

UNIVERZITA KARLOVA

Přírodovědecká fakulta

Studijní program: Speciální chemicko-biologické obory

Studijní obor: Molekulární biologie a biochemie organismů



Petra Pohanová

Úloha RNA-demetylázy FTO v regulaci buněčných funkcí
a energetické homeostázy

The role of RNA-demethylase FTO in the regulation of cellular
function and energy homeostasis

Bakalářská práce

Školitel: Mgr. Petr Telenský, Ph.D.

Praha, 2017

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracovala samostatně a že jsem uvedla všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

V Praze, 14. 5. 2017

.....

Poděkování

Tímto bych chtěla poděkovat svému školiteli Mgr. Petru Telenskému, Ph.D. za podnětné rady a odborné vedení při psaní této práce. Dále bych chtěla poděkovat Kateřině Lotty Bartošové za pomoc při tvorbě obrázků. Také děkuji své rodině za podporu.

Abstrakt

N6-Metyladenosin je nejčastější post-transkripční modifikací RNA. Nedávno bylo zjištěno, že tato ubikvitní modifikace může významným způsobem ovlivňovat další zpracování, transport a degradaci RNA a celkově je významným epigenetickým regulačním činitelem. N6-metyladenosin je *in vivo* substrátem pro RNA-demetylázu FTO, jejíž funkce se projevuje na molekulární úrovni demethylací N6-metyladenosinu. Ve tkáních a organismu pak vykazuje významnou regulační funkci v řízení metabolismu a udržování energetické homeostáze. Dysbalance hladiny RNA-demetylázy FTO může být příčinou různých patofyziologických stavů např. obezity. Cílem práce je shrnout hlavní poznatky v této oblasti.

Klíčová slova: N6-Metyladenosin, FTO, RNA-epigenetika, energetický metabolismus

Abstract

N6-Methyladenosine is the most common post-transcriptional modification of RNA. It has been recently found that this ubiquitous modification can significantly affect further processing, transport and degradation of RNA and it is a significant epigenetic regulatory factor overall. N6-methyladenosine is an *in vivo* substrate for RNA-demethylase FTO, the function of which is on molecular level manifested by demethylation of N6-methyladenosine. RNA-demethylase FTO has an important regulatory function in tissues and in the body in the control of metabolism and in the maintenance of energy homeostasis. Dysbalance in the levels of RNA-demethylase FTO may be the cause of various pathophysiological conditions, such as obesity. The aim of this thesis is to review the main findings in this field.

Key words: N6-Methyladenosine, FTO, RNA-epigenetics, energy metabolism

OBSAH

| | |
|--|----|
| ÚVOD | 6 |
| 1 EPIGENETIKA..... | 7 |
| 1.1 RNA epigenetika | 8 |
| 1.2 N ⁶ -metyladenosin..... | 8 |
| 1.2.1 Význam metylace pro osud mRNA | 10 |
| 1.2.2 Proteiny asociované s m ⁶ A | 10 |
| 2 FTO DEMETYLÁZA | 11 |
| 2.1 Lokalizace..... | 11 |
| 2.2 Struktura genu a proteinu FTO | 12 |
| 2.3 Funkce FTO demetylázy | 14 |
| 2.3.1 Funkce FTO demetylázy na molekulární úrovni | 14 |
| 2.3.2 Fenotyp při snížené aktivitě FTO | 15 |
| 2.3.3 Fenotyp při zvýšené aktivitě FTO..... | 18 |
| 2.4 Funkce demetylázy FTO ve tkáních | 19 |
| 2.4.1 Funkce demetylázy FTO v tukové tkáni | 20 |
| 2.4.2 Funkce demetylázy FTO v CNS | 21 |
| 3 VÝZNAM FTO V ETIOLOGII LIDSKÝCH ONEMOCNĚNÍ..... | 24 |
| 3.1 Souvislost FTO a obezity | 24 |
| 3.2 Souvislost FTO a cukrovky 2. typu | 26 |
| 3.3 Souvislost FTO a kardiovaskulárních onemocnění | 26 |
| 3.4 Souvislost FTO a Alzheimerovy choroby | 26 |
| 3.5 Souvislost FTO a epilepsie | 26 |
| ZÁVĚR..... | 28 |
| Seznam zkratk | 29 |
| Literatura | 31 |

ÚVOD

V posledních letech je pozorován nárůst obezity v celosvětovém měřítku. Obezita je závažný stav, který může vést k dalším závažným onemocněním, jako jsou např. kardiovaskulární choroby a diabetes 2. typu. Na jejím rozvoji se podílí více faktorů. Jsou to především vlivy prostředí (konzumace energeticky bohaté stravy, míra fyzické aktivity, životní styl) a dále složka genetických predispozic.

Snaha porozumět genetické oblasti zodpovědné za rozvoj obezity vedla k nalezení několika jednonukleotidových polymorfismů v genu *FTO*, které jsou s obezitou asociovány. Expresí genu *FTO* vzniká protein RNA-demetyláza FTO, která se mj. podílí na regulaci řízení metabolismu a energetické homeostázy.

Přirozeným substrátem RNA-demetylázy FTO je N6-metyladenosin na RNA (m⁶A). Tato post-transkripční modifikace, jeden z mechanismů RNA epigenetiky, je hojně zkoumána. Snahou je zjistit, co všechno a jakým způsobem tato modifikace ovlivňuje. Zatím byl zjištěn vliv především při sestřihu, transportu a degradaci RNA.

Demetyláza FTO má schopnost odbourávat metylový zbytek na m⁶A, čímž reguluje tvorbu určitých cílových proteinů, což se, jak ukazují některé studie, např. (Cecil *et al.* 2008; Speakman *et al.* 2008; Timpson *et al.* 2008; Karra *et al.* 2013), projeví zejména v regulaci energetické homeostázy. Role proteinu FTO však nezůstává pouze v odstraňování metylové skupiny z adenosinu. Další z jejích funkcí je kontrola hladiny esenciálních aminokyselin v buňce. Pokud buňku ohrožuje nedostatek nutrientů, FTO protein regulací mTORC1 komplexu sníží celkovou translaci mRNA (Gulati *et al.* 2013).

V organismu najdeme demetylázu FTO především v hypotalamu, řídicím centru hormonálních a útrobních funkcí organismu. Tento fakt může dále potvrzovat její nezanedbatelný vliv při regulaci metabolismu, především energetického příjmu, což může přispět k již výše zmíněné obezitě.

Kde konkrétně a jakým způsobem se demetyláza FTO podílí na regulaci energetického metabolismu, je předmětem této práce. Kromě samotné funkce FTO na molekulární i tkáňové úrovni se zabývá i problematikou metylace adenosinu v RNA, která s tímto tématem úzce souvisí.

1 EPIGENETIKA

Obecně je epigenetika definována jako studium jevů na úrovni nukleových kyselin, které ovlivňují expresi genů (fenotypu), aniž by došlo ke změně genotypu. Epigenetická regulace genové exprese se u vyšších organismů uplatňuje zcela běžně v přirozených procesech, například při diferenciaci buňky (Zhang *et al.* 2015), u žen při inaktivaci jednoho X chromozomu (Chow *et al.* 2007), celkově se výrazně podílí na adaptabilitě organismu.

Změny epigenetických mechanismů jsou ovlivněny především vnějším okolím organismu např. prostředím, ve kterém žije (Badyaev and Oh 2008), potravou, kterou konzumuje (Burdge *et al.* 2011), výživou během prenatálního vývoje (Lillycrop *et al.* 2008).

Změny na epigenetické úrovni jsou mitoticky či meioticky dědičné. Při buněčném dělení se epigeneticky kódovaná informace přenáší do dceřiných buněk a ovlivňuje expresi genů stejně jako v původní buňce. Konkrétní epigenetické mechanismy, které se uplatňují v pohlavních buňkách, budou přeneseny do další generace. Tyto změny ale nejsou trvalé (v genotypu nedošlo k žádné změně), lze je „přeprogramovat“ a vrátit do původní formy (Takahashi *et al.* 2007).

Donedávna byly známy pouze ty epigenetické mechanismy, které se projevovaly především regulací genetické informace pomocí acetylace a metylace histonových komplexů v chromatinovém vlákně DNA. S novými poznatky a objevením proteinů FTO a ALKBH5, které působí na RNA, byl obecný pojem epigenetika rozšířen i o oblast tzv. RNA epigenetiky.

Dnes víme, že epigenetické mechanismy ovlivňují genovou expresi, a objevují se ve všech jejích fázích. Jak na úrovni DNA, tak při transkripci do mRNA, při funkci dalších nekódujících úsecích nukleových kyselin a proteinech, které mají na starost regulaci genové transkripce i translace.

1.1 RNA epigenetika

V RNA se epigenetické procesy uplatňují při post-transkripčních modifikacích např. RNA editaci či alternativním sestřihu.

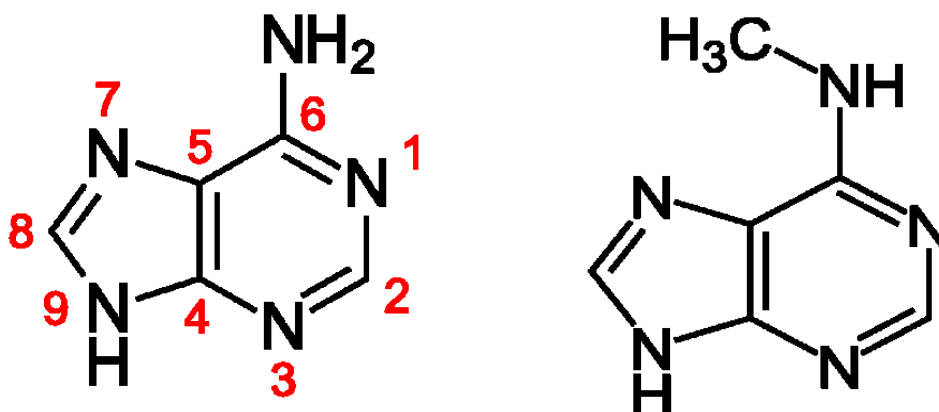
Informace o budoucí post-transkripční modifikaci nezáleží pouze na sekvenci RNA, ale na modifikaci obvykle používaných RNA bází (tzv. chemické modifikace) a na sekundární struktuře RNA sekvence. Na chemických modifikacích se podílí mnoho faktorů, některé dokáží rozeznat specifické místo a modifikovat konkrétní bázi, která se v něm vyskytuje, další ho umí vrátit do původního stavu a jsou i faktory, které pouze rozeznávají modifikované místo a dále ho nemění.

Mezi nejčastější chemické modifikace patří metylace. Methylace znamená připojení metylové skupiny. V buňce se kromě RNA vyskytuje i na bázích DNA a také jako post-translační modifikace aminokyselin. Methylace a k ní opačný proces demethylace, tedy odstranění metylové skupiny, jsou velmi flexibilní a umožňují reagovat jak na změny v organismu, tak na změny vnějšího prostředí. Právě možnost odezvy a přizpůsobení se vlivům je hlavní účel epigenetiky.

