu 2. typu zůstává tedy stále otevřená.

3.4. SREBP-1

3.4.1. SREBP-1 a jeho role

SREBP (Sterol Regulatory Element-Binding Protein) je transkripčním faktorem a jak již bylo psáno výše, podílí se na regulaci homeostázy mastných kyselin a hraje důležitou roli v adipogenezi a inzulinové senzitivitě. SREBP-1 (Sterol regulatory element-binding protein-1) a SREBP-2 jsou strukturálně podobné proteiny, které kontrolují cholesterolovou homeostázu stimulací transkripce steroidem regulovaných genů.

Gen SREBF-1 je 26 kb dlouhý a má 22 exonů. Tento gen je lokalizován na chromosomu 17 (17p11.2) (Hua *et al.*, 1995).

Byly identifikovány tři isoformy tohoto proteinu: SREBP1 existuje ve dvou formách (SREBP1a a SREBP1c) vzniklé alternativním sestřihem prvního exonu genu SREBF1. SREBP2 je odvozen od samostatného genu SREBF2 a nebyly popsány žádné jeho alternativní formy. Hlavní funkcí SREBP2 je kontrola biosyntézy cholesterolu.

125 kDa prekurzor SREBP1 je upevněn k membránám endoplazmatického retikula, proteolyticky se štěpí za vzniku rozpustného N-terminálního fragmentu s molekulovou hmotností 68 kD. Tento fragment je následně translokován do jádra. Zde aktivuje různé cílové geny, které kódují klíčové enzymy metabolismu mastných kyselin a cholesterolu. Při tomto

procesu jsou potřebné specifické proteázy a regulační protein SCAP (SREBP-cleavage-activating protein) (Sewter *et al.*, 2002, DeBose-Boyd *et al.*, 1999). Steroly inhibují štípání proteinu SREBP-1, a tím redukuje transkripci enzymů metabolismu mastných kyselin a cholesterolu (Wang *et al.*, 1994).

Aminoterminální segment SREBP-1 zahrnuje kyselou transaktivační doménu a bHLH-ZIP (basic helix-loop-helix and leucine zipper) oblast, která zprostředkovává dimerizaci proteinu a také vazbu na DNA. Kromě toho také aktivuje transkripci genů pro LDL receptor a pro syntézu HMG-CoA (3-Hydroxy-3-MethylGlutaryl-CoA) (Brown *et al.*, 1997).

Genová exprese SREBP-1 je ovlivněna řadou faktorů, zejména nutričních (příjem potravy s vysokým obsahem tuků), v adipocytech a kosterním svalu exprese SREBP-1 indukuje např. inzulin (Sewter *et al.*, 2002).

SREBP-1 je aktivován faktorem SRE-1 (Sterol regulatory element-1), který aktivuje transkripci v buňkách ochuzených o sterol, steroly je naopak inhibován (Yokoyama *et al.*, 1993). SREBP-1 je aktivován i koaktivátorem PGC-1 β , jehož hlavní funkcí je snížit naakumulovaný tuk v játrech, dokud se nezvýší koncentrace cirkulujících triacylglycerolů a cholesterolu ve VLDL částicích (very low density lipoprotein) (Lin *et al.*, 2005).

SREBP1 je hojně exprimován v metabolicky aktivních tkáních. U dospělých jedinců je SREBP-1c nejčastějším transkriptem ve většině orgánů, včetně jater, nadledvin a tukové tkáně. SREBP-1a dominuje ve slezině a v buňkách, které se diferencují v adipocyty. Transkripce těchto dvou forem je kontrolována nezávisle v různých orgánech a v odpověď na metabolické faktory (Shimomura *et al.*, 1997).

SREBP-1c zesiluje transkripční aktivitu PPAR γ jednak indukci enzymů odpovědných za produkci endogenních ligandů PPAR γ , nebo přímo zvýšením transkripce samotného PPAR γ (Kim *et al.*, 1998).

3.4.2. Polymorfismy SREBP-1

Zatím bylo publikováno jen málo prací, které hodnotí vliv polymorfismů genu SREBP-1 na metabolismus.

