

Univerzita Karlova v Praze
Přírodovědecká fakulta

Speciální chemicko-biologické obory
Molekulární biologie a biochemie organismů



Jana Hansíková

**Význam AMP-aktivované proteinové kinázy v řízení
energetického metabolismu u savců**

Importance of AMP-activated protein kinase in the regulation of energy metabolism
of mammals

Bakalářská práce

Školitel: Ing. Petra Janovská

Praha, 2011

Prohlášení:

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracovala samostatně a že jsem uvedla všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

V Praze dne 5.5.2011

Jana Hansíková

Děkuji své školitelce Ing. Petře Janovské za odborné vedení, nesmírnou obětavost a velkou trpělivost, se kterou se mi věnovala při vypracovávání bakalářské práce. Dále bych ráda poděkovala MUDr. Janu Kopeckému, DrSc. a všem kolegům z Oddělení Biologie tukové tkáně FGÚ AV ČR za podnětné připomínky a přátelské prostředí.

V neposlední řadě děkuji své rodině za zázemí a podporu během mého studia.

Abstrakt

Enzym AMP-aktivovaná proteinová kináza (AMPK) je serin/threoninová proteinová kináza s hlavní úlohou energetické regulace jak na buněčné tak na celotělové úrovni. Jako senzor stresu kontroluje oxidaci mastných kyselin, transport a vstup glukózy do buňky, glukoneogenezi a další metabolické dráhy ve tkáních jako jsou játra, kosterní sval a tuk včetně centrální regulace příjmu potravy a výdeje energie v hypothalamu. Regulace AMPK na celotělové úrovni je koordinována řadou hormonů (adipokinů) sekretovaných tukovou tkání. Jedním z hlavních adipokinů spojovaných s účinkem AMPK je leptin, jehož účinky jsou spojovány jak s naprogramováním metabolismu organismu v perinatálním období tak s významnými regulacemi metabolismu v dospělosti. Studie vývoje AMPK v hypothalamu a periferních tkáních v perinatálním období jsou však vzácné. S ohledem na klíčovou roli AMPK ve zprostředkování centrální regulace leptinu v hypothalamu a metabolických účinků leptinu ve svalu je další zkoumání s cílem rozšířit poznání v této oblasti nezbytné.

Klíčová slova: AMP-aktivovaná proteinová kináza, energetický metabolismus, leptin, metabolický vývoj

Abstract

Enzyme AMP-activated protein kinase (AMPK) is a serin/threonin protein kinase, its main role is in energy regulation at both on the cellular and whole body levels. As a stress sensor controls the oxidation of fatty acid, transport and uptake of glucose uptake into cell, gluconeogenesis and other metabolic pathway in tissue such as liver, skeletal muscle and adipose tissue including hypothalamic central regulation of food intake and energy expenditure. Regulation of AMPK on whole-body level is coordinated by a variety of hormones (adipokines) secreted by adipose tissue. Leptin is one of key adipokines associated with the efect of AMPK . Effects of leptin are linked to both programming the metabolism in the perinatal period and with important regulations in adult metabolism. Data about development of AMPK in the hypothalamus and peripheral tissues in the perinatal period are still rare. Considering to the key role of AMPK in mediation of central regulation of leptin in the hypothalamus and metabolic effects of leptin in muscle, further research to expand knowledge in this area is required.

Key words: AMP-activated protein kinase, energy metabolism, leptin, metabolic development

Seznam zkratek

ACC	acetyl-CoA-karboxyláza (acetyl-CoA carboxylase)
AgRP	(Agouti-related protein)
AICAR	5-aminoimidazole-4-karboxamid-ribonukleotid (5-aminoimidazole-4-carboxamide riboside)
AIS	autoinhibiční sekvence (autoinhibitory sequences)
AMP	adenozinmonofosfát (adenosine monophosphate)
AMPK	AMP-aktivovaná proteinová kináza (AMP-activated protein kinase)
AMPKK	AMP-aktivovaná proteinová kináza kináza (AMP-activated protein kinase kinase)
ATGL	(adipose triglyceride lipase)
ATP	adenozintrifosfát (adenosin triphosphate)
ATPáza	adenozintrifosfatáza (adenosintriphosphatase)
CaMKK	Ca ²⁺ /kalmodulin dependentní kináza (Ca ²⁺ /calmoduline-dependent kinase)
cAMP	cyklický adenozinmonofosfát (cyclic adenosin monophosphate)
CPT1	karnitinpalmitoyltransferáza 1 (carnitine palmitoyltransferase 1)
CREB	(cAMP response element-binding)
CBS	cystathion β-syntáza (cystathione-β-synthase)
CTD	C koncová doména (C terminated domain)
FAS	syntáza mastných kyselin (fatty acid synthase)
FAT/CD36	přenašeč mastných kyselin CD36 (fatty acid transporter CD36)
FoxO1	(forkhead box O1)
G6P	glukóza-6-fosfát (glucose-6-phosphate)
G6Páza	glukóza-6-fosfatáza (glucose-6-phosphatase)
<i>G6pc</i>	gen pro glukóza-6-fosfatázu
GAP	GTPázové aktivující proteiny (GTPase-activating protein)
GBD	glykogen-vázající doména (glykogen-binding domain)
GDP	guanozindifosfát (guanosine diphosphate)
GEF	(GLUT4 enhancer factor)
GLUT1, GLUT4	glukózový přenašeč typu 1 a 4 (glucose transporter type 1 and 4)
GPAT	<i>sn</i> -glycerol-3-fosfátacyltransferáza (<i>sn</i> -glycerol-3-phosphate acyltransferase)
HMG-CoA	3-hydroxy-3-methylglutaryl CoA (3-hydroxy-3-methylglutaryl CoA)
HNF4α	(hepatocyte nuclear factor 4α)
HSL	hormon-senzitivní lipáza (hormone-sensitive lipase)
ChREBP	(carbohydrate response element-binding protein)
IGF	(insulin-like growth factor)
IL-6	interleukin-6 (interleukine-6)
LCFA	mastná kyselina s dlouhým řetězcem (long-chain fatty acid)
LCACoA	acetyl-CoA s dlouhým řetězcem (long-chain acetyl-CoA)

LKB1	tumor supresorová kináza 1 (tumor suppressor kinase 1)
LPL	lipoproteinová lipáza (lipoprotein lipase)
MCD	malonyl-CoA-dekarboxyláza (malonyl-CoA decarboxylase)
MEF2	(myocyte enhancer factor)
MK	mastná kyselina
MO25	(mouse protein-25)
mtTFA	mitochondriální transkripční faktor A (mitochondrial transcriptional factor A)
OAA	oxalacetát (oxalacetate)
NPY	neuropeptid Y (neuropeptide Y)
NRF-1, NRF-2	(nuclear respiratory factors 1 and 2)
NTD	N koncová doména (N terminated domain)
<i>Pck1</i>	gen pro fosfoenolpyruvátkarboxykinázu
PEP	fosfoenolpyruvát (phosphoenolpyruvate)
PEPCK	fosfoenolpyruvátkarboxykináza (phosphoenolpyruvate carboxykinase)
PFK-1, PFK-2	fosfofruktokináza 1 a 2 (phosphofruktokinase 1 and 2)
PGC1 α	(peroxisome-proliferator activated receptor γ co-activator 1)
PKA	proteinkináza A (protein kinase A)
PP2C α	proteinová fosfatáza 2C α (protein phosphatase 2C α)
<i>Prkaa 1 a 2</i>	geny pro izoformy α podjednotek AMPK
<i>Prkab 1 a 2</i>	geny pro izoformy β podjednotek AMPK
<i>Prkag 1, 2 a 3</i>	geny pro izoformy γ podjednotek AMPK
SERCA	(sarco/endoplasmic reticulum Ca ²⁺ ATPase)
SHP	(small heterodimer partner)
SIK2	(salt-inducible kinase 2)
SNS	sympatický nervový systém (sympathetic nervous system)
SREBP1	(sterol regulatory element binding protein 1)
STRAD	(sterile-20-related adaptor)
TCA	citrátový cyklus (tricarboxylic acid cycle)
<i>tfam</i>	gen pro mitochondriální transkripční faktor
Thr	threonin
TNF α	tumor nekrotizující faktor α (tumor necrosis factor α)
TORC2	(transducer of regulated CREB activity 2)
TZD	thiazolidindiony (thiazolidindiones)
ZMP	(5-amino-4-imidazole carboxamide riboside 5'-monophosphate)
ZTP	(5-amino-4-imidazole carboxamide riboside 5'-triphosphate)

OBSAH

1. Úvod.....	9
2. Struktura AMP-aktivované proteinové kinázy.....	10
2.1. Katalytická podjednotka α	10
2.2. Regulační podjednotky β a γ	10
3. Regulace aktivace AMP-aktivované proteinové kinázy.....	12
3.1. Nadřazená kináza LKB1.....	13
3.2. Nadřazená kináza CaMKK.....	13
3.3. Aktivátory AMPK.....	14
3.4. Hormonální regulace AMPK.....	15
4. Regulační funkce AMP-aktivované proteinové kinázy.....	16
4.1. Glukózový metabolismus.....	18
4.1.1. Metabolismus glukózy v játrech.....	18
4.1.2. Metabolismus glukózy v kosterním svalu.....	19
4.1.3. Metabolismus glukózy v srdečním svalu.....	20
4.2. Lipidový metabolismus.....	21
4.2.1. Lipidový metabolismus v kosterním svalu a játrech.....	21
4.2.2. Lipidový metabolismus v srdečním svalu.....	23
4.2.3. Lipidový metabolismus v tukové tkáni.....	24
4.3. Mitochondriální biogeneze.....	25
4.4. Regulace metabolismu v hypothalamu.....	26
5. Biologický vývoj signálních drah metabolismu a jejich vztah k výživě u savců v perinatálním a časném postnatálním období.....	26
5.1. Vliv leptinu na vývoj organismu.....	28
5.2. Vývoj kosterního svalu.....	28
6. Závěr.....	30
Seznam použité literatury.....	31

1. Úvod

Udržování energetické rovnováhy v těle, tj. vyrovnaného energetického příjmu a výdeje, je klíčové pro zdravý vývoj každého jedince. Organismus se musí stále vyrovnávat s nerovnoměrným přísunem energie, ať už s jejím nadbytkem nebo nedostatkem. Narušení energetické rovnováhy v organismu způsobené vysokým kalorickým příjmem a nedostatkem pohybu vede k rozvoji mnoha metabolických onemocnění. Patří mezi ně diabetes 2. typu, obezita a hypertenze, tedy choroby, které bývají zahrnuty pod odborný termín metabolický syndrom. Udržování energetické rovnováhy se účastní mnoho metabolických procesů, které regulují příjem živin a výdej energie. V savčích tkáních se nachází enzym AMP-aktivovaná proteinová kináza (AMPK), který je klíčovým prvkem v udržování energetické homeostáze jak na buněčné úrovni, tak na úrovni celého organismu. AMPK je zapojena do signalizace spojující periferní tkáň s hypothalamem, která reguluje příjem potravy a energetickou spotřebu organismu. Regulace metabolismu pomocí AMPK probíhá na základě nutričních a hormonálních signálů. AMPK zprostředkovává působení několika hormonů, především adipokinů, jako jsou leptin a adiponektin, na řízení příjmu potravy a glukózový a lipidový metabolismus. Výživa v období vývoje může hrát významnou roli pro naprogramování metabolismu organismu. Změny ve výživě při vývoji plodu mohou vést k predispozici metabolických onemocnění v pozdějším věku jedince. Leptin, který se podílí na regulaci energetické rovnováhy, je důležitý při vývoji a růstu plodu a může mít vliv na metabolické naprogramování jedince.

