

Received: 2004.08.17
 Accepted: 2004.11.10
 Published: 2004.12.02

Polimorfizm genu i zaburzenia funkcjonalne adiponektyny jako jedna z przyczyn rozwoju oporności na insulinę*

Adiponectin gene polymorphism and protein dysfunction in the development of insulin resistance

Joanna Karbowska, Elżbieta Warczak, Zdzisław Kochan

Katedra Biochemii Akademii Medycznej w Gdańsku

Streszczenie

Adiponektyna to kodowane przez gen *ACDC* (nazywany także *APM1*) i wydzielane przez tkankę tłuszczową białko, które odgrywa istotną rolę w regulacji metabolizmu glukozy i kwasów tłuszczowych w wątrobie i w mięśniach, w obu wypadkach zwiększając wrażliwość na insulinę. Pod wpływem adiponektyny dochodzi do wzmożonego utleniania kwasów tłuszczowych zarówno w wątrobie, jak i w mięśniach, dzięki czemu spada w nich zawartość triacylogliceroli. Ponadto, adiponektyna stymuluje pobieranie i zużycie glukozy w mięśniach oraz hamuje glukoneogenezę w wątrobie, co prowadzi do obniżenia poziomu glukozy we krwi. U ludzi zaobserwowano dodatnią zależność między stężeniem adiponektyny we krwi a wrażliwością na insulinę. Adiponektyna występuje we krwi w wielu postaciach multimerycznych. Mutacje w genie *ACDC* wywołują zmiany w strukturze białkowej adiponektyny i zaburzają proces tworzenia multimerów, co z kolei obniża stężenie tego hormonu we krwi i/lub aktywność biologiczną adiponektyny. Wiele z opisanych dotychczas mutacji w genie *ACDC* wiąże się z rozwojem oporności na insulinę i występowaniem cukrzycy typu 2.

Słowa kluczowe:

adiponektyna • gen *ACDC* • gen *APM1* • polimorfizm genu • cukrzyca typu 2 • oporność na insulinę • otyłość • genom człowieka

Summary

Adiponectin, an adipocyte-secreted protein encoded by the *ACDC* gene (also known as *APM1*), has been shown to play an important role in the regulation of fatty acid and glucose metabolism in liver and muscle, where it modulates insulin sensitivity. Adiponectin enhances fatty acid oxidation in liver and muscle, thus reducing triglyceride content in these tissues. Moreover, it stimulates glucose utilization in muscle and inhibits glucose production by the liver, consequently decreasing blood glucose levels. Plasma adiponectin levels are positively correlated with insulin sensitivity in humans. Circulating adiponectin forms a wide range of multimers. Mutations in the *ACDC* gene result in an impaired multimerization and/or impaired secretion of adiponectin from adipocytes, both linked to the development of insulin resistance and type II diabetes. This review focuses on the molecular mechanisms underlying hypo adiponectinemia associated with the diabetic phenotype. We further discuss the more recent findings that implicate adiponectin multimer formation as an important feature of the biological function of this adipocyte-derived hormone.

* Praca była finansowana przez Komitet Badań Naukowych (KBN 3 P05A 098 23)

Key words: adiponectin • *ACDC* gene • *APM1* gene • polymorphism, single nucleotide • diabetes mellitus, type II • insulin resistance • obesity • genome human

Full-text PDF: http://www.phmd.pl/pub/phmd/vol_58/6597.pdf

Word count: 3185

Tables: 1

Figures: 3

References: 54

Adres autora: dr Zdzisław Kochan, Katedra Biochemii AM, ul. Dębinki 1, 80-211 Gdańsk, e-mail: kochanz@amg.gda.pl

Tkanka tłuszczowa, jak wykazano w ostatnich latach, jest nie tylko miejscem przechowywania zgromadzonych w postaci lipidów zasobów energetycznych, ale również organem wydzielniczym, wytwarzającym wiele różnych, aktywnych biologicznie białek i peptydów, określanych wspólnym mianem „adipocytokiny” [13,22,27,37,46,53]. Niektóre z tych białek wydzielanych przez tkankę tłuszczową, między innymi leptyna, czynnik martwicy nowotworu α (TNF- α), interleukina 6 (IL-6) i adiponektyna, mogą odgrywać rolę w patogenezie cukrzycy typu 2.

Leptyna, jeden z ważniejszych i najlepiej poznanych hormonów wydzielanych przez adipocyty, reguluje równowagę energetyczną organizmu [53]. Wiadomo, że leptyna hamuje syntezę i wydzielanie insuliny [40], ale już wpływ leptyny na kontrolowany przez insulinę metabolizm glukozy budzi wiele kontrowersji. W niektórych badaniach po dodaniu leptyny obserwowano zwiększoną wrażliwość komórek na insulinę, podczas gdy z innych badań wynika, że leptyna zmniejsza lub nie zmienia wrażliwości komórek na ten hormon [33,42,54]. Rozwój oporności na insulinę wiązano także ze zwiększoną syntezą TNF- α , obserwowaną w tkance tłuszczowej osób otyłych [13]. Jednak ilość TNF- α wydzielanego przez ludzką tkankę tłuszczową jest niewielka, w związku z tym przypuszcza się, że nie jest on przez tę tkankę uwalniany do krwi, lecz działa auto- i/lub parakrynnie w jej obrębie [30]. W przypadku IL-6 wykazano, że stężenie tej cytokiny jest podwyższone w surowicy osób otyłych [2,4]; mimo to próby określenia zależności między stężeniem IL-6 w surowicy a wrażliwością na insulinę nie przyniosły jednoznacznych wyników [4,19].

Spośród wielu adipocytokiny pochodzących z tkanki tłuszczowej na szczególną uwagę zasługuje adiponektyna – swoiste dla adipocytów białko, wydzielane w dużych ilościach przez tkankę tłuszczową [26]. Adiponektyna odgrywa istotną rolę w regulacji metabolizmu glukozy i lipidów. Wykazano, że synteza adiponektyny w tkance tłuszczowej oraz jej stężenie we krwi spada wraz z rozwojem otyłości [1]. Obniżone stężenie adiponektyny we krwi towarzyszy również cukrzycy typu 2 [14]. Sugeruje to, że zaburzona synteza i wydzielanie adiponektyny może być jedną z przyczyn rozwoju oporności na insulinę i cukrzycy typu 2, związanych z otyłością.

STRUKTURA GENU *ACDC* – KODUJĄCEGO ADIPONEKTYNĘ U CZŁOWIEKA

Ludzka adiponektyna jest kodowana przez gen *ACDC* (nazywany także *APM1*), którego transkrypt dominuje ilościowo