Jsou známy polymorfismy SNP3 (-150G/A, exon 1a), SNP5 (-36delG, exon 1a) a SNP17. Eberlé *et al.* (2004) zjistili, že polymorfismus SNP17 (54G/C, exon 18c) je asociován s morbidní obezitou. Haplotyp z šesti popisovaných polymorfismů (SNP1, SNP3, SNP5, SNP6, SNP7, SNP17 – (C/G/G/T/C/G, HAP2), byl identifikován jako rizikový faktor

pro morbidní obezitu. Ve skupině obézních mužů byly SNP3, SNP5 a SNP17 asociovány s hypertriglyceridemií. SNP17 je také spojován s DM2 a se zvýšenou prevalencí diabetické nefropatie u diabetiků. Výsledky studie potvrdily úlohu genu SREBF-1 v genetické predispozici metabolických onemocnění, jako je například obezita, DM2 nebo dyslipidémie.

Cílem studie, kterou provedli Laudes *et al.* (2004), bylo vyšetřit, zda mutace v genu pro SREBP-1c může přispívat ke vzniku inzulínové rezistence. Důkladně prozkoumali exony kódující N-terminální transkripci-aktivující doménu u 85 jedinců s těžkou inzulínovou rezistencí. Často u nich identifikovali intronový polymorfismus (C/T), lokalizovaný mezi exony 18c a 19c. Alela T v tomto lokusu významně asociovala s DM2 u mužů, u žen tato asociace nebyla nalezena. Nositelé alely T měli vysokou koncentraci celkového cholesterolu a LDL cholesterolu. Tato varianta v genu pro SREBP-1c může tedy ovlivňovat riziko diabetu a koncentraci cholesterolu v plazmě.

4. Závěr

Cílem mojí práce bylo nastínění charakteristiky multifaktoriálního, komplexního onemocnění DM2, jeho vývoji a manifestaci, ale především představení několika možných kandidátních genů, podílejících se na rozvoji této choroby.

Tato práce by měla být podkladem pro moji diplomovou práci, kde budou dále zahrnuty výsledky studia těchto genů, tedy zjištění genotypových a alelických frekvencí polymorfismů jednotlivých kandidátních genů v populaci České republiky, jelikož mám v Endokrinologickém ústavu k dispozici obrovský soubor diabetiků a kontrol, potomků diabetiků i soubor pacientek s gestačním diabetem.

Studium genetických příčin DM2 je důležité v mnoha ohledech. Výsledky genetických studií pomohou ozřejmit patobiochemické mechanismy, pomohou porozumět interakcím gen-gen a gen-prostředí, umožní upřesnit subtypy diabetu, v budoucnu bude možné aplikovat cílenou farmakoterapii, ale zejména budou umožňovat odhalení jedinců s genetickými predispozicemi a realizovat tak účinnou a cílenou prevenci.

I přes značné úsilí, které je této problematice věnováno, zůstávají genetické příčiny nejběžnějších forem diabetu zatím bohužel utajeny. Doufám, že moje práce přispěje k novým poznatkům o genetice DM2.

5. Seznam literatury

Andrulionyte L, Zacharova J, Chiasson JL, Laakso M, STOP-NIDDM Study Group: Common polymorphism of the PPAR-gamma2 (Pro12Ala) and PGC-1 α (Gly482Ser) genes are associated with the conversion from impaired glucose tolerance to type 2 diabetes in the STOP-NIDDM trial. *Diabetologia* 47(12): 2176-84, 2004.

Arita, Y.; Kihara, S.; Ouchi, N.; Takahashi, M.; Maeda, K.; Miyagawa, J.; Hotta, K.; Shimomura, I.; Nakamura, T.; Miyaoka, K.; Kuriyama, H.; Nishida, M.; Yamashita, S.; Okubo, K.; Matsubara, K.; Muraguchi, M.; Ohmoto, Y.; Funahashi, T.; Matsuzawa, Y.: Paradoxical decrease of an adipose-specific protein, adiponectin, in obesity. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 257: 79-83, 1999.

Arner P.: The adipocyte in insulin resistance: key molecules and the impact of the thiazolidinediones. *Trends Endocrinol. Metab.* 14: 137-145, 2003

Bendlová B. , Hainer V. (2004): 5. Metody genetického vyšetření u obezích - současnost a perspektivy: 109-119. In: Hainer et al. *Základy klinické obezitologie*. Grada Avicenum, 356 s., ISBN 80-247-0233-9, 2004.

