

Hormon stradanja fibroblastni rastni dejavnik 21 - novo zdravilo za debelost in metabolni sindrom?

Fasting hormone fibroblast growth factor 21 - new therapy for obesity and metabolic syndrome?

Klementina Fon Tacer

Povzetek: Naraščajoče pojavljanje debelosti in posledičnih metabolnih motenj zbuja zaskrbljenost in dobesedno kliče po razvoju učinkovitejših in varnejših terapevtskih strategij. Dosedanja priporočila za zdravljenje metabolnega sindroma obravnavajo posamezna bolezenska stanja. Tako so fibrati zdravilo izbora za zdravljenje hiperlipidemij kot glavnega predispozicijskega dejavnika metabolnega sindroma. Fibrati se vežejo na jedrni receptor, aktiviran s proliferatorjem peroksisomov alfa (PPAR α), ki sproži izražanje genov, vključenih v razgradnjo maščob in sintezo ketonskih teles. Večina učinkov PPAR α posreduje nedavno odkriti hormon stradanja fibroblastni rastni dejavnik FGF21. Študije na glodalcih in primatih so pokazale, da FGF21 sproži številne pozitivne presnovne spremembe brez očitnih neželenih učinkov. FGF21 je tako zanimiv kandidat za razvoj novih zdravil za zdravljenje debelosti, kardiovaskularnih obolenj in sladkorne bolezni.

Ključne besede: *metabolni sindrom, sladkorna bolezen tipa 2, fibrati, PPAR α , stradanje*

Abstract: Increasing prevalence of metabolic diseases is alarming and highlights the need for more effective and safer therapies. Current recommendations for therapy for metabolic syndrome focus on corrections of the individual components. Fibrates are used to treat hyperlipidemia as a predisposing factor to metabolic syndrome and cardiovascular disease. Fibrates mediate their therapeutic effects through the peroxisome proliferator-activated receptor alpha (PPAR α). PPAR α acts as a transcriptional activator of genes involved in lipolysis and ketone body synthesis. The majority of PPAR α effects are mediated by recently discovered starvation hormone - fibroblast growth factor FGF21. Recent evidence from several animal studies indicates that FGF21 induces numerous beneficial metabolic changes without apparent adverse effects. These results suggest that FGF21 could be a novel and attractive drug candidate for the treatment of cardiovascular disease, obesity, and type 2 diabetes.

Keywords: *metabolic syndrome, type 2 diabetes, fibrates, PPAR α , starvation*

1 Debelost in metabolni sindrom

Debelost predstavlja velik zdravstveni, socialni in gospodarski problem v vseh državah Evropske Unije. Evropa stopa po sledih ZDA, kjer je debelost povzročila pravo epidemijo sladkorne bolezni tipa 2. Po podatkih Mednarodne zdravstvene organizacije (WHO) je bilo leta 2005 na svetu 1,6 milijarde odraslih s prekomerno telesno težo in več kot 400 milijonov predebelih (<http://www.who.int/topics/obesity/en>). Po podatkih Inštituta za varovanje zdravja (<http://www.ivz.si>) prekomerna telesna teža in debelost naraščata tudi v Sloveniji. V letu 2007 je bilo v Sloveniji 55 % prebivalcev, starih 15 let in več, prekomerno težkih ali debelih (<http://www.ivz.si>).

Debelost je predvsem problem moderne družbe in posledica močno spremenjenega načina življenja. Osnovni vzrok debelosti je zelo

preprost, nesorazmerje med zaužitimi in porabljenimi kalorijami, do katerega pride zaradi preobilne prehrane in premajhne fizične aktivnosti. Že pred petdesetimi leti je Neel (1) predstavil hipotezo »varčnega gena oz. genotipa«, s katero je poskušal razložiti razširjenost debelosti v moderni družbi. V naši zgodnji evolucijski zgodovini so geni, ki so pospeševali shranjevanje maščob v obdobju, ko je bilo hrane v izobilju, omogočali preživetje med obdobji stradanja. V moderni družbi, ko je hrana vedno na voljo, so prav ti geni škodljivi, ker spodbujajo nalaganje maščob in nastanek debelosti. Posledica debelosti so resne zdravstvene težave, ki jih skupno imenujemo metabolni sindrom. Sindrom združuje več bolezenskih stanj, sladkorna bolezen tipa 2, moteno toleranco za glukozo, arterijsko hipertenzijo, dislipidemije, trebušno debelost, srčno-žilna obolenja in neodzivnost na inzulin.