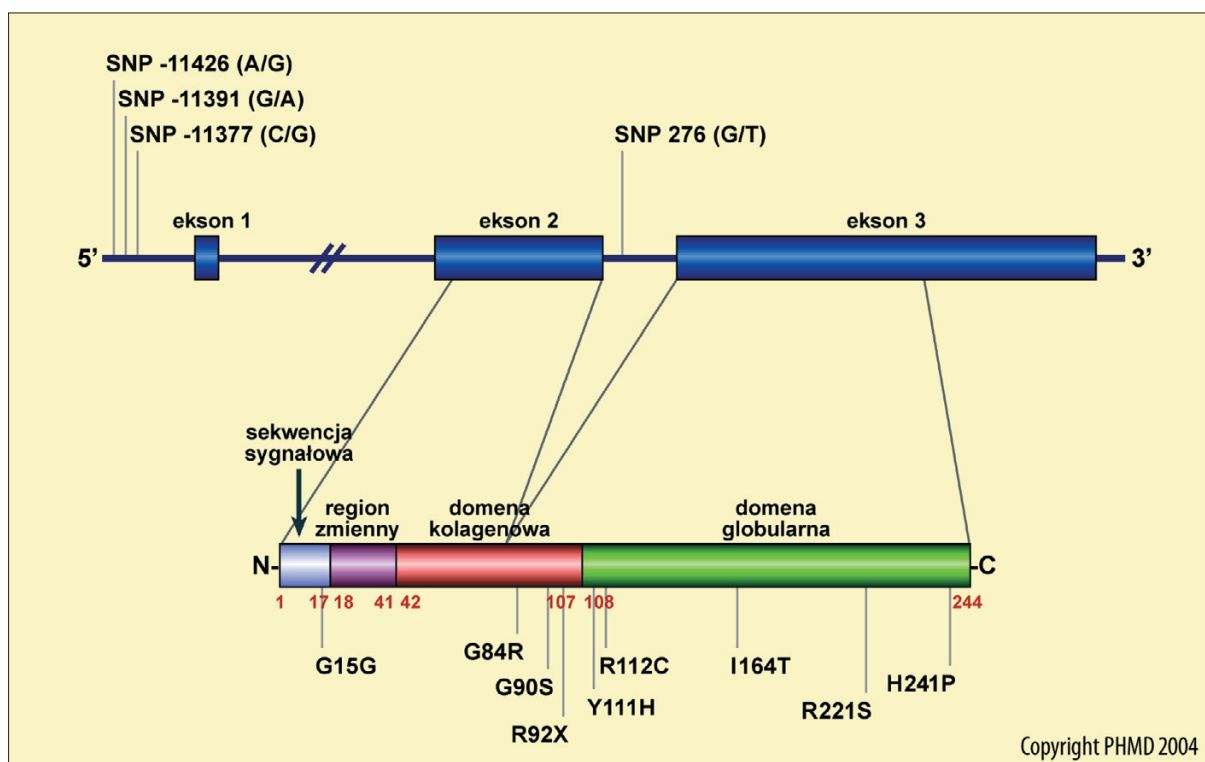
w adipocytach [26]. Gen *ACDC* jest umiejscowiony na długim ramieniu chromosomu 3, w *locus* 3q27; składa się z 16 kb (tysięcy par zasad) i zawiera trzy eksony, o długości odpowiednio 18, 222 i 4277 kb [36]. Ekson 1 nie zawiera sekwencji kodującej, która zajmuje jedynie część eksonu drugiego i trzeciego (ryc. 1). *Locus* 3q27, w którym znajduje się między innymi gen *ACDC*, został podczas przeszukiwania ludzkiego genomu zmapowany jako jeden z *loci* związanych z podatnością na choroby metaboliczne, takie jak zwiększona oporność na insulinę i nietolerancja glukozy oraz otyłość [20].

W regionie promotorowym genu *ACDC* znaleziono dotychczas sekwencje, tzw. elementy odpowiedzi (response elements), rozpoznawane przez receptory jądrowe/czynniki transkrypcyjne PPAR (receptor aktywowany przez proliferatory peroksyosomów), SREBP (białko wiążące się z elementem odpowiedzi na sterole) i GR (receptor glukokortykosteroidów) [16,39,45]. Dzięki tym sekwencjom ekspresja genu *ACDC* może zmieniać się odpowiednio do stanu energetycznego organizmu i zasobów lipidowych tkanki tłuszczowej.

REGULACJA EKSPRESJI GENU *ACDC*

Gen *ACDC*, kodujący adiponektynę u człowieka, ulega ekspresji wyłącznie w tkance tłuszczowej [11,26]. Regulacja ekspresji tego genu nie została jeszcze w pełni poznana; wiadomo jednak, że może w niej brać udział wiele czynników hormonalnych. Ekspresja genu *ACDC* wzrasta, gdy masa ciała ulega obniżeniu oraz pod wpływem IGF-1; spada natomiast wraz z rozwojem otyłości oraz pod wpływem glukokortykosteroidów, TNF- α i agonistów receptorów β -adrenergicznych [1,7,8,11,15]. W regulacji ekspresji genu *ACDC* bierze również udział insulina, jednak jej rola pozostaje niewyjaśniona. Jak dotąd zaobserwowano wywołany przez insulinę wzrost ekspresji genu *ACDC* w eksplantach z wisceralnej tkanki tłuszczowej człowieka [11] oraz obniżenie ekspresji tego genu w hodowli komórkowej adipocytów po podaniu insuliny [8]. U zdrowych osób podanie insuliny prowadzi do spadku zarówno ilości mRNA adiponektyny w tkance tłuszczowej, jak i stężenia adiponektyny we krwi; natomiast u osób charakteryzujących się mniejszą wrażliwością na insulinę hormon ten nie zmienia poziomu mRNA adiponektyny w tkance tłuszczowej, jednak obniża stężenie adiponektyny we krwi [25]. Wydaje się, że insulina może regulować ekspresję genu *ACDC* w tkance tłuszczowej, hamując transkrypcję tego genu lub obniżając stabilność mRNA, a także kontrolować stężenie adiponektyny we krwi, przyspieszając jej usuwanie z krwiobiegu.





Ryc. 1. Gen *ACDC* i struktura białkowa adiponektyny

Z wielu badań, w których stosowano leki z grupy tiazolidinedionów (TZD) wynika, że główną rolę w regulacji ekspresji genu *ACDC* może odgrywać receptor aktywowany przez proliferatory peroksyosomów γ (PPAR γ). Wiadomo, że TZD zwiększają wrażliwość komórek na insulinę oraz obniżają poziom glukozy i lipidów u pacjentów z cukrzycą typu 2. Leki te działają przez związanie i aktywację PPAR γ [43,52], który, podobnie jak pozostałe izoformy PPAR – PPAR α i PPAR δ , jest czynnikiem transkrypcyjnym z rodziny jądrowych receptorów hormonów [38]. Receptor PPAR γ jest dominującą izoformą PPAR w tkance tłuszczowej, gdzie reguluje ekspresję wielu genów związanych z metabolizmem węglowodanów i kwasów tłuszczowych oraz wpływa na proliferację i różnicowanie adipocytów [3,38]. Wykazano, że traktowanie adipocytów farmakologicznymi ligandami receptora PPAR γ , takimi jak rosiglitazon i inne glitazony z grupy tiazolidinedionów, znacznie zwiększa ekspresję genu *ACDC* w tych komórkach i ilość wydzielanej przez nie adiponektyny [28]. Ponadto, po podaniu tiazolidinedionów pacjentom z cukrzycą obserwuje się wzrost stężenia adiponektyny w osoczu [28,52].

BUDOWA BIAŁKA I TWORZENIE MULTIMERÓW ADIPONEKTYNY

Adiponektyna została odkryta i opisana niezależnie przez cztery grupy badawcze, w związku z tym nazywana jest też Acrp30, AdipoQ i GBP28 [15,26,31,37]. Miejszem biosyntezy tego hormonu jest tkanka tłuszczowa. Początkowo, w wyniku translacji odpowiedniego mRNA w adipocytach syntetyzowany jest polipeptyd zbudowany z 244 aminokwasów, z których 17 stanowi sekwencję sygnałową (ryc. 1). Po odcięciu sekwencji sygnałowej powstaje dojrzałe białko o masie 28 kDa [26]. W strukturze białkowej adiponektyny można wyróżnić dwie domeny: położoną na końcu karbo-

ksylowym domenę globularną, której sekwencja wykazuje duże podobieństwo do sekwencji jednego z białek dopełniacza – C1q, i znajdującą się na końcu aminowym domenę włóknistą, która budową przypomina kolagen typu VIII i X [26]. Adiponektyna dzięki swej budowie może tworzyć multimery – globularne domeny adiponektyny łączą się w homotrimery, natomiast dzięki domenom włóknistym powstają struktury wyższego rzędu składające się z 12, 18 i większej liczby cząsteczek adiponektyny [49].

