

Received: 25.01.2018
Accepted: 21.08.2018
Published: 21.12.2018

Fizjologiczna rola nukleobindyny-2/nesfatyny-1 oraz ich potencjalne znaczenie kliniczne*

The physiological role of nucleobindin-2/nesfatin-1 and their potential clinical significance

Anna Skorupska, Andrzej Ożyhar, Dominika Bystranowska

Wydziałowy Zakład Biochemii, Wydział Chemiczny, Politechnika Wrocławska

Streszczenie

Nukleobindyna-2 jest wielodomenowym białkiem, z którego w procesie proteolizy mogą powstawać trzy produkty białkowe: nesfatyna-1, -2 oraz -3. Nukleobindyna-2 oraz nesfatyna-1 hamują uczucie łaknienia u gryzoni. W artykule scharakteryzowano nukleobindynę-2, jako czynnik anoreksygeny oraz dwa mechanizmy, które za takie działanie odpowiadają. Pierwszy – związany z systemem melanokortynowym, niezależny od leptyny. Natomiast drugi jest powiązany z neuronami wytwarzającymi neuropeptyd Y, odpowiedzialny za stymulację łaknienia. Umożliwiło to usystematyzowanie głównych zagadnień dotyczących możliwości zastosowania nukleobindyny-2 w terapii osób otyłych. Przedstawiono także nukleobindynę-2/nesfatynę-1 jako białka, które można wykorzystać w diagnostyce i terapii epilepsji, ostrego zapalenia wyrostka robaczkowego czy nowotworów. Wykazano, że rola białka w procesie nowotworzenia może być dwojaka. Podwyższoną ekspresję nukleobindyny-2 oraz nesfatyny-1 wykryto w komórkach nowotworowych jelita grubego, piersi oraz błony śluzowej trzonu macicy. Wskazano, że nukleobindyna-2/nesfatyna-1 stymulują proces proliferacji tych komórek. W przyszłości nukleobindyna-2/nesfatyna-1 może być wykorzystana jako potencjalny biomarker w diagnostyce. Jednak nukleobindyna-2/nesfatyna-1 hamuje podziały komórek nowotworowych jajnika i nadnerczy oraz stymuluje proces ich apoptozy. W działanie obu białek są zaangażowane różnorodne szlaki metaboliczne. Poznanie sposobu kontroli aktywności nukleobindyny-2/nesfatyny-1 może się przyczynić do przełomu w dziedzinie medycyny.

Słowa kluczowe:

nukleobindyna-2 • nesfatyna-1 • nowotwory • marker • łaknienie • epilepsja • ostre zapalenie wyrostka robaczkowego

Summary

Nucleobindin-2 is a multidomain protein. Nucleobindin-2 can be cleaved into three peptide products: nesfatin-1, nesfatin-2 and nesfatin-3. It has been also shown that both Nucleobindin-2 and nesfatin-1 exhibit anorexigenic effect in rodents. In this review, we focused on a systematic characteristic of Nucleobindin-2, its anorexigenic effect and discussed possible mechanisms of its action. The first one is associated with melanocortin system and is leptin independent. The second – involves neurons that produce orexigenic neuropeptide Y. This has allowed integrating key findings which have important implications for treatment of obesity. We also presented Nucleobindin-2/nesfatin-1 as proteins which might become potentially important for understanding and treatment of such diseases as epilepsy, acute appendicitis or cancer.

*Projekt współfinansowany ze środków Wydziału Chemicznego Politechniki Wrocławskiej oraz Krajowego Naukowego Ośrodka Wiodącego KNOW na lata 2014-2018 dla Wrocławskiego Centrum Biotechnologii.

It has been shown that the Nucleobindin-2 function in cancerogenesis may be dual. The high level of Nucleobindin-2 and nesfatin-1 expression was found in colony, breast and endometrium cancer cells. Additionally, Nucleobindin-2/nesfatin-1 induced the proliferation process of these cells. In the future, Nucleobindin-2/nesfatin-1 may be used as a potential biomarker in diagnosis. However, Nucleobindin-2/nesfatin-1 inhibited ovarian and adrenocortical cancer cells proliferation and stimulated its apoptosis. The action of both proteins involved variety of metabolic pathways. The knowledge about activity control of Nucleobindin-2/nesfatin-1 may contribute to new breakthrough in medicine.

Keywords: Nucleobindin-2 • nesfatin-1 • cancer • marker • appetite • epilepsy • acute appendicitis

GICID 01.3001.0012.8132
DOI: 10.5604/01.3001.0012.8132
Word count: 4918
Tables: –
Figures: 3
References: 89

Adresy autorek: mgr inż. Anna Skorupska, Wydziałowy Zakład Biochemii, Wydział Chemiczny, Politechnika Wroclawska, Wybrzeże Wyspiańskiego 27, 50-370 Wrocław; e-mail: anna.skorupska@pwr.edu.pl

dr inż. Dominika Bystranowska, Wydziałowy Zakład Biochemii, Wydział Chemiczny, Politechnika Wroclawska, Wybrzeże Wyspiańskiego 27, 50-370 Wrocław; e-mail: dominika.bystranowska@pwr.edu.pl

Wykaz skrótów: **4E-BP1** – białko wiążące eukariotyczny czynnik translacji 4E (eukaryotic initiation factor 4E-binding protein 1), **ACC** – acetylokoenzym A (acetyl coenzyme A), **AMPK** – kinaza aktywowana AMP (AMP activated protein kinase), **AgRP** – białko Agouti (Agouti-related protein), **ARC** – jądro łukowate (arcuate nucleus), **EMT** – przemiana komórek nabłonkowych w mezenchymalne (epithelial-mesenchymal transition), **ERK** – kinaza regulowana przez czynniki pozakomórkowe (extracellular signal-regulated kinases), **HLH** – motyw helisa-pętla-helisa (helix-loop-helix motif), **JNK** – kinaza końca N białka c-Jun (c-Jun N-terminal kinases), **K_{ATP}** – kanały potasowe wrażliwe na ATP (ATP-sensitive potassium channel), **LKB1** – serynowo-treoninowa kinaza 1 (liver kinase B1), **MAPK** – kinazy aktywowane mitogenami (mitogen-activated protein kinases), **mTORC1** – kompleks 1 kinazy mTOR składający się z kinazy mTOR oraz białek Raptor, Deptor, mLST8/GβL i PRAS40 (mTOR complex 1), **mTORC2** – kompleks 2 kinazy mTOR składający się z kinazy mTOR oraz białek Rictor, Protor 1/2, Deptor, mLST8/GβL i mSin1 (mTOR complex 2), **NPY** – neuropeptyd Y (neuropeptide Y), **NTS** – jądro pasma samotnego (solitary nucleus), **Nucb1** – nukleobindyna 1 (nucleobindin-1), **Nucb2** – nukleobindyna 2 (nucleobindin-2), **PC-1/3** – konwertaza prohormonów-1/3 (prohormone convertase-1/3), **PC-2** – konwertaza prohormonów 2 (prohormone convertase-2), **POMC** – proopiomelanokortyna (pro-opiomelanocortin), **PVN** – jądro przykomorowe (paraventricular nucleus), **RhoA** – kinaza należąca do rodziny białek G (Ras homolog gene family, member A), **ROCK** – kinaza zależna od Rho (Rho-associated protein kinase), **S6K** – kinaza rybosomalna S6 (ribosomal protein S6 kinase), **T2DM** – cukrzyca typu 2 (type 2 diabetes mellitus), **ZIP** – motyw zamka leucynowego (leucine zipper motif)

NUKLEOBINDYNA-2 – OGÓLNA CHARAKTERYSTYKA

Nukleobindyny to białka wiążące jony wapnia oraz oddziałujące z DNA. Dotąd poznano dwa białka z tej rodziny: nukleobindynę-1 (Nucb1) [47] oraz nukleobindynę-2 (Nucb2). Nucb2 odkryto w linii komórkowej ostrej białaczki limfoblastycznej KM3 w 1994 r. [7]. Gen ludzkiego Nucb2 jest umiejscowiony na 11 chromosomie i składa się z 14 eksonów i 13 intronów [13, 81]. Ludzkie Nucb2 jest zbudowane z 420 reszt aminokwaso-

wych (aa), w skład których wchodzi 24 aa peptyd sygnałowy oraz sekwencja składająca się z 396 aa, które są zachowane w toku ewolucji zarówno u ludzi, jak i gryzoni (ponad 85% reszt identycznych homologu ludzkiego w porównaniu do mysiego i/lub szczurzego) [7]. Nucb2 jest białkiem wielodomenowym (ryc. 1). Nucb2 składa się z hydrofobowego peptydu sygnałowego (SP), obszaru bogatego w reszty leucyny i izoleucyny, domeny wiążącej DNA (DBD), dwóch domen dłoni EF zawierających motyw helisa-pętla-helisa (HLH), obszaru bogatego

w aminokwasy kwaśne oraz motywu zamka leucynowego (ZIP) [7]. Analiza filogenetyczna wykazała, że Nucb1 oraz Nucb2 wywodzą się od wspólnego przodka, białka zawierającego cztery motywy dłoni EF [38], odpowiedzialne za wiązanie jonów Ca^{2+} [46]. Wykazano, że 1 mol Nucb2 pełnej długości może związać 2 mole jonów Ca^{2+} [40]. Związanie jonów Ca^{2+} przez białko prawdopodobnie zmienia jego strukturę [40]. W literaturze brak jednak szczegółowych danych na ten temat. Analiza widm dichroizmu kołowego pokazała jedynie, że w obecności jonów Ca^{2+} dochodzi do zwiększenia zawartości struktur α -helikalnych w ludzkim homologue Nucb2 [40]. Element strukturalny Nucb2, jakim jest motyw ZIP, jest odpowiedzialny za wiązanie DNA oraz za oddziaływanie z innymi białkami [41]. Poznane do tej pory białka wiążące DNA, które zawierają motyw ZIP, mają również sąsiadujący z nim od końca N rejon zasadowy [41]. W przypadku ludzkiego Nucb2, ten zasadowy region jest jednak oddalony od sekwencji ZIP o 124 reszty aminokwasowe [7]. Na tej podstawie można przypuszczać, że wiązanie DNA przebiega w sposób inny niż w typowych białek wiążących DNA z udziałem motywu ZIP [7]. Ponieważ białka Nucb1 oraz Nucb2 mają unikalny motyw strukturalny „DBD/HLH/region kwaśny/HLH/ZIP” (ryc. 1), przypuszcza się, że tworzą nową klasę białek wiążących DNA [7]. Ekspresję Nucb2 wykryto zarówno w centralnym układzie nerwowym [50] (szczegóły niżej), jak i licznych tkankach obwodowych, m.in.: w komórkach β trzustki [29], układu pokarmowego [63, 85], tkanki tłuszczowej [57] i jąder [27]. Mimo dużego zainteresowania białkiem i rosnącej liczby publikacji na jego temat, funkcja Nucb2 jest wciąż stosunkowo słabo poznana.

