Метаболическая регуляция и цАМФ-зависимая протеинкиназа (AMPK): враг или союзник?

А.Г. Залевская, Е.М. Патракеева

Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова (ректор – проф. М.Д. Дидур)

Общеизвестным фактом является высокая распространенность и растущая частота сахарного диабета 2 типа (СД2), ожирения, сопутствующих им заболеваний. При всей очевидности терапевтических подходов, достижение целей лечения далеко не всегда успешно. Эти факты привели к необходимости углубления наших фундаментальных знаний о контроле энергетического гомеостаза.

Все живые организмы постоянно находятся в условиях нерегулярного поступления пищи, таким образом, способность к поддержанию энергетического баланса во время ее отсутствия является основным условием выживания. В процессе эволюционного развития организмы приобрели комплексную систему, накапливающую энергию в периоды доступности еды и снижающую расход энергии в период голодания.

Инсулин – один из главных анаболических гормонов, который стимулирует утилизацию и накопление энергетических субстратов в скелетных мышцах, печени и жировых клетках и ингибирует их расходование. Нарушение энергетического баланса, вызванное перееданием и малоподвижным образом жизни, увеличивает риск развития сахарного диабета 2 типа, заболевания, ассоциированного с инсулинорезистентностью [1, 2]. Поскольку энергетический баланс управляется множеством процессов, исследование внутриклеточных мишеней, которые регулируют утилизацию энергетических субстратов и расходование энергии, может помочь в понимании того, что представляет собой метаболический синдром и привести к появлению новых превентивных и фармакологических интервенционных стратегий. У всех млекопитающих цАМФ-зависимая протеинкиназа (AMPK) контролирует глюкозный и липидный метаболизм [3, 4]. Более того, AMPK интегрирует сигнальные пути между периферическими тканями и гипоталамусом, регулируя потребление пищи и энергетические траты. Ключевая роль AMPK, как эволюционно сохранившегося энергетического сенсора, отмечена уже у одноклеточных эукариотических организмов [5].

Структура и регуляция AMPK

Фундаментальное свойство AMPK – быть сенсором высокой чувствительности для оценки метаболического статуса клетки.

AMPK-гетеротримерный белок, состоящий в отсутствии цАМФ из каталитической α- и регуляторных β- и γ-субъединиц.

Присутствие регуляторных субъединиц почти полностью подавляет ферментативную активность комплекса. Таким образом, активация ферментативной реакции цАМФ-зависимой протеинкиназы должна происходить за счет отделения регуляторных субъединиц от комплекса.

Активация происходит в присутствии микромолярных концентраций цАМФ. Каждая регуляторная субъединица связывает его 2 молекулы. Связывание цАМФ индуцирует конформационные изменения в регуляторных субъединицах и снижает активность их связывания с каталитической субъединицей. В результате этого регуляторные субъединицы отделяются от каталитической и каталитическая субъединица становится активированной. Активированная каталитическая субъединица фосфорилирует белки-мишени по определенным сериновым и треониновым остаткам. Различные изоформы описаны для всех типов субъединиц. Для киназной активности требуется коэкспрессия всех трех субъединиц. Гетеротримеры, содержащие α2-субъединицу, более активны и стимулируются цАМФ в 5–6 раз больше, в то время как комплексы, содержащие α1-субъединицу, только в 2 раза. В печени экспрессированы главным образом β1-субъединицы, в то время как в скелетной мышце представлены α2 и β2 изоформы. AMPK-система активируется цАМФ не только через аллостерический механизм, но также через фосфорилирование ключевого треонинового остатка (Thr-172) на каталитичекой субъединице. Активация достигается через 4 механизма: 1) аллостерическая активация протеинкиназы цАМФ; 2) связывание цАМФ с AMPK делает соединение лучшим субстратом для киназы AMPK (AMPKK) посредством фосфорилирования α-субъединицы на специфическом треониновом остатке (Thr-172) в так называемой петле активации, внутри которой фосфорилирование вызывает активацию многих других протеинкиназ. Так, фосфорилирование на Thr-172 вызывает активацию в 50–100 раз бóльшую, что количественно важнее, чем аллостерическая активация; 3) связывание цАМФ с AMPK ингибирует дефосфорилирование на Thr-172 протеиновыми фосфатазами. Связывание цАМФ с AMPK делает это соединение худшим субстратом для протеиновых фосфатаз, особенно протеиновой фосфатазы 2C; 4) аллостерическая активация AMPKK цАМФ. Эти комбинированные эффекты позволяют достичь более чем 200-кратной активации и приводят к тому, что эта система становится исключительно чувствительной к минимальным изменениям концентрации цАМФ в клетке [6].