U eukaryotické mRNA se nejčastěji můžeme setkat s metylovaným adenosinem na šestém uhlíku, čímž vzniká N6-metyladenosin; značen m^6A (Dominissini *et al.* 2012), dále můžeme nalézt modifikovanou bázi 5-metylcytidin; m^5C (Squires *et al.* 2012), N1-metyladenosin; m^1A (Dominissini *et al.* 2016) a dalším případem chemické modifikace je pseudouridin; Ψ (Carlile *et al.* 2014). Kromě těchto nalezneme v buněčné RNA i další, ale výše vypsané patří mezi nejčastější.

1.2 N6-metyladenosin

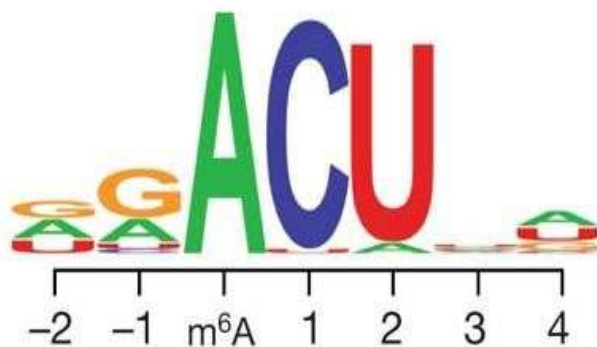
Jako N6-metyladenosin se označuje metylace na šestém uhlíku adenosinu (viz obr. 1). Tímto způsobem upravená báze se také značí zkratkou m^6A . Předpokládáme, že modifikovaná báze tvoří spolu s cukerným zbytkem a fosfátem řetězec nukleové kyseliny, takže značení m^6A může popisovat metylovaný adenin i adenosin.



Obr. 1 Adenin a N6-metylovaný adenin

Vlevo je adenin, červená čísla označují uhlíky. Vpravo je N6-metylovaný adenin s metylovou skupinou připojenou na funkční skupině 6. uhlíku.

Adenin, aby mohl být metylován, musí se nacházet v typické sekvenci, kde metylovanému adeninu předchází dvě báze obsahující adenin nebo guanin (tedy dvě purinové báze) a po něm následuje cytosin a uracil (viz obr. 2). Konzervativnost této sekvence mezi savci byla prokázána původně srovnáním lidského a myšího transkriptomu (Dominissini *et al.* 2012).



Obr. 2 Poměrné zastoupení bazí v m⁶A sekvenci. Převzato z (Dominissini *et al.* 2012).

Spodní osa grafu ukazuje místo na sekvenci, přičemž výchozí nukleotid je metylovaný adenin (m⁶A). Průměrný počet výskytu báze v určitém místě je zobrazen jako její výška.

1.2.1 Význam metylace pro osud mRNA

To, že typická místa metylace byla nalezena především ve 3' UTR oblastech (untranslated region) a ve více jak 400kb dlouhých exonech, je podkladem pro tvrzení, že m⁶A pravděpodobně signalizují místa sestřihu. V kratších exonech nepodléhajících sestřihu tímto způsobem modifikovaná místa nalezena nebyla. Což naznačuje první význam metylace: podíl na sestřihu pre-mRNA. Tyto typické lokace m⁶A byly nalezeny i v myším transkriptomu (Dominissini *et al.* 2012).

Nejčastěji jsou o m⁶A obohacena místa iniciace transkripce a sekvence v okolí stop kodónů - to naznačuje roli při kontrole translace a tím pádem i při regulaci genové exprese (Meyer *et al.* 2012; Wang *et al.* 2015). Tato funkce m⁶A byla původně prokázána při expresi dihydrofolát reduktázy *in vitro* (Tuck *et al.* 1999).

1.2.2 Proteiny asociované s m⁶A

Metylace dále může způsobovat navázání specifických vazebných proteinů. Metylací na RNA katalyzuje metyltransferázový komplex METTL3-METTL14 skládající se z proteinů METTL3, METTL14 (J. Liu *et al.* 2014) a jejich regulační podjednotky WTAP (Ping *et al.* 2014). Dalším proteinem připojující se do metyltransferázového komplexu je KIAA1429 (Schwartz *et al.* 2014). Naopak odstranění připojeného metylového zbytku vykonávají protein demetylázy jako FTO (Jia *et al.* 2011) a ALKBH5 (Zheng *et al.* 2013).

Mezi proteiny, které dokáží rozeznat metylovaný úsek RNA patří proteiny z rodiny YTH domény (YTH domain family proteins 1-3, zkratkou značené YTHDF1-3) (Xu *et al.* 2015). Navázání specificky asociovaného proteinu určuje další osud mRNA. Protein YTHDF1 je zodpovědný za translaci mRNA, naopak připojení proteinu YTHDF2 způsobí degradaci takové mRNA (Wang *et al.* 2015). Dalším proteinem rozeznávající m⁶A je YTH doménu obsahující protein 1 (YTHDC1), který reguluje sestřih pre-mRNA (Xiao *et al.* 2016).

Další možností je označení místa vhodného pro alternativní sestřih, čehož se účastní protein HNRNPA2B1 (Alarcón *et al.* 2015) a nepřímo rozeznává sekvenci m⁶A jeho příbuzný protein HNRNPC (N. Liu *et al.* 2015).

2 RNA-DEMETYLAZA FTO

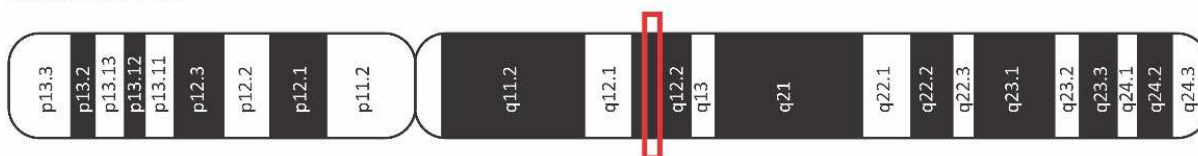
V literatuře a odborných člancích se můžeme setkat i s odlišným označením tohoto proteinu např. FTO protein, alfa-ketoglutarát-dependentní dioxygenáza FTO, fat mass and obesity-associated protein nebo AlkB homolog 9 (ALKBH9).

Název FTO byl původně odvozen z fenotypu myšního mutanta „fused-toe“, který vznikl delecí 6 genů a jehož fenotyp se vyznačoval srostlými prsty na horních končetinách u heterozygotních jedinců. Jeden z deletovaných genů byl i „fatso“ (*Fto*), který získal toto označení pro svou velikost (Peters *et al.* 1999). Po objevení souvislosti tohoto genu s obezitou se tato zavedená zkratka i nadále používá, tentokrát však FTO reprezentuje fat mass and obesity-associated protein.

2.1 Lokalizace

Gen *FTO* se v lidském genomu nachází na pozici 16q12.2, tedy na dlouhém raménku 16. chromozomu (viz obr. 3). Gen je orientován v kladném směru a jeho velikost je přibližně $4,5 \times 10^5$ bp.

Chromozom 16



Obr. 3 Chromozom 16

Znázornění 16. lidského chromozomu. Červeně zvýrazněné místo označuje lokaci genu *FTO* v úseku 16q12.2.

V těsné sousedství směrem k centroměře se nachází gen *RPGRIP1L* (také nazývaný *Ftm*, podle svého myšního ortologu). Na rozdíl od *FTO* leží v opačné orientaci, ale díky tomu mají oba geny společné regulační místo, které se nachází v prvním intronu *FTO* genu. Na druhé straně, směrem k telomeře se nachází nejbližší gen *IRX3*, orientován stejně jako *FTO* (viz obr. 4) (Stratigopoulos *et al.* 2008).

Úsek 16q12.2



Obr. 4 FTO a sousední geny

Zvětšený výřez z úseku 16. chromozomu 16q12.2. schématicky vyobrazuje sousední geny *RPGRIP1L* a *IRX3* v blízkosti *FTO*. Orientace jednotlivých genů je znázorněna šipkami.

Pro srovnání uvádím lokalizaci *Fto* v nejčastěji používaném modelovém organismu pro výzkum této problematiky, kterým je *Mus musculus*. V myším genomu se gen *Fto* nachází na 8. chromozomu, uspořádání sousedních genů včetně orientace je obdobné jako u člověka (Becker-Follmann *et al.* 1997; Peters *et al.* 1999).

V buňkách se demetyláza FTO nejčastěji nachází v jádře, konkrétně v místech zvaných jaderné skvrny (nuclear speckles) (Jia *et al.* 2011). Jak bylo uvedeno v předchozí kapitole, FTO demetyláza odstraňuje metylovou skupinu ze svého primárního substrátu - pre-mRNA. Ta se shromažďuje v takových oblastech jádra, kde dochází k alternativnímu sestřihu (splicing), tedy ve výše zmíněných jaderných skvrnách. Výskyt FTO proteinu v těchto oblastech naznačuje jeho účast při alternativním sestřihu (Jia *et al.* 2011). V o něco nižší koncentraci najdeme protein FTO i v cytoplazmě, kam se dostává skrze jaderné póry s pomocí proteinu XPO2 (Gulati *et al.* 2014).

Demetyláza FTO je produkována ve všech tkáních v těle, nejvíce ale v CNS, konkrétně v jádrech hypotalamu. Pomocí hybridizace *in situ* byly znázorněny oblasti hypotalamu, kde je FTO exprimována nejvíce - jsou to oblasti *nc. arcuatus*, *nc. praraventricularis*, *nc. ventromedialis* a *nc. dorsomedialis* (Gerken *et al.* 2007).

2.2 Struktura genu a proteinu FTO

FTO gen se skládá z 9 exonů a 8 intronů. V prvním intronu se nachází vazebné místo pro transkripční faktor CUX1 (také značené jako CUTL1), společné pro regulaci exprese *FTO* i *RPGRIP1L* (Stratigopoulos *et al.* 2008). Toto vazebné místo leží v 47kb oblasti prvního intronu (viz obr. 5), kde bylo nalezeno mnoho jednonukleotidových polymorfismů tzv. SNP (Frayling *et al.* 2007). U jednotlivých alel těchto SNP byl prokázán

vliv na expresi *FTO* (Church *et al.* 2010) a zřejmě má vliv i na regulaci sousedních genů (Stratigopoulos *et al.* 2016).



Obr- 5 Struktura genu *FTO*

Černé úseky značí exony, bílé jsou introny. Značí se čísla od transkripčního počátku – v tomto případě zleva. V oblasti 1. intronu je šedou barvou znázorněna oblast SNP asociovaných se zvýšeným BMI. Červeně je označeno vazebné místo CUX1.

Výsledný produkt *FTO* genu – protein RNA-demetyláza *FTO* se skládá z 505 aminokyselin a její molekulární hmotnost činí přibližně 58 kDa (Han *et al.* 2010).

Demetyláza *FTO* je tvořena z aminové N koncové domény (NTD), která je katalyticky aktivní a karboxylové koncové domény (CTD).

