



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΔΥΤΙΚΗΣ ΑΤΤΙΚΗΣ

ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ & ΠΡΟΝΟΙΑΣ

ΤΜΗΜΑ ΒΙΟΪΑΤΡΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ

Μεταπτυχιακό Πρόγραμμα Σπουδών

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

Ο FGF21 και η παχυσαρκία

POST GRADUATE THESIS

Fibroblast Growth Factor 21 and Obesity



Καραβασίλης Άγγελος

Karavasilis Angelos

Καρκαλούσος Πέτρος

Karkalousos Petros

ΑΙΓΑΛΕΩ/AIGALEO 2020

Faculty of Health and Caring Professions
Department of Biomedical Sciences

POST GRADUATE THESIS

Fibroblast Growth Factor 21 and Obesity

KARAVASILIS ANGELOS

angel-tg@hotmail.com

SUPERVISOR

Dr. Karkalousos Petros

AIGALEO 2019

Δήλωση περί λογοκλοπής

Με πλήρη επίγνωση των συνεπειών του νόμου περί πνευματικών δικαιωμάτων, δηλώνω ενυπογράφως ότι είμαι αποκλειστικός συγγραφέας της παρούσας διπλωματικής εργασίας, για την ολοκλήρωση της οποίας κάθε βοήθεια είναι πλήρως αναγνωρισμένη και αναφέρεται λεπτομερώς στην εργασία αυτή. Έχω αναφέρει πλήρως και με σαφείς αναφορές, όλες τις πηγές χρήσης δεδομένων, απόψεων, θέσεων και προτάσεων, ιδεών και λεκτικών αναφορών, είτε κατά κυριολεξία είτε βάσει επιστημονικής παράφρασης. Αναλαμβάνω την προσωπική και ατομική ευθύνη ότι σε περίπτωση αποτυχίας στην υλοποίηση των ανωτέρω δηλωθέντων στοιχείων, είμαι υπόλογος έναντι λογοκλοπής, γεγονός που σημαίνει αποτυχία στην διπλωματική μου εργασία και κατά συνέπεια αποτυχία απόκτησης Τίτλου Σπουδών, πέραν των λοιπών συνεπειών του νόμου περί πνευματικών δικαιωμάτων. Δηλώνω, συνεπώς, ότι αυτή η διπλωματική εργασία προετοιμάστηκε και ολοκληρώθηκε από εμένα προσωπικά και αποκλειστικά και ότι, αναλαμβάνω πλήρως όλες τις συνέπειες του νόμου στην περίπτωση κατά την οποία αποδειχθεί, διαχρονικά, ότι η εργασία αυτή ή τμήμα της δεν μου ανήκει διότι είναι προϊόν λογοκλοπής άλλης πνευματικής ιδιοκτησίας.

Καραβασίλης Άγγελος

Ευχαριστίες

Στα πλαίσια της διπλωματικής αυτής θα ήθελα να ευχαριστήσω όλους όσους με βοήθησαν για την ολοκλήρωση της.

Οφείλω να ευχαριστήσω μέσα από τα βάθη της καρδιάς τον εισηγητή μου κ. Καρκαλούσο Πέτρο για την πολύτιμη βοήθεια του ώστε να εκπονηθεί αυτή η πτυχιακή εργασία.

Αφιερώσεις

Αυτή η πτυχιακή εργασία είναι αφιερωμένη στους γονείς μου οι οποίοι συνέβαλαν στην μόρφωση μου με τους καλύτερους δυνατούς τρόπους...

Περίληψη

Σε αυτή τη διπλωματική εργασία θα μελετήσουμε τον παράγοντα ανάπτυξης ινοβλαστών 21 (FGF21), τις λειτουργίες του στα όργανα τα οποία εντοπίζεται και το πως επιδρά στην ρύθμιση του μεταβολισμού του οργανισμού.

Ο FGF21 εκφράζεται σε διάφορα μεταβολικά δραστικά όργανα και αλληλεπιδρά με διαφορετικούς ιστούς. Η λειτουργία του FGF21 είναι περίπλοκη και πολυσυζητημένη εξαιτίας των διαφορετικών τρόπων παραγωγής και δράσεων. Θα αναλύσουμε τα πρόσφατα ευρήματα που προσδιορίζουν τον FGF21 ως ωφέλιμη και/ή ως επιβλαβή κυτταροκίνη που αλληλεπιδρά ως αυτοκρινή ή ενδοκρινή, για να ρυθμίζει την κυτταρική λειτουργία, το μεταβολισμό και τη γήρανση.

Ο σακχαρώδης διαβήτης αποτελεί ένα μείζον πρόβλημα υγείας, που επηρεάζει περισσότερο από το 5% του πληθυσμού. Εδώ θα αναλύσουμε έναν πιθανό νέο θεραπευτικό παράγοντα για την ασθένεια αυτή, ο οποίος ανακαλύφθηκε ότι είναι ένας ισχυρός ρυθμιστής της πρόσληψης γλυκόζης σε ποντίκια και σε ανθρώπινα λιποκύτταρα. Η θεραπευτική χορήγηση του FGF-21 μπορεί να μειώσει τη γλυκόζη και τα τριγλυκερίδια στον ορό σε σχεδόν φυσιολογικά επίπεδα τόσο στους ob/ob ποντικούς όσο και στους db/db. Είναι σημαντικό ότι ο FGF-21 δεν προκάλεσε υπογλυκαιμία ή αύξηση βάρους σε οποιαδήποτε δόση που δοκιμάστηκε σε διαβητικά ή υγιή ζώα ή όταν υπερεκφράστηκε σε διαγονιδιακούς ποντικούς. Έτσι, καταλήγουμε στο συμπέρασμα ότι ο FGF-21, ο οποίος αναγνωρίσαμε ως νέο μεταβολικό παράγοντα, παρουσιάζει τα θεραπευτικά χαρακτηριστικά που είναι απαραίτητα για μια αποτελεσματική θεραπεία του διαβήτη.

Στόχος αυτής της διπλωματικής εργασίας είναι η καλύτερη κατανόηση του FGF21 καθώς ανήκει σε μια τάξη κυτταροκινών που όλα δείχνουν ότι μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως φάρμακο, ως στόχος φαρμάκου ή ως βιοδείκτης, ανάλογα με το φυσιοπαθολογικό πλαίσιο.

Abstract

In this thesis we will study the Fibroblast Growth Factor 21 (FGF21), its functions in the organs that are detected and how it affects the regulation of the body's metabolism. FGF21 is expressed in various metabolically active organs and interacts with different tissues. The function of FGF21 is complex and controversial due to different production sites and activities. We will analyze recent findings identifying FGF21 as a beneficial and / or harmful cytokine that interacts as autocrine or endocrine to regulate cellular function, metabolism, and aging.

Diabetes mellitus is a major health concern, affecting more than 5% of the population. Here we describe a potential novel therapeutic agent for this disease, FGF-21, which was discovered to be a potent regulator of glucose uptake in mouse 3T3-L1 and primary human adipocytes. FGF-21–transgenic mice were viable and resistant to diet-induced obesity. Therapeutic administration of FGF-21 reduced plasma glucose and triglycerides to near normal levels in both ob/ob and db/db mice. Importantly, FGF-21 did not induce mitogenicity, hypoglycemia, or weight gain at any dose tested in diabetic or healthy animals or when over-expressed in transgenic mice. Thus, we conclude that FGF-21, which we have identified as a novel metabolic factor, exhibits the therapeutic characteristics necessary for an effective treatment of diabetes.

The main aim of this thesis is to better understand FGF21 as it belongs to a class of cytokines that as shown it can be used as drug, drug target or as biomarker, depending on the physiopathological context.

Περιεχόμενα

Δήλωση περί λογοκλοπής	ii
Ευχαριστίες	iv
Αφιερώσεις	vi
Περίληψη	viii
Abstract	ix
Συνοτομογραφίες.....	xii
Πρόλογος.....	1
Κεφάλαιο 1: Το γονίδιο FGF21 και οι λειτουργίες του.....	3
1.1. Το γονίδιο FGF21 και η γονιδιωματική αλληλουχία του	3
1.2. Βιολογικές Λειτουργίες της FGF21.....	6
1.2.1. Κετογένεση.....	6
1.2.2. Ηπατική γλυκογένεση.....	8
1.2.3. Οξείδωση λιπαρών οξέων.....	8
1.2.4. Αντίσταση στην αυξητική ορμόνη.....	9
1.3. Υποδοχείς που επιδρούν με την FGF21.....	10
1.4. Δράσεις της FGF21 στο ήπαρ.....	11
1.4.1. Μεταγραφικοί μηχανισμοί του FGF21 στο ήπαρ	11
1.4.2. Ρυθμιστικοί μηχανισμοί του FGF21 στον μεταβολισμό γλυκολιπιδίων στο ήπαρ	12
1.5. Δράσεις της FGF21 στον λιπώδη ιστό.....	13
1.5.1. Ενεργοποίηση πρόσληψης γλυκόζης.....	13
1.5.2. Ρύθμιση λιπόλυσης.....	14
1.5.3. Ρύθμιση PPAR-γ.....	15
1.5.4. Ρύθμιση θερμογένεσης φαιού λιπώδους ιστού.....	16
1.6. Δράσεις της FGF21 στον εγκέφαλο	16
1.6.1. Ρυθμιστικοί μηχανισμοί του FGF21 στον εγκέφαλο	17
1.6.2. Επιδράσεις του FGF21 στη μετάδοση σήματος στον εγκέφαλο και τους πεπτι- δικούς ιστούς του.....	17
1.7 Δράσεις της FGF21 στο κεντρικό νευρικό σύστημα.....	18
1.8. Δράσεις της FGF21 σε άλλους ιστούς.....	19

1.9. Μετάδοση σημάτων και αντίσταση.....	20
1.9.1. Μετάδοση σημάτων της FGF21.....	20
1.9.2. Μεταβολικό σύνδρομο και αντίσταση στην FGF21.....	21
Κεφάλαιο 2: Ο FGF21 ως ρυθμιστής του μεταβολισμού	
2.1. FGF21 και Μεταβολισμός.....	22
2.2. Έκφραση και ρύθμιση του FGF21.....	24
2.3. Καθοδική σηματοδότηση του FGF21.....	26
2.4. Επίπεδα ορού του FGF21 σε πειραματόζωα.....	27
2.5. Ο FGF21 στον καρδιακό και τον σκελετικό μυ.....	28
2.6. Ο FGF21 στους ανθρώπους, ένα ευεργετικό ή καταστροφικό μόριο;.....	32
2.7. Τελικά Συμπεράσματα.....	34
Αναφορές.....	37

Συντομογραφίες

FGF21 - Fibroblast growth factor 2 - Αυξητικός παράγοντας ινοβλάστης 21

β-Klotho protein – Πρωτεΐνη β-Κλώθω

PPARα - Peroxisome proliferator-activated receptor alpha – Ενεργοποιημένος υποδοχέας των πολλαπλασιαστών των υπεροξυσωμάτων Άλφα.

PGC1α - Peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator 1-alpha - Ενεργοποιημένος υποδοχέας των πολλαπλασιαστών των υπεροξυσωμάτων υποδοχέα γάμμα 1-άλφα

IGF-1 - Insulin-like growth factor 1 – Παράγοντας ανάπτυξης ινσουλίνης τύπου 1

STAT5 - Signal transducer and activator of transcription 5 - Μεταγωγέας σήματος και ενεργοποιητής της μεταγραφής 5

FGFR - fibroblast growth factor receptor - υποδοχέας αυξητικού παράγοντα ινοβλαστών

WAT - White adipose tissue – Λευκός Λιπώδης Ιστός

BAT - Brown adipose tissue - Φαίος Λιπώδης Ιστός

RARβ - Retinoic acid receptor beta - υποδοχέας β ρητίνης

CREB - cAMP response element-binding protein - πρωτεΐνη δέσμησης στοιχείου απόκρισης

ERK - extracellular signal – regulated kinase - η φωσφορύλιωση της εξωκυτταρική κινάσης

APN - Adiponectin - αδιπονεκτίνη

ob/ob mouse - leptin mutated obese diabetes type II mouse – Πειραματόζωο με διαβήτη τύπου II με μετάλλαξη στο γονίδιο παραγωγής λεπτίνης.

db/db mouse - leptin resistant obese diabetes type II mouse - Πειραματόζωο με διαβήτη τύπου II με αντοχή στην επίδραση της λεπτίνης.

PPAR-γ - Peroxisome proliferator-activated receptor gamma - Ενεργοποιημένος υποδοχέας των πολλαπλασιαστών των υπεροξυσωμάτων Γάμμα.

CRF - Corticotropin-releasing factor - παράγοντας απελευθέρωσης κορτικοτροπίνης

PVN - paraventricular nucleus - παραφανιαίος υποθαλαμικός πυρήνας

ER stress - Endoplasmic Reticulum Stress - στρες του ενδοπλασματικού δικτύου

Πρόλογος

Ο παράγοντας ανάπτυξης ινοβλαστών 21 είναι μια πρωτεΐνη που κωδικοποιείται από θηλαστικά στο γονίδιο FGF21. Η πρωτεΐνη που κωδικοποιείται από αυτό το γονίδιο είναι μέλος της οικογένειας αυξητικών παραγόντων ινοβλάστης (FGF) και συγκεκριμένα ένα μέλος της ενδοκρινούς υποοικογένειας που περιλαμβάνει τον FGF23 και τους FGF15/19. Ο FGF21 είναι ο πρωταρχικός ενδογενής αγωνιστής του υποδοχέα FGF21, ο οποίος συντίθεται από τους συν-υποδοχείς του FGF υποδοχέα 1 και μια πρωτεΐνη, την β-Klotho.

Τα μέλη της οικογένειας FGF έχουν ευρείες δραστηριότητες μιτογόνου και κυτταρικής επιβίωσης και εμπλέκονται σε ποικίλες βιολογικές διεργασίες που όπως εμβρυϊκή ανάπτυξη, κυτταρική ανάπτυξη, μορφογένεση, αποκατάσταση ιστών και ανάπτυξη όγκων. Οι FGF δρουν μέσω μιας οικογένειας τεσσάρων υποδοχέων FGF. Η δέσμευση είναι πολύπλοκη και απαιτεί τόσο την αλληλεπίδραση του μορίου FGF με έναν υποδοχέα FGF και σύνδεση με την ηπαρίνη μέσω ενός πεδίου σύνδεσης ηπαρίνης. Οι ενδοκρινικοί FGF στερούνται ενός πεδίου σύνδεσης ηπαρίνης και έτσι μπορούν να απελευθερωθούν στην κυκλοφορία.

Ο FGF21 είναι μια ηπατοκίνη - μια ορμόνη που εκκρίνεται από το συκώτι - που ρυθμίζει την πρόσληψη σακχάρου μέσω των υποδοχέων FGF21 στον πυρήνα του υποθαλάμου και συσχετίζεται με τη μειωμένη μεταβίβαση της ντοπαμίνης στο εσωτερικό του υποθαλάμου. Ο FGF21 εμπλέκεται στον μεταβολισμό της γλυκόζης και των λιπιδίων και συμβάλλει σημαντικά στη μείωση του σωματικού βάρους και στην αύξηση της ευαισθησίας στην ινσουλίνη. Ένας μεγάλος αριθμός προκλινικών και κλινικών αποτελεσμάτων υποδεικνύει ότι ο FGF21 είναι στόχος στον οποίο πρέπει να δράσουν τα φάρμακα για τη θεραπεία της παχυσαρκίας και του σακχαρώδους διαβήτη τύπου 2.

Ένας μοναδικός νουκλεοτιδικός πολυμορφισμός του γονιδίου FGF21 – συγκεκριμένα ο FGF21 rs838133 - έχει αναγνωριστεί ως ένας γενετικός μηχανισμός υπεύθυνος για τον φαινότυπο συμπεριφοράς της επιθυμίας στα γλυκά, ένα χαρακτηριστικό που συνδέεται με την επιθυμία για γλυκά και υψηλή κατανάλωση ζάχαρης, τόσο στον άνθρωπο όσο και ποντίκια.

Τα επίπεδα FGF21 στον ορό αυξάνουν σημαντικά σε ασθενείς με σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2, πράγμα που μπορεί να υποδεικνύει ένα ρόλο του FGF21 στην παθογένεση της νόσου. Τα αυξημένα επίπεδα συσχετίζονται επίσης με την περιεκτικότητα σε λιπαρά

του ήπατος στη μη αλκοολική λιπώδη ηπατική νόσο και θετικά σχετίζονται με τον BMI στους ανθρώπους υποδηλώνοντας την παχυσαρκία ως κατάσταση ανθεκτική στον FGF21.

Κεφάλαιο 1. Το γονίδιο FGF21 και οι λειτουργίες του

1.1. Το γονίδιο FGF21 και η γονιδιωματική αλληλουχία του

Ο παράγοντας ανάπτυξης ινοβλαστών 21 (FGF21) είναι μια ορμόνη που ρυθμίζει σημαντικές μεταβολικές οδούς. Ο FGF21 εκφράζεται σε διάφορα μεταβολικά δραστικά όργανα και αλληλεπιδρά με διαφορετικούς ιστούς. Η λειτουργία του FGF21 είναι περίπλοκη και πολυσυζητημένη εξαιτίας των διαφορετικών τρόπων παραγωγής και δράσεων. Οι μύες είναι ιστοί που υφίστανται προσαρμοστικές αλλαγές στις δομικές και λειτουργικές τους ιδιότητες για να καλύψουν τις διαφορετικές τους πιέσεις, πρόσφατα, έχουν βρεθεί ότι αποτελούν σημαντική πηγή του FGF21. Η έκφραση και έκκριση FGF21 από τους σκελετικούς μύες συμβαίνει τόσο σε ποντίκια όσο και σε ανθρώπους κατά τη διάρκεια των διαφορετικών φυσιολογικών και παθολογικών τους καταστάσεων, συμπεριλαμβανομένης της άσκησης και της μιτοχονδριακής δυσλειτουργίας. Σε αυτή την διπλωματική εργασία θα συζητήσουμε τα πρόσφατα ευρήματα που προσδιορίζουν τον FGF21 ως ωφέλιμη και/ή ως επιβλαβή κυτταροκίνη που αλληλεπιδρά ως αυτοκρινή ή ενδοκρινή, για να ρυθμίζει την κυτταρική λειτουργία, το μεταβολισμό και τη γήρανση. Ο παράγοντας ανάπτυξης ινοβλάστης 21 (FGF21) ανήκει στην υπερ-οικογένεια FGF. Από την αναγνώριση του πρώτου FGF (FGF1 ή αFGF) το 1976, αυτή η οικογένεια έχει αυξηθεί σταθερά και τώρα αποτελείται από 22 μέλη στον άνθρωπο. Δεδομένου ότι οι FGF ταξινομήθηκαν μαζί καθαρά ως βάση, η ποικιλομορφία των βιολογικών τους λειτουργιών και τρόπων δράσης δεν προκαλεί έκπληξη. Από σήμερα, οι FGFs έχουν αποδειχθεί ότι ρυθμίζουν μυριάδες εξωγενείς διεργασίες όπως κυτταρική διαφοροποίηση, πολλαπλασιασμό, μορφογένεση και μεταβολισμό, ενώ υπάρχουν στοιχεία ότι κάποιοι FGF συνδέονται με παθολογικές καταστάσεις καρκίνου και μεταβολικής νόσου.

Το ανθρώπινο γονίδιο *FGF21*, το οποίο κωδικοποιεί την ανθρώπινη πρωτεΐνη fibroblast growth factor 1 (FGF21), βρίσκεται στο χρωμόσωμα 19, και πιο συγκεκριμένα στην θέση 19q13.33. Περιέχει 4 εξόνια και αποτελείται από 2.772 ζεύγη βάσεων, συμπεριλαμβανομένων και των αμετάφραστων περιοχών. Τρία μόνο από τα εξόνια μεταφράζονται τελικά. Το προϊόν της μεταγραφής του έχει μέγεθος 1.312 ζεύγη βάσεων, ενώ σαν προϊόν της μετάφρασης προκύπτει μια αλυσίδα 209 αμινοξέων (Kent et al, 2018).



Εικόνα 1.1. Διάταξη γονιδίου *FGF21* στο χρωμόσωμα 19 (Geer et al, 2018).