Podstawową jednostką strukturalną adiponektyny powstającej w adipocytach jest trimer, który tworzą trzy cząsteczki adiponektyny połączone wiązaniami wodorowymi w obrębie domeny globularnej. Po utworzeniu trimerów adiponektyna jest wydzielana poza komórkę. Następnie we krwi może dochodzić do dalszej oligomeryzacji trimerów adiponektyny, w wyniku czego powstają bardziej złożone formy multimeryczne. Proces oligomeryzacji trimerów zachodzi dzięki tworzeniu się wiązań dwusiarczkowych w obrębie podobnych do kolagenu domen włóknistych adiponektyny. W powstawaniu heksamerów i multimerów wyższego rzędu (HMW) główną rolę odgrywa konserwowana międzygatunkowo cysteina w pozycji 22, umiejscowiona na końcu aminowym przed domeną włóknistą [47]. Cysteina w pozycji 22 odpowiada za tworzenie mostków dwusiarczkowych między trimerami adiponektyny [47]. Metody rozdzielania białek, takie jak elektroforeza poliakrylamidowa i chromatografia kolumnowa, pozwalają na rozdzielanie multimerów adiponektyny [21,49].

W wyniku rozdzielania adiponektyny pochodzącej z surowicy ludzkiej i mysiej, przeprowadzonego metodą elektroforezy poliakrylamidowej w warunkach niedenaturujących, zaobserwowano trzy główne frakcje białkowe, różniące się

masą cząsteczkową [49]. Otrzymane frakcje reprezentują adiponektynę na różnym stopniu oligomeryzacji. Frakcja o najmniejszej masie cząsteczkowej, LMW (low molecular weight), zawiera trimery adiponektyny; we frakcjach o większej masie cząsteczkowej, MMW (middle molecular weight) i HMW (high molecular weight), najprawdopodobniej znajdują się multimery składające się odpowiednio z 6 (heksamery) i 12–18 cząsteczek adiponektyny [49]. Istnienie tych multimerów zostało potwierdzone metodą chromatografii kolumnowej, w wyniku której uzyskano trzy szczyty białkowe adiponektyny, odpowiadające wyżej wymienionym postaciom multimerycznym [21]. W warunkach eksperymentalnych multimery adiponektyny są wrażliwe na temperaturę i obecność czynników redukujących. Wiązania utrzymujące trimer są bardziej stabilne od tych odpowiedzialnych za wytworzenie złożonych postaci multimerycznych, ponieważ nawet w obecności czynników redukujących trimery zachowują swoją strukturę [49].

WYSTĘPOWANIE POSTACI MULTIMERYCZNYCH ADIPONEKTyny WE KRWI

Proporcje ilościowe między poszczególnymi postaciami multimerycznymi adiponektyny we krwi zależą prawdopodobnie od wielu czynników. Istotne różnice, zależne od płci i stopnia otyłości, dotyczą przede wszystkim stężenia multimerów HMW. Już wcześniej zaobserwowano, że stężenie adiponektyny jest związane z płcią – u kobiet jest wyższe niż u mężczyzn [1]. Obecnie uważa się, że różnice te istnieją nie tylko w całkowitym stężeniu adiponektyny, lecz również w proporcjach ilościowych poszczególnych multimerów tego hormonu. Niedawno wykazano u kobiet wyższe niż u mężczyzn stężenie postaci HMW adiponektyny [49]. Wiadomo także, że stężenie adiponektyny w osoczu osób otyłych jest znacznie mniejsze niż u osób szczupłych [1]. Z najnowszych badań wynika, że u otyłych pacjentów stężenie postaci HMW adiponektyny jest mniejsze niż u osób szczupłych, podczas gdy heksamerów i trimerów adiponektyny jest tyle samo lub więcej [21]. Odchudzenie wiąże się ze zwiększeniem stężenia frakcji HMW we krwi [21]. Podobne proporcje ilościowe postaci multimerycznych, spadek ilości HMW, wzrost poziomu trimerów i brak zmian stężenia heksamerów we krwi, obserwuje się u pacjentów z chorobą wieńcową [21]. Powyższe dane wskazują, że spadek ilości multimerów HMW adiponektyny może być związany z otyłością i rozwojem choroby wieńcowej.

RECEPTOR ADIPONEKTyny

Szlak sygnałowy adiponektyny nie został jeszcze w pełni poznany, wiadomo jednak, że istotną rolę w działaniu tego hormonu odgrywa niedawno odkryty, swoisty receptor błonowy. Jak dotąd znane są dwie izoformy receptora adiponektyny: AdipoR1 i AdipoR2 [51]. Receptory te są kodowane przez dwa różne geny – gen kodujący ludzki receptor AdipoR1 (*ADRI*) jest umiejscowiony na chromosomie 1 (1q32.1), podczas gdy gen receptora AdipoR2 (*ADR2*) znajduje się na chromosomie 12 (12p13.33). Różna jest także lokalizacja narządowo-tkankowa obu receptorów. AdipoR1 występuje głównie w mięśniach szkieletowych oraz – w mniejszych ilościach – w innych tkankach i narządach (w mózgu, sercu, nerce, wątrobie, łożysku, komórkach β trzustki i w makrofagach) [17,5]. AdipoR2 – głównie w wątrobie oraz w mięśniach szkieletowych. Receptor

adiponektyny jest zbudowany z siedmiu domen przezbłonowych – podobnie jak receptory związane z białkami G, lecz w odróżnieniu od nich nie wymaga białek G do swojego działania. Przekazywanie sygnału wewnątrz komórki odbywa się najprawdopodobniej przez fosforylację kinaz MAPK (kinaza białkowa aktywowana przez mitogeny) i AMPK (kinaza białkowa zależna od AMP) oraz aktywację jądrowego receptora PPAR α [51].

AdipoR1 i AdipoR2 różnią się powinowactwem do postaci multimerycznych adiponektyny. Receptor AdipoR1, przeważający w mięśniach szkieletowych, z większym powinowactwem wiąże trimer adiponektyny; natomiast AdipoR2, występujący głównie w wątrobie, wykazuje większe powinowactwo do multimerów wyższego rzędu, MMW i HMW [51].