Katalytické místo NTD se skládá převážně se z beta řetězců uspořádaných do tzv. jelly-roll motivu, kde se uvnitř nachází evolučně konzervované aminokyseliny His232, Asp233 a His30. Ty spolu tvoří místo pro vazbu železnatého kationtu (Sanchez-Pulido and Andrade-Navarro 2007; Han *et al.* 2010). NTD také nese informaci o lokalizaci *FTO* demetylázy do cytoplasmy (Gulati *et al.* 2014).

CTD je naopak tvořena převážně z alfa helixů, které dohromady tvoří motiv tzv. three-helix bundle. Jeden konec tohoto motivu z CTD interaguje s NTD, což značí roli CTD při stabilizaci NTD. CTD se zásadně podílí na enzymatické aktivitě NTD – bylo zjištěno, že samotná NTD proteinu, získala svou katalytickou schopnost až po připojení k CTD (Han *et al.* 2010).

Vnější stěna NTD tvořená tzv. jelly-roll motivem je překryta smyčkou, která mírně odstiňuje jinak pozitivní náboj. Přestože *FTO* demetyláza vykazuje při homologním srovnání podobnost s proteiny ALKBH rodiny (Gerken *et al.* 2007), tato smyčka je specifická pouze

pro FTO protein a její aminokyselinové složení je zakonzervované od zelených řas až po obratlovce¹ (Sanchez-Pulido and Andrade-Navarro 2007).

Právě tato smyčka brání druhému řetězci dvouřetězcových nukleových kyselin a selektuje tak pouze jednořetězcové, které se mohou navázat. Navíc je tvořena takovými aminokyselinami, které zabraňují navázání nemetylovanému řetězci DNA i RNA. Rozpoznání metylované báze v katalytickém místě je zajištěno vodíkovými vazbami mezi metylovanou bází a okolními aminokyselinami (Han *et al.* 2010).

2.3 Funkce demetylázy FTO

2.3.1 Funkce demetylázy FTO na molekulární úrovni

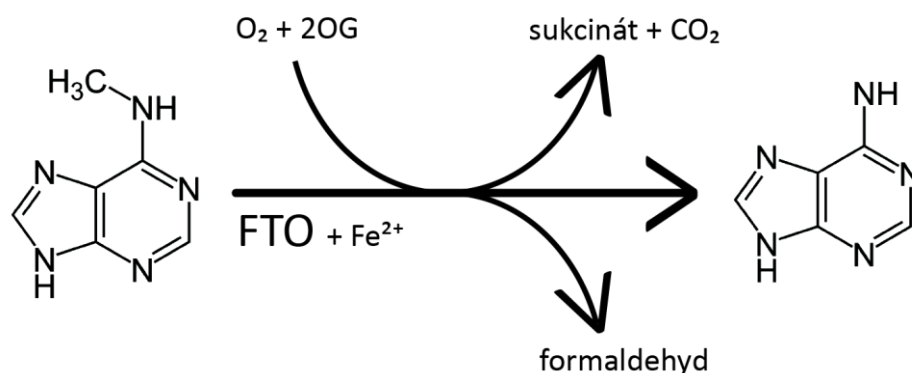
Multisekvenčním srovnáváním homologů (MSA) bylo zjištěno, že demetyláza FTO patří do skupiny Fe(II)-2-oxoglutarát-dependentních dioxygenáz. To znamená, že pro svou funkci potřebuje nehemové železo jako kofaktor a 2-oxoglutarát jako „ko-substrát“ stejně jako homologní proteiny ALKBH rodiny. Homologní proteinem jednobuněčných eukaryot je AlkB z *E. coli*. Lidskými nejpříbuznějšími proteiny jsou ALKBH proteiny (Gerken *et al.* 2007).

Demetyláza FTO dokáže odstraňovat metylovou skupinu z jednořetězcových nukleových kyselin – např. m³T, m³C na ssDNA (Gerken *et al.* 2007) nebo m³U na RNA (Jia *et al.* 2008), jejím primárním substrátem je však m⁶A na RNA. Pro porovnání, enzym má více než 50x vyšší afinitu k m⁶A než k m³U (Jia *et al.* 2011).

Činnost demetylázy FTO spočívá v navázání metylované báze do aktivního místa, kde obdobně jako ostatní 2-oxoglutarát-dependentní dioxygenázy využije kofaktor Fe²⁺ a ko-substrát 2-oxoglutarát, aby za přítomnosti kyslíku demetylovala primární substrát

¹ Zakonzervovanost mezi organismy byla prokázána mezi rozdílnými skupinami od zelených řas až po obratlovce. Zatímco fylogenetická distribuce FTO homologů u obratlovců naznačuje, že se gen Fto vytvořil a udržel v průběhu evoluce, u zelených řas a rozsivek jde spíše o horizontální přenos z obratlovců na protista. Navíc FTO chybí u skupin hmyzu, červů a fungi (Sanchez-Pulido and Andrade-Navarro 2007).

N6-metyladenin (viz obr. 6). Jako vedlejší produkt reakce vzniká sukcinát, formaldehyd a oxid uhličitý (Gerken *et al.* 2007).



Obr. 6 Chemická podstata demethylace

Vlevo je molekula N6-metyladeninu, která představuje přirozený substrát (tedy substrát, k němuž má enzym největší afinitu) pro demetylázu FTO. Vpravo je výsledný produkt adenin. Šípkami jsou naznačeny látky, které vstupují a vystupují z reakce. Zkratka 2OG značí 2-oxoglutarát.

Další z funkcí demetylázy v buňce je regulace mTORC1 dráhy. Tato dráha je zodpovědná za kontrolu hladiny živin v buňce, regulaci buněčného růstu (ovlivňuje především regulaci G1 fáze) a s tím spojenou translaci proteinů (Brunn *et al.* 1997; Fingar *et al.* 2004).

Bylo prokázáno, že hladina demetylázy FTO v buňce klesá při nízkých stavech esenciálních aminokyselin a glukózy (Cheung *et al.* 2013). A dále u buněk s nedostatkem FTO proteinu způsobeným inaktivací genu *FTO*, se snižuje aktivita mTORC1 dráhy, dochází ke snižování celkové mRNA translace a naopak se zvyšuje autofágie (Gulati *et al.* 2013).

Demetyláza FTO je zodpovědná za kontrolu hladiny nutrientů v buňce a reaguje na jejich nedostatek. Přesné mechanismy nejsou známy, ale víme, že hladiny MSC (multi-tRNA synthetase complex) se při nízké hladině FTO snižují. To se pak projeví i při snížení translace, protože MSC působí jako koordinátor pro aminoacyl-tRNA syntetázy (AARS). MSC ale není jediná molekula, která se na tomto řízení podílí, s FTO interagují i další proteiny z AARS rodiny (Gulati *et al.* 2013).

2.3.2 Fenotyp při snížené aktivitě FTO

Fenotyp mutantů s vyřazeným nebo nefunkčním genem pro FTO

U člověka bylo možné sledovat roli FTO při vývoji jedince díky samovolné záměně aminokyseliny argininu za glutamin na pozici 316 v proteinu FTO. Pomocí této spontánní mutace se FTO stala nefunkční, neboť arginin je zodpovědný za vazbu ko-substrátu 2-OG. Jedinec po narození trpěl polymalformačním syndromem, což se projevilo postnatální růstovou retardací, nedostatečným vývinem mozku až mikrocefalií, obličejovým dysmorfismem a srdečními abnormalitami. Taková postižení nejsou dlouhodobě slčitelná se životem, a tak se děti trpící touto mutací nedožily déle než 30 měsíců (Boissel *et al.* 2009).

Ztrátou enzymatické funkce genu *Fto* při nahrazení druhého a třetího exonu genem pro rezistenci k neomycinu, vznikli *Fto*-negativní myši mutanti. Takto upravené myši jsou životaschopné, přesto jich cca 40 % umírá do 4 týdnů po narození. Skutečnost, že se *Fto*-negativní myši homozygoti narodí, ale část z nich brzy po narození zemře, naznačuje, že demetyláza FTO není tolik důležitá v embryonálním vývoji jako v následujícím postnatálním vývoji (Fischer *et al.* 2009).

Fto-negativní homozygoti od wild-type myši odlišují postnatální růstovou retardací a sníženou hmotností, tedy odpovídajícími fenotypovými projevy jako u lidských jedinců bez funkční demetylázy FTO. To naznačuje roli *Fto* při regulaci metabolismu a růstu. Inaktivace FTO demetylázy neměla vliv na anatomii, snížení váhy bylo zapříčiněno úbytkem bílé tukové tkáně, hnědá tuková tkáň zůstala nezměněna. Vzhledem k přirozeně vyššímu výskytu demetylázy FTO v jádrech hypotalamu, byla tato oblast po inaktivaci *Fto* prozkoumávána, žádné vývojové abnormality ale nebyly nalezeny (Fischer *et al.* 2009).

Odlišní myši mutanti, v tomto případě s indukovatelnou inaktivací *Fto*, byli připraveni pro získání informace o tom, co způsobí vyřazení genu *Fto* v dospělém organismu. Tímto se předešlo úmrtím v raně postnatálním věku a růstové retardaci. Stejně jako v předešlé studii, i zde bylo pozorováno snížení tělesné hmotnosti. Při podrobnějším zkoumání se naopak prokázal úbytek netukové tělesné hmoty a přírůstek hmotnosti tukové tkáně (McMurray *et al.* 2013).

Fenotyp myších mutantů se specificky inaktivovaným genem *Fto* v nervové soustavě se projevoval velmi podobně jako fenotyp jedinců s inaktivací *Fto* v celém těle, tedy růstovou retardací a sníženou hmotností. Jejich kosti dále vykazovali nižší kalcifikaci a hladina IGF-1 v organismu byla snížena. Tato souvislost poukazuje na úlohu *Fto* v CNS při řízení růstu a na regulaci ostatních tkání pomocí neuronálního působení demetylázy FTO (Gao *et al.* 2010).

Farmakologické inhibitory FTO

Jako jeden ze způsobů výzkumu funkce proteinu se nabízí jeho zablokování pomocí vhodných inhibitorů. Ideální inhibitor blokuje pouze námi vybraný protein, a tak získáme informaci, co se v organismu změní při jeho nepřítomnosti. Oproti úplnému vyřazení genu přináší výhody. Protein lze funkčně vyřadit v jakémkoli stádiu vývoje, a tak nechybí v jeho kritických obdobích, a navíc při takto vyřazeném genu nedochází k funkční kompenzaci ostatními geny. Níže uvádím některé z testovaných látek s inhibičními účinky na FTO demetylázu, jejich molekuly jsou zobrazeny na obr. 7.

Jedním ze zkoumaných inhibitorů byl rhein, který se kromě FTO váže i na další proteiny ALKBH rodiny a není tedy výhradně specifický pro FTO demetylázu. Rhein se kompetitivně váže do aktivního místa pro nukleové kyseliny a znemožňuje tak jejich navázání (Chen *et al.* 2012).

Mezi další nalezené patří například IOX3, který ale, podobně jako rhein, nemá specifitu pouze k FTO proteinu. Zhruba stejnou mírou inhibuje i HIF prolyl-hydroxylázy (Chowdhury *et al.* 2013; McMurray *et al.* 2015).