Все эти активирующие эффекты АМФ подавляются высокой концентрацией АТФ, так, даже физиологические концентрации фосфокреатина ингибируют AMPK.

Другим быстро мобилизируемым источником энергии является гликоген. β-субъединица AMPK содержит домен, который является гликоген-связывающим. В мыщцах грызунов и человека избыток гликогена подавляет активацию AMPK, что позволяет предположить, что это же делает любой накопленный избыток энергетического субстрата, будь то АТФ или фосфокреатин [7–8].

Одна из форм AMPK экспрессирована в клеточном ядре, и может вмешиваться в метаболизм, регулируя экспрессию генов [9]. Недавние исследования идентифицировали еще один активатор AMPK – киназу кальмодулин-активированной протеинкиназы. Эта киназа является триггером внутриклеточного увеличения ионов кальция без значимых изменений соотношения АМФ/АТФ [10].

Активацию AMPK вызывают различные метаболические стрессы как физиологические, так и патологические: физическая нагрузка, гипоксия, ишемия, гипогликемия, оксидативный и гиперосмолярный стресс, воздействие метаболических ядов (арсенит, динитрофенол). Это позволяет рассматривать активацию AMPK как адаптивный механизм, предотвращающий опасные для жизнедеятельности процессы, истощающие энергетическое депо клетки.

В общем, активация AMPK является триггером катаболических путей, в которых продуцируется АТФ, и ингибитором анаболических процессов, требующих расходования АТФ [6]. Ингибиция биосинтетических путей касается не только син-

теза жирных кислот и холестерина, но и синтеза белка. Кроме того, было показано, что метформин и тиазолидиндионы (TZD) – препараты, используемые в лечении СД2, также увеличивают активность AMPK, что позволяет рассматривать этот механизм, как потенциально положительный [11]. Большая часть данных о периферических эффектах AMPK в культурах клеток была получена при использовании химического активатора 5-аминоимидазол-4-карбоксамид рибозида (AICAR). AICAR – аденозиновый аналог, который захватывается клеткой и превращается в миметик цАМФ, что и позволяет наблюдать результаты активации AMPK in vitro и in vivo [12].

Регуляция метаболизма в периферических тканях цАМФ

Скелетная мышца – основная ткань, где происходит индуцированная инсулином утилизация глюкозы. Инсулинорезистентность, определяемая как нарушение биологического эффекта инсулина, является основным патогенетическим звеном СД2. Таким образом, альтернативные пути, где стимуляция утилизации глюкозы мышцей может происходить независимо от сигналинга инсулина, представляют особый интерес для исследователей. Поскольку увеличение транспорта глюкозы в изолированных клетках скелетной мышцы в ответ на сокращение происходят in vitro в отсутствие инсулина, можно предположить, что именно AMPK является привлекательным кандидатом, активация которого индуцируется увеличением соотношения АМФ/АТФ [13]. AICAR-индуцированная активация AMPK увеличивает утилизацию глюкозы посредством увеличения активности глюкозного транспортера 4 (GLUT-4) [14]. Это касается преимущественно быстро сокращающихся мышц (гликолитических), где запасов гликогена меньше, чем в медленно сокращающихся мышцах [15]. Использование методов генного нокаута (аблация AMPK-гена) показала, что эффекты AICAR у экспериментальных животных не приводят к увеличению периферической утилизации глюкозы [16, 17].