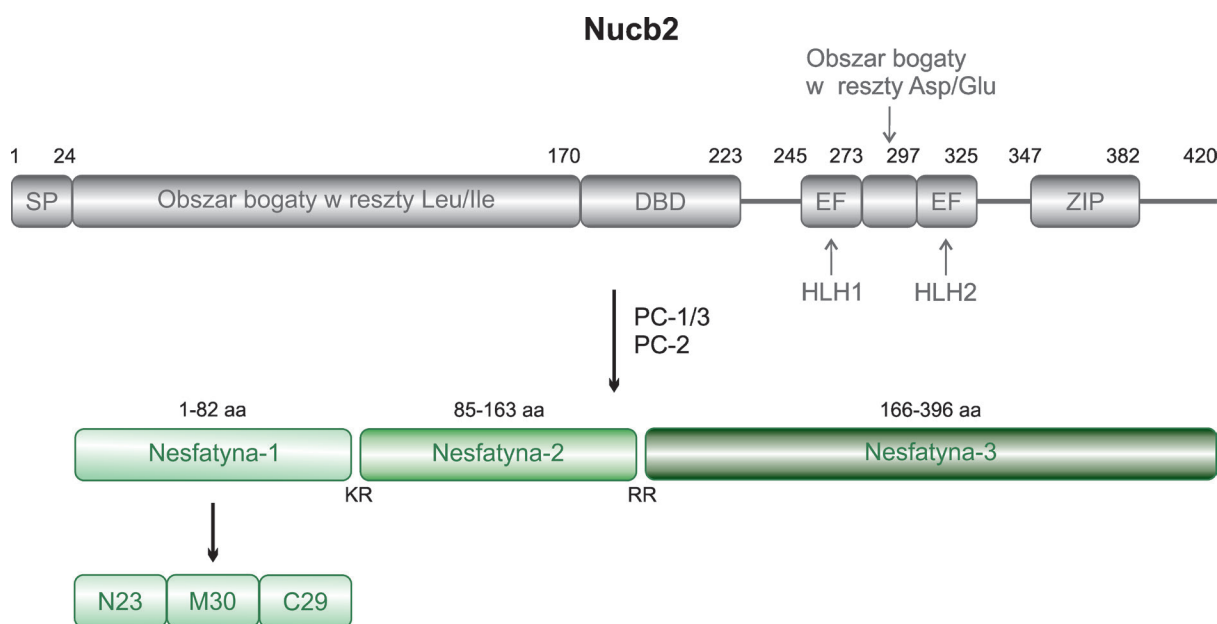
NUCB2 JAKO PREKURSOR CZĄSTECZKI KONTROLUJĄCEJ ŁAKNIENIE

Otyłość jest chroniczną chorobą, rozpowszechnioną na całym świecie, zarówno u ludzi dorosłych, jak i u dzieci [56]. Wykazano, że ma negatywny wpływ na komfort i długość życia, zwiększając ryzyko wystąpienia takich chorób jak cukrzyca typu 2 [42], choroby układu krążenia, m.in.: nadciśnienie tętnicze, choroba niedokrwienna serca, miażdżycy [42], bezdech senny [60], a także choroby nowotworowe różnych narządów [76]. Dane statystyczne wykazują, że w 2014 r. około 30% całej światowej populacji, tj. więcej niż 2,1 miliarda osób, cierpiało na nadwagę lub otyłość, a 5% zgonów na świecie było skutkiem otyłości [71]. Otyłość to poważne zagrożenie dla zdrowia publicznego. Przewiduje się, że do 2030 r. poważną nadwagę będzie miała połowa społeczeństwa [23]. Aby zapobiec wzrastającej epidemii otyłości i chorób z nią związanych, prowadzone są badania patogenezy otyłości oraz molekularnych mechanizmów biorących udział w regulacji łaknienia [23]. Oh-I i wsp. [50] wykazali, że Nucb2 może być prekursorem cząsteczki odpowiedzialnej za regulację łaknienia. Na podstawie analizy sekwencji aminokwasowej białka określono, że prawdopodobnie wiązanie peptydowe Lys83-Arg84, które jest zachowane w toku ewolucji u wielu gatunków, może być miejscem trawienia Nucb2. Potranslacyjna

hydroliza Nucb2 przez konwertazę prohormonów-1/3 (PC-1/3) oraz konwertazę prohormonów-2 (PC-2) prowadzi do powstania trzech peptydów – nesfatyny-1 (reszty aminokwasowe 1-82), nesfatyny-2 (85-163) oraz nesfatyny-3 (166-396) (ryc. 1) [50]. Wykazano, że zarówno pełnej długości Nucb2, jak i nesfatyna-1 działają anoreksygenne u myszy i szczurów [50]. Wewnątrzkomorowe podanie Nucb2 spowodowało zahamowanie łaknienia, natomiast po podaniu przeciwciał skierowanych przeciwko Nucb2 dochodziło do jego przywrócenia. Spośród trzech produktów proteolitycznej konwersji Nucb2, tylko nesfatyna-1 działała anoreksygenne. Było to zależne od dawki i utrzymywało się przez 6 h po podaniu [50]. Zmodyfikowane Nucb2 z substytucjami Ala83-Ala84 zamiast Lys83-Arg84, nie powodowało zahamowania łaknienia. Przemiana Nucb2 do nesfatyny-1 jest więc niezbędna w kontroli łaknienia [50].

Obecność nesfatyny-1 wykryto w płynie mózgowo-rdzeniowym szczurów, co sugeruje, że peptyd ten jest wydzielany z układu komorowego mózgu [50]. U gryzoni, którym podawano w sposób ciągły dokomorowo nesfatynę-1, dochodziło do zahamowania przyrostu masy oraz utraty masy komórek tłuszczowych [50]. Nesfatyna-1 u myszy jest stabilna przez 20 min po podaniu i może przekroczyć barierę krew-mózg w obu kierunkach w wyniku transbłonowej dyfuzji. Tak więc, nesfatyna-1 zarówno podana endogennie, jak i obwodowo może dotrzeć do mózgu [52, 55]. Obwodowo podane mysia, szczurza oraz ludzka nesfatyna-1 powodowały zależną od dawki redukcję ilości przyjmowanego pokarmu u myszy [61]. Na podstawie analizy sekwencji aminokwasowej za pomocą przewidywań bioinformatycznych struktury drugorzędowej mysiej nesfatyny-1, zasugerowano, że prawdopodobnie ma ona strukturę α -helisy i może się składać z trzech części: fragmentu na końcu N składającego się z 23 reszt aminokwasowych (N23), segmentu środkowego, w którego skład wchodzi 30 reszt aminokwasowych (M30) oraz peptydu na końcu C zawierającego 29 reszt aminokwasowych (C29) (ryc. 1) [61]. Spośród tych trzech segmentów, tylko M30 jest odpowiedzialny za regulację łaknienia [61]. Sekwencja His-Phe-Arg końca karboksylowego M30 jest identyczna z sekwencją α -melanotropiny [61], która aktywuje receptory melanokortyny-3 i -4, co zmniejsza łaknienie, a zwiększa zużycie energii [18]. Sekwencja Leu-Lys-Gln-Val-Ile-Asp-Val znajdująca się w środkowej części M30 wykazuje podobieństwo oraz w znacznym stopniu identyczność z fragmentem sekwencji białka Agouti (AgRP), którego funkcją jest stymulacja łaknienia. Badania potwierdziły, że to właśnie centralny region M30 odpowiada za działanie anoreksygenne u myszy [61].

Ekspresję Nucb2/nesfatyny-1 wykryto w obszarach podwzgórza odpowiedzialnych za regulację łaknienia: w jądrze łukowatym (ARC), jądrze przykomorowym (PVN), nadwzrokowym, w bocznym podwzgórzu, w warstwie niepewnej [50]. Ekspresję Nucb2/nesfatyny-1 obserwowano także w następujących częściach mózgu: w jądrze pasma samotnego (NTS) [50],



Ryc. 1. Schemat budowy domeny nukleobindyny-2 oraz jej proteolityczna konwersja. W budowie Nucb2 wyróżniono: peptyd sygnałowy (SP), domenę wiążącą DNA (DBD), motyw helisa-pętla-helisa (HLH1 oraz HLH2), motywy dłoni EF (EF), konwertazę prohormonów-1/3 (PC-1/3), konwertazę prohormonów-2 (PC-2) oraz motywy zamka leucynowego (ZIP). Nucb2 jest prawdopodobnie proteolitycznie trawiona przez PC-1/3 oraz PC-2 do trzech segmentów białkowych: nesfatyny-1, nesfatyny-2 oraz nesfatyny-3. Na podstawie przewidywań bioinformatycznych sekwencji drugorzędowej nesfatyny-1, określono, że może się składać z trzech peptydów: N23, M30, C29. Na schemacie zaznaczono również pozycje wybranych reszt aminokwasowych; opracowano wg [7], zmodyfikowano

w jądrach szwu, ciemnym i bladym [25] oraz w jądrze Edingera-Westphala, a także w jądrze tylnym nerwu błędnego [50]. Obecność Nucb2 została potwierdzona również w przysadce mózgowej [25]. W przypadku PVN, ekspresja genu Nucb2 oraz stężenie nesfatyny-1 były zmniejszone w warunkach głodu, natomiast po podaniu pokarmu zwiększały się [50]. W wymienionych wyżej obszarach, Nucb2/nesfatyna-1 dzielą swoje umiejscowienie z substancjami, które pełnią funkcję regulatorów łaknienia. W PVN oraz w jądrze nadwzrokowym, ekspresja Nucb2/nesfatyny-1 zachodzi w neuronach wytwarzających oksytocynę oraz wazopresynę [11]. Natomiast w ARC, Nucb2/nesfatyna-1 jest ekspresjonowana w neuronach zawierających hydroksylazę tyrozyny, neurotensynę, α -melanotropinę oraz somatoliberynę [25]. W pniu mózgu obecność Nucb2/nesfatyny-1 wykryto w komórkach ekspresjonujących acetylotransferazę cholinylu w jądrze Edingera-Westphala oraz w jądrze tylnym nerwu błędnego. W neuronach wytwarzających oreksygeny (stymulujący łaknienie) neuropeptyd Y (NPY), immunoreaktywności Nucb2/nesfatyny-1 nie wykryto [25].