2. Struktura AMP-aktivované proteinové kinázy

Savčí AMPK je cytoplazmatický enzym. Patří do rodiny serin/threoninových (Ser/Thr) proteinových kináz, které mají na N konci doménu s příslušným serinem nebo threoninem, jejichž fosforylace je potřebná pro aktivaci daného enzymu (Hardie 2007). AMPK je heterotrimerní komplex skládající se z jedné katalytické α podjednotky a ze dvou regulačních podjednotek β a γ . Fylogenetická analýza ukázala velký evoluční a mezidruhový konzervatismus všech tří podjednotek. U savců je každá podjednotka kódována více geny. Expresí těchto genů vzniká 12 možných kombinací podjednotek komplexu AMPK. Protože má AMPK v jednotlivých tkáních různé úlohy a je zahrnuta do mnoha metabolických drah, její exprese genů podjednotek je tkáňově odlišná (Lage et al. 2008).

2.1. Katalytická podjednotka α

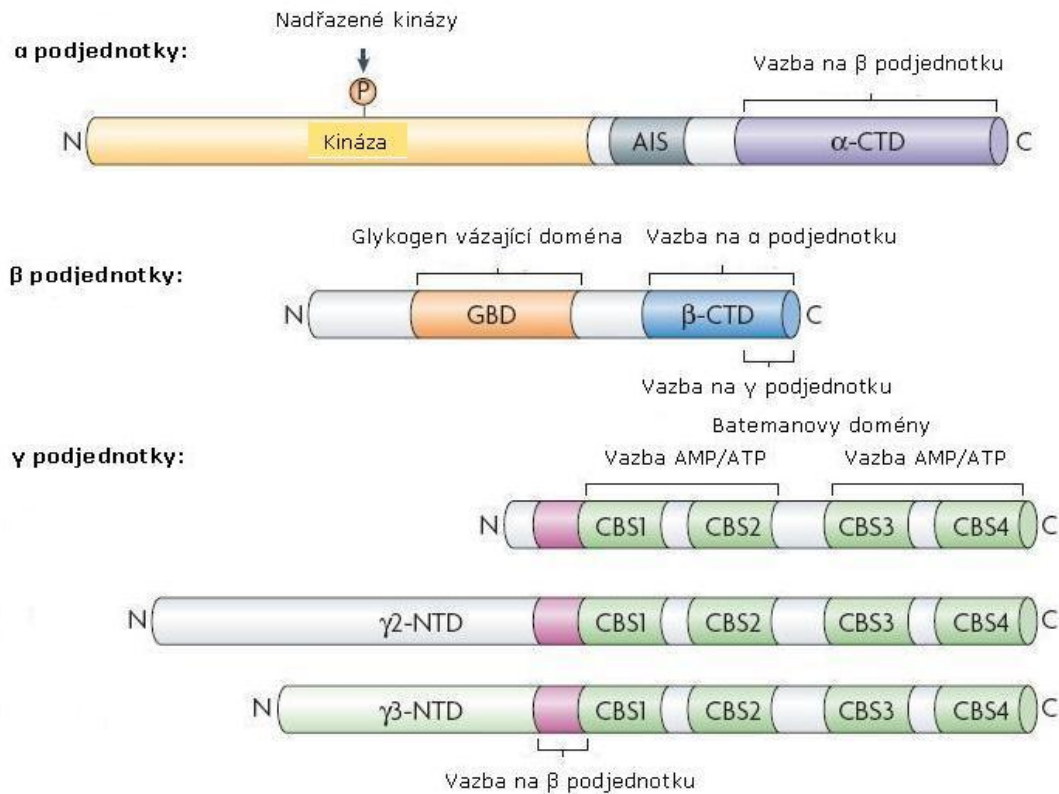
V komplexu AMPK se katalytická podjednotka α vyskytuje ve dvou izoformách $\alpha 1$ a $\alpha 2$, které jsou kódovány příslušnými geny *Prkaa1* a *Prkaa2*. Obě podjednotky se vyskytují v cytoplazmě, ale $\alpha 2$ podjednotka se může nacházet i v jádře. Součástí obou izoform je na N konci řetězce Ser/Thr kinázová doména, která obsahuje threonin 172 (Thr-172), jehož fosforylace je klíčová pro aktivitu celého komplexu (obr. 1). Na C konci řetězce se nachází regulační doména, která se podílí na interakci katalytické podjednotky s regulačními podjednotkami β a γ . Oblast regulační domény, která sousedí s kinázovou doménou, je nazývána autoinhibiční sekvencí (AIS) a má v této podjednotce autoinhibiční úlohu. Proti doméně AIS působí vzájemná interakce γ a α podjednotky (Hardie, 2007; Sanz, 2008). Obě izoformy jsou v tkáních zastoupeny v různém poměru a to v závislosti na jejich funkci, které jsou u obou izoform odlišné. Isoforma $\alpha 1$ se vyskytuje v tukové tkáni, erytrocytech a v játrech, v malém množství i v kosterním svalu a srdci. Isoforma $\alpha 2$ je dominantní hlavně v kosterním svalu, srdci, hypothalamu a játrech a v malém množství se vyskytuje i v ostatních tkáních.

2.2. Regulační podjednotky β a γ

Regulační podjednotka β existuje ve dvou izoformách $\beta 1$ a $\beta 2$, které jsou kódovány geny *Prkab1* a *Prkab2* (Sanz, 2008). Podjednotka β plní především funkci spojovacího prvku (mostu) pro vazbu α a γ podjednotky do konečného komplexu AMPK. Součástí

podjednotky β je N-koncová glykogen-vázající doména (GBD). Tato doména je podobná doméně nacházející se v enzymech, které katalyzují štěpení glykozidické vazby α 1-6. Ačkoli je fyziologická funkce vazby glykogenu na β podjednotku neznámá, předpokládá se, že ve svalu může vazba glykogenu usnadňovat přiblížení AMPK ke glykogensyntáze (Hardie, 2007). Regulační podjednotka γ se vyskytuje ve třech izoformách: γ 1, γ 2 a γ 3, které jsou kódovány geny *Prkag1*, *Prkag2* a *Prkag3*. Podjednotka γ obsahuje krátký konzervovaný úsek (obr. 1), který je důležitý pro interakci s β podjednotkou. Regulační γ podjednotka dále obsahuje čtyři repetitivní sekvence o velikosti přibližně 60 aminokyselin, označující se jako domény cystathion β -syntázy (CBS). Sekvence v tandemu (CBS1-CBS2 a CBS3-CBS4) tvoří tzv. Batemanovy domény, které jsou schopné vázat molekuly AMP nebo ATP. Vazba prvního AMP do Batemanovy domény zvyšuje afinitu k vazbě další molekuly AMP. Navázání AMP tak způsobuje alosterickou aktivaci komplexu a brání defosforylaci α podjednotky (Hardie, 2007).

Mutace γ podjednotky mají z klinického hlediska velmi závažný dopad. V genu pro γ 2 podjednotku bylo objeveno šest různých bodových mutací z toho čtyři mutace ovlivňující N-koncovou Batemanovu doménu a dvě ovlivňující C-koncovou doménu. Mutace způsobují u člověka dědičné choroby srdce, například Wolff-Parkinson-White syndrom, který je obvykle asociován s hypertrofickou kardiomyopatií (Scott et al. 2004).



Obr. 1: Doménová struktura podjednotek AMP-aktivované protein kinázy

(upraveno podle Hardie, 2007)

Podjednotky α obsahují C koncovou doménu (α -CTD), která se podílí na interakci s β a γ podjednotkami, a autoinhibiční sekvenci (AIS). Na N konci se nachází kinázová doména obsahující threoninový zbytek, jehož fosforylace je klíčová pro aktivitu enzymu. Součástí β -podjednotek je glykogen-vázající doména (GBD) a C koncová doména (β -CTD) interagující s α a γ podjednotkami. Podjednotky γ mají variabilní N koncovou doménu (NTD) s krátkou oblastí pro interakci s β podjednotkou. Na C konci se nachází čtyři CBS (cystathione β -synthase) domény, které v páru tvoří tzv. Batemanovy domény a které vážou AMP nebo ATP.

3. Regulace aktivity AMP-aktivované proteinové kinázy

AMPK je klíčový enzym v regulaci metabolismu a působí jako „senzor“ energetických změn v buňce. Komplex je citlivý na změnu poměru AMP : ATP, kdy při nárůstu AMP dochází k jeho aktivaci. Poměr AMP : ATP stoupá při různých formách buněčného stresu (hypoxie, nedostatek glukózy) nebo po aktivaci procesů vyžadujících velké množství ATP.

AMPK je podřízená komponenta proteinových kaskád a k její aktivaci dochází fosforylací Thr-172 na katalytické α podjednotce nadřazenými AMPK kinázami (AMPKK). Mezi známé nadřazené kinázy, které fosforylují AMPK patří tumor supresorová kináza (LKB1)

a Ca^{2+} /kalmmodulin dependentní kináza kináza (CaMKK) (obr. 2). K regulaci aktivity AMPK také přispívá alosterická aktivace molekulami AMP navázaných na Batemanovy domény (viz kapitola 2.2.) na γ podjednotce (Carling et al. 2008). Zvýšená hladina AMP a jeho vazba na komplex podporuje fosforylaci a také inhibuje defosforylaci AMPK. Naproti tomu při vysoké hladině ATP dochází k inhibici AMPK (Hardie et al. 2003). Vazba AMP zvyšuje aktivitu enzymu AMPK zhruba pětkrát, zatímco fosforylace až stokrát (Towler and Hardie 2007). Aktivovaná AMPK fosforyluje další enzymy kaskády, které aktivují dráhy produkující ATP a naopak inhibují dráhy, které ATP spotřebovávají (Carling et al. 2008). Za deaktivaci AMPK způsobenou defosforylací Thr-172 je zodpovědná proteinová fosfatáza 2Ca (PP2Ca) (Davies et al. 1995).

