

시네트롤(Sinetrol-XPur)의 섭취가 Leptin 유전자 결핍 동물 모델의 지방분해에 미치는 영향

— 연구노트 —

이민희¹ · 권한을¹ · 최세규² · 배문형² · 김옥경³

¹경희대학교 동서의학대학원

²(주)알피코프

³버지니아대학교 면역연구센터

The Effects of Sinetrol-XPur on Lipolysis of Leptin-Deficient Obese Mice

Minhee Lee¹, Han Ol Kwon¹, Sei Gyu Choi², Mun Hyoung Bae², and Ok-Kyung Kim³

¹Graduate School of East-West Science, Kyung Hee University

²RP Corp Co., Ltd.

³Beirne B. Carter Center for Immunology Research, University of Virginia

ABSTRACT This study investigated the effects of Sinetrol-XPur (polyphenolic *Citrus* spp. and *Paullinia cupana* Kunth dry extract) on lipolysis using leptin-deficient obese (ob/ob) mice. Obese mice were treated with two different doses, 100 mg/kg body weight (B.W.) and 300 mg/kg B.W. in each AIN93G supplement, for 7 weeks. Body weight gain in obese mice treated with both low and high doses of Sinetrol-XPur was reduced compared with control obese mice. Abdominal and visceral adipose tissue weight of mice were reduced in high dose supplemented groups. Epididymal adipose tissue weight was reduced in both low and high dose supplemented groups by 18.27% and 41.05%, respectively. Phosphodiesterase 3B (PDE3B) mRNA levels decreased upon Sinetrol supplementation in adipose tissue of ob/ob mice, whereas A kinase anchor protein 1 (AKAP1), adipose triglyceride lipase (ATGL), and perilipin (PLIN) mRNA levels increased. These results suggest that Sinetrol-XPur supplementation partially stimulates lipolysis through reduction of PDE3B and induction of AKAP1, ATGL, and/or PLIN gene expression, resulting in reduced body and white adipose tissue weight.

Key words: lipolysis, Sinetrol-XPur, citrus, ob/ob mice

서 론

2014년 국민건강통계에 따르면 비만 유병률이 1998년 29.1%에서 2014년 32.9%로 급증하였다. 이러한 이유는 지방 섭취의 증가와 중증도 신체활동 및 걷기 운동 등의 실천률이 감소하였기 때문으로 보인다(1). 비만은 체지방의 비정상적인 축적으로 생기는 질환으로 고혈압, 고지혈증, 당뇨 및 심혈관계 질환과 같은 만성퇴행성 질환을 일으키는 주요 원인으로 알려졌다(2,3). 이러한 비만은 여러 인자가 관여하고 있는데, 특히 protein kinase A(PKA)의 활성화를 통해 hormone-sensitive lipase(HSL)와 uncoupling protein-2(UCP-2), perilipin A 등이 활성화되면 지방분해 작용이 일어난다(4,5). Leptin encoding gene을 유전적으로 변형시킨 C57BL6/J-ob/ob mice는 이러한 비만 기전의 연구에

주로 사용되는 동물로, leptin은 anorexigenic peptide 유전자 발현을 조절하는 지방세포에서 생산되는 신호전달 단백질이다(6,7). 현재까지 개발된 비만 치료제는 지방 흡수를 억제하거나 식욕을 억제하지만 위장 질환, 수면 장애 및 입마름과 같은 부작용이 나타나 최근 더욱 안전하고 효과적인 천연 소재의 기능성 식품 소재를 통한 비만 개선 연구가 진행되고 있으며, leptin gene의 기전에 관한 연구 역시 활발히 진행되고 있다(8,9).

Red orange(*Citrus sinensis* L. Osbeck), sweet orange(*Citrus sinensis* L. Osbeck), 자몽(*Citrus paradisi* Macfad), 파라나(*Paullinia cupana* Kunth)의 추출물을 혼합한 시네트롤(Sinetrol-XPur)은 flavanone과 antocyanins 등과 같은 플라보노이드가 주성분을 이룬다(10). 플라보노이드는 심혈관 질환, 염증성 질환 등과 같은 질병 예방에 유익한 효능이 있으며, lipolytic activity를 증가시켜 다이어트 급원으로 주목받고 있다(11-13). 시네트롤이 체지방 및 허리둘레를 감소시켰다는 인체 연구가 보고된 바가 있으며, 유전성 비만 마우스의 체중 및 혈액 지표들의 변화가 보고된 바가 있다(10,14).