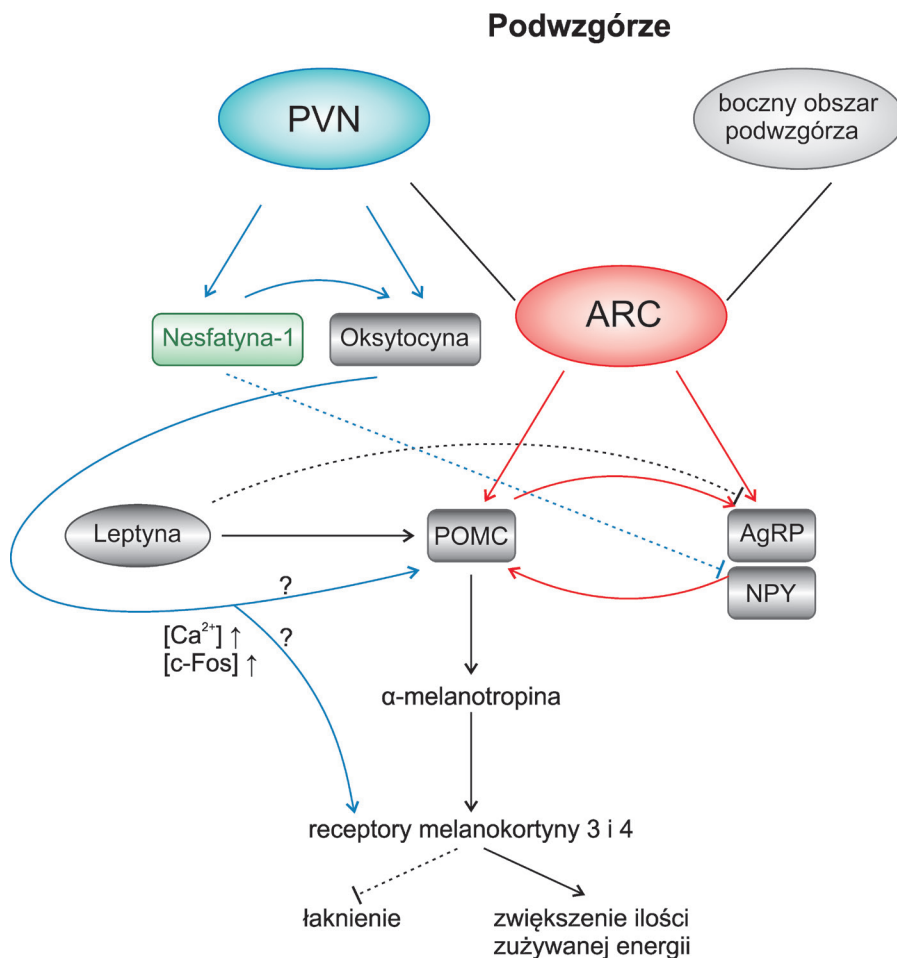
MECHANIZMY ANOREKSYGENNEGO DZIAŁANIA NESFATYNY-1

Głównym miejscem w mózgu odpowiedzialnym za kontrolę homeostazy jest podwzgórze. Są w nim obszary odpowiedzialne za regulację łaknienia, przy czym najlepiej poznany jest ARC podwzgórze [18]. W jego skład

wchodzi dwie grupy neuronów spełniające przeciwstawne funkcje. Pierwszą są neurony wytwarzające neuropeptydy biorące udział w stymulacji łaknienia: NPY oraz AgRP [18]. Częsteczki hamujące uczucie łaknienia, jak np. proopiomelanokortyna (POMC) są produktami drugiej grupy neuronów [18]. Oba rodzaje neuronów oddziałują ze sobą (ryc. 2). ARC jest połączone z innymi częściami podwzgórze, m.in. z bocznym obszarem podwzgórze oraz z PVN. Neurony PVN wydzielają peptydy o działaniu katabolicznym, takie jak oksytocyna, wazopresyna czy somatostatyna. Otrzymują też sygnały z organów obwodowych. Na aktywność komórek nerwowych wytwarzających POMC mogą wpływać substancje krążące w krwiobiegu, takie jak hormony (leptyna oraz insulina), a nawet substancje odżywcze (np. glukoza) [18].

Leptyna aktywuje neurony POMC, dzięki czemu dochodzi do wytwarzania i uwolnienia α -melanotropiny z zakończeń neuronów. Wywołuje to aktywację receptorów melanokortyny typu 3 i 4, przez co dochodzi do zahamowania przyjmowania pokarmów oraz zwiększenia ilości zużywanej energii [18]. Jednocześnie leptyna hamuje aktywność neuronów wytwarzających NPY oraz AgRP [18].

Mechanizm anoreksygennego działania Nucb2/nesfatyny-1 nie został jeszcze dokładnie poznany, istnieją jednak dwie hipotezy dotyczące dwóch mechanizmów (ryc. 2). Pierwszym z proponowanych mechanizmów jest nie-



Ryc. 2. Hipotetyczny mechanizm anoreksygenego działania nesfatyny-1. Schemat oddziaływania nesfatyny-1 na neurony wydzielające oksytocynę oraz neuropeptyd Y (NPY). Owale reprezentują wybrane obszary podwzgórza: jądro przykomorowe (PVN) i łukowate (ARC) oraz strzęfę boczną. Strzałkami pełnymi oznaczono aktywację, natomiast liniami przerywanymi – hamowanie. Niezależny od leptyny i pozostający pod kontrolą PVN mechanizm melanokortynowy z udziałem oksytocyny wyróżniono na niebiesko. Drugi mechanizm związany z neuronami wytwarzającymi NPY, przedstawiono na czerwono. Pozostałe skróty wyjaśniono w tekście; opracowano wg [45, 50, 54]

zależny od leptyny system melanokortynowy z udziałem oksytocyny [45] (ryc. 2, kolor niebieski). Prawdopodobnie mechanizm ten funkcjonuje w PVN i jest związany z NTS, gdyż podanie nesfatyny-1 wywołuje aktywację ekspresji wykorzystywanego jako marker aktywności neuronalnej protoonkogenu c-Fos w obu tych strukturach [45]. Ekspresja c-Fos wzrasta w neuronach wytwarzających oksytocynę obecnych w PVN. Zaobserwowano to również w wytwarzających oksytocynę neuronach jądra nadwzrokowego. Centralne podanie nesfatyny-1 w piko- do nanomolowych stężeniach wywołuje odpowiedź ze strony komórek nerwowych w postaci wzrostu stężenia jonów Ca^{2+} [45]. W PVN nesfatyna-1 wykazuje wspólne umiejscowienie z oksytocyną [45]. Neurony wytwarzające nesfatynę-1 oraz neurony ekspresjonujące oksytocynę znajdują się blisko neuronów, które wytwarzają obie te substancje. Przyпуска się, że nes-

fatyna-1 może być uwalniana i wpływać na sąsiadujące z nią komórki wydzielające oksytocynę [45]. Obecność nesfatyny-1 w pęcherzykach sekrecyjnych aparatu Golgiego w perykarionie neuronów w PVN również wydaje się potwierdzać możliwość jej uwalniania [45]. Endogenna nesfatyna-1 prawdopodobnie oddziałuje na neurony oksytocynowe i stymuluje uwolnienie oksytocyny w PVN [45]. Okazało się również, że podanie nesfatyny-1 do PVN indukuje ekspresję c-Fos w NTS oraz zahamowanie łaknienia [45]. Podanie antagonisty receptora oksytocyny przywraca natomiast stan wyjściowy. Przeniesienie sygnału z PVN do NTS może się okazać niezbędne dla opisywanego procesu. Zakończenia neuronów oksytocynowych w NTS są położone blisko neuronów POMC, ważnych dla szlaku melanokortynowego. Prawdopodobnie mogą selektywnie wpływać na regulację neuronów POMC. Oksytocyna wywołuje wzrost stę-

żenia jonów Ca^{2+} w neuronach POMC występujących w NTS, co jest hamowane przez podanie inhibitorów pomp wapniowych retikulum endoplazmatycznego [45]. Może to oznaczać powiązanie procesu uwalniania jonów wapnia z retikulum z regulacją neuronów POMC przez uwalnianą oksytocynę [45]. Podanie oksytocyny wywołuje redukcję łaknienia u myszy z mutacją receptora leptynowego [45]. Podanie antagonisty receptora melanonkortyny 3/4 zwiększa ponownie skłonność do przyjmowania pokarmu [45]. Sugeruje to uniezależnienie wyżej opisanego mechanizmu od leptyny oraz zależności od szlaku melanonkortynowego. Przedstawiony proces może stać się nowym celem terapii ludzi otyłych opornych na leptynę [45].

Drugi z proponowanych mechanizmów anoreksygenego działania Nucleobindyny-2/nesfatyny-1 jest bezpośrednio związany z neuronami wytwarzającymi oreksygeny NPY [54] (ryc. 2, kolor czerwony). Sprawdzono wpływ nesfatyny-1 na pobudliwość neuronów w ARC podwzgórze. Działanie nesfatyny-1 wpływa głównie na neurony NPY powodując ich inhibicję poprzez hiperpolaryzację. Podanie nesfatyny-1 nie powoduje hiperpolaryzacji w obecności glibenklamidu [54], który jest antagonistą kanałów potasowych wrażliwych na ATP (K_{ATP}). Można więc przypuszczać, że nesfatyna-1 hamuje działanie NPY przez aktywację K_{ATP} [54].

Obecność nesfatyny-1 w podwzgórze zwiększa stężenia jonów Ca^{2+} w neuronach. W komórkach, które były najpierw poddawane działaniu toksyny krztuśca, a dopiero później nesfatyny-1 nie obserwowano jednak zmian stężenia jonów Ca^{2+} [11]. Toksyna krztuśca, wytwarzana przez bakterie *Bordetella pertussis*, katalizuje ADP-rybozylację podjednostek α obecnych w heterotrimerycznych białkach rodziny $G_{i/o}$. Powoduje to zablokowanie oddziaływania tych białek z ich receptorami sprzężonymi z białkami G [12]. ADP-rybozylacja podjednostki α doprowadza do jej zatrzymania w nieaktywnym stanie (postać związana z GDP), co sprawia, że nie może hamować cykazy adenylowej i tym samym zwiększa ilość cAMP [39]. Można więc przypuszczać, że działanie nesfatyny-1 odbywa się przez receptory sprzężone z białkami $G_{i/o}$. Zarówno zastosowanie blokerów kanałów Ca^{2+} typu L, jak i typu P/Q ograniczało zwiększenie stężenia jonów Ca^{2+} wywołane nesfatyną-1, możliwe więc, że nesfatyna-1 oddziałuje poprzez tego typu kanały [11]. Potraktowanie inhibitorem kinazy A komórek podwzgórze również powoduje redukcję działania nesfatyny-1 [11]. Wydaje się to zastanawiające ze względu na to, że cAMP powstały w wyniku inhibicji białek $G_{i/o}$ łączy się z jednostkami regulatorowymi nieaktywnej postaci kinazy A, przez co indukuje jej aktywność [48]. Co więcej aktywne białka $G_{i/o}$ hamują cykazy adenylową, doprowadzając do spadku ilości cAMP [28]. Możliwe, że nesfatyna-1 może aktywować różne ścieżki sygnałowe, przez wpływ na wiązanie się receptora do różnych białek G. Przykładowo, nesfatyna-1 może na początku aktywować białka G_p , a następnie powodować stymulację białek G_s [11].

