

Potensi Terapeutik *Fibroblast Growth Factor 21* terhadap Resistensi Insulin

Kurniasari,¹ Wawaimuli Arozal²

¹Departemen Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Trisakti

²Departemen Farmakologi dan Terapeutik Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia

Abstrak

Fibroblast growth factor 21 (FGF21) merupakan salah satu dari anggota FGF yang berperan sebagai faktor endokrin. Hepar dan jaringan adiposa merupakan tempat kerja utama FGF21. Ekspresi FGF21 di hepar diatur oleh peroxisome proliferator activated receptor alpha (PPAR α) sedangkan di jaringan adiposa diatur oleh peroxisome proliferator activated receptor gamma (PPAR γ). Kedua faktor transkripsi tersebut terlibat dalam metabolisme karbohidrat dan lipid. Pada resistensi insulin terdapat hiperglikemia, hiperinsulinemia, dan dislipidemia. Pemberian FGF21 pada berbagai studi in vivo dan in vitro telah menunjukkan potensi FGF21 dalam mengatasi kelainan akibat resistensi insulin sekaligus meningkatkan sensitivitas jaringan terhadap insulin.

Kata kunci: FGF21, PPAR γ , PPAR α , resistensi insulin

Fibroblast Growth Factor 21 (FGF21) Potension in Insulin Resistance Treatment

Abstract

Fibroblast growth factor 21 (FGF21) is a member of FGF family that plays a role as endocrine factor. Liver and adipose tissue are major target of FGF21. The expression of FGF21 in liver is regulated by peroxisome proliferator activated receptor alpha (PPAR α), while peroxisome proliferator activated receptor gamma (PPAR γ) regulate FGF21 expression in adipose tissue. Both transcription factors are involved in carbohydrate and lipid metabolism. Hyperglycemia, hyperinsulinemia, and dyslipidemia are observed in insulin resistance. Treatment with FGF21 in in vitro and in vivo study showed that FGF21 have the potential to overcome insulin resistance as well as increasing tissue's sensitivity towards insulin.

Keywords: FGF21, PPAR γ , PPAR α , insulin resistance

Pendahuluan

Fibroblas growth factor 21 (FGF21) adalah salah satu anggota keluarga *fibroblast growth factor* yang memiliki fungsi sebagai faktor endokrin.¹ Kurangnya domain untuk menempelnya heparin pada FGF21 menyebabkan FGF21 dapat berdifusi jauh dari jaringan asalnya dan berperan sebagai hormon.¹⁻⁴ FGF21 pada manusia terdiri atas 209 asam amino dengan 29 asam amino terminal dan 120 asam amino yang menyusun *conserved core region*.¹ Protein tersebut dikode oleh gen FGF21 yang terdapat di kromosom 19. Di bagian promotor terdapat *putative peroxisome proliferator-response elements* (PPREs) yang terletak di -684 dan -2454 *upstream* dari tempat mulai translasi.⁵

Aktivitas FGF21 tergantung pada ikatannya dengan reseptor FGF (FGFR) dan kofaktor yang disebut β -Klotho.^{3,4,6} Reseptor FGF adalah suatu reseptor permukaan sel dan termasuk dalam reseptor tirosin kinase sedangkan β -Klotho adalah protein transmembran tunggal.^{3,6} FGF21 memiliki urutan terminal C dan N yang berbeda dengan FGF lain. Regio terminal C adalah tempat ikatan FGF21 dengan β -Klotho sedangkan regio terminal N penting untuk aktivasi FGF21.⁷ FGF21 memiliki kecenderungan untuk berikatan dengan kompleks FGFR 1c/ β -Klotho dibandingkan reseptor FGF tipe lain.^{2,3,7}

FGF21 berperan dalam metabolisme karbohidrat dan lipid.⁸⁻¹² Hormon tersebut terutama diekspresikan di hati,^{11,13} pankreas,¹⁴ dan jaringan lemak putih serta jaringan lemak coklat.¹⁵⁻¹⁷ Di berbagai penelitian *in vitro* dan *in vivo* telah ditemukan berbagai efek menguntungkan FGF21 dalam meningkatkan sensitivitas jaringan terhadap insulin.^{15,18,19}