Bendlová B: Diabetes mellitus 2. typu . Genetika. In Marek J. et al. *Endokrinologie, diabetes mellitus a poruchy metabolismu výživy*. - v tisku, 2006.

Bendlová B. (2006): Pokroky v poznávání molekulárních příčin diabetu 2. typu In. Pelikánová et al. *Trendy v diabetologii*. - v tisku, 2006.

Berthier, M.-T.; Paradis, A.-M.; Tchernof, A.; Bergeron, J.; Prud'homme, D.; Despres, J.-P.; Vohl, M.-C. : The interleukin 6 -174G/C polymorphism is associated with indices of obesity in men. *J. Hum. Genet.* 48: 14-19, 2003.

Boulanger, M. J.; Chow, D.; Brevnova, E. E.; Garcia, K. C. : Hexameric structure and assembly of the interleukin-6/IL-6 α -receptor/gp130 complex. *Science* 300: 2101-2104, 2003.

Bowcock, A. M.; Kidd, J. R.; Lathrop, G. M.; Daneshvar, L.; May, L. T.; Ray, A.; Sehgal, P. B.; Kidd, K. K.; Cavalli-Sforza, L. L.: The human interferon- β -2/hepatocyte stimulating factor/interleukin-6' gene: DNA polymorphism studies and localization to chromosome 7p21. *Genomics* 3: 8-16, 1988.

Brown MS, Goldstein JL: The SREBP pathway: regulation of cholesterol metabolism by proteolysis of a membrane bound transcription factor. *Cell* 89 :331 –340,1997.

Brunsgaard, H., Skinhoj, P., Qvist, J., Pedersen, B. K.: Elderly humans show prolonged in vivo inflammatory activity during pneumococcal infections. *J. Infect. Dis.* 180,551-554, 1999.

Cannon B, Houstek J, Nedergaard J: Brown adipose tissue. More than an effector of thermogenesis? *Ann NY Acad Sci* 856:171–187, 1998.

DeBose-Boyd, R. A.; Brown, M. S.; Li, W.-P.; Nohturfft, A.; Goldstein, J. L.; Espenshade, P. J. : Transport-dependent proteolysis of SREBP: relocation of Site-1 protease from Golgi to ER obviates the need for SREBP transport to Golgi. *Cell* 99: 703-712, 1999.

Diabetes prevention program research group: Reduction in the incidence of type 2 diabetes with lifestyle intervention or metformin. *N Engl J Med*, 346, p. 393-403, 2002.

Eberlé D, Clément K, Meyer D, Sahbatou M, Vaxillaire M, Le Gall A, Ferré P, Basdevant A: SREBF1 gene polymorphism are associated with obesity and type 2 diabetes in French obese and diabetic cohorts. *Diabetes* 53:2153-2157, 2004.

Esterbauer, H.; Oberkofler, H.; Krempler, F.; Patsch, W.: Human peroxisome proliferator activated receptor gamma coactivator 1 (PPARGC1) gene: cDNA sequence, genomic organization, chromosomal localization, and tissue expression. *Genomics* 62: 98-102, 1999.

Fasshauer M., Paschke R.: Regulation of adipocytokines and insulin resistance. *Diabetologia* 46(12), 1594-1603, 2003.

Febbraio MA, Pedersen BK: Muscle-derived interleukin-6: mechanism for activation and possible biological roles. *Journal* 16:1335-1347, 2002.

Fernandez-Real, J.-M.; Broch, M.; Vendrell, J.; Richart, C.; Ricart, W. : Interleukin-6 gene polymorphism and lipid abnormalities in healthy subjects. *J. Clin. Endocr. Metab.* 85: 1334-1339, 2000.

Ferrari, S. L.; Ahn-Luong, L.; Garnero, P.; Humphries, S. E.; Greenspan, S. L. : Two promoter polymorphisms regulating interleukin-6 gene expression are associated with circulating levels of C-reactive protein and markers of bone resorption in postmenopausal women. *J. Clin. Endocr. Metab.* 88: 255-259, 2003.