Το γονίδιο εντοπίστηκε για πρώτη φορά το 2000 από τους Nishimura et al με ανάλυση γενετικής αλληλουχίας. Αρχικά κατάφεραν να κλωνοποιήσουν *fgf21* ποντικού, από το οποίο προέκυψε μια αλληλουχία 210 αμινοξέων, η οποία και περιείχε μια ομάδα κυστεΐνης, χαρακτηριστική για τις πρωτεΐνες της οικογένειας FGF. Η εξέταση των ιστών των τρωκτικών απέδειξε ότι η πρωτεΐνη αυτή εκφράζεται κυρίως στο ήπαρ και σε μικρότερες ποσότητες στον θύμο αδέν. Το επόμενο βήμα των ερευνητών ήταν να αναζητήσουν παρόμοιες αλληλουχίες στο ανθρώπινο γονιδίωμα. Η επιτυχημένη κλωνοποίηση του γονιδίου έγινε με PCR σε μία cDNA βιβλιοθήκη εμβρυικού εγκεφάλου, η οποία και αποκάλυψε την αλληλουχία 209 αμινοξέων που σήμερα είναι γνωστό ότι κωδικεύει το γονίδιο (Nishimura et al, 2000).

Στον ανθρώπινο οργανισμό, το γονίδιο εκφράζεται στους ιστούς του ήπατος, όπως έδειξαν δεδομένα από 53 ιστούς 570 δότων, στα πλαίσια της μελέτης Genotype-Tissue Expression (Carithers et al, 2015). Παρόλα αυτά, τα δεδομένα από έρευνα του 2008 υποδηλώνουν ότι και τα λιποκύτταρα εκφράζουν και εκκρίνουν FGF21 (Muisse et al, 2008).

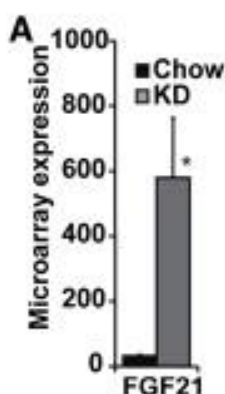
1.2. Βιολογικές λειτουργίες της FGF21

Ο Kharitonenkou και οι συνεργάτες του κατέδειξαν πρώτα τις επιδράσεις του FGF21 στη μεταβολική ρύθμιση και διαπίστωσαν ότι ο FGF21 ρυθμίζει την έκφραση του μεταφορέα γλυκόζης 1 και προάγει τη λήψη γλυκόζης στα 3T3-L1 κύτταρα και στα πρωτογενή λιποκύτταρα στο ανθρώπινο σώμα. Μεταγενέστερες αναλύσεις έδειξαν ότι ο FGF21 μείωσε σημαντικά τα επίπεδα σακχάρου στο αίμα και το σωματικό βάρος των ποντικών με παχυσαρκία, μειώνοντας την περιεκτικότητα των τριγλυκεριδίων στο ήπαρ και στο αίμα. Ωστόσο, η πρόσληψη γλυκόζης των ποντικών δεν κατέδειξε καμία σημαντική αλλαγή (Kharitonenkou et al, 2005). Επιπλέον, ο FGF21 επηρεάζει την ευαισθησία στην ινσουλίνη των ποντικών. Σε ποντίκια με διατροφική παχυσαρκία, ο FGF21 μπορεί να αντιστρέψει την ηπατική στεάτωση και να αυξήσει την ευαισθησία στην ηπατική ινσουλίνη, καταστέλλοντας την παραγωγή γλυκόζης στο ήπαρ και αυξάνοντας το περιεχόμενο του ηπατικού γλυκογόνου, βελτιώνοντας έτσι τη συστηματική δυσανεξία στη γλυκόζη και την αντίσταση στην ινσουλίνη (Xu J et al, 2009a; Xu J et al, 2009b). Οι ρυθμιστικές επιδράσεις του FGF21 στον μεταβολισμό γλυκολιπιδίων επηρεάζονται από τον ηπατικό μεταβολισμό. Ωστόσο, ο συγκεκριμένος υποκείμενος μηχανισμός πρέπει να διασαφηνιστεί. Ο FGF21 έχει δείχθει ότι ασκεί τα ίδια μεταβολικά αποτελέσματα σε πιθήκους με σακχαρώδη διαβήτη. Το FGF21 μείωσε τη συγκέντρωση της χοληστερόλης χαμηλής πυκνότητας (LDL-C) και αύξησε τη συγκέντρωση της χοληστερόλης λιποπρωτεϊνών υψηλής πυκνότητας (HDL-C) (Kharitonenkou et al, 2007). Αυτά τα ευρήματα υποδεικνύουν ότι ο FGF21 παίζει σημαντικό ρόλο στη ρύθμιση του μεταβολισμού σε τρωκτικά και σε πρωτεύοντα θηλαστικά με παχυσαρκία.

1.2.1. Κετογένεση

Φαίνεται πως η διαμεσολαβούμενη από αδενοϊό *in vivo* καταστροφή της έκφρασης του ηπατικού FGF21 σε ποντικούς που τρέφονται με βάση μια κετονική δίαιτα προκαλεί λιπώδεις ήπαρ, λιπαιμία και μειωμένες κετόνες ορού. Αυτή η αλλαγή σχετίζεται με μεταβολές στην έκφραση βασικών γονιδίων που εμπλέκονται στον μεταβολισμό των ηπατικών λιπιδίων και στην παραγωγή κετονών. Αντίθετα, οι διαγονιδιακοί ποντικοί με υπερέκφραση της FGF21 παρουσιάζουν σημαντική αύξηση στη συγκέντρωση κετονών στον ορό και ταυτόχρονη μείωση της συγκέντρωσης ηπατικών τριγλυκεριδίων ορού. Επιπλέον, έχει βρεθεί πως η μειωμένη παραγωγή κετόνης και η ηπατική στεάτωση σε ποντίκια με

απενεργοποιημένο PPARα μπορεί να αποκατασταθεί μερικώς με χορήγηση ανασυνδυασμένου FGF21 (Badman et al, 2007).



Εικόνα 1.3. Σημαντική διέγερση έκφρασης FGF21 σε ηπατοκύτταρα από ποντικούς που τράφθηκαν με κετογονική διατροφή (KD) για 30 ημέρες. ($n = 3$ ανά ομάδα * $p < 0.05$) (Badman et al, 2007).

Ωστόσο, δύο ανεξάρτητες μελέτες σε ποντίκια με απενεργοποιημένη FGF21 έδωσαν ετερόκλητα δεδομένα σχετικά με το ρόλο της FGF21 στην κετογένεση. Τα ποντίκια με απενεργοποιημένη FGF21 της ομάδας του Badman παρουσίασαν μειωμένη προσαρμογή στην κέτωση που επάγεται από μια κετογόνο διατροφή, η οποία συνοδεύεται από σοβαρή ηπατική στεάτωση και αύξηση σωματικού βάρους σε σύγκριση με ποντίκια άγριου τύπου (Badman et al, 2009). Αντίθετα, οι Hotta και συνεργάτες κατέδειξαν μια μέτρια αύξηση των επιπέδων β-υδροξυβουτυρικού στον ορό σε ποντίκια με απενεργοποιημένη FGF21 που είχαν υποβληθεί σε νηστεία για 24 ώρες, υποδεικνύοντας μια αυξημένη κετογένεση (Hotta et al, 2009). Οι διαφορές στο γενετικό υπόβαθρο, τη σύνθεση της διατροφής και/ή τα πρωτόκολλα μελέτης μπορεί να εξηγούν τα ετερόκλητα αποτελέσματα μεταξύ των δύο μελετών.

Στους ανθρώπους, τα επίπεδα FGF21 φαίνεται να είναι ασυσχέτιστα με τον Δείκτη Μάζας Σώματος, την ηλικία, την γλυκόζη αίματος, την ολική, LDL ή HDL χοληστερόλη, τα τριγλυκερίδια, την σύνθεση ολικής σωματικής χοληστερόλης ή την σύνθεση χολικού οξέος. Η θεραπευτική αντιμετώπιση της πρωτογενούς υπερτριγλυκεριδαιμίας με φαινοφιμπράτες μείωσε τα τριγλυκερίδια του ορού αποτελεσματικά και αύξησε τα επίπεδα του FGF21 στον ορό, αλλά η νηστεία 25,5 ωρών και η κετογόνο διατροφή δεν φάνηκε να επηρεάζουν τα επίπεδα FGF21, ενώ χρειάστηκε νηστεία τουλάχιστον 7 ημερών προκειμένου να παρατηρηθεί αύξηση στα επίπεδα FGF21 πλάσματος (Gälman et al, 2009).

Τα αποτελέσματα αυτά διαφέρουν σημαντικά από τα αντίστοιχα αποτελέσματα που έχουν ληφθεί από ποντικούς, επομένως ο φυσιολογικός ρόλος του FGF21 ενδέχεται να διαφέρει μεταξύ ποντικών και ανθρώπων.

1.2.2. Ηπατική γλυκονεογένεση

Το 2009, χρησιμοποιώντας διαγονιδιακά ποντίκια που υπερεκφράζουν FGF21 κυρίως στο ήπαρ, ο Potthoff και οι συνεργάτες του διαπίστωσαν ότι η FGF21 προκάλεσε μια μεταβολική κατάσταση νηστείας, η οποία συμπεριλάμβανε την αύξηση παραγωγής του PGC1α, ενός βασικού ρυθμιστή της ενεργειακής ομοιόστασης, την οποία ακολούθησε η επαγωγή των γλυκονεογονικών γονιδίων-στόχων του PGC1α. Οι επαγωγικές επιδράσεις της FGF21 στην έκφραση των γλυκονεογονικών γονιδίων (γλυκόζη-6-φωσφατάση και φωσφοενολοπυροσταφυλική καρβοξυκινάση) ουσιαστικά καταργούνται σε ποντικούς με απενεργοποιημένη PGC1α, και, αντιστρόφως, στα ποντίκια που δεν έχουν FGF21, η πλήρης διέγερση της έκφρασης της PGC1α σε απόκριση στην νηστεία αποτυγχάνει και έχουν μειωμένη γλυκονεογένεση. Από αυτό, οι ερευνητές συμπέραναν ότι η FGF21 εμπλέκεται στη ρύθμιση της γλυκονεογένεσης μέσω του PGC1α (Potthoff et al, 2009).

Σε αντίθεση με τα προαναφερθέντα ευρήματα, μια άλλη μελέτη έδειξε ότι η FGF21 δρα απευθείας στο ήπαρ για να διεγείρει την έκφραση των γλυκονεογονικών γονιδίων. Αυτή η μελέτη έδειξε επίσης ότι η FGF21 μπορεί ακόμη να επάγει τον ίδιο βαθμό έκφρασης γλυκονεογονικού γονιδίου με ποντίκια αγρίου τύπου σε ποντίκια με εξειδικευμένη ηπατική αφαίρεση του PGC1α, αποκλείοντας έτσι την εμπλοκή του PGC1α στην προκληθείσα από FGF21 γλυκονεογένεση (Fisher et al, 2011). Ο ακριβής ρόλος του FGF21 στην ηπατική γλυκονεογένεση και οι υποκείμενοι μηχανισμοί απαιτούν περαιτέρω αποσαφήνιση.

1.2.3. Οξείδωση λιπαρών οξέων

Το PPARα είναι ο κύριος ρυθμιστής της οξείδωσης λιπαρών οξέων, προκαλώντας την έκφραση ενός συνόλου βασικών γονιδίων που εμπλέκονται σε αυτή τη διαδικασία. Ένα αυξανόμενο σύνολο στοιχείων υποδηλώνει ότι η επαγωγή της οξειδώσεως των ηπατικών λιπαρών οξέων με PPARα προκαλείται εν μέρει από την FGF21. Η μεσολαβούμενη από RNA καταστολή της έκφρασης της FGF21 προκαλεί διαταραχή της οξείδωσης λιπαρών οξέων και σοβαρή στεάτωση του ήπατος, ενώ η χρόνια θεραπεία με αν συνδυασμένο FGF21

αντιστρέφει το λιπώδες ήπαρ σε παχύσαρκους ποντικούς (Dushay et al, 2010). Μια πρόσφατη μελέτη διαπίστωσε ότι το βουτυρικό νάτριο, μια ένωση με προστατευτικά αποτελέσματα έναντι της προκαλούμενης από τη διατροφή παχυσαρκίας και της δυσλιπιδαιμίας, αυξάνει την ηπατική έκφραση και τα επίπεδα πλάσματος του FGF21 σε ποντίκια. Είναι αξιοσημείωτο ότι η ικανότητα του βουτυρικού νατρίου να αυξήσει την κατανάλωση ενέργειας και την οξείδωση λιπαρών οξέων δεν υφίσταται σε ποντίκια με απενεργοποιημένη FGF21 (Li et al, 2012).

Στους ανθρώπους, τα επίπεδα του FGF21 στο πλάσμα είναι σημαντικά αυξημένα σε ασθενείς με λιπώδη ηπατική νόσο και συσχετίζονται θετικά με το ποσοστό του λίπους στο ήπαρ και το βαθμό της στεάτωσης (Yan et al, 2011). Επί του παρόντος δεν είναι σαφές εάν τα αυξημένα επίπεδα FGF21 πλάσματος οφείλονται στις αντισταθμιστικές αποκρίσεις ή στην παρουσία αντίστασης στην FGF21 κατά την οξείδωση λιπαρών οξέων.

1.2.4. Αντίσταση στην αυξητική ορμόνη

Η αυξητική ορμόνη συντίθεται και εκκρίνεται από την πρόσθια υπόφυση για να ρυθμίζει την ανάπτυξη και το μεταβολισμό. Πολλές δράσεις της αυξητικής ορμόνης προκαλούνται από την επαγωγή της ηπατικής έκφρασης του ινσουλινοειδούς αυξητικού παράγοντα 1 (IGF-1). Η νηστεία είναι γνωστό ότι εμποδίζει τις δράσεις της αυξητικής ορμόνης μειώνοντας την ηπατική παραγωγή του IGF-1. Η FGF21 ενδεχομένως να δρα ως μεσολαβητής που προσδίδει την επαγόμενη από την πείνα αναστολή στον άξονα GH/IGF-1, μέσω καταστολής της ενεργού μορφής του σηματοδότη και ενεργοποιητή της μεταγραφής 5 (STAT5), οδηγώντας σε μείωση της έκφρασης του IGF-1. Επιπλέον, η FGF21 αναστέλλει την έκφραση της πρωτεΐνης στην οποία δεσμεύεται ο IGF-1, μειώνοντας ακόμα περισσότερο τη δράση της αυξητικής ορμόνης. Σύμφωνα με αυτή την αναφορά, τα ποντίκια με απενεργοποιημένη FGF21 εμφανίζουν μεγαλύτερη ανάπτυξη σώματος από τα ζώα αγρίου τύπου μετά από 4 εβδομάδες περιορισμού της τροφής, ενώ η εφάπαξ έγχυση αυξητικής ορμόνης προκαλεί μεγαλύτερη ηπατική ενεργοποίηση του STAT5 στους ποντικούς με απενεργοποιημένη FGF21 σε σχέση με τους ποντικούς αγρίου τύπου (Inagaki et al, 2007).

Η κατασταλτική επίδραση της FGF21 στις δράσεις της αυξητικής ορμόνης υποστηρίζεται επίσης από ένα άλλο εύρημα που δείχνει ότι η FGF21 χρησιμεύει ως ρυθμιστής αρνητικής ανατροφοδότησης για την παρεμπόδιση της προκαλούμενης από την αυξητική ορμόνη λιπόλυσης στα λιποκύτταρα. Σύμφωνα με αυτά τα ευρήματα με βάση τα ζώα, τα

επίπεδα πλάσματος της FGF21 είναι σημαντικά αυξημένα σε ασθενείς με νευρική ανορεξία, μια κατάσταση χρόνιας θρεπτικής στέρησης χαρακτηριζόμενη από αντίσταση στην αυξητική ορμόνη με αυξημένα επίπεδα αυξητικής ορμόνης και μειωμένα επίπεδα IGF-1. Σε άτομα με αυξημένα επίπεδα FGF21, υπήρξε έντονη αντίστροφη συσχέτιση μεταξύ FGF21 και IGF-1, υποδηλώνοντας ότι η FGF21 μπορεί να προκαλέσει αντίσταση στην αυξητική ορμόνη στους ανθρώπους (Fazeli et al, 2010).

1.3. Υποδοχείς που επιδρούν με την FGF21

Ο FGF21 συμμετέχει στη μεταγωγή σήματος ενεργοποιώντας τους FGF υποδοχείς (FGFRs). Σε αντίθεση με τους συμβατικούς FGFs, ο FGF21 δεν δεσμεύεται απευθείας με τους FGFRs, αλλά ασκεί τις βιολογικές λειτουργίες με το να δεσμεύεται με την πρωτεΐνη βKlotho και τον FGFR. Αυτό το συμπέρασμα επιβεβαιώθηκε από τις ακόλουθες μελέτες:

- i) Η βKlotho αποκαθιστά τη δραστηριότητα του FGF21 σε κύτταρα στα οποία ο FGF21 είναι αναποτελεσματικός (Ogawa Y et al, 2007; Suzuki et al, 2008)
- ii) η έκφραση της επαγόμενης βKlotho πρωτεΐνης αυξάνει την ευαισθησία του FGF21 και
- iii) Η μείωση της βKlotho με τη μεσολάβηση RNA με μικρή παρεμβολή αποδυναμώνει τη δράση του FGF21. Επομένως, ο υποδοχέας του FGF21 αποτελείται από τα ακόλουθα δύο συστατικά όσον αφορά τη δομή: FGFR και βKlotho. Ούτε η βKlotho ούτε ο FGFR ενεργοποιούν τη σηματοδότηση του FGF21, ο FGF21 δρα μόνο όταν συνδυάζονται τα δύο. (Kharitonov et al, 2008, Moyers et al, 2007).

Τα N- και C- άκρα του FGF21 συνδέονται στενά με τη βιοδραστικότητα του FGF21. μετά το C-τερματικό άκρο συνδυάζεται με τη διαμεμβρανική πρωτεΐνη βKlotho, το N-τελικό άκρο δεσμεύεται με τον FGFR. Μετά από το σχηματισμό ενός σταθερού συμπλέγματος FGF21 / βKlotho / FGFR, τα συναφή προς τα κάτω μόρια σηματοδότησης ενεργοποιούνται για να ασκήσουν τα βιολογικά αποτελέσματά τους (Yie et al, 2009). Προηγούμενες μελέτες επιβεβαίωσαν ότι ο FGFR1c είναι βασικός υποδοχέας του FGF21 (Ogawa Y κ.ά., 2007, Yie et al, 2009). Η βKlotho είναι άφθονη σε διάφορους τύπους μεταβολικά ενεργών ιστών, συμπεριλαμβανομένου του ήπατος, της καρδιάς, του λευκού λιπώδους ιστού (WAT), του καφέ λιπώδους ιστού (BAT) και του κεντρικού νευρικού συστήματος (Tacer Fon

et al, 2010). Οι FGFRs εκφράζονται ευρέως σε διάφορους ιστούς και η επιλεκτική έκφραση του βκίλοτο καθορίζει τις βιολογικές λειτουργίες του FGF21 που είναι ειδικές για τον ιστό.

1.4. Δράσεις του FGF21 στο ήπαρ

Ο FGF21 εκφράζεται στο ήπαρ, στον λιπώδη ιστό, στο κεντρικό νευρικό σύστημα και σε άλλους ιστούς. Υπό κανονικές φυσιολογικές συνθήκες, ο FGF21 εισέρχεται στην κυκλοφορία του αίματος από την ηπατική έκκριση (Markan KR et al, 2014). Στο ήπαρ, η μακροχρόνια νηστεία μπορεί να προκαλέσει την έκφραση του FGF21, αν και διάφορες μελέτες έδειξαν ότι και ο ίδιος ο FGF21 προκαλεί επίσης διάφορα συμπτώματα της νηστείας. Ειδικότερα, ο FGF21 διεγείρει την οξείδωση των λιπαρών οξέων και την παραγωγή κετονικών σωμάτων στο ήπαρ και αναστέλλει τη λιπογένεση (Badman et al, 2007; Inagaki et al, 2007; Potthoff MJ et al, 2009). Επιπλέον, μελέτες σχετικά με την μειωμένη συγκέντρωση του FGF21, έδειξαν ότι τα ποντίκια με εξουδετέρωση του FGF21 παρουσιάζουν σημαντική αύξηση βάρους μετά από κετογόνες δίαιτες, με ηπατική στεάτωση και λειτουργικές βλάβες στη σύνθεση κετονικών σωμάτων, σε σύγκριση με τα άγρια ποντίκια (Badman MK et al, 2009).