FGF21 di Hepar

FGF21 adalah hormon yang disekresikan hepar pada keadaan puasa dan kelaparan. Ekspresi FGF21 di hepar diperantarai oleh *peroxisome proliferator-activated receptor α* (PPAR α).^{5,13} PPAR α adalah reseptor nukleus yang merupakan regulator transkripsi utama di berbagai gen yang terlibat dalam metabolisme lipid.^{5,20} Pada mencit yang diberikan fenofibrat, suatu agonis PPAR α terjadi peningkatan ekspresi FGF21 di hepar, sedangkan pada mencit PPAR α KO (*knock out*) terdapat penurunan ekspresi FGF21 hepar.¹³

Aktivasi PPAR α sebagian diregulasi oleh asam lemak.^{13,20} Induksi FGF21 oleh PPAR α meningkatkan jumlah mRNA gen-gen yang mengkode enzim yang berperan dalam metabolisme asam lemak yaitu lipoprotein lipase

(Lpl), *pancreatic lipase* (Pnlip), *pancreatic lipase related protein 2* (Pnliprp2), dan *carboxyl ester lipase* (Cel).^{10,21} Selain itu, FGF21 berperan dalam proses glukoneogenesis, fosforilasi oksidatif, dan siklus asam sitrat. Hal tersebut terlihat pada peningkatan ekspresi gen *glucose-6-phosphatase* (G6pase), *phosphoenolpyruvate carboxykinase* (Pepck), β -subunit of ATP synthase (Atp5b), *cytochrome c* (Cytc), dan *isocitrate dehydrogenase 3a* (Idh3a) dari mencit FGF21-TG (transgenic).

Peran FGF21 dalam metabolisme glukosa diduga diperantarai oleh *peroxisome proliferator-activated receptor γ coactivator protein-1 α* (PGC1 α). Dugaan itu berdasarkan peningkatan ekspresi mRNA dan protein PGC-1 α dengan pemberian FGF21.¹⁰ Hasil tersebut berbeda dengan penelitian yang dilakukan Fisher et al¹¹ yang menemukan efek FGF21 terhadap regulasi ekspresi gen yang berperan pada glukoneogenesis tidak berubah pada mencit LKO (*liver knockout*) PGC-1 α .¹¹

Di hepar, FGF21 menghambat sintesis lipid hepar dan meregulasi ekspresi gen yang terlibat dalam lipogenesis dan oksidasilipid. Hal tersebut terlihat dari represi ekspresi *sterol regulatory element binding protein-1c* (SREBP1C) dan induksi ekspresi PPARGC1A yang menurunkan lipogenesis dan meningkatkan oksidasi lipid.¹⁷ Efek hambatan FGF21 terhadap lipogenesis juga terlihat pada penelitian Xu et al²² yang menemukan penurunan produksi trigliserida hepar yang besar pada mencit yang diberikan FGF21. Pemberian FGF21 menurunkan jumlah SREBP1c nukleus tanpa mengubah jumlah mRNAnya. SREBP1c merupakan regulator penting lipogenesis *de novo* di hepar.²² Gangguan pada SREBP1c menurunkan sintesis trigliserida hepar yang berperan dalam penurunan hepatosteatosi oleh FGF21.

FGF21 di Jaringan Lemak Putih

Peran FGF21 sebagai regulator metabolik pertama kali ditemukan oleh Kharitonov et al⁸ pada tahun 2005. Pemberian FGF21 di sel adiposit mencit 3T3-L1 meningkatkan mRNA dan protein *glucose-transporter-1* (GLUT-1) secara bermakna, tetapi tidak memiliki pengaruh terhadap *glucose-transporter-4* (GLUT-4).⁸ GLUT adalah transporter glukosa yang berperan dalam *uptake* glukosa ke dalam sel. Peningkatan mRNA dan protein GLUT-1 berhubungan dengan peningkatan *uptake* glukosa ke dalam sel adiposa.^{8,23} Selain itu, peningkatan *uptake* glukosa pada pemberian FGF21 juga disebabkan oleh translokasi GLUT-1 dari sitoplasma ke membran sel.²³