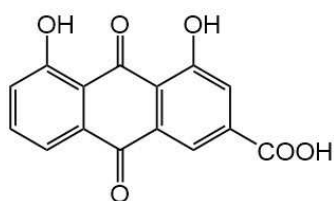
S HIF dráhou souvisí i další nalezená látka 7d (N-(3,4-dihydroxy-5-(4-chlorophenyl)-2-furanyl)). Ta byla původně zamýšlena jako inhibitor prolyl-4-hydroxylázy 2, ukázalo se však, že mnohem silněji účinkuje na FTO demetylázu. Jako jediný mezi ostatními inhibitory FTO demetylázy má antikonvulzivní účinky, čehož může být využito např. při léčbě epilepsie (Zheng *et al.* 2014).

Další látkou je kyselina meklofenamová (MA), nesteroidní protizánětlivá látka. Ta se *in vitro* váže na pouze na FTO, na rozdíl od podobných látek, které se váží i na příbuzný protein ALKB5. Příčinou tohoto jevu je motiv vlásenky z beta listů, které se změnou konformace

objeví po navázání MA a tuto vazbu ještě více zpevní. V proteinu ALKBH5 tato struktura chybí a tím pádem se MA nedokáže navázat (Huang *et al.* 2015).

Poslední z vybraných inhibitorů je 4-chloro-6-(6'-chloro-7'-hydroxy-2',4',4'-trimethylchroman-2'-yl)benzene-1,3-diol (CHTB), malá molekula, která se váže na protein podobným způsobem jako MA. Přestože strukturně se od sebe obě molekuly velmi liší, obě jsou specifické pouze pro demetylázu FTO (Qiao *et al.* 2016).

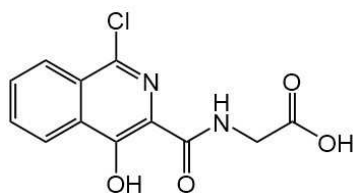
Nalezení vhodného inhibitoru může zaprvé přispět k poznání funkce demetylázy FTO v organismu, a zadruhé je přínosem pro farmaceutický průmysl, neboť může přispět k vývoji nových léčiv.



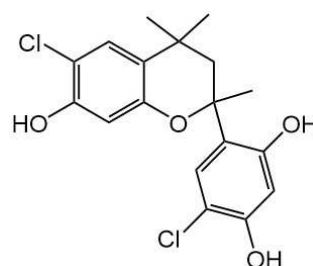
molekula rheinu



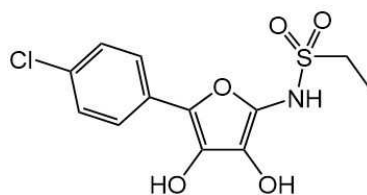
molekula MA



molekula IOX3



molekula CHTB



molekula 7d

Obr. 7 Molekuly farmakologických inhibitorů

Obrázek znázorňuje jednotlivé molekuly schopné inhibovat demetylázu FTO.

2.3.3 Fenotyp při zvýšené aktivitě FTO

Komplementárním přístupem jak testovat funkci proteinu v organismu, je jeho zvýšená exprese. Studium mutantů (tzv. Fto-4 mice, mají navíc 2 kopie *Fto*) se zvýšenou expresí *Fto* genu se podařilo zjistit, že takto upravená exprese *Fto* vede ke zvýšení aktivace anabolických drah a naopak snížení funkce katabolických drah v organismu (Merkestein *et al.* 2014).

Nejvíce zvýšená exprese byla prokázána v bílé tukové tkáni (až 5,4x více než ve wild-type organismu), dále v mozečku (2,1x) a v dvouhlavém lýtkovém svalu a hypotalamu (1,5x) (Merkestein *et al.* 2014).

Na první pohled viditelné rozdíly mezi wild-type myši a Fto-4 mutantem se začaly projevovat až ve věku 5 týdnů (Church *et al.* 2010). Již do této doby dochází ke zvýšení aktivace anabolických drah, ale pozorovatelné rozdíly se projevují až od tohoto věku (Merkestein *et al.* 2014).

Zajímavé je, že přestože FTO demetyluje m⁶A na RNA, zvýšená exprese FTO demetylázy neměla vliv na množství m⁶A ani v mRNA ani v celkové RNA. To může naznačovat, že demetyláza FTO se cíleně zaměřuje a demetyluje pouze malé množství konkrétních mRNA (Merkestein *et al.* 2014).

2.4 Funkce demetylázy FTO ve tkáních

Demetyláza FTO je exprimována ve všech tkáních těla, kde reguluje mRNA dalších proteinů, díky čemuž získává široké pole působnosti. Při studiu fenotypů se zvýšenou či nedostatečnou funkcí FTO demetylázy bylo odhaleno, ve kterých tkáních vyvolává tento enzym změnu. Většina funkčních projevů demetylázy FTO vykazuje souvislost s energetickým metabolismem a poukazuje na demetylázu FTO jakožto nadřazeného regulátora energetické homeostáze. Nejvýraznější změny u fenotypů s vychýlenou expresí demetylázy FTO byly pozorovány v tukové tkáni a CNS.

Některé výzkumy ukazují, že změny exprese *FTO* genu nemusí vyvolat změnu pouze v intracelulární hladině proteinu FTO ale také u jeho nejbližších sousedících genů, což jsou *RPGRIP1L* a *IRX3* (viz obr. 4). Nekódující oblasti *FTO* totiž fungují jako daleko dosahující (tzv. long range) enhancery a bylo prokázáno, že nekódující sekvence *FTO* v oblasti prvního intronu jsou funkčně propojeny s promotorem genu *IRX3*, který se nachází několik stovek kilobází dále downstream (Smemo *et al.* 2014).

Možnou souvislost genu *RPGRIP1L* s regulací homeostázy implikuje společné regulační místo pro geny *FTO* i *RPGRIP1L* v oblasti prvního intronu *FTO* (Stratigopoulos *et al.* 2008).

2.4.1 Funkce demetylázy FTO v tukové tkáni

Jeden z výrazných fenotypových projevů u myších mutantů v genu *Fto* se vyskytuje na úrovni tukové tkáně. Při hledání funkce demetylázy FTO se předpokládalo, že pokud demetyláza FTO ovlivňuje tukovou tkáň, pak tam pravděpodobně i přímo působí (Wahlén *et al.* 2008).

Analýza dat o složení těla *Fto*-deficientních myších mutantů pomocí magnetické rezonance ukázala, že vyřazení genu *Fto* vede mimo jiné k redukci bílé tukové tkáně. V oblastech hnědé tukové tkáně nebyl úbytek pozorován. Takovýto „štíhlý“ fenotyp je zapříčiněn zvýšením energetických výdajů a aktivací sympatického tonu, přestože je u takovýchto mutantů zároveň snížena spontánní pohybová aktivita a zvyšuje se množství přijaté potravy tzv. relativní hyperfágie (Fischer *et al.* 2009).

Právě aktivace sympatiku je zodpovědná za regulaci spotřeby energie. Energie, která by se jinak ukládala do tukových zásob, se nepřeměňuje na tepelnou energii při rozpráhovacích dějích v mitochondriích, jak se původně předpokládalo, protože exprese potřebného rozpráhovače *Ucp1* v hnědé tukové tkáni se při inaktivaci *Fto* nezvyšuje. V tomto případě se energie pravděpodobně spotřebovává jalovým cyklem, při kterém se opakovaně spotřebovávají nově syntetizované mastné kyseliny a triacylglyceridy (Fischer *et al.* 2009).

Jiná studie, která se zaměřila na studium sousedního genu *IRX3*, prokázala spojení mezi mírou exprese *Irx3*, regulací tělesné hmotnosti a složením tělesné hmoty. Myší mutanti s inaktivovaným genem *Irx3* vykazují o 25-30% nižší váhu, která je zapříčiněna úbytkem hmotnosti tukové tkáně a zvýšením bazálního metabolismu. Jako doprovodný jev bylo

pozorováno hnědnutí bílé tukové tkáně v perigonadální tukové tkáni a zvýšená exprese *Ucp1* v hnědé tukové tkáni (Smemo *et al.* 2014).

Podle další studie, která sledovala vliv demetylázy FTO na lipolýzu v bazálních adipocytech z podkožního tuku u žen, se uvažuje teorie že FTO demetyláza ovlivňuje bazální lipolytickou aktivitu v adipocytech. U žen se zvýšenou expresí FTO byla nalezena nižší lipolytická aktivita. Toto bylo prokázáno při experimentech *in vitro* i *in vivo*. Expres FTO v tukové tkáni klesá při diferenciaci adipocytů a naopak vzrůstá při obezitě, ale přitom nebylo nalezeno přímé spojení mezi mírou exprese *FTO* a lipolytickou aktivitou v tukové tkáni (Wählén *et al.* 2008).

Demetyláza FTO se skutečně uplatňuje při diferenciaci adipocytů. Při nedostatku FTO proteinu se snižuje celková diferenciaci a bylo pozorováno více m⁶A na RNA než obvykle. Celý proces funguje i opačně, při vyšší expresi *FTO* dochází i ke zvýšené diferenciaci adipocytů (Zhang *et al.* 2015).

2.4.2 Funkce demetylázy FTO v CNS

Na důležitou funkci demetylázy FTO v CNS poukazuje zvýšený výskyt mRNA FTO v oblastech hypotalamu (Gerken *et al.* 2007) a také skutečnost, že cílená inaktivace genu *FTO* v nervové soustavě vyvolá podobný fenotyp jako celková inaktivace *FTO* v organismu (Gao *et al.* 2010).

Protože nejvyšší hodnoty FTO byly nalezeny v jádrech hypotalamu, které se podílí na energetické homeostázi, tak se při hledání příčiny nárůstu obezity při vyšší hladině demetylázy FTO vycházelo z hypotézy, že tento jev vzniká díky zvýšenému příjmu potravy. Tuto myšlenku podpořil fakt, že snížený příjem potravy u myši vedl i ke snížení mRNA *Fto* v *nucleus arcuatus* (Gerken *et al.* 2007; Cheung *et al.* 2013) a naopak hladina mRNA *Fto* v hypotalamu vzrostla při konzumaci potravy kalorické (Poritsanos *et al.* 2011).

U myších jedinců bylo zjištěno, že buňky v ARC ovlivňuje přímo dostatek či nedostatek glukózy a základních aminokyselin. Při hladovění mRNA *Fto* klesá, ale opětovném krmení dochází ke zvýšení hladiny demetylázy FTO, což implikuje vztah, že exprese *Fto* v ARC podléhá nutričnímu stavu (Cheung *et al.* 2013). Nižší hladina demetylázy FTO v hypotalamu potkanů, která byla způsobena specifickým knock-outem genu *FTO*, vedla ke zvýšenému

příjmu potravy. Vysoká exprese *FTO* naopak ke snížení příjmu potravy. Změny exprese *FTO* neovlivnily hladiny jiných genů souvisejících s řízením příjmu potravy, ale při vyšší expresi *Fto* se až 4x navýšily stavy mRNA transkripčního faktoru Stat3. Tento faktor se u dospělých organismů podílí na leptin receptorové signalizaci, a jeho zvýšení vede k vyšší citlivosti k leptinu, čímž následně dochází ke snížení příjmu potravy (Tung *et al.* 2010).