NUCB2/NESFATYNA-1 JAKO POTENCJALNY LEK W TERAPII OTYŁOŚCI

Jak wykazano, osoby otyłe bardzo często charakteryzują się leptynoopornością [30] i do znacznego spadku ich masy może się przyczynić tylko terapia dużymi dawkami leptyny [30]. Po dootrzewnowym podaniu nesfatyny-1 zwierzętom, obserwowano u nich zahamowanie spożywania pokarmów oraz obniżenie masy ciała [62]. Uważa się, że nesfatyna-1 i jej analogi mogą być w przyszłości wykorzystywane jako skuteczne leki przeciw otyłości u osób z leptynoopornością. Prawdopodobnym sposobem podania takich leków wydaje się iniekcja podskórna. Innym może być droga donosowa, ze względu na łatwy dostęp do mózgu. Nesfatyna-1 podana w ten sposób szczurom, hamowała przyjmowanie pokarmów na 6 h [62]. Ze względu na swoją prostotę, m.in. ze względu na możliwość częstszej aplikacji przed każdym posiłkiem, droga donosowa może być wykorzystywana także w terapii ludzi. W tym celu istotne jest jednak zidentyfikowanie receptora nesfatyny-1. Kiedy to nastąpi, będzie można zaprojektować jego agonistę, który będzie mógł być podawany pacjentom doustnie [62].

POLIMORFIZM GENU NUCB2

Warianty genu *Nucb2* prawdopodobnie odpowiadają za różną podatność na otyłość lub mogą chronić przed jej rozwojem. Badania w grupie złożonej z 1049 osób otyłych oraz 315 osób grupy kontrolnej, doprowadziły do wykrycia zależności łączącej otyłość z trzema pojedynczymi polimorfizmami genu *Nucb2*. Ta korelacja była jednak widoczna tylko w grupie badanych mężczyzn [83]. W tym przypadku, wykryte polimorfizmy pojedynczego nukleotydu obecne w genie *Nucb2* były również związane z mniejszymi wartościami BMI oraz mniejszą masą. Przypuszcza się, że opisane wyżej zmiany obecne w genie *Nucb2* mogą się wiązać z mniejszą podatnością na otyłość wśród mężczyzn [83].

Jeden z wcześniej wykrytych trzech pojedynczych polimorfizmów genu *Nucb2* został zidentyfikowany także w badanej grupie chińskich dzieci [17]. Był to wariant eksonu 12 c.1012C>G, polegający na zamianie kodonu CAG na GAG lub CAC, co spowodowało substytucje reszty Gln w pozycji 338 na Glu lub His w sekwencji *Nucb2*. Warianty eksonu z sekwencją CAC oraz CAG występowały częściej u dzieci otyłych, natomiast wariant eksonu z sekwencją GAG przeważał w grupie kontrolnej – dzieci szczupłych. Korelacja taka została zaobserwowana dla trzech niezależnie od siebie przebadanych grup dzieci. Dzieci z wariantami eksonu CAC oraz CAG miały zdecydowanie większe wartości BMI niż dzieci z wariantem GAG. Można więc przypuszczać, że warianty eksonu 12 c.1012C>G genu *Nucb2* są powiązane z predyspozycją do otyłości u dzieci. Wariant GAG jest odpowiedzialny za ochronę przed nadmiernym tyciem, natomiast warianty CAC oraz CAG determinują podatność osób, które je posiadają, do otyłości. Reszta Gln w pozycji 338 białka *Nucb2* jest resztą zachowaną w toku ewolucji. Znajduje

się w obrębie sekwencji nesfatyny-3, która sama nie wykazuje działania anoreksygennego. Prawdopodobnie wariant genu *Nucb2* z resztą Gln w pozycji 338 może przeszkadzać w proteolitycznej konwersji *Nucb2* do nesfatyny-1 lub w aktywności nesfatyny-1 [17].

Powodem powstawania cukrzycy typu 2 (T2DM) mogą być zarówno czynniki genetyczne, jak i związane z prowadzonym stylem życia [59]. Odnotowano, że w około 55% przypadków, czynnikiem, który przyczynia się do powstania cukrzycy typu 2 jest otyłość [53]. Badania przeprowadzone u 396 pacjentów chorujących na T2DM oraz w grupie kontrolnej złożonej z 196 osób zdrowych wykazały, że polimorfizm genu *Nucb2* c.1012C>G jest związany z obniżonym ryzykiem zachorowania na tę chorobę [73]. U pacjentów chorych zaobserwowano rzadsze występowanie wariantów CAG i GAG w porównaniu do osób zdrowych. Wariant GAG był skorelowany ze zmniejszoną wartością BMI oraz zmniejszonym poziomem glukozy we krwi mierzonym na czczo. Na podstawie badania polimorfizmu genu *Nucb2* można będzie w przyszłości określić ryzyko zachorowania na T2DM [73].

NUCB2/NESFATYNA-1 JAKO MARKER CHOROÓB

Ze względu na szerokie występowanie [27, 29, 57, 63, 85], liczne oddziaływania [66] oraz wielodomenową budowę *Nucb2* [7] przypuszcza się, że białko to może odgrywać istotną rolę w utrzymaniu homeostazy organizmu [20], a nieprawidłowości w jego ekspresji, fałdowaniu i/lub funkcjonowaniu mogą się przyczynić do powstawania chorób [3].

Epilepsja

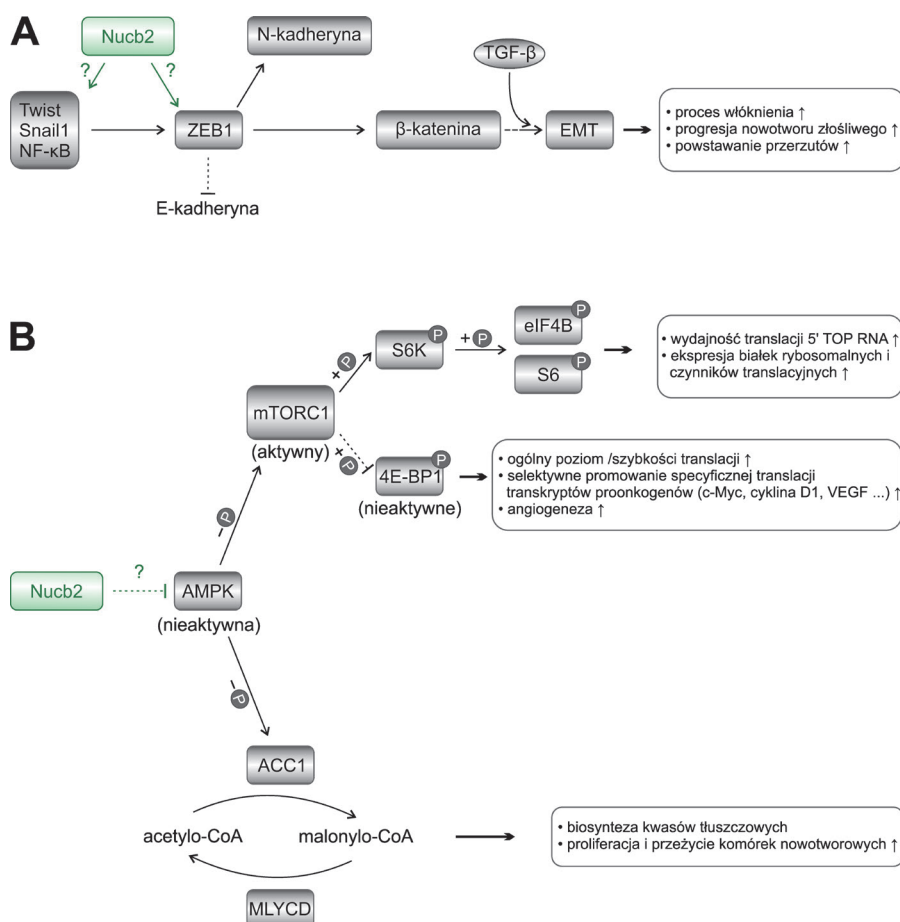
Epilepsja jest jedną z najczęściej występujących chorób neurologicznych. Objawia się nawracającymi napadami padaczkowymi [8]. Poziom nesfatyny-1 w surowicy oraz w ślinie nieleczonych pacjentów, chorujących na epilepsję scharakteryzowano jako bardzo wysoki, w porównaniu ze stężeniem tego peptydu mierzonym u osób zdrowych [5]. Przyczyna zależności nie została dotąd poznana. Jak już wcześniej wspomniano, nesfatyna-1 hamuje działanie neuronów PVN przez ich hiperpolaryzację [54]. Przypuszcza się, że wysoki poziom nesfatyny-1 może wywołać nieprawidłowości w pracy mózgu, a to może doprowadzić do częstszego występowania epilepsji. Stężenie nesfatyny-1 występuje na porównywalnym poziomie w surowicy zarówno u osób, które leczą się od dłuższego czasu na epilepsję, jak i u tych, które przyjmują leki od trzech miesięcy [5]. Podanie leków zmniejsza ilość nesfatyny-1 w surowicy i ślinie pacjentów, jednak poziom tego peptydu pozostaje nadal wysoki w porównaniu do osób zdrowych [5]. Podczas trwania napadu padaczkowego, stężenie nesfatyny-1 w surowicy wzrasta i pozostaje na tym samym podwyższonym poziomie nawet do 24 godzin [4]. Analizowanie zmian stężenia nesfatyny-1 w ślinie oraz surowicy pacjentów może być wykorzystywane zarówno w diagnostyce epilepsji, jak i w jej leczeniu przez monitorowanie odpowiedzi organizmu na leki [4, 5].

Ostre zapalenie wyrostka robaczkowego

Ostre zapalenie wyrostka robaczkowego jest przeważnie leczone przez interwencję operacyjną [34]. Symptomy zapalenia wyrostka (mdłości, wymioty, ból brzucha, gorączka oraz utrata apetytu) towarzyszą innym dolegliwościom, co czasem nie pozwala na precyzyjną i szybką diagnozę. U dzieci, osób starszych oraz tych, u których występują nietypowe objawy, rozpoznanie może być opóźnione, co utrudnia późniejszą terapię oraz wywołuje komplikacje (m.in. perforacja, śmiertelność) [49]. Wykazano, że u dzieci z ostrym zapaleniem wyrostka robaczkowego, bezpośrednio przed jego usunięciem, poziom *Nucb2*/nesfatyny-1 był większy niż w grupie dzieci zdrowych [6]. *Nucb2*/nesfatyna-1 jest uwalniana szybko do krwiobiegu w czasie zapalenia wyrostka robaczkowego, dzięki czemu pomiar stężenia *Nucb2*/nesfatyny-1 umożliwiłby jego szybką diagnozę. Utrata łaknienia towarzysząca zapaleniu wyrostka robaczkowego może wynikać z dużej ilości anoreksygennej *Nucb2*/nesfatyny-1 w surowicy pacjentów. Stężenie *Nucb2*/nesfatyny-1 obniża się do poziomu obecnego u dzieci zdrowych dopiero po trzeciej dobie po operacji. Ważny wydaje się także znacząco większy poziom *Nucb2*/nesfatyny-1 w surowicy dzieci, 24 godziny po operacji usunięcia wyrostka robaczkowego w porównaniu, do poziomu obserwowanego u pacjentów będących przed operacją [6]. Możliwe, że jest to wywołane stresem związanym z operacją chirurgiczną. Wykazano również, że badanie poziomu *Nucb2*/nesfatyny-1 w przypadku ostrego zapalenia wyrostka robaczkowego może mieć znaczenie diagnostyczne ze względu na dużą czułość i swoistość tego badania [6]. W połączeniu z badaniem poziomu białka ostrej fazy oraz białych komórek krwi, które stanowią standardowe badania przeprowadzane w celu wykrycia zapalenia, pomiar stężenia *Nucb2*/nesfatyny-1 może być wykorzystywany w diagnostyce oraz rozróżnieniu ostrego zapalenia wyrostka robaczkowego od innych stanów zapalnych [6].