1.4.1. Μεταγραφικοί μηχανισμοί του FGF21 στο ήπαρ

Το πολύπλοκο δίκτυο πυρηνικών υποδοχέων, θρεπτικών ερεθισμάτων και ορμονών περιλαμβάνει τη γονιδιακή ρύθμιση του FGF21 σε διαφορετικούς ιστούς, επηρεάζοντας έτσι την ρύθμιση των ερεθισμάτων της πείνας και της συστημικής ενεργειακής ισορροπίας. Ο Badman, ο Inagaki και οι συνεγάτες τους βρήκαν ότι ο υποδοχέας PPARα επάγει την έκφραση του FGF21. Αυτό το εύρημα δείχνει ότι διάφορες δράσεις του PPARα στο ήπαρ διαμεσολαβούνται από τον FGF21. Ο PPARα επάγει μεταγραφή της FGF21 σε ποντικούς μετά από μακρόχρονη νηστεία, κετογόνες δίαιτες και θεραπεία πρωτογενών ηπατοκυττάρων που υποβλήθηκαν σε αγωγή με PPARα με συνδυασμό στοιχείων μεταγραφής αποκρίσεως πολλαπλασιαστή υπεροξειδάσης (PPRE) στον υποκινητή FGF21. Ωστόσο, στο ήπαρ των ποντικών με PPARα, τα ερεθίσματα πείνας προκάλεσαν πενταπλάσια αύξηση του επιπέδου RNA του FGF21 (Badman et al, 2007; Inagaki et al 2007). Αυτό το εύρημα δείχνει ότι η μεταγραφή FGF21 ρυθμίζεται από επιπρόσθετες κυτοκίνες. Επιπλέον, τα αποτελέσματα επιβεβαίωσαν ότι ο FGF21 είναι ο άμεσος στόχος του υποδοχέα β ρητίνης (RARβ). Η υπερέκφραση της RARβ αυξάνει την παραγωγή και την έκκριση του FGF21 στο ήπαρ,

επιτυγχάνοντας έτσι ρυθμιστικό ρόλο στο μεταβολισμό. Η NAD⁺-εξαρτώμενη αποακετυλάση ιστόνης, η σιρτουίνη 1 ανακουφίζει από την απώλεια ηπατικού λίπους που προκαλείται από τη νηστεία σε ποντίκια προκαλώντας έκφραση του FGF21 στο ήπαρ (Li et al, 2014; Purushotham et al, 2009). Πρόσφατες μελέτες έδειξαν ότι η μεταγραφή του FGF21 σε πρωτογενή ηπατοκύτταρα στο ήπαρ ρυθμίζεται επίσης από την πρωτεΐνη δέσμευσης στοιχείου απόκρισης (CREB). Επιπλέον, η πρωτεΐνη πρόσδεσης του στοιχείου απόκρισης σε υδατάνθρακες, που ενεργοποιείται σε δίαιτες με υψηλή περιεκτικότητα σε υδατάνθρακες, αυξάνει τα επίπεδα του FGF21 στο ήπαρ. Έτσι, ο FGF21 ασκεί ένα ευρύ φάσμα επιδράσεων στην ηπατική απόκριση σε θρεπτικά ερεθίσματα και ρυθμίζει τον ενεργειακό μεταβολισμό (Kim et al, 2014; Iizuka et al, 2009).

1.4.2. Ρυθμιστικοί μηχανισμοί του FGF21 στον μεταβολισμό γλυκολιπιδίων στο ήπαρ

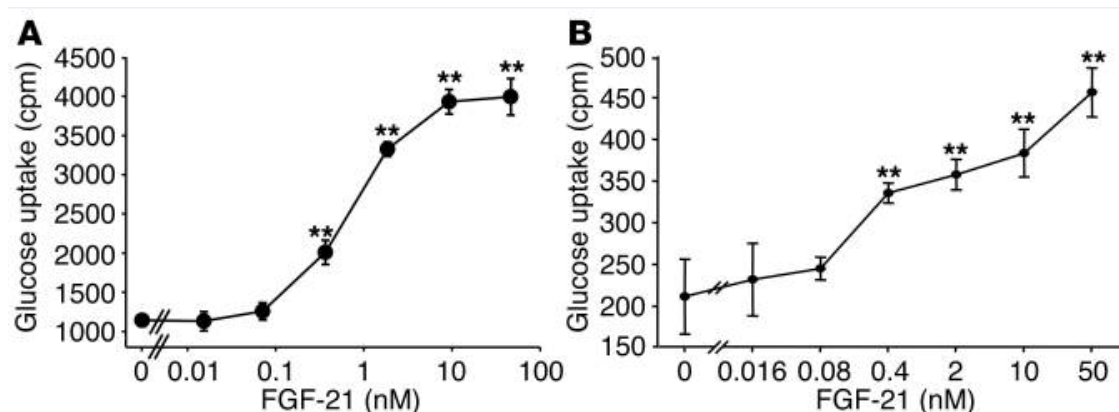
Ο FGF21 ασκεί σημαντικά αποτελέσματα στον ηπατικό μεταβολισμό. συγκεκριμένα, βελτιώνει την ηπατική αντοχή στην ινσουλίνη και τη στεάτωση σε ποντίκια με διατροφική παχυσαρκία και ρυθμίζει τη σύνθεση γλυκογόνου και την παραγωγή κετονών. Σε ποντικούς που εγχέονται με FGF21 η φωσφορυλίωση της εξωκυτταρική κινάσης (ERK), επάγεται στο ήπαρ και ρυθμίζει αμέσως την έκφραση των πρώιμων γονιδίων στο ήπαρ. Ο FGF21 επάγει επίσης την έκφραση του PPAR1α και των γονιδίων του και ενισχύει την οξείδωση των λιπαρών οξέων στο ήπαρ (Potthoff et al, 2009). Εντούτοις, ο FGF21 δεν είχε καμία επίδραση στο ήπαρ απομονωμένων ποντικών ή στα πρωτογενή ηπατοκύτταρα αρουραίων, πράγμα που δείχνει ότι οι επιδράσεις του FGF21 στο ήπαρ προκαλούνται έμμεσα από άλλες οδούς σηματοδότησης του ήπατος ή από άλλους ιστούς, όπως τον λιπώδη ιστό. Ο Lin και οι συνεργάτες του βρήκαν ότι η αδιπονεκτίνη (APN) μεσολαβεί στις ρυθμιστικές επιδράσεις του FGF21 στον συστηματικό μεταβολισμό. Αυτό το αποτέλεσμα καταδεικνύει ότι η APN μεσολαβεί στα αποτελέσματα μείωσης των λιπιδίων του FGF21, αν και οι ειδικοί μηχανισμοί μείωσης της γλυκόζης του FGF21 παραμένουν άγνωστοι. Επιπλέον, ο FGF21 και η βκlotho εκφράζονται σε μεγάλο βαθμό στο ήπαρ. Αυτό υποδεικνύει ότι ο FGF21 ρυθμίζει άμεσα τον ηπατικό μεταβολισμό χρησιμοποιώντας βκlotho / FGFR. Έτσι, ποντίκια με σίγαση της βκlotho στο ήπαρ χρησιμοποιούνται σε πειράματα για να διασαφηνιστεί η άμεση επίδραση του FGF21 στο ήπαρ και η σχετική συνεισφορά του στην ισορροπία του συστημικού μεταβολισμού γλυκολιπιδίων. Διάφορες μελέτες έχουν ασχοληθεί με τα αποτελέσματα της αύξησης της FGF21, ωστόσο, τα αποτελέσματα της μείωσης του FGF21 στο ήπαρ

παραμένουν προς διευκρίνιση. Επομένως, αυτό είναι επί του παρόντος ένα ερευνητικό hotspot (Lin et al, 2013).

1.5. Δράσεις της FGF21 στον λιπώδη ιστό

1.5.1 Ενεργοποίηση πρόσληψης γλυκόζης

Για πρώτη φορά το 2005, ο Kharitonov et al και η ομάδα του διαπίστωσαν ότι η ανθρώπινη FGF21 διεγείρει την πρόσληψη γλυκόζης σε διαφοροποιημένα λιποκύτταρα ποντικού, αλλά και σε ανθρώπινα πρωτογενή λιποκύτταρα. Η επίδραση αυτή δεν ανιχνεύθηκε σε άλλους κυτταρικούς τύπους που εξετάσθηκαν. Η δράση αυτή της FGF21 φαίνεται να είναι ανεξάρτητη από την ινσουλίνη. Σε αντίθεση με την ινσουλίνη, η FGF21 δεν έχει καμία επίδραση στον μεταφορέα γλυκόζης GLUT4, αλλά προκαλεί την έκφραση του GLUT1 μέσω της μεταγραφικής ενεργοποίησης. Με την χορήγηση FGF21 μέσω ένεσης σε ποντικούς, παρατηρήθηκε αποκλειστικά στον λευκό λιπώδη ιστό αύξηση του mRNA του πρωτεϊνικού υποδοχέα GLUT1. Η επαγόμενη από FGF21 πρόσληψη γλυκόζης αμβλύνεται στο λιπώδη ιστό παχύσαρκων ποντικών σε σύγκριση με τους νορμοβαρείς μάρτυρες, γεγονός που υποδηλώνει την ύπαρξη ανθεκτικότητας σε FGF21 στην παχυσαρκία. Ωστόσο, το εάν η επαγόμενη από το FGF21 πρόσληψη γλυκόζης ευθύνεται για την ιδιότητα της FGF21 να μειώνει τη γλυκόζη παραμένει να καθορισθεί (Kharitonov et al, 2005).



Εικόνα 1.4. Απόκριση σε δόσεις FGF21 (A) σε λιποκύτταρα ποντικού και (B) σε ανθρώπινα λιποκύτταρα, ως προς την πρόσληψη γλυκόζης (Kharitonov et al, 2005).

Η έγχυση FGF21 σε ποντικούς ob/ob και db/db, καθώς και σε διαβητικούς αρουραίους Zucker (ZDF rat – Zucker Diabetic Fatty rat) επανέφερε τα επίπεδα γλυκόζης αίματος και τριγλυκεριδίων πλάσματος στις φυσιολογικές τιμές, παρουσιάζοντας δοσοεξαρτώμενη

δράση. Η ένεση με FGF21 βελτίωσε επίσης την ευαισθησία στην ινσουλίνη και την κάθαρση γλυκόζης, χωρίς ενδείξεις υπογλυκαιμικών επιδράσεων. Τα διαγονιδιακά ποντίκια FGF21 ήταν άπαχα, είχαν χαμηλότερα επίπεδα γλυκόζης νηστείας, ήταν ανθεκτικά στην προκληθείσα από τη διατροφή παχυσαρκία και δεν εμφάνισαν όγκους ή δεν έδειξαν άλλες υπερπλασίες ιστού έως την ηλικία των 10 μηνών. Οι ερευνητές κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι η FGF21 είναι ένας μεταβολικός παράγοντας με χαρακτηριστικά κατάλληλα για αποτελεσματική θεραπεία του διαβήτη (Kharitonov et al, 2005).

1.5.2. Ρύθμιση λιπόλυσης

Μια μελέτη σε λιποκύτταρα ποντικού έδειξε ότι η θεραπεία με ανασυνδυασμένη FGF21 αυξάνει τη λιπόλυση (Inagaki et al, 2007). Αντίθετα, μια άλλη αναφορά διαπίστωσε ότι η χρόνια θεραπεία των λιποκυττάρων ποντικού ή ανθρώπινων λιποκυττάρων είτε με FGF21 μυοειδούς είτε με ανθρώπινη FGF21 για μια περίοδο 3 ημερών δεν έχει προφανείς επιδράσεις στην απελευθέρωση της βασικής γλυκερόλης, αλλά οδηγεί σε μια αξιοσημείωτη εξασθένηση της προκαλούμενης από νοραδρεναλίνη λιπόλυση (Arner et al, 2008). In vitro, η FGF21 αναστέλλει επίσης τη λιπόλυση στα λιποκύτταρα κατά τη διάρκεια βραχυχρόνιας χορήγησης και μειώνει τη συνολική δραστικότητα της λιπάσης (Li et al, 2009).

Η ανασταλτική επίδραση της FGF21 στη λιπόλυση επιβεβαιώνεται και από μία ακόμα μελέτη που δείχνει ότι η FGF21 καταστέλλει την προκαλούμενη από αυξητική ορμόνη λιπόλυση μέσω μηχανισμού αρνητικής ανατροφοδότησης (Chen et al, 2011). Πιο συγκεκριμένα, σε απόκριση στην νηστεία και στην πείνα, η αυξητική ορμόνη απελευθερώνεται από την υπόφυση για να διεγείρει τη λιπόλυση στα λιποκύτταρα, με στόχο την απελευθέρωση των ελεύθερων λιπαρών οξέων, τα οποία με τη σειρά τους επάγουν ηπατική παραγωγή FGF21 μέσω ενεργοποίησης της PPARα. Η αυξημένη FGF21 με τη σειρά της δρα ως ανασταλτικός παράγοντας για να τερματίσει την προκαλούμενη από αυξητική ορμόνη λιπόλυση στα λιποκύτταρα. Μια τέτοια ρύθμιση όχι μόνο βοηθά στη διατήρηση της ισορροπίας της κατανομής των λιπιδίων μεταξύ του ήπατος και του λιπώδους ιστού, αλλά επίσης αποτρέπει την εκδήλωση τοξικότητας λόγω παρατεταμένης διατήρησης των ελεύθερων λιπαρών οξέων σε υψηλά επίπεδα. Αυτά τα ευρήματα επίσης υποδεικνύουν ότι η αύξηση της ευαισθησίας στην ινσουλίνη που προκαλεί η FGF21 μπορεί να αποδοθεί στην ικανότητά της να αναστέλλει την υπερβολική αύξηση των ελεύθερων λιπαρών οξέων που επάγεται από τις λιπολυτικές ορμόνες όπως η αυξητική ορμόνη. Η κατασταλτική επίδραση

της FGF21 στη λιπόλυση κατά τη διάρκεια νηστείας υποστηρίζεται επίσης από πρόσφατη αναφορά σε ποντίκια με απενεργοποιημένη FGF21. Ωστόσο, αυτή η μελέτη δείχνει επίσης ότι η FGF21 μπορεί να παίζει έναν αντίθετο ρόλο κατά τη διάρκεια της μη νηστείας (Hotta et al, 2009).

Στους ανθρώπους, το 24ωρο προφίλ των κυκλοφορούντων ελεύθερων λιπαρών οξέων μοιάζει πολύ με αυτό της FGF21. Υπάρχει ισχυρή θετική συσχέτιση μεταξύ των μέγιστων συγκεντρώσεων κυκλοφορούντων ελεύθερων λιπαρών οξέων και της FGF21 κατά τη διάρκεια τόσο της ημέρας όσο και της νύχτας. Είναι αξιοσημείωτο ότι ο χρόνος αιχμής των κυκλοφορούντων ελεύθερων λιπαρών οξέων προηγείται εκείνου της FGF21 κατά περίπου 3-4 ώρες, παρατήρηση που ταιριάζει καλά με την *in vitro* παρατήρηση ότι η επώαση ανθρώπινων ηπατοκυττάρων με λιπαρά οξέα για αυτή την περίοδο επάγει την παραγωγή της FGF21. Αυτή η σχέση ανατροφοδότησης ενδέχεται να επηρεάζει τον καρδιακό ρυθμό και των δύο παραγόντων στον άνθρωπο (Yu et al, 2011).

1.5.3 Ρύθμιση PPAR-γ

Η διαπίστωση ότι η FGF21 είναι ένας αυτοκρινής παράγοντας του λιπώδους ιστού, με δυνατότητα να επαχθεί από την διατροφική κατάσταση ώστε να λειτουργήσει σαν ρυθμιστής της δραστηριότητας των υπεροξειδωσωμάτων μέσω του υποδοχέα PPAR-γ, έγινε από την ομάδα του Dutchak το 2012. Αξιοσημείωτα, η έκφραση του FGF21 στα ανθρώπινα λιποκύτταρα αυξάνεται στην κατάσταση τροφοδοσίας και μειώνεται στην κατάσταση νηστείας, ένα σχήμα αντίθετο από εκείνο στα ηπατοκύτταρα. Η μελέτη αυτή έδειξε ότι η FGF21 είναι βασικός μεσολαβητής των φυσιολογικών και φαρμακολογικών δράσεων του PPAR-γ. Οι ποντικοί με εξουδετερωμένη FGF21 εμφάνισαν προβληματική μεταγωγή σήματος PPAR-γ, η οποία οδήγησε σε μειωμένο σωματικό λίπος και μειωμένη έκφραση των γονιδίων των οποίων η έκφραση εξαρτάται από τον PPAR-γ. Η χορήγηση FGF21 αποκατέστησε τη δραστηριότητα της PPAR-γ. Αυτό το απροσδόκητο εύρημα υποδηλώνει ότι η FGF21 έχει δύο ξεχωριστές φυσιολογικές λειτουργίες: μία ως ενδοκρινικός παράγοντας που εκκρίνεται από το ήπαρ για να συντονίσει την προσαρμοστική απόκριση σε νηστεία και πείνα, και μία ως αυτοκρινής παράγοντας που επάγεται στο λευκό λιπώδη ιστό κατά τη διάρκεια της μη νηστείας για να ρυθμίζει τη λειτουργία των λιποκυττάρων (Dutchak et al, 2012).

1.5.4. Ρύθμιση θερμογένεσης φαιού λιπώδους ιστού

Ένα αυξανόμενο σύνολο στοιχείων υποδηλώνει ότι η FGF21 δρα ως σημαντικός θερμογονικός ρυθμιστής μέσω των αυτοκρινών της λειτουργιών στα φαιά λιποκύτταρα. Η έκφραση της FGF21 στα φαιά λιποκύτταρα των ποντικών είναι σχετικά υψηλή σε σύγκριση με τα λευκά λιποκύτταρα και προκαλείται έντονα είτε από το ψύχος είτε από β-αδρενεργικούς αγωνιστές. Ειδικότερα, το ψύχος αυξάνει την κυκλοφορία της FGF21 χωρίς να επηρεάζει την έκφραση του ηπατικού FGF21, γεγονός που υποδηλώνει ότι ο φαιός λιπώδης ιστός γίνεται η κύρια πηγή κυκλοφορίας της FGF21 υπό αυτήν την κατάσταση. Η έγχυση FGF21 σε νεογνά ποντίκια σε νηστεία ενίσχυσε την έκφραση των γονιδίων που εμπλέκονται στη μιτοχονδριακή οξείδωση, τη μεταφορά γλυκόζης και τη θερμική ενεργοποίηση του φαιού λίπους, με σύγχρονη αύξηση θερμοκρασίας σώματος. Ο Hondares και η ομάδα του παρατήρησαν ότι σε διαφοροποιημένα φαιά λιποκύτταρα ποντικού σε καλλιέργεια, η FGF21 αύξησε την έκφραση των θερμογενών γονιδίων, προκάλεσε υψηλότερη ολική και μη συζευγμένη αναπνοή, καθώς και ενισχυμένη οξείδωση γλυκόζης. Η ομάδα του Hondares κατέληξε στο συμπέρασμα ότι η FGF21 ενεργοποιεί τη θερμογένεση του φαιού λιπώδη ιστού κατά τη διάρκεια της ωρίμανσης από έμβρυο σε νεογνό (Hondares et al, 2010).

Ωστόσο, τα ποντίκια με απενεργοποιημένη FGF21 εμφανίζουν παρόμοιο (Potthoff et al, 2009) ή ακόμη ελαφρώς μειωμένο (Dutchak et al, 2012) σωματικό βάρος και λιπώδη μάζα σε σύγκριση με ποντίκια άγριου τύπου. Οι φυσιολογικές λειτουργίες της FGF21 στον φαιό λιπώδη ιστό χρειάζονται περαιτέρω διερεύνηση.

1.6. Δράσεις του FGF21 στο εγκέφαλο

Αν και δεν εκφράζεται στον εγκέφαλο, ο FGF21 διέρχεται από τον αιματοεγκεφαλικό φραγμό με απλή διάχυση. Η χορήγηση FGF21 στις εγκεφαλικές κοιλίες αυξάνει την ενεργειακή δαπάνη και βελτιώνει την ευαισθησία στην ινσουλίνη σε παχύσαρκους αρουραίους, ενεργοποιώντας έτσι την αλληλεπίδραση σήματος μεσολαβούμενη από FGF21 μεταξύ του εγκεφάλου και των περιφερικών ιστών του. Έτσι, ο FGF21 δρα άμεσα στον εγκέφαλο (Liang et al, 2014; Yang et al, 2012; Sarruf et al, 2010).