Fishman, D.; Faulds, G.; Jeffery, R.; Mohamed-Ali, V.; Yudkin, J. S.; Humphries, S.; Woo, P. : The effect of novel polymorphisms in the interleukin-6 (IL-6) gene on IL-6 transcription and plasma IL-6 levels, and an association with systemic-onset juvenile chronic arthritis. *J. Clin. Invest.* 102: 1369-1376, 1998.

Fried SK, Bunkin DA, Greenberg AS Omental and subcutaneous adipose tissues of obese subjects release interleukin-6: Depot difference and regulation by glucocorticoid. *J Clin Endocrinol Metab* 83:847-850, 1998.

Fumeron F, Aubert R, Siddiq A, Betoulle D, Pean F, Hadjadj S, Tichet J, Wilpart E: Adiponectin gene polymorphism and adiponectin levels are independently associated with the development of hyperglycemia during 3-year period: the epidemiologic data on the insulin resistance syndrome prospective study. *Diabetes* 53(4):1150-7, 2004.

Gazouli M, Zavos G, Papaconstantinou I, Lukas JC, Zografidis A, Boletis J, Kostakis A.: The interleukin-6-174 promoter polymorphism is associated with a risk of development of

Kaposi's sarcoma in renal transplant recipients. *Anticancer Res.*;24(2C):1311-4, 2004.

Ghosh, A., Greenberg, M. E.: Calcium signaling in neurons: molecular mechanisms and cellular consequences. *Science* 268,239-247, 1995.

Ghosh, S., Collins, FS.: The geneticist's approach to complex disease. *Annu Rev Med*, 1996, 47, p.333-353, 1996.

Gleeson, M.: Interleukins and exercise. *J. Physiol. (London)* 529,1, 2000.

Groop LC, Tuomi T.: Non-insulin-dependent diabetes mellitus - A collision between thrifty genes and an affluent society. *Ann. Med.*, 29, p.37-53, 1997.

Hirano, T., Matsuda, T., Nakajima, K.: Signal transduction through gp130 that is shared among the receptors for the interleukin 6 related cytokine subfamily. *Stem Cells* 12,262-277, 1994.

Hua, X.; Wu, J.; Goldstein, J. L.; Brown, M. S.; Hobbs, H. H. : Structure of the human gene encoding sterol regulatory element binding protein-1 (SREBF1) and localization of SREBF1 and SREBF2 to chromosomes 17p11.2 and 22q13. *Genomics* 25: 667-673, 1995.

Chen, H, Montagnani, M, Funahashi, T, Shimomura, I, Quon, MJ. Adiponectin stimulates production of nitric oxide in vascular endothelial cells *J Biol Chem.* 278,45021-45026, 2003.

Illig, T.; Bongardt, F.; Schopfer, A.; Muller-Scholze, S.; Rathmann, W.; Koenig, W.; Thorand, B.; Vollmert, C.; Holle, R.; Kolb, H.; Herder, C.; Members of the Kooperative Gesundheitsforschung im Raum Augsburg/Cooperative Research in the Region of Augsburg (KORA) : Significant association of the interleukin-6 gene polymorphisms C-174G and A-598G with type 2 diabetes. *J. Clin. Endocr. Metab.* 89: 5053-5058, 2004.

Jerrard-Dunne P, Sitzer M, Risley P, Buehler A, von Kegler S, Markus HS.: Inflammatory gene load is associated with enhanced inflammation and early carotid atherosclerosis in smokers. *Stroke.* 2004 Nov;35(11):2438-43. Epub 2004 Oct 7.

Jones SA, Horiuchi S, Topley N, Yamamoto N, Fuller GM: The soluble interleukin-6 receptor: mechanisms of production and implications in disease. *FASEB J* 15:43-58, 2001.

Kershaw EE, Flier JS: Adipose tissue as an endocrine organ. *J Clin Endocrinol Metab* 89: 2548-2556, 2004.

Kim JB, Wright HM, Wright M, Spiegelman BM: ADD1/SREBP1 activates PPAR γ through the production of endogenous ligand. *Proc Natl Acad Sci U S A* 95:4333-4337, 1998.