Nowotwory

Od wielu lat są poszukiwane markery chorób nowotworowych, które mogą się przyczynić do ich wczesnej diagnozy, a zatem skutecznego leczenia. Podwyższoną ekspresję *Nucb2*/nesfatyny-1 wykryto w komórkach nowotworowych gruczołu piersiowego [64, 84], stercza [86, 87], jelita grubego [37], błony śluzowej trzonu macicy [65], żołądka [2] oraz nerki [26, 79]. Wykryto hamujący wpływ *Nucb2*/nesfatyny-1 na rozwój komórek nowotworowych jajnika [80]. Białko to potencjalnie mogłoby więc zostać wykorzystywane w diagnostyce chorób nowotworowych oraz w ich terapii. Pacjenci z wysokim poziomem ekspresji *Nucb2* w guzach nowotworowych, wykazują zwiększone ryzyko wystąpienia nawrotu choroby. W regionie promotorowym genu *Nucb2* zidentyfikowano element odpowiedzi na estrogen [10]. Estrogen oddziałując ze swoim receptorem, aktywuje transkrypcję wielu genów przez związane się z elementami odpowiedzi, co może doprowadzić do



Ryc. 3. Proponowany wpływ Nucb2 na wybrane szlaki przekazywania sygnałów w komórce; **A** - stymulacja szlaku EMT przez Nucb2, **B** - udział Nucb2 w szlaku AMPK/mTOR. Strzałkami pełnymi oznaczono aktywację, natomiast liniami przerywanymi – blokowanie aktywności poszczególnych białek. Symbolem „P” oznaczono fosforylację. Poszczególne skróty wyjaśniono w tekście, opracowano wg [33, 35, 65, 80]

rozwoju nowotworów gruczołu piersiowego. Ekspresja mRNA *Nucb2* w komórkach tych nowotworów zwiększa się po potraktowaniu komórek estradiolem oraz jest skorelowana z obecnością przerzutów do węzłów chłonnych. Gen *Nucb2* jest jednym z genów, którego ekspresja w komórkach gruczołu piersiowego jest indukowana przez estrogen [64]. *Nucb2* prawdopodobnie jest genem ważnym dla patogenezy i agresywności nowotworu [86]. Badania interferencji RNA *Nucb2* w komórkach nowotworowych gruczołu piersiowego wykazały, że ekspresja genu *Nucb2* zwiększa proliferację komórek oraz ich migrację, co wskazuje na rolę *Nucb2* w procesie tworzenia przerzutów nowotworowych [64]. Podobne wyniki uzyskano w badaniach nad nowotworem błony śluzowej macicy [65] oraz jelita grubego [37]. *Nucb2* przyczynia się do stymulacji procesu inwazji komórek nowotworowych nerek [79]. Porównanie poziomu ekspresji *Nucb2* w dwóch liniach komórkowych raka jelita grubego (linii pierwotnego raka oraz komórek pochodzących z przerzutów do węzłów chłonnych) wykazało, że większy poziom mRNA *Nucb2* występuje w linii z komórek prze-

rzutów. Zatem uważa się, że monitorowanie ekspresji *Nucb2* w tkankach nowotworowych może być wykorzystywane do przewidywania ryzyka powstawania ich przerzutów [37]. Supresja mRNA oraz białka *Nucb2* w linii komórek pochodzących z przerzutów doprowadza do zmiany ich kształtu z wrzecionowatego na zaokrąglony oraz do zahamowania ich zdolności do przemieszczania się oraz inwazji [37]. Można przypuszczać (ryc. 3A), że *Nucb2* jest zaangażowane w kontrolę regulacji przejścia nabłonkowo-mezenchymalnego (EMT) [37]. EMT jest ważnym procesem biologicznym. Polega na licznych przemianach spolaryzowanych komórek nabłonkowych, prowadzących do ich przekształcenia w komórki o fenotypie mezenchymalnym. Zwiększa to ich zdolność przemieszczania się, inwazyjność oraz odporność na procesy apoptotyczne [36]. Nabycie zdolności do inwazji przez komórki jest uważane za jeden z końcowych etapów procesu, który prowadzi do rozprzestrzenienia się przerzutów [68]. Stężenie nesfatyny-1 po ekspresji *Nucb2* obserwowano na tym samym poziomie w surowicy chorych na nowotwór jelita gru-

bego oraz osób zdrowych [37]. Na tej podstawie można sądzić, że *Nucb2* drogami autokrynnymi lub parakrynnymi wpływa na właściwości EMT guza [37]. Zbadano także ekspresję innych genów, które są odpowiedzialne za regulację EMT. Białko ZEB1 (zinc finger E-box binding homeobox 1) jest czynnikiem transkrypcyjnym, który odpowiada za indukcję EMT w komórkach nowotworowych, co zapoczątkowuje proces przerzutowy, tak więc EMT komórek nowotworowych wiąże się z jego nadekspresją [88]. ZEB1 odpowiada za zmniejszenie ekspresji białek adhezyjnych, m.in. E-kadheryny, która jest białkiem odpowiedzialnym za zahamowanie wzrostu guzów nowotworowych [51]. Wraz ze zmniejszeniem ekspresji E-kadheryny, dochodzi do uwolnienia β -kateniny, która bierze udział w indukcji EMT, zależnej od transformującego czynnika wzrostu beta oraz od kontaktu komórek [51]. Aby zbalansować utratę E-kadheryny, następuje wzrost ekspresji mezenchymalnej N-kadheryny, która zmienia adhezję komórkową [67, 75].

Komórki przejściowe tracą połączenie z komórkami nabłonkowymi oraz nabywają powinowactwa do komórek mezenchymalnych przez oddziaływania między N-kadherynami. Są słabsze od oddziaływań między E-kadherynami, przez co ułatwiają przemieszczanie się komórek oraz ich inwazję [88]. Białka Twist i Slug, kolejne czynniki transkrypcyjne, także biorą udział w regulacji EMT. Twist indukuje ekspresję Slug, przez supresję nabłonkowej części szlaku EMT. Następnie oba czynniki działając razem indukują EMT, co prowadzi do metastazy [16]. Komórki nowotworowe, w których wyciszono ekspresję genu *Nucb2*, odznaczają się niewielką ekspresją czynników ZEB1, Twist oraz Slug oraz zwiększonym poziomem E-kadheryny i β -kateniny. Po wywołaniu w tych komórkach nadekspresji ZEB1, dochodzi do obniżenia ekspresji E-kadheryny oraz podwyższenia poziomu N-kadheryny. Komórki odzyskują zdolność do przemieszczania się. Przez ZEB1 białko *Nucb2* wpływa na ścieżki EMT komórek raka jelita grubego, podtrzymując ich mezenchymalne właściwości [37]. Jak wykazano, *Nucb2/nesfatyna-1* może również modulować aktywność takich enzymów jak kinaza białkowa aktywowana przez AMP (AMPK) [82] oraz białkowa kinaza serynowo-treoninowa mTOR [24, 43] (ryc. 3B). AMPK jest uważana za główny enzym regulujący metabolizm energetyczny. Do aktywacji AMPK dochodzi, m.in. w wyniku fosforylacji enzymu przez wątrobową kinazę B1 (LKB1) [15]. Ponieważ LKB1 spełnia rolę supresora nowotworów, uważa się, że AMPK także pośredniczy w hamowaniu powstawania nowotworów [1]. Aktywowana AMPK może oddziaływać na wiele białek efektorowych, biorących udział w procesach, które przyczyniają się do kancerogenezy. Jednym z głównych szlaków sygnalizacyjnych kontrolowanych przez LKB1/AMPK jest szlak zależny od białka mTOR. mTOR wpływa na wzrost komórek, ich proliferację, migrację oraz przeżycie [89]. W większości nowotworów zaobserwowano rozregulowanie działania tego szlaku sygnalizacyjnego. mTOR tworzy dwa odrębne kompleksy: kompleks 1 mTOR (mTORC1) oraz kompleks 2 mTOR (mTORC2) [77]. Tworzące kompleks

mTORC1, kinaza mTOR oraz białko Raptor rekrutują substraty, takie jak białko wiążące eukariotyczny czynnik translacji 4E (4E-BP1) oraz kinaza białkowa S6 (S6K), które przyczyniają się do regulacji procesu translacji mRNA i proliferacji komórek [37]. 4E-BP1 jest głównym regulatorem proliferacji komórek zależnej od mTORC1. Jego inaktywacja zwiększa podatność na występowanie nowotworów [21]. AMPK przez fosforylację hamuje działanie mTOR, co wywołuje inhibicję S6K oraz aktywację 4E-BP1 [32, 33]. Aktywność karboksylazy acetylo-CoA (ACC), biorącej udział w metabolizmie lipidów, także jest regulowana przez AMPK. ACC odpowiada za katalizę karbonylacji acetylo-CoA do malonylo-CoA, który jest substratem w biosyntezie kwasów tłuszczowych [35]. Rozwojowi kilku nowotworów towarzyszy zmiana poziomu ekspresji enzymów, które są zaangażowane w regulację ilości kwasów tłuszczowych w organizmie, m.in. ACC. Proliferacja oraz przeżycie komórek nowotworowych są zależne od aktywności tego enzymu, a jego zahamowanie prowadzi do apoptozy [9]. Wykazano, że wyciszenie ekspresji genu *Nucb2* w komórkach metastatycznych wywołuje zwiększoną fosforylację LKB1, AMPK i ACC oraz zmniejszenie defosforylacji S6K i 4E-BP1 [37]. *Nucb2* doprowadza do zahamowania działania AMPK oraz aktywacji mTORC1. Zastosowanie inhibitora AMPK powoduje zmianę we wzorze fosforylacji ACC, S6K oraz 4E-BP1. Wywołuje to także zwiększenie ekspresji ZEB1 oraz redukcję poziomu E-kadheryny [37]. Komórki nowotworowe wykazują zwiększoną zdolność do przemieszczania się i inwazji pod wpływem inhibitora AMPK. Zastosowanie aktywatora AMPK wywoływało taki sam efekt na mTORC1 oraz EMT jak supresja *Nucb2* w komórkach [37]. Na podstawie przedstawionych wyżej obserwacji postuluje się, że *Nucb2* może brać udział w tworzeniu się przerzutów nowotworów jelita grubego przez zwiększenie zdolności komórek do przemieszczania się, inwazji oraz przez indukcję procesu EMT. Indukcja tych procesów zachodzi z udziałem AMPK oraz mTOR, jednak dokładny sposób aktywacji AMPK przez *Nucb2* nie został do tej pory poznany. Nie poznano także regulacji działania ZEB1 oraz EMT przez AMPK/mTORC1. Znajomość molekularnego mechanizmu oddziaływania tych białek może się okazać istotną z medycznego punktu widzenia i może się przyczynić do odkrycia skutecznej terapii przeciwko przerzutom raka jelita grubego [37].