FIZJOLOGICZNA ROLA ADIPONEKTyny

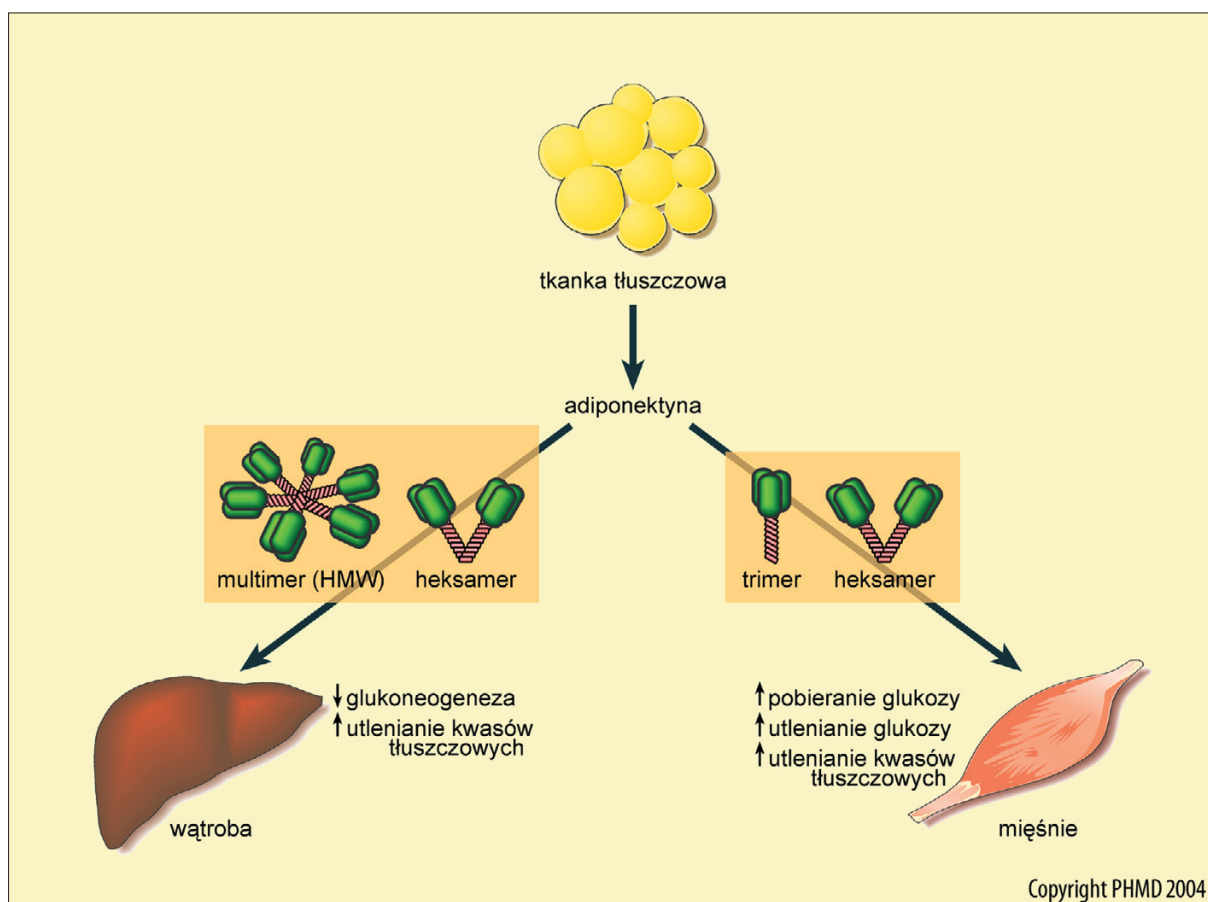
Adiponektyna reguluje przemiany węglowodanów i kwasów tłuszczowych w wątrobie i mięśniach (ryc. 2). Istotną rolę w mechanizmie jej działania odgrywa zdolność do tworzenia multimerów. Od stopnia oligomeryzacji adiponektyny zależy swoistość jej oddziaływania z receptorami, a następnie aktywacja odpowiednich ścieżek sygnałowych oraz wpływ na zmiany metabolizmu glukozy i kwasów tłuszczowych w poszczególnych narządach i tkankach [47,50,51].

W mięśniach szkieletowych, w których dominuje postać AdipoR1 receptora adiponektyny, trimery adiponektyny przez aktywację ścieżki sygnałowej z udziałem AMPK zwiększają pobieranie i utlenianie glukozy, a po obniżeniu aktywności karboksylazy acetylo-CoA (ACC), utlenianie kwasów tłuszczowych [50,51]. Natomiast w wątrobie, gdzie przeważa postać AdipoR2 receptora, regulacja przemian glukozy i kwasów tłuszczowych zachodzi głównie pod wpływem multimerów adiponektyny (HMW) [50,51]. Wiązanie HMW z receptorem AdipoR2 aktywuje w hepatocytach, podobnie jak w miocytach, ścieżkę sygnałową z udziałem AMPK, co z kolei prowadzi do obniżenia aktywności karboksylazy acetylo-CoA i stymulacji utleniania kwasów tłuszczowych [50]. Ponadto, po związaniu HMW przez AdipoR2 obserwuje się w wątrobie zahamowanie glukoneogenezy [6,50]. Pod wpływem adiponektyny dochodzi więc do zwiększenia zużycia glukozy i kwasów tłuszczowych w mięśniach oraz do zwiększonego utleniania kwasów tłuszczowych i zahamowania syntezy glukozy w wątrobie. Zaburzenia w powstawaniu multimerów i w wydzielaniu adiponektyny do krwi, będące wynikiem mutacji w genie *ACDC*, oraz towarzysząca hipoadiponektynemia są związane ze zmniejszonym zużyciem glukozy i rozwojem cukrzycy typu 2 (tabela 1).

Adiponektyna bierze również udział w hamowaniu procesu powstawania zmian miażdżycowych – gromadzi się w przestrzeni podśródbłonkowej uszkodzonej tętnicy, hamuje ekspresję cząsteczek adhezyjnych w komórkach śródbłonka naczyń i powstrzymuje rozwój odczynu zapalnego, hamuje także akumulację lipidów w makrofagach oraz transformację makrofagów w komórki piankowe [18].

Wyniki najnowszych badań wskazują, że ważnym miejscem działania adiponektyny może być ośrodkowy układ





Ryc. 2. Rola adiponektyny w regulacji metabolizmu glukozy i kwasów tłuszczowych w wątrobie i w mięśniach

nerwowy. Sugerowało to już odkrycie receptorów tego hormonu w mózgu [51]. Niedawno potwierdzono obecność obu receptorów adiponektyny w podwzgórzu myszy; wykazano także, że adiponektyna po podaniu dożylnym pojawia się w płynie mózgowo-rdzeniowym [35]. Wydaje się więc prawdopodobne, że adiponektyna może przekraczać barierę krew-mózg i działać bezpośrednio na podwzgórze. W badaniach przeprowadzonych na modelu mysim, po podaniu adiponektyny do komórek mózgowych obserwowano aktywację komórek w jądrze przykomorowym, regionie podwzgórza odpowiedzialnym za utrzymanie równowagi energetycznej organizmu [35]. Dokomorowe podanie adiponektyny nie wywołało u myszy zmian w ilości spożywanego pokarmu, doprowadziło natomiast do obniżenia masy ciała przez zwiększenie zużycia energii [35]. Z powyższych badań wynika, że adiponektyna oprócz bezpośredniego działania na tkanki i narządy docelowe może przez układ współczulny wpływać na metabolizm podstawowy organizmu, np. zwiększając termogenezę.

POLIMORFIZM GENU *ACDC* A OPORNOŚĆ NA INSULINĘ

Polimorfizm pojedynczych nukleotydów (SNP) w obrębie genu *ACDC* jest często związany z występowaniem oporności na insulinę i cukrzycy typu 2 [12]. W wyniku mutacji w regionie promotorowym tego genu może ulegać zmianie (przeważnie obniżeniu) stężenie adiponektyny we krwi. Z kolei mutacje w sekwencji kodującej genu *ACDC* wpływają na proces tworzenia multimerów adiponektyny (ryc. 3).