Kim JH, Shin HD, Park BL, Cho YM, Kim SY, Lee HK, Park KS: Peroxisome proliferator-activated gamma coactivator 1 alpha promoter polymorphism are associated with

early-onset type 2 diabetes mellitus in the Korean population. *Diabetologia* 48(7): 1323-30, 2005.

King H, Rewers M: Global estimates for prevalence of diabetes mellitus and impaired glucose tolerance in adults. WHO Ad Hoc Diabetes Reporting Group. *Diabetes Care*, 16, No. 1, p. 157-177, 1993

Kitamura A, Hasegawa G, Obayashi H, Kamiuchi K, Ishii M, Yano M, Tanaka T, Yamaguchi M, Shigeta H, Ogata M, Nakamura N, Yoshikawa T: Interleukin-6 polymorphism (-634C/G) in the promotor region and the progression of diabetic nephropathy in type 2 diabetes. *Diabet Med* 19:1000–1005, 2002.

Kristiansen, O. P.; Nolsoe, R. L.; Larsen, L.; Gjesing, A. M. P.; Johannesen, J.; Larsen, Z. M.; Lykkesfeldt, A. E.; Karlsen, A. E.; Pociot, F.; Mandrup-Poulsen, T. : Association of a functional 17-beta-estradiol sensitive IL6-174G/C promoter polymorphism with early-onset type 1 diabetes in females. *Hum. Molec. Genet.* 12: 1101-1110, 2003.

Lacqueumant C, Froquel P, Lobbens S, Izzo P, Dina C, Ruiz J: The adiponectin gene SNP+45 is associated with coronary artery disease in Type 2 diabetes mellitus. *Diabet Med* 21(7):776-81, 2004.

Laudes M, Barroso I, Luan J, Soos MA, Yeo G, Meirhaeghe A, Vidal-Puig A, Schafer AJ: Genetic variants in human Sterol regulatory element binding protein-1c in syndroms of severe insulin resistance and type 2 diabetes. *Diabetes* 53: 842-846, 2004.

Lazar MA.: How obesity causes diabetes: not a tall tale. *Science* 307: 373-375, 2005.

Lehman JJ, Barger PM, Kovacs A, Saffitz JE, Medeiros DM, Kelly DP: Peroxisome proliferator-activated receptor-gamma coactivator-1 promotes cardiac mitochondrial biogenesis, 2000.

Leipold H, Knoefler M, Gruber C, Huber, Haslinger P, Worda C: Peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator-1alpha gene variations are not associated with gestational diabetes mellitus. *J Soc Gynecol Investig.* 13(2):104-7, 2006.

Lin J, Puigserver P, Donovan J, Tarr P, Spiegelman BM: Peroxisome proliferator-activated receptor-gamma coactivator 1 β (PGC-1 β), a novel PGC-1-related transcription coactivator associated with host cell factor. *J Biol Chem* 277:1645–1648, 2002.

Lin, J.; Yang, R.; Tarr, P. T.; Wu, P.-H.; Handschin, C.; Li, S.; Yang, W.; Pei, L.; Uldry, M.; Tontonoz, P.; Newgard, C. B.; Spiegelman, B. M.: Hyperlipidemic effects of dietary saturated fats mediated through PGC-1 β coactivation of SREBP. *Cell* 120: 261-273, 2005.

Lindsay, R. S.; Funahashi, T.; Hanson, R. L.; Matsuzawa, Y.; Tanaka, S.; Tataranni, P. A.; Knowler, W. C.; Krakoff, J.: Adiponectin and development of type 2 diabetes in the Pima Indian population. *Lancet* 360: 57-58, 2002.

Maeda, K, Okubo, K, Shimomura, I, Funahashi, T, Matsuzawa, Y, Matsubara, K.: cDNA cloning and expression of a novel adipose specific collagen-like factor, apM1 (AdiPose Most abundant Gene transcript 1) *Biochem Biophys Res Commun.* 221,286-28, 1996.