Механизм увеличения глюкозного транспорта в сокращающейся мышце активацией AMPK достигается увеличением экспрессии GLUT-4 и гексокиназы, способствует митохондриальному биогенезу, что улучшает окислительный метаболизм [18].

Роль системы AMPK как параметра, оценивающего энергетический статус клетки, особенно важна для сердечной мышцы, которая имеет очень высокую потребность в энергии и за 24 часа потребляет ее больше, чем любой другой орган. В сердце резервируется очень мало энергии и если продукция АТФ прекращается, собственные запасы истощаются через несколько секунд.

Роль AMPK как энергетического регулятора особенно важна в условиях ишемии или гипоксии. Активация AMPK в этот период приводит к стимуляции утилизации глюкозы, гликолиза и окисления СЖК. Эти метаболические эффекты могут быть как благоприятными, так и опасными во время ишемии и во время реперфузии, следующей за ишемией. В дополнение к действию на метаболизм миокарда AMPK также важна для процессов гипертрофии миокарда. AMPK-активация ингибирует синтез белка в миокарде и ограничивает выраженность гипертрофии [19–25].

Ключевая роль AMPK в сердце – регуляция энергетического метаболизма. В здоровом сердце большие количества АТФ необходимы для поддержания контрактильной функции и базальный метаболизм генерируется первично окислительным процессом в митохондриях с небольшим количеством АТФ, получаемым из гликолиза. В то время как сердце может использовать различные энергетические субстраты (СЖК, глюкозу, лактат, кетоны, аминокислоты), митохондриальная АТФ первично продуцируется окислением СЖК и пирувата, источником которого является реакция гликолиза или лактат. В норме в сердце 10–40% АТФ продуцируется через окисление пирувата, в то время как остальные 60–90% АТФ получаются при окислении СЖК.

Скорость доставки к сердцу необходимых веществ определяется их концентрацией в артериальной крови, гормонами, коронарным кровотоком, инотропным состоянием миокарда [26]. В этом перечне AMPK тоже играет немаловажную роль в регуляции метаболизма жирных кислот и глюкозы. Скорость, с которой СЖК захватываются и окисляются сердцем, зависит от их концентрации в плазме, их транспорта в клетку и скорости их утилизации в клетке.

В работающем сердце 50% СЖК, которые захватываются и утилизируются кардиомиоцитом, обеспечивается транслоказой СЖК (FAT/CD36). Ключевым ферментом, регулирующим попадание СЖК в митохондрии, является, как известно, карнитин-пальмитоил трансфераза (CPT1), которая локализована на наружной митохондриальной мембране. Этот фермент ингибируется малонил-CoA, уровень которого регулируется AMPK. Малонил-CoA синтезируется из ацетил-CoA в сердце с помощью фермента ацетил-CoA карбоксилазы (ACC) [27], а деградация малонил-CoA происходит обратной реакцией через декарбоксилирование в ацетил-CoA ферментом малонил-CoA декарбоксилазой [28]. Таким образом, процесс обеспечения субстратами и поддержание энергетического запаса кардиомиоцита требует участия очень многих факторов и веществ. В процессе легкой ишемии (например, приступ стенокардии) энергетическое обеспечение не может поддерживаться только путем утилизации глюкозы и СЖК (страдает доставка) и снижение запасов АТФ компенсируется акселерацией гликолиза. Однако во время тяжелой ишемии (например, во время инфаркта миокарда или кардиохирургического вмешательства) оксидативный метаболизм драматически снижается и основным источником продукции АТФ становится гликолиз. Однако в этом состоянии гликолиз не завершается, что сопровождается накоплением промежуточных продуктов (лактата и протонов) в кардиомиоцитах. Это приводит к необходимости тратить АТФ не на сокращение, а на клиренс этих токсичных продуктов. Это вызывает снижение эффективности контрактильной функции.