Niektóre mutacje uniemożliwiają tworzenie trimerów adiponektyny i prowadzą do zahamowania wydzielania adiponektyny poza komórkę, inne mogą zaburzać proces powstawania postaci multimerycznych [23,48,49]. Wywołane przez mutacje zmiany struktury adiponektyny obniżają jej aktywność biologiczną i zwiększają ryzyko zachorowania na cukrzycę typu 2 oraz inne choroby metaboliczne.

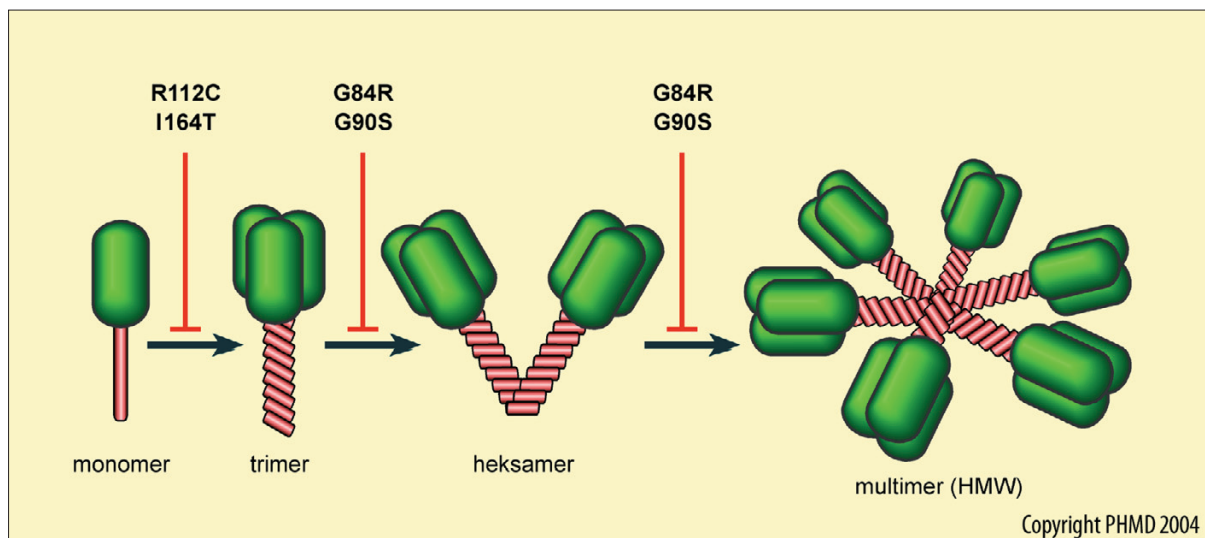
Polimorfizm pojedynczych nukleotydów poza sekwencją kodującą

Zaobserwowano, że mutacje polegające na zamianie pojedynczych nukleotydów poza sekwencją kodującą genu *ACDC* występują ze zwiększoną częstością u chorych na cukrzycę typu 2. W badaniach populacyjnych przeprowadzonych w Szwecji wykazano, że zamiana adeniny na guaninę w pozycji -11426 (allel -11426G) w regionie promotorowym genu *ACDC* (SNP -11426) wiąże się z podwyższonym poziomem glukozy we krwi na czczo, zarówno u pacjentów z cukrzycą typu 2, jak i u osób wykazujących zaburzoną tolerancję glukozy [10]. Z kolei z badań populacji francuskiej wynika, że w pozycji -11391 (allel -11391A) adenina występuje z większą częstością u osób z cukrzycą typu 2 niż u osób zdrowych [48,9]. W przypadku SNP -11377, również znajdującego się w regionie promotorowym genu *ACDC*, u chorych na cukrzycę typu 2 w populacji francuskiej dominuje allel -11377G, natomiast w populacjach japońskiej i szwedzkiej przeważa allel -11377C [10,12,24,34,48]. Wprawdzie opisane powyżej mutacje znajdują się w regio-

Tabela 1. Mutacje w genie *ACDC* związane z opornością na insulinę

Mutacja	Cechy białka	Fenotyp	Piśmiennictwo
SNP –11426 (A/G)	mutacja w regionie promotorowym (nie wpływa na strukturę białka)	CT2	[10]
SNP –11391 (G/A)	mutacja w regionie promotorowym (nie wpływa na strukturę białka)	CT2, HA	[9,48]
SNP –11377 (C/G)	mutacja w regionie promotorowym (nie wpływa na strukturę białka)	CT2, HA, OI	[10,12,24,34,48]
SNP 45 (T/G) = G15G	mutacja bez zmiany aminokwasu	CT2, HA, OI	[9,12,44]
SNP 276 (G/T)	mutacja w obrębie intronu 2 (bez zmiany aminokwasu)	CT2, HA, OI	[12,29,34]
G84R	zahamowane tworzenie multimerów	CT2, HA	[12,48,49]
G90S	zahamowane tworzenie multimerów	CT2, HA	[48,49]
R92X	mutacja nonsensowna, brak białka	BD	[48,49]
Y111H	brak wpływu na multimeryzację	CT2, HA	[48,49]
R112C	zaburzone tworzenie trimerów i multimerów, zahamowane wydzielanie białka	HA	[23,45,49]
I164T	zaburzone tworzenie trimerów i multimerów, zahamowane wydzielanie białka	CT2, HA	[12,23,32,49]
R221S	brak wpływu na multimeryzację	BO	[12,23,49]
H241P	brak wpływu na multimeryzację	BO	[12,23,49]

CT2 – cukrzyca typu 2; HA – hipoadiponektynia; OI – oporność na insulinę; BD – brak danych; BO – brak objawów klinicznych



Ryc. 3. Wpływ mutacji w genie *ACDC* na powstawanie multimerów adiponektyny

nie promotorowym genu *ACDC* i nie mają wpływu na strukturę białkową adiponektyny, mogą jednak modyfikować jej stężenie we krwi. SNP –11426, –11391 i –11377 są prawdopodobnie położone w bliskim sąsiedztwie jednej z sekwencji regulatorowych i mogą wpływać na proces transkrypcji genu kodującego adiponektynę [48].

Poza sekwencją kodującą genu *ACDC* znajduje się również SNP 276, położony w obrębie intronu [12]. W populacji ja-

pońskiej występowanie allelu G (zamiast allelu T) w pozycji 276 wiąże się z hipoadiponektynią i ze zwiększonym ryzykiem zachorowania na cukrzycę typu 2 [12,34].

Mutacje w obrębie sekwencji sygnałowej adiponektyny

SNP 45, mimo że jest położony w obrębie eksonu, nie wywołuje zmian w sekwencji aminokwasów adiponekty-



ny. Obydwa allele (T i G), które występują w pozycji 45 sekwencji nukleotydów genu *ACDC*, kodują przyłączenie glicyny w pozycji 15 polipeptydu, tzn. w sekwencji sygnałowej, niewystępującej w dojrzałym białku [9,12]. Jednak, jak wykazano w badaniach populacji japońskiej, występowanie allelu G w pozycji 45 jest u homozygot związane z większą zachorowalnością na cukrzycę typu 2 [12]. Wyniki tych badań zostały potwierdzone także w populacji francuskiej, gdzie wśród homozygot G/G w pozycji 45 odnotowano większą liczbę zachorowań na cukrzycę typu 2 [9]. Podłoże molekularne tej zależności nie zostało dotąd poznane.