1.6.1. Ρυθμιστικοί μηχανισμοί του FGF21 στον εγκέφαλο

Στον υποθάλαμο, ο FGF21 επηρεάζει τα επίπεδα έκφρασης δύο σημαντικών νευροπεπτιδίων, συγκεκριμένα του παράγοντα απελευθέρωσης κορτικοτροπίνης (CRF) και της

αγγειοπρεσίνης αργινίνης (AVP) στον εγκέφαλο. Ο FGF21 επάγει έκφραση της CRF στον υποθάλαμο. Έχει παρατηρηθεί ότι οι αναστολείς του υποδοχέα της CRF αποκλείουν πλήρως τη διέγερση που προκαλείται από το FGF21. Συνεπώς, η επαγωγική δράση του FGF21 στην CRF θεωρείται ως ένας μηχανισμός με τον οποίο ο FGF21 προάγει τα γλυκοκορτικοειδή, τη θερμογένεση και την απώλεια βάρους. Αντίστροφα, η μακροχρόνια θεραπεία των ποντικών (εκτός από εκείνους με απώλεια βάρους που προκαλείται από CRF) με FGF21 μπορεί επίσης να αναστείλει την έκφραση της AVP στον υπερκασιασμικό πυρήνα. Στον υποθάλαμο πεινασμένων ποντικών με σίγαση της βKlotho, το επίπεδο έκφρασης mRNA του AVP είναι αυξημένο. Σε θηλυκούς ποντικούς, η μείωση της ρύθμισης του AVP μπορεί να μειώσει το επίπεδο της ωχρινοτρόπου ορμόνης που εκκρίνεται στην υπόφυση και να μειώσει την ωορρηξία, εμποδίζοντας έτσι την αναπαραγωγή (Owen et al, 2014; Owen et al, 2013; Bookout et al, 2013).

Ωστόσο, η συγκεκριμένη θέση της προκαλούμενης από CRF δράσης του FGF21 στον υποθάλαμο παραμένει άγνωστη. Μια πρόσφατη μελέτη κατέδειξε ότι η βKlotho εκφράζεται στους νευρώνες της CRF του παραφaniaίου πυρήνα (PVN). Σε αυτή τη θέση, ο FGF21 επάγει έκφραση CRF ενεργοποιώντας τον παράγοντα μεταγραφής, CREB. Επομένως, ο FGF21 στον υποθάλαμο προκαλεί επίσης άμεσα ή έμμεσα τις δράσεις του CRF (Wu et al, 2011; Liang et al, 2014).

1.6.2. Επιδράσεις του FGF21 στη μετάδοση σήματος στον εγκέφαλο και τους πεπτιδικούς ιστούς του

Τέσσερις τύποι FGFR υπάρχουν εκτενώς στο νευρικό σύστημα. Ωστόσο, η έκφραση της βKlotho στο νευρικό σύστημα είναι περιορισμένη. Στον υποθάλαμο, η βKlotho εκφράζεται στον υπερκασιακό πυρήνα, στην υπόφυση, στον πυθμένα του πυρήνα της πίσω πολικής περιοχής και στο σημείο του οπίσθιου εγκεφάλου. Αυτές οι περιοχές αποτελούν το ραχιαίο παρασκεύασμα, το οποίο είναι μια κύρια ενσωματωμένη όψη του αυτόνομου νευρικού συστήματος (Liang et al, 2014; Owen et al, 2013).

Ο εγκέφαλος μεσολαβεί για ορισμένες λειτουργίες του FGF21 στο κυκλοφορικό σύστημα. Σε ποντικούς, διάφορες χρόνιες επιδράσεις του FGF21 στην παραγωγή κετονικών σωμάτων και στην γονιμότητα των θηλυκών ποντικών απαιτούν την εμπλοκή της βKlotho πρωτεΐνης στο κεντρικό νευρικό σύστημα. Περαιτέρω έρευνα επιβεβαίωσε ότι ο FGF21 διεγείρει την απελευθέρωση CRF από το νευρικό σύστημα για να ενεργοποιήσει το

συμπαθητικό νευρικό σύστημα, προκαλώντας έτσι οξείδωση λιπαρών οξέων, θερμογένεση και λιπόλυση που συνοδεύουν την ηπατική κετογένεση. Αυτά τα αποτελέσματα δείχνουν γιατί εξαφανίζονται ορισμένες επιδράσεις του FGF21 απουσία της βKlotho από το νευρικό σύστημα των ποντικών (Bookout et al, 2013; Adams et al, 2012). Συγκεκριμένα, η δραστηριότητα της μείωσης της γλυκόζης στο αίμα του FGF21 είναι άθικτοι σε ποντίκια με σίγαση της βKlotho στον εγκέφαλο, αλλά αναστέλλεται πλήρως σε ποντικούς με συστηματική σίγαση της βKlotho (Ding et al, 2012; Adams et al, 2012). Αυτό το αποτέλεσμα αποκάλυπτει ότι άλλοι μεταβολικοί ιστοί μεσολαβούν για τις λειτουργίες μείωσης της γλυκόζης του FGF21.

1.7. Δράσεις της FGF21 στο κεντρικό νευρικό σύστημα

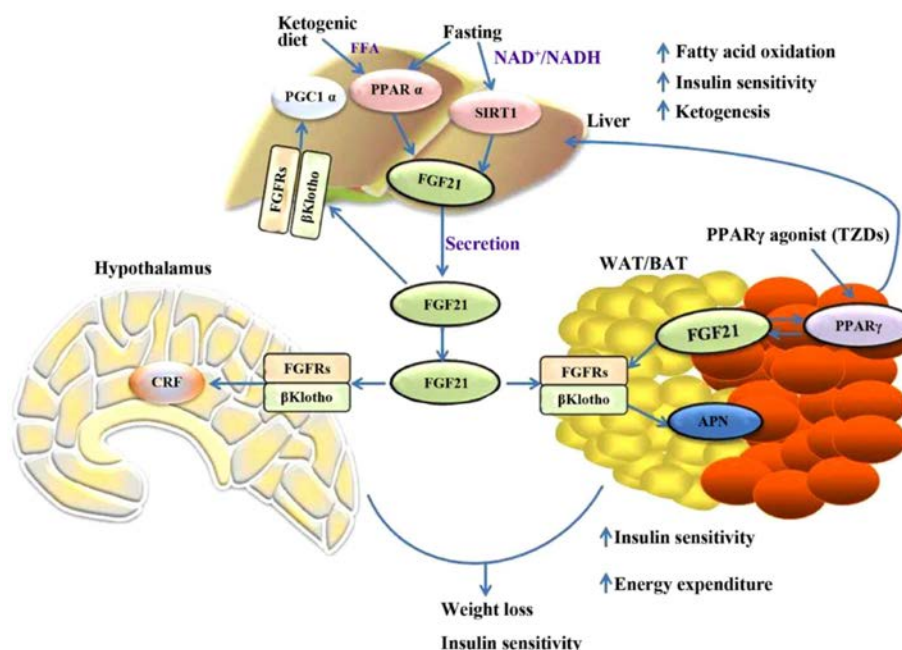
Η FGF21 μπορεί να διασχίσει τον αιματοεγκεφαλικό φραγμό και να εισέλθει στον εγκέφαλο (Hsueh et al, 2007). Η μακροχρόνια έγχυση της FGF21 στην πλευρική εγκεφαλική κοιλία αυξάνει την πρόσληψη τροφής, την ενεργειακή δαπάνη και την ευαισθησία στην ινσουλίνη σε αρσενικούς παχύσαρκους αρουραίους (Sarruf et al, 2010), υποδηλώνοντας ότι οι μεταβολικές επιδράσεις της FGF21 διαμεσολαβούνται εν μέρει μέσω των δράσεων της στο κεντρικό νευρικό σύστημα. Μέσω της FGF21 επίσης ενδέχεται να μεταδίδεται το σήμα ενεργοποίησης PPARα από το ήπαρ προς τον εγκέφαλο, ώστε να επαχθεί η κατάσταση μειωμένης φυσιολογικής δραστηριότητας σε ζώα που χαρακτηρίζονται από μειωμένη θερμοκρασία σώματος και μεταβολικό ρυθμό ως προσαρμοστική απόκριση εξοικονόμησης ενέργειας (Ishida, 2009).

Εκτός από την αύξηση πρόσληψης υδατανθράκων από τους περιφερικούς ιστούς, η FGF21 μπορεί επίσης να προκαλέσει, μέσω επίδρασης στον υποθάλαμο, την καταστολή της πρόσληψης υδατανθράκων από τη δίαιτα, καθώς τα επίπεδα γλυκόζης στο πλάσμα αυξάνονται. Έρευνα σε ποντίκια έδειξε ότι άτομα με απουσία FGF21 εμφανίζουν αυξημένη προτίμηση στη ζάχαρη και ότι η FGF21 καταστέλλει την πρόσληψη απλών σακχάρων (Von Holstein-Rathlou et al, 2016). Αυτά τα δεδομένα υποδεικνύουν ότι η ρύθμιση της πρόσληψης μακροθρεπτικών συστατικών ενδέχεται να πραγματοποιείται από την FGF21. Η προτίμηση στα γλυκά μεσολαβείται από ενδογενή οπιοειδή και ντοπαμινεργικά συστήματα, τα οποία εμπλέκονται στις ιδιότητες επιβράβευσης των ναρκωτικών (Levine et al, 2016). Απαιτούνται περαιτέρω έρευνες για να καθοριστεί εάν η FGF21 μπορεί να επηρεάσει την αυτο-χορήγηση άλλων τύπων επιβλαβών ουσιών.

1.8. Δράσεις της FGF21 σε άλλους ιστούς

Ο FGF21 εκφράζεται επίσης στα ενδοκρινικά εξειδικευμένα παγκρεατικά α και β κύτταρα σε προκαλούμενο από χημικά παγκρεατικό τραύμα. Ωστόσο, οι φυσιολογικές λειτουργίες του FGF21 σε χημικά επαγόμενες παγκρεατικές παθήσεις παραμένουν άγνωστες. Σε απομονωμένα κύτταρα παγκρέατος, ο FGF21 αυξάνει την ποσότητα ινσουλίνης και την έκκριση ινσουλίνης που προκαλείται από διέγερση γλυκόζης, αναστέλλοντας έτσι την έκκριση γλυκογόνου και ασκώντας προστατευτικά αποτελέσματα σε ποντικούς με παγκρεατίτιδα. Επιπλέον, μελέτες ανέφεραν ότι ο FGF21 ρυθμίζει τη φλεγμονή και τη βλάβη που προκαλείται από παγκρεατίτιδα. Περαιτέρω μελέτες αναγνώρισαν τον μεταγραφικό παράγοντα, *a15* (*BHLHA15*, επίσης ονομαζόμενος *MIST1*) ως αυξητικό ρυθμιστή του FGF21 και έδειξαν ότι η εξάλειψη του γονιδίου *MIST1* οδηγεί σε αξιοσημείωτη μείωση των επιπέδων παγκρεατικού FGF21 με επιγενετική σίγαση, με αποτέλεσμα την αυξημένη ευαισθησία στην παγκρεατίτιδα (Johnson et al, 2009, Johnson et al, 2014). Επιπλέον, ο FGF21 μπορεί να συμβάλλει στην αυξημένη επιβίωση των μεταμοσχευμένων παγκρεατικών κυττάρων, η οποία αποδείχθηκε σε ένα μοντέλο διαβήτη που προκαλείται από στρεπτοζοτοκίνη. Ο FGF21 μπορεί να προάγει την β-κυτταρική επιβίωση και να προστατεύει παγκρεατικά κύτταρα αρουραίου και κύτταρα ινσουλίνης που παράγουν ινσουλίνη από τη γλυκολιτοτοξικότητα και από την επαγόμενη από κυτοκίνη απόπτωση. Ωστόσο, ο ανθρώπινος FGF21 αποτυγχάνει να μεταβάλλει την έκκριση ινσουλίνης και γλυκαγόννης από παγκρεατικά κύτταρα που απομονώνονται από υγιή ποντίκια, αν και ο FGF21 διεγείρει έκκριση ινσουλίνης σε *ex vivo* κύτταρα που απομονώνονται από διαβητικούς ποντικούς. Τα κύτταρα από παχύσαρκους διαβητικούς *db / db* ποντικούς απέτυχαν να ανταποκριθούν στον FGF21, πιθανώς ως συνέπεια των μειωμένων επιπέδων έκφρασης της *βKlotho* πρωτεΐνης (Uonaga et al, 2010; Kharitonov et al, 2013; So et al, 2013).

Επιπλέον, η δυσλειτουργία των μιτοχονδρίων στον σκελετικό μυ προκαλεί την έκφραση του FGF21 ενεργοποιώντας ATF4. Έτσι, ο FGF21 είναι σημαντικός στο μεταβολικό δίκτυο. Η *Εικόνα 1.5* περιγράφει συνοπτικά τους μεταβολικούς κανονισμούς του FGF21 στους διαφορετικούς ιστούς και τις αλληλεπιδράσεις μεταξύ τους.



Εικόνα 1.5. Περίληψη των μεταβολικών δράσεων του FGF21 στους ιστούς του ήπατος, του λιπώδους ιστού και του νευρικού συστήματος.

1.9. Μετάδοση σημάτων και αντίσταση

1.9.1 Μετάδοση σημάτων της FGF21

Το 2007, ο Ogawa και οι συνεργάτες του επεσήμαναν ότι, σε ενήλικα ποντίκια, για να μεταδοθούν τα σήματα FGF μεταξύ κυτταρικών τύπων από τον παράγοντα FGF23 απαιτείται η πρωτεΐνη Klotho. Όμως, μέσω ανάλυσης ανοσοστυπώματος, διαπίστωσαν ότι τα νεφρικά κύτταρα ανθρώπινου εμβρύου τα οποία παρουσίαζαν υπερέκφραση πρωτεΐνης β-Klotho, αλλά όχι υπερέκφραση Klotho, ανταποκρίνονταν στην FGF21 (Ogawa et al, 2007). Σε αντίθεση με την πανταχού παρούσα μορφή έκφρασης των FGFRs, η έκφραση β-Klotho περιορίζεται σε έναν αριθμό ιστών όπως ο λιπώδης ιστός, το ήπαρ, ο εγκέφαλος και το πάγκρεας (Fon Tacer et al, 2010), ο οποίος μπορεί να εξηγήσει την επιλεκτικότητα ιστού των στόχων FGF21. Η ανάλυση ανοσοκατακρήμνισης έδειξε ότι ο FGF21 απαιτεί την β-Klotho ώστε να δεσμεύεται με FGFR1c και FGFR4. Η FGF21 διεγείρει την πρόσληψη γλυκόζης σε λιποκύτταρα, τα οποία οι ερευνητές βρήκαν ότι εκφράζουν β-Klotho, αλλά όχι και σε πρόδρομα λιποκύτταρα, τα οποία δεν εξέφραζαν την β-Klotho. Η καταστροφή της β-Klotho από το siRNA στα λιποκύτταρα ακύρωσε την επίδραση της FGF21 στην πρόσληψη γλυκόζης. Όταν έγινε ένεση με FGF21 σε ποντικούς, τα ποντίκια παρουσίασαν φωσφορλίωση Erk1 και Erk2 κινασών σε κύτταρα λευκού λιπώδη ιστού, ο οποίος εξέφραζε β-Klotho, αλλά όχι σε νεφρικά κύτταρα ή κύτταρα σκελετικών μυών, που δεν εξέφραζαν β-

Klotho. Η φωσφορυλίωση στους νεφρούς εμφανίστηκε μόνο ως απάντηση στην FGF23. Ο Ogawa και η ομάδα του κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι η β-Klotho είναι ένας βασικός συμπαράγοντας για τη δραστηριότητα της FGF21 (Ogawa et al, 2007).

Ωστόσο, μια άλλη μελέτη σε ποντίκια με απενεργοποιημένη β-Klotho απέδειξε ότι η β-Klotho δεν είναι απαραίτητη για την μετάδοση σημάτων της FGF21 στον λιπώδη ιστό *in vivo*, υποδηλώνοντας την ύπαρξη ανεξάρτητων από την β-Klotho οδών σηματοδότησης με την εμπλοκή άγνωστων συμπαράγοντων (Tomiyama et al, 2010). Ωστόσο, καθώς ούτε οι φαρμακολογικές επιδράσεις ούτε οι φυσιολογικές δράσεις του FGF21 έχουν αξιολογηθεί συστηματικά σε ποντικούς με απενεργοποιημένη β-Klotho, ο ρόλος της β-Klotho στη μετάδοση σημάτων της FGF21 χρειάζεται περαιτέρω διερεύνηση.

1.9.2. Μεταβολικό σύνδρομο και αντίσταση στην FGF21

Το 2008, η ομάδα του Zhang διαπίστωσε ότι τα επίπεδα FGF21 ήταν σημαντικά αυξημένα σε 98 υπέρβαρα και 29 παχύσαρκα άτομα Κινεζικής καταγωγής, σε σύγκριση με 105 φυσιολογικού σωματικού βάρους άτομα. Μετά από προσαρμογή για τον δείκτη ηλικίας και σωματικής μάζας, η FGF21 του ανθρώπινου ορού συσχετίστηκε θετικά με το λίπος, την ινσουλίνη νηστείας και τα τριγλυκερίδια, αλλά αρνητικά με την HDL χοληστερόλη. Η ανάλυση λογιστικής παλινδρόμησης κατέδειξε μια ανεξάρτητη σύνδεση μεταξύ της FGF21 ορού και του μεταβολικού συνδρόμου. Με βάση αυτές τις παρατηρήσεις, ο Zhang κατέληξε στο συμπέρασμα ότι η αυξημένη FGF21 ορού μπορεί να είναι ένας ανεξάρτητος παράγοντας κινδύνου για το μεταβολικό σύνδρομο και υπέθεσε ότι η παράδοση αύξηση του FGF21 στον ορό σε παχύσαρκα άτομα μπορεί να εξηγηθεί με αντισταθμιστική απόκριση ή αντίσταση στην FGF21 (Zhang et al, 2008).

Κεφάλαιο 2. Ο FGF21 ως ρυθμιστής του μεταβολισμού

2.1. FGF21 και Μεταβολισμός

Ο FGF21 είναι μια ορμόνη που ρυθμίζει σημαντικές μεταβολικές οδούς. Ο FGF21 εκφράζεται σε διάφορα μεταβολικά δραστικά όργανα και αλληλεπιδρά με διαφορετικούς ιστούς. Η λειτουργία FGF21 είναι περίπλοκη και πολυσυζητημένη εξαιτίας των

διαφορετικών τρόπων παραγωγής και δράσεων. Η έκφραση και έκκριση FGF21 από τους σκελετικούς μύες συμβαίνει τόσο σε ποντίκια όσο και σε ανθρώπους κατά τη διάρκεια των διαφορετικών φυσιολογικών και παθολογικών τους καταστάσεων, συμπεριλαμβανομένης της άσκησης και της μιτοχονδριακής δυσλειτουργίας. Σε αυτή την ανασκόπηση θα συζητήσουμε τα πρόσφατα ευρήματα που προσδιορίζουν τον FGF21 ως ευεργετική ή / και επιβλαβή κυτοκίνη που αλληλεπιδρά ως αυτοκρινή ή ενδοκρινή, για να ρυθμίζει την κυτταρική λειτουργία, το μεταβολισμό και τη γήρανση.