Dále bylo zjištěno, že určité formy SNP v genu *FTO*, které jsou asociovány s obezitou, vedou k využívání odlišné isoformy transkripčního faktoru CUX1, který snižuje senzitivitu k leptinu a tím může zvyšovat příjem potravy (Stratigopoulos *et al.* 2016).

Příjem potravy je řízen dvěma komplementárními mechanismy, homeostatickou regulací, zajišťovanou především hypotalamem, a regulací hedonickou, ve které hraje významnou úlohu dopaminergní signalizace v mesolimbické dráze (Lutter et Nestler 2009). Výše zmíněná úloha *FTO* v hypotalamu souvisí patrně s homeostatickou regulací. Ve spojitosti s obezitou bylo však také prokázáno, že lidé s vyšší expresí *FTO* mají tendenci konzumovat ve vyšší míře tzv. vysoce palatabilní potravu, tedy potravu s vyšším obsahem tuků a sacharidů a s vyšší energetickou denzitou (Timpson *et al.* 2008). Tento trend může být navíc doprovázen i záchvatovitým přejídáním (Tanofsky-Kraff *et al.* 2009). Tato skutečnost poukazuje na možnost, že demetyláza *FTO* ovlivňuje jak homeostatickou, tak i hedonickou složku regulace příjmu potravy.

Specifický knock-out *Fto* v dopaminergních neuronech u myši měl mimo jiné ukázat, podíl *FTO* na hedonické regulaci. Očekávané změny v organismu - např. změna tělesné hmotnosti, příjmu potravy nebo výdaje energie, se ale neprojevily. To by pravděpodobně mohlo být způsobené tím, že úlohu těchto neuronů převzaly jiné oblasti mozkové tkáně. Na molekulární úrovni se však v takto upravených neuronech s inaktivovaným *Fto* genem objevila D2/D3-receptor dependentní autoinhibice, čímž se prokázala regulační funkce *Fto* v této tkáni (Hess *et al.* 2013).

Výzkum neuronálních odpovědí na podněty související s jídlem prokázal u lidí se zvýšenou hladinou demetylázy *FTO* odlišnou neuronální odpověď oproti jedincům s nižší hladinou proteinu *FTO*. Tato odpověď byla pozorována jak v centrech odměn, podílejících se na hedonické regulaci, tak i v centrech řízení homeostázy – v hypotalamu (Karra *et al.* 2013).

V dysfunkci mechanismů regulace příjmu potravy projevující se zvýšeným energetickým příjmem u jedinců se zvýšenou aktivitou *FTO* by se mohla výrazně uplatňovat souvislost

demetylázy FTO a ghrelinové signalizace. Ghrelin je důležitý hormon produkovaný žaludeční a střevní sliznicí, který řídí chuť k jídlu. Jeho hladiny se v těle v závislosti na dalších faktorech mění a právě ve chvíli, kdy jsou jeho koncentrace nejvyšší, pociťujeme hlad. Podílí se na regulaci příjmu potravy kvůli udržení homeostáze i v příjmu potravy spojeném s odměnou (Perello *et al.* 2010).

In vitro bylo pozorováno, že zvýšená exprese FTO snižuje m⁶A metylaci na mRNA ghrelinu, což následně zvyšuje hladinu ghrelinu v buňce. Tento jev byl potvrzen i *in vivo* v krevních buňkách – vyšší exprese FTO zapříčiní vyšší hladinu ghrelinu (Karra *et al.* 2013).

Vliv vyšší hladiny FTO proteinu byl nalezen pouze u příjmu potravy, vliv na změnu energetických výdajů ve smyslu pohybové aktivity nebyl pozorován (Speakman *et al.* 2008).

3 VÝZNAM FTO V ETIOLOGII LIDSKÝCH ONEMOCNĚNÍ

3.1 Souvislost FTO a obezity

Podle statistiky WHO (WHO 2016) trpělo nadváhou v roce 2014 více než 1,9 mld. dospělých lidí (cca 39 % populace), z toho přes 600 mil. jich bylo obézních. Od roku 1980 se počet obézních lidí na světě zdvojnásobil. Se zvyšujícím se BMI² se zvyšuje pravděpodobnost dalších onemocnění, jako jsou kardiovaskulární poruchy, diabetes mellitus 2. typu aj.

V roce 2007 byla třemi nezávislými studii (Frayling *et al.* 2007; Dina *et al.* 2007; Scuteri *et al.* 2007) nalezena souvislost mezi několika různými SNP³ v 47kb dlouhém úseku prvního intronu *FTO* a zvýšenou hodnotou BMI, vedoucí až k obezitě.

Pro všechny nalezené SNP platí stejný princip. Jedna z alel, kterou SNP asociované s obezitou tvoří, lze nazývat jako „rizikovou alelu“, protože její nositelé vykazují zvýšenou hodnotu BMI, tím pádem jsou náchylnější k obezitě a dalším komplikacím z ní vyplývajícím.

Homozygotní nositelé rizikové alely jsou ohroženi nejvíce, u heterozygotních jedinců je vliv rizikové alely zmírněn wild-type alelou. Poslední skupina, homozygotní nositelé wild-type alely jsou ohroženi nejméně (Frayling *et al.* 2007; Sovio *et al.* 2011).

Pro další výzkum byla zvolena SNP rs9939609, protože všechny SNP spolu korelovaly (byly ve vazebné nerovnováze) a tato byla v populaci nejúspěšněji osekvenována. (Frayling *et al.* 2007).

²**BMI index** je hodnota, díky které lze jednoduše porovnávat míru nadváhy u dospělých osob. Hodnotu spočítáme pomocí vzorce: $BMI = \text{počet kilogramů} / (\text{výška v metrech})^2$. Pokud je výsledné číslo vyšší nebo rovno 25, ukazuje to, že člověk má nadváhu. BMI vyšší nebo rovno 30 se považuje za obezitu. Protože číslo nezohledňuje podrobnější informace (např. podíl svalové hmoty) je tato hodnota pouze orientační, lze ji ale využít v rozsáhlých statistikách.

³**SNP (single nucleotide polymorphisms)** jsou jednonukleotidové odchylky v genomu, které běžně působí genetickou variabilitu mezi lidmi. V sekvenci DNA se v určitém místě nachází pouze jeden odlišný nukleotid, který tvoří další alelu genu.

Jednonukleotidový polymorfismus rs9939609

Tento jednonukleotidový polymorfismus se nachází na pozici 53786615 na 16. chromozomu a v populaci vyskytuje ve 2 alelách – jsou označovány písmenem „A“ (pokud SNP v tomto místě obsahuje bázi adenin) a „T“ (pokud je na této pozici thymin).

Je to právě alela A, která se označuje jako riziková alela a má vliv na zvýšení BMI. Dle Fraylingovy studie jsou nositelé této alely průměrně o 3 kilogramy těžší než nositelé T alely a mají až 1,6x vyšší riziko rozvoje cukrovky 2. typu. U heterozygotů je riziko zvýšeno 1,3x (Frayling *et al.* 2007). Projev zvýšené hodnoty BMI způsobené rizikovou alelou může být oslaben sportem a tělesnou aktivitou (Vimalaewaran *et al.* 2009).

Pozorovatelný nárůst BMI u homozygotů nesoucích A či T alelu se začíná projevovat v dětském věku, přibližně v 5 letech (Cecil *et al.* 2008). Do tohoto věku byl pozorován opačný efekt A alely, tedy korelace s nižším BMI. U jedinců s rizikovou alelou se také objevuje trend posunutí adiposity rebound⁴ do nižšího věku (Sovio *et al.* 2011).

Na základě vybrané populace se zastoupení jednotlivých alel mění. Například dle Fraylingovy studie se riziková alela vyskytuje u 39 % lidí z evropské populace (Frayling *et al.* 2007). U japonské a čínské populace je to méně, pro názornost podle Fangovy studie pouze 12,2 % (Fang *et al.* 2010).

Tyto jednotlivé nukleotidové změny v sekvenci DNA jednoznačně prokázaly svou souvislost se zvýšenou hodnotou BMI u člověka. A spolu s funkčními projevy RNA demetylázy FTO v tkáních poukázaly na spoluúčast proteinu FTO (nebo alespoň jeho genu) v řízení energetického metabolismu.

Jev, kdy výše zmíněné rizikové alely (jako je například alela A v rs9939609) zvyšují BMI člověka, je způsoben vyšší expresí proteinu FTO, který se na úrovni organismu projeví ve výsledku jako dysbalance energetické homeostázy (Church *et al.* 2010).

⁴**Adiposity rebound** (česky označováno jako odraz adipozity) je období ve věku 4-7 let, ve kterém se zastavuje snižování hodnoty BMI a naopak dochází k jeho zvyšování. V čím nižším věku tento odraz nastane, tím více se zvyšuje riziko obezity v pozdějším věku (Rolland-Cachera *et al.* 1984).

3.2 Souvislost FTO a cukrovky 2. typu

Fraylingova studie původně našla vztah mezi rizikovou alelou rs9939609 a rizikem cukrovky 2. typu (diabetes mellitus 2. typu). Přímý vliv rizikové alely ale nebyl potvrzen a jako příčina původního spojení s cukrovkou byla určena zvýšená hodnota BMI, kterou riziková alela způsobuje (Frayling *et al.* 2007; Scuteri *et al.* 2007).

3.3 Souvislost FTO a kardiovaskulárních onemocnění

Riziková alela u rs9939609 nezvyšuje pouze BMI a riziko diabetes 2. typu, ale byl prokázán vliv na zvýšení aterogenního indexu plazmy (tzv. dyslipidemický fenotyp) a zvýšené riziko infarktu myokardu. Toto spojení bylo nalezeno i bez započítání vlivu obezity resp. množství tukové tkáně. U takovýchto osob bylo pozorováno zlepšení stavu po podávání statinů (Doney *et al.* 2009).

3.4 Souvislost FTO a Alzheimerovy choroby

U nositelů rizikové alely v rs9939609 bylo nalezeno zvýšené riziko rozvoje Alzheimerovy choroby (Keller *et al.* 2011). Vztah mezi demetylázou FTO a Alzheimerovou chorobou nepřímo podporují i další studie. U zdravých starších nositelů s rizikovou alelou v rs1421085 a rs17817449 byl pozorován úbytek objemu mozkové tkáně v čelních (cca o 8 %) a týlních (cca o 12 %) mozkových lalocích (Ho *et al.* 2010). Starší muži, homozygoti s rizikovou alelou v rs9939609 ve věku okolo 82 let vykazují zhoršené výsledky v testu slovní plynulosti (verbal fluence), což ukazuje na roli FTO demetylázy v čelních mozkových lalocích (Benedict *et al.* 2011). Nejvýrazněji se riziková alela rs9939609 projevuje v kombinaci ϵ 4-alelou v genu *APOE*, tato kombinace trojnásobně zvyšuje riziko rozvoje Alzheimerovy choroby (Keller *et al.* 2011).