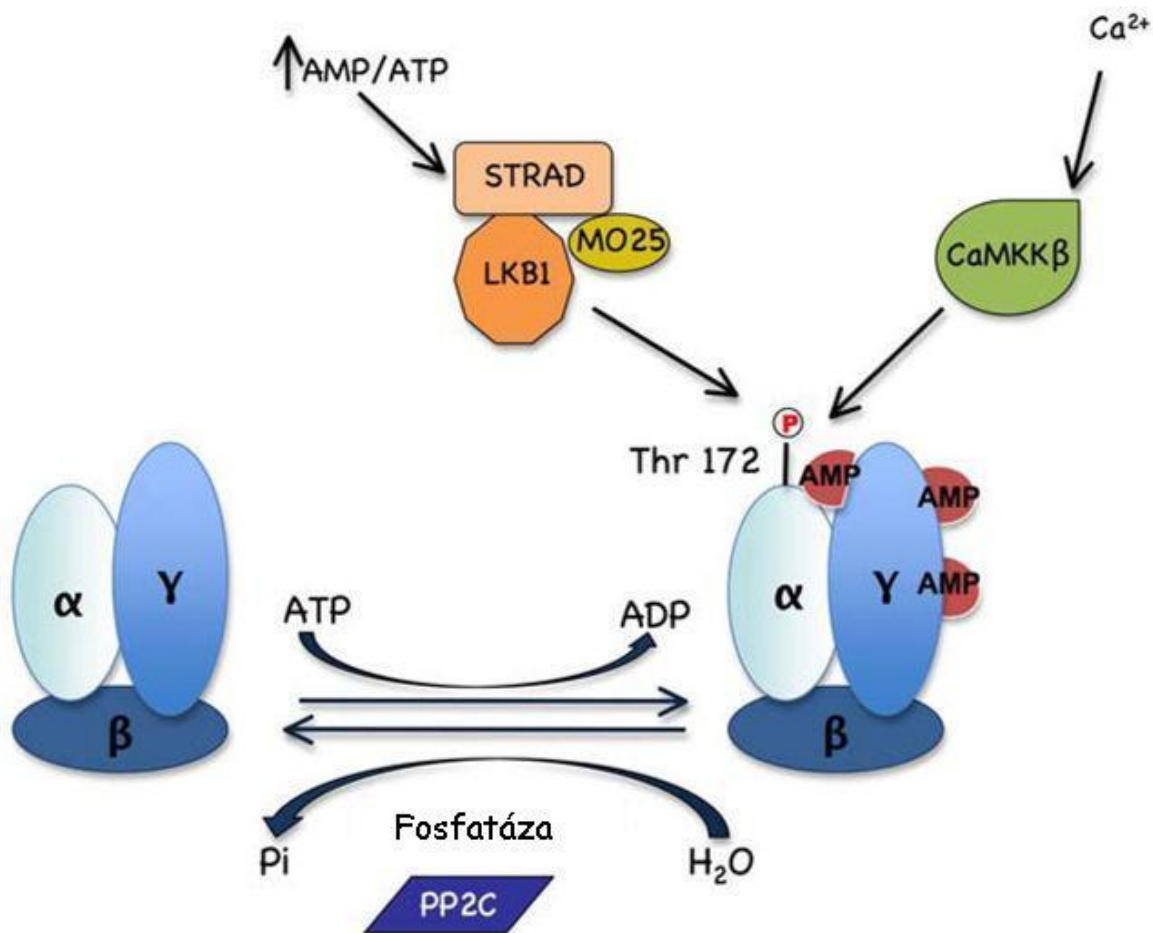
3.1. Nadřazená kináza LKB1

Jednou z nadřazených kináz AMPK je LKB1. Tento heterotrimerní enzym vyžaduje pro svoji aktivitu vazbu dvou regulačních podjednotek. Katalyticky aktivní heterotrimer tvoří LKB1, STRAD (sterile-20-related adaptor) a MO25 (mouse protein-25) (Hawley et al. 2003). Aktivace AMPK pomocí LKB1 je závislá na hladině AMP, mechanismus je však stále nejasný. LKB1 je exprimována ve všech tkáních. Ve svalu je LKB1 hlavní nadřazenou kinázou pro aktivaci AMPK při svalové kontrakci či cvičení a dále pro transport glukózy do buňky (Sakamoto et al. 2005).

Také v játrech je LKB1 hlavní nadřazenou kinázou AMPK. Delece LKB1 v játrech podstatně redukuje fosforylaci a aktivitu AMPK, která vede k výrazné hyperglykémii (Shawn et al. 2005).

3.2. Nadřazená kináza CaMKK

Další důležitou kinázou zodpovědnou za fosforylaci AMPK je CaMKK, především izoforma β (CaMKK β). Tato kináza nevyžaduje změnu hladiny AMP, ale je aktivována zvýšením koncentrace Ca^{2+} v cytoplasmě. Nárůst Ca^{2+} většinou spouští procesy vyžadující ATP, jako aktivace „molekulových motorů“ nebo membránový transport. Ionty Ca^{2+} poté musí být transportovány z cytozolu membránovou pumpou řízenou ATP. Aktivace AMPK v těchto situacích může předpovídat zvýšenou poptávku po ATP a zajištění obnovy jeho hladiny. K expresi CaMKK dochází především v nervových buňkách, ale také v endoteliálních nebo hematopoetických buňkách (Hawley et al. 2005).



Obr. 2: Aktivace AMPK (upraveno podle Viollet, 2009)

AMPK je aktivována fosforylací Thr-172 pomocí komplexu LKB1:STRAD:MO25 v závislosti na nárůstu poměru AMP : ATP. Další nadřazená kináza CaMKK fosforyluje Thr-172 v odpovědi na zvýšenou koncentraci Ca²⁺. Působením proteinové fosfatázy (PP2C) dochází k defosforylaci a přechodu AMPK do neaktivní formy.

3.3. Aktivátory AMPK

Jeden z nejznámějších farmakologických aktivátorů je 5-aminoimidazol-4-
karboxyamid-ribonukleotid (AICAR). Po fosforylaci adenosinkinázou vytváří AICAR
nukleotid ZMP (AICA monofosfát, analog AMP), který způsobuje aktivaci AMPK stejně
jako AMP (Corton et al. 1995). Účinky ZMP ovšem nejsou zcela specifické. ZMP
ovlivňuje i aktivitu jiných AMP-senzitivních enzymů jako například glykogenfosforylázy
nebo fruktóza-1,6-bisfosfatázy. Trifosforylovaná forma ZTP může působit jako ATP
a inhibovat AMPK (Rutter et al. 1995).

Dalším důležitým aktivátorem AMPK jsou látky, které se používají při léčbě diabetu 2. typu. Mezi antidiabetické léky patří především metformin ze skupiny biguanoidů a skupina thiazolidindionů (TZD) (např. rosiglitazon nebo pioglitazon). Metformin aktivuje AMPK ve svalu a játrech. Způsobuje snížení jaterní glukoneogeneze a stimuluje příjem glukózy periferními tkáněmi, čímž snižuje hladinu glukózy v krvi. Dále v krvi snižuje také koncentraci volných mastných kyselin. Rosiglitazon zvyšuje aktivitu AMPK ve svalu pomocí nárůstu poměru AMP : ATP. Působením rosiglitazonu dochází k redukci akumulace lipidů, pravděpodobně zvýšením β -oxidace (Kola et al. 2006). Resveratrol patří mezi přírodní polyfenoly. Zlepšuje glukózový příjem periferními tkáněmi přes glukózové přenašeče typu 4 (GLUT4) stimulované AMPK. (Hwang et al. 2009).

3.4. Hormonální regulace AMPK

Enzym AMPK je koordinovaně regulován na celotělové úrovni velkým množstvím hormonů a cytokinů sekretovaných odlišnými tkáněmi jako je tuk, kosterní sval, střevo a pankreas. K těm nejdůležitějším látkám patří tzv. adipokiny, hormony vylučované adipocyty, leptin, adiponektin, rezistin a inzulin, sekretovaný β buňkami pankreatu. Vliv na aktivitu AMPK mají také cytokiny interleukin-6 (IL-6), tumor nekrotizující factor α (TNF α) a hormon ghrelin (Dzamko and Steinberg 2009).

Leptin ve svalu stimuluje aktivitu AMPK pomocí selektivní fosforylace α 2 podjednotky (Minokoshi et al. 2002). Aktivace α 2 AMPK vede k inhibici syntázy mastných kyselin (FAS) a stimulaci vstupu glukózy do buněk a oxidaci mastných kyselin. Leptin stimuluje oxidaci mastných kyselin a vstup glukózy do buňky i v játrech a v pankreatu a tak působí proti hromadění lipidů v těchto orgánech. V hypothalamu má však leptin opačnou funkci a to inhibici AMPK, která je nezbytná pro účinek leptinu na snížení příjmu potravy (Andersson et al. 2004). Leptin s AMPK tak tvoří zpětnovazebný systém mezi řídicím orgánem mozkem a periferními tkáněmi.

Adiponektin aktivuje AMPK v játrech a ve svalu, což má za následek stimulaci oxidace mastných kyselin a zvýšený příjem glukózy, vedoucí ke zlepšení citlivosti k inzulinu. V játrech navíc aktivace AMPK inhibuje expresi proteinů účastnících se glukoneogeneze (fosfoenolpyruvátcarboxykinázy (PEPCK) a glukóza-6-fosfatázy (G6Pázy)) a dále pak geny zapojené do lipogeneze (sterol regulatory element binding protein (SREBP1)) (Yamauchi et al. 2002). Na rozdíl od leptinu, adiponektin

v hypothalamu AMPK aktivuje a tím stimuluje příjem potravy. V hypothalamu má tak adiponektin opačnou funkci než leptin (Kadowaki et al. 2008).

Bylo dokázáno, že rezistin způsobuje pokles aktivity AMPK v játrech, ale přímá souvislost je zatím předmětem dalšího bádání. Fyziologická úloha rezistinu je však udržování hladiny glukózy v plazmě při hladovění, kdy je AMPK aktivována (Banerjee et al. 2004, Muse et al. 2004).

Sekrece inzulínu v β buňkách pankreatu je ovlivňována hladinou glukózy. Pokud je hladina glukózy vysoká, zvyšuje se i hladina ATP, čímž klesá aktivita AMPK a dochází k sekreci inzulínu. Navíc, koncentrace AMP v β buňkách v odpovědi na zvýšení koncentrace glukózy klesá, což vede k domněnkám, že AMPK může hrát roli v sekreci inzulínu jako energetický senzor. Přesný mechanismus vlivu AMPK na sekreci inzulínu však není znám (Long and Zierath 2006).

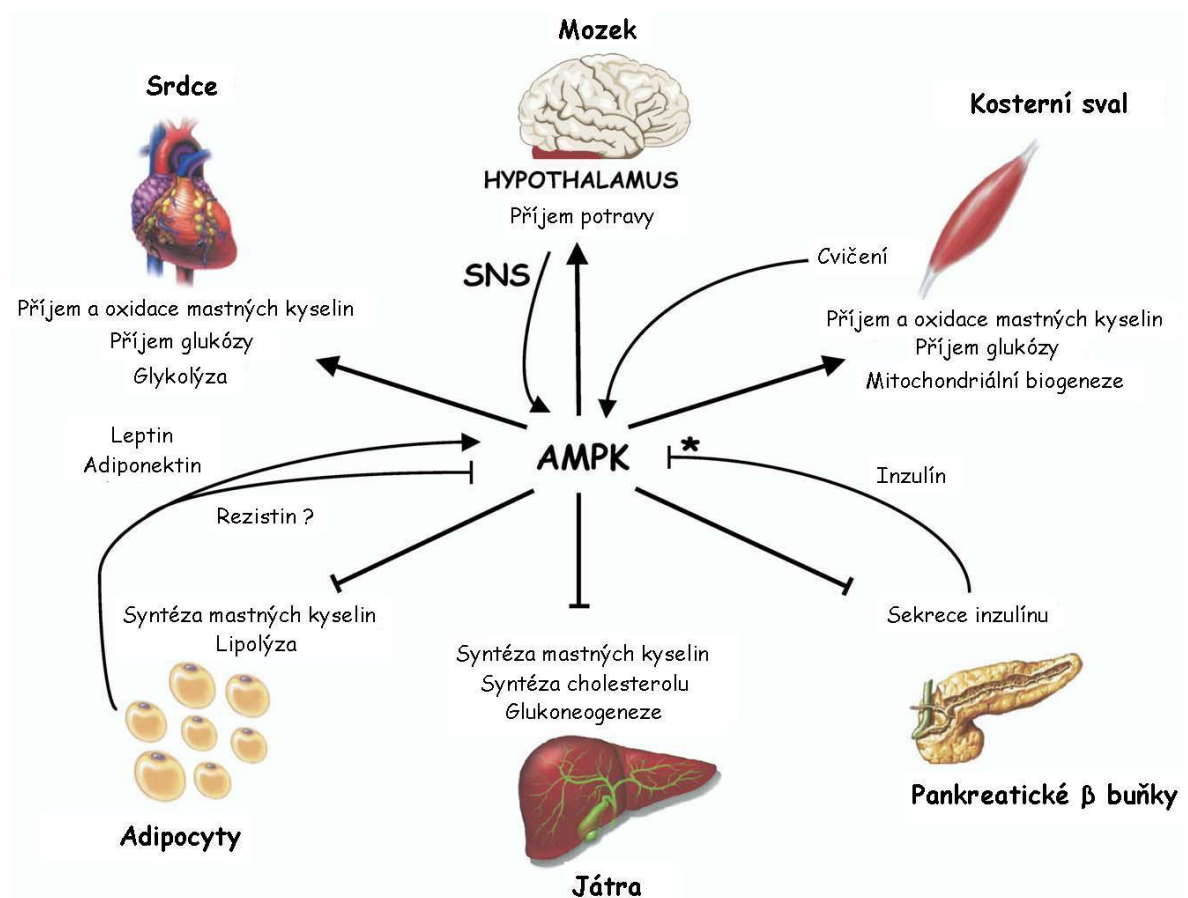
Hormon ghrelin, vylučovaný převážně v žaludku, je díky aktivaci AMPK v hypothalamu řazen mezi látky s orexigenními (vyvolávající chuť k jídlu) účinky. Rovněž v srdečním svalu dochází díky ghrelinu k aktivaci AMPK. Naopak v játrech a tukové tkáni dochází k inhibici aktivity AMPK. Z tohoto důvodu dochází ke zvýšení glukoneogeneze a syntézy lipidů. V kosterním svalu nebyl pozorován žádný efekt na aktivitu AMPK. Podobné důsledky spojené s aktivací či inhibicí AMPK vykazuje i působení endokannabinoidů (Kola et al. 2005).