Σχεδόν το 40-50% της συνολικής μάζας σώματος σε μη παχύσαρκα θηλαστικά αποτελείται από σκελετικούς μύες. Οι γραμμωτοί μύες είναι δυναμικοί ιστοί που υφίστανται προσαρμοστικές αλλαγές στις δομικές ή λειτουργικές τους ιδιότητες για να αντιμετωπίσουν νέες προκλήσεις. Οι ιστοί των σκελετικών μυών έχουν γενικά θεωρηθεί ως καθαρά κινητικά όργανα, αλλά στη δεκαετία του 2000 αναγνωρίστηκε μια εκκριτική λειτουργία για αυτούς τους μύς. Το 2003 προτάθηκε ότι η IL-6 και άλλες κυτοκίνες προκλήθηκαν και εκκρίθηκαν από τους σκελετικούς μύς στην κυκλοφορία κατά τη διάρκεια της σωματικής δραστηριότητας. Τα αυξημένα στοιχεία υπογραμμίζουν ότι οι σκελετικοί μύες εκκρίνουν μια μεγάλη ποικιλία μορίων όπως οι κυτοκίνες, το miRNA, τα εξωσώματα, το mtDNA κατά τη διάρκεια της άσκησης, αλλά και σε διαφορετικές επίκτητες ή κληρονομικές ασθένειες (Inagaki et al, 2007; Alipoor et al, 2016; Hoffmann and Weigert, 2017; Delezie and Handschin, 2018; Safdar and Tarnopolsky, 2018). Έτσι, οι σκελετικοί μύες είναι κατανοητό ότι αποτελούν πηγή μυοκινών, μεταβολιτών και μυϊκών μορίων. Μεσολαβούν στην επικοινωνία μεταξύ των μακρινών οργάνων για την προσαρμογή του μεταβολισμού ολόκληρου του σώματος σε θρεπτικές και περιβαλλοντικές πιέσεις (Rai and Demontis, 2016; Whitham and Febbraio, 2016). Αυτή η συστημική ρύθμιση βοηθά να εξηγηθεί γιατί η σωματική δραστηριότητα και συνεπώς η συστολή των μυών προκαλεί διάφορα ευεργετικά αποτελέσματα σε μια ποικιλία διαταραχών. Ωστόσο, η φύση και η λειτουργία των περισσότερων μυοκινών και μυϊκών μορίων παραμένουν ασαφή. Σε αυτήν την επισκόπηση, θα επικεντρωθούμε στον παράγοντα ανάπτυξης FGF21. Αρκετές μελέτες έχουν αποδείξει ότι ο FGF21 διεγείρει την οξείδωση των λιπαρών οξέων, την παραγωγή κετονικών σωμάτων και την αναστολή της λιπογένεσης (Fisher and Maratos-Flier, 2016; Staiger et al, 2017). Επομένως, το εύρημα ότι ο FGF21 ρυθμίζει το μεταβολισμό γλυκόζης-λιπιδίου έχει καταστήσει αυτόν έναν ελπιδοφόρο θεραπευτικό στόχο για μεταβολική νόσο. Ωστόσο, μερικές μελέτες έχουν δείξει ότι η διαχείριση του FGF21 μπορεί να εμποδίσει την διατροφική παχυσαρκία

και την αντοχή στην ινσουλίνη σε ποντίκια και ανθρώπους (Fisher and Maratos-Flier, 2016; Staiger et al, 2017). Υπάρχει μια παραδόξως θετική συσχέτιση με τα αυξημένα επίπεδα FGF21 στον ορό και μεταβολικές διαταραχές όπως η παχυσαρκία, ο διαβήτης, οι μιτοχονδριακές ασθένειες και η γήρανση (Staiger et al, 2017; Tezze et al, 2017). Είναι ενδιαφέρον ότι όλες αυτές οι συνθήκες έχουν απώλεια μυών ως κοινό παράγοντα. Επιπλέον, αρκετές αναφορές έδειξαν ότι ένας παθοφυσιολογικός ρόλος για τον FGF21 περιλαμβάνει:

- Απώλεια οστικής μάζας (Oost et al, 2019), και μειωμένη οστική πυκνότητα (Wei et al, 2012; Fazeli et al, 2015).
- Δρα ως μυοκίνη που προκαλείται από στρες, η οποία απελευθερώνεται κατά τη διάρκεια της λιμοκτονίας, του στρες και της μιτοχονδριακής δυσλειτουργίας (Izumiyama et al, 2008; Keipert et al, 2013; Pereira et al, 2017; Tezze et al, 2017; Rodríguez-Nuevo et al, 2018).

Έτσι, ο FGF21 είναι μια ισχυρή και αμφισβητήσιμη ορμόνη που ανήκει στον κατάλογο των παραγόντων που ελέγχουν την ενεργειακή ομοιόσταση και τον μεταβολισμό. Όπως περιγράφεται παρακάτω, οι ευεργετικές και οι επιβλαβείς δράσεις του FGF21 επηρεάζονται από πολλαπλές μεταβλητές περιλαμβανομένης της πηγής ιστού, της συγκέντρωσης στον ορό, της ηλικίας των ζώων και της παρουσίας συνεργατικών παραγόντων.

Η οικογένεια αυξητικών παραγόντων ινοβλαστών (FGF) είναι μια ομάδα πολυλειτουργικών μορίων σηματοδότησης που έχουν μια ευρεία ποικιλία λειτουργιών. Η οικογένεια περιλαμβάνει 22 συγγενείς πρωτεΐνες, καθεμία από τις οποίες ομαδοποιούνται σε υποοικογένειες που βασίζονται σε γενετική και λειτουργική ομοιότητα. Οι Nishimura et al (2000) ταχτοποίησαν το γονίδιο FGF21 σε έμβρυα ποντικού με RT-PCR. Κάνοντας αυτό το 21ο ανακαλυφθέν γονίδιο Fgf, το οποίο αργότερα συμπεριλήφθηκε στην υποοικογένεια FGF19, μαζί με το FGF15 και το FGF23. Η λειτουργία του FGF21 παρέμεινε εντελώς άγνωστη μέχρι το 2005, όταν προτάθηκε να είναι ένας νέος μεταβολικός ρυθμιστής και ένα πιθανό αντιδιαβητικό φάρμακο (Kharitonov et al, 2005). Οι Kharitonov et al (2005) έδειξαν ότι η χορήγηση του FGF21 μείωσε τη γλυκόζη και τα τριγλυκερίδια σε ένα σχεδόν φυσιολογικό επίπεδο σε ποντίκια. Αυτές οι επιδράσεις επέμειναν έως και 24 ώρες μετά την οποία χορηγήθηκε ο τελευταίος FGF21. Κατά τα επόμενα χρόνια, αρκετές ομάδες διερεύννησαν τον μεταβολικό ρόλο του FGF21 σε ποντίκια. Τα αποτελέσματά τους έδειξαν ότι ο FGF21 μεσολαβεί στην προσαρμοστική απόκριση λιμοκτομής για την επαγωγή της κετογένεσης, της γλυκονεογένεσης, της λιπόλυσης και της β-οξείδωσης των λιπιδίων (Inagaki

et al, 2007; Izumiya et al, 2008). Σε συνάρτηση με τα αποτελέσματα του Kharitonov, η θεραπεία με FGF21 βελτίωσε τις μεταβολικές λειτουργίες σε παχύσαρκα και διαβητικά μοντέλα (Coskun et al, 2008; Xu et al, 2009). Στον άνθρωπο, ο FGF21 είναι μια πρωτεΐνη που προκαλείται από την πείνα και είναι αυξημένη μετά από 7 ημέρες νηστείας και ρυθμίζει τη χρήση της ενέργειας για την προσαρμογή του μεταβολισμού στην ύστερη φάση της απουσίας θρεπτικών ουσιών (Fazeli et al, 2015). Ο FGF21 εκφράζεται σε αρκετούς ιστούς όπως το ήπαρ (Nishimura et al, 2000), τα λιποκύτταρα (Zhang et al, 2008), το πάγκρεας (Johnson et al, 2009) και στον εγκέφαλο όπου περνάει τον αιματοεγκεφαλικό φραγμό (Hsueh et al, 2007). Άλλες μελέτες ανέφεραν την έκφραση του mRNA FGF21 σε όρχεις, γαστρεντερική οδό, εγκέφαλο, σκελετικό μυ, καφέ λιπώδη ιστό (BAT) και καρδιά (Patel et al, 2015). Με βάση τον ρόλο του στο μεταβολισμό της γλυκόζης και των λιπιδίων και την ευρεία έκφραση του ιστού, υποτίθεται ότι ο FGF21 είναι μια ορμόνη ταχείας προσαρμογής στα τρωκτικά (Fazeli et al, 2015). Ωστόσο, πρόσφατα αποδείχθηκε ότι οι FGF21-knockout ποντικοί δεν παρουσιάζουν μειωμένη ανταπόκριση στη νηστεία (Antonellis et al, 2016) υποδηλώνοντας ότι ο FGF21 δεν απαιτείται για τη φυσιολογική απόκριση σε χαμηλές θρεπτικές ουσίες.

2.2. Έκφραση και ρύθμιση του FGF21

Η ρύθμιση του FGF21 είναι περίπλοκη λόγω της διαφορετικής παραγωγής και δράσης στους ιστούς. Το ήπαρ θεωρείται ότι είναι η κύρια θέση της παραγωγής FGF21 (Badman et al, 2007, Inagaki et al, 2007). Οι Badman και Inagaki εμφάνισαν ανεξάρτητα μια διασταυρούμενη συζήτηση μεταξύ σηματοδότησης του FGF21 και της PPARα στο ήπαρ κατά τη νηστεία. Η έκφραση του FGF21 αυξήθηκε σε ποντίκια που είτε έλαβαν τροφή με κετογονόο δίαιτα είτε με νηστεία και σε αυτές τις συνθήκες (Badman et al, 2007; Inagaki et al, 2007). Ωστόσο, αυτό το εύρημα δεν επιβεβαιώθηκε σε άλλες μεταβολικές συνθήκες στις οποίες προκλήθηκε ο FGF21, υποδηλώνοντας ότι άλλοι παράγοντες μεταγραφής θα μπορούσαν επίσης να ρυθμίσουν την έκφραση του ηπατικού FGF21. Πράγματι, βρέθηκε ότι ο FGF21 βρίσκεται υπό τη ρύθμιση της πρωτεϊνικής απόκρισης - Unfolding Protein Response (UPR) στα ηπατοκύτταρα (Schaap et al, 2013; Kim et al, 2015). Kim et al (2015). Οι Kim et al (2015) ξεκίνησαν από την παρατήρηση ότι ο FGF21 αυξήθηκε στο ήπαρ των ασθενών που επηρεάστηκαν από τη στεάτωση και τα μοντέλα ποντικών της παχυσαρκίας ή της μη αλκοολικής λιπαρής ηπατικής νόσου (NAFLD), παρατηρώντας συγχρόνως ότι

ενεργοποιήθηκε ένα στρες ER. Επιπλέον, οι ποντικοί με FGF21 σε σιγαση διαδραμάτισαν επαγωγή των δεικτών έντασης ER σε γονίδια και παρατηρήθηκαν περισσότερη συσσώρευση λιπιδίων στο ήπαρ μετά από θεραπεία με τανικαμυκίνη, ένας αναστολέας της βιοσύνθεσης της γλυκοπρωτεΐνης που προάγει την καταπόνηση ER (Kim et al, 2015). Αρκετές μελέτες έχουν δείξει ότι άλλοι παράγοντες μεταγραφής εμπλέκονται στη ρύθμιση της έκφρασης του ηπατικού FGF21. Οι Adams et al (2010) ανέφεραν ότι ο υποδοχέας ορμόνης θυρεοειδούς β, ο οποίος μεσολαβεί στη δράση της τρι-ιωδοθυρονίνης στο ήπαρ, διεγείρει τη λιπόλυση και την οξείδωση των ηπατικών λιπαρών οξέων μέσω επαγωγής FGF21. Επιπλέον, αρκετοί ερευνητές έχουν υποθέσει ότι η έκφραση του FGF21 ρυθμίζεται από την RARβ (Wang et al, 2010, p. 21; Berry et al, 2012; Tsuchiya et al, 2012; Li et al, 2013). Αυτό συμβαίνει επειδή το μεταβολικό αποτέλεσμα του RARb προσδέματος, ρετινοϊκού οξέος, στην απώλεια βάρους σώματος και στο μεταβολισμό γλυκόζης / λιπιδίου είναι παρόμοιο με το FGF21, αυτό έχει πρόσφατα επιδειχθεί in vitro στο C2C12 (Hirai et al, 2019) αλλά δεν έχει ακόμη επιβεβαιωθεί in vivo. Ο υποδοχέας ρετινοϊκού οξέος (ROR)α εμπλέκεται σε διάφορες φυσιολογικές λειτουργίες, συμπεριλαμβανομένου του ανοσοποιητικού συστήματος, της φλεγμονής και των καρδιακών ρυθμών. Στην προηγούμενη μελέτη, ο συνθετικός RORα / γ αγωνιστής SR1078 διεγείρει την παραγωγή και την έκφραση γονιδίου του FGF21 σε μυοσωλήνες C2C12. Ο FGF21, μέλος της οικογένειας FGF, διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στη ρύθμιση της περιφερικής ανοχής στη γλυκόζη και του μεταβολισμού των λιπιδίων ενώ βελτιώνει την μεταβολική υγεία. Η έκφραση mRNA και η έκκριση του FGF21 ήταν σημαντικά ασθενέστερη σε RORα-σιγασμένα κύτταρα από ότι στα κύτταρα που διαμολύνθηκαν με το μη-στόχευσης siRNA ελέγχου. Επιπρόσθετα, παρατηρήθηκε αυξημένη ρύθμιση της έκφρασης CHOP mRNA και έκφρασης πρωτεϊνών σε μυοσωλήνες C2C12 μετά τη θεραπεία με βαικαλεΐνη. Περαιτέρω, η εξουδετέρωση του RORα εμπόδισε την αύξηση του FGF21 και την αύξηση της ρύθμισης του CHOP σε απόκριση της βαικαλεΐνης σε κύτταρα C2C12. Συλλογικά, αυτά τα αποτελέσματα υποδηλώνουν ότι η βαικαλεΐνη διεγείρει την απόκριση του στρες ER και την έκφραση του FGF21 μέσω ενός μηχανισμού εξαρτώμενου από RORα σε μυοσωλήνες C2C12 και υποδεικνύει το δυναμικό της βαικαλεΐνης ως αποτελεσματική θεραπεία κατά της παχυσαρκίας μέσω της ικανότητάς της να ενισχύει την παραγωγή FGF21 (Hirai et al, 2019). Άλλες αναφορές έχουν δείξει ότι η ηπατική έκφραση του FGF21 είτε ρυθμίζεται θετικά είτε αρνητικά από τον υποδοχέα γλυκοκορτικοειδών (GR) (Patel et al, 2015), την πρωτεΐνη που δεσμεύει το στοιχείο cAMP (CREBH) (Lee et al,

2017), πρωτεΐνη δεσμεύσεως στοιχείου απόκρισης υδατανθράκων (ChREBP) (Iizuka et al, 2009), την PPAR γ (Moyers et al, 2007; Wang et al, 2008) και τον ηπατικό υποδοχέα X (liver X receptor – LXR) (Archer et al, 2012; Uebanso et al, 2012) υπό διάφορες συνθήκες. Οι εξωηπατικοί ιστοί, όπως ο σκελετικός μυός, ο λευκός λιπώδης και ο καφέ λιπώδης ιστός, ρυθμίζουν τον FGF21 μέσω διαφορετικών παραγόντων μεταγραφής. Πράγματι, η ενεργοποίηση του PPAR γ αυξάνει την παραγωγή FGF21 σε λευκό λιπώδη ιστό όπου δρα ως αυτοκρινής ή ενδοκρινικός παράγοντας για τη βελτίωση της δράσης της ινσουλίνης (Dutchak et al, 2012). Στον καφέ λιπώδη ιστό (BAT), ο FGF21 ρυθμίζεται από το ATF2 (Hondares et al, 2011) ενώ ο σκελετικός μυς ελέγχεται από το ATF4 (Kim et al, 2013) και από την οδό σηματοδότησης PI3K-AKT (Izumiya et al, 2008).

2.3. Καθοδική σηματοδότηση του FGF21

Οι εξαρτώμενοι από τον FGF21 υποδοχείς FGF (FGFr) είναι εξαιρετικά περίπλοκοι και αμφιλεγόμενοι. Η πολυπλοκότητά του οφείλεται στο γεγονός ότι ο FGF21 ενεργοποιείται και αποδεσμεύεται σε διαφορετικές καταστάσεις, όπως η το στρες, στην μιτοχονδριακή δυσλειτουργία και στην υποθερμία. Οι *in vitro* μελέτες απέτυχαν να προσδιορίσουν μια άμεση αλληλεπίδραση της υποοικογένειας FGF19 με τον υποδοχέα FGF τους. Αυτό το αρνητικό εύρημα και η πολύ ασθενή συγγένεια δέσμευσης ηπαρίνης αυτών των μελών της οικογένειας υποδηλώνει ότι η υποοικογένεια FGF19 απαιτεί επιπρόσθετους συμπαράγοντες για σταθερή δέσμευση των FGFRs στον ιστό στόχο (Gälman et al, 2008). Το γονίδιο καταστολής της γήρανσης Klotho και β -Klotho είναι πράγματι οι βασικοί συν-υποδοχείς για την ενεργοποίηση και την ενεργοποίηση των FGFRs (Gälman et al, 2008). Το σύμπλοκο FGF21-Klotho δεσμεύει πολλαπλούς FGFRs, συμπεριλαμβανομένων των FGFR1c, -2c, -3c, και -4, τόσο *in vitro* όσο και *in vivo* (Agrawal et al, 2018). Εν τούτοις, το μονοπάτι προς τα κάτω των FGF υποδοχέων είναι ειδικό για τον κάθε ιστό. Σε καλλιεργημένα λιποκύτταρα, η αγωγή με FGF21 ενεργοποιεί το Ras / Raf MAPK και τα ERK1 και ERK2 (Moyers et al, 2007, Ge et al, 2011). Οι μεταγραφικές ανιχνεύσεις στα λιποκύτταρα εντόπισαν ότι οι οδοί σηματοδότησης ERK / MAPK εμπλουτίζονται μετά από χορήγηση FGF21 *in vivo* (Minard et al, 2016). Στο ήπαρ, ο FGF21 ελέγχει θετικά τις οδούς PI3K / AKT, ινσουλινοειδούς αυξητικού παράγοντα 1 (IGF-1) και mTOR, καθώς και την ομοιοστάση τριγλυκεριδίων, την πρόσληψη γλυκόζης, την μεταφορά αμινοξέων και την κατανάλωση ενέργειας (Muisse et al, 2013). Επιπλέον, ο FGF21 αναστέλλει τη δράση της αυξητικής ορμόνης (GH) στα ηπατοκύτταρα

με αποτέλεσμα την αναστολή του STAT5, τη μειωμένη έκφραση, την έκκριση του IGF-I και τη μείωση του σωματικού μεγέθους (Inagaki et al, 2008). Τέλος, ο FGF21 επάγει επίσης την έκφραση του IGFBP1, ενός αναστολέα του IGF1 και του καταστολέα της σηματοδότησης 2 κυτοκίνης, η οποία είναι ένας αρνητικός διαμορφωτής της σηματοδότησης της GH, προάγοντας τον αποκλεισμό του άκρου GH-IGF1 στο ήπαρ. Έχει επίσης αναφερθεί ότι ο FGF21 δρα στο κεντρικό νευρικό σύστημα και στο ραχιαίο παρασκεύασμα του πίσω μοσχεύματος για να ρυθμίσει τον κερκαδικό ρυθμό, ο οποίος είναι σημαντικός για την προσαρμοστική απόκριση λόγω λιμοκτονίας (Bookout et al, 2013).

2.4. Επίπεδα ορού του FGF21 σε πειραματόζωα

Σε δημοσιευμένες μελέτες, οι συγκεντρώσεις FGF21 στον ορό που μετρήθηκαν σε ποντικούς που έλαβαν τροφή τροφοδοσίας κυμαίνονται από 0 έως 3000 ng / mL (Badman et al, 2007; Fisher et al, 2010; Dutchak et al, 2012; Murata et al, 2013; Tezze et al, 2017; Jimenez et al, 2018). Η διαφορά στα αναφερόμενα επίπεδα FGF21 στον ορό μπορεί να εξαρτάται από το στέλεχος των ποντικών, την ηλικία των ζώων, την ώρα της ημέρας κατά την οποία συλλέχθηκε ο ορός, καθώς και τη μεθοδολογία που χρησιμοποιήθηκε για την ποσοτικοποίηση των επιπέδων στον ορό. Αυτό περιπλέκει την ερμηνεία των δεδομένων, αφού η βασική συγκέντρωση FGF21, καθώς και ο αυξανόμενος βαθμός, μπορεί να προκαλέσουν διαφορετικές μεταβολικές δράσεις. Όπως δείχνεται στον Πίνακα 2.1., η αύξηση του FGF21 σε ποντίκια knockout/transgenic συγκριτικά με τα ελεγχόμενα ποντίκια και σε διαφορετικές πειραματικές συνθήκες είναι μάρτυρες σε ένα εύρος από 2 έως 100. Αυτές οι παρατηρήσεις είναι ιδιαίτερα σημαντικές λαμβάνοντας υπόψη ότι ο FGF21 είναι ένα μόριο με πολύ χαμηλό χρόνο ημιζωής όπου σε απουσία συγκεκριμένων ερεθισμάτων, έχει υπολογιστεί από 1 έως 2 ώρες (Kharitonov et al, 2007; Xu et al, 2009; Hecht et al, 2012). Αυτός ο βραχύς χρόνος ημίσειας ζωής στον ορό οφείλεται στην ενζυματική αποικοδόμηση ή/και στην νεφρική κάθαρση. Στην πραγματικότητα, η πρωτεΐνη ενεργοποίησης ινοβλάστης α(FAP) ταυτοποιήθηκε πρόσφατα ως πρωτεάση σερίνης που διασπά και απενεργοποιεί τον FGF21 (Zhen et al, 2016). Είναι ενδιαφέρον ότι το FAP εκκρίνεται επίσης στον ανθρώπινο μύ κατά τη διάρκεια της άσκησης (Parmar et al, 2018). Επομένως, επειδή ο FGF21 εκκρίνεται από το νεφρό, έχει σύντομη ημιζωή και η δραστηριότητα του ρυθμίζεται από την παρουσία Klotho και FAP, η απλή παρακολούθηση των επιπέδων του ορού μπορεί να μην

είναι αρκετή για να διεκδικήσει άμεση δράση του FGF21 στους στοχευμένους ιστούς χωρίς έλεγχο του μονοπατιού ενεργοποίησης προς τα κάτω των FGFr.