3.5 Souvislost FTO a epilepsie

S epilepsií jsou spojovány poruchy regulace pomocí miRNA (Pichardo-Casas *et al.* 2012; Aronica *et al.* 2010). K regulaci genové exprese pomocí miRNA dochází v CNS, kde tyto miRNA často obsahují m⁶A, který je mimo jiné stabilizuje. O m⁶A jsou také obohacena místa, kam se miRNA váže a kde působí (Meyer *et al.* 2012). Zvýšené množství FTO demethylázy, může vést k vyšší demethylázové aktivitě, čímž bude tato regulace pomocí miRNA narušena. Jako další nepřímý důkaz o spojení epilepsie a FTO demethylázy a mohou sloužit antikonvulzivní účinky u tzv. 7d farmakologického inhibitoru FTO demethylázy (Zheng *et al.* 2014). Přímé důkazy v této oblasti nicméně chybějí (Rowles *et al.* 2012).

ZÁVĚR

Enzym RNA-demetyláza FTO upoutala pozornost hned z několika důvodů. Prvním byl výrazný fenotyp organismu s enzymaticky nefunkční demetylázou FTO, vzniklou samovolnou mutací, který se projevuje vývojovými malformacemi a růstovou retardací. Dalším byla skutečnost, že gen pro demetylázu FTO byl při srovnávacích studiích objeven jako první gen, jehož roziková alela výrazně ovlivňuje hodnotu BMI a může tak přispívat k rozvoji obezity. Až o několik let později byla objasněna molekulární podstata funkce demetylázy FTO v organismu. Na molekulární úrovni byla její funkce popsána jako nový regulační mechanismus RNA epigenetiky, kde uplatňuje demetylázovou aktivitu na primárním substrátu N6-metyladenosinu na mRNA, čímž dokáže regulovat genovou expresi dalších produktů. Mezi další funkce demetylázy FTO patří kontrola hladin glukózy a esenciálních aminokyselin v buňce, kdy při nedostatku těchto živin vyvolá reakci, která vede k pozastavení buněčného cyklu a exprese celkové mRNA v buňce.

Svou funkci v energetickém metabolismu plní jako nadřazený regulátor dalších metabolických drah, které v případě narušené hladiny demetylázy FTO v organismu mohou vést k různým patofyziologickým stavům souvisejících se energetickou homeostázou. Příkladem mohou být kardiovaskulární choroby nebo obezita. Další souvislosti byly nalezeny mezi demetylázou FTO a onemocněním nervové soustavy jako jsou Alzheimerova choroba či epilepsie. Znalosti o konkrétním působení demetylázy FTO ve tkáních se mohou využít při farmakologickém ovlivnění tohoto enzymu. Demetyláza FTO je jako regulátor vyšší úrovně potenciálně vhodný cíl při léčbě onemocnění asociovaných s tímto proteinem.

Podíl demetylázy FTO v závažných stavech a chorobách je patrný, ne vždy ale známe přesné mechanismy, kterými demetyláza FTO v tkáních působí. Nejvíce prostudovány v tomto ohledu jsou tuková tkáň a centrální nervová soustava, poznatků o působení demetylázy FTO v jiných tkáních je však pomálu. Navíc se ukazuje, že exprese genu *FTO* ovlivňuje i blízké geny *IRX3* a *RPGRIP1L*, což hledání působení FTO proteinu ve tkáních ještě o něco více komplikuje. I přes tyto nesnáze je RNA demetyláza FTO, jakožto nadřazený regulátor, důležitým a zajímavým předmětem výzkumu, neboť její poznání může přispět k objasnění příčin některých onemocnění a při vhodném farmakologickém působení na demetylázu FTO i k jejich léčbě.

Seznam zkratek

| | |
|-----------------------|--|
| ψ | Pseudouridin |
| 2OG | 2-oxoglutarát |
| 7d | N-(3,4-dihydroxy-5-(4-chlorophenyl)-2-furanyl |
| AARS | Aminoacyl tRNA syntetáza |
| ALKBH | Alkylation repair homolog |
| ALKBH5 | Alkylation repair homolog 5 |
| ALKBH9 | Alpha-ketoglutarate dependent dioxygenase, jiné označení pro FTO |
| APOE | Apolipoprotein E |
| ARC | Arcuate nukleus, arkuátní jádro |
| BMI | Body mass index; index tělesné hmotnosti |
| bp | Base pair, pár bází |
| CNS | Centrální nervová soustava |
| CTD | C terminal domain; C koncová doména |
| CUTL1 | Cut-like 1, jiné označení pro CUX1 |
| CUX1 | Cut like homeobox 1 |
| DNA | Deoxyribonukleová kyselina |
| <i>E. coli</i> | <i>Escherichia coli</i> |
| Ftm | RPGRIP1L (retinitis pigmentosa GTPase regulator-interacting protein-1 like) |
| FTO | Fat mass and obesity-associated protein |
| HNRNPA2B1 | Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein A2/B1, heterogenní jaderný ribonukleoprotein A2/B1 |
| HNRNPC | Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein C, heterogenní jaderný ribonukleoprotein C |
| CHTB | 4-chloro-6-(6'-chloro-7'-hydroxy-2',4',4'-trimethyl-chroman-2'-yl)benzene-1,3-diol |
| IGF-1 | Insulin-like growth factor 1, inzulínu podobný růstový faktor 1 |
| IOX3 | 2-(1-chloro-4-hydroxyisoquinolin-3-carboxamido) octová kyselina |
| Irx3 | Iroquois homeobox 3 |
| kb | Kilobáze |
| KIAA1429 | Human protein virilizer homolog |
| m¹A | N1-metyladenosin |
| m³C | 3-metylcytidin |

| | |
|-----------------------|--|
| m³T | 3-metyltymidin |
| m⁵C | 5-metylcytidin |
| m⁶A | N6-metyladenosin |
| MA | Kyselina meklofenamová |
| METTL14 | Methyltransferase-like protein 14 |
| METTL3 | Methyltransferase-like protein 3 |
| miRNA | Mikro RNA |
| mRNA | Messenger ribonukleová kyselina |
| mTORC1 | Mechanistic target of rapamycin complex 1 |
| MSA | Multiple sequence alignment, sekvenčně srovnávací analýza |
| MSC | Multi-tRNA synthetase complex |
| nc. | Nucleus, jádro |
| NTD | N terminal domain; N koncová doména |
| pre-mRNA | Primární transkript mRNA |
| RNA | Ribonukleová kyselina |
| RPGRIP1L | Retinitis pigmentosa GTPase regulator-interacting protein-1 like |
| SNP | Single nucleotide polymorphism; jednonukleotidový polymorfismus |
| ssDNA | Jednořetězcová deoxyribonukleová kyselina |
| Stat3 | Signal transducer and activator of transcription 3 |
| Ucp1 | Uncoupling protein 1, rozpřahující protein 1 |
| UTR | Untranslated region; nepřekládané oblasti |
| WHO | World health organisation, světová zdravotnická organizace |
| WTAP | Wilms tumour 1-associated protein |
| XPO2 | Exportin 2 |
| YTHDC1 | YTH doménu obsahující protein 1 |
| YTHDF1 | YTH domain family protein 1 |
| YTHDF2 | YTH domain family protein 2 |

Literatura

Primární literatura

- Alarcón, C. R., H. Goodarzi, H. Lee, X. Liu, S. Tavazoie, and S. F. Tavazoie. 2015. “HNRNPA2B1 Is a Mediator of m6A-Dependent Nuclear RNA Processing Events.” *Cell* 162 (6): 1299–1308. doi:10.1016/j.cell.2015.08.011.
- Aronica, E., K. Fluiter, A. Iyer, E. Zurolo, J. Vreijling, E. A. van Vliet, J. C. Baayen, and J. A. Gorter. 2010. “Expression Pattern of miR-146a, an Inflammation-Associated microRNA, in Experimental and Human Temporal Lobe Epilepsy.” *The European Journal of Neuroscience* 31 (6): 1100–1107. doi:10.1111/j.1460-9568.2010.07122.x.
- Badyaev, A. V., and K. P. Oh. 2008. “Environmental Induction and Phenotypic Retention of Adaptive Maternal Effects.” *BMC Evolutionary Biology* 8 (1): 3. doi:10.1186/1471-2148-8-3.
- Becker-Follmann, J., A. Gaa, E. Baüscher, E. Natt, G. Scherer, and O. von Deimling. 1997. “High-Resolution Mapping of a Linkage Group on Mouse Chromosome 8 Conserved on Human Chromosome 16Q.” *Mammalian Genome: Official Journal of the International Mammalian Genome Society* 8 (3): 172–177. doi:10.1007/s003359900384
- Benedict, C., J. A. Jacobsson, E. Rönnekaa, M. Sällman-Almén, S. Brooks, B. Schultes, R. Fredriksson, *et al.* 2011. “The Fat Mass and Obesity Gene Is Linked to Reduced Verbal Fluency in Overweight and Obese Elderly Men.” *Neurobiology of Aging* 32 (6): 1159.e1-1159.e5. doi:10.1016/j.neurobiolaging.2011.02.006.
- Boissel, S., O. Reish, K. Proulx, H. Kawagoe-Takaki, B. Sedgwick, G. S. H. Yeo, D. Meyre, *et al.* 2009. “Loss-of-Function Mutation in the Dioxygenase-Encoding FTO Gene Causes Severe Growth Retardation and Multiple Malformations.” *American Journal of Human Genetics* 85 (1): 106–111. doi:10.1016/j.ajhg.2009.06.002.
- Brunn, G. J., C. C. Hudson, A. Sekulić, J. M. Williams, H. Hosoi, P. J. Houghton, J. C. Lawrence, and R. T. Abraham. 1997. “Phosphorylation of the Translational Repressor PHAS-I by the Mammalian Target of Rapamycin.” *Science (New York, N.Y.)* 277 (5322): 99–101. doi:10.1126/science.277.5322.99
- Burdge, G. C., S. P. Hoile, T. Uller, N. A. Thomas, P. D. Gluckman, M. A. Hanson, and K. A. Lillycrop. 2011. “Progressive, Transgenerational Changes in Offspring Phenotype and Epigenotype Following Nutritional Transition.” *PLoS ONE* 6 (11). doi:10.1371/journal.pone.0028282.
- Carlile, T. M., M. F. Rojas-Duran, B. Zinshteyn, H. Shin, K. M. Bartoli, and W. V. Gilbert. 2014. “Pseudouridine Profiling Reveals Regulated mRNA Pseudouridylation in Yeast and Human Cells.” *Nature* 515 (7525): 143–146. doi:10.1038/nature13802.