Mutacje w obrębie domeny włóknistej

Położone w obrębie domeny włóknistej mutacje G84R i G90S są związane z występowaniem cukrzycy typu 2 [48]. U osób z tymi mutacjami obserwuje się obniżone, w wyniku znacznego spadku ilości multimerów HMW, stężenie adiponektyny we krwi [48,49]. Zmiany te nie dotyczą heksamerów (frakcji MMW) i trimerów adiponektyny, których ilość utrzymuje się na prawidłowym poziomie. W domenie włóknistej adiponektyny Gly-84 i Gly-90 znajdują się w regionie zawierającym charakterystyczne dla kolagenu powtórzenia Gly-X-Y, które umożliwiają tworzenie potrójnej helisy [49]. Mutacje dotyczące zamiany glicyny w argininę (Gly→Arg) w pozycji 84 i glicyny w serynę (Gly→Ser) w pozycji 90 utrudniają tworzenie potrójnej helisy i prowadzą do zahamowania powstawania multimerów HMW adiponektyny.

Mutacje w obrębie domeny globularnej

Mutacje R112C, I164T i Y111H w obrębie domeny globularnej prowadzą do spadku stężenia adiponektyny we krwi i często towarzyszą cukrzycy typu 2 [12,23,32,48,49]. Arg-112 i Ile-164 znajdują się na powierzchni kontaktowej domeny globularnej adiponektyny i w związku z tym prawdopodobnie odgrywają istotną rolę w procesie tworzenia się trimerów [41,49]. Zamiana argininy w cysteinę (Arg→Cys) w pozycji 112 i izoleucyny w treoninę (Ile→Thr) w pozycji 164 może zakłócać powstawanie trimerów adiponektyny, w wyniku czego dochodzi do zahamowania wydzielania tego białka przez adipocyty [49]. U osób dotkniętych tymi mutacjami zahamowane wydzielanie adiponektyny jest przyczyną hipoadiponektynemii, przeważnie związanej z cukrzycą typu 2 [12,23,32]. Kolejną mutacją występującą w obrębie domeny globularnej jest Y111H. Mutacja ta również zwiększa ryzyko zachorowania na cukrzycę typu 2 oraz prowadzi do hipoadiponektynemii, mimo że nie wywołuje zmian w tworzeniu multimerów adiponektyny [48,49]. Substytucja tyrozyny w histydynę (Tyr→His) w pozycji 111 domeny globularnej prawdopodobnie nie zaburza procesu powstawania trimerów, może jednak wywoływać niewielkie zmiany strukturalne, które nie utrudniają wprawdzie tworzenia multimerów adiponektyny, lecz mogą obniżyć

jej aktywność biologiczną. Domeny globularnej dotyczą także mutacje R221S i H241P, związane z zamianą argininy w serynę (Arg→Ser) w pozycji 221 i histydyny w prolinę (His→Pro) w pozycji 241 [12,23,49]. Mutacje te nie wywołują jednak zmian w procesie multimeryzacji adiponektyny [49]. Prawdopodobnie Arg-221 i His-241 nie leżą na powierzchni kontaktowej w domenie globularnej adiponektyny i nie uczestniczą w tworzeniu wiązań stabilizujących strukturę trimery. U osób z tymi mutacjami nie obserwuje się zmian stężenia adiponektyny ani zmian wrażliwości na insulinę [12,23].

W przypadku mutacji nonsensownej R92X adiponektyna nie powstaje z powodu przedwczesnej terminacji translacji [49].

UDZIAŁ MUTACJI W GENIE *ACDC* W PATOGENEZIE CUKRZYCY TYPU 2

Oporność na insulinę i cukrzyca typu 2 stanowią poważny problem medyczny, szczególnie w ostatnich latach, gdy liczba pacjentów z tymi schorzeniami wzrasta w lawinowym tempie, a leczenie komplikuje to, że zarówno oporność na insulinę, jak i cukrzyca typu 2 mają podłoże wielogenowe. Choroby o podłożu wielogenowym charakteryzują się brakiem prostych zależności między genotypem a fenotypem, co utrudnia identyfikację warunkujących je genów. Ujawnienie się choroby jest wynikiem wzajemnego oddziaływania kilku defektów genowych, z których każdy może zwiększać ryzyko zachorowania. Opisane wyżej mutacje w genie *ACDC*, mimo ich zróżnicowania prowadzą do wspólnego fenotypu – hipoadiponektynemii i/lub obniżenia aktywności biologicznej adiponektyny. Skutkiem mutacji poza sekwencją kodującą jest obniżona ekspresja genu *ACDC* w tkance tłuszczowej, a następnie spadek stężenia adiponektyny we krwi; natomiast mutacje w obrębie sekwencji kodującej genu *ACDC* zwykle wiążą się z zahamowaniem wydzielania adiponektyny i/lub tworzenia jej multimerów. Ponieważ aktywność biologiczna adiponektyny najprawdopodobniej zależy od stopnia jej oligomeryzacji, zmiany proporcji ilościowych pomiędzy poszczególnymi postaciami multimerycznymi adiponektyny mogą wpływać na efektywność przeciwcukrzycowego działania tego hormonu. Ponadto zaburzenia w tworzeniu trimerów utrudniając wydzielanie adiponektyny również prowadzą do spadku stężenia tego hormonu we krwi. Obniżone stężenie adiponektyny obserwuje się u pacjentów z opornością na insulinę i cukrzycą typu 2 oraz u osób otyłych. Sugeruje to istotną rolę tego wydzielanego przez komórki tkanki tłuszczowej hormonu w regulacji wrażliwości na insulinę. Poznanie zależności między poszczególnymi mutacjami w genie kodującym adiponektynę i zaburzeniami czynnościowymi adiponektyny wywołanymi przez te mutacje a opornością na insulinę i zachorowalnością na cukrzycę typu 2 może nie tylko usprawnić leczenie, ale również umożliwić wczesną diagnostykę i działania zapobiegawcze wśród osób z grupy ryzyka.

PIŚMIENNICTWO

- [1] Arita Y., Kihara S., Ouchi N., Takahashi M., Maeda K., Miyagawa J., Hotta K., Shimomura I., Nakamura T., Miyaoka K., Kuriyama H., Nishida M., Yamashita S., Okubo K., Matsubara K., Muraguchi M., Ohmoto Y., Funahashi T., Matsuzawa Y.: Paradoxical decrease of an adipose-specific protein, adiponectin, in obesity. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 1999; 257: 79–83
- [2] Bastard J.P., Jardel C., Bruckert E., Blondy P., Capeau J., Laville M., Vidal H., Hainque B.: Elevated levels of interleukin 6 are reduced in serum and subcutaneous adipose tissue of obese women after weight loss. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 2000; 85: 3338–3342
- [3] Brun R.P., Spiegelman B.M.: PPAR γ and the molecular control of adipogenesis. *J. Endocrinol.*, 1997; 155: 217–218