Udowodniono, że za proliferację i przemieszczanie się komórek nowotworowych błony śluzowej trzonu macicy odpowiada nie tylko *Nucb2*, ale również *nesfatyna-1* [65]. Pod wpływem *nesfatyny-1* dochodzi do aktywacji mTOR przez nadmierną fosforylację [65]. Prawdopodobnie przez aktywację tej ścieżki *nesfatyna-1* przyczynia się do rozwoju nowotworu [65]. Badanie przeprowadzone na komórkach nowotworowych raka jajnika wskazały, że *nesfatyna-1* w tych komórkach spełnia odwrotną funkcję [80]. *Nesfatyna-1* hamuje proliferację i ich wzrost przez zatrzymanie w fazie G1 cyklu komórkowego. Pod wpływem *nesfatyny-1* dochodzi również do stymulacji procesu apoptozy [80]. *Nesfatyna-1* zwiększa ilość

kaspazy-3 oraz aktywność kaspazy-3/7 [80]. Dochodzi także do zahamowania szlaku sygnałowego mTOR przez zmniejszenie ilości jego ufosforylowanych cząsteczek, co prowadzi do inhibicji procesu proliferacji komórek [80]. Nesfatyna-1 wywołuje także zwiększenie aktywności białka należącego do rodziny małych białek G (RhoA) w komórkach nowotworowych raka jajnika [80]. RhoA – jedna z głównych cząsteczek sygnałowych, oddziałując z kinazą Rho-zależną (ROCK), może kontrolować wiele ważnych procesów komórkowych, takich jak proliferacja oraz apoptoza komórek. Potraktowanie komórek nowotworowych jajnika inhibitorem ścieżki RhoA/ROCK zwiększa proliferację tych komórek oraz osłabia proces ich apoptozy [80]. Nesfatyna-1 może także hamować podziały komórek nowotworowych jajnika przez stymulację ich procesu apoptozy z udziałem szlaków sygnałowych zależnych od mTOR lub RhoA/ROCK [80]. Jest również odpowiedzialna za ograniczanie proliferacji i stymulację apoptozy w komórkach kory nadnerczy [58]. Nesfatyna-1 zwiększa ekspresję mRNA proapoptotycznego Bax oraz obniża ekspresję antyapoptotycznych Bcl-2 oraz Bcl-XL, białek odpowiedzialnych za regulację początkowego etapu procesu apoptozy, co wskazuje na ich udział w apoptozie indukowanej przez nesfatynę-1 [58]. Prawdopodobnie proces ten jest niezależny od jonów wapnia, gdyż nesfatyna-1 nie wywołuje zmian stężenia wewnątrzkomórkowego jonów wapnia [58]. Komórki rozpoznają i odpowiadają na zewnątrzkomórkowe sygnały przez różne wewnątrzkomórkowe ścieżki, takie jak kaskada sygnałowa prowadząca do aktywacji kinaz aktywowanych mitogenami (MAPK) [14]. Wszystkie komórki eukariotyczne mają różnorodne ścieżki MAPK, które odpowiadają za regulację różnych aktywności komórkowych m.in. ekspresję genów, metabolizm, mitozę, przeżycie, apoptozę oraz różnicowanie się [44]. W skład rodziny MAPK wchodzi m.in. kinazy regulowane zewnątrzkomórkowo (ERK1/2), N-końcowe kinazy c-Jun (JNK1/2/3), oraz kinazy p38 [68]. ERK1/2 odgrywają główną rolę w kontroli proliferacji komórkowej. Długotrwała aktywność tych enzymów w prawidłowych komórkach jest wymagana dla wydajnego przejścia z fazy G1 do fazy S cyklu komórkowego. Natomiast zahamowanie ERK1/2 stymuluje apoptozę [68]. p38 MAPK także bierze udział w różnicowaniu się komórek oraz ich przeżyciu. Negatywnie reguluje rozwój cyklu komórkowego na poziomie przejść G1/S oraz G2/M [69]. Aktywność p38 MAPK także jest związana z indukcją apoptozy na skutek stresu komórkowego. Ta rola p38 MAPK może być m.in. regulowana przez opisane wcześniej białka z rodziny Bcl-2 [19]. Kinazy JNK są końcowym pośrednikiem ERK w stymulacji procesu proliferacji komórek. Aktywacja kinaz JNK jest związana z transformacją zależną od wielu onkogenów oraz szlakami związanymi z czynnikiem wzrostu. Badania wykazały, że ścieżka JNK jest zaangażowana zarówno w procesy związane z przeżyciem komórki jak i procesy apoptotyczne. Podczas indukowanej przez promieniowanie UV apoptozy, JNK były potrzebne do uwolnienia cytochromu c z mitochondrium fibroblastów. Uwolnienie cytochromu c do cytoplazmy jest głównym etapem w apoptozie [70].

Stymulacja nesfatyną-1 obniża fosforylację (dezaktywację) ERK1/2 oraz zwiększa proces fosforylacji (aktywację) p38 oraz JNK1/2. Nesfatyna-1 może również przez wymienione wcześniej ścieżki doprowadzać do inhibicji procesu proliferacji z jednoczesną stymulacją procesu apoptozy [58].

Przedstawione badania wykazują, że skutki działania Nucb2/nesfatyny-1 mogą różnić się w zależności od tkanki, w której te białka występują [2, 26, 37, 58, 64, 65, 79, 80, 84, 86, 87]. Zastosowanie Nucb2/nesfatyny-1 w terapii nowotworowej może być dwojakie. Nucb2/nesfatyna-1 może służyć jako marker nowotworów oraz procesu powstawania przerzutów w nowotworach stercza, jelita grubego, piersi, błony śluzowej trzonu macicy, nerki oraz żołądka [2, 26, 37, 64, 65, 79, 84, 86, 87]. Dzięki monitorowaniu poziomu ekspresji Nucb2/nesfatyny-1 możliwe stałoby się monitorowanie stanu pacjenta w trakcie trwania oraz po zakończeniu terapii, a także prognozowanie jego szans na przeżycie i wystąpienie ewentualnego procesu przerzutowego. Analiza ekspresji Nucb2/nesfatyny-1 mogłaby również zostać wykorzystana do szacowania dawki terapeutycznych w spersonalizowanej medycynie. Ze względu na udział w procesach metastazy, białka te mogą być potencjalnym celem w nowotworach. W przypadku komórek nowotworowych jajnika oraz kory nadnerczy pod wpływem Nucb2/nesfatyny-1 dochodzi do zahamowania proliferacji tych komórek i stymulacji procesu apoptozy. Tym samym Nucb2/nesfatyna-1 mogą regulować wzrost oraz rozprzestrzenianie się guzów nowotworowych, co również może być wykorzystane w prewencji oraz zwalczaniu nowotworów. Dzięki ich różnorodnemu umiejscowieniu, aktywność Nucb2/nesfatyny-1 wpływa znacząco na przebieg wielu szlaków sygnałowych. Potencjalnie istnieje więc możliwość kompleksowego podejścia do kontrolowania aktywności Nucb2/nesfatyny-1 w organizmie [2, 26, 37, 57, 64, 85].

PODSUMOWANIE

Przedstawione wyżej informacje wskazują, że Nucb2/nesfatyna-1 są białkami, które w przyszłości mogą znaleźć wiele zastosowań terapeutycznych. Białka te są odpowiedzialne za zahamowanie uczucia łaknienia u gryzoni. Ważnym jest także występowanie wariantów genu Nucb2, które są związane z otyłością. Jeden z mechanizmów anoreksygennego działania Nucb2/nesfatyny-1 jest niezależny od leptyny, co sugeruje potencjalne wykorzystanie tych cząsteczek w terapii otyłości. Jednak na szczególną uwagę zasługuje dualna rola Nucb2/nesfatyny-1 w procesie nowotworzenia. W zależności od rodzaju tkanki białka te pełnią rolę stymulatora lub też inhibitora procesu proliferacji komórek nowotworowych. Inne badania wykazały, że Nucb2/nesfatyna-1 biorą udział w regulacji procesów związanych ze stresem oraz emocjami (szczegółowy opis można znaleźć w [74]). Podejrzewa się, że białka te są związane z powstawaniem m.in.: ciężkich zaburzeń depresyjnych [78], epizodów maniakałnych [22], lęków [31] czy

zaburzeń snu [72]. Uwzględniając wszystkie te aspekty, wykorzystanie Nucleobindin 2/nesfatyny-1 w terapii otyłości i/lub leczeniu nowotworów czy zaburzeń psychicznych wydaje się pozostawać w sferze wyzwań współczesnej medycyny. Ważnym zadaniem pozostaje natomiast

dokładnie poznanie molekularnych mechanizmów działania obu tych białek oraz stanowiąca największą trudność, swoista kontrola ich aktywności.