Transgenic mouse	Paper	Basal condition/control animals serum level (pg/mL)	Transgenic/virus serum level (pg/mL)	Fold increase compare to basal condition/control mouse
Virus-mediated FGF21 knock-down – liver specific	Badman et al., 2007		Not shown	
FGF21 total ko	Antonellis et al., 2016		Not shown	
FGF21 tg -liver specific	Inagaki et al., 2007		Not shown	
Virus-mediated FGF21 – liver specific	Jimenez et al., 2018	1000 (null-chow) 5000 (null-HFD)	Not shown (chow) 6000 – 25000 (HFD)	1–5 (HFD) (HFD)
Virus-mediated Fgf21 – muscle specific	Jimenez et al., 2018	3000 (fed)	45000(fed)	15 (fed)
atg7 ko – muscle specific	Kim et al., 2013	Detectable (fed) – 2000(fasted)	500(fed) – 4000(fasted)	Not clear (fed) – 2 (fasted)
Ucp1 tg – muscle specific	Keipert et al., 2013	1000(fed) – 2000(fasted)	4000(fed) – 5000(fasted)	4 (fed) – 2 (fasted)
4ebp1 tg – muscle specific	Tsai et al., 2015	1000 (fasted)	4000 (fasted)	4 (fasted)
Tsc1 ko – muscle specific	Guridi et al., 2015	500 (fed)	1500(fed)	3 (fed)
Opa1 ko – inducible muscle specific	Tezze et al., 2017	n.d. (< 50 pg/mL)	4000 (fed)	100 (fed)
Opa1 ko – constitutive muscle specific	Rodríguez-Nuevo et al., 2018, p. 1	222 (fed)	544 (fed)	2,4
Opa1 ko – inducible muscle specific heterozygous	Pereira et al., 2017	1069 (fed)	11500 (fed)	10
Fundc1 ko – muscle specific	Fu et al., 2018	400	900 (HFD)	2,24

Εικόνα 2.1. Επίπεδο ορού, απόλυτο και ομαλοποιημένο, του FGF21 όσον αφορά τα διαγονιδιακά ποντίκια, που αναφέρονται στη βιβλιογραφία.

2.5. Ο FGF21 στον καρδιακό και τον σκελετικό μυ

Αρχικά, η καρδιά δεν θεωρήθηκε ως πηγή ή στόχος του FGF21, κυρίως λόγω του ότι το mRNA της β-Klotho απαιτείται να είναι συν-υποδοχέας για την κυτταρική απόκριση του FGF21, και αυτό βρέθηκε να εκφράζεται σπάνια (Fon Tacer et al, 2010). Ωστόσο, πρόσφατες μελέτες έχουν δείξει ότι ο FGF21 παίζει βασικό ρόλο στην καρδιακή αναδιαμόρφωση. Στην πραγματικότητα, η καρδιά εκφράζει τον FGFR1, τον υποδοχέα 1 του αυξητικού παράγοντα των ινοβλαστών, την β-klotho, καθώς και τον FGF21. Επιπλέον, σε τρωκτικά, έχει αναφερθεί ότι η έκφραση του FGF21 προστατεύει από την παθολογική καρδιακή υπερτροφία, το οξειδωτικό στρες και το έμφραγμα του μυοκαρδίου (Planavila et al, 2013, 2015; Joki et al, 2015). Στην καρδιά, ο FGF21 δρα με τον τρόπο μιας αυτοκρινής και ελέγχει την αυτοφαγία στην καρδιοπάθεια λόγω παχυσαρκεας (Rupérez et al, 2018). Στον μυϊκό ιστό, η έκφραση του FGF21 βρέθηκε μη ανιχνεύσιμη ή μπορεί να εκφραστεί περιοριστικά σε βασικές (Izumiya et al, 2008; Hojman et al, 2009; Pereira et al, 2017; Tezze et al, 2017;

Rodríguez-Nuevo et al, 2018). Ωστόσο, αρκετές φυσιολογικές και/ή παθολογικές καταστάσεις προκάλεσαν την έκφραση του FGF21 στους μύες καθώς επίσης και την έκκριση στο αίμα. Αυτό απεδείχθη αρχικά σε μυϊκά ειδικά AKT1 διαγονιδιακά ποντίκια, όπου η ενεργοποίηση της AKT1 έφερε μείωση του λιπώδους ιστού μέσω έκκρισης FGF21 (Izumiya et al, 2008). Οι Kim et al (2013), διαπίστωσαν ότι η αναστολή της αυτοφαγίας, ειδικά στον σκελετικό μυ, προστατεύθηκε από την παχυσαρκία και την HFD επειδή ο FGF21 έδρασε δραματικά στους μύς. Ως συνέπεια της αυτοφαγικής βλάβης, οι μύες συσσωρεύουν δυσλειτουργικά μιτοχόνδρια, με αποτέλεσμα το στρες ER, την ενεργοποίηση του UPR και την επαγωγή του FGF21 μέσω του παράγοντα μεταγραφής του ATF4. Παρομοίως, η εξάλειψη της μυϊκής σκλήρυνσης 1 (TSC1) είχε ως αποτέλεσμα την ενεργοποίηση του mTOR. Ταυτόχρονα, η αύξηση προς τα πάνω στα επίπεδα του FGF21, μέσω του UPR, βελτίωσε την ευαισθησία στην ινσουλίνη, οδηγώντας σε συσχέτισμό με ένα φτωχότερο φαινότυπο σε σύγκριση με τους μάρτυρες (Guridi et al, 2015). Η συνεπής έκφραση του συστατικού ενεργού 4EBP1 στους σκελετικούς μύες προκάλεσε έκκριση FGF21 στην κυκλοφορία, η οποία έπειτα μείωσε τον μεταβολισμό των λιπιδίων στο WAT μέσω PPARs (Tsai et al, 2015). Η ήπια μιτοχονδριακή δυσλειτουργία είναι συνέπεια της UCP1, της αποσύνδεσης της πρωτεΐνης 1, της έκφρασης σε σκελετικούς μύες με αποτέλεσμα την έκφραση του FGF21 και τη μείωση του μεγέθους των μυοϊνών, αλλά ταυτόχρονα βελτίωσε επίσης το μεταβολικό προφίλ λόγω του καφέ χρώματος του WAT (Keipert et al, 2013). Έχουμε δείξει τώρα ότι η μιτοχονδριακή δυσλειτουργία οφείλεται στην κατάλυση OPA1 σε σκελετικούς μύες και προκαλεί μια δραματική αύξηση του μεταγραφικού μυϊκού FGF21 και των επιπέδων ορού (Tezze et al, 2017; Pereira et al, 2017; Rodríguez-Nuevo et al, 2018). Αυτή η σημαντική διέγερση FGF21 προκαλείται από το μιτοχονδριακό οξειδωτικό στρες και προκαλεί την ενεργοποίηση του UPR (Tezze et al, 2017, Rodríguez-Nuevo et al, 2018). Το στρες του ενδοπλασματικού δικτύου, η μυϊκή ατροφία και η ρύθμιση του FGF21 προς τα πάνω βρέθηκαν σε πλείονες ποντικούς με έλλειψη OPA1, αλλά οι φαινότυποι αυτών των knockout ποντικών ήταν διαφορετικοί. Αυτές οι αποκλίσεις μπορεί να είναι συνέπεια της ηλικίας του ζώου στο οποίο έχει απαλειφθεί το OPA1 και/ή του βαθμού μιτοχονδριακής δυσλειτουργίας ή/και των επιπέδων του FGF21 στο αίμα. Οι Tezze et al (2017) παρατήρησαν αύξηση των επιπέδων FGF21 στο αίμα μετά από οξεία διαγραφή των OPA1 ποντικών ηλικίας 5 μηνών, προκαλώντας αρκετά επιβλαβή συστηματικά αποτελέσματα. Η αναστολή του OPA1 προκαλεί σημαντικές μεταβολικές μεταβολές και ένα φαινότυπο πρόωρης γήρανσης επιθηλιακών

διαταραχών, συστηματική φλεγμονώδη απόκριση και πρόωρο θάνατο ζώων. Σημαντικά, η απαλοιφή του FGF21 σε ποντίκια OPA1-null επανέφερε σχεδόν όλες τις επιδράσεις που συνδέονται με την αγωγή, ενώ η απώλεια των μυϊκών και λευκών λιπώδους ιστού εξασθενήθηκε αλλά εξακολουθεί να υπάρχει στους διπλούς ποντικούς με εξουδετέρωση FGF21 / OPA1. Είναι ενδιαφέρον ότι η βκlotho και οι FGFRs ρυθμίστηκαν προς τα πάνω σε σκελετικούς μύες με έλλειψη OPA1 σε σύγκριση με τους μάρτυρες που υποστηρίζουν το ρόλο αυτής της οδού στη ρύθμιση μυϊκής μάζας (Tezze et al, 2017). Παρόμοια με τους Tezze et al (2017) επίσης και οι Rodríguez-Nuevo et al (2018) παρατήρησαν πρόωρο θάνατο ποντικού και συστηματική φλεγμονώδη απόκριση όταν ο OPA1 διαγράφηκε. Σε αυτό το έργο, η ομάδα του Zorzano χρησιμοποίησε μια γραμμή μυογόνου-οδηγούμενου διαγονιδιακού ποντικού για να διαγράψει τον OPA1 στην ανάπτυξη μυών. Το εύρημα ότι ο φαινότυπος αυτών των ποντικών με νοκ-άουτ δεν διασώθηκε από την αναστολή του FGF21 οφείλεται κατά πάσα πιθανότητα στην εξάρτησή του από άγνωστα ζητήματα βιοενέργειας. Στην πραγματικότητα, η παρουσία μιτοχονδριακής δυσλειτουργίας στους αναπτυσσόμενους μύες είναι πολύ βιοενεργειακά επιζήμια για να αντιμετωπιστεί με ταυτόχρονη απομάκρυνση του FGF21. Εναλλακτικά, το εκκριτικό πρότυπο που επάγεται από ένα ελαττωματικό μιτοχόνιο στα νεογέννητα ποντίκια δεν είναι ούτε το ίδιο του ενήλικου μυός ούτε είναι επαρκές για να προάγει τη γήρανση του ιστού. Η ομάδα Dale δημιούργησε επίσης ένα επαγώγιμο ποντικό νοκ-άουτ που δείχνει ήπια μυϊκή απώλεια και, εκπληκτικά, αρκετές ευεργετικές μεταβολικές μεταβολές όσον αφορά την αντίσταση στην παχυσαρκία όταν τα ζώα προκλήθηκαν με δίαιτα με υψηλή περιεκτικότητα σε λιπαρά. Ωστόσο, η εξάλειψη OPA1 προκλήθηκε σε πολύ μικρά ποντίκια (ηλικίας 4 εβδομάδων) και όχι σε ενήλικα ζώα [12 εβδομάδες στο Tezze et al (2017)] και η μείωση του OPA1 ήταν μερική (περίπου 50-70%). Αυτό πιθανότατα οφείλεται στο γεγονός ότι οι μύες βλαστοκυττάρων εξακολουθούν να συντήκονται με μυοΐνες, φέρνοντας το γονίδιο OPA1 μέσα στις ίνες knockout και προκαλώντας την μερική αναστολή του OPA1 που επηρεάζει ελαφρά τη λειτουργία των μιτοχονδρίων. Στην πραγματικότητα, τα μιτοχονδριακά αναπνευστικά σύμπλοκα και τα υπερκλεπτικά σύμπλοκα, καθώς και το περιεχόμενο μιτοχονδριακού DNA και η σύνθεση κιτρικών, δεν επηρεάστηκαν σε αυτά τα ποντίκια με knockout. Η μερική αναστολή OPA1 προκάλεσε μορφολογικές αλλαγές (διόγκωση) και μικρές αλλοιώσεις της αναπνοής. Αυτός ο ήπιος μιτοχονδριακός φαινότυπος έχει ως αποτέλεσμα ένα μικρό επίπεδο αύξησης της αναδίπλωσης ορού FGF21. Αυτός ο φαινότυπος διαφέρει από το ζωικό μοντέλο στο οποίο



et al, 2009; Dushay et al, 2010; Fazeli et al, 2015). Αυτό το εύρημα είναι παρόμοιο με τα δεδομένα των τρωκτικών και δημιουργεί ένα πρόβλημα στη μέθοδο ποσοτικοποίησης του FGF21 ή/και στη μεταβλητότητα σε όρους (Pedersen et al, 2003). Για χρόνια η αναζήτηση για το ερέθισμα που προκαλεί και διατηρεί την αλλαγή της διέγερσης ή ευαισθησίας των κέντρων ρύθμισης στην άσκηση έχει απασχολήσει πολύ τους επιστήμονες. Για μια έλλειψη ακριβέστερων γνώσεων, ονομάστηκε «ερέθισμα εργασίας», ή «ο παράγοντας άσκησης». Με άλλα λόγια, μια μεγάλη πρόκληση για τους φυσιολόγους μυών και ασκήσεων ήταν να προσδιοριστεί ο τρόπος με τον οποίο οι μύες σηματοδοτούν κεντρικά και περιφερειακά όργανα. Εδώ, συζητούμε την πιθανότητα ότι η ιντερλευκίνη-6 (IL-6) θα μπορούσε να μεσολαβήσει σε ορισμένες από τις ευεργετικές συνέπειες της άσκησης στην υγεία. Σε ήρεμους μύες, το γονίδιο IL-6 είναι σιωπηλό, αλλά ενεργοποιείται ταχέως από τις συστολές μυών. Ο ρυθμός μεταγραφής είναι πολύ γρήγορος και σημειώνονται σημαντικές αλλαγές στο IL-6 mRNA. Η IL-6 απελευθερώνεται από τους μύες που λειτουργούν στην κυκλοφορία σε υψηλές ποσότητες. Η παραγωγή της IL-6 ρυθμίζεται από την περιεκτικότητα γλυκογόνου στους μυς και έτσι η IL-6 λειτουργεί ως αισθητήρας ενέργειας. Η IL-6 ασκεί την επίδρασή της στον λιπώδη ιστό, προκαλώντας λιπόλυση και γονιδιακή μεταγραφή στο κοιλιακό υποδόριο λίπος και αυξάνει την οξείδωση λιπιδίων στο σώμα. Επιπλέον, η IL-6 αναστέλλει παραγωγή χαμηλού βαθμού TNF-άλφα και μπορεί έτσι να αναστείλει την επαγόμενη από TNF-άλφα ινσουλινοαντίσταση και την ανάπτυξη της αθηροσκλήρωσης. Προτείνουμε ότι οι IL-6 και άλλες κυτοκίνες, που παράγονται και απελευθερώνονται από τους σκελετικούς μύες και ασκούν τα αποτελέσματά τους σε άλλα όργανα του σώματος, θα πρέπει να ονομάζονται "μυοκίνες" (Pedersen et al, 2003). Από την ηλικία του ασθενούς, την ώρα της ημέρας συλλογής του αίματος και τη θρεπτική κατάσταση του ασθενούς (τροφοδοτούμενου ή νηστείας) που μπορεί να επηρεάσει την αφαίρεση ή τον κύκλο εργασιών του FGF21. Το γονίδιο FGF21 υπό βασικές συνθήκες θεωρείται ότι εκφράζεται κυρίως στο ήπαρ και σε πολύ μικρότερο βαθμό και στον εγκέφαλο (Kharitonov και Adams, 2014) και στο πάγκρεας (Fon Tacer et al, 2010). Παρόμοια με τα τρωκτικά, το στοιχείο απόκρισης PPARα ταυτοποιήθηκε στους υποκινητές του ανθρώπινου FGF21, πράγμα που σημαίνει ότι μπορούν να ρυθμίσουν την έκκριση του FGF21 (Lundasen et al, 2007). Ωστόσο, υπάρχουν άλλοι ιστοί που συμβάλλουν στα επίπεδα του FGF21 στο αίμα σε φυσιοπαθολογικές καταστάσεις. Στον σκελετικό μυ, ο FGF21 εκφράζεται σε απόκριση της διέγερσης με ινσουλίνη, υποδηλώνοντας ότι ο FGF21 ρυθμίζεται με ινσουλίνη μυοκίνη (Hojman et al, 2009)

και σε ανθρώπους βρέθηκε συσχέτιση μεταξύ χρόνιας υπερινουσουλιναιμίας και επιπέδων FGF21 (Hojman κ.ά, 2009). Οι Fazeli et al (2015) έδειξαν ότι ο FGF21 λειτουργεί ως ορμόνη που προκαλείται από τη νηστεία για την προσαρμοστική απόκριση στην πείνα και για την αξιοποίηση των καυσίμων που προέρχονται από την κατανομή των ιστών. Άλλοι ισχυρίστηκαν ότι τα επίπεδα του FGF21 στον ορό σχετίζονται στενά με την λιπώδη ισορροπία και με το μεταβολισμό των λιπιδίων και χρησιμοποιούνται ως βιοδείκτης της ηπατικής βλάβης αλλά όχι της έκκρισης ινσουλίνης και της ευαισθησίας (Li et al, 2009). Παρά την ευεργετική δράση του FGF21 σε τρωκτικά, η βιβλιογραφία στον άνθρωπο δεν είναι ομοιογενής και υποστηρίζει κάποιες επιζήμιες επιδράσεις. Για παράδειγμα, τα επίπεδα FGF21 στον ορό αυξάνονται σε ασθενείς με μεταλλάξεις του μιτοχονδριακού DNA στους σκελετικούς μύες, αλλά όχι όταν παρόμοιες μεταλλάξεις συσσωρεύονται σε άλλα όργανα. Λόγω αυτής της εξειδίκευσης στις μιτοχονδριακές μυοπάθειες, ο FGF21 προτάθηκε ως βιοδείκτης της μιτοχονδριακής δυσλειτουργίας στους σκελετικούς μύες και χρησιμοποιήθηκε ως διαγνωστικό τεστ για αυτές τις κληρονομικές διαταραχές (Suomalainen et al, 2011). Σε άλλες συνθήκες χρησιμοποιήθηκαν επίπεδα ορού FGF21 ως πρόδρομος της εξέλιξης της νόσου. Για παράδειγμα, υψηλότερα επίπεδα κυκλοφορούντος FGF21 συσχετίστηκαν με υψηλό ποσοστό θνησιμότητας σε ασθενείς με νεφρική νόσο τελικού σταδίου (Kohara et al, 2017). Έχει επίσης αναφερθεί σε ασθενείς με διαστολική δυσλειτουργία καρδιακής ανενάρκειας που έχουν προ-εξυπηρετούμενο κλάσμα εξώθησης (Chou et al, 2016) και σε αυτούς που έχουν επίπεδο FGF21 στον ορό διαπιστώθηκε ότι είναι ανεξάρτητος προγνωστικός παράγοντας της στεφανιαίας νόσου (Lee et al, 2017). Επιπλέον, τα επίπεδα κυκλοφορούντος FGF21 είναι αυξημένα σε διάφορες καταστάσεις μεταβολικής νόσου, όπως η παχυσαρκία, η αντίσταση στην ινσουλίνη και ο σακχαρώδης διαβήτης τύπου 2 (Zhang et al, 2008, Chavez et al, 2009). Είναι ενδιαφέρον ότι οι ασθενείς με διαβήτη τύπου 2 έχουν επίσης αυξημένα επίπεδα κυκλοφορίας του FGF21 και αυτό σχετίζεται με μειωμένη αναλογία βιοδραστικού προς ολικό FGF21 σε επανέλεγχο σε δοκιμασία ανοχής γλυκόζης από το στόμα (Samms et al, 2017). Η αύξηση των επιπέδων του FGF21 στο πλάσμα συσχετίστηκε με τη σοβαρότητα της μάζας ολόκληρου του σώματος (κυρίως μύος) και την ανθεκτικότητα στην ινσουλίνη (Chavez et al, 2009). Απροσδόκητα, στους παχύσαρκους ανθρώπους, τα επίπεδα του FGF21 δεν μεταβλήθηκαν μετά από χρόνια άσκηση (Besse-Patin et al, 2014) παρά το γνωστό ευεργετικό αποτέλεσμα της σωματικής δραστηριότητας. Αυτό μπορεί να σχετίζεται με το επίπεδο της μυοκίνης FGF21, το οποίο είναι γνωστό ότι αυξάνει κατά

τη διάρκεια της άσκησης (Parmar et al, 2018). Η αύξηση του FAP θα μπορούσε να εξασθενήσει την αναλογία του βιοδραστικού FGF21 στην παχυσαρκία καθώς και στους ασθενείς με σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2. Επιπλέον, διαπιστώσαμε ότι τα επίπεδα FGF21 στον ορό συσχετίζονται σημαντικά με την ηλικία (Tezze et al, 2017; Conte et al, 2018). Η παρουσία υψηλών επιπέδων FGF21 στον ορό σε συνδυασμό με αύξηση της GDF15 ορμόνης, που είναι ένας άλλος δείκτης μιτοχονδριακής λειτουργίας, έχει βρεθεί ότι αποτελεί πρόβλεψη νοσηρότητας και θνησιμότητας (Conte et al, 2018).