- [4] Carey A.L., Bruce C.R., Sacchetti M., Anderson M.J., Olsen D.B., Saltin B., Hawley J.A., Febbraio M.A.: Interleukin-6 and tumor necrosis factor- α are not increased in patients with Type 2 diabetes: evidence that plasma interleukin-6 is related to fat mass and not insulin responsiveness. *Diabetologia*, 2004; 47: 1029–1037
- [5] Chinetti G., Zawadzki C., Fruchart J.C., Staels B.: Expression of adiponectin receptors in human macrophages and regulation by agonists of the nuclear receptors PPAR α , PPAR γ , and LXR. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 2004; 314: 151–158
- [6] Combs T.P., Berg A.H., Obici S., Scherer P.E., Rossetti L.: Endogenous glucose production is inhibited by the adipose-derived protein Acrp30. *J. Clin. Invest.*, 2001; 108: 1875–1881
- [7] Fasshauer M., Klein J., Neumann S., Eszlinger M., Paschke R.: Adiponectin gene expression is inhibited by beta-adrenergic stimulation via protein kinase A in 3T3-L1 adipocytes. *FEBS Lett.*, 2001; 507: 142–146
- [8] Fasshauer M., Klein J., Neumann S., Eszlinger M., Paschke R.: Hormonal regulation of adiponectin gene expression in 3T3-L1 adipocytes. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 2002; 290: 1084–1089
- [9] Fumeron F., Aubert R., Siddiq A., Betoulle D., Pean F., Hadjadj S., Tichet J., Wilpart E., Chesnier M.C., Balkau B., Froguel P., Marre M.: Adiponectin gene polymorphisms and adiponectin levels are independently associated with the development of hyperglycemia during a 3-year period: the epidemiologic data on the insulin resistance syndrome prospective study. *Diabetes*, 2004; 53: 1150–1157
- [10] Gu H.F., Abulaiti A., Ostenson C.G., Humphreys K., Wahlestedt C., Brookes A.J., Efendic S.: Single nucleotide polymorphisms in the proximal promoter region of the adiponectin (APM1) gene are associated with type 2 diabetes in Swedish caucasians. *Diabetes*, 2004; 53: S31–S35
- [11] Halleux C.M., Takahashi M., Delporte M.L., Detry R., Funahashi T., Matsuzawa Y., Brichard S.M.: Secretion of adiponectin and regulation of apM1 gene expression in human visceral adipose tissue. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 2001; 288: 1102–1107
- [12] Hara K., Boutin P., Mori Y., Tobe K., Dina C., Yasuda K., Yamauchi T., Otabe S., Okada T., Eto K., Kadowaki H., Hagura R., Akanuma Y., Yazaki Y., Nagai R., Taniyama M., Matsubara K., Yoda M., Nakano Y., Tomita M., Kimura S., Ito C., Froguel P., Kadowaki T.: Genetic variation in the gene encoding adiponectin is associated with an increased risk of type 2 diabetes in the Japanese population. *Diabetes*, 2002; 51: 536–540
- [13] Hotamisligil G.S., Arner P., Caro J.F., Atkinson R.L., Spiegelman B.M.: Increased adipose tissue expression of tumor necrosis factor- α in human obesity and insulin resistance. *J. Clin. Invest.*, 1995; 95: 2409–2415
- [14] Hotta K., Funahashi T., Arita Y., Takahashi M., Matsuda M., Okamoto Y., Iwahashi H., Kuriyama H., Ouchi N., Maeda K., Nishida M., Kihara S., Sakai N., Nakajima T., Hasegawa K., Muraguchi M., Ohmoto Y., Nakamura T., Yamashita S., Hanafusa T., Matsuzawa Y.: Plasma Concentrations of a Novel, Adipose-Specific Protein, Adiponectin, in Type 2 Diabetic Patients. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, 2000; 20: 1595–1599
- [15] Hu E., Liang P., Spiegelman B.M.: AdipoQ is a novel adipose-specific gene dysregulated in obesity. *J. Biol. Chem.*, 1996; 271: 10697–10703
- [16] Iwaki M., Matsuda M., Maeda N., Funahashi T., Matsuzawa Y., Makishima M., Shimomura I.: Induction of adiponectin, a fat-derived antidiabetic and antiatherogenic factor, by nuclear receptors. *Diabetes*, 2003; 52: 1655–1663
- [17] Kharroubi I., Rasschaert J., Eizirik D.L., Cnop M.: Expression of adiponectin receptors in pancreatic β cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 2003; 312: 1118–1122
- [18] Karbowska J., Brzeziński M., Kochan Z.: Rola adiponektyny – białka wydzielanego przez tkankę tłuszczową w zapobieganiu miażdżycy. *Postępy Hig. Med. Dośw.*, 2003; 57: 579–591
- [19] Kern P.A., Ranganathan S., Li C., Wood L., Ranganathan G.: Adipose tissue tumor necrosis factor and interleukin-6 expression in human obesity and insulin resistance. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.*, 2001; 280: E745–E757
- [20] Kissebah A.H., Sonnenberg G.E., Myklebust J., Goldstein M., Broman K., James R.G., Marks J.A., Krakower G.R., Jacob H.J., Weber J., Martin L., Blangero J., Comuzzie A.G.: Quantitative trait loci on chromosomes 3 and 17 influence phenotypes of the metabolic syndrome. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2000; 97: 14478–14483
- [21] Kobayashi H., Ouchi N., Kihara S., Walsh K., Kumada M., Abe Y., Funahashi T., Matsuzawa Y.: Selective suppression of endothelial cell apoptosis by the high molecular weight form of adiponectin. *Circ. Res.*, 2004; 94: e27–e31
- [22] Kochan Z., Karbowska J.: Wydzielnicza funkcja tkanki tłuszczowej. *Postępy Biochem.*, 2004; 50: 256–271
- [23] Kondo H., Shimomura I., Matsukawa Y., Kumada M., Takahashi M., Matsuda M., Ouchi N., Kihara S., Kawamoto T., Sumitsuji S., Funahashi T., Matsuzawa Y.: Association of adiponectin mutation with type 2 diabetes: a candidate gene for the insulin resistance syndrome. *Diabetes*, 2002; 51: 2325–2328
- [24] Lacquemant C., Vasseur F., Lepretre F., Froguel P.: Cytokines d'origine adipocytaire, obesite et developpement du diabete. *Med. Sci.*, 2003; 19: 809–817
- [25] Lihn A.S., Ostergard T., Nyholm B., Pedersen S.B., Richelsen B., Schmitz O.: Adiponectin expression in adipose tissue is reduced in first-degree relatives of type 2 diabetic patients. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.*, 2003; 284: E443–E448
- [26] Maeda K., Okubo K., Shimomura I., Funahashi T., Matsuzawa Y., Matsubara K.: cDNA cloning and expression of a novel adipose specific collagen-like factor, apM1 (adipose most abundant gene transcript 1). *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 1996; 221: 286–289
- [27] Maeda K., Okubo K., Shimomura I., Mizuno K., Matsuzawa Y., Matsubara K.: Analysis of an expression profile of genes in the human adipose tissue. *Gene*, 1997; 190: 227–235
- [28] Maeda N., Takahashi M., Funahashi T., Kihara S., Nishizawa H., Kishida K., Nagaretani H., Matsuda M., Komuro R., Ouchi N., Kuriyama H., Hotta K., Nakamura T., Shimomura I., Matsuzawa Y.: PPAR γ ligands increase expression and plasma concentrations of adiponectin, an adipose-derived protein. *Diabetes*, 2001; 50: 2094–2099
- [29] Menzaghi C., Ercolino T., Di Paola R., Berg A.H., Warram J.H., Scherer P.E., Trischitta V., Doria A.: A haplotype at the adiponectin locus is associated with obesity and other features of the insulin resistance syndrome. *Diabetes*, 2002; 51: 2306–2312
- [30] Mohamed-Ali V., Goodrick S., Rawesh A., Katz D.R., Miles J.M., Yudkin J.S., Klein S., Coppel S.W.: Subcutaneous adipose tissue releases interleukin-6, but not tumor necrosis factor- α , *in vivo*. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 1997; 82: 4196–4200
- [31] Nakano Y., Tobe T., Choi-Miura N.H., Mazda T., Tomita M.: Isolation and characterization of GBP28, a novel gelatin-binding protein purified from human plasma. *J. Biochem.*, 1996; 120: 803–812
- [32] Ohashi K., Ouchi N., Kihara S., Funahashi T., Nakamura T., Sumitsuji S., Kawamoto T., Matsumoto S., Nagaretani H., Kumada M., Okamoto Y., Nishizawa H., Kishida K., Maeda N., Hiraoka H., Iwashima Y., Ishikawa K., Ohishi M., Katsuya T., Rakugi H., Ogiwara T., Matsuzawa Y.: Adiponectin I164T mutation is associated with the metabolic syndrome and coronary artery disease. *J. Am. Coll. Cardiol.*, 2004; 43: 1195–1200
- [33] Perez C., Fernandez-Galaz C., Fernandez-Agullo T., Arribas C., Andres A., Ros M., Carrascosa J.M.: Leptin impairs insulin signaling in rat adipocytes. *Diabetes*, 2004; 53: 347–353
- [34] Populaire C., Mori Y., Dina C., Vasseur F., Vaxillaire M., Kadowaki T., Froguel P.: Does the -11377 promoter variant of APM1 gene contribute to the genetic risk for Type 2 diabetes mellitus in Japanese families? *Diabetologia*, 2003; 46: 443–445
- [35] Qi Y., Takahashi N., Hileman S.M., Patel H.R., Berg A.H., Pajvani U.B., Scherer P.E., Ahima R.S.: Adiponectin acts in the brain to decrease body weight. *Nat. Med.*, 2004; 10: 524–529
- [36] Saito K., Tobe T., Minoshima S., Asakawa S., Sumiya J., Yoda M., Nakano Y., Shimizu N., Tomita M.: Organization of the gene for gelatin-binding protein (GBP28). *Gene*, 1999; 229: 67–73
- [37] Scherer P.E., Williams S., Fogliano M., Baldini G., Lodish H.F.: A novel serum protein similar to C1q, produced exclusively in adipocytes. *J. Biol. Chem.*, 1995; 270: 26746–26749
- [38] Schoonjans K., Staels B., Auwerx J.: The peroxisome proliferator activated receptors (PPARs) and their effects on lipid metabolism and adipocyte differentiation. *Biochim. Biophys. Acta*, 1996; 1302: 93–109
- [39] Seo J.B., Moon H.M., Noh M.J., Lee Y.S., Jeong H.W., Yoo E.J., Kim W.S., Park J., Youn B.S., Kim J.W., Park S.D., Kim J.B.: Adipocyte determination- and differentiation-dependent factor 1/sterol regulatory element-binding protein 1c regulates mouse adiponectin expression. *J. Biol. Chem.*, 2004; 279: 22108–22117
- [40] Seufert J., Kieffer T.J., Habener J.F.: Leptin inhibits insulin gene transcription and reverses hyperinsulinemia in leptin-deficient ob/ob mice. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1999; 96: 674–679
- [41] Shapiro L., Scherer P.E.: The crystal structure of a complement-1q family protein suggests an evolutionary link to tumor necrosis factor. *Curr. Biol.*, 1998; 8: 335–338
- [42] Sivitiz W.I., Walsh S.A., Morgan D.A., Thomas M.J., Haynes W.G.: Effects of leptin on insulin sensitivity in normal rats. *Endocrinology*, 1997; 138: 3395–3401