Maeda, N.; Shimomura, I.; Kishida, K.; Nishizawa, H.; Matsuda, M.; Nagaretani, H.; Furuyama,

N.; Kondo, H.; Takahashi, M.; Arita, Y.; Komuro, R.; Ouchi, N.; Kihara, S.; Tochino, Y.; Okutomi, K.; Horie, M.; Takeda, S.; Aoyama, T.; Funahashi, T.; Matsuzawa, Y. :Diet-induced insulin resistance in mice lacking adiponectin/ACRP30. *Nature Med.* 8: 731-737,2002.

Mohamed-Ali, V., Goodrick, S., Rawesh, A., Katz, D. R., Miles, J. M., Yudkin, J. S., Klein, S., Coppel, C. Subcutaneous adipose tissue releases interleukin-6, but not tumour necrosis factor- α , in vivo. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 82,4196-4200, 1997.

Mohlig, M.; Boeing, H.; Spranger, J.; Osterhoff, M.; Kroke, A.; Fisher, E.; Bergmann, M. M.; Ristow, M.; Hoffmann, K.; Pfeiffer, A. F. H. : Body mass index and C-174G interleukin-6 promoter polymorphism interact in predicting type 2 diabetes. *J. Clin. Endocr. Metab.* 89: 1885-1890, 2004.

Neel JV: Diabetes mellitus: a "thrifty" genotype rendered detrimental by "progress"? *Am J Hum Genet*, 14, p.353-362, 1962.

Diamond J:The double puzzle of diabetes. *Nature*, 423, p. 599-602, 2003

Ohashi K, Ouchi N, Kihara S, Funahashi T, Nakamura T, Sumitsuji S, Kawamoto T, Matsumoto S: Adiponectin I164T mutation is associated with the metabolic syndrom and coronary artery disease. *J Am Coll Cardiol.* 43(7):1195-200, 2004.

Ostrowski, K., Rohde, T., Zacho, M., Asp, S., Pedersen, B. K.: Evidence that IL-6 is produced in skeletal muscle during intense long-term muscle activity. *J. Physiol. (London)* 508,949-953, 1998.

Ouchi, N.; Kihara, S.; Arita, Y.; Maeda, K.; Kuriyama, H.; Okamoto, Y.; Hotta, K.; Nishida, M.; Takahashi, M.; Nakamura, T.; Yamashita, S.; Funahashi, T.; Matsuzawa, Y.: Novel modulator for endothelial adhesion molecules: adipocyte-derived plasma protein adiponectin. *Circulation* 100: 2473-2476, 1999.

Ouchi, N.; Kihara, S.; Arita, Y.; Okamoto, Y.; Maeda, K.; Kuriyama, H.; Hotta, K.; Nishida, M.; Takahashi, M.; Muraguchi, M.; Ohmoto, Y.; Nakamura, T.; Yamashita, S.; Funahashi, T.; Matsuzawa, Y.: Adiponectin, an adipocyte-derived plasma protein, inhibits endothelial NF-kappa-B signaling through a cAMP-dependent pathway. *Circulation* 102: 1296-1301,2000.

Phillips, SA, Ciaraldi, TP, Kong, AP, et al Modulation of circulating and adipose tissue adiponectin levels by antidiabetic therapy *Diabetes.* 52,667-674, 2003.

Pischon, T, Girman, CJ, Hotamisligil, GS, Rifai, N, Hu, FB, Rimm, EB. Plasma adiponectin levels and risk of myocardial infarction in men *JAMA.* 291,1730-1737, 2004.

Puigserver P, Rhee J, Lin J, Wu Z, Yoon JC, Zhang CY, Krauss S, Mootha VK, Lowell BB, Spiegelman BM: Cytokine stimulation of energy expenditure through p38 MAP kinase

activation of PPAR-gamma coactivator-1. *Mol Cell* 8:971–982, 2001.

Puigserver P., Spiegelman B.M.: Peroxisome-Activated Receptor-gamma Coactivator 1alpha (PGC-1alpha): Transcriptional Coactivator and Metabolic Regulator. *Endocrine reviews* 24 (1):78-90, 2003.

Puigserver, P.; Wu, Z.; Park, C. W.; Graves, R.; Wright, M.; Spiegelman, B. M.: A cold-inducible coactivator of nuclear receptors linked to adaptive thermogenesis. *Cell* 92: 829-839, 1998.