Di jaringan adipose putih (*white adipose tissue/ WAT*), FGF21 berikatan dengan FGF/ β Klotho yang dengan cepat menyebabkan dimerisasi dan autofosforilasi FGF diikuti dengan perekrutan dan aktivasi kaskade signal ras/raf MAP kinase.²⁴ Hal tersebut akan menyebabkan stimulasi p44/42 *mitogen activated protein kinase (extracellular signal-regulated kinases (ERK1/2)* dan protein kinase Akt. ERK1/2 akan memfosforilasi dan mengaktifkan faktor transkripsi *serum response factor (SFR)* dan *Ets-like protein-1 (Elk-1)* di sel adiposit 3T3-L1. Kedua faktor transkripsi tersebut akan menempel di elemen cis ETS dan SRE yang terletak di promotor gen GLUT-1.²⁵ Di jaringan adiposa mencit *obese* terdapat penurunan fosforilasi ERK1/2 dan SRF/Elk-1, ekspresi GLUT-1 dan *uptake* glukosa dibandingkan dengan mencit *lean*.^{24,25}

Pemberian FGF21 terhadap jaringan adiposa memberikan hasil yang berbeda. Inagaki, et al²¹ menemukan bahwa mencit yang diberikan rekombinan FGF21 mengalami peningkatan liposis yang ditunjukkan dengan peningkatan kadar asam lemak bebas serum. Pada penelitian Arner et al,²⁶ ditemukan penurunan lipolisis di sel 3T3-L1 dan sel adiposit manusia yang diberi FGF21 selama 3 hari. Pemberian kronis *murine/human* FGF21 dengan konsentrasi bervariasi sampai 150nm/L pada adiposit 3T3-L1 dan manusia tidak menimbulkan efek yang tampak pada pelepasan gliserol (indeks lipolisis) tetapi memberikan efek penurunan lipolisis yang distimulasi katekolamin dan *atrial natriuretic peptide (ANP)*. Studi tersebut juga menunjukkan bahwa penurunan lipolisis tidak disebabkan oleh penurunan diferensiasi sel adiposit ataupun pengaruh FGF21 terhadap ekspresi gen lipolisis.²⁶ Hal serupa juga ditemukan oleh Li et al²⁷ yang menggunakan sel 3T3-L1 dan adiposit primer mencit. Pada penelitian tersebut efek penurunan lipolisis FGF21 sudah terlihat sejak 1 jam setelah pemberian. Selain itu, efek hambatan lipolisis FGF21 juga disebabkan oleh penekanan lipolisis yang diinduksi GH melalui mekanisme *feedback* negatif.²⁸

PPAR γ meregulasi sekresi dan ekspresi FGF21 di jaringan adiposa.^{29,30} Hal tersebut diungkapkan oleh berbagai studi. Salah satu studi yang menggunakan adiposit 3T3-L1 menemukan peningkatan ekspresi protein PPAR γ pada pemberian FGF21 kronis. Selain itu, aktivasi jalur PPAR γ terus menerus dengan pemberian agonis PPAR γ (rosiglitazon) meningkatkan fosforilasi tirosin pada FGFR2.²⁹ Pada studi lain dikemukakan bahwa FGF21 merupakan faktor autokrin pada

fed state yang berperan dalam *feed-forward loop* untuk meregulasi aktivitas PPAR γ . Hal tersebut ditunjukkan dengan percobaan menggunakan mencit (KO) FGF21. Pada percobaan itu ditemukan defek pada signaling PPAR γ termasuk penurunan lemak tubuh dan ekspresi gen yang tergantung PPAR γ pada mencit tersebut. Pemberian FGF21 mengembalikan aktivitas PPAR γ .³⁰

FGF21 di Jaringan Lemak Coklat

Jaringan adiposa coklat (*brown adipose tissue/BAT*) merupakan tempat termogenesis yang esensial untuk neonatus, namun dianggap tidak penting untuk individu dewasa.³¹ Jaringan tersebut merupakan tempat aktif konsumsi glukosa dan lipid terutama saat dibutuhkan oksidasi bahan bakar untuk mempertahankan produksi panas.¹⁵ Stimulasi dingin atau agonis β 3 pada mencit meningkatkan ekspresi FGF21 dan PGC-1 α BAT.³² Selain itu, FGF21 juga penting untuk kemampuan adaptasi WAT terhadap dingin yang ditunjukkan dengan hilangnya kemampuan *browning* WAT pada mencit dengan defisit FGF21.³³