Mezi fyziologicky aktivní látky ovlivňující aktivitu AMPK patří i prozánětlivé cytokiny IL-6 a TNF- α . IL-6 zvyšuje fosforylaci AMPK v adipocytech a myocytech (Kelly et al. 2004). Zvýšená hladina TNF- α potlačuje aktivitu AMPK ve svalu. Pokles aktivity je následkem zvýšené transkripce AMPK fosfatázy PP2C α . Ve svalu tedy dochází k redukci oxidace mastných kyselin a zvýšené akumulaci lipidů, konkrétně diacylglycerolů (Steinberg et al. 2006).

4. Regulační funkce AMP-aktivované proteinové kinázy

AMPK v organismu je především zapojena do signálních drah metabolismu lipidů a glukózy (obr. 3). Aktivovaná AMPK inhibuje energeticky náročné anabolické procesy (syntéza mastných kyselin a cholesterolu, glukoneogeneze, syntéza proteinů), zatímco katabolické procesy generující energii (oxidace mastných kyselin, příjem glukózy a její štěpení) aktivuje. Její účinek může mít krátkodobý vliv, a to na přímou fosforylaci enzymů

metabolických drah, nebo dlouhodobý vliv, a to na fosforylaci transkripčních faktorů a koaktivátorů regulujících genovou expresi. Z hlediska metabolické kontroly v organismu je účinek AMPK významný hlavně v kosterním svalu, srdečním svalu, játrech, tukové tkáni a v β buňkách pankreatu. Její účinek v hypothalamu je důležitý pro regulaci příjmu potravy, kterým propojuje svoji energetickou regulaci mezi řídicím orgánem, mozkem, a periferními tkáněmi. Funkce AMPK není jen metabolická, ale podílí se také na regulaci dalších dějů vyžadujících velké množství energie jako je růst, proliferace a autofagie buňky (Hardie 2007).



Obr. 3: Role AMPK v regulaci energetické homeostázy (upraveno podle Kahn, 2005)

V mnoha tkáních dochází aktivací AMPK k inhibici procesů spotřebovávajících ATP, zatímco katabolické procesy, které ATP vytvářejí, jsou aktivovány. Hormony vylučované adipocyty, leptin a adiponektin, stejně jako cvičení aktivují AMPK v kosterním svalu, která zde stimuluje oxidaci mastných kyselin. Aktivace AMPK v kosterním svalu zahrnuje i osu hypothalamo-sympatického nervového systému (SNS). Adiponektin aktivuje AMPK v játrech, kde zvyšuje oxidaci mastných kyselin a redukuje glukoneogenezi. Rezistin v játrech AMPK inhibuje. AMPK má negativní vliv na sekreci inzulínu z β buněk pankreatu. V hypothalamu přispívá AMPK k regulaci příjmu potravy.

* Inzulín inhibuje AMPK v hypothalamu a v srdci během ischemie, zatímco na kosterní sval nebo adipocyty nemá žádný účinek.

4.1. Glukózový metabolismus

Pro organismus je důležité neustále udržovat glukózovou homeostázu, tj. rovnováhu mezi jaterní produkcí glukózy a jejím příjmem periferními tkáněmi, především v kosterním svalu. AMPK reguluje metabolismus glukózy ve svalu a v játrech odlišně. Zatímco ve svalu AMPK podporuje vstup glukózy do buněk, v játrech podporuje její uvolňování.

4.1.1. Metabolismus glukózy v játrech

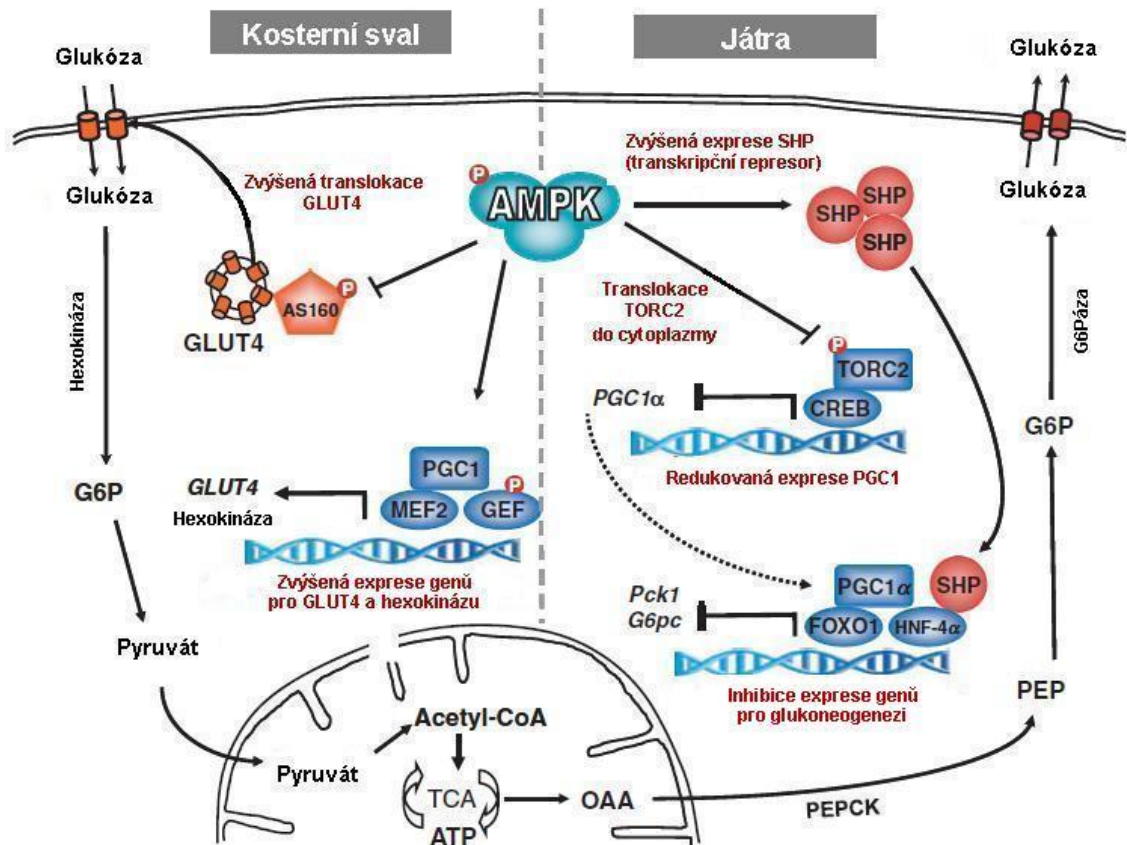
Játra jsou centrálním orgánem metabolismu savců. Jejich úkolem je především zajištění stálé hladiny glukózy v krvi. Během hladovění či cvičení dochází ke štěpení zásob glykogenů (glykogenolýza) a uvolnění vzniklé glukózy do krve. V případě dlouhodobějšího nedostatku glukózy a vyčerpání glykogenů je glukóza získávána syntézou z necukerných prekurzorů (laktát, aminokyseliny, glycerol, pyruvát) v procesu glukoneogeneze. Pokud je hladina glukózy již stabilizovaná a jaterní produkce není potřeba, vzestup hladiny inzulínu zastaví oba procesy. Během inzulínové rezistence je tato inhibice nedostatečná a zejména přes glukoneogenezi dochází k nadprodukcí glukózy a k zvýšení její plazmatické hladiny. Aktivace AMPK v játrech vede k potlačení glukoneogeneze (obr. 4) (Hegarty et al. 2009). Vlivem AMPK dochází primárně k redukci exprese dvou genů *Pck1* a *G6pc*, kódujících klíčové enzymy glukoneogeneze PEPCK a G6Pázu (Lochhead et al. 2000). Jedním z hlavních regulátorů mechanismu inhibice glukoneogeneze prostřednictvím AMPK je protein TORC2 (transducer of regulated CREB activity 2). TORC2 se jako koaktivátor jaderného elementu CREB (cAMP response element-binding) podílí na zprostředkování transkripce genu pro PGC1 α (peroxisome-proliferator activated receptor γ coactivator 1 α), který je dále nutný jako koaktivátor exprese genů glukoneogenních enzymů. TORC2 je přímo fosforylován AMPK, což znemožní jeho přesun do jádra a interakci s CREB (Koo et al. 2005). V důsledku poklesu transkripční aktivity CREB nedochází k expresi PGC1 α a zároveň k jeho asociaci s HNF4 α (hepatocyte nuclear factor-4 α) a FoxO1 (forkhead box O1). Na konci celé inhibiční kaskády je inhibice exprese genů pro glukoneogenezi *Pck1* a *G6pc*. Na inhibici glukoneogeneze se dále podílí nukleární receptor SHP (small heterodimer partner), jehož exprese je regulována také AMPK. SHP může interagovat s HNF4 α a FoxO1 a zablokovat jejich transkripční aktivitu (Kim et al. 2008). AMPK není jediným regulátorem glukoneogeneze, činnost TORC2 regulují také signální dráhy inzulínu a glukagonu. SIK2

(salt-inducible kinase 2), který je součástí inzulínové kaskády, fosforyluje TORC2, čímž vykazuje inzulín podobnou úlohu jako AMPK (Screaton et al. 2004).

4.1.2. Metabolismus glukózy v kosterním svalu

Z pokusů s AICARem, aktivátorem AMPK, vyplývá, že jedním z mechanismů ovlivňujících glukózový metabolismus v kosterním svalu je regulace vstupu glukózy do buňky přes GLUT4. AMPK aktivovaná při svalové kontrakci nebo farmakologicky prostřednictvím AICARu je zodpovědná za zvýšenou translokaci GLUT4 do plazmatické membrány. Je známo, že na tomto efektu se podílí Rab-GTPázové aktivující proteiny (GAP), mezi které patří AS160/TBC1D4 nebo TBC1D1 (obr. 4). Zdá se, že AMPK fosforyluje AS160 nebo TBC1D1, čímž způsobí jejich přechod z více aktivní formy do méně aktivní. Inhibice GAP podporuje přechod méně aktivního proteinu Rab s navázaným GDP (Rab-GDP) na aktivnější Rab-GTP. Uvolnění váčků s přenašeči GLUT4 v cytoplazmě a jejich splnutí a začlenění do plazmatické membrány je způsobeno vazbou GTP na Rab proteiny, které jsou asociované s vezikuly. Za fosforylaci AS160 není zodpovědná jen AMPK, ale také kináza Akt, která je součástí signalizační kaskády inzulínu (Sakamoto and Holman 2008).