Qi L, Doria A, Manson JE, Meigs JB, Hunter D, Mantzoros CS, Hu FB: Adiponectin genetic variability, plasma adiponectin, and cardiovascular risk in patients with type 2 diabetes. *Diabetes* 55(5): 1512-6, 2006.

Rajala MW, Scherer PE: Minireview: The adipocyte – at the crossroads of energy homeostasis, inflammation, and atherosclerosis. *Endocrinology* 144(9): 3765-73, 2003.

Rosen ED, Sarraf P, Troy AE, Bradwin G, Moore K, Milstone DS, Spiegelman BM, Mortensen RM: PPAR-gamma is required for the differentiation of adipose tissue in vivo and in vitro. *Mol Cell* 4(4): 611-7, 1999.

Saghizadeh, M., Ong, J. M., Garvey, W. T., Henry, R. R., Kern, P. A.: The expression of TNF α by human muscle. Relationship to insulin resistance. *J. Clin. Invest.* 97,1111-1116, 1996.

Saito, K.; Tobe, T.; Minoshima, S.; Asakawa, S.; Sumiya, J.; Yoda, M.; Nakano, Y.; Shimizu, N.; Tomita, M.: Organization of the gene for gelatin-binding protein (GBP28). *Gene* 229:67-73,1999.

Sawczenko A, Azooz O, Paraszczuk J, Idestrom M, CroftNM, Savage MO, Ballinger AB, Sanderson IR.: Intestinal inflammation-induced growth retardation acts through IL-6 in rats and depends on the -174 IL-6 G/C polymorphism in children. *Proc Natl Acad Sci U S A*.13;102(37):13260-5. Epub 2005.

Sewter C, Berger D, Considine V, Medina G, Rochford J, Ciaraldi T, Henry R, Dohm L, Flier JS: Human obesity and type 2 diabetes are associated with alterations in SREBP1 isoform expression that are reproduced in vivo by tumor necrosis factor- α . *Diabetes* 51:1035-1041, 2002.

Shimomura, I.; Shimano, H.; Horton, J. D.; Goldstein, J. L.; Brown, M. S. : Differential expression of exons 1a and 1c in mRNAs for sterol regulatory element binding protein-1 in human and mouse organs and cultured cells. *J. Clin. Invest.* 99: 838-845, 1997.

Sivan, E.; Mazaki-Tovi, S.; Pariente, C.; Efraty, Y.; Schiff, E.; Hemi, R.; Kanety, H.: Adiponectin in human cord blood: relation to fetal birth weight and gender. *J. Clin. Endocr. Metab.* 88: 5656-5660, 2003.

Starkie, R. L., Arkinstall, M. J., Koukoulas, I., Hawley, J. A., Febbraio, M. A.: Carbohydrate ingestion attenuates the increase in plasma interleukin 6, but not skeletal muscle

interleukin 6 mRNA, during exercise in humans. *J. Physiol. (London)* 533,585-591, 2001.

Stith, R. D., Luo, J.: Endocrine and carbohydrate responses to interleukin-6 in vivo. *Circ. Shock.* 44,210-215, 1994.

Stumvoll M, Tschritter O, Fritsche A, Staiger H, Renn W, Weisser M, Machicao F, Haring H: Association of the T/G polymorphism in adiponectin (exon 2) with obesity and insulin sensitivity: interaction with family history of type 2 diabetes. *Diabetes* 51:37-41, 2002.

Šeboková E., Klimeš I.: Obezita. Endokrinológia tukového tkaniva. In. Všeobecná a klinická endokrinológia, Eds. Kreze A. et al., Academic Electronic Press, Bratislava, s.515-522, 2004.

Tagami, T.; Satoh, N.; Usui, T.; Yamada, K.; Shimatsu, A.; Kuzuya, H.: Adiponectin in anorexia nervosa and bulimia nervosa. *J. Clin. Endocr. Metab.* 89: 1833-1837, 2004.

Villuendas, G.; San Millan, J. L.; Sancho, J.; Escobar-Morreale, H. F. : The -597 G-A and -174 G-C polymorphisms in the promoter of the IL-6 gene are associated with hyperandrogenism. *J. Clin. Endocr. Metab.* 87: 1134-1141, 2002.