Norepinefrin sebagai mediator utama aktivasi termogenik yang diinduksi dingin pada BAT bekerja melalui reseptor adrenergik untuk meningkatkan kadar cAMP. Hal tersebut akan mengaktifasi protein kinase A (PKA) dan jalur p38 *mitogen-activated protein kinase (MAPK)* dan menginduksi ekspresi gen FGF21.¹⁵ PPAR α dan PPAR γ tidak diperlukan untuk jalur yang melibatkan norepinefrin ini.^{15,32}

Peningkatan ekspresi FGF21 tidak terjadi hanya di BAT *in vitro*, namun *in vivo* juga ditemukan peningkatan dramatis kadar FGF21 plasma.¹⁵ Regulasi homeostasis energi oleh FGF21 terjadi melalui peningkatan fungsi dan efisiensi mitokondria dengan mengaktifasi 5' *AMP-activated protein kinase (AMPK)* dan *sirtuin-1 (SIRT1)*. Fosforilasi AMPK ditingkatkan melalui *liver kinase b1 (LKB1)*. Aktivasi AMPK akan meningkatkan kadar NAD⁺ dalam sel. Hal tersebut akan menyebabkan aktivasi SIRT1 dan akhirnya meningkatkan oksidasi mitokondria melalui aktivasi PGC-1 α di adiposit.³⁴ Pada penelitian Stanford et al¹⁶ terdapat peningkatan ekspresi FGF21 pada tikus yang ditransplantasi BAT.

FGF21 dan Perbaikan Resistensi Insulin

Salah satu mekanisme resistensi insulin melibatkan akumulasi lipid ektopik (asam linoleat, seramid, dan diasilgliserol) akibat peningkatan kadar asam lemak bebas. Pemberian FGF21 menurunkan lipogenesis *de novo* di hepar,²²

meningkatkan oksidasi asam lemak di hepar,^{10,21} serta menurunkan lipolisis di WAT.^{26,27} Ketiga efek FGF21 tersebut berperan dalam menurunkan kadar asam lemak bebas sehingga terjadi penurunan akumulasi lemak ektopik.

Mekanisme molekular FGF21 dalam meningkatkan sensitivitas insulin telah diteliti oleh Camporez et al¹⁹ yang menemukan bahwa pada tikus yang memperoleh FGF21 terdapat penurunan kadar trigliserida (TG) dan diasilgliserol (DAG) tanpa disertai penurunan kadar seramid hepar. Penurunan kadar DAG hepar menurunkan aktivasi protein kinase C epsilon (PKC ϵ) yang akan meningkatkan fosforilasi Akt.¹⁹ Holland et al³⁵ memperoleh hasil yang berbeda yaitu pemberian FGF21 pada mencit menurunkan kadar seramid serum dan hepar, tetapi tidak mempengaruhi kadar TG dan DAG secara bermakna. Penurunan kadar seramid tersebut diikuti dengan peningkatan fosforilasi Akt yang menunjukkan peningkatan sensitivitas insulin.³⁵ Selain mempengaruhi kadar DAG dan TG hepar, pemberian FGF21 juga menurunkan kadar DAG membran di otot skelet. Hal tersebut akan diikuti dengan penurunan aktifitas PKC teta (PKC θ) sehingga terjadi peningkatan fosforilasi Akt. Pemberian FGF21 juga menurunkan kadar TG otot skelet namun tidak mempengaruhi kadar seramid.¹⁹

Perbaikan resistensi insulin oleh FGF21 mungkin juga terjadi melalui aktivasi PPAR γ di WAT.²⁹ Aktivasi PPAR γ meningkatkan penyimpanan TG di jaringan adiposa sehingga menurunkan kadar asam lemak bebas.³⁶ Selain itu, aktivasi PPAR γ meningkatkan *signaling* insulin melalui peningkatan protein yang terlibat dalam jalur *signaling* insulin seperti *insulin reseptor substrate-1* dan 2 (IRS1 dan IRS2) serta *phosphatidylinositol 3-kinase* (PI3K). Kadar TNF α juga dapat menurun akibat aktifitas PPAR γ .³⁷ TNF α merupakan salah satu mediator inflamasi yang berperan dalam resistensi insulin.³⁸ Penurunan kadar TNF α menurunkan hambatan *signaling* insulin.³⁹