Regulace glukózového příjmu neprobíhá jen krátkodobě akutní stimulací přenašečů. AMPK může mít i dlouhotrvající vliv na řízení metabolismu glukózy. Dlouhodobě zvýšená hladina aktivované AMPK zvyšuje expresi genů pro proteiny GLUT4 a hexokinázy (Holmes et al. 1999). Hlavní roli v indukci exprese hraje koaktivátor PGC1 α , který se podílí i na mnoha dalších dějích v buňce. PGC1 α je fosforylován přímo AMPK (Jäger et al. 2007) a interakcí s dalšími transkripčními faktory MEF2 (myocyte enhancer factor) a GEF (GLUT4 enhancer factor) se váže na promotor genu pro GLUT4 (Karnieli and Armoni 2008).



Obr. 4: Regulace glukózového metabolismu ve svalu a v játrech

(upraveno podle Hegarty et al. 2009)

Ve svalu podporuje AMPK vstup glukózy do buňky a její využití stimulací translokace přenašečů GLUT4 do plazmatické membrány. Dále AMPK aktivuje expresi genů kódujících proteiny GLUT4 a hexokinázu. V játrech AMPK redukuje jaterní produkci glukózy inhibicí transkripčních genů kódujících enzymy PEPCK a G6Pázu pomocí mechanismů, které zahrnují zablokování TORC2 v cytoplazmě a zvýšení exprese transkripčního represoru SHP.

G6P - glukóza-6-fosfát, PEP - fosfoenolpyruvát, OAA - oxalacetát, PEPCK - fosfoenolpyruvátkarboxykináza, TCA - citrátový cyklus, SHP- small heterodimer partner, TORC2 - transducer of regulated CREB activity 2, CREB - cAMP response element-binding, PGC1α - peroxisome-proliferator activated receptor γ co-activator 1 α , HNF-4 α - hepatocyte nuclear factor 4 α , FoxO1 - forkhead box O1, Pck1;G6pc - geny pro glukoneogenezi, MEF2 - myocyte enhancer factor 2, GEF - GLUT4 enhancer factor

4.1.3. Metabolismus glukózy v srdečním svalu

V srdci je AMPK součástí celé sítě metabolických drah, která zahrnuje i glukózový metabolismus, zvláště v období stresu. Pro srdce je zajištění energie z glukózy velmi důležité zejména během ischemie myokardu, kdy je oxidativní metabolismus lipidů narušen. Jednou z hlavních metabolických změn při ischemii je využití substrátu glukózy na generování ATP. I když je glykolýza v normálním kardiomyocytu minoritním zdrojem ATP, při ischemii je i malé množství ATP vzniklé při anaerobní glykolýze rozhodující energií pro udržení aktivity membránových iontových pump (např. SERCA pumpy,

Na⁺/K⁺ ATPázy). Během ischémie podporuje AMPK transport glukózy do buňky stimulací translokace přenašeče GLUT4 do plazmatické membrány a dále modulací glykolýzy. AMPK aktivuje fosfofruktokinázu 2 (PFK-2), která katalyzuje vznik fruktóza-2,6-bisfosfátu (Kim et al. 2009). Fruktóza-2,6-bisfosfát sice není glykolytický substrát, ale alostericky aktivuje klíčový enzym glykolytické dráhy fosfofruktokinázu 1 (PFK-1). To následně vede ke stimulaci glykolýzy a vzniku ATP. V anaerobních podmínkách je tedy PFK-2 aktivována AMPK (Marsin et al. 2000).

4.2. Lipidový metabolismus

4.2.1. Lipidový metabolismus v kosterním svalu a játrech

Lipidy jsou energeticky bohaté molekuly a v organismu slouží především jako zdroj a zásoba energie. Mezi jejich další důležité funkce patří funkce stavební (zabudovávají se do buněčných membrán) nebo funkce signální (vyskytují se hojně např. v nervových zakončeních). Mezi tkáně, které hrají důležitou úlohu v lipidovém metabolismu, patří především játra, kosterní svalstvo a tuková tkáň. Klíčovým bodem v lipidovém metabolismu je malonyl-CoA, který je substrátem pro lipogenezi a zároveň inhibitorem karnitinpalmitoyltransferázy (CPT1), limitujícím enzymem pro oxidaci mastných kyselin v mitochondriích (obr. 5). AMPK redukuje hladinu malonyl-CoA nepřímo a to přes inhibiční fosforylaci acetyl-CoA-karboxylázy (ACC), enzymu katalyzujícího reakci vzniku malonyl-CoA z acetyl-CoA. AMPK dále pak zároveň aktivuje fosforylaci malonyl-CoA-dekarboxylázy (MCD), která katalyzuje degradaci malonyl-CoA zpět na acetyl-CoA (Saha et al. 2000). Snížení hladiny malonyl-CoA vede k aktivaci oxidace mastných kyselin a inhibici syntézy mastných kyselin. Redukce hladiny malonyl-CoA ve svalu přispívá i k inhibici *sn*-glycerol-3-fosfátacyltransferázy (GPAT) a tím k inhibici syntézy glycerolipidů a další aktivaci oxidace mastných kyselin (Hegarty et al. 2009).

Rychlost oxidace mastných kyselin je také ovlivněna mírou příjmu mastných kyselin do buňky. Ačkoli je transport mastných kyselin přes plazmatickou membránu zajištěn především prostou difúzí, nacházejí se v ní i proteinové přenašeče, konkrétně FAT/CD36 (fatty acid transporter CD36) přenášející mastné kyseliny s dlouhým řetězcem

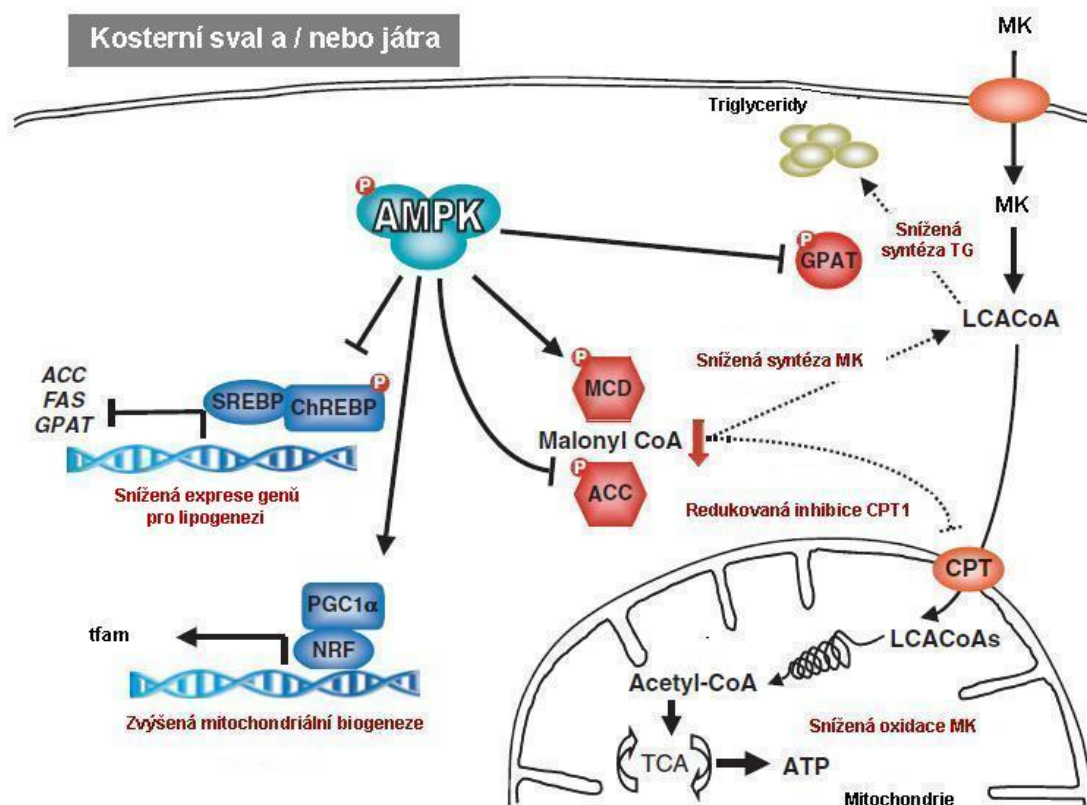
(LCFA) do buňky. Zdá se, že by AMPK mohla hrát roli ve zvýšení translokace FAT/CD36 do membrány a tím zvýšit příjem mastných kyselin do svalové buňky (Pandke et al. 2008).

V játrech probíhá velké množství procesů lipidového metabolismu. Tvoří se zde lipoproteiny, které transportují lipidy do tkání. AMPK působí na některé metabolické reakce především inhibicí syntetických drah mastných kyselin a cholesterolu ve prospěch oxidace mastných kyselin.

Další enzym, který je v játrech regulován AMPK, je GPAT, katalyzující tvorbu lysofosfatidové kyseliny z glycerol-3-fosfátu, což je počáteční krok syntézy triacylglycerolů. AMPK tento enzym fosforyluje, tím dochází k jeho inhibici a zablokování syntézy triacylglycerolů (Muoio et al. 1999).

Pro biosyntézu cholesterolu je limitujícím enzymem 3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA reduktáza (HMG-CoA reduktáza), katalyzující redukci HMG-CoA na mevalovát. AMPK blokuje tuto reakci fosforylací HMG-CoA reduktázy (Henin et al. 1995).

Kromě výše uvedené přímé regulace enzymové aktivity se v hepatocytech uplatňuje i dlouhodobá regulace syntézy lipidů vlivem na genovou expresi. Hlavní roli v potlačení exprese genů pro ACC, FAS a GPAT hrají transkripční faktory ChREBP (carbohydrate response element-binding protein) a SREBP1. AMPK přímo fosforyluje ChREBP a tím snižuje jeho vazebnou aktivitu na DNA (Zhou et al. 2001, Foretz et al. 2005). Výsledkem těchto dlouhodobých a krátkodobých regulací AMPK je především vyšší oxidace mastných kyselin a zároveň snížení syntézy glycerolipidů v játrech a kosterním svalu.



Obr. 5: Regulace lipidového metabolismu AMPK (upraveno podle Hegarty et al. 2009)

Vliv AMPK na inhibici ACC a stimulaci MCD jejich fosforylací vede k redukci hladiny vnitrobuněčného malonyl-CoA. Malonyl-CoA alostericky inhibuje CPT1 a lipogenezi. Redukce malonyl-CoA podporuje vstup mastných kyselin do mitochondrií a tím aktivuje jejich oxidaci. Dlouhodobý efekt AMPK je na expresi genů pro proteiny zapojených do lipogeneze a mitochondriální biogeneze.