Vimaleswaran KS, Radha V, Ghosh S, Majumder PP, Deepa R, Babu HN, Rao MR, Mohan V: Peroxisome proliferator-activated receptor-gamma coactivator-1alpha (PGC-1alpha) gene polymorphisms and their relationship to type 2 diabetes in Asian Indians. *Diabet Med.* 22(11): 1516-21, 2005.

Vojarova B, Weyer C, Hanson K, Tataranni PA, Bogardus C, Pratley RE: Circulating interleukin-6 in relation to adiposity, insulin action, and insulin secretion. *Obes Res* 9:414-417, 2001.

Wang, X.; Sato, R.; Brown, M. S.; Hua, X.; Goldstein, J. L. : SREBP-1, a membrane-bound transcription factor released by sterol-regulated proteolysis. *Cell* 77: 53-62, 1994.

Williams, M. A.; Qiu, C.; Muiy-Rivera, M.; Vadachkoria, S.; Song, T.; Luthy, D. A.: Plasma adiponectin concentrations in early pregnancy and subsequent risk of gestational diabetes mellitus. *J. Clin. Endocr. Metab.* 89: 2306-2311, 2004.

World health organization expert committee: Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications. Report of a WHO consultation, part 1: diagnosis and classification of diabetes mellitus. Geneva: World Health Organization, 1999.

Wu Z, Puigserver P, Andersson U, Zhang C, Adelmant G, Mootha V, Troy A, Cinti S, Lowell BB, Scarpulla RC, Spiegelman BM: Mechanisms controlling mitochondrial biogenesis and respiration through the thermogenic coactivator PGC-1. *Cell* 98:115-124, 1999.

Yamauchi, T.; Kamon, J.; Minokoshi, Y.; Ito, Y.; Waki, H.; Uchida, S.; Yamashita, S.; Noda, M.; Kita, S.; Ueki, K.; Eto, K.; Akanuma, Y.; Froguel, P.; Foufelle, F.; Ferre, P.; Carling,

D.; Nagai, R.; Kimura, S.; Kahn, B. B.; Kadowaki, T. : Adiponectin stimulates glucose utilization and fatty-acid oxidation by activating AMP-activated protein kinase. *Nature Med.* 8: 1288-1295, 2002.

Yang, W.-S.; Lee, W.-J.; Funahashi, T.; Tanaka, S.; Matsuzawa, Y.; Chao, C.-L.; Chen, C.-L.; Tai, T.-Y.; Chuang, L.-M.: Weight reduction increases plasma levels of an adipose-derived anti-inflammatory protein, adiponectin. *J. Clin. Endocr. Metab.* 86: 3815-3819, 2001.

Yokota, T.; Meka, C. S. R.; Medina, K. L.; Igarashi, H.; Comp, P. C.; Takahashi, M.; Nishida, M.; Oritani, K.; Miyagawa, J.; Funahashi, T.; Tomiyama, Y.; Matsuzawa, Y.; Kincade, P. W.: Paracrine regulation of fat cell formation in bone marrow cultures via adiponectin and prostaglandins. *J. Clin. Invest.* 109: 1303-1310, 2002.

Yokota, T.; Oritani, K.; Takahashi, I.; Ishikawa, J.; Matsuyama, A.; Ouchi, N.; Kihara, S.; Funahashi, T.; Tenner, A. J.; Tomiyama, Y.; Matsuzawa, Y. : Adiponectin, a new member of the family of soluble defense collagens, negatively regulates the growth of myelomonocytic progenitors and the functions of macrophages. *Blood* 96: 1723-1732, 2000.

Yokoyama, C.; Wang, X.; Briggs, M. R.; Admon, A.; Wu, J.; Hua, X.; Goldstein, J. L.; Brown, M. S.: SREBP-1, a basic-helix-loop-helix-leucine zipper protein that controls transcription of the low density lipoprotein receptor gene. *Cell* 75: 187-197, 1993.

Yoon JC, Puigserver P, Chen G, Donovan J, Wu Z, Rhee J, Adelmant G, Stafford J, Kahn CR, Granner DK, Newgard CB, Spiegelman BM Control of hepatic gluconeogenesis through the transcriptional coactivator PGC-1. *Nature* 413:131–138, 2001.