- Cecil, J. E., R. Tavendale, P. Watt, M. M. Hetherington, and C. N. A. Palmer. 2008. "An Obesity-Associated FTO Gene Variant and Increased Energy Intake in Children." *The New England Journal of Medicine* 359 (24): 2558–2566. doi:10.1056/NEJMoa0803839.
- Chen, B., F. Ye, L. Yu, G. Jia, X. Huang, X. Zhang, S. Peng, *et al.* 2012. "Development of Cell-Active N6-Methyladenosine RNA Demethylase FTO Inhibitor." *Journal of the American Chemical Society* 134 (43): 17963–17971. doi:10.1021/ja3064149.
- Cheung, M. K., P. Gulati, S. O’Rahilly, and G. S. H. Yeo. 2013. "FTO Expression Is Regulated by Availability of Essential Amino Acids." *International Journal of Obesity* 37 (5): 744–747. doi:10.1038/ijo.2012.77.
- Chow, J. C., L. L. Hall, S. E. L. Baldry, N. P. Thorogood, J. B. Lawrence, C. J. Brown. 2007. "Inducible XIST-Dependent X-Chromosome Inactivation in Human Somatic Cells Is Reversible." *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 104 (24): 10104-10109. doi:10.1073/pnas.0610946104.
- Chowdhury, R., J. I. Candela-Lena, M. C. Chan, D. J. Greenald, K. K. Yeoh, Y. Tian, M. A. McDonough, *et al.* 2013. "Selective Small Molecule Probes for the Hypoxia Inducible Factor (HIF) Prolyl Hydroxylases." *ACS Chemical Biology* 8 (7): 1488–96. doi:10.1021/cb400088q.
- Church, C., L. Moir, F. McMurray, C. Girard, G. T. Banks, L. Teboul, S. Wells, *et al.* 2010. "Overexpression of Fto Leads to Increased Food Intake and Results in Obesity." *Nature Genetics* 42 (12): 1086–1092. doi:10.1038/ng.713.
- Dina, C., D. Meyre, S. Gallina, E. Durand, A. Körner, P. Jacobson, L. M. S. Carlsson, *et al.* 2007. "Variation in FTO Contributes to Childhood Obesity and Severe Adult Obesity." *Nature Genetics* 39 (6): 724–726. doi:10.1038/ng2048.
- Dominissini, D., S. Moshitch-Moshkovitz, S. Schwartz, M. Salmon-Divon, L. Unga, S. Osenberg, K. Cesarkas, *et al.* 2012. "Topology of the Human and Mouse m6A RNA Methylomes Revealed by m6A-Seq." *Nature* 485 (7397): 201–206. doi:10.1038/nature11112.
- Dominissini, D., S. Nachtergaele, S. Moshitch-Moshkovitz, E. Peer, N. Kol, M. S. Ben-Haim, Q. Dai, *et al.* 2016. "The Dynamic N1-Methyladenosine Methylome in Eukaryotic Messenger RNA." *Nature* 530 (7591): 441–446. doi:10.1038/nature16998.
- Doney, A. S. F., J. Dannfald, C. H. Kimber, L. A. Donnelly, E. Pearson, A. D. Morris, and C. N. A. Palmer. 2009. "The FTO Gene Is Associated with an Atherogenic Lipid Profile and Myocardial Infarction in Patients with Type 2 Diabetes: A Go-DARTS Study." *Circulation. Cardiovascular Genetics* 2 (3): 255–259. doi:10.1161/CIRCGENETICS.108.822320.
- Fang, H., Y. Li, S. Du, X. Hu, Q. Zhang, A. Liu, and G. Ma. 2010. "Variant rs9939609 in the FTO Gene Is Associated with Body Mass Index among Chinese Children." *BMC Medical Genetics* 11 (9): 136. doi:10.1186/1471-2350-11-136.

- Fingar, D. C., C. J. Richardson, A. R. Tee, L. Cheatham, C. Tsou, and J. Blenis. 2004. "mTOR Controls Cell Cycle Progression through Its Cell Growth Effectors S6K1 and 4E-BP1/Eukaryotic Translation Initiation Factor 4E." *Molecular and Cellular Biology* 24 (1): 200–216. doi:10.1128/MCB.24.1.200-216.2004.
- Fischer, J., L. Koch, C. Emmerling, J. Vierkotten, T. Peters, J. C. Brüning, and U. Rütter. 2009. "Inactivation of the Fto Gene Protects from Obesity." *Nature* 458 (7240): 894–898. doi:10.1038/nature07848.
- Frayling, T. M., N. J. Timpson, M. N. Weedon, E. Zeggini, R. M. Freathy, C. M. Lindgren, J. R. B. Perry, *et al.* 2007. "A Common Variant in the FTO Gene Is Associated with Body Mass Index and Predisposes to Childhood and Adult Obesity." *Science (New York, N.Y.)* 316 (5826): 889–894. doi:10.1126/science.1141634.
- Gao, X., Y. Shin, M. Li, F. Wang, Q. Tong, and P. Zhang. 2010. "The Fat Mass and Obesity Associated Gene FTO Functions in the Brain to Regulate Postnatal Growth in Mice." *PLoS ONE* 5 (11). doi:10.1371/journal.pone.0014005.
- Gerken, T., C. A. Girard, Y. L. Tung, C. J. Webby, V. Saudek, K. S. Hewitson, G. S. H. Yeo, *et al.* 2007. "The Obesity-Associated FTO Gene Encodes a 2-Oxoglutarate-Dependent Nucleic Acid Demethylase." *Science (New York, N.Y.)* 318 (5855): 1469–1472. doi:10.1126/science.1151710.
- Gulati, P., M. K. Cheung, R. Antrobus, C. D. Church, H. P. Harding, Y. L. Tung, D. Rimmington, *et al.* 2013. "Role for the Obesity-Related FTO Gene in the Cellular Sensing of Amino Acids." *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 110 (7): 2557–2562. doi:10.1073/pnas.1222796110.
- Gulati, P., E. Avezov, M. Ma, R. Antrobus, P. Lehner, S. O’Rahilly, and G. S. H. Yeo. 2014. "Fat Mass and Obesity-Related (FTO) Shuttles between the Nucleus and Cytoplasm." *Bioscience Reports* 34 (5). 621-628. doi:10.1042/BSR20140111.
- Han, Z., T. Niu, J. Chang, X. Lei, M. Zhao, Q. Wang, W. Cheng, *et al.* 2010. "Crystal Structure of the FTO Protein Reveals Basis for Its Substrate Specificity." *Nature* 464 (7292): 1205–1209. doi:10.1038/nature08921.
- Hess, M. E., S. Hess, K. D. Meyer, L. A. W. Verhagen, I. Koch, H. S. Brönneke, M. O. Dietrich, *et al.* 2013. "The Fat Mass and Obesity Associated Gene (Fto) Regulates Activity of the Dopaminergic Midbrain Circuitry." *Nature Neuroscience* 16 (8): 1042-1048. doi:10.1038/nn.3449
- Ho, A. J., J. L. Stein, X. Hua, S. Lee, D. P. Hibar, A. D. Leow, I. D. Dinov, *et al.* 2010. "A Commonly Carried Allele of the Obesity-Related FTO Gene Is Associated with Reduced Brain Volume in the Healthy Elderly." *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 107 (18): 8404–8409. doi:10.1073/pnas.0910878107.
- Huang, Y., J. Yan, Q. Li, J. Li, S. Gong, H. Zhou, J. Gan, *et al.* 2015. "Meclofenamic Acid Selectively Inhibits FTO Demethylation of m6A over ALKBH5." *Nucleic Acids Research* 43 (1): 373–384. doi:10.1093/nar/gku1276.

- Jia, G., C. Yang, S. Yang, X. Jian, C. Yi, Z. Zhou, and C. He. 2008. "Oxidative Demethylation of 3-Methylthymine and 3-Methyluracil in Single-Stranded DNA and RNA by Mouse and Human FTO." *FEBS Letters* 582 (23–24): 3313–3319. doi:10.1016/j.febslet.2008.08.019.
- Jia, G., Y. Fu, X. Zhao, Q. Dai, G. Zheng, Y. Yang, C. Yi, *et al.* 2011. "N6-Methyladenosine in Nuclear RNA Is a Major Substrate of the Obesity-Associated FTO." *Nature Chemical Biology* 7 (12): 885–887. doi:10.1038/nchembio.687.
- Karra, E., O. G. O'Daly, A. I. Choudhury, A. Yousseif, S. Millership, M. T. Neary, W. R. Scott, *et al.* 2013. "A Link between FTO, Ghrelin, and Impaired Brain Food-Cue Responsivity." *The Journal of Clinical Investigation* 123 (8): 3539–3551. doi:10.1172/JCI44403.
- Keller, L., W. Xu, H. Wang, B. Winblad, L. Fratiglioni, and C. Graff. 2011. "The Obesity Related Gene, FTO, Interacts with APOE, and Is Associated with Alzheimer's Disease Risk: A Prospective Cohort Study." *Journal of Alzheimer's Disease: JAD* 23 (3): 461–469. doi:10.3233/JAD-2010-101068.
- Lillicrop, K. A., E. S. Phillips, C. Torrens, M. A. Hanson, A. A. Jackson, and G. C. Burdge. 2008. "Feeding Pregnant Rats a Protein-restricted Diet Persistently Alters the Methylation of Specific Cytosines in the Hepatic PPAR α Promoter of the Offspring." *The British journal of nutrition* 100 (2): 278–282. doi:10.1017/S0007114507894438
- Liu, J., Y. Yue, D. Han, X. Wang, Y. Fu, L. Zhang, G. Jia, *et al.* 2014. "A METTL3-METTL14 Complex Mediates Mammalian Nuclear RNA N6-Adenosine Methylation." *Nature Chemical Biology* 10 (2): 93–95. doi:10.1038/nchembio.1432.
- Liu, N., Q. Dai, G. Zheng, C. He, M. Parisien, and T. Pan. 2015. "N6-Methyladenosine-Dependent RNA Structural Switches Regulate RNA-Protein Interactions." *Nature* 518 (7540): 560–564. doi:10.1038/nature14234.
- McMurray, F., C. D. Church, R. Larder, G. Nicholson, S. Wells, L. Teboul, Y. C. L. Tung, *et al.* 2013. "Adult Onset Global Loss of the Fto Gene Alters Body Composition and Metabolism in the Mouse." *PLoS Genetics* 9 (1). doi:10.1371/journal.pgen.1003166.
- McMurray, F., M. Demetriades, W. Aik, M. Merkestein, H. Kramer, D. S. Andrew, C. L. Scudamore, *et al.* 2015. "Pharmacological Inhibition of FTO." *PLoS ONE* 10 (4). doi:10.1371/journal.pone.0121829.
- Merkestein, M., J. S. McTaggart, S. Lee, H. B. Kramer, F. McMurray, M. Lafond, L. Boutens, *et al.* 2014. "Changes in Gene Expression Associated with FTO Overexpression in Mice." *PLoS ONE* 9 (5). doi:10.1371/journal.pone.0097162.
- Meyer, K. D., Y. Saletore, P. Zumbo, O. Elemento, C. E. Mason, and S. R. Jaffrey. 2012. "Comprehensive Analysis of mRNA Methylation Reveals Enrichment in 3' UTRs and Near Stop Codons." *Cell* 149 (7): 1635–1646. doi:10.1016/j.cell.2012.05.003.