2.7. Τελικά Συμπεράσματα

Ο FGF21 αντιπροσωπεύει μια συναρπαστική ορμόνη με εντυπωσιακές συνέπειες σε σημεία ολόκληρου του σώματος και μερικές μεταβολικά σχετικές οδούς ειδικότερα στον μεταβολισμό λιπιδίων και γλυκόζης σε ποντίκια και ανθρώπους. Αυτός είναι ο λόγος για τον οποίο οι περισσότερες μέχρι σήμερα δημοσιεύσεις και έρευνες οδηγήθηκαν πρωτίστως από φαρμακολογικά ενδιαφέροντα και όχι από ακαδημαϊκά για το ρόλο του ορμονικού αυτού στην φυσιολογία και την παθοφυσιολογία. Από το 2000, το έτος της ανακάλυψής του, ο FGF21 έχει μελετηθεί έντονα σε ποντίκια και έχει δημιουργηθεί ένας πλούτος πολύ ισχυρών δεδομένων σε ποντίκια που, με εξαίρεση την αρνητική επίδραση στον μεταβολισμό των οστών, επιβεβαιώνουν συνεχώς ευνοϊκούς ρόλους του FGF21 σε μεταβολισμό λιπιδίων και γλυκόζης. Τα τελευταία δέκα χρόνια αναλύσεων *in vivo* και *ex vivo* στους ανθρώπους έχουν επίσης δημιουργήσει ένα σημαντικό σύνολο δεδομένων που συνδυάζουν τη μετάφραση πολλών από τα ευρήματα του ποντικιού στην κατάσταση του ανθρώπου. Αντίκτυπος αυτών των παραγόντων είναι τα διαφορετικά μόρια που εκκρίνονται από τους σκελετικούς μύες σε διαφορετικές συνθήκες. Ειδικότερα, ο FGF21 εμφανίστηκε ως σημαντική μυοκίνη με αρκετές μεταβολικές δράσεις, αλλά αν και η δράση του είναι ευεργετική ή αποτρεπτική σε φυσιολογικές ή παθολογικές καταστάσεις, εξακολουθεί να είναι ασαφής, ιδιαίτερα στους ανθρώπους. Υπάρχουν πολλά θέματα που πρέπει να αντιμετωπιστούν και να διευκρινιστούν ακόμα. Το πιο προβληματικό και επείγον πρόβλημα σχετίζεται με τη μεγάλη μεταβλητότητα στις μετρήσεις των επιπέδων στο αίμα μεταξύ διαφορετικών μελετών, τόσο σε ποντίκια όσο και σε ανθρώπους. Επομένως, απαιτείται μια τυποποίηση της διαδικασίας για τη μέτρηση FGF21 για να κατανοηθεί εάν ένα όριο των συγκεντρώσεων στον ορό είναι καθοριστικό για τις διαφορετικές δράσεις του. Παρ'όλα αυτά, έχουμε μια σαφή εικόνα της πηγής διαφορετικών ιστών και των στόχων που εμπλέκονται

στα αποτελέσματα του FGF21. Γνωρίζουμε επίσης τις συνθήκες που ενεργοποιούν την έκφραση του FGF21 στους σκελετικούς μύες (π.χ., μιτοχονδριακή δυσλειτουργία και στρες ενδοπλασματικού δικτύου). Αυτό που εξακολουθεί να είναι ασαφές είναι η σχέση μεταξύ μεταβολικών μεταβολών που προκαλούνται από FGF21 και η συμβολή αυτών των αλλοιώσεων στην εξέλιξη / εμφάνιση της νόσου. Επιπλέον, τα μόρια που συνεργάζονται, ενισχύουν ή αντισταθμίζουν τη δράση του FGF21 είναι ακόμη άγνωστα. Ένα περίπλοκο δίκτυο μεταβολικών στοιχείων συγκλίνει στο FGF21 και ρυθμίζει την έκφραση του ως απάντηση σε διάφορα φυσιολογικά και παθολογικά ερεθίσματα. Στην πραγματικότητα, ο FGF21 μπορεί να έχει αντίθετες φυσιολογικές επιδράσεις κάτω από διαφορετικές συνθήκες, όπως την αναστολή της λιπόλυσης στον λιπώδες ιστό κατά τη διάρκεια νηστείας και την προώθηση της οξείδωσης των λιπαρών οξέων στο ήπαρ κατά τη διάρκεια των συνθηκών του πλεονάσματος ενέργειας. Παρά τους παράδοξους ρόλους του FGF21 στον μεταβολισμό, κερδίζει το ενδιαφέρον ως πιθανό βιοδείκτη για πολλές ασθένειες και ως πιθανό φάρμακο για τη θεραπεία του διαβήτη τύπου 2, της παχυσαρκίας και των σχετικών συνδρόμων. Τα πρόσφατα ευρήματά μας είναι ότι τα υψηλά έναντι χαμηλών επιπέδων ορού συσχετίζονται με τη θνησιμότητα στους ηλικιωμένους, υπογραμμίζουν την έννοια ότι οι δράσεις FGF21 εξαρτώνται από τη δόση. Επομένως, πρώτον, είναι απαραίτητο να αντιμετωπιστεί καλύτερα η συγκέντρωση ή η διπλάσια αύξηση στο πλάσμα, η οποία είναι η πλέον σχετική για την επίτευξη ευεργετικής ή επιζήμιας αποτελέσματος. Δεύτερον, είναι σημαντικό να τεμαχίσουμε τους άλλους παράγοντες (π.χ. κυτοκίνες, μεταβολίτες) που μπορούν να διαμορφώσουν τη δράση FGF21 στους ιστούς-στόχους και συνεπώς να προκαλέσουν ένα θετικό (υγιές) ή αρνητικό (ανθυγιεινό) αποτέλεσμα. Τέλος, η οδός σηματοδότησης προς τα κάτω θα πρέπει να διαχωριστεί καλύτερα σε ωφέλιμη ή επιζήμια δράση. Συμπερασματικά, ο FGF21 ανήκει σε μια τάξη κυτταροκινών που υπόσχεται να ανταποκριθεί στο στρες και μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως φάρμακο, ως στόχος φαρμάκου ή μέσω ενός βιοδείκτη, ανάλογα με το φυσιοπαθολογικό πλαίσιο.

Όλα αυτά τα ευρήματα θα καταστούν σαφή όταν το FGF21 θα χρησιμοποιηθεί ως θεραπευτικό μόριο, αξιοποιώντας τα ευεργετικά αποτελέσματα του FGF21 για τη θεραπεία της μεταβολικής νόσου ή όταν θα μπλοκαριστεί για να βελτιώσει την πρόοδο της νόσου και την εμφάνιση της νόσου. Αυτή η εργασία παρέχει πληροφορίες για τους φυσιολογικούς και παθοφυσιολογικούς ρόλους του FGF21 βάσει πρόσφατων ευρημάτων. Απαιτείται περισσότερη έρευνα για να διευκρινιστούν οι δράσεις του FGF21 σε διαφορετικούς

ιστούς και υπό διαφορετικές περιβαλλοντικές συνθήκες πίεσης. Μακροπρόθεσμες στρατηγικές που σχετίζονται με το FGF21 μπορεί να αναπτυχθούν για να καθυστερήσουν την πρόοδο ασθενειών που σχετίζονται με την ηλικία και να βελτιώσουν την ποιότητα ζωής.

Αναφορές

- Adams AC., Yang C., Coskun T., Cheng CC., Gimeno RE., Luo Y., Kharitononkov A. (2012). The breadth of FGF21's metabolic actions are governed by FGFR1 in adipose tissue. *Mol Metab.* 2:31-37.
- Archer, A., Venteclef, N., Mode, A., Pedrelli, M., Gabbi, C., Clément, K., et al (2012). Fasting-induced FGF21 is repressed by LXR activation via recruitment of an HDAC3 corepressor complex in mice. *Mol. Endocrinol.* 26, 1980-1990.
- Arner P., Pettersson A., Mitchell P., Dunbar J., Kharitononkov A. and Rydén M. (2008). FGF21 attenuates lipolysis in human adipocytes - a possible link to improved insulin sensitivity. *FEBS letters*, 582(12):1725-1730.
- Agrawal, A., Parlee, S., Perez-Tilve, D., Li, P., Pan, J., Mroz, P. A., et al (2018). Molecular elements in FGF19 and FGF21 defining KLB/FGFR activity and specificity. *Mol. Metab.* 13, 45–55.
- Alipoor, S. D., Mortaz, E., Garssen, J., Movassaghi, M., Mirsaiedi, M., and Adcock, I. M. (2016). Exosomes and exosomal miRNA in respiratory diseases. *Med. Inflamm.* 2016:5628404.
- Antonellis, P. J., Hayes, M. P., and Adams, A. C. (2016). fibroblast growth factor 21-null mice do not exhibit an impaired response to fasting. *Front. Endocrinol.* 7:77.
- Badman M., Pissios P., Kennedy A., Koukos G., Flier J. and Maratos-Flier E. (2007). Hepatic fibroblast growth factor 21 is regulated by PPARalpha and is a key mediator of hepatic lipid metabolism in ketotic states. *Cell metabolism*, 5(6):426-437.
- Badman M., Koester A., Flier J., Kharitononkov A. and Maratos-Flier E. (2009). Fibroblast growth factor 21-deficient mice demonstrate impaired adaptation to ketosis. *Endocrinology*, 150(11):4931-4940.
- Berry, D. C., DeSantis, D., Soltanian, H., Croniger, C. M., and Noy, N. (2012). Retinoic acid upregulates preadipocyte genes to block adipogenesis and suppress diet-induced obesity. *Diabetes Metab. Res. Rev.* 61, 1112–1121.
- Besse-Patin, A., Montastier, E., Vinel, C., Castan-Laurell, I., Louche, K., Dray, C., et al (2014). Effect of endurance training on skeletal muscle myokine expression in obese men: identification of apelin as a novel myokine. *Int. J. Obes.* 38, 707–713.
- Bookout AL., de Groot MH., Owen BM., Lee S., Gautron L., Lawrence HL., Ding X., Elmquist JK., Takahashi JS., Mangelsdorf DJ., Kliewer SA. (2013). FGF21 regulates metabolism and circadian behavior by acting on the nervous system. *Nat Med.* 19:1147-1152.

- Carithers L., Ardlie K., Barcus M., Branton P., Britton A., Buia S., Compton C., DeLuca D., Peter-Demchok J., Gelfand E., Guan P., Korzeniewski G., Lockhart N., Rabiner C., Rao A., Robinson K., Roche N., Sawyer S., Segrè A., Shive C., Smith A., Sobin L., Undale A., Valentino K., Vaught J., Young T., Moore H. (2015). On behalf of the GTEx consortium, A Novel Approach to High-Quality Postmortem Tissue Procurement: The GTEx Project, *Biopreservation and Biobanking*, 13(5):311–319.
- Chavez, A. O., Molina-Carrion, M., Abdul-Ghani, M. A., Folli, F., DeFronzo, R. A., and Tripathy, D. (2009). Circulating fibroblast growth factor-21 is elevated in impaired glucose tolerance and type 2 diabetes and correlates with muscle and hepatic insulin resistance. *Diabetes Care* 32, 1542–1546.
- Chen W., Hoo R., Konishi M., Itoh N., Lee P., Ye H., Lam K. and Xu A. (2011). Growth hormone induces hepatic production of fibroblast growth factor 21 through a mechanism dependent on lipolysis in adipocytes. *The Journal of Biological Chemistry*, 286(40):34559–34566.
- Chou, R.-H., Huang, P.-H., Hsu, C.-Y., Chang, C.-C., Leu, H.-B., Huang, C.-C., et al (2016). Circulating fibroblast growth factor 21 is associated with diastolic dysfunction in heart failure patients with preserved ejection fraction.
- Conte, M., Ostan, R., Fabbri, C., Santoro, A., Guidarelli, G., Vitale, G., et al (2018). Human aging and longevity are characterized by high levels of mitokines. *J. Gerontol. A Biol. Sci. Med. Sci.*
- Coskun, T., Bina, H. A., Schneider, M. A., Dunbar, J. D., Hu, C. C., Chen, Y., et al (2008). Fibroblast growth factor 21 corrects obesity in mice. *Endocrinology* 149, 6018–6027.
- Cyphert, H. A., Ge, X., Kohan, A. B., Salati, L. M., Zhang, Y., and Hillgartner, F. B. (2012). Activation of the farnesoid X receptor induces hepatic expression and secretion of fibroblast growth factor 21. *J. Biol. Chem.* 287, 25123–25138.
- Delezie, J., and Handschin, C. (2018). Endocrine crosstalk between skeletal muscle and the brain. *Front. Neurol.* 9:698.
- Dushay, J., Chui, P. C., Gopalakrishnan, G. S., Varela-Rey, M., Crawley, M., Fisher, F. M., et al (2010). Increased fibroblast growth factor 21 in obesity and nonalcoholic fatty liver disease. *Gastroenterology* 139, 456–463.
- Ding X., Boney-Montoya J., Owen BM., Bookout AL., Coate KC., Mangelsdorf DJ., Klier SA. (2012). β Klotho is required for fibroblast growth factor 21 effects on growth and metabolism. *Cell Metab.* 16:387–393.
- Dutchak P., Katafuchi T., Bookout A., Choi J., Yu R., Mangelsdorf D. and Klier S. (2012). Fibroblast growth factor-21 regulates PPAR γ activity and the antidiabetic actions of thiazolidinediones. *Cell*, 148(3):556–567.
- Fazeli P., Misra M., Goldstein M., Miller K. and Klibanski A. (2010). Fibroblast growth factor-21 may mediate growth hormone resistance in anorexia nervosa. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 95(1):369–374.
- Fazeli, P. K., Lun, M., Kim, S. M., Bredella, M. A., Wright, S., Zhang, Y., et al (2015). FGF21 and the late adaptive response to starvation in humans. *J. Clin. Invest.* 125, 4601–4611.

- Fisher, F. M., Chui, P. C., Antonellis, P. J., Bina, H. A., Kharitononkov, A., Flier, J. S., et al (2010). Obesity is a fibroblast growth factor 21 (FGF21)-resistant state. *Diabetes Metab. Res. Rev* 59, 2781–2789.
- Fisher F., Estall J., Adams A., Antonellis P., Bina H., Flier J., Kharitononkov A., Spiegelman B. and Maratos-Flier E. (2011). Integrated regulation of hepatic metabolism by fibroblast growth factor 21 (FGF21) in vivo. *Endocrinology*, 152(8):2996-3004.
- Fisher, F. M., and Maratos-Flier, E. (2016). Understanding the physiology of FGF21. *Annu. Rev. Physiol.* 78, 223–241.
- Fon Tacer K., Bookout A., Ding X., Kurosu H., John G., Wang L., Goetz R., Mohammadi M., Kuro-o M., Mangelsdorf D. and Kliewer S. (2010). Research resource: Comprehensive expression atlas of the fibroblast growth factor system in adult mouse. *Molecular endocrinology*, 24(10):2050-2064.
- Fu, T., Xu, Z., Liu, L., Guo, Q., Wu, H., Liang, X. et al (2018). Mitophagy directs muscle-adipose crosstalk to alleviate dietary obesity. *Cell Rep.* 23, 1357–1372.
- Gälman C., Lundåsen T., Kharitononkov A., Bina H., Eriksson M., Hafström I., Dahlin M., Amark P., Angelin B. and Rudling M. (2009). The circulating metabolic regulator FGF21 is induced by prolonged fasting and PPARalpha activation in man. *Cell metabolism*, 8(2):169-174.
- Ge, X., Chen, C., Hui, X., Wang, Y., Lam, K. S. L., and Xu, A. (2011). Fibroblast growth factor 21 induces glucose transporter-1 expression through activation of the serum response factor/Ets-like protein-1 in adipocytes. *J. Biol. Chem.* 286, 34533–34541.
- Guridi, M., Tintignac, L. A., Lin, S., Kupr, B., Castets, P., and Rüegg, M. A. (2015). Activation of mTORC1 in skeletal muscle regulates whole-body metabolism through FGF21. *Sci. Signal.* 8:ra113.
- Hecht, R., Li, Y.-S., Sun, J., Belouski, E., Hall, M., Hager, T., et al (2012). Rationale-based engineering of a potent long-acting FGF21 analog for the treatment of type 2 diabetes. *PLoS One* 7:e49345.
- Hirai, T., Nomura, K., Ikai, R., Nakashima, K.-I., and Inoue, M. (2019). Baicalein stimulates fibroblast growth factor 21 expression by up-regulating retinoic acid receptor-related orphan receptor α in C2C12 myotubes. *Biomed. Pharmacother.* 109, 503–510.
- Hoffmann, C., and Weigert, C. (2017). Skeletal muscle as an endocrine organ: the role of myokines in exercise adaptations. *Cold Spring Harb. Perspect. Med.* 7: a029793.
- Hojman, P., Pedersen, M., Nielsen, A. R., Krogh-Madsen, R., Yfanti, C., Åkerstrom, T., et al (2009). Fibroblast growth factor-21 is induced in human skeletal muscles by hyperinsulinemia. *Diabetes Metab. Res. Rev.* 58, 2797–2801.
- Hondares E., Rosell M., Gonzalez F., Giralt M., Iglesias R. and Villarroya F. (2010). Hepatic FGF21 expression is induced at birth via PPARalpha in response to milk intake and contributes to thermogenic activation of neonatal brown fat. *Cell metabolism*, 11(3):206-212.
- Hondares, E., Iglesias, R., Giralt, A., Gonzalez, F. J., Giralt, M., Mampel, T., et al (2011). Thermogenic activation induces FGF21 expression and release in brown adipose tissue. *J. Biol. Chem.* 286, 12983–12990.