PIŚMIENNICTWO

- [1] Alessi D.R., Sakamoto K., Bayascas J.R.: LKB1-dependent signaling pathways. *Annu. Rev. Biochem.*, 2006; 75: 137-163
- [2] Altan B., Kaira K., Okada S., Saito T., Yamada E., Bao H., Bao P., Takahashi K., Yokobori T., Tetsunari O., Nishiyama M., Yamada M.: High expression of nucleobindin 2 is associated with poor prognosis in gastric cancer. *Tumour Biol.*, 2017; 39: 1010428317703817
- [3] Aradhya G.K., Balivada L.M., Kanuru M., Vadivel P., Vidhya B.S.: Calnuc: Emerging roles in calcium signaling and human diseases. *IUBMB Life*, 2010; 62: 436-446
- [4] Aydin S., Dag E., Ozkan Y., Arslan O., Koc G., Bek S., Kirbas S., Kasikci T., Abasli D., Gokcil Z., Odabasi Z., Catak Z.: Time-dependent changes in the serum levels of prolactin, nesfatin-1 and ghrelin as a marker of epileptic attacks young male patients. *Peptides*, 2011; 32: 1276-1280
- [5] Aydin S., Dag E., Ozkan Y., Erman F., Dagli A.F., Kilic N., Sahin I., Karatas F., Yoldas T., Barim A.O., Kendir Y.: Nesfatin-1 and ghrelin levels in serum and saliva of epileptic patients: hormonal changes can have a major effect on seizure disorders. *Mol. Cell. Biochem.*, 2009; 328: 49-56
- [6] Bakal U., Saraç M., Ciftci H., Tartar T., Kazez A., Aydin S.: Leptin and NUCB2/nesfatin-1 in acute appendicitis. *Int. J. Clin. Med.*, 2015; 6: 919-927
- [7] Barnikol-Watanabe S., Gross N.A., Gotz H., Henkel T., Karabinos A., Kratzin H., Barnikol H.U., Hilschmann N.: Human protein NEFA, a novel DNA binding/EF-hand/leucine zipper protein. Molecular cloning and sequence analysis of the cDNA, isolation and characterization of the protein. *Biol. Chem. Hoppe Seyler*, 1994; 375: 497-512
- [8] Beck H., Elger C.E.: Epilepsy research: a window onto function to and dysfunction of the human brain. *Dialogues Clin. Neurosci.*, 2008; 10: 7-15
- [9] Beckers A., Organe S., Timmermans L., Scheys K., Peeters A., Brusselmans K., Verhoeven G., Swinnen J.V.: Chemical inhibition of acetyl-CoA carboxylase induces growth arrest and cytotoxicity selectively in cancer cells. *Cancer Res.*, 2007; 67: 8180-8187
- [10] Bourdeau V., Deschênes J., Métivier R., Nagai Y., Nguyen D., Bretschneider N., Gannon F., White J.H., Mader S.: Genome-wide identification of high-affinity estrogen response elements in human and mouse. *Mol. Endocrinol.*, 2004; 18: 1411-1427
- [11] Brailoiu G.C., Dun S.L., Brailoiu E., Inan S., Yang J., Chang J.K., Dun N.J.: Nesfatin-1: Distribution and interaction with a G protein-coupled receptor in the rat brain. *Endocrinology*, 2007; 148: 5088-5094
- [12] Burns D.L.: Subunit structure and enzymic activity of pertussis toxin. *Microbiol. Sci.*, 1988; 5: 285-287
- [13] Caldwell G.M., Eddy R.L., Day C.D., Haley L.H., Cooper P.R., Sait S.S., Hejtmancik F., Smith R.J., Morton C.C., Higgins M.J., Shows T.B.: Mapping of genes and transcribed sequences in a gene rich 400-kb region on human chromosome 11p15.1→p14. *Cytogenet. Cell Genet.*, 2001; 92: 103-107
- [14] Cargnello M., Roux P.P.: Activation and function of the MAPKs and their substrates, the MAPK-activated protein kinases. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.*, 2011; 75: 50-83
- [15] Carling D., Sanders M.J., Woods A.: The regulation of AMP-activated protein kinase by upstream kinases. *Int. J. Obes.*, 2008; 32 (Suppl. 4): S55-S59
- [16] Casas E., Kim J., Bendesky A., Ohno-Machado L., Wolfe C.J., Yang J.: Snail2 is an essential mediator of Twist1-induced epithelial mesenchymal transition and metastasis. *Cancer Res.*, 2011; 71: 245-254
- [17] Chen Y.Y., Chan R.M., Tan K.M., Poh L.K., Loke K.Y., Wang J.P., Li H., Hu Y.H., Wang L., Lee K.O., Li G.W., Lee Y.S.: The association of a nucleobindin 2 gene (NUCB2) variant with childhood adiposity. *Gene*, 2013; 516: 48-52
- [18] Cowley M.A., Smart J.L., Rubinstein M., Cerdán M.G., Diano S., Horvath T.L., Cone R.D., Low M.J.: Leptin activates anorexigenic POMC neurons through a neural network in the arcuate nucleus. *Nature*, 2001; 411: 480-484
- [19] Cuenda A., Rousseau S.: p38 MAP-kinases pathway regulation, function and role in human diseases. *Biochim. Biophys. Acta*, 2007; 1773: 1358-1375
- [20] Dore R., Levata L., Lehnert H., Schulz C.: Nesfatin-1: functions and physiology of a novel regulatory peptide. *J. Endocrinol.*, 2017; 232: R45-R65
- [21] Dowling R.J., Topisirovic I., Alain T., Bidinosti M., Fonseca B.D., Petroulakis E., Wang X., Larsson O., Selvaraj A., Liu Y., Kozma S.C., Thomas G., Sonenberg N.: mTORC1-mediated cell proliferation, but not cell growth, controlled by the 4E-BPs. *Science*, 2010; 328: 1172-1176
- [22] Emul M., Genc A., Gungor F.C., Incir S., Kalelioglu T., Karamustafalioglu N., Seven A., Tasdemir A.: The nesfatin 1 level in male patients with manic episode and alterations of nesfatin 1 level after antipsychotic and electroconvulsive treatment. *J. Affect. Disord.*, 2013; 151: 849-853
- [23] Finkelstein E.A., Khavjou O.A., Thompson H., Trogdon J.G., Pan L., Sherry B., Dietz W.: Obesity and severe obesity forecasts through 2030. *Am. J. Prev. Med.*, 2012; 42: 563-570
- [24] Figueira C., Barja-Fernandez S., Prado L., Al-Massadi O., Castela C., Pena-Leon V., Gonzalez-Saenz P., Baltar J., Baamonde I., Leis R., Dieguez C., Pagotto U., Casanueva F.F., Tovar S.A., Nogueiras R., Seoane L.M.: Pharmacological inhibition of cannabinoid receptor 1 stimulates gastric release of nesfatin-1 via the mTOR pathway. *World J. Gastroenterol.*, 2017; 23: 6403-6411
- [25] Foo K.S., Brismar H., Broberger C.: Distribution and neuropeptide coexistence of nucleobindin-2 mRNA/nesfatin-like immunoreactivity in the rat CNS. *Neuroscience*, 2008; 156: 563-579
- [26] Fu H., Zhu Y., Wang Y., Liu Z., Zhang J., Wang Z., Xie H., Dai B., Xu J., Ye D.: High NUCB2 expression level represents an independent negative prognostic factor in Chinese cohorts of non-metastatic clear cell renal cell carcinoma patients. *Oncotarget*, 2016; 8: 35244-35254
- [27] Garcia-Galiano D., Pineda R., Ilhan T., Castellano J.M., Ruiz-Pino F., Sánchez-Garrido M.A., Vazquez M.J., Sangiao-Alvarellos S., Romero-Ruiz A., Pinilla L., Diéguez C., Gaytán F., Tena-Sempere M.: Cellular distribution, regulated expression, and functional role of the anorexigenic peptide, NUCB2/nesfatin-1, in the testis. *Endocrinology*, 2012; 153: 1959-1971
- [28] Gilman A.G.: G proteins: Transducers of receptor-generated signals. *Annu. Rev. Biochem.*, 1987; 56: 615-649
- [29] Gonzalez R., Tiwari A., Unniappan S.: Pancreatic beta cells colocalize insulin and pronesfatin immunoreactivity in rodents. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 2009; 381: 643-648