MK - mastná kyselina, LCACoA - acetyl-CoA s dlouhým řetězcem, TCA - citrátový cyklus, CPT - karnitinpalmitoyltransferáza, GPAT - sn-glycerol-3-fosfátacyltransferáza, MCD - malonyl-CoA-dekarboxyláza, ACC - acetyl-CoA-karboxyláza, FAS - syntáza mastných kyselin, SREBP - sterol regulatory element binding protein, ChREBP - carbohydrate response element-binding protein, PGC1α - peroxisome-proliferator activated receptor γ co-activator 1α, NRF - nuclear respiratory factor, tfam - gen pro mitochondriální transkripční faktor

4.2.4. Lipidový metabolismus v srdečním svalu

Během ischemie AMPK sice reguluje glukózový metabolismus (viz kap. 4.1.3.), v postischemickém období se však úloha AMPK vrací k regulaci metabolismu mastných kyselin. Návrat k oxidativnímu metabolismu je velice důležitý pro obnovu kontraktilní vlastnosti myocytu a určuje míru ischemického poškození. Stejně jako ve výše zmíněných tkáních i v srdci dochází k regulaci aktivity CPT1 prostřednictvím malonyl-CoA a ACC (Kim et al. 2009). AMPK také v této fázi v srdci stimuluje vstup LCFA do buňky podobně jako v kosterním svalu a to zejména zvýšením výskytu přenašeče FAT/CD36 na plazmatické membráně. AMPK tak napomáhá specifickému vstupu LCFA do buňky, zvýší

metabolismus a produkci ATP potřebného pro nárůst srdeční činnosti (Habets at al. 2007). V srdci má navíc AMPK vliv na lipoproteinovou lipázu (LPL). LPL je klíčový enzym pro hydrolýzu triacylglycerolů obsažených v lipoproteinových částicích. Lipáza je syntetizována v myocytu a translokována do lumen koronárních cév na povrch endoteliálních buněk, kde odštěpuje mastné kyseliny z triacylglycerolů v cirkulujících lipoproteinových částicích. Aktivací AMPK dochází k navýšení účinku LPL prostřednictvím zvýšené sekrece a translokace LPL na místo působení. Nárůst koncentrace volných mastných kyselin v krvi je příznivá pro jejich vstup do buňky a následnou β -oxidaci (An at al. 2005).

4.2.3. Lipidový metabolismus v tukové tkáni

Hlavní úloha tukové tkáně je skladování energeticky bohatého substrátu především ve formě triacylglycerolů. V případě potřeby (např. hladovění) jsou triacylglyceroly hydrolyzovány (lipolýza) na volné mastné kyseliny a glycerol a uvolňovány do krve jako zdroj energie pro potřebu periferních tkání. AMPK v adipocytech reguluje především hydrolýzu a esterifikaci triacylglycerolů (Daval et al. 2006).

Klíčový a nejnámější mechanismus lipolýzy vede přes stimulaci β -adrenergních receptorů k aktivaci cAMP-PKA (cAMP-proteinkinázy A) dráhy, která zprostředkovává fosforylaci a aktivaci lipolytických enzymů. Katecholaminy patří mezi důležité stimulatory lipolýzy narozdíl od inzulínu, který je považován za anti-lipolytický hormon. Vazbou agonisty na β -adrenergní receptory se stimulují G-proteiny a dále pak enzym adenylátcykláza, která katalyzuje syntézu cAMP z ATP. Vyšší produkce cAMP vede k aktivaci PKA. PKA fosforyluje a tak aktivuje perilipin a hormon-senzitivní lipázu (HSL). Aktivací HSL dojde k její translokaci z cytozolu na povrch lipidových kapének, kde se účastní hydrolýzy triacylglycerolů. HSL je více specifická pro štěpení diacylglycerolů a pro štěpení esterů cholesterolu na rozdíl od desnutrinu/ATGL (adipose triglyceride lipase), který štěpí triacylglyceroly, a monoacylglycerolipázy, která štěpí monoacylglyceroly (Langin, 2006). Úloha AMPK v lipolýze byla diskutována několik let. V současné době byl navržen model negativního vlivu AMPK na lipolýzu tukové buňky.

Aktivace PKA podporuje mobilizaci triacylglycerolů a dále zprostředkovává fosforylaci AMPK na Ser-173. Tato fosforylace vede ke zvýšení výkonu PKA-stimulované lipolytické dráhy v krátkém časovém úseku. V dlouhodobém průběhu lipolýzy dochází díky reesterifikaci mastných kyselin k nárůstu poměru AMP : ATP a tím k aktivaci AMPK

a inhibici lipolýzy. AMPK tak chrání buňku před jejím energetickým vyčerpáním (Djouder et al. 2010).

Podobně jako v játrech a svalech dochází i v adipocytech k regulaci enzymů řídících hladinu malonyl-CoA a míru lipogeneze. AMPK snižuje aktivitu ACC a aktivuje MCD. Inhibicí GPAT působí AMPK i na syntézu triglyceridů (Park, 2002).

4.3. Mitochondriální biogeneze

Mitochondriální biogeneze je kritickým krokem pro buňku při chronickém nedostatku energie. Vyšší počet mitochondrií ve tkáni poskytuje větší kapacitu pro β -oxidaci mastných kyselin a oxidativní fosforylaci a tím větší zisk ATP. AMPK stimuluje mitochondriální biogenezi přes aktivaci genové exprese transkripčních faktorů pro geny kódující mitochondriální proteiny (Thomson and Winder 2009). Ke zvýšení mitochondriální biogeneze dochází nejen v kosterním svalu, ale i v játrech (Guigas et al. 2007).

Hlavním regulačním článkem, který ovlivňuje AMPK při řízení mitochondriální biogeneze, je PGC-1 α . AMPK aktivuje PGC-1 α fosforylací na Thr-177 a Ser-538 (Jäger et al. 2007). PGC-1 α koaktivuje s několika transkripčními faktory řídící expresi mitochondriálních proteinů. Především stimuluje expresi NRF-1 a NRF-2 (nuclear respiratory factors 1, 2), které regulují velký počet mitochondriálních genů kódovaných v jádře. Takto je řízena transkripční aktivita například některých genů kódujících proteiny dráhy oxidativní fosforylace a transkripčního faktoru mtTFA (mitochondriální transkripční faktor A). Faktor mtTFA se z jádra translokuje do mitochondrie, kde iniciuje transkripci a replikaci mitochondriálního genomu (Wu et al. 1999, Bergeron et al. 2001, Zong et al. 2002).

4.4. Regulace metabolismu v hypothalamu

Organismus získává energii z potravy, jejíž příjem je řízen v hypothalamu pomocí AMPK na základě nutričních a hormonálních signálů. Sytý stav, tj. vysoká hladina glukózy, leptinu a inzulínu inhibuje aktivitu AMPK a příjem potravy je nižší. Hladovění naopak aktivitu AMPK navyšuje, což má za následek nárůst příjmu potravy. Vyšší aktivitu AMPK způsobují také hormony adiponektin a ghrelin (Dzamko and Steinberg 2009).

Aktivace AMPK je asociována také se zvýšením genové exprese neuropeptidu Y (NPY) a AgRP (agouti-related protein), které stimuluje chuť k jídlu (Minokoshi et al.

2004). Do mechanismu regulace příjmu potravy jsou v hypothalamu zapojeny také metabolické dráhy mastných kyselin. AMPK reguluje hladinu malonyl-CoA pomocí aktivity CPT1. Přesněji, ghrelin zvyšuje aktivitu AMPK, která následně inhibuje ACC a zvyšuje aktivitu CPT1. Změněné hladiny a aktivity těchto enzymů mají tedy vliv na míru příjmu potravy (López et al. 2008).

Leptin v hypothalamu nezpůsobuje jen pokles příjmu potravy, ale také nepřímo působí na kosterní sval. Leptin zvyšuje aktivitu AMPK a tím stimuluje oxidaci mastných kyselin ve svalu. K tomu dochází jak přímým působením na leptinové receptory ve svalu, tak nepřímo přes osu hypothalamo-sympatického nervového systému. Ve svalu je pomocí α -adrenergických receptorů specificky aktivována $\alpha 2$ podjednotka AMPK, která inhibuje aktivitu ACC, čímž dochází ke stimulaci oxidace mastných kyselin (Minokoshi et al. 2002).

5. Biologický vývoj signálních drah metabolismu a jejich vztah k výživě u savců v perinatálním a časném postnatálním období

Biologické účinky leptinu se liší v neonatálním období od období dospělosti, které jsou popsány již v předchozích kapitolách. Několik studií prokázalo vliv leptinu v perinatálním období na naprogramování organismu ve vztahu k náchylnosti k obezitě v pozdějším věku jedince. To naznačuje i zapojení AMPK. Navzdory klíčové roli AMPK jako prostředníka účinku leptinu jak v centrální tak periferní regulaci metabolismu, jsou studie o vývoji AMPK v období perinatálním a časně postnatálním období ojedinělé (Pico et al. 2011). Výsledky studie na skupině lidských předčasně narozených novorozenců, kteří zemřeli krátce po narození, naznačily účast AMPK v časných postnatálních změnách metabolismu z glykolytického na oxidativní, a to v expresi genů lipidového a glukózového metabolismu (Brauner et al. 2006).

Výživa v prenatalní (období vývoje fétu) a perinatální (období kolem porodu) době a během postnatálního vývoje jedince je velice důležitá. Podvýživa, či naopak nadbytek některých látek v těchto časových bodech přináší rizika pozdějšího rozvoje závažných metabolických onemocnění, jako jsou např. diabetes 2. typu, obezita, kardiovaskulární choroby, hypertenze a mnohé další.

Během prenatálního období je plod zcela závislý na přísunu výživy od matky přes placentu, kde výživa matky během těhotenství má klíčový vliv na zdravý růst a vývoj plodu. Placenta je vysoce výkonný multifunkční orgán, který zprostředkovává komunikaci mezi matkou a plodem a jejím úkolem je dodávat plodu živiny (aminokyseliny, glukózu a mastné kyseliny) a odvádět odpadní látky zpět z plodu do matky (Belkacemi et al. 2010).

Hlavním zdrojem energie pro plod je glukóza (až 80% energetické spotřeby). Přísun glukózy a částečně s tím spojená sekrece inzulínu plodu jsou ve fetálním období úzce spojeny s hladinou glukózy matky. Mateřská hyperglykémie, obezita nebo těhotenský diabetes může mít negativní vliv na plod a to vyšším rizikem výskytu porušené glukózové tolerance a diabetu v pozdějším věku jedince. Transport glukózy přes placentu je uskutečněn usnadněnou difúzí přes inzulín-nezávislý glukózový přenašeč 1 (GLUT1). Exprese tohoto přenašeče se během těhotenství mění, ale při výskytu diabetu u matky je zvýšená. Při normálním těhotenství glukózový příjem z placenty odpovídá potřebě plodu, játra glukózu neprodukují. Část přijímané glukózy je ukládána v podobě glykogenu v játrech a svalu, nebo v podobě lipidů. Tyto zásoby energie jsou velmi důležité pro udržování glukózové homeostáze ihned po porodu. U obézních matek je citlivost periferních tkání k inzulínu snížena, což způsobuje zvýšenou dostupnost glukózy, lipidů a aminokyselin pro plod, dochází k hyperinzulinémii u plodu a tím ke stimulaci produkce insulin-like growth factor 1 (IGF-1), který stimuluje růstový a váhový přírůstek plodu.

Vývoj β -buněk pankreatu plodu je závislý na růstových faktorech, mimo jiné na IGFs. Inzulín a glukagon neprochází přes placentu, proto je hladina inzulínu závislá pouze na sekreci pankreatu plodu.