- Hotta Y., Nakamura H., Konishi M., Murata Y., Takagi H., Matsumura S., Inoue K., Fushiki T. and Itoh N. (2009). Fibroblast growth factor 21 regulates lipolysis in white adipose tissue but is not required for ketogenesis and triglyceride clearance in liver. *Endocrinology*, 150(10):4625-4633.
- Hsuchou H., Pan W. and Kastin A. (2007). The fasting polypeptide FGF21 can enter brain from blood. *Peptides*, 28(12):2382-2386.
- Iizuka, K., Takeda, J., and Horikawa, Y. (2009). Glucose induces FGF21 mRNA expression through ChREBP activation in rat hepatocytes. *FEBS Lett.* 583, 2882–2886.
- Inagaki T., Dutchak P., Zhao G., Ding X., Gautron L., Parameswara V., Li Y., Goetz R., Mohammadi M., Esser V., Elmquist J., Gerard R., Burgess S., Hammer R., Mangelsdorf D. and Kliewer S. (2007). Endocrine regulation of the fasting response by PPAR α -mediated induction of fibroblast growth factor 21. *Cell metabolism*, 5(6):415-425.
- Inagaki, T., Lin, V. Y., Goetz, R., Mohammadi, M., Mangelsdorf, D. J., and Kliewer, S. A. (2008). Inhibition of growth hormone signaling by the fasting-induced hormone FGF21. *Cell Metab.* 8, 77–83.
- Ishida N. (2009). Role of PPAR α in the Control of Torpor through FGF21-NPY Pathway: From Circadian Clock to Seasonal Change in Mammals. *PPAR Research*, vol. 2009, article ID 412949.
- Izumiya, Y., Bina, H. A., Ouchi, N., Akasaki, Y., Kharitonov, A., and Walsh, K. (2008). FGF21 is an Akt-regulated myokine. *FEBS Lett.* 582, 3805–3810.
- Jimenez, V., Jambrina, C., Casana, E., Sacristan, V., Muñoz, S., Darriba, S., et al (2018). FGF21 gene therapy as treatment for obesity and insulin resistance. *EMBO Mol. Med.* 10:e8791.
- Johnson CL., Weston JY., Chadi SA., Fazio EN., Huff MW., Kharitonov A., Köester A., Pin CL. (2009). Fibroblast growth factor 21 reduces the severity of cerulein-induced pancreatitis in mice. *Gastroenterology*. 137:1795–1804.
- Johnson CL., Mehmood R., Laing SW., Stepniak CV., Kharitonov A., Pin CL. (2014). Silencing of the fibroblast growth factor 21 gene is an underlying cause of acinar cell injury in mice lacking MIST1. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 306:E916–E928.
- Joki, Y., Ohashi, K., Yuasa, D., Shibata, R., Ito, M., Matsuo, K., et al (2015). FGF21 attenuates pathological myocardial remodeling following myocardial infarction through the adiponectin-dependent mechanism. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 459, 124–130.
- Kent WJ, Sugnet CW, Furey TS, Roskin KM, Pringle TH, Zahler AM, Haussler D. (2018) The human genome browser at UCSC. *Genome Res.* 12(6):996-1006
- Keipert, S., Ost, M., Johann, K., Imber, F., Jastroch, M., van Schothorst, E. M., et al (2013). Skeletal muscle mitochondrial uncoupling drives endocrine cross-talk through the induction of FGF21 as a myokine. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 306, E469–E482.
- Kharitonov A., Shiyanova T., Koester A., Ford A., Micanovic R., Galbreath E., Sandusky G., Hammond L., Moyers J., Owens R., Gromada J., Brozinick J., Hawkins E., Wroblewski V., Li D., Mehrbod F., Jaskunas S. and Shanafelt A. (2005). FGF-21 as a novel metabolic regulator. *The Journal of Clinical Investigation*, 115(6):1627-1635.

- Kharitononkov A., Wroblewski VJ., Koester A., Chen YF., Clutinger CK., Tigno XT., Hansen BC., Shanafelt AB., Etgen GJ. (2007). The metabolic state of diabetic monkeys is regulated by fibroblast growth factor-21. *Endocrinology*, 148:774–781.
- Kharitononkov A., Dunbar JD., Bina HA., Bright S., Moyers JS., Zhang C., Ding L., Micanovic R., Mehrbod SF., Knierman MD. (2008). FGF-21/FGF-21 receptor interaction and activation is determined by betaKlotho. *J Cell Physiol*, 215:1-7.
- Kharitononkov A., Adams AC. (2013). Inventing new medicines: The FGF21 story. *Mol Metab.* 3:221–229.
- Kim, K. H., Jeong, Y. T., Oh, H., Kim, S. H., Cho, J. M., Kim, Y.-N., et al (2013). Autophagy deficiency leads to protection from obesity and insulin resistance by inducing Fgf21 as a mitokine. *Nat. Med.* 19, 83–92.
- Kim H., Mendez R., Zheng Z., Chang L., Cai J., Zhang R., Zhang K. (2014). Liver-enriched transcription factor CREBH interacts with peroxisome proliferator-activated receptor α to regulate metabolic hormone FGF21. *Endocrinology*, 155:769-782.
- Kim, S. H., Kim, K. H., Kim, H.-K., Kim, M.-J., Back, S. H., Konishi, M., et al (2015). Fibroblast growth factor 21 participates in adaptation to endoplasmic reticulum stress and attenuates obesity-induced hepatic metabolic stress. *Diabetologia* 58, 809–818.
- Kohara, M., Masuda, T., Shiizaki, K., Akimoto, T., Watanabe, Y., Honma, S., et al (2017). Association between circulating fibroblast growth factor 21 and mortality in end-stage renal disease. *PLoS One* 12: e0178971.
- Lee, C. H., Woo, Y. C., Chow, W. S., Cheung, C. Y. Y., Fong, C. H. Y., Yuen, M. M. A., et al (2017). Role of circulating fibroblast growth factor 21 measurement in primary prevention of coronary heart disease among chinese patients with type 2 diabetes mellitus. *J. Am. Heart Assoc.* 6:e005344.
- Levine A.S., Kotz C.M. and Gosnell B.A. (2016). Sugars: hedonic aspects, neuroregulation, and energy balance. *American Journal of Clinical Nutrition*, 78(4):834-842.
- Li X., Gea H., Weiszmann J., Hecht R., Li Y., Véniant M., Xu J., Wu X., Lindberg R. and Li Y. (2009). Inhibition of lipolysis may contribute to the acute regulation of plasma FFA and glucose by FGF21 in ob/ob mice. *FEBS letters*, 583(19):3230-3234.
- Li H., Gao Z., Zhang J., Ye X., Xu A., Ye J. and Jia W. (2012). Sodium butyrate stimulates expression of fibroblast growth factor 21 in liver by inhibition of histone deacetylase 3. *Diabetes*, 61(4):797-806.
- Li Y., Wong K., Giles A., Jiang J., Lee JW., Adams AC., Kharitononkov A., Yang Q., Gao B., Guarente L., Zang M. (2014). Hepatic SIRT1 attenuates hepatic steatosis and controls energy balance in mice by inducing fibroblast growth factor 21. *Gastroenterology*, 146:539-549.
- Liang Q., Zhong L., Zhang J., Wang Y., Bornstein SR., Triggie CR., Ding H., Lam KS., Xu A. (2014). FGF21 maintains glucose homeostasis by mediating the cross talk between liver and brain during prolonged fasting. *Diabetes*. 63:4064-4075.

- Lin Z., Tian H., Lam KS., Lin S., Hoo RC., Konishi M., Itoh N., Wang Y., Bornstein SR., Xu A., Li X. (2013). Adiponectin mediates the metabolic effects of FGF21 on glucose homeostasis and insulin sensitivity in mice. *Cell Metab.*, 17:779-789.
- Lizuka K., Takeda J., Horikawa Y. (2009). Glucose induces FGF21 mRNA expression through ChREBP activation in rat hepatocytes. *FEBS Lett.*, 583:2882-2886.
- Lundåsen, T., Hunt, M. C., Nilsson, L.-M., Sanyal, S., Angelin, B., Alexson, S. E. H., et al (2007). PPAR- α is a key regulator of hepatic FGF21. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 360, 437–440.
- Markan KR., Naber MC., Ameka MK., Anderegg MD., Mangelsdorf DJ., Kliewer SA., Mohammadi M., Potthoff MJ. (2014). Circulating FGF21 is liver derived and enhances glucose uptake during refeeding and overfeeding. *Diabetes*, 63:4057-4063.
- Minard, A. Y., Tan, S.-X., Yang, P., Fazakerley, D. J., Domanova, W., Parker, B. L., et al (2016). mTORC1 is a major regulatory node in the FGF21 signaling network in adipocytes. *Cell Rep.* 17, 29–36.
- Morovat, A., Weerasinghe, G., Nesbitt, V., Hofer, M., Agnew, T., Quaghebeur, G., et al (2017). Use of FGF-21 as a biomarker of mitochondrial disease in clinical practice. *J. Clin. Med.* 6: E80.
- Moyers JS., Shiyanova TL., Mehrbod F., Dunbar JD., Noblitt TW., Otto KA., Reifel-Miller A and Kharitonov A. (2007). Molecular determinants of FGF-21 activity synergy and cross-talk with PPAR γ signaling. *J Cell Physiol*, 210:1-6.
- Muise E., Azzolina B., Kuo D., El-Sherbeini M., Tan Y., Yuan X., Mu J., Thompson J., Berger J. and Wong K. (2008). Adipose fibroblast growth factor 21 is up-regulated by peroxisome proliferator-activated receptor gamma and altered metabolic states. *Molecular pharmacology*, 74(2):403-412.
- Muise, E. S., Souza, S., Chi, A., Tan, Y., Zhao, X., Liu, F., et al (2013). Downstream signaling pathways in mouse adipose tissues following acute in vivo administration of fibroblast growth factor 21.
- Murata, Y., Nishio, K., Mochiyama, T., Konishi, M., Shimada, M., Ohta, H., et al (2013). Fgf21 impairs adipocyte insulin sensitivity in mice fed a low-carbohydrate, high-fat ketogenic diet. *PLoS One* 8:e69330.
- Nishimura T., Nakatake Y., Konishi M. and Itoh N. (2000). Identification of a novel FGF, FGF-21, preferentially expressed in the liver. *Biochimica et biophysica acta (BBA) – Gene structure and expression*. 1492(1):203-206.
- Ogawa Y., Kurosu H., Yamamoto M., Nandi A., Rosenblatt KP., Goetz R., Eliseenkova AV., Mohammadi M., Kuro-o M. (2007). BetaKlotho is required for metabolic activity of fibroblast growth factor 21. *Proc Natl Acad Sci USA*, 104:7432-7437.
- Oost, L. J., Kustermann, M., Armani, A., Blaauw, B., and Romanello, V. (2019). Fibroblast growth factor 21 controls mitophagy and muscle mass. *J. Cachexia Sarcopenia Muscle*.
- Owen BM., Bookout AL., Ding X., Lin VY., Atkin SD., Gautron L., Kliewer SA., Mangelsdorf DJ. (2013). FGF21 contributes to neuroendocrine control of female reproduction. *Nat Med.* 19:1153-1156.

- Owen BM., Ding X., Morgan DA., Coate KC., Bookout AL., Rahmouni K., Kliwer SA., Mangelsdorf DJ. (2014). FGF21 acts centrally to induce sympathetic nerve activity, energy expenditure, and weight loss. *Cell Metab.* 20:670–677.
- Parmar, B., Lewis, J. E., Samms, R. J., Ebling, F. J. P., Cheng, C. C., Adams, A. C., et al (2018). Eccentric exercise increases circulating fibroblast activation protein α but not bioactive fibroblast growth factor 21 in healthy humans. *Exp. Physiol.* 103, 876–883.
- Patel, R., Bookout, A. L., Magomedova, L., Owen, B. M., Consiglio, G. P., Shimizu, M., et al (2015). Glucocorticoids regulate the metabolic hormone FGF21 in a feed-forward loop. *Mol. Endocrinol.* 29, 213–223.
- Pedersen, B. K., Steensberg, A., Fischer, C., Keller, C., Keller, P., Plomgaard, P., et al (2003). Searching for the exercise factor: is IL-6 a candidate? *J. Muscle Res. Cell. Motil.* 24, 113–119.
- Pereira, R. O., Tadinada, S. M., Zasadny, F. M., Oliveira, K. J., Pires, K. M. P., Olvera, A., et al (2017). OPA1 deficiency promotes secretion of FGF21 from muscle that prevents obesity and insulin resistance. *EMBO J.* 36, 2126–2145.
- Planavila, A., Redondo, I., Hondares, E., Vinciguerra, M., Munts, C., Iglesias, R., et al (2013). Fibroblast growth factor 21 protects against cardiac hypertrophy in mice. *Nat. Commun.* 4:2019.
- Planavila, A., Redondo-Angulo, I., Ribas, F., Garrabou, G., Casademont, J., Giralt, M., et al (2015). Fibroblast growth factor 21 protects the heart from oxidative stress. *Cardiovasc. Res.* 106, 19–31.
- Potthoff M., Inagaki T., Satapati S., Ding X., He T., Goetz R., Mohammadi M., Finck B., Mangelsdorf D., Kliwer S. and Burgess S. (2009). FGF21 induces PGC-1 α and regulates carbohydrate and fatty acid metabolism during the adaptive starvation response. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America.* 106(26):10853-10858.
- Purushotham A., Schug TT., Xu Q., Surapureddi S., Guo X., Li X. (2009). Hepatocyte-specific deletion of SIRT1 alters fatty acid metabolism and results in hepatic steatosis and inflammation. *Cell Metabolism*, 9:327-338.
- Rai, M., and Demontis, F. (2016). Systemic nutrient and stress signaling via myokines and myometabolites. *Annu. Rev. Physiol.* 78, 85–107.
- Rodríguez-Nuevo, A., Díaz-Ramos, A., Noguera, E., Díaz-Sáez, F., Duran, X., Muñoz, J. P., et al (2018). Mitochondrial DNA and TLR9 drive muscle inflammation upon opa1 deficiency. *EMBO J.* 37:e96553.
- Rupérez, C., Lerin, C., Ferrer-Curriu, G., Cairo, M., Mas-Stachurska, A., Sitges, M., et al (2018). Autophagic control of cardiac steatosis through FGF21 in obesity-associated cardiomyopathy. *Int. J. Cardiol.* 260, 163–170.
- Safdar, A., and Tarnopolsky, M. A. (2018). Exosomes as mediators of the systemic adaptations to endurance exercise. *Cold Spring Harb. Perspect Med.* 8:a029827.
- Samms, R. J., Lewis, J. E., Norton, L., Stephens, F. B., Gaffney, C. J., Butterfield, T., et al (2017). FGF21 is an insulin-dependent postprandial hormone in adult humans. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 102, 3806–3813.

- Sarruf DA., Thaler JP., Morton GJ., German J., Fischer JD., Ogimoto K., Schwartz MW. (2010). Fibroblast growth factor 21 action in the brain increases energy expenditure and insulin sensitivity in obese rats. *Diabetes*. 59:1817-1824.
- Schaap, F. G., Kremer, A. E., Lamers, W. H., Jansen, P. L. M., and Gaemers, I. C. (2013). Fibroblast growth factor 21 is induced by endoplasmic reticulum stress. *Biochimie* 95, 692–699.
- So WY., Cheng Q., Chen L., Evans-Molina C., Xu A., Lam KS., Leung PS. (2013). High glucose represses β -klotho expression and impairs fibroblast growth factor 21 action in mouse pancreatic islets: Involvement of peroxisome proliferator-activated receptor γ signaling. *Diabetes*. 62:3751-3759.
- Staiger, H., Keuper, M., Berti, L., Hrabe de Angelis, M., and Häring, H.-U. (2017). Fibroblast growth factor 21-metabolic role in mice and men. *Endocr. Rev.* 38, 468–488.
- Suomalainen, A., Elo, J. M., Pietiläinen, K. H., Hakonen, A. H., Sevastianova, K., Korpela, M., et al (2011). FGF-21 as a biomarker for muscle-manifesting mitochondrial respiratory chain deficiencies: a diagnostic study. *Lancet Neurol.* 10, 806–818.
- Tacer Fon K., Bookout AL., Ding X., Kurosu H., John GB., Wang L., Goetz R., Mohammadi M., Kuroo M., Mangelsdorf DJ., Kliewer SA. (2010). Research resource: Comprehensive expression atlas of the fibroblast growth factor system in adult mouse. *Mol Endocrinol*, 24:2050-2064.
- Tezze, C., Romanello, V., Desbats, M. A., Fadini, G. P., Albiero, M., Favaro, G., et al (2017). Age-associated loss of opa1 in muscle impacts muscle mass, metabolic homeostasis, systemic inflammation, and epithelial senescence. *Cell Metab.* 25, 1374.e6–1389.e6.
- Tomiyama K., Maeda R., Urakawa I., Yamazaki Y., Tanaka T., Ito S., Nabeshima Y., Tomita T., Odori S., Hosoda K., Nakao K., Imura A. and Nabeshima Y. (2010). Relevant use of Klotho in FGF19 subfamily signaling system in vivo. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 107(4):1666-1671.
- Tsai, S., Sitzmann, J. M., Dastidar, S. G., Rodriguez, A. A., Vu, S. L., McDonald, C. E., et al (2015). Muscle-specific 4E-BP1 signaling activation improves metabolic parameters during aging and obesity. *J. Clin. Invest.* 125, 2952–2964.
- Tsuchiya, H., Ikeda, Y., Ebata, Y., Kojima, C., Katsuma, R., Tsuruyama, T., et al (2012). Retinoids ameliorate insulin resistance in a leptin-dependent manner in mice. *Hepatology* 56, 1319–1330.
- Uebanso, T., Taketani, Y., Yamamoto, H., Amo, K., Tanaka, S., Arai, H., et al (2012). Liver X receptor negatively regulates fibroblast growth factor 21 in the fatty liver induced by cholesterol-enriched diet. *J. Nutr. Biochem.* 23, 785–790.
- Uonaga T., Toyoda K., Okitsu T., Zhuang X., Yamane S., Uemoto S., Inagaki N. (2010). FGF-21 enhances islet engraftment in mouse syngeneic islet transplantation model. *Islets*. 2:247–251.
- Von Holstein-Rathlou S., BonDurant L., Peltekian L., Naber M. C., Yin T. C., Claflin K. E., Urizar A. I., Madsen A., Ratner C., Holst B., Karstoft K., Vandenbeuch A., Anderson C., Cassell M., Thompson A., Solomon T., Rahmouni K., Kinnamon S., Pieper A., Gillum M., and Potthoff

- M. J. (2016). FGF21 Mediates Endocrine Control of Simple Sugar Intake and Sweet Taste Preference by the Liver. *Cell Metabolism*, 23(2):335–343.
- Wang, H., Qiang, L., and Farmer, S. R. (2008). 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.* 28, 188–200.
- Wang, Y., Solt, L. A., and Burris, T. P. (2010). Regulation of FGF21 expression and secretion by retinoic acid receptor-related orphan receptor α . *J. Biol. Chem.* 285, 15668–15673.
- Wei, W., Dutchak, P. A., Wang, X., Ding, X., Wang, X., Bookout, A. L., et al (2012). Fibroblast growth factor 21 promotes bone loss by potentiating the effects of peroxisome proliferator-activated receptor γ . *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 109, 3143–3148.
- Whitham, M., and Febbraio, M. A. (2016). The ever-expanding myokinome: discovery challenges and therapeutic implications. *Nat. Rev. Drug Discov.* 15, 719–729.
- Wu AL., Kolumam G., Stawicki S., Chen Y., Li J., Zavala-Solorio J., Phamluong K., Feng B., Li L., Marsters S. (2011). Amelioration of type 2 diabetes by antibody-mediated activation of fibroblast growth factor receptor 1. *Sci Transl Med.* 3:113ra126.
- Xu J., Lloyd DJ., Hale C., Stanislaus S., Chen M., Sivits G., Vonderfecht S., Hecht R., Li YS., Lindberg RA. (2009). Fibroblast growth factor 21 reverses hepatic steatosis, increases energy expenditure, and improves insulin sensitivity in diet-induced obese mice. *Diabetes*, 58:250–259.
- Xu J., Stanislaus S., Chinookoswong N., Lau YY., Hager T., Patel J., Ge H., Weiszmann J., Lu SC., Graham M. (2009). Acute glucose-lowering and insulin-sensitizing action of FGF21 in insulin-resistant mouse models-association with liver and adipose tissue effects. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 29:E1105-E1114.
- Yan H., Xia M., Chang X., Xu Q., Bian H., Zeng M., Rao S., Yao X., Tu Y., Jia W. and Gao X. (2011). Circulating fibroblast growth factor 21 levels are closely associated with hepatic fat content: a cross-sectional study. *PLoS One*, 6(9).
- Yie J., Hecht R., Patel J., Stevens J., Wang W., Hawkins N., Steavenson S., Smith S., Winters D., Fisher S. (2009). FGF21 N- and C-termini play different roles in receptor interaction and activation. *FEBS Lett*, 583:19–24.
- Yu H., Xia F., Lam K., Wang Y., Bao Y., Zhang J., Gu Y., Zhou P., Lu J., Jia W. and Xu A. (2011). Circadian rhythm of circulating fibroblast growth factor 21 is related to diurnal changes in fatty acids in humans. *Clinical chemistry*, 57(5):691–700.
- Zhang X., Yeung D., Karpisek M., Stejskal D., Zhou Z., Liu F., Wong R., Chow W., Tso A., Lam K. and Xu A. (2008). Serum FGF21 levels are increased in obesity and are independently associated with the metabolic syndrome in humans. *Diabetes*, 57(5):1246–1253.
- Zhen, E. Y., Jin, Z., Ackermann, B. L., Thomas, M. K., and Gutierrez, J. A. (2016). Circulating FGF21 proteolytic processing mediated by fibroblast activation protein. *Biochem. J.* 473, 605–614.