Установлено, что во время ишемии происходит быстрая и пикообразная активация AMPK. Цель этой активации – восстановить уровень АТФ посредством утилизации и глюкозы, и СЖК. AMPK увеличивает утилизацию глюкозы кардиомиоцитом различными механизмами: увеличением транслокации GLUT-4 к сарколемме кардиомиоцита, активацией фосфофруктокиназы, что ускоряет гликолиз [29, 30]. Эта роль AMPK может рассматриваться как протективная для кардиомиоцита. Второй эффект – стимуляция окисления СЖК. Поскольку в период ишемии обеспечение кислородом снижено, активация AMPK может снизить уровень малонил-CoA и ингибировать ACC.

Анализ экспериментальных работ, выполненных в последние годы, не позволяет оценить роль активации AMPK в ишемизированном миокарде как однозначно положительную. Известно также, что активация AMPK может рассматриваться как проапоптотическая: через ингибирование клеточного цикла, активацию каспаз и проапоптотических белков. Это было показано на гладкомышечных клетках, раковых клетках и др. [31–33], однако в ишемизированном миокарде активации AMPK приписывают антиапоптотический и кардиопротективный эффекты [29, 34]. Различия в данных обусловлены и выбранными моделями – изолированными кардиомиоцитами и целиком сердцем; в цельном сердце энергетическое обеспечение поддерживает антиапоптотический эффект, тогда как для изолированной клетки любое недообеспечение приводит к апоптозу. Фармакологическая



Рис. 1. Роль AMPK в регуляции гомеостаза глюкозы

активация AMPK ингибирует синтез белка, требующийся для гипертрофии миокарда. Ограничение процессов гипертрофии может быть реализовано и через ингибицию синтеза мышечного белка для поддержания энергетического баланса.

Так, AMPK-активация подавляет ангиотензин-II-индуцированный пролиферативный путь. Недавно были опубликованы данные о том, что мутации γ2-регуляторной субъединицы AMPK (PRKAG2) является причиной семейной гипертрофической кардиомиопатии, сопровождающейся аберрантным атриовентрикулярным проведением (Wolf-Parkinson-White синдром) [35–39]. Таким образом, AMPK-сигналинг может служить новым терапевтическим средством снижения сосудистого ремоделирования при различных сердечно-сосудистых заболеваниях.

Механизм действия метформина как «сенситайзера» инсулина может быть частично опосредован активацией AMPK в скелетных мышцах [40].

Общей метаболической особенностью, объединяющей СД1 и 2 типов, ожирение, метаболический синдром является повышенный уровень СЖК. Поражение эндотелия рассматривается как самый ранний признак сосудистого поражения при всех этих заболеваниях.

Известно, что избыток СЖК приводит к апоптозу многих клеточных линий что, возможно, реализуется через увеличение образования свободных радикалов [41]. Активация AMPK (индуцированная в эксперименте AICAR) может за счет антиоксидантного эффекта опосредовать и антиапоптотический [42]. Полученные результаты могут объяснить один из благоприятных эффектов активации AMPK на нарушение сосудистой функции, вызванной феноменом липотоксичности, избытком СЖК.

Как известно, NO, вырабатываемый эндотелием, увеличивает вазодилатацию и ингибирует агрегацию тромбоцитов, пролиферацию гладкомышечных клеток.

Метформин, согласно данным UKPDS, имеет дополнительные кардиопротективные свойства, однако механизм этих эффектов оставался длительное время неизвестным. По-видимому, AMPK-активация метформином ведет к активации эндотелиальной NO-синтазы, хотя этот факт требует уточнения. В эксперименте показано, что увеличение биоактивности NO в норме сопровождается снижением экспрессии молекул адгезии и апоптоза эндотелиальных клеток, вызванных инкубацией в среде, содержащей глюкозу в концентрации 30 ммоль/л. Эти результаты определенно указывают на то, что метформин улучшает эндотелиальную функцию через сигналинг AMPK-зависимой активации эндотелиальной NO-синтазы [43].