Resistensi insulin menyebabkan hiperglikemia dan gangguan profil lipid darah. Efek FGF21 terhadap peningkatan mRNA, protein, dan translokasi GLUT1 berperan dalam menurunkan kadar glukosa darah akibat meningkatnya *uptake* glukosa ke dalam sel adiposit.^{8,23} Pemberian FGF21 pada mencit dapat menurunkan kadar glukosa dan insulin darah.^{8,22} Selain itu, gangguan profil lipid darah akibat resistensi insulin juga dapat diperbaiki dengan pemberian FGF21. FGF21 menurunkan kadar TG,^{12,22,37} kolesterol total, dan kolesterol LDL

serta meningkatkan kadar kolesterol HDL darah.¹² Analog FGF21 juga memberikan efek serupa.⁴⁰

Pada obesitas terdapat resistensi insulin. FGF21 selain memiliki efek menurunkan kadar glukosa darah, lipid darah, dan insulin darah juga memiliki efek menurunkan berat badan. Pemberian FGF21 pada hewan coba mencit dan monyet menurunkan masa lemak tubuh total.^{12,22,43} Efek anti obesitas FGF21 dihubungkan dengan peningkatan penggunaan energi yang dinilai dengan mengukur konsumsi O₂ dan produksi CO₂. Pada mencit yang diberikan FGF21 ditemukan peningkatan konsumsi O₂ dan produksi CO₂,²² peningkatan aktifitas fisik²² dan temperatur inti tubuh mencit yang mendapatkan FGF21.⁴¹

Kesimpulan

FGF21 merupakan faktor endokrin yang berkerja secara parakrin dan autokrin. Potensi FGF21 dalam mengatasi resistensi insulin dan gangguan yang ditimbulkannya diperantarai oleh PPAR α , SREBP1c, PPAR γ , PGC1 α , GLUT1 dan berbagai protein lain yang berperan pada metabolisme karbohidrat dan lipid. Pemberian FGF21 meningkatkan *uptake* glukosa di jaringan adiposa, menurunkan kadar insulin darah, memperbaiki profil lipid darah, menurunkan kadar lipid hepar dan otot skelet, serta menurunkan lemak tubuh total.

Daftar Pustaka

1. Murata Y, Konishi M, Itoh N. FGF21 as endocrine regulator in lipid metabolism: from molecular evolution to physiology and pathophysiology. *J Nutr Metab*. 2011;8p.
2. Kurosu H, Choi M, Ogawa Y, Dickson AS, Goetz R, Eliseenkova AV, et al. Tissue-specific expression of β klotho and fibroblast growth factor (FGF) receptor isoforms determines metabolic activity of FGF19 and FGF21. *JBiolChem*. 2007;282(37):26687-95.
3. Suzuki M, Uehara Y, Matsuzaka KM, Oki J, Koyama Y, Kimura M, et al. β klotho is required for fibroblast growth factor (FGF)21 signaling through FGF receptor (FGFR) 1c and fgfr3c. *Mol Endocrinol*. 2008;22(4):1006-14.
4. Kharitonov A, Dunbar JD, Bina HA, Bright S, Moyers JS, Zhang C, et al. FGF21/FGF-21 receptor interaction and activation is determined by β klotho. *J Cell Physiol*. 2008;215:1-7.
5. Lundasen T, Hunt MC, Nilsson LM, Sanyal S, Angelin B, Alexson SEH, Rudling M, et al. PPAR α is a key regulator of hepatic FGF21. *BiochemBiophys Res Commun*. 2007;360:437-40.