- Perello, M., I. Sakata, S. Birnbaum, J. Chuang, S. Osborne-Lawrence, S. A. Rovinsky, J. Woloszyn, *et al.* 2010. "Ghrelin Increases the Rewarding Value of High Fat Diet in an Orexin-Dependent Manner." *Biological Psychiatry* 67 (9): 880–886. doi:10.1016/j.biopsych.2009.10.030.
- Peters, T., K. Ausmeier, and U. Rütger. 1999. "Cloning of Fatso (Fto), a Novel Gene Deleted by the Fused Toes (Ft) Mouse Mutation." *Mammalian Genome: Official Journal of the International Mammalian Genome Society* 10 (10): 983–986. doi:10.1007/s003359901144
- Pichardo-Casas, I., L. A. Goff, M. R. Swerdel, A. Athie, J. Davila, M. Ramos-Brossier, M. Lapid-Volosin, *et al.* 2012. "Expression Profiling of Synaptic microRNAs from the Adult Rat Brain Identifies Regional Differences and Seizure-Induced Dynamic Modulation." *Brain Research* 1436 (2): 20–33. doi:10.1016/j.brainres.2011.12.001.
- Ping, X., B. Sun, L. Wang, W. Xiao, X. Yang, W. Wang, S. Adhikari, *et al.* 2014. "Mammalian WTAP Is a Regulatory Subunit of the RNA N6-Methyladenosine Methyltransferase." *Cell Research* 24 (2): 177–189. doi:10.1038/cr.2014.3.
- Poritsanos, N. J., P. S. Lew, J. Fischer, C. V. Mobbs, J. I. Nagy, D. Wong, U. Rütger, and T. M. Mizuno. 2011. "Impaired Hypothalamic Fto Expression in Response to Fasting and Glucose in Obese Mice." *Nutrition & Diabetes* 1 (10): e19. doi:10.1038/nutd.2011.15.
- Qiao, Y., B. Zhou, M. Zhang, W. Liu, Z. Han, C. Song, W. Yu, *et al.* 2016. "A Novel Inhibitor of the Obesity-Related Protein FTO." *Biochemistry* 55 (10): 1516–1522. doi:10.1021/acs.biochem.6b00023.
- Rolland-Cachera, M. F., M. Deheeger, F. Bellisle, M. Sempé, M. Guillaud-Bataille, E. Patois. 1984. "Adiposity Rebound in Children: a Simple Indicator for Predicting Obesity." *The American Journal of Clinical Nutrition* 39 (1): 129-135.
- Rowles, J., M. Wong, R. Powers, M. Olsen. 2012. "FTO, RNA Epigenetics and Epilepsy" *Epigenetics* 7 (10): 1094-1097. doi:10.4161/epi.21977
- Sanchez-Pulido, L., and M. A. Andrade-Navarro. 2007. "The FTO (Fat Mass and Obesity Associated) Gene Codes for a Novel Member of the Non-Heme Dioxygenase Superfamily." *BMC Biochemistry* 8 (11): 23. doi:10.1186/1471-2091-8-23.
- Schwartz, S., M. R. Mumbach, M. Jovanovic, T. Wang, K. Maciag, G. G. Bushkin, P. Mertins, *et al.* 2014. "Perturbation of m6A Writers Reveals Two Distinct Classes of mRNA Methylation at Internal and 5' Sites." *Cell Reports* 8 (1): 284–296. doi:10.1016/j.celrep.2014.05.048.
- Scuteri, A., S. Sanna, W. Chen, M. Uda, G. Albai, J. Strait, S. Najjar, *et al.* 2007. "Genome-Wide Association Scan Shows Genetic Variants in the FTO Gene Are Associated with Obesity-Related Traits." *PLoS Genetics* 3 (7). doi:10.1371/journal.pgen.0030115.
- Smemo, S., J. J. Tena, K. Kim, E. R. Gamazon, N. J. Sakabe, C. Gómez-Marín, I. Aneas, *et al.* 2014. "Obesity-Associated Variants within FTO Form Long-Range Functional Connections with IRX3." *Nature* 507 (7492): 371–375. doi:10.1038/nature13138.

- Sovio, U., D. O. Mook-Kanamori, N. M. Warrington, R. Lawrence, L. Briollais, C. N. A. Palmer, J. Cecil, *et al.* 2011. "Association between Common Variation at the FTO Locus and Changes in Body Mass Index from Infancy to Late Childhood: The Complex Nature of Genetic Association through Growth and Development." *PLoS Genetics* 7 (2). doi:10.1371/journal.pgen.1001307.
- Speakman, J. R., K. A. Rance, and A. M. Johnstone. 2008. "Polymorphisms of the FTO Gene Are Associated with Variation in Energy Intake, but Not Energy Expenditure." *Obesity (Silver Spring, Md.)* 16 (8): 1961–1965. doi:10.1038/oby.2008.318.
- Squires, J. E., Hardip R. P., M. Nusch, T. Sibbritt, D. T. Humphreys, B. J. Parker, C. M. Suter, and T. Preiss. 2012. "Widespread Occurrence of 5-Methylcytosine in Human Coding and Non-Coding RNA." *Nucleic Acids Research* 40 (11): 5023–5033. doi:10.1093/nar/gks144.
- Stratigopoulos, G., S. Padilla, C. A. LeDuc, E. Watson, A. T. Hattersley, M. I. McCarthy, L. M. Zeltser, *et al.* 2008. "Regulation of Fto/Ftm Gene Expression in Mice and Humans." *American Journal of Physiology. Regulatory, Integrative and Comparative Physiology* 294 (4): 1185–1196. doi:10.1152/ajpregu.00839.2007.
- Stratigopoulos, G., L. C. Burnett, R. Rausch, R. Gill, D. B. Penn, A. A. Skowronski, C. A. LeDuc, *et al.* 2016. "Hypomorphism of Fto and Rpgrip11 Causes Obesity in Mice." *The Journal of Clinical Investigation* 126 (5): 1897–1910. doi:10.1172/JCI85526.
- Takahashi, K., K. Tanabe, M. Ohnuki, M. Narita, T. Ichisaka, K. Tomoda, and S. Yamanaka. 2007. "Induction of Pluripotent Stem Cells from Adult Human Fibroblasts by Defined Factors." *Cell* 131 (5): 861–872. doi:10.1016/j.cell.2007.11.019.
- Tanofsky-Kraff, M., J. C. Han, K. Anandalingam, L. B. Shomaker, K. M. Columbo, L. E. Wolkoff, M. Kozlosky, *et al.* 2009. "The FTO Gene rs9939609 Obesity-Risk Allele and Loss of Control Over Eating." *The American Journal of Clinical Nutrition* 90 (6): 1483–1488. doi:10.3945/ajcn.2009.28439.
- Timpson, N. J., P. M. Emmett, T. M. Frayling, I. Rogers, A. T. Hattersley, M. I. McCarthy, and G. D. Smith. 2008. "The FTO/Obesity Associated Locus and Dietary Intake in Children." *The American Journal of Clinical Nutrition* 88 (4): 971–978.
- Tuck, M. T., P. E. Wiehl, and T. Pan. 1999. "Inhibition of 6-Methyladenine Formation Decreases the Translation Efficiency of Dihydrofolate Reductase Transcripts." *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology* 31 (8): 837–851. doi:10.1016/S1357-2725(99)00041-2.
- Tung, Y. L., E. Ayuso, X. Shan, F. Bosch, S. O'Rahilly, A. P. Coll, G. S. H. Yeo. 2010. "Hypothalamic-specific manipulation of Fto, the ortholog of the human obesity gene FTO, affects food intake in rats." *PLoS ONE* 5 (1): e8771. doi:10.1371/journal.pone.0008771
- Vimalaswaran, K. S., S. Li, J. H. Zhao, J. Luan, S. A. Bingham, K. Khaw, U. Ekelund, *et al.* 2009. "Physical Activity Attenuates the Body Mass Index-Increasing Influence of Genetic Variation in the FTO Gene." *The American Journal of Clinical Nutrition* 90 (2): 425–428. doi:10.3945/ajcn.2009.27652.

- Wåhlén, K., E. Sjölin, and J. Hoffstedt. 2008. “The Common rs9939609 Gene Variant of the Fat Mass- and Obesity-Associated Gene FTO Is Related to Fat Cell Lipolysis.” *Journal of Lipid Research* 49 (3): 607–611. doi:10.1194/jlr.M700448-JLR200.
- Wang, X., B. S. Zhao, I. A. Roundtree, Z. Lu, D. Han, H. Ma, X. Weng, *et al.* 2015. “N6-Methyladenosine Modulates Messenger RNA Translation Efficiency.” *Cell* 161 (6): 1388–1399. doi:10.1016/j.cell.2015.05.014.
- Xiao, W., S. Adhikari, U. Dahal, Y. Chen, Y. Hao, B. Sun, H. Sun, *et al.* 2016. “Nuclear m(6)A Reader YTHDC1 Regulates mRNA Splicing.” *Molecular Cell* 61 (4): 507–519. doi:10.1016/j.molcel.2016.01.012.
- Xu, C., K. Liu, H. Ahmed, P. Loppnau, M. Schapira, and J. Min. 2015. “Structural Basis for the Discriminative Recognition of N6-Methyladenosine RNA by the Human YT521-B Homology Domain Family of Proteins.” *The Journal of Biological Chemistry* 290 (41): 24902–24913. doi:10.1074/jbc.M115.680389.
- Zhang, M., Y. Zhang, J. Ma, F. Guo, Q. Cao, Y. Zhang, B. Zhou, *et al.* 2015. “The Demethylase Activity of FTO (Fat Mass and Obesity Associated Protein) Is Required for Preadipocyte Differentiation.” *PLoS ONE* 10 (7). doi:10.1371/journal.pone.0133788.
- Zheng, G., J. A. Dahl, Y. Niu, P. Fedorcsak, C. Huang, C. J. Li, C. B. Vågbø, *et al.* 2013. “ALKBH5 Is a Mammalian RNA Demethylase That Impacts RNA Metabolism and Mouse Fertility.” *Molecular Cell* 49 (1): 18–29. doi:10.1016/j.molcel.2012.10.015.
- Zheng, G., T. Cox, L. Tribbey, G. Z. Wang, P. Jacoban, M. E. Booher, G. J. Gabriel, *et al.* 2014. “Synthesis of a FTO Inhibitor with Anticonvulsant Activity.” *ACS Chemical Neuroscience* 5 (8): 658–665. doi:10.1021/cn500042t.

Sekundární literatura

- Lutter M., E. J. Nestler. 2009. “Homeostatic and Hedonic Signals Interact in the Regulation of Food Intake.” *The journal of nutrition* 139 (3): 629–632. doi:10.3945/jn.108.097618

Elektronické zdroje

- Obesity and overweight. WHO | Obesity and overweight [online]. WHO, 2016 [cit. 2017-05-01]. Dostupné z: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs311/en/>