V období těsně po narození dochází k rychlé metabolické přeměně organismu pro stabilizaci glukózové homeostázy. Po porodu plazmatická hladina inzulínu klesá, zatímco hladina glukagonu a katecholaminů (adrenalin, noradrenalin) stoupá. Zvýšené vylučování glukagonu a noradrenalinu aktivuje jaterní fosforylázy, které indukují štěpení zásobního glykogenu pro získání energie na udržení stabilní hladiny glukózy ihned po narození. Zhruba po 12 hodinách je glykogen vyčerpán a je zapotřebí aktivovat glukoneogenezi. Nízká hladina glukózy a nárůst produkce kortizolu stimuluje aktivitu jaterní G6Pázy. Aktivita PEPCCK je indukována změnou poměru inzulínu ke glukagonu. Tyto adaptace vedou k produkci glukózy prostřednictvím glukoneogeneze (Beardsall et al. 2008). Zejména v tomto období lze předpokládat zapojení AMPK do řízení glukoneogeneze. Tuto hypotézu ale bude třeba experimentálně ověřit.

Další významnou metabolickou změnou ve vztahu k výživě je období laktace. Složení mateřského mléka se druhově liší (tuk/protein/sacharidy: lidské mléko 5%/0.9%/7%, mléko potkana 12%/8%/3.7) a proměňuje se i během období laktace. V mateřském mléce je kromě proteinů a glukózy i vyšší obsah lipidů (u potkanů je to dokonce hlavní složka mléka) a proto se začíná uplatňovat u novorozence významně i lipidový metabolismus. Další důležitou změnou pro metabolismus v postnatálním období je přechod na pevnou rozmanitou stravu (Jenness 1979, Godbole et al. 1981).

5.1. Vliv leptinu na vývoj organismu

Na rozdíl od dospělých jedinců, kde je leptin produkován hlavně tukovou tkání, je plod či novorozenec závislý leptinu dodávaném od matky. Plod získává leptin během gestace přes placentu. V menší míře může být pro něj důležitý i leptin z tukové tkáně, která se vytváří až během posledního trimestru. V tomto období naroste hmotnost plodu 4-5 krát a ukládá se až 90% tuku plodu (Savino et al. 2010). Současné studie přisuzují leptinu důležitou úlohu při vývoji a růstu plodu. Hlavní zdrojem leptinu pro novorozence je pravděpodobně mateřské mléko, protože endogenní produkce leptinu v žaludku je v tomto období velmi nízká. V experimentech na myších a potkanech bylo prokázáno, že endogenní produkce leptinu začíná narůstat při přechodu na pevnou stravu s následným poklesem při odstavu kojení (Pico et al. 2011)

5.2. Vývoj kosterního svalu

Stravování během časného života může mít vliv na naprogramování citlivosti k leptinu v pozdějším období, tak i k naprogramování náchylnosti k obezitě. Experimenty na modelech potkanů programovaných leptinem poukázaly na vyšší energetický výdej a rezistenci k obezitě. Molekulární mechanismus však zůstává nejasný.

Důležitým místem pro celotělový výdej energie je kosterní sval, který využívá oxidaci glukózy a mastných kyselin jako zdroj energie. Prenatální období je klíčové pro jeho vývoj. Tato tkáň se vyvíjí ve značně uspořádaná svalová vlákna s velkou glykolytickou a kontraktilní kapacitou. Narušený vývoj a růst svalu může mít dopad na metabolismus glukózy a mastných kyselin a také na citlivost k inzulínu, což může vést k predispozici pro diabetes a obezitu v pozdějším věku (Jones and Rolph 1985, Zhu et al. 2008).

Jak již bylo popsáno v předchozích kapitolách, AMPK podporuje vstup glukózy do svalu a oxidaci mastných kyselin. Je součástí signální dráhy IGF-1/inzulín, která stimuluje svalový růst a vývoj. Důležitost správného vývoje lze dokázat v patofyziologii matek s diabetem 2. typu a matek s glukózovou intolerancí mající hyperglykémii, která zvyšuje koncentraci glukózy a inzulínu v plazmě fétu a tak zvyšuje riziko obezity a onemocnění diabetem 2. typu v pozdějším věku jedince. Zda dochází k ovlivnění vývoje i klíčového enzymu energetického metabolismu AMPK a jaký je vůbec její fyziologický vývoj během prenatalního, perinatalního a časně postnatálního období, není dosud známo. Lze předpokládat, že AMPK bude mít v tomto období klíčový význam pro řízení metabolismu svalů. Tuto hypotézu bychom chtěli v budoucnu ověřit.

6. Závěr

Jako energetický senzor buňky je AMPK klíčovým enzymem v regulaci metabolismu jak na buněčné tak na celotělové úrovni. Protože je AMPK zapojena do celé sítě signálních metabolických drah, je považována za potenciální cíl pro léčbu metabolických onemocnění jako je obezita a diabetes. Díky stále se zvyšujícímu počtu lidí s těmito onemocněními je další výzkum a poznání mechanismů působení AMPK velice žádoucí.

Důležitým obdobím programování jedince vzhledem k náchylnosti k metabolickým onemocněním je období kojení a období těsně před a po narození, kdy dochází v organismu k největším metabolickým změnám a kdy nastává zvýšená poptávka po energii. Dá se předpokládat, že v tomto období bude docházet k největší aktivaci metabolických drah, ve kterých hraje AMPK klíčovou roli. Cílem našeho dalšího zkoumání bude snaha objasnit úlohu AMPK v tomto rozhodujícím období vývoje jedince.

Seznam použité literatury

- An D, Pulinilkunnil T, Qi D, Ghosh S, Abrahani A, Rodrigues B. 2005.** The metabolic "switch" AMPK regulates cardiac heparin-releasable lipoprotein lipase. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 288: E246-253.
- Andersson U, Filipsson K, Abbott CR, Woods A, Smith K, Bloom SR, Carling D, Small CJ. 2004.** AMP-activated protein kinase plays a role in the control of food intake. *J Biol Chem* 279: 12005-12008.
- Banerjee RR, Rangwala SM, Shapiro JS, Rich AS, Rhoades B, Qi Y, Wang J, Rajala MW, Poci A, Scherer PE, Steppan CM, Ahima RS, Obici S, Rossetti L, Lazar MA. 2004.** Regulation of fasted blood glucose by resistin. *Science* 303: 1195-1198.
- Beardsall K, Diderholm BM, Dunger DB. 2008.** Insulin and carbohydrate metabolism. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* 22: 41-55.
- Belkacemi L, Nelson DM, Desai M, Ross MG. 2010.** Maternal undernutrition influences placental-fetal development. *Biol Reprod* 83: 325-331.
- Bergeron R, Ren JM, Cadman KS, Moore IK, Perret P, Pypaert M, Young LH, Semenkovich CF, Shulman GI. 2001.** Chronic activation of AMP kinase results in NRF-1 activation and mitochondrial biogenesis. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 281: E1340-1346.
- Brauner P, Kopecky P, Flachs P, Kuda O, Vorlicek J, Planickova L, Vitkova I, Andreelli F, Foretz M, Viollet B, Kopecky J. 2006.** Expression of uncoupling protein 3 and GLUT4 gene in skeletal muscle of preterm newborns: possible control by AMP-activated protein kinase. *Pediatr Res* 60: 569-575.
- Carling D, Sanders MJ, Woods A. 2008.** The regulation of AMP-activated protein kinase by upstream kinases. *Int J Obes (Lond)* 32 Suppl 4: S55-59.
- Corton JM, Gillespie JG, Hawley SA, Hardie DG. 1995.** 5-aminoimidazole-4-carboxamide ribonucleoside. A specific method for activating AMP-activated protein kinase in intact cells? *Eur J Biochem* 229: 558-565.
- Daval M, Foufelle F, Ferre P. 2006.** Functions of AMP-activated protein kinase in adipose tissue. *J Physiol* 574: 55-62.
- Davies SP, Helps NR, Cohen PT, Hardie DG. 1995.** 5'-AMP inhibits dephosphorylation, as well as promoting phosphorylation, of the AMP-activated protein kinase. Studies using bacterially expressed human protein phosphatase-2C alpha and native bovine protein phosphatase-2AC. *FEBS Lett* 377: 421-425.
- Djouder N, Tuerk RD, Suter M, Salvioni P, Thali RF, Scholz R, Vaahtomeri K, Auchli Y, Rechsteiner H, Brunisholz RA, Viollet B, Makela TP, Wallimann T, Neumann D, Krek W. 2010.** PKA phosphorylates and inactivates AMPKalpha to promote efficient lipolysis. *EMBO J* 29: 469-481.
- Dzamko NL, Steinberg GR. 2009.** AMPK-dependent hormonal regulation of whole-body energy metabolism. *Acta Physiol (Oxf)* 196: 115-127.
- Foretz M, Ancellin N, Andreelli F, Saintillan Y, Grondin P, Kahn A, Thorens B, Vaulont S, Viollet B. 2005.** Short-term overexpression of a constitutively active form of AMP-activated protein kinase in the liver leads to mild hypoglycemia and fatty liver. *Diabetes* 54: 1331-1339.
- Godbole VY, Grundleger ML, Pasquine TA, Thenen SW. 1981.** Composition of rat milk from day 5 to 20 of lactation and milk intake of lean and preobese Zucker pups. *J Nutr* 111: 480-487.
- Guigas B, Taleux N, Foretz M, Detaille D, Andreelli F, Viollet B, Hue L. 2007.** AMP-activated

protein kinase-independent inhibition of hepatic mitochondrial oxidative phosphorylation by AICA riboside. *Biochem J* **404**: 499-507.

- Habets DD, Coumans WA, Voshol PJ, den Boer MA, Febbraio M, Bonen A, Glatz JF, Luiken JJ. 2007.** AMPK-mediated increase in myocardial long-chain fatty acid uptake critically depends on sarcolemmal CD36. *Biochem Biophys Res Commun* **355**: 204-210.
- Hardie DG, Scott JW, Pan DA, Hudson ER. 2003.** Management of cellular energy by the AMP-activated protein kinase system. *FEBS Lett* **546**: 113-120.
- Hardie DG. 2007.** AMP-activated/SNF1 protein kinases: conserved guardians of cellular energy. *Nat Rev Mol Cell Biol* **8**: 774-785.
- Hawley SA, Boudeau J, Reid JL, Mustard KJ, Udd L, Makela TP, Alessi DR, Hardie DG. 2003.** Complexes between the LKB1 tumor suppressor, STRAD alpha/beta and MO25 alpha/beta are upstream kinases in the AMP-activated protein kinase cascade. *J Biol* **2**: 28.
- Hawley SA, Pan DA, Mustard KJ, Ross L, Bain J, Edelman AM, Frenguelli BG, Hardie DG. 2005.** Calmodulin-dependent protein kinase kinase-beta is an alternative upstream kinase for AMP-activated protein kinase. *Cell Metab* **2**: 9-19.
- Hegarty BD, Turner N, Cooney GJ, Kraegen EW. 2009.** Insulin resistance and fuel homeostasis: the role of AMP-activated protein kinase. *Acta Physiol (Oxf)* **196**: 129-145.
- Henin N, Vincent MF, Gruber HE, Van den Berghe G. 1995.** Inhibition of fatty acid and cholesterol synthesis by stimulation of AMP-activated protein kinase. *FASEB J* **9**: 541-546.
- Holmes BF, Kurth-Kraczek EJ, Winder WW. 1999.** Chronic activation of 5'-AMP-activated protein kinase increases GLUT-4, hexokinase, and glycogen in muscle. *J Appl Physiol* **87**: 1990-1995.
- Hwang JT, Kwon DY, Yoon SH. 2009.** AMP-activated protein kinase: a potential target for the diseases prevention by natural occurring polyphenols. *N Biotechnol* **26**: 17-22.
- Jager S, Handschin C, St-Pierre J, Spiegelman BM. 2007.** AMP-activated protein kinase (AMPK) action in skeletal muscle via direct phosphorylation of PGC-1alpha. *Proc Natl Acad Sci U S A* **104**: 12017-12022.
- Jenness R. 1979.** The composition of human milk. *Semin Perinatol* **3**: 225-239.
- Jones CT, Rolph TP. 1985.** Metabolism during fetal life: a functional assessment of metabolic development. *Physiol Rev* **65**: 357-430.
- Kadowaki T, Yamauchi T, Kubota N. 2008.** The physiological and pathophysiological role of adiponectin and adiponectin receptors in the peripheral tissues and CNS. *FEBS Lett* **582**: 74-80.
- Kahn BB, Alquier T, Carling D, Hardie DG. 2005.** AMP-activated protein kinase: ancient energy gauge provides clues to modern understanding of metabolism. *Cell Metab* **1**: 15-25.
- Karnieli E, Armoni M. 2008.** Transcriptional regulation of the insulin-responsive glucose transporter GLUT4 gene: from physiology to pathology. *Am J Physiol Endocrinol Metab* **295**: E38-45.
- Kelly M, Keller C, Avilucea PR, Keller P, Luo Z, Xiang X, Giralt M, Hidalgo J, Saha AK, Pedersen BK, Ruderman NB. 2004.** AMPK activity is diminished in tissues of IL-6 knockout mice: the effect of exercise. *Biochem Biophys Res Commun* **320**: 449-454.
- Kim YD, Park KG, Lee YS, Park YY, Kim DK, Nedumaran B, Jang WG, Cho WJ, Ha J, Lee IK, Lee CH, Choi HS. 2008.** Metformin inhibits hepatic gluconeogenesis through AMP-activated protein kinase-dependent regulation of the orphan nuclear receptor SHP. *Diabetes* **57**: 306-314.