6. Ogawa Y, Kurosu H, Yamamoto M, Nandi A, Rosenblatt KP, Goetz R, et al. β klotho is required for metabolic activity of fibroblast growth factor 21. *PNAS*. 2007;104(18):7432-7.
7. Yie J, Hecht R, Patel J, Stevens J, Wang W, Hawkins N, et al. FGF21 N- and C-termini play different roles in receptor interaction and activation. *FEBS Letters*. 2009;583:19-24.
8. Kharitonov A, Shiyanova TL, Koester A, Ford AM, Micanovic R, Galbreath EJ, et al. FGF-21 as a novel metabolic regulator. *J Clin Invest*. 2005;115(6):1627-35.
9. Coskun T, Bina HA, Schneider MA, Dunbar JD, Hu CC, Chen Y, et al. Fibroblast growth factor 21 corrects obesity in mice. *Endocrinology*. 2008;149(12):6018-27.
10. Potthoff M, Inagaki T, Satapati S, Ding X, He T, Goetz R, et al. FGF21 induces PGC-1 α and regulates carbohydrate and fatty acid metabolism during the adaptive starvation response. *PNAS*. 2009;106(26):10853-8.
11. Fisher FM, Estall JL, Adams AC, Antonellis PJ, Bina HA, Flier JS, et al. Integrated regulation of hepatic metabolism by fibroblast growth factor 21 (FGF21) *in vivo*. *Endocrinology*. 2011;152(8):2996-3004.
12. Mai K, Andres J, Biedasek K, Weicht J, Bobbert T, Sabath M, et al. Free fatty acids link metabolism and regulation of the insulin-sensitizing fibroblast growth factor-21. *Diabetes*. 2009;58:1532-38.
13. Badman MK, Pissios P, Kennedy AR, Koukos G, Flier JS, Flier EM. Hepatic fibroblast growth factor 21 is regulated by PPAR α and is a key mediator of hepatic lipid metabolism in ketotic states. *Cell Metab*. 2007;5:426-37.
14. Tacer KF, Bookout AL, Ding X, Kurosu H, John GB, Goetz R, et al. Research resource: comprehensive expression atlas of the fibroblast growth factor system in adult mouse. *Mol Endocrinol*. 2010;24(10):2050-64.
15. Hondares E, Iglesias R, Giral A, Gonzalez FJ, Giral M, Mampel T, et al. Thermogenic activation induces FGF21 expression and release in brown adipose tissue. *J Biol Chem*. 2011;286(15):12983-90.
16. Stanford KI, Middlebeek RJW, Townsend KL, An D, Nygaard EB, Hitchcox KM, et al. Brown adipose tissue regulates glucose homeostasis and insulin sensitivity. *J Clin Invest*. 2013;123(1):215-23.
17. Emanuelli B, Vienberg SG, Smyth G, Cheng C, Stanford KI, Arumugam M, et al. Interplay between FGF21 and insulin action in the liver regulates metabolism. *J Clin Invest*. 2014;124(2):5151-27.
18. Markan KR, Naber MC, Ameka MK, Anderegg MD, Mangelsdorf DJ, Kliewer SA, et al. Circulating FGF21 is liver derived and enhances glucose uptake during refeeding and overfeeding. *Diabetes*. 2014;63:4057-63.
19. Camporez JPG, Jornayvaz FR, Petersen MC, Pesta D, Guigni BA, Serr J, et al. Cellular mechanisms by which FGF21 improves insulin sensitivity in male mice. *Endocrinology*. 2013;154:3099-109.
20. Rakhshandehroo M, Knoch B, Muller M, Kersten S. Peroxisome proliferator-activated alpha target genes. *PPAR Research*. 2010:20p.
21. Inagaki T, Dutchak P, Zhao G, Ding X, Gautron L, Parameswara V, et al. Endocrine regulation of the fasting response by PPAR α -mediated induction of fibroblast growth factor 21. *Cell Metab*. 2007;5:415-25.
22. Xu J, Lloyd DJ, Hale C, Stanislaus S, Chen M, Sivits G, et al. Fibroblast growth factor 21 reverses hepatic steatosis, increases energy expenditure, and improves insulin sensitivity in diet-induced obese mice. *Diabetes*. 2009;58:250-9.
23. Liu MY, Wang WF, Hou YT, Ren GP, Kern TS, Sun GP, et al. Fibroblast growth factor (FGF)-21 regulates glucose uptake through GLUT1 translocation. *Afr J Microbiol Res*. 2012;6:2504-11.
24. Fisher FM, Chui PC, Antonellis PJ, Bina HA, Kharitonov A, Flier JS, et al. Obesity is a fibroblast growth factor 21(FGF21)-resistant state. *Diabetes*. 2010;59:2781-9.
25. Ge X, Chen C, Hui X, Wang Y, Lam KSL, Xu A. 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*. 2011;286(40):34533-41.
26. Arner P, Pettersson A, Mitchell PJ, Dunbar JD, Kharitonov A, Ryde n M. FGF21 attenuates lipolysis in human adipocytes—a possible link to improved insulin sensitivity. *FEBS Letters*. 2008;582:1725-30.
27. Li X, Ge H, Weiszmann J, Hecht R, Li YS, Véniant MM, et al. Inhibition of lipolysis may contribute to the acute regulation of plasma FFA and glucose by FGF21 in ob/ob mice. *FEBS Letters*. 2009;583:3230-34.
28. Chen W, Hoo RLC, Konishi M, Itoh N, Lee PC, Ye HY, et al. Growth hormone induces hepatic production of fibroblast growth factor 21 through a mechanism dependent on lipolysis in adipocytes. *J Biol Chem*. 2011;286(40):34559-66.
29. Moyers JS, Shiyanova TL, Mehrbod F, Dunbar JD, Noblitt TW, Otto KA, et al. Molecular determinants of FGF-21 activity—synergy and cross-talk with PPAR γ signaling. *J Cell Physiol* 2007;210:1–6.
30. Dutchak PA, Katafuchi T, Bookout AL, Choi JH, Yu RT, Mangelsdorf DJ, et al. Fibroblast growth factor-21 regulates PPAR γ activity and the antidiabetic actions of thiazolidinediones. *Cell*. 2012;148(3):556-67.
31. Cypess AM, Lehman S, Williams G, Tal I, Rodman D, Goldfine AB. Identification and importance of brown adipose tissue in adult humans. *N Engl J Med*. 2009;360:1509-17.
32. Chartoumpakis DV, Habeos IG, Ziros PG, Psyrogiannis AI, Kyriazopoulou VE, Papavassiliou AG. Brown adipose tissue responds to cold and adrenergic stimulation by induction of FGF21. *Mol Med*. 2011;17(7-8):736-40.
33. Fisher FM, Kleiner S, Douris N, Fox EC, Mepani RJ, Verdeguer F, et al. FGF 21 regulates PGC-1 α and browning of white adipose tissues in adaptive thermogenesis. *Genes Dev*. 2012;26:271-81.