- [43] Spiegelman B.M.: PPAR- γ : adipogenic regulator and thiazolidinedione receptor. *Diabetes*, 1998; 47: 507–514
- [44] Stumvoll M., Tschritter O., Fritsche A., Staiger H., Renn W., Weisser M., Machicao F., Haring H.: Association of the T-G polymorphism in adiponectin (exon 2) with obesity and insulin sensitivity: interaction with family history of type 2 diabetes. *Diabetes*, 2002; 51: 37–41
- [45] Takahashi M., Arita Y., Yamagata K., Matsukawa Y., Okutomi K., Horie M., Shimomura I., Hotta K., Kuriyama H., Kihara S., Nakamura T., Yamashita S., Funahashi T., Matsuzawa Y.: Genomic structure and mutations in adipose-specific gene, adiponectin. *Int. J. Obes. Relat. Metab. Disord.*, 2000; 24: 861–868
- [46] Trayhurn P., Beattie J.H.: Physiological role of adipose tissue: white adipose tissue as an endocrine and secretory organ. *Proc. Nutr. Soc.*, 2001; 60: 329–339
- [47] Tsao T.S., Tomas E., Murrey H.E., Hug C., Lee D.H., Ruderman N.B., Heuser J.E., Lodish H.F.: Role of disulfide bonds in Acrp30/adiponectin structure and signaling specificity. Different oligomers activate different signal transduction pathways. *J. Biol. Chem.*, 2003; 278: 50810–50817
- [48] Vasseur F., Helbecque N., Dina C., Lobbens S., Delannoy V., Gaget S., Boutin P., Vaxillaire M., Lepretre F., Dupont S., Hara K., Clement K., Bihain B., Kadowaki T., Froguel P.: Single-nucleotide polymorphism haplotypes in the both proximal promoter and exon 3 of the APM1 gene modulate adipocyte-secreted adiponectin hormone levels and contribute to the genetic risk for type 2 diabetes in French Caucasians. *Hum. Mol. Genet.*, 2002; 11: 2607–2614
- [49] Waki H., Yamauchi T., Kamon J., Ito Y., Uchida S., Kita S., Hara K., Hada Y., Vasseur F., Froguel P., Kimura S., Nagai R., Kadowaki T.: Impaired multimerization of human adiponectin mutants associated with diabetes. Molecular structure and multimer formation of adiponectin. *J. Biol. Chem.*, 2003; 278: 40352–40363
- [50] Yamauchi T., Kamon J., Minokoshi Y., Ito Y., Waki H., Uchida S., Yamashita S., Noda M., Kita S., Ueki K., Eto K., Akanuma Y., Froguel P., Foufelle F., Ferre P., Carling D., Kimura S., Nagai R., Kahn B.B., Kadowaki T.: Adiponectin stimulates glucose utilization and fatty-acid oxidation by activating AMP-activated protein kinase. *Nat. Med.*, 2002; 8: 1288–1295
- [51] Yamauchi T., Kamon J., Ito Y., Tsuchida A., Yokomizo T., Kita S., Sugiyama T., Miyagishi M., Hara K., Tsunoda M., Murakami K., Ohteki T., Uchida S., Takekawa S., Waki H., Tsuno N.H., Shibata Y., Terauchi Y., Froguel P., Tobe K., Koyasu S., Taira K., Kitamura T., Shimizu T., Nagai R., Kadowaki T.: Cloning of adiponectin receptors that mediate antidiabetic metabolic effects. *Nature*, 2003; 423: 762–769
- [52] Yu J.G., Javorschi S., Hevener A.L., Kruszynska Y.T., Norman R.A., Sinha M., Olefsky J.M.: The effect of thiazolidinediones on plasma adiponectin levels in normal, obese, and type 2 diabetic subjects. *Diabetes*, 2002; 51: 2968–2974
- [53] Zhang Y., Proenca R., Maffei M., Barone M., Leopold L., Friedman J.M.: Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. *Nature*, 1994; 372: 425–432
- [54] Zierath J.R., Frevert E.U., Ryder J.W., Berggren P.O., Kahn B.B.: Evidence against a direct effect of leptin on glucose transport in skeletal muscle and adipocytes. *Diabetes*, 1998; 47: 1–4