- Kim AS, Miller EJ, Young LH. 2009.** AMP-activated protein kinase: a core signalling pathway in the heart. *Acta Physiol (Oxf)* **196**: 37-53.
- Kola B, Hubina E, Tucci SA, Kirkham TC, Garcia EA, Mitchell SE, Williams LM, Hawley SA, Hardie DG, Grossman AB, Korbonits M. 2005.** Cannabinoids and ghrelin have both central and peripheral metabolic and cardiac effects via AMP-activated protein kinase. *J Biol Chem* **280**: 25196-25201.
- Kola B, Boscaro M, Rutter GA, Grossman AB, Korbonits M. 2006.** Expanding role of AMPK in endocrinology. *Trends Endocrinol Metab* **17**: 205-215.
- Koo SH, Flechner L, Qi L, Zhang X, Sreaton RA, Jeffries S, Hedrick S, Xu W, Boussouar F, Brindle P, Takemori H, Montminy M. 2005.** The CREB coactivator TORC2 is a key regulator of fasting glucose metabolism. *Nature* **437**: 1109-1111.
- Lage R, Dieguez C, Vidal-Puig A, Lopez M. 2008.** AMPK: a metabolic gauge regulating whole-body energy homeostasis. *Trends Mol Med* **14**: 539-549.
- Langin D. 2006.** Adipose tissue lipolysis as a metabolic pathway to define pharmacological strategies against obesity and the metabolic syndrome. *Pharmacol Res* **53**: 482-491.
- Lochhead PA, Salt IP, Walker KS, Hardie DG, Sutherland C. 2000.** 5-aminoimidazole-4-carboxamide riboside mimics the effects of insulin on the expression of the 2 key gluconeogenic genes PEPCCK and glucose-6-phosphatase. *Diabetes* **49**: 896-903.
- Long YC, Zierath JR. 2006.** AMP-activated protein kinase signaling in metabolic regulation. *J Clin Invest* **116**: 1776-1783.
- Lopez M, Lage R, Saha AK, Perez-Tilve D, Vazquez MJ, Varela L, Sangiao-Alvarellos S, Tovar S, Raghay K, Rodriguez-Cuenca S, Deoliveira RM, Castaneda T, Datta R, Dong JZ, Culler M, Sleeman MW, Alvarez CV, Gallego R, Lelliott CJ, Carling D, Tschop MH, Dieguez C, Vidal-Puig A. 2008.** Hypothalamic fatty acid metabolism mediates the orexigenic action of ghrelin. *Cell Metab* **7**: 389-399.
- Marsin AS, Bertrand L, Rider MH, Deprez J, Beauloye C, Vincent MF, Van den Berghe G, Carling D, Hue L. 2000.** Phosphorylation and activation of heart PFK-2 by AMPK has a role in the stimulation of glycolysis during ischaemia. *Curr Biol* **10**: 1247-1255.
- Minokoshi Y, Kim YB, Peroni OD, Fryer LG, Muller C, Carling D, Kahn BB. 2002.** Leptin stimulates fatty-acid oxidation by activating AMP-activated protein kinase. *Nature* **415**: 339-343.
- Minokoshi Y, Alquier T, Furukawa N, Kim YB, Lee A, Xue B, Mu J, Fougelle F, Ferre P, Birnbaum MJ, Stuck BJ, Kahn BB. 2004.** AMP-kinase regulates food intake by responding to hormonal and nutrient signals in the hypothalamus. *Nature* **428**: 569-574.
- Muoio DM, Seefeld K, Witters LA, Coleman RA. 1999.** AMP-activated kinase reciprocally regulates triacylglycerol synthesis and fatty acid oxidation in liver and muscle: evidence that sn-glycerol-3-phosphate acyltransferase is a novel target. *Biochem J* **338 (Pt 3)**: 783-791.
- Muse ED, Obici S, Bhanot S, Monia BP, McKay RA, Rajala MW, Scherer PE, Rossetti L. 2004.** Role of resistin in diet-induced hepatic insulin resistance. *J Clin Invest* **114**: 232-239.
- Pandke KE, Mullen KL, Snook LA, Bonen A, Dyck DJ. 2008.** Decreasing intramuscular phosphagen content simultaneously increases plasma membrane FAT/CD36 and GLUT4 transporter abundance. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* **295**: R806-813.
- Park H, Kaushik VK, Constant S, Prentki M, Przybytkowski E, Ruderman NB, Saha AK. 2002.** Coordinate regulation of malonyl-CoA decarboxylase, sn-glycerol-3-phosphate acyltransferase, and acetyl-CoA carboxylase by AMP-activated protein kinase in rat tissues in response to exercise. *J Biol Chem* **277**: 32571-32577.

- Pico C, Jilkova ZM, Kus V, Palou A, Kopecky J. 2011.** Perinatal programming of body weight control by leptin: putative roles of AMP kinase and muscle thermogenesis. *Am J Clin Nutr* **94**(suppl): 1S-8S. in press
- Rutter GA, Da Silva Xavier G, Leclerc I. 2003.** Roles of 5'-AMP-activated protein kinase (AMPK) in mammalian glucose homeostasis. *Biochem J* **375**: 1-16.
- Saha AK, Schwarsin AJ, Roduit R, Masse F, Kaushik V, Tornheim K, Prentki M, Ruderman NB. 2000.** Activation of malonyl-CoA decarboxylase in rat skeletal muscle by contraction and the AMP-activated protein kinase activator 5-aminoimidazole-4-carboxamide-1-beta-D-ribofuranoside. *J Biol Chem* **275**: 24279-24283.
- Sakamoto K, McCarthy A, Smith D, Green KA, Grahame Hardie D, Ashworth A, Alessi DR. 2005.** Deficiency of LKB1 in skeletal muscle prevents AMPK activation and glucose uptake during contraction. *EMBO J* **24**: 1810-1820.
- Sakamoto K, Holman GD. 2008.** Emerging role for AS160/TBC1D4 and TBC1D1 in the regulation of GLUT4 traffic. *Am J Physiol Endocrinol Metab* **295**: E29-37.
- Sanz P. 2008.** AMP-activated protein kinase: structure and regulation. *Curr Protein Pept Sci* **9**: 478-492.
- Savino F, Liguori SA, Lupica MM. 2010.** Adipokines in breast milk and preterm infants. *Early Hum Dev* **86 Suppl 1**: 77-80.
- Scott JW, Hawley SA, Green KA, Anis M, Stewart G, Scullion GA, Norman DG, Hardie DG. 2004.** CBS domains form energy-sensing modules whose binding of adenosine ligands is disrupted by disease mutations. *J Clin Invest* **113**: 274-284.
- Screaton RA, Conkright MD, Katoh Y, Best JL, Canettieri G, Jeffries S, Guzman E, Niessen S, Yates JR, 3rd, Takemori H, Okamoto M, Montminy M. 2004.** The CREB coactivator TORC2 functions as a calcium- and cAMP-sensitive coincidence detector. *Cell* **119**: 61-74.
- Shaw RJ, Lamia KA, Vasquez D, Koo SH, Bardeesy N, Depinho RA, Montminy M, Cantley LC. 2005.** The kinase LKB1 mediates glucose homeostasis in liver and therapeutic effects of metformin. *Science* **310**: 1642-1646.
- Steinberg GR, Michell BJ, van Denderen BJ, Watt MJ, Carey AL, Fam BC, Andrikopoulos S, Proietto J, Gorgun CZ, Carling D, Hotamisligil GS, Febbraio MA, Kay TW, Kemp BE. 2006.** Tumor necrosis factor alpha-induced skeletal muscle insulin resistance involves suppression of AMP-kinase signaling. *Cell Metab* **4**: 465-474.
- Thomson DM, Winder WW. 2009.** AMP-activated protein kinase control of fat metabolism in skeletal muscle. *Acta Physiol (Oxf)* **196**: 147-154.
- Towler MC, Hardie DG. 2007.** AMP-activated protein kinase in metabolic control and insulin signaling. *Circ Res* **100**: 328-341.
- Viollet B, Lantier L, Devin-Leclerc J, Hebrard S, Amouyal C, Mounier R, Foretz M, Andreelli F. 2009.** Targeting the AMPK pathway for the treatment of Type 2 diabetes. *Front Biosci* **14**: 3380-3400.
- Wu Z, Puigserver P, Andersson U, Zhang C, Adelmant G, Mootha V, Troy A, Cinti S, Lowell B, Scarpulla RC, Spiegelman BM. 1999.** Mechanisms controlling mitochondrial biogenesis and respiration through the thermogenic coactivator PGC-1. *Cell* **98**: 115-124.
- Yamauchi T, Kamon J, Minokoshi Y, Ito Y, Waki H, Uchida S, Yamashita S, Noda M, Kita S, Ueki K, Eto K, Akanuma Y, Froguel P, Foufelle F, Ferre P, Carling D, Kimura S, Nagai R, Kahn BB, Kadowaki T. 2002.** Adiponectin stimulates glucose utilization and fatty-acid oxidation by activating AMP-activated protein kinase. *Nat Med* **8**: 1288-1295.
- Zhou G, Myers R, Li Y, Chen Y, Shen X, Fenyk-Melody J, Wu M, Ventre J, Doebber T, Fujii**

- N, Musi N, Hirshman MF, Goodyear LJ, Moller DE. 2001.** Role of AMP-activated protein kinase in mechanism of metformin action. *J Clin Invest* **108**: 1167-1174.
- Zhu MJ, Han B, Tong J, Ma C, Kimzey JM, Underwood KR, Xiao Y, Hess BW, Ford SP, Nathanielsz PW, Du M. 2008.** AMP-activated protein kinase signalling pathways are down regulated and skeletal muscle development impaired in fetuses of obese, over-nourished sheep. *J Physiol* **586**: 2651-2664.
- Zong H, Ren JM, Young LH, Pypaert M, Mu J, Birnbaum MJ, Shulman GI. 2002.** AMP kinase is required for mitochondrial biogenesis in skeletal muscle in response to chronic energy deprivation. *Proc Natl Acad Sci U S A* **99**: 15983-15987.