- [30] Heymsfield S.B., Greenberg A.S., Fujioka K., Dixon R.M., Kushner R., Hunt T., Lubina J.A., Patane J., Self B., Hunt P., McCamish M.: Recombinant leptin for weight loss in obese and lean adults: A randomized, controlled, dose-escalation trial. *JAMA*, 1999; 282: 1568-1575
- [31] Hofmann T., Weibert E., Ahnis A., Obbarius A., Elbelt U., Rose M., Klapp B.F., Stengel A.: Alterations of circulating NUCB2/nesfatin-1 during short term therapeutic improvement of anxiety in obese inpatients. *Psychoneuroendocrinol*, 2017; 79: 107-115
- [32] Holz M.K., Ballif B.A., Gygi S.P., Blenis J.: mTOR and S6K1 mediate assembly of the translation preinitiation complex through dynamic protein interchange and ordered phosphorylation events. *Cell*, 2005; 123: 569-580
- [33] Inoki K., Zhu T., Guan K.L.: TSC2 mediates cellular energy response to control cell growth and survival. *Cell*, 2003; 115: 577-590
- [34] Ishikawa H.: Diagnosis and treatment of acute appendicitis. *JMAJ*, 2003; 46: 217-221
- [35] Janovská A., Hatzinikolas G., Staikopoulos V., McInerney J., Mano M., Wittert G.A.: AMPK and ACC phosphorylation: Effect of leptin, muscle fibre type and obesity. *Mol. Cell. Endocrinol.*, 2008; 284: 1-10
- [36] Kalluri R., Neilson E.G.: Epithelial-mesenchymal transition and its implications for fibrosis. *J. Clin. Invest.*, 2003; 112: 1776-1784
- [37] Kan J.Y., Yen M.C., Wang J.Y., Wu D.C., Chiu Y.J., Ho Y.W., Kuo P.L.: Nesfatin-1/nucleobindin-2 enhances cell migration, invasion, and epithelial-mesenchymal transition via LKB1/AMPK/TORC1/ZEB1 pathways in colon cancer. *Oncotarget*, 2016; 7: 31336-31349
- [38] Karabinos A., Bhattacharya D., Morys-Wortmann C., Kroll K., Hirschfeld G., Kratzin H.D., Barnikol-Watanabe S., Hilschmann N.: The divergent domains of the NEFA and nucleobindin proteins are derived from an EF-hand ancestor. *Mol. Biol. Evol.*, 1996; 13: 990-998
- [39] Katada T., Ui M.: ADP ribosylation of the specific membrane protein of C6 cells by islet-activating protein associated with modification of adenylate cyclase activity. *J. Biol. Chem.*, 1982; 257: 7210-7216
- [40] Kroll K.A., Otte S., Hirschfeld G., Barnikol-Watanabe S., Götz H., Sternbach H., Kratzin H.D., Barnikol H.U., Hilschmann N.: Heterologous overexpression of human NEFA and studies on the two EF-hand calcium-binding sites. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 1999; 260: 1-8
- [41] Landschulz W.H., Johnson P.F., McKnight S.L.: The leucine zipper: a hypothetical structure common to a new class of DNA binding proteins. *Science*, 1988; 240: 1759-1764
- [42] Lavie C.J., Milani R.V., Ventura H.O.: Obesity and cardiovascular disease: Risk factor, paradox, and impact of weight loss. *J. Am. Coll. Cardiol.*, 2009; 53: 1925-1932
- [43] Li Z., Xu G., Li Y., Zhao J., Mulholland M.W., Zhang W.: mTOR-dependent modulation of gastric nesfatin-1/NUCB2. *Cell. Physiol. Biochem.*, 2012; 29: 493-500
- [44] Madhani H.D., Fink G.R.: The riddle of MAP kinase signaling specificity. *Trends Genet.*, 1998; 14: 151-155
- [45] Maejima Y., Sedbazar U., Suyama S., Kohno D., Onaka T., Takano E., Yoshida N., Koike M., Uchiyama Y., Fujiwara K., Yashiro T., Horvath T.L., Dietrich M.O., Tanaka S., Dezaki K. i wsp.: Nesfatin-1-regulated oxytocinergic signaling in the paraventricular nucleus causes anorexia through a leptin-independent melanocortin pathway. *Cell Metab.*, 2009; 10: 355-365
- [46] Malmendal A., Linse S., Evenäs J., Forsén S., Drakenberg T.: Battle for the EF-hands: Magnesium-calcium interference in calmodulin. *Biochemistry*, 1999; 38: 11844-11850
- [47] Miura K., Titani K., Kurosawa Y., Kanai Y.: Molecular cloning of nucleobindin, a novel DNA-binding protein that contains both a signal peptide and a leucine zipper structure. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 1992; 187: 375-380
- [48] Montminy M.: Transcriptional regulation by cyclic AMP. *Annu. Rev. Biochem.*, 1997; 66: 807-822
- [49] Nance M.L., Adamson W.T., Hedrick H.L.: Appendicitis in the young child: A continuing diagnostic challenge. *Pediatr. Emerg. Care*, 2000; 16: 160-162
- [50] Oh-I S., Shimizu H., Satoh T., Okada S., Adachi S., Inoue K., Eguchi H., Yamamoto M., Imaki T., Hashimoto K., Tsuchiya T., Monden T., Horiguchi K., Yamada M., Mori M.: Identification of nesfatin-1 as a satiety molecule in the hypothalamus. *Nature*, 2006; 443: 709-712
- [51] Okegawa T., Li Y., Pong R.C., Hsieh J.T.: Cell adhesion proteins as tumor suppressors. *J. Urol.*, 2002; 167: 1836-1843
- [52] Pan W., Hsueh H., Kastin A.J.: Nesfatin-1 crosses the blood-brain barrier without saturation. *Peptides*, 2007; 28: 2223-2228
- [53] Prevalence of overweight and obesity among adults with diagnosed Diabetes United States, 1988-1994 and 1999-2000. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). *Morbidity and Mortality Weekly Report*, 2004; 53: 1066-1068
- [54] Price C.J., Samson W.K., Ferguson A.V.: Nesfatin-1 inhibits NPY neurons in the arcuate nucleus. *Brain Res.*, 2008; 1230: 99-106
- [55] Price T.O., Samson W.K., Niehoff M.L., Banks W.A.: Permeability of the blood-brain barrier to a novel satiety molecule nesfatin-1. *Peptides*, 2007; 28: 2372-2381
- [56] Qin L., Knol M.J., Corpeleijn E., Stolk R.P.: Does physical activity modify the risk of obesity for type 2 diabetes: a review of epidemiological data. *Eur. J. Epidemiol.*, 2010; 25: 5-12
- [57] Ramanjaneya M., Chen J., Brown J.E., Tripathi G., Hallschmid M., Patel S., Kern W., Hillhouse E.W., Lehnert H., Tan B.K., Randeve H.S.: Identification of nesfatin-1 in human and murine adipose tissue: A novel depot-specific adipokine with increased levels in obesity. *Endocrinology*, 2010; 151: 3169-3180
- [58] Ramanjaneya M., Tan B.K., Rucinski M., Kawan M., Hu J., Kaur J., Patel V.H., Malendowicz L.K., Komarowska H., Lehnert H., Randeve H.S.: Nesfatin-1 inhibits proliferation and enhances apoptosis of human adrenocortical H295R cells. *J. Endocrinol.*, 2015; 226: 1-11
- [59] Ripsin C.M., Kang H., Urban R.J.: Management of blood glucose in type 2 diabetes mellitus. *Am. Fam. Physician*, 2009; 79: 29-36
- [60] Romero-Corral A., Caples S.M., Lopez-Jimenez F., Somers V.K.: Interactions between obesity and obstructive sleep apnea: Implications for treatment. *Chest*, 2010; 137: 711-719
- [61] Shimizu H., Oh-I S., Hashimoto K., Nakata M., Yamamoto S., Yoshida N., Eguchi H., Kato I., Inoue K., Satoh T., Okada S., Yamada M., Yada T., Mori M.: Peripheral administration of nesfatin-1 reduces food intake in mice: The leptin-independent mechanism. *Endocrinology*, 2009; 150: 662-671
- [62] Shimizu H., Oh-I S., Okada S., Mori M.: Nesfatin-1: An overview and future clinical application. *Endocr. J.*, 2009; 56: 537-543
- [63] Stengel A., Goebel M., Yakubov I., Wang L., Witcher D., Coskun T., Taché Y., Sachs G., Lambrecht N.W.: Identification and characterization of nesfatin-1 immunoreactivity in endocrine cell types of the rat gastric oxyntic mucosa. *Endocrinology*, 2009; 150: 232-238
- [64] Suzuki S., Takagi K., Miki Y., Onodera Y., Akahira J., Ebata A., Ishida T., Watanabe M., Sasano H., Suzuki T.: Nucleobindin 2 in human breast carcinoma as a potent prognostic factor. *Cancer Sci.*, 2012; 103: 136-143
- [65] Takagi K., Miki Y., Tanaka S., Hashimoto C., Watanabe M., Sasano H., Ito K., Suzuki T.: Nucleobindin 2 (NUCB2) in human endometrial carcinoma: a potent prognostic factor associated with cell proliferation and migration. *Endocr. J.*, 2016; 63: 287-299
- [66] Taniguchi N., Taniura H., Niinobe M., Takayama C., Tominaga-Yoshino K., Ogura A., Yoshikawa K.: The postmitotic growth suppressor necdin interacts with a calcium-binding protein (NEFA) in neuronal cytoplasm. *J. Biol. Chem.*, 2000; 275: 31674-31681
- [67] Theveneau E., Mayor R.: Cadherins in collective cell migration of mesenchymal cells. *Curr. Opin. Cell Biol.*, 2012; 24: 677-684

- [68] Thiery J.P.: Epithelial-mesenchymal transitions in tumour progression. *Nat. Rev. Cancer*, 2002; 2: 442-454
- [69] Thornton T.M., Rincon M.: Non-classical p38 map kinase functions: Cell cycle checkpoints and survival. *Int. J. Biol. Sci.*, 2009; 5: 44-51
- [70] Tournier C., Hess P., Yang D.D., Xu J., Turner T.K., Nimmual A., Bar-Sagi D., Jones S.N., Flavell R.A., Davis R.J.: Requirement of JNK for stress-induced activation of the cytochrome c-mediated death pathway. *Science*, 2000; 288: 870-874
- [71] Tremmel M., Gerdtham U.G., Nilsson P.M., Saha S.: Economic burden of obesity: A systematic literature review. *Int. J. Environ. Res. Public Health*, 2017; 14: E435
- [72] Vas S., Ádori C., Könczöl K., Kátai Z., Pap D., Papp R.S., Bagdy G., Palkovits M., Tóth Z.E.: Nesfatin-1/NUCB2 as a potential new element of sleep regulation in rats. *PLoS One*, 2013; 8: e59809
- [73] Wang C., Wang Y., Hu W.: Association of the polymorphism in NUCB2 gene and the risk of type 2 diabetes. *Diabetol. Metab. Syndr.*, 2017; 9: 39
- [74] Wei Y., Li J., Wang H., Wang G.: NUCB2/nesfatin-1: Expression and functions in the regulation of emotion and stress. *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry*, 2018; 81: 221-227
- [75] Wheelock M.J., Shintani Y., Maeda M., Fukumoto Y., Johnson K.R.: Cadherin switching. *J. Cell Sci.*, 2008; 121: 727-735
- [76] World Cancer Research Fund and American Institute for Cancer Research: Food, nutrition, physical activity, and the prevention of cancer: a global perspective. Washington, DC; AICR, 2007
- [77] Wullschleger S., Loewith R., Hall M.N.: TOR signaling in growth and metabolism. *Cell*, 2006; 124: 471-484
- [78] Xia Q.R., Liang J., Cao Y., Shan F., Liu Y., Xu Y.Y.: Increased plasma nesfatin-1 levels may be associated with corticosterone, IL-6, and CRP levels in patients with major depressive disorder. *Clin. Chim. Acta*, 2018; 480: 107-111
- [79] Xu H., Li W., Qi K., Zhou J., Gu M., Wang Z.: A novel function of NUCB2 in promoting the development and invasion of renal cell carcinoma. *Oncol. Lett.*, 2018; 15: 2425-2430
- [80] Xu Y., Pang X., Dong M., Wen F., Zhang Y.: Nesfatin-1 inhibits ovarian epithelial carcinoma cell proliferation in vitro. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 2013; 440: 467-472
- [81] Yamada M., Horiguchi K., Umezawa R., Hashimoto K., Satoh T., Ozawa A., Shibusawa N., Monden T., Okada S., Shimizu H., Mori M.: Troglitazone, a ligand of peroxisome proliferator-activated receptor- γ , stabilizes NUCB2 (nesfatin) mRNA by activating the ERK1/2 pathway: Isolation and characterization of the human NUCB2 gene. *Endocrinology*, 2010; 151: 2494-2503
- [82] Yang M., Zhang Z., Wang C., Li K., Li S., Boden G., Li L., Yang G.: Nesfatin-1 action in the brain increases insulin sensitivity through Akt/AMPK/TORC2 pathway in diet-induced insulin resistance. *Diabetes*, 2012; 61: 1959-1968
- [83] Zegers D., Beckers S., Mertens I.L., Van Gaal L.F., Van Hul W.: Association between polymorphisms of the nesfatin gene, NUCB2, and obesity in men. *Mol. Genet. Metab.*, 2011; 103: 282-286
- [84] Zeng L., Zhong J., He G., Li F., Li J., Zhou W., Liu W., Zhang Y., Huang S., Liu Z., Deng X.: Identification of nucleobindin-2 as a potential biomarker for breast cancer metastasis using iTRAQ-based quantitative proteomic analysis. *J. Cancer*, 2017; 8: 3062-3069
- [85] Zhang A.Q., Li X.L., Jiang C.Y., Lin L., Shi R.H., Chen J.D., Oomura Y.: Expression of nesfatin1/NUCB2 in rodent digestive system. *World J. Gastroenterol.*, 2010; 16: 1735-1741
- [86] Zhang H., Qi C., Li L., Luo F., Xu Y.: Clinical significance of NUCB2 mRNA expression in prostate cancer. *J. Exp. Clin. Cancer Res.*, 2013; 32: 56
- [87] Zhang H., Qi C., Wang A., Yao B., Li L., Wang Y., Xu Y.: Prognostication of prostate cancer based on NUCB2 protein assessment: NUCB2 in prostate cancer. *J. Exp. Clin. Cancer Res.*, 2013; 32: 77
- [88] Zhang P., Sun Y., Ma L.: ZEB1: At the crossroads of epithelial-mesenchymal transition, metastasis and therapy resistance. *Cell Cycle*, 2015; 14: 481-487
- [89] Zong H., Yin B., Zhou H., Cai D., Ma B., Xiang Y.: Inhibition of mTOR pathway attenuates migration and invasion of gallbladder cancer via EMT inhibition. *Mol. Biol. Rep.*, 2014; 41: 4507-4512

Autorzy deklarują brak potencjalnych konfliktów interesów.