AMPK-сигналинг является определяющим в регуляции липидного метаболизма. Окисление жирных кислот (СЖК) в скелетной мышце регулируется CPT1, которая осуществляет транспорт длинноцепочечного ацил-CoA внутрь митохондрий и этот процесс ингибируется малонил-CoA, синтезированным ацетил-CoA карбоксилазой (ACC) [44]. При физической нагрузке активация AMPK ингибирует ACC, снижается уровень малонил-КоА, что позволяет войти СЖК в митохондрии для последующего β-окисления, восстанавливая энергетический баланс [45]. Способность AMPK индуцировать окисление жира в скелетной мышце и печени приводит к уменьшению эктопического накопления жира в этих тканях, что позволяет рассматривать активацию AMPK как эффект улучшения чувствительности к инсулину [46].

Удивительной находкой было то, что увеличение активности AMPK физической нагрузкой сопровождалось не только увеличением интрамитохондриального окисления СЖК, но и увеличением утилизации глюкозы при увеличении потребности в энергии, которого требует мышечное сокращение.

Быстрое накопление данных, подтвердивших важность этой протеинкиназы в контроле углеводного и жирового метаболизма, привело к предположению, что AMPK-дефицит, возможно, вызванный малоподвижным образом жизни, может привести к инсулинорезистентности и СД2.

Несмотря на имеющиеся данные, подтверждающие участие AMPK в реализации эффекта кратковременной физической нагрузки, требуются дальнейшие исследования, доказывающие этот механизм и при длительной нагрузке, что является обязательным компонентом лечения СД2.

Гомеостаз глюкозы поддерживается балансом между печеночной продукцией глюкозы и утилизацией глюкозы периферическими тканями. Гипергликемия натощак при СД2 является следствием печеночного новообразования глюкозы [14]. Глюконеогенез в печени регулируется множеством ферментов, таких, как фосфоэнолпируват карбоксилаза и глюкозо-6 фосфатаза. Активация AMPK подавляет экспрессию генов этих ферментов в клетках гепатомы, что может свидетельствовать о влиянии AMPK на глюконеогенез [40, 47]. Этот механизм может быть также приложим к антигипергликемическому эффекту метформина и TZD, реализуемому через активацию AMPK. Кроме глюконеогенеза, AMPK оказывает влияние также и на регуляцию печеночного липогенеза, окисления жира и синтеза холестерина [5, 48]. AMPK подавляет индуцированную глюкозой экспрессию генов, ассоциированных с синтезом жира: синтазу жирных кислот, пируват-киназу, ACC [49] (рис. 1).

В гепатоцитах крыс активация AMPK AICAR или метформином увеличивает окисление жирных кислот, снижает