2 Homeostaza energije

Organizem neprestano kroži med stanjema obilja hranilnih snovi in njihovega pomanjkanja. Konstantno koncentracijo hranilnih snovi v telesu zagotavlja s prefinjenim uravnavanjem številnih metaboličnih poti. Še posebej natančno je kontrolirana količina glukoze v krvnem obtoku, ki se giblje v zelo ozkih fizioloških mejah (4-6 mM). Glavni cilj vseh homeostatskih mehanizmov je obdržati dovolj visoko raven glukoze za oskrbo možganov in hkrati ohraniti energetske zaloge za ostala tkiva. Odločilno vlogo pri uravnavanju homeostaze energije imata hormona inzulin, kot hormon hranjenja, in glukagon, kot hormon stradanja, ki ju izločajo celice endokrinega dela trebušne slinavke (2).

Jetra predstavljajo centralni organ pri uravnavanju ravnovesja energetskih snovi v organizmu. Po hranjenju, ko je hranilnih snovi dovolj, jetra shranjujejo energijo v obliki glikogena in tvorijo maščobne kisline, ki se z lipoproteinskimi delci prenesejo v belo maščevje, kjer se skladiščijo v obliki trigliceridov. Med stradanjem se v jetrih sproži sinteza glukoze in ketonskih teles. Potrebno energijo pa zagotavlja razgradnja maščobnih kislin, ki po krvnem obtoku pridejo iz belega maščevja (2).

Vse živali potrebujejo energijo, ki jo pridobijo s hrano, za ohranjanje svojega bazalnega metabolizma, fizično aktivnost, rast in razmnoževanje. Na pomanjkanja hrane so se sesalci prilagodili z različnimi vedenjskimi, fiziološkimi in strukturnimi vzorci, s katerimi želijo znižati porabo energije. Tako znižajo svoj bazalni metabolizem in spontano aktivnost ter se prenehajo razmnoževati. Eden izmed ključnih mehanizmov prilagoditve na stradanje pa je uporaba alternativnega vira energije. Stradanje povzroči metabolični preklap, glavni energetski vir ne predstavljajo več ogljikovi hidrati pač pa maščobe in ketonska telesa. Pri nekaterih pticah in sesalcih stradanje izzove tudi znižanje telesne temperature in prehod v stanje torporja in hibernacije (3).

Jetra preklapljajo med dvema metaboličnima ekstremoma z različnimi regulatornimi mehanizmi (2). Klasična alosterična kontrola aktivnosti encimov in njihove potranslacijske modifikacije predstavljajo hiter odgovor na spremembe. Uravnavanje prepisovanja genov, ki nosijo zapis za ključne encime metaboličnih poti, pa je dolgoročnejša prilagoditev in zahteva prenos signala s površine celice v celično jedro, kje se aktivira prepisovanje tarčnih genov.

3 Receptor, aktiviran s proliferatorjem peroksisomov alfa (PPAR α), in fibrati

Jetra uravnavajo metabolizem lipidov na ravni njihovega sprejemanja iz krvnega obtoka, sinteze, pretvorbe v druga goriva, oksidacije in sproščanja nazaj v krvni obtok. Jedrni receptorji so transkripcijski dejavniki, ki delujejo kot znotrajcelični receptorji lipofilnih molekul, kot so steroidni hormoni in dietetne maščobe. Po vezavi liganda se receptorji aktivirajo in sprožijo prepisovanje tarčnih genov. Jedrni receptorji, ki delujejo kot heterodimeri z receptorjem 9-cis retinojske kisline (RXR, *angl. retinoic X receptor*), so osrednji senzorji maščob v organizmu in kot metabolična stikala uravnavajo njihovo ravnovesje (4).

PPAR α (*angl. peroxisome proliferator activated receptor*) je postal zanimiv v farmacevtski industriji, ko se je izkazalo, da so takrat že

uvpeljavljena zdravila za zdravljenje hiperlipidemij, fibrati, pravzaprav njegovi ligandi (5). Fibrati delujejo tako, da se vežejo na PPAR α , ga aktivirajo in sprožijo izražanje genov, vključenih v razgradnjo maščob. Fibrati (pri nas sta na trgu fenofibrat in gemfibrozil) so zdravila izbora za zdravljenje povečane količine trigliceridov v krvi in alternativa pri zdravljenju s statini (5).