34. Chau MDL, Gao J, Yang Q, Wu Z, Gromada J. Fibroblast growth factor 21 regulates energy metabolism by activating the AMPK–SIRT1–PGC-1 α pathway. *PNAS*. 2010;107(28):12553-8.
35. Holland WL, Adams AC, Brozinick JT, Bui HH, Miyauchi Y, Kusminski CM, et al. An FGF21-adiponectin-ceramide axis controls energy expenditure and insulin action in mice. *Cell Metab*. 2013;17(5):790-7.
36. Tordjman J, Chauvet G, Quette J, Beale EG, Forest C, Antoine B. Thiazolidinediones block fatty acid release by inducing glyceroneogenesis in fat cells. *J Biol Chem*. 2003;278(21):18785-90.
37. Sugii S, Olson O, Sears D, Saberi M, Atkins AR, Barish GD, et al. PPAR γ activation in adipocytes is sufficient for systemic insulin sensitization. *PNAS*. 2009;106(52):22504-9.
38. Alvaro CD, Teruel T, Hernandez Rm Lorenzo M. Tumor necrosis factor α produces insulin resistance in skeletal muscle by activation of inhibitor κ B kinase in a p38 MAPK-dependent manner. *J Biol Chem*. 2004;278(17):17070-8.
39. Peraldi P, Xu M, Spiegelman BM. Thiazolidinediones block tumor necrosis factor- α -induced inhibition of insulin signaling. *J Clin Invest*. 1997;100(7):1863-9.
40. Gaich G, Chien JY, Fu H, Glass LC, Deeg MA, Holland WL, et al. The effects of LY2405319, an FGF21 analog in obese human subjects with type 2 diabetes. 2013;18:333-40.
41. Kharitonov A, Wroblewski VJ, Koester A, Chen YF, Clutinger CK, Tigno XT, et al. The metabolic state of diabetic monkeys is regulated by fibroblast growth factor-21. *Endocrinology*. 2007;148:774-81.