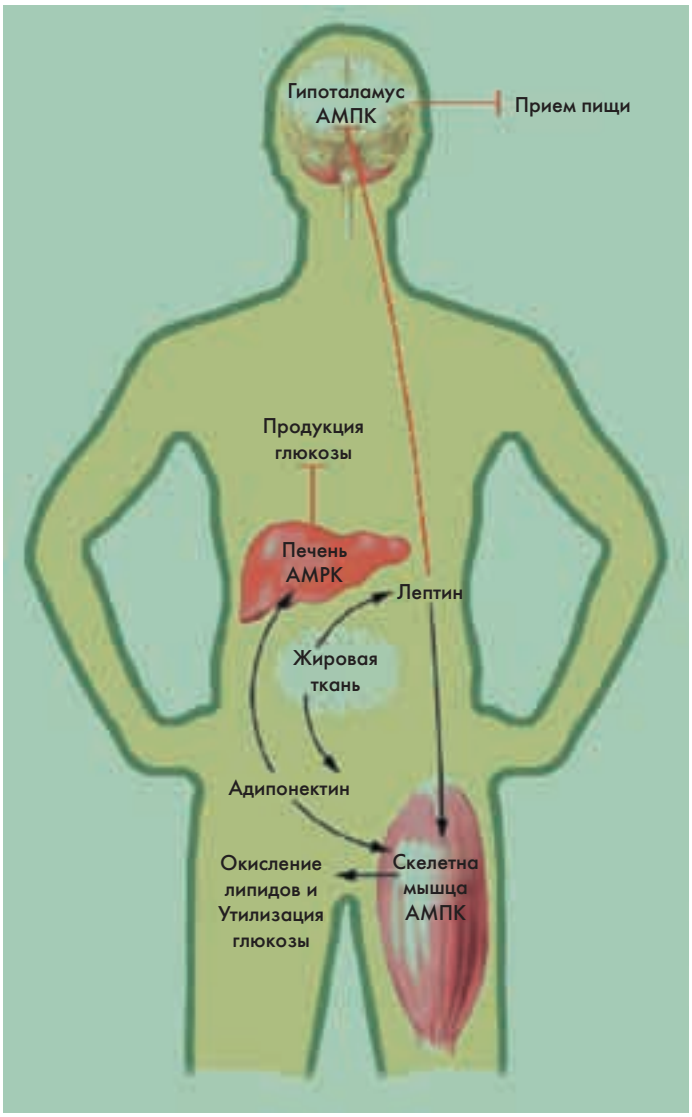


Рис. 2. Интеграция межтканевого взаимодействия посредством AMPK

уровень триглицеридов, что сопровождается увеличением уровня β-гидроксибутирата.

Активация AMPK в печени происходит также при увеличении соотношения АМФ/АТФ при стрессе, истощающем внутриклеточные запасы АТФ. Помимо известных митохондриальных ядов (арсенит, динитрофенол). AMPK может активироваться при длительном голодании, ишемии (реперфузия/трансплантация), хроническом злоупотреблении алкоголем [3, 50, 51]. Недавние исследования показали, что AMPK может также активироваться адипонектином [52]. Но это влияние не связано и изменением соотношения АМФ/АТФ, а запускается процессами окислительного фосфорилирования в митохондриях. В печени, как и в других органах, AMPK подавляет синтез белка, как энергозатратный процесс и таким образом, уменьшает клеточный рост и пролиферацию. In vitro, активаторы AMPK, такие, как AICAR и метформин, ингибируют рост и выживаемость злокачественных клеток, включая клетки гепатомы. Действительно, недавние эпидемиологические исследования показали, что у пациентов с СД2, длительно получавших метформин, реже встречались новообразования. Однако требуются дополнительные исследования, чтобы доказать, что этот протективный эффект опосредован AMPK.

Все это делает AMPK возможной терапевтической мишенью в предотвращении и лечении СД2 и инсулинорезистентности. Оказалось, что активация печеночной AMPK уменьшает гипергликемию у экспериментальных животных, подавляя глюконеогенез. Этот эффект по-видимому, не требует участия инсулина и наблюдается и при инсулинопении, и при тяжелой инсулинорезистентности. Молекулярные основы активации AMPK TZD до сих пор неясны, но, возможно, частично объясняются способностью этих препаратов увеличивать уровень адипонектина [53].

Неалкогольный стеатогепатит – клинико-патологический термин, включающий и простое накопление триглицеридов печенью (гепатостеатоз) и стеатоз, сопровождающийся воспалением с возможным исходом в фиброз и цирроз. Эффекты метформина и TZD в отношении снижения накопления жира осуществляются через активацию печеночной AMPK. Таким образом, активация AMPK в печени приводит к ряду положительных эффектов у больных СД2. Это касается снижения глюконеогенеза, синтеза холестерина. Однако увеличение окисления СЖК неизбежно сопровождается кетогенезом и может закончиться развитием кетоацидоза. Кроме того, уменьшение синтеза белка и возможное снижение детоксикационных свойств печени служит серьезным ограничением, требующим дальнейшего изучения всех эффектов активации AMPK на гепатоциты [54].

Эффекты активации AMPK, которые могут рассматриваться как потенциально антидиабетические, не могли не вызвать интереса к изучению влияния на β-клетку и инсулиновую секрецию. Как известно, глюкоза увеличивает соотношение АТФ/АДФ в β-клетках, что сопровождается закрытием АТФ-зависимых калиевых каналов и поступлением в клетку ионов кальция, что и является триггером инсулиновой секреции [55]. Концентрация АТФ и АДФ в β-клетках снижается в ответ на увеличение концентрации глюкозы [56] и это заставляет предполагать, что AMPK может участвовать в секреции инсