

Polimorfisme Gen Terkait dengan Peningkatan Lipolisis Adiposum

Eva Susanti¹, Ieva B. Akbar²

*¹Rumah Sakit Daerah Raden Mattaher,
Jl Letjend. Soeprapto no 32 Jambi 36122 Indonesia*

*²Bagian Ilmu Faal, Fakultas Kedokteran, Universitas Islam Bandung,
Jl. Tamansari 1 Bandung 40116 Indonesia*

Abstrak

Berbagai variasi genetik mempengaruhi lipolisis jaringan adiposum, suatu polimorfisme yang relatif umum seperti pada gen *USF-1* dan gen *AR* (adrenoseptor). Polimorfisme gen *USF-1* terkait dengan peningkatan kemampuan katekolamin untuk menstimulasi lipolisis pada sel lemak, karena adanya peningkatan fungsi *post-reseptor* yang kemungkinan terjadi pada level protein kinase A yang melibatkan sub unit tipe 1 regulatori, sedangkan polimorfisme gen *AR* (adrenoseptor) $\beta 2$ dan $\beta 3$ terkait dengan sensitivitas reseptor yang berubah terhadap stimulasi agonis dan terhadap pengulangan (*repeat*) dinukleotida pada gen *HSL* (*hormon-sensitive lipase*) yang secara nyata menurunkan kemampuan katekolamin menstimulasi lipolisis.

Kata kunci: Lipolisis, *USF-1*, *HSL*.

Disampaikan Pada Seminar Ilmiah Ilmu Faal di Malang, 19-20 Desember 2008.

Gene Polymorphism Associated with Increased Lipolysis Adiposum

Abstract

Various genetic variations affect adiposum tissue lipolysis, a relatively common polymorphism in genes such as USF-1 and AR gene (adrenoseptor). Polimorphism USF-1 gene is associated with an increased ability of catecholamines to stimulate lipolysis in fat cells, because of the increasing post-receptor function that may occur at the level of protein kinase A, which involves sub-units of type 1 regulatory genes. On the other hand, polimorphism AR (adrenoseptor) and SS2 β 3 receptor sensitivities are associated with the change of agonist stimulation and with the repetition (repeat) of dinucleotide in the gene HSL (hormone-sensitive lipase), which significantly reduce the ability of catecholamines of stimulating lipolysis.

Keywords: lipolysis, USF-1, HSL

Pendahuluan

Suatu aspek mendasar fungsi adiposit adalah untuk menyimpan energi dalam bentuk trigliserida selama surplus nutrisi dan melepaskan energi ini sebagai asam lemak dan gliserol selama kelaparan. Proses yang terakhir disebut lipolisis yang besarnya bervariasi antar individu yang semuanya berkaitan dengan efek yang diinduksi katekolamin dalam sel-sel lemak.¹ Pada penelitian mengenai mekanisme-mekanisme yang mendasar, variasi genetik dapat bersifat sangat penting. Hal tersebut berkaitan dengan variasi genetik yang mempengaruhi lipolisis jaringan adiposum yang telah ditemukan pada beberapa gen yang mengatur jalur (*pathway*) katekolamin.²

Gen Upstream Transcriptional Factor-1 (USF1)

Gen *upstream transcriptional factor-1* (USF-1) yang terletak pada 1q21-23 adalah suatu faktor transkripsi, yang mengatur ekspresi beberapa gen dalam metabolisme lipid dan glukosa.^{3,4} Protein USF-1, dengan berat molekul

33.5 kDa yang meliputi 310 asam amino dan memiliki *helix-loop-helix* motif, mengikat satu motif E-Box (5'-CACGTG-3') di promoter gen-gen target sebagai suatu dimer dengan USF-1 atau USF-2.^{5,6,7,8,9,10} USF-1 mungkin saling berhubungan dengan protein-protein yang lain seperti GTF2I, FOSL1, ESR1, dan NFYA.^{11,12}

Ukuran genom yang mengkode gen USF-1 adalah 6,73 kb, mempunyai 11 ekson, dan berada pada kromosom 1q22-23^{13,14} Sebagai tambahan, USF-1 mempengaruhi ekspresi beberapa gen yang penting yang terlibat dalam homeostasis kolesterol dan sintesis asam lemak, seperti apolipoprotein E (ApoE) dan FASN (*Fatty acid synthase*).^{4,15,16}

Polimorfisme Gen Terkait dengan Lipolisis

Penelitian terbaru Pajukanta dkk memperlihatkan suatu hubungan antara *familial combined hyperlipidemia* (FCHL)/hiperlipidemia kombinasi familial dan USF-1.³ Hasil penelitian yang lain melaporkan USF-1 mengatur beberapa gen yang terlibat dalam metabolisme lipid yang mencakup apo

CIII¹⁷ dan apo A5,¹⁸ *acetyl-CoA carboxylase-alpha*¹⁹ dan *FASN*.²⁰ Gen *USF-1* juga berperan penting bagi lipolisis yang diinduksi katekolamin pada sel lemak karena gen *USF-1* ini terlibat dalam regulasi transkripsional *human sensitive lipase* (HSL).²¹

Polimorfisme gen-gen yang mengatur lipolisis merupakan faktor penting dalam rantai peristiwa yang mengakibatkan adiposum dan metabolisme lipid berubah. Variasi genetik sedikitnya dapat menjelaskan variasi antar individu dalam aksi katekolamin terhadap lipolisis pada orang-orang yang nampak sehat.¹ Selanjutnya terdapat hubungan erat antara polimorfisme gen *usf1s1/usf1s2* dan lipolisis yang distimulasi oleh katekolamin pada sel-sel lemak manusia.

Pembawa atau *carrier* alel T/A *usf1s1/usf1s2* mempunyai risiko lipolisis yang distimulasi katekolamin secara *in vitro* lebih kurang 25% lebih tinggi dibandingkan dengan pembawa alel G homozigot. Efek alel bersifat independen terhadap usia dan BMI. Sampai saat ini tidak diketahui berapa kuat hubungan antara polimorfisme *usf1s1/usf1s2* dan lipolisis secara *in vivo*. Namun, suatu studi baru-baru ini menunjukkan bahwa lipolisis yang diinduksi katekolamin *in vitro* (sel-sel lemak terpisah) dan *in vivo* (mikrodialisis) memperlihatkan suatu hubungan yang relatif erat antara kedua pengukuran lipolisis pada jaringan adiposum subkutis.²²

Mekanisme untuk peningkatan lipolisis pada *carrier* T/A tidak diketahui. Namun, temuan tentang peningkatan lipolisis yang diinduksi maksimum oleh reseptor β 1,2,3-adrenergik dan juga peningkatan lipolisis yang distimulasi maksimum oleh fosfokolin (yang mencerminkan pengaktifan adenilat siklase, yang meningkatkan cAMP) dari pembawa alel

T/A menunjukkan suatu efek variasi gen *usf1s2* pada peristiwa-peristiwa yang terkait *post-receptor* dan tidak pada sensitivitas agonis (mencerminkan peristiwa-peristiwa yang terkait reseptor).

Kemudian yang menarik, data penelitian pada mencit *knock-out*²³, dan juga data dari subjek manusia²⁴, telah menunjukkan bahwa peningkatan yang bahkan sedikit saja pada ekspresi PRKAR1A mengakibatkan pengaktifan protein kinase yang lebih menonjol sehingga terjadi lipolisis. Mekanisme molekuler yang mendasari efek ini paling mungkin akibat dari afinitas PRKAR1A yang lebih tinggi untuk cAMP dibandingkan PRKAR2B. Stoikiometri antara PRKAR1A dan PRKAR2B merupakan hal yang penting dalam perubahan yang akurat pada lipolisis sehingga dapat dinyatakan bahwa ekspresi PRKAR1A yang agak meningkat bertanggung-jawab untuk perbedaan-perbedaan aktivitas lipolitik.

USF-1 dapat menginduksi transkripsi promotor *HSL* sel 3T3-F442A manusia²¹, penelitian-penelitian sebelumnya pada manusia telah memperlihatkan bahwa lipolisis yang diinduksi oleh katekolamin berbanding lurus terhadap kandungan protein dan aktivitas enzim HSL²⁵, sel-sel lemak subkutis.²⁶ Dengan demikian, diketahui bahwa USF-1 mempunyai efek tidak langsung pada aktivitas lipase adiposit dengan cara menginduksi suatu tahap yang lebih hulu pada kaskade lipolitik, yaitu pada fosforilasi HSL/ATGL yang diperantarai protein kinase A yang tergantung pada cAMP. Kondisi ini terkait dengan polimorfisme *USF-1* yang diselidiki serta lipolisis adiposit yang diinduksi katekolamin menurun pada FCHL karena fungsi HSL yang terganggu.²⁷

Menarik untuk membandingkan efek lipolitik oleh polimorfisme *USF-1* dengan efek lipolitik dari variasi pada *HSL*.²⁸ Variasi intron pada *HSL* terkait dengan penurunan 50% pada pengaktifan lipolitik maksimum, yang merupakan efek lebih besar daripada yang sekarang diobservasi untuk *USF-1*, yaitu peningkatan di atas 20%. Hal ini mungkin disebabkan oleh peristiwa-peristiwa pada langkah kaskade lipolitik yang membatasi tingkat akhir, yaitu *HSL*, mempunyai efek-efek yang lebih menonjol pada lipolisis daripada peristiwa-peristiwa pada langkah yang lebih awal seperti protein kinase A.

Beberapa penelitian melaporkan bahwa *single nucleotide polymorphisme* (SNP) pada *usf1s1/usf1s2* tidak terkait dengan variasi-variasi pada fenotip-fenotip klinis misalnya BMI, profil lipid plasma, atau kadar asam lemak atau gliserol yang beredar. Tapi di sisi lain beberapa penelitian memperlihatkan hubungan SNP *USF-1* dengan kadar trigliserida pada keluarga penderita *FCHL*³ dan yang mempunyai kadar lipid plasma dan glukosa puncak selama *OGTT* pada anak laki-laki, dengan pasien-pasien penderita miokard infark dini.²⁵ Alasan untuk hal ini boleh jadi karena lipolisis adiposit dari variasi genetik pada *USF-1* mengakibatkan manifestasi klinis ketika terdapat suatu keadaan patofisiologis, misalnya diabetes atau *FCHL*.

SNP dari *usf1s1* dan *usf1s2* berlokasi di dalam intron gen *USF-1*, yang menunjukkan bahwa keduanya tidak dapat bersifat fungsional dengan sendirinya. Lebih jauh, kedua SNP ini ditemukan berada dalam *linkage disequilibrium* (LD) yang ketat dengan dua SNP yang baru-baru ini diteliti oleh Putt dkk, yaitu 475 C-T dan 1748 C-T, yang menunjukkan bahwa semua polimorfisme ini merupakan penanda

suatu domain fungsional yang tidak dikenal.²⁹ Namun, berdasarkan analisis *in siliko* Pajukanta dkk mengidentifikasi suatu dugaan promoter internal dalam intron 7 gen *USF-1*, dalam kedekatan dengan SNP *usf1s2*, yang menyatakan bahwa variasi genetik pada lokus *usf1s2* merupakan signifikansi fungsional.³ Lokus *usf1s2* dengan demikian, dapat mempengaruhi promoter ini untuk mengawali translasi AUG internal dalam ekson 8 *USF-1* sehingga menekan fungsi normal protein tersebut.³⁰

Polimorfisme pada gen *AR* (adrenoseptor) $\beta 2$ dan $\beta 3$ terkait dengan sensitivitas reseptor yang berubah terhadap stimulasi agonis dan terhadap pengulangan (*repeat*) dinukleotida pada gen *HSL* yang menurunkan kemampuan katekolamin untuk menstimulasi lipolisis secara nyata.

Penutup

Suatu polimorfisme pada gen dapat mempengaruhi lipolisis adiposum, pada *USF-1* terkait dengan peningkatan kemampuan katekolamin untuk menstimulasi lipolisis pada sel-sel lemak, yang kemungkinannya dapat dijelaskan dengan adanya peningkatan fungsi *post-reseptor* yang mungkin terjadi pada level protein kinase A yang melibatkan sub unit tipe 1 regulatori. Sedangkan polimorfisme gen *AR* (adrenoseptor) $\beta 2$ dan $\beta 3$ terkait dengan sensitivitas reseptor yang berubah terhadap stimulasi agonis dan terhadap pengulangan (*repeat*) dinukleotida pada gen *HSL* (*human sensitive lipase*) yang nyata menurunkan kemampuan katekolamin menstimulasi lipolisis.

Daftar Pustaka

1. Lonnquist F, Wahrenberg H, Hellstrom L, Reynisdottir S, Arner P. Lipolyticcatecholamine resistance due to decrease beta2-adrenoceptor expression in fat cell. *J Clin Invest.* 1992; 90:2175-86.
2. Arner P. Genetic variance and lipolysis regulation: implication for obesity. *Ann Med.* 2001; 33:542-6.
3. Pajukanta, P, Lilja HE, Sinsheimer JS, Cantor RM, Lusis AJ, Gentile M, Duan X J, Soro-Paavonen A, Naukkarinen J, Saarela J, Laakso M, Ehnholm C, Taskinen MR, Peltonen L. Familial combined hyperlipidemia is associated with upstream transcription factor 1 (USF1). *Nat Genet.* 2004; 36(4): 371-6.
4. Naukkarinen J, Gentile M, Soro-Paavonen A, Saarela J, Koistinen HA, Pajukanta P, Taskinen MR, Peltonen L. USF1 and dyslipidemias: converging evidence for a functional intronic variant. *Hum Mol Genet.* 2005; 14(17): 2595-605.
5. Sawadogo M. Multiple forms of the human gene-specific transcription factor USF II. DNA binding properties and transcriptional activity of the purified HeLa USF. *J Biol Chem* 1988; 263(24): 11994-12001.
6. Sawadogo M, Van Dyke MW, Gregor PD, Roeder RG. Multiple forms of the human gene-specific transcription factor USF I. Complete purification and identification of USF from HeLa cell nuclei. *J. Biol. Chem.* 263:11985-11993.
7. Gregor PD, Sawadogo M, Roeder RG. The adenovirus major late transcription factor USF is a member of the helix-loop-helix group of regulatory proteins and binds to DNA as a dimer. *Genes Dev.* 1990; 4(10): 1730-40.
8. Roy AL, Meisterernst M, Pognonec P, Roeder RG. Cooperative interaction of an initiator-binding transcription initiation factor and the helix-loop-helix activator USF. *Nature* 1991; 354(6350): 245-8.
9. Ferre-D'Amare AR, Pognonec P, Roeder RG, Burley SK. Structure and function of the b/HLH/Z domain of USF. *Embo J.* 1994; 13(1): 180-9.
10. Viollet, B, Lefrancois-Martinez AM, Henrion A, Kahn A, Raymondjean M, Martinez A. Immunochemical characterization and transacting properties of upstream stimulatory factor isoforms. *J Biol Chem.* 1996; 271(3): 1405-15.
11. Peri S, Navarro JD, Amanchy R, Kristiansen TZ, Jonnalagadda CK, Surendranath V, Niranjan V, Muthusamy B, Gandhi TK, Gronborg M, Ibarrola N, Deshpande N, Shanker K, Shivashankar HN, Rashmi BP, Ramya MA, Zhao Z, Chandrika KN, Padma N, Harsha HC, Yatish AJ, Kavitha MP, Menezes M, Choudhury DR, Suresh S, Ghosh N, Saravana R, Chandran S, Krishna S, Joy M, Anand SK, Madavan V, Joseph A, Wong GW, Schiemann WP, Constantinescu SN, Huang L, Khosravi-Far R, Steen H, Tewari M, Ghaffari S, Blobel GC, Dang CV, Garcia JG, Pevsner J, Jensen ON, Roepstorff P, Deshpande KS, Chinnaiyan AM, Hamosh A, Chakravarti A, Pandey A. Development of human protein reference database as an initial platform for approaching systems biology in humans. *Genome Res.* 2003; 13(10): 2363-71.
12. Mishra GR, Suresh M, Kumaran K, Kannabiran N, Suresh S, Bala P, Shivakumar K, Anuradha N, Reddy R, Raghavan TM, Menon S, Hanumanthu G, Gupta M, Upendran S, Gupta S, Mahesh M, Jacob B, Mathew P, Chatterjee P, Arun KS, Sharma S, Chandrika KN, Deshpande N, Palvankar K, Raghavath R, Krishnakanth R, Karathia H, Rekha B, Nayak R, Vishnupriya G, Kumar HG, Nagini M, Kumar GS, Jose R, Deepthi P, Mohan SS, Gandhi TK, Harsha HC, Deshpande KS, Sarker M, Prasad TS, Pandey A. Human protein reference database. 2006 update. *Nucleic Acids Res* 2006; 34(Database issue): D411-4.
13. Saito T, Oishi T, Yanai K, Shimamoto Y, Fukamizu A. Cloning and characterization of a novel splicing

- isoform of USF1. *Int J Mol Med.* 2003; 12(2):161-7.
14. Shieh BH, Sparkes RS, Gaynor RB, Lusis AJ. Localization of the geneencoding upstream stimulatory factor (USF) to human chromosome 1q22-q23. *Genomics* 1993; 16(1):266-8.
 15. Casado M, Vallet VS, Kahn A, Vaulont S. Essential role in vivo of upstream stimulatory factors for a normal dietary response of the fatty acid synthase gene in the liver. *J Biol Chem.* 1999; 274(4):2009-13.
 16. Salero E, Gimenez C, Zafra F. Identification of a non-canonical E-box motif as a regulatory element in the proximal promoter region of the apolipoprotein E gene. *Biochem J.* 2003; 370(Pt 3):979-86.
 17. Pastier D, Lacorte JM, Chambaz, J, Cardot P, Ribeiro A. Two initiator-like elements are required for the combined activation of the human apolipoprotein C-III promoter by upstream stimulatory factor and hepatic nuclear factor and-4. *J Biol chem.* 2002; 277:15199-206.
 18. Nowak M, Helleboid-chapman A, jakel H, Martin G, Duran-S, Staels B, Rubin E M, Pennacchio L A, Taskinen M-R, Fruchart-Najib J, Fruhart JC. Insulin-mediated Down Regulation of apolipoprotein A5 gene expsresion through the phosphatidylinositol 3-kinase pathway: role of upstream stimulatory factor. *Mol Cell Biol.* 2005; 25: 1537-48.
 19. Travers MT, Valance AJ, Gourlay HT, Gill CA, Klein I, Bottema CB, Barber MC. Promoter I of the ovine acetyl-CoA carboxylase-alpha gene: an E-box motif at-114 in the proximal promoter binds upstream stimulatory factor (USF)-1 and USF-2 and acts as an insulin-response sequence in differentiating adipocytes. *Biochem J* 2001; 359:273-84.
 20. Wang D, Sul HS. Upstream Stimulatory factor binding to the E-box at-65 is required for insulin regulation of the fatty acid synthase promoter. *J Biol Chem.* 1997; 272: 26367-74.
 21. Smih F, Rouet P, Lucas S, Mairal A, Sengenés C, Lafontan M, Vaulont S, Casado M, Langin D. Transcriptional regulation of adipocyte hormone-sensitive lipase by glucose. *Diabetes* 2002; 51:293-300.
 22. Kolehminen M, Ohisalo JJ, Kaartinen JM, Tuononen V, Paakkonen M, Poikolainen E, Alhava E, Uusitupa MI Concordance of in vivo microdialysis and in vitro techniques in the studies of adipose tissue metabolism. *Int J Obes Relat Metab Disord.* 2000; 24:1426-32.
 23. Amieux PS, Cummings DE, Motamed K, Brandon EP, Wailes LA, Le K, Idzerda RL, Mc Knight GS. Compensatory regulation of Rialpha protein levels in protein kinase A mutant mice. *J Biol Chem.* 1997; 272:3993-8.
 24. Ek I, Arner P, Ryden M, Holm C, Thorne A, Hoffstedt J, Wahrenberg H. A unique defect in regulation of visceral fat cell lipolysis in the regulation of visceral fat cell lypolysis in the polysistic ovary syndrome asban early link to insulin resistance. *Diabetes* 2002; 51:484-92.
 25. Zimmermann R, Strauss JG, Haemmerle G, Schoiswohl G, Birner-gruenberger R, Riederer M, Lass A, Neuberger G, Eisenhofer F, Hermettter A, Zechner R. Fat mobilization in adipose tissue is promoted by adipose triglyceride lipase. *Science* 2004; 306:1383-6.
 26. Large V, Arner P, Reynisdottir S, Grober J, Van Harmelen V, Holm C, Langin D. Hormone-sensitive lipase expression and activity in relation to lipolysis in human fat cells. *J lipid Res.* 1998; 39:1688-95.
 27. Reynisdottiru S, Eriksson M, Angelin B Arner P. Impaired activation of adipocyte lipolysis in familial combined hyperlipidemia. *J Clin Invest* 1995; 95:2161-9.
 28. Hoffstedt J, Arner P, Schalling M, Pedersen NL, Sengul S, Ahlberg S, Iliadou A, Lavebratt C. Common hormone-sensitive lipase 6 gene polymorphism is associated with decreased human adipocyte lipolytic function. *Diabetes* 2001, 50:2410-3.
 29. Putt W, Paleven J, Nicaud V, Tregonet DA, Tahri-Daizadeh N, Flavell DM, Humphries SE, Talmud PJ; EARSII

group. Variation in USF 1 shows haplotype effects, gene:gene and gene:environment associations with glucose and lipid parameters in the European Atherosclerosis research Study. *Hum Mol Genet* 2004; 13:1587-97.

30. Shoulders CC. USF 1 on trial. *Nat Genet*. 2004; 36:322-3.