PPAR α je izražen v tkivih z visoko sposobnostjo presnove maščob, kot so jetra, ledvica in srce. Veže se na DNA kot heterodimer z RXR in uravnava izražanje genov, vpletenih v metabolizem maščobnih kislin in holesterola (6). Pri glodalcih aktivacija PPAR α sproži tudi razmnoževanje peroksisomov (od tod tudi njihovo ime) in povečanje jeter, česar pa ni zaznati pri ljudeh (7). Miši z izničnim genom PPAR α imajo moteno oksidacijo maščobnih kislin in spremenjeno razmerje lipoproteinov, zato se niso sposobne prilagoditi niti na stradanje niti na prehrano z veliko maščobami (8). PPAR α je namreč še posebno pomemben za prilagoditev organizma na stradanje. Med stradanjem je presnova maščob v jetrih programirana tako, da se maščobne kisline oksidirajo in zagotavljajo energijo za sintezo ketonskih teles in glukoze. Maščobne kisline, ki se ob pomanjkanju hranilnih snovi sprostijo iz maščobnih zalog, predstavljajo fiziološki ligand PPAR α in ga aktivirajo. PPAR α sproži transport maščobnih kislin, njihovo razgradnjo in tvorbo ketonski teles (povzeto v 9).

4 Hormon stradanja - fibroblastni rastni dejavnik 21 - FGF21

Večino učinkov PPAR α posreduje fibroblastni rastni dejavnik 21 (FGF21) (10, 11). FGF21 je član družine fibroblastnih rastnih dejavnikov, ki primarno uravnavajo embrionalni razvoj in rast organov (12). Poddružina FGF19 je edinstvena med ostalimi fibroblastnimi rastnimi dejavniki. FGF15/19, 21 in 23 imajo zaradi manj ohranjenih strukturnih motivov nizko afiniteto za glikozaminoglikane, kar jim omogoča difuzijo z mesta nastanka in endokrino delovanje (13). Tako se FGF15/19 izloča v tankem črevesju kot odgovor na povečano koncentracijo žolčnih kislin med hranjenjem in v jetrih zavre njihovo sintezo (14). FGF23 se izloča iz kosti in v ledvicah uravnava metabolizem fosfatov in vitamina D (15). FGF21 pa je neobhodno potreben za prilagoditev organizma na stradanje (Slika 1) (10).

4.1 Fibroblastni rastni dejavnik 21 in stradanje

Dve skupini sta s komplementarni raziskavami pokazali, da je FGF21 (10) zadosten in nujen (11) za prilagoditev organizma na stradanje. Med stradanjem PPAR α v jetrih sproži izražanje FGF21 (10), ki se sprosti v krvni obtok in kot endokrini hormon sproži razgradnjo maščob v belem maščevju in sintezo ketonskih teles v jetrih. Poleg tega pa FGF21 povzroči zmanjšanje telesne aktivnosti ter sproži torpor, kratkotrajno stanje odrevenelosti, ki je podobno zimskemu spanju (Slika 1) (10).

Dolgotrajno obdobje stradanja zavre tudi telesno rast. Inagaki in sodelavci (16) so pokazali, da FGF21 povzroči odpornost proti rastnemu hormonu, zniža namreč količino aktivne oblike transkripcijskega dejavnika STAT5, znotrajceličnega prenašalca

signala ravnega hormona. Tako inhibira izražanje inzulina podobnega ravnega dejavnika (IGF-1), ki posreduje učinke ravnega hormona.

FGF21 pa se izraža tudi v belem maščevju, kjer ga uravnava drugi član receptorjev peroksisomskih proliferatorjev gama (PPAR γ). PPAR γ je tarča tiazolidindionov, zdravil za zdravljenje sladkorne bolezni, ki povečajo občutljivost na inzulin (17). Predpostavljajo, da del njihovih učinkov posreduje ravno FGF21.

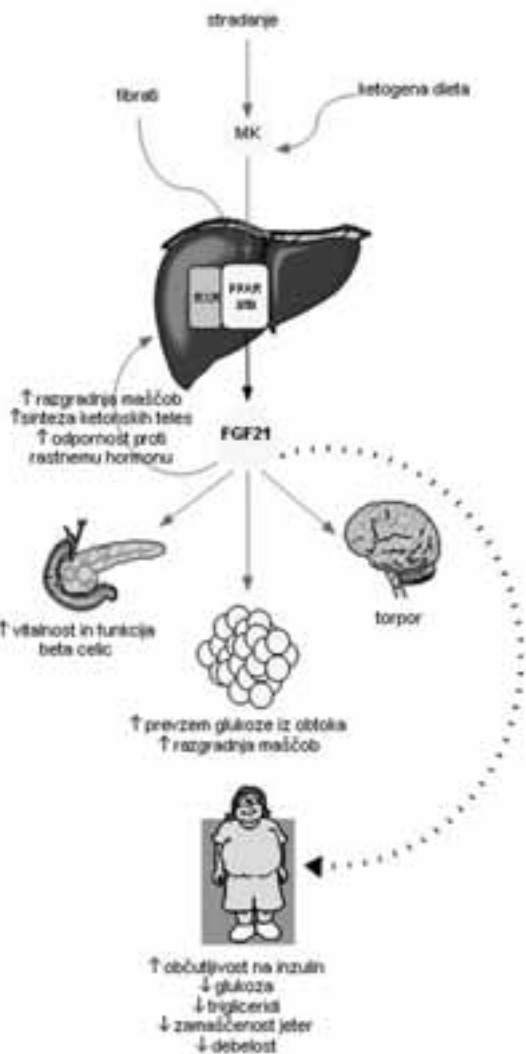
4.2 Fibroblastni rastni dejavnik 21 in ketogena dieta

Količina FGF21 pa ni povečana samo med stradanjem, pač pa tudi s prehrano z veliko maščobami in malo ogljikovimi hidrati (t.i. ketogena dieta ali Atkinsonova dieta). Ketogena dieta izzove stradanju podoben metabolni odziv (Slika 1). V sedemdesetih letih prejšnjega stoletja je dieto oblikoval ameriški zdravnik Robert Atkins in sprožil veliko zanimanja z novim pristopom k hujšanju brez odrekanja hrane.

Ketogena dieta v organizmu sproži procese oksidacije maščob, katerih posledica je izguba zalog maščobnega tkiva in hujšanje. Učinkovitost diete z malo ogljikovimi hidrati najverjetneje sloni tudi na hormonu stradanja FGF21, ki ima pomembno vlogo pri preklopu s porabe ogljikovih hidratov na porabo maščob, značilno tako za stradanje kot za ketogeno dieto. Z analizo transkriptoma miši, ki so bile na ketogeni dieti, so ugotovili, da je FGF21 eden izmed najbolj aktiviranih genov (11) in izražen podobno kot med stradanjem. Njegova aktivacija s ketogeno dieto pa je odvisna predvsem od PPAR α .

4.3 Terapevtski učinki fibroblastnega ravnega dejavnika 21

FGF21 se je pojavil v energetskem metabolizmu kot učinkoviti regulator ravnovesja glukoze in lipidov pri glodalcih (18). Najprej so odkrili njegove pozitivne metabolične učinke z visokozmogljivostno analizo (*angl. high throughput screening*) dejavnikov, ki pospešijo



Slika 1: Fiziološka vloga fibroblastnega ravnega dejavnika FGF21 in njegovi potencialni terapevtski učinki. Stradanje izzove razgradnjo trigliceridov in sproščanje maščobnih kislin iz zalog v belem maščevju. Maščobne kisline po krvi pridejo v jetra, kjer se vežejo na jedrni receptor, aktiviran s proliferatorjem peroksisomov alfa (PPAR α). Poleg stradanja, PPAR α aktivirajo tudi fibrati, zdravila za zdravljenje hiperlipidemij, in ketogena dieta. Po aktivaciji PPAR α v jetrih izzove izražanje endokrinega fibroblastnega ravnega dejavnika 21 (FGF21), ki omogoči organizmu prilagoditev na pomanjkanje/neravnovesje hranilnih snovi. Tako FGF21 v maščevju sproži razgradnjo maščob in sprejem glukoze v celice, v jetrih aktivira beta oksidacijo maščobnih kislin in sintezo ketonskih teles, v trebušni slinavki pa poveča vitalnost in aktivnost beta celic. FGF21 prav tako zavre rast in sproži prehod v stanje odrevenelosti (torpor). FGF21 ima tako potencialne terapevtske učinke pri pacientih z metaboličnim sindromom, ker poveča občutljivost na inzulin, izboljša krvne parametre in zmanjša debelost ter zamaščenost jeter.

Figure 1: Physiologic role and potential therapeutic effects of fibroblast growth factor 21. Starvation induces lipolysis in white adipose tissue and release of free fatty acids that bind and activate the peroxisome proliferator-activated receptor alpha (PPAR α) in the liver. In addition to starvation, PPAR α is also activated by hypelipidemic drugs fibrates and ketogenic diet. Upon activation, PPAR α activates the expression of endocrine fibroblast growth factor FGF21 in the liver that stimulates metabolic adaptation to the fasting state. FGF21 induces adipose tissue lipolysis and glucose uptake, liver beta oxidation and ketogenesis, preservation and survival of beta-cell in pancreas. Furthermore, FGF21 also inhibits growth and induces torpor. Therefore, FGF21 has several beneficial and potential therapeutic effects in patients with metabolic syndrome, specifically, FGF21 improves insulin sensitivity, corrects serum parameters, reverses obesity and fatty liver.

sprejem glukoze v mišje maščobne celice 3T3-L1 (18). Pri glodalcih in primatih zdravljenje s FGF21 zniža raven glukoze, popravi ravnovesje maščob v krvnem obtoku, izboljša občutljivost na inzulin in delovanje celic β trebušne slinavke (19, 20). FGF21 tako poveča občutljivost tkiv za inzulin in ima pozitiven vpliv na številne presnovne parametre. Kljub normalni prehrani miši s povečanim izražanjem FGF21 izgledajo, kot da stradajo (10).

Hkrati FGF21 nima negativnih posledic, kot so hipoglikemija, debelost in zadrževanje vode v organizmu, ki so pogosti spremljevalci trenutnih terapij metabolnih motenj (18, 21). Pri glodalcih povečano izražanje FGF21 ne povzroča novotvorb. Še več, upočasni potek sprožene kancerogeneze (22). FGF21 tako predstavlja idealnega kandidata za zdravljenje metabolnega sindroma.

Pri diabetičnih debelih miših iz izničnim genom za leptin (miši *ob/ob*) sistemsko zdravljenje s FGF21 povzroči izgubo telesne teže, zmanjšanje maščobnih zalog in zamaščenja jeter (21). FGF21 poveča porabo energije in izboljša odzivnost na inzulin (23). Miši s povečanim izražanjem FGF21 pa so odporne na dieto z veliko maščobami (18).

Vendar pa obstajajo med glodalci in sesalci vrstno specifične razlike. Mišji protein FGF21 spodbudi razgradnjo maščob v mišjih fibroblastih 3T3-L1 (14, 18), človeški protein pa nima enakega učinka na primarni kulturi človeških maščobnih celic (24). Pri ljudeh obstajajo tudi velike medosebne razlike v koncentraciji serumskega FGF21 (25). Poleg tega se koncentracija FGF21 poveča šele po daljšem stradanju (7 dni) ali večtedenski nizkokalorični prehrani (26).

Paradoksalno zveni tudi, da je koncentracija serumskega FGF21 povečana pri glodalcih in pacientih, ki so predebeli (26, 27), imajo sladkorno bolezen tipa 2 (26, 28) ali imajo povečano količino serumskih maščob (25). Vendar pa to nakazuje na razvoj odpornosti proti FGF21, podobno kot je pri metabolnih motnjah to primer za inzulin (29) in leptin (30). Vseeno pa FGF21 kaže številne pozitivne terapevtske učinke pri primatih s prekomerno telesno težo in sladkorno boleznijo (31).

5 Zaključek

Stradanje ima številne pozivne učinke na metabolizem, predvsem pa aktivira razgradnjo in porabo maščob (Slika 1). Glavni regulator metabolnega preskoka k uporabi maščob kot glavnega vira energije je jedrni receptor PPAR α , ki aktivira izražanje številnih genov, vključenih v razgradnjo maščob. PPAR α je tarča že uveljavljenih zdravil za zdravljenje hiperlipidemij, fibratov. Večina učinkov PPAR α posreduje fibroblastni rastni dejavnik FGF21, pred nedavnim odkriti hormon stradanja. FGF21 predstavlja odličnega kandidata za zdravljenje debelosti, sladkorne bolezni tipa 2 in ostalih metabolnih motenj, saj ima pri glodalcih in primatih številne terapevtske učinke na presnovo brez neželenih posledic, ki so problem aktualnih terapij. Klinični poskusi s FGF21 so že v teku in bodo ključni pri evalvaciji njegovih terapevtskih koristi pri pacientih.

6 Literatura

1. Nell, J. V. Diabetes mellitus: a "thrifty" genotype rendered detrimental by "progress"? *Am J Hum Genet* 1962; 14: 353-362.
2. Zimmerman, J. Textbook of Biochemistry: With Clinical Correlations (5th Ed.): Devlin, Thomas M. (ed.). Biochemistry and Molecular Biology Education 2002; 30: 274-290.
3. Wang, T., Hung, C. C., Randall, D. J. The comparative physiology of food deprivation: from feast to famine. *Annu Rev Physiol* 2006; 68: 223-251.
4. Kliewer, S. A., Lehmann, J. M., Willson, T. M. Orphan nuclear receptors: shifting endocrinology into reverse. *Science* 1999; 284: 757-760.
5. Remick, J., Weintraub, H., Setton, R., Offenbacher, J., Fisher, E., Schwartzbard, A. Fibrate therapy: an update. *Cardiol Rev* 2008; 16: 129-141.
6. Kliewer, S. A., Umesono, K., Noonan, D. J., Heyman, R. A., Evans, R. M. Convergence of 9-cis retinoic acid and peroxisome proliferator signalling pathways through heterodimer formation of their receptors. *Nature* 1992; 358: 771-774.
7. Peters, J. M., Cheung, C., Gonzalez, F. J. Peroxisome proliferator-activated receptor-alpha and liver cancer: where do we stand? *J Mol Med* 2005; 83: 774-785.
8. Kersten, S., Seydoux, J., Peters, J. M., Gonzalez, F. J., Desvergne, B., Wahli, W. Peroxisome proliferator-activated receptor alpha mediates the adaptive response to fasting. *J Clin Invest* 1999; 103: 1489-1498.
9. Shulman, A. I., Mangelsdorf, D. J. Retinoid X Receptor Heterodimers in the Metabolic Syndrome. *N Engl J Med* 2005; 353: 604-615.
10. Inagaki, T., Dutchak, P., Zhao, G., Ding, X., Gautron, L., Parameswara, V., et al. Endocrine Regulation of the Fasting Response by PPARalpha-Mediated Induction of Fibroblast Growth Factor 21. *Cell Metab* 2007; 5: 415-425.
11. Badman, M. K., Pissios, P., Kennedy, A. R., Koukos, G., Flier, J. S., Maratos-Flier, E. Hepatic Fibroblast Growth Factor 21 Is Regulated by PPAR[alpha] and Is a Key Mediator of Hepatic Lipid Metabolism in Ketotic States. *Cell Metabolism* 2007; 5: 426-437.
12. Ornitz, D. M., Itoh, N. Fibroblast growth factors. *Genome Biol* 2001; 2: REVIEWS3005.
13. Kuro-O, M. Endocrine FGFs and Klothos: emerging concepts. *Trends Endocrinol Metab* 2008; 19: 239-245.
14. Inagaki, T., Choi, M., Moschetta, A., Peng, L., Cummins, C. L., McDonald, J. G., et al. Fibroblast growth factor 15 functions as an enterohepatic signal to regulate bile acid homeostasis. *Cell Metab* 2005; 2: 217-225.
15. Kurosui, H., Ogawa, Y., Miyoshi, M., Yamamoto, M., Nandi, A., Rosenblatt, K. P., et al. Regulation of fibroblast growth factor-23 signaling by klotho. *J Biol Chem* 2006; 281: 6120-6123.
16. Inagaki, T., Lin, V. Y., Goetz, R., Mohammadi, M., Mangelsdorf, D. J., Kliewer, S. A. Inhibition of growth hormone signaling by the fasting-induced hormone FGF21. *Cell Metab* 2008; 8: 77-83.
17. Wang, H., Qiang, L., Farmer, S. R. Identification of a domain within peroxisome proliferator-activated receptor gamma regulating expression of a group of genes containing fibroblast growth factor 21 that are selectively repressed by SIRT1 in adipocytes. *Mol Cell Biol* 2008; 28: 188-200.
18. Kharitonov, A., Shyanova, T. L., Koester, A., Ford, A. M., Micanovic, R., Galbreath, E. J., et al. FGF-21 as a novel metabolic regulator. *J Clin Invest* 2005; 115: 1627-1635.
19. Wente, W., Efanov, A. M., Brenner, M., Kharitonov, A., Koster, A., Sandusky, G. E., et al. Fibroblast growth factor-21 improves pancreatic beta-cell function and survival by activation of extracellular signal-regulated kinase 1/2 and Akt signaling pathways. *Diabetes* 2006; 55: 2470-2478.
20. Kharitonov, A., Shanafelt, A. B. Fibroblast growth factor-21 as a therapeutic agent for metabolic diseases. *BioDrugs* 2008; 22: 37-44.
21. Coskun, T., Bina, H. A., Schneider, M. A., Dunbar, J. D., Hu, C. C., Chen, Y., et al. Fibroblast growth factor 21 corrects obesity in mice. *Endocrinology* 2008; 149: 6018-6027.
22. Huang, X., Yu, C., Jin, C., Yang, C., Xie, R., Cao, D., et al. Forced expression of hepatocyte-specific fibroblast growth factor 21 delays initiation of chemically induced hepatocarcinogenesis. *Mol Carcinog* 2006; 45: 934-942.

23. Xu, J., Lloyd, D. J., Hale, C., Stanislaus, S., Chen, M., Sivits, G., et al. Fibroblast Growth Factor 21 Reverses Hepatic Steatosis, Increases Energy Expenditure, and Improves Insulin Sensitivity in Diet-Induced Obese Mice. *Diabetes* 2009; 58: 250-259.
24. Arner, P., Pettersson, A., Mitchell, P. J., Dunbar, J. D., Kharitonov, A., Ryden, M. FGF21 attenuates lipolysis in human adipocytes - a possible link to improved insulin sensitivity. *FEBS Lett* 2008; 582: 1725-1730.
25. Galman, C., Lundasen, T., Kharitonov, A., Bina, H. A., Eriksson, M., Hafstrom, I., et al. The circulating metabolic regulator FGF21 is induced by prolonged fasting and PPARalpha activation in man. *Cell Metab* 2008; 8: 169-174.
26. M. Mraz, M. B., Z. Lacinova, D. Michalsky, M. Kasalicky, D. Haluzikova, M. Matoulek, I. Dostalova, V. Humenanska, M. Haluzik, Serum concentrations and tissue expression of a novel endocrine regulator fibroblast growth factor-21 in patients with type 2 diabetes and obesity. *Clinical Endocrinology* 2008; 9999.
27. Zhang, X., Yeung, D. C., Karpisek, M., Stejskal, D., Zhou, Z. G., Liu, F., et al. Serum FGF21 levels are increased in obesity and are independently associated with the metabolic syndrome in humans. *Diabetes* 2008; 57: 1246-1253.
28. Chen, W. W., Li, L., Yang, G. Y., Li, K., Qi, X. Y., Zhu, W., et al. Circulating FGF-21 levels in normal subjects and in newly diagnose patients with Type 2 diabetes mellitus. *Exp Clin Endocrinol Diabetes* 2008; 116: 65-68.
29. Leahy, J. L. Pathogenesis of type 2 diabetes mellitus. *Arch Med Res* 2005; 36: 197-209.
30. Lonnqvist, F., Arner, P., Nordfors, L., Schalling, M. Overexpression of the obese (ob) gene in adipose tissue of human obese subjects. *Nat Med* 1995; 1: 950-953.
31. Kharitonov, A., Wroblewski, V. J., Koester, A., Chen, Y. F., Clutinger, C. K., Tigno, X. T., et al. The metabolic state of diabetic monkeys is regulated by fibroblast growth factor-21. *Endocrinology* 2007; 148: 774-781.