Received 19 December 2016; Accepted 1 February 2017

Corresponding author: Ok-Kyung Kim, Beirne B. Carter Center for Immunology Research, University of Virginia, Charlottesville, VA 22908, USA

E-mail: 20woskxm@chonnam.ac.kr, Phone: +82-62-530-1318

본 연구에서는 이전 연구(14)의 자료를 토대로, *ex-vivo* 를 통해 지방 조직에서 지방분해 메커니즘 관련 유전자의 변화를 추가로 알아보고자 하였다.

재료 및 방법

시료준비

동물 식이에 사용된 시네토롤(Sinetrol-XPur)은 (주)알피코프(Seoul, Korea; 프랑스의 Fytexia 원료)로부터 공급 받았고, 식이 주문 시 분말형태 그대로 첨가하여 사용하도록 하였다.

실험동물

동물실험은 경희대학교 동물실험윤리위원회의 심의(승인번호 KHUASP(SE)-15-019)를 거친 후 진행하였다. 실험동물은 (주)중앙실험동물(Seoul, Korea) 사육장으로부터 생후 5주령의 수컷 C57BL/6J ob/ob male mice(n=18), C57BL/6J male mice(n=6)를 구입하여 일주일 동안 설치류 사육실에서 일반식이(AIN93G)를 공급하며 적응시킨 후 적응기간 중 일반상태를 관찰하여 건강한 개체를 무작위법으로 군 분리를 실시하였다. 실험군의 분류는 정상대조군(Lean), 유전성 비만 시험대조군(Obese), 시네토롤 100 mg/kg B.W.(Sinetrol low, 식이의 0.09%), 시네토롤 300 mg/kg B.W.(Sinetrol high, 식이의 0.27%), 총 4군으로 6 마리씩 분류하여 7주간 사육이 진행되었다. 사육환경은 온도 23±3°C, 습도 50±5%에서 light cycle이 12시간 유지되었다.

식이 및 급여

AIN93G diet에 시네토롤을 첨가하여 시료를 제조하여 사용하였고, 식이 농도는 사전연구(11)의 농도를 토대로 하여 안전계수를 고려하여 정하였다. 실험기간 동안 음용수와 식이는 자유롭게 섭취하도록 하였고, 체중과 식이섭취량은 1주일에 한 번씩 일정한 시간에 측정하였다. 식이효율(food efficiency ratio; FER)은 실험식이 공급일로부터 희생일까지 총 실험기간의 식이섭취량을 나누어 산출하였다.

조직 분석

채혈 후 즉시 개복하여 지방조직(복부지방, 내장지방, 부고환지방)을 적출한 후 생리식염수로 세척하여 여과지로 수분을 제거한 다음 중량을 측정하였다.

RNA 추출 및 real-time polymerase chain reaction(real-time PCR)

시네토롤의 섭취에 따른 지방분해 관련 유전자의 발현을 확인하기 위해 real-time PCR을 실시하였다. 지방조직을 적출하여 RNeasy® Lipid Tissue Mini kit(Qiagen Sciences, Germantown, MD, USA)으로 제조사의 protocol에

Table 1. Primer sequences used in real-time PCR quantification of mRNA

Gene	Primer sequences
PDE3B	F 5'-AGTGAAAACGATCGCCTCTTG-3' R 5'-TTGCTGGGCCATTGATATCTG-3'
AKAP1	F 5'-TTCCTCAGAGCCGGTTAAGG-3' R 5'-CTCTATCCGAAGTATTGCTGCTACCT-3'
ATGL	F 5'-AACACCAGCATCCAGTTCAA-3' R 5'-GTTCACTAGGCCATTCCTC-3'
PLIN	F 5'-GCTCTTCAATACCCTCCAGAAAAG-3' R 5'-TTCGAAGGCGGGTAGAGATG-3'
GAPDH	F 5'-CATGGCCTTCCGTTTCCTA-3' R 5'-GCGGCACGRCAGATCCA-3'

따라 RNA 추출을 실시하였다. iScript cDNA synthesis kit(Bio-Rad Laboratories Inc., Hercules, CA, USA)을 사용하여 cDNA를 합성하였다. 유전자들의 발현을 측정하기 위하여 SYBR Green(iQ SYBR Green Supermix, Bio-Rad Laboratories Inc.)을 이용한 실시간 정량 PCR을 실시하였고, 기기는 real-time PCR(Applied Biosystems, Foster City, CA, USA)을 사용하였다. 각각의 유전자에 대한 PCR primer의 염기서열은 Table 1에 제시하였다. Real-time PCR 반응은 총 20 µL 내에 cDNA 2 µL와 2X SYBR mix 10 µL, forward, reverse primer는 각각 100 pmol/µL를 1 µL씩 첨가하였고, 나머지는 H₂O로 채워주었다. PCR 증폭 단계는 다음과 같고 증폭 cycle은 40 cycle을 실시하였다. Hot start를 위해 95°C에서 8분, 증폭 단계의 denaturation을 95°C에서 15초, annealing을 52°C에서 30초, extension을 72°C에서 30초간 반복하며, 각 cycle의 extension 후에 값이 기록되었다. 모든 cycle이 완료된 후 primer의 특이성을 확인하기 위해 melting curve 분석을 실시하였다. 결과 분석은 Applied Biosystems에서 제공하는 One step system software v2.1로 분석하였다.

통계처리

본 실험 결과는 SPSS(Statistical Package for the Social Science) version 20 프로그램(SPSS Inc., Chicago, IL, USA)을 이용하여 분석하였다. 모든 측정항목의 결과는 평균(mean)±표준편차(standard deviation)로 표시하였고 실험군 간 평균의 차이는 one-way ANOVA로 유의성을 확인한 후 Duncan's multiple range test를 이용하여 사후 검증하였으며 $P < 0.05$ 수준에서 유의성의 여부를 검증하였다.

결과 및 고찰

시네토롤 섭취에 따른 실험동물의 식이섭취량, 체중, 식이효율 및 지방 조직 무게 변화 측정

시네토롤 섭취가 실험동물의 체중, 식이효율 및 지방 조직 무게 변화에 미치는 영향을 알아보기 위해 측정된 결과(Table 2), 실험동물의 총 식이섭취량은 정상대조군(Lean);

Table 2. Effect of Sinetrol-XPur on body weight gain and tissue weight in obese mice

	Lean	Obese	Sinetrol low	Sinetrol high
Initial body weight (g)	21.40±0.41 ^b	30.40±1.25 ^a	30.22±2.07 ^a	30.05±1.61 ^a
Final body weight (g)	34.07±1.45 ^c	50.63±1.39 ^a	46.97±3.05 ^b	44.97±2.69 ^b
Weight gain (g)	12.67±1.29 ^c	20.23±2.38 ^a	16.75±2.07 ^b	14.92±1.88 ^b
Food intake (g)	113.98±9.02 ^b	149.88±14.29 ^a	143.12±16.60 ^a	134.75±5.21 ^a
Food efficiency ratio	11.11±0.54 ^b	13.49±0.91 ^a	11.70±0.65 ^b	11.10±1.64 ^b
Tissue weight (g)				
Abdominal adipose tissue	1.01±0.28 ^c	3.44±0.31 ^a	2.81±0.64 ^a	2.03±0.56 ^b
Visceral adipose tissue	1.35±0.38 ^c	5.73±0.52 ^a	4.68±1.06 ^a	3.38±0.94 ^b
Epididymal adipose tissue	1.18±0.33 ^d	4.58±0.41 ^a	3.74±0.85 ^b	2.70±0.75 ^c

All data are presented as mean±standard deviation.

Statistical analyses were performed by Duncan's multiple range test after one-way ANOVA and using SPSS software. Differences were considered statistically significant at $P<0.05$.

Sinetrol low: Obese+Sinetrol 100 mg/kg B.W., Sinetrol high: Obese+Sinetrol 300 mg/kg B.W..

113.98±9.02 g)보다 유전성 비만군(Obese; 149.88±14.29 g, Sinetrol low; 143.12±16.60 g, Sinetrol high; 134.75±5.21 g)이 높게 나타났고, 유전성 비만군 간의 유의적인 차이는 나타나지 않았다. 이는 leptin 유전자의 결핍 때문에 유전성 비만군에서 식이섭취량이 증가한 것으로 보인다.

실험동물의 초기 체중은 정상대조군(Lean; 21.4±0.41 g)보다 유전성 비만군(Obese; 30.40±1.25 g, Sinetrol low; 30.22±2.07 g, Sinetrol high; 30.05±1.61 g)이 높게 나타났다. 이는 C57BL/6J mice(Lean)와 ob/ob mice의 차이에 따른 것으로 보이며, ob/ob mice 간의 유의성은 나타나지 않았음을 확인하였다. 식이 섭취 7주 후 실험동물의 체중은 유전성 비만 시험대조군(Obese)이 50.63±1.39 g으로 가장 높았고, 시네트롤 100 mg/kg B.W.(Sinetrol low), 시네트롤 300 mg/kg B.W.(Sinetrol high)는 46.97±3.05 g, 44.97±2.69 g으로 나타났고, 정상대조군(Lean)은 34.07±1.45 g으로 가장 낮았다. 시네트롤의 섭취가 체중 증가량에 미치는 영향을 분석한 결과, Obese보다 Sinetrol low, Sinetrol high에서 각각 17.18%, 26.23% 유의적으로 감소한 것을 확인하였다.

식이효율은 실험동물이 7주간 섭취한 시네트롤 식이의 섭취량에 대한 체중 증가의 비율로 Obese가 13.49±0.91로 유의적으로 가장 높게 나타났고, Lean, Sinetrol low, Sinetrol high는 각각 11.11±0.54, 11.70±0.65, 11.10±1.64로 군 간의 유의적인 차이는 나타나지 않았다.

시네트롤의 섭취가 지방 무게에 미치는 영향을 알아보기 위해 복부지방, 내장지방, 부고환지방을 측정된 결과, 복부지방은 Obese과 Sinetrol low에서 각각 3.44±0.31 g, 2.81±0.64 g으로 유의적으로 가장 많았고, Sinetrol high는 2.03±0.56 g으로 Obese와 Sinetrol low에 비해 유의적으로 감소하였음을 확인하였다. 내장지방은 Obese과 Sinetrol low에서 각각 5.73±0.52 g, 4.68±1.06 g으로 유의적으로 가장 많았고, Sinetrol high는 3.38±0.94 g으로 Obese와 Sinetrol low에 비해 유의적으로 감소하였음을 확인하였다. 또한, 부고환지방은 Obese에서 4.58±0.41 g으로 유의적

로 가장 많았고, Sinetrol low와 Sinetrol high는 각각 3.74±0.85 g, 2.70±0.75 g으로 Obese에 비해 유의적으로 감소하였음을 확인하였다.

따라서 시네트롤의 섭취가 백색지방인 복부지방, 내장지방, 부고환지방의 축적을 억제하고 체중 증가량을 감소시키는 효과가 있는 것으로 보인다.

시네트롤 섭취에 따른 지방분해 관련 유전자 발현 측정

지방분해는 cAMP에 의해 매개 되는데 세포 내 cAMP의 levels은 phosphodiesterase 3(PDE3)에 의해 조절된다. PDE3는 PDE3A와 PDE3B로 구성되어 있고 이들은 cAMP를 5'AMP로 분해한다(15,16). 따라서 PDE3의 활성이 감소하면 cAMP의 활성이 증가하고, 지방 조직에서 증가한 cAMP는 PKA를 활성화시키는데, PKA는 threonine 또는 serine 잔기를 인산화하는 효소로 알려져 있다(16). 활성화된 PKA는 HSL, ATGL 및 CREB를 인산화하여 지방산 산화 및 열 발생 대사과정을 조절한다(17-19). ATGL은 triglyceride의 분해 첫 단계인 diglyceride의 생성에 관여하는 것으로 알려져 있다(18). 지방분해에 관여하는 또 하나의 단백질인 perilipin A(PLIN)는 평소에는 lipid droplet 표면에서 lipase가 작용하지 못하게 방어하여 지방분해를 억제시키지만, PKA에 의해 PLIN과 HSL이 인산화되면 지방을 분해시키는 작용을 한다(20).

시네트롤의 섭취가 실험동물의 지방 조직 내에서 PDE3B 유전자 발현에 미치는 영향을 알아보기 위해 mRNA를 측정된 결과(Fig. 1), Obese에서 1.99±0.05로 가장 높게 발현되었고, Sinetrol low와 Sinetrol high의 발현량은 각각 1.54±0.12, 1.22±0.11로 Obese에 비해 유의적으로 감소한 것으로 확인되었다. 이는 비만 유도로 인해 감소한 cAMP가 시네트롤의 섭취 때문에 cAMP의 활성을 증가시킨다는 것을 간접적으로 시사한다.

시네트롤의 섭취가 실험동물의 지방 조직 내에서 PKA 유전자 발현에 미치는 영향을 알아보기 위해 PKA의 regulatory subunit인 A kinase anchor protein 1(AKAP1)을

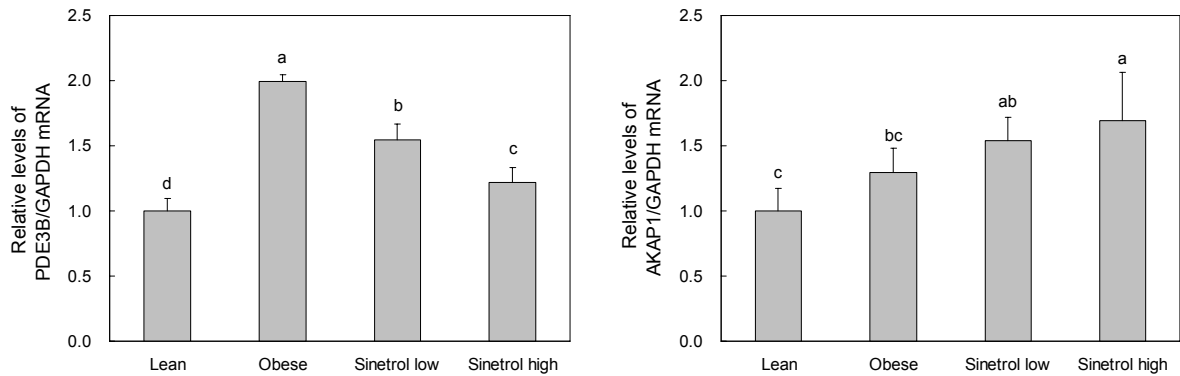


Fig. 1. Effect of Sinetrol-XPur on expression of phosphodiesterase 3B (PDE3B) and A kinase anchor protein 1 (AKAP1) in obese mice. All data are presented as mean±standard deviation. Statistical analyses were performed by Duncan's multiple range test after one-way ANOVA using SPSS software. Differences were considered statistically significant at $P<0.05$. Sinetrol low, Obese+Sinetrol 100 mg/kg B.W.; Sinetrol high, Obese+Sinetrol 300 mg/kg B.W..

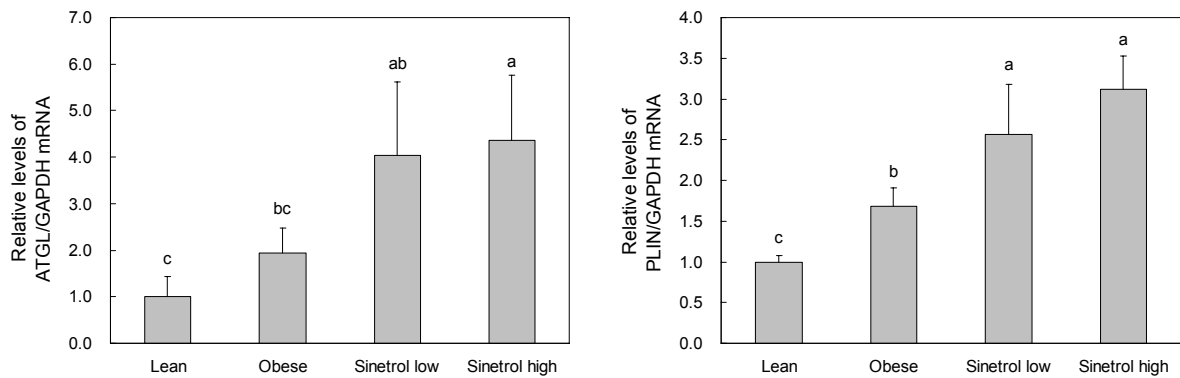


Fig. 2. Effect of Sinetrol-XPur on expression of adipose triglyceride lipase (ATGL) and p-perilipin (PLIN) in obese mice. All data are presented as mean±standard deviation. Statistical analyses were performed by Duncan's multiple range test after one-way ANOVA using SPSS software. Differences were considered statistically significant at $P<0.05$. Sinetrol low, Obese+Sinetrol 100 mg/kg B.W.; Sinetrol high, Obese+Sinetrol 300 mg/kg B.W..

측정한 결과(Fig. 1), Lean과 Obese 간에 유의적인 차이가 나타나지는 않았으나 Lean보다 Obese에서 약 1.3배 증가하였고, Sinetrol low와 Sinetrol high는 Obese보다 각각 1.2배, 1.3배 증가한 것을 확인하였다. Sinetrol low는 Obese와 유의적인 차이가 나타나지 않았으나, Sinetrol high는 유의적인 차이가 나타났다. 이러한 결과는 시네트롤 섭취가 PDE3B의 발현을 감소시켜 cAMP의 활성을 증가시키고, 증가한 cAMP는 PKA의 발현을 증가시키는 것으로 보인다.

시네트롤의 섭취가 실험동물의 지방 조직 내에서 ATGL과 PLIN의 발현량을 측정한 결과(Fig. 2), ATGL의 발현량은 Obese에서 1.93 ± 0.55 , Sinetrol low에서 4.04 ± 1.59 로 유의적인 차이가 나타나지 않았으나, Sinetrol high는 4.36 ± 1.40 으로 Obese에 비해 유의적으로 증가한 것을 확인하였다. PLIN의 발현량은 Obese(1.68 ± 0.22)에 비해 Sinetrol low(2.56 ± 0.62), Sinetrol high(3.12 ± 0.42)에서 유의적으로 증가한 것을 확인하였다. 시네트롤 섭취군 간의 유의적인 차이는 나타나지 않았다.

따라서 시네트롤의 섭취는 지방 조직 내에서 PDE3B의

발현을 억제시켜 cAMP의 활성을 증가시키고, 증가한 cAMP는 PKA의 활성을 증가시키는 것을 확인하였다. 또한, 활성화된 PKA는 PLIN을 인산화시켜 지방분해를 증가시키고 triglyceride의 분해에 관여하는 ATGL의 발현을 증가시키는 것을 확인하였다.

요약

본 연구에서는 시네트롤(Sinetrol-XPur)을 유전성 비만 마우스에 7주간 식이 투여하여 체중 및 지방 조직의 무게 변화와 지방 조직 내 지방분해 관련 유전자 발현량 변화를 알아보고자 하였다. 시네트롤을 섭취한 유전성 비만 마우스군(Sinetrol low와 Sinetrol high)에서 식이섭취량은 유전성 비만 대조군(Obese)에 비해 차이가 없었으나 체중 증가량 및 지방 조직들의 무게는 유의적으로 감소하였음을 확인하였다. 실험동물군의 지방 조직에서 지방분해 관련 유전자들의 발현을 측정한 결과, phosphodiesterase 3B의 발현은 Obese에 비해 Sinetrol에서 감소하였고, A kinase anchor protein 1, adipose triglyceride lipase, perilipin 유전자의

발현은 Obese에 비해 Sinetrol에서 유의적으로 증가하였음을 확인하였다. 이러한 결과로부터 시네티롤이 지방분해 관련 유전자 발현을 증가시켜 체내 지방의 축적이나 합성을 감소시킴으로써 체중의 증가를 예방할 수 있는 천연 기능성 식품으로 활용할 수 있을 것으로 기대할 수 있다.

REFERENCES

1. Korea Health Statistics. 2015. Korea Health Statistics 2014: Korea National Health and Nutrition Examination Survey (KNHANES VI-2). Ministry of Health and Welfare, Sejong, Korea. p 50.
2. Chua SC, Leibel RL. 1996. Obesity genes: Molecular and metabolic mechanisms. *Diabetes Reviews* 5: 2-7.
3. Spiegelman BM, Flier JS. 1996. Adipogenesis and obesity: rounding out the big picture. *Cell* 87: 377-389.
4. Xiong Y, Qu Z, Chen N, Gong H, Song M, Chen X, Du J, Xu C. 2014. The local corticotropin-releasing hormone receptor 2 signalling pathway partly mediates hypoxia-induced increases in lipolysis via the cAMP-protein kinase A signalling pathway in white adipose tissue. *Mol Cell Endocrinol* 392: 106-114.
5. Aubert J, Champigny O, Saint-Marc P, Negrel R, Collins S, Ricquier D, Ailhaud G. 1997. Up-regulation of UCP-2 gene expression by PPAR agonists in preadipose and adipose cells. *Biochem Biophys Res Commun* 238: 606-611.
6. Chae MH, No JG, Jhon DY. 2007. Hangbisan, sulfur-based oriental medicine, lowers the blood cholesterol levels of *ob/ob* obese mice. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 36: 27-31.
7. Ingalls AM, Dickie MM, Snell GD. 1996. Obese, a new mutation in the house mouse. *Obes Res* 4: 101.
8. Yum KS. 2001. Orlistat (XenicalR). *Korean J Obesity* 10: 25-36.
9. Padwal RS, Majumdar SR. 2007. Drug treatments for obesity: orlistat, sibutramine, and rimonabant. *Lancet* 369: 71-77.
10. Dallas C, Gerbi A, Elbez Y, Caillard P, Zamaria N, Cloarec M. 2014. Clinical study to assess the efficacy and safety of a citrus polyphenolic extract of red orange, grapefruit, and orange (Sinetrol-XPur) on weight management and metabolic parameters in healthy overweight individuals. *Phytother Res* 28: 212-218.
11. Kuppasamy UR, Das NP. 1992. Effects of flavonoids on cyclic AMP phosphodiesterase and lipid mobilization in rat adipocytes. *Biochem Pharmacol* 44: 1307-1315.
12. Chen D, Daniel KG, Kuhn DJ, Kazi A, Bhuiyan M, Li L, Wang Z, Wan SB, Lam WH, Chan TH, Dou QP. 2004. Green tea and tea polyphenols in cancer prevention. *Front Biosci* 9: 2618-2631.
13. Frankel EN, German JB, Kinsella JE, Parks E, Kanner J. 1993. Inhibition of oxidation of human low-density lipoprotein by phenolic substances in red wine. *Lancet* 341: 454-457.
14. Yoo JM, Lee M, Kwon HO, Choi SG, Bae MH, Kim OK. 2016. Effects of Sinetrol-XPur on leptin-deficient obese mice and activation of cAMP-dependent UCP-2. *J Korean Soc Food Sci Nur* 45: 484-491.
15. Landström TR, Mei J, Karlsson M, Manganiello V, Degerman E. 2000. Down-regulation of cyclic-nucleotide phosphodiesterase 3B in 3T3-L1 adipocytes induced by tumour necrosis factor α and cAMP. *Biochem J* 346: 337-343.
16. Zmuda-Trzebiatowska E, Oknianska A, Manganiello V, Degerman E. 2006. Role of PDE3B in insulin-induced glucose uptake, GLUT-4 translocation and lipogenesis in primary rat adipocytes. *Cell Signalling* 18: 382-390.
17. Carmen GY, Víctor SM. 2006. Signalling mechanisms regulating lipolysis. *Cell Signalling* 18: 401-408.
18. Holm C. 2003. Molecular mechanisms regulating hormone-sensitive lipase and lipolysis. *Biochem Soc Trans* 31: 1120-1124.
19. Haemmerle G, Lass A, Zimmermann R, Gorkiewicz G, Meyer C, Rozman J, Heldmaier G, Maier R, Theussl C, Eder S, Kratky D, Wagner EF, Klingenspor M, Hoefler G, Zechner R. 2006. Defective lipolysis and altered energy metabolism in mice lacking adipose triglyceride lipase. *Science* 312: 734-737.
20. Miyoshi H, Souza SC, Zhang HH, Strissel KJ, Christoffolete MA, Kovsan J, Rudich A, Kraemer FB, Bianco AC, Obin MS, Greenberg AS. 2006. Perilipin promotes hormone-sensitive lipase-mediated adipocyte lipolysis via phosphorylation-dependent and -independent mechanisms. *J Biol Chem* 281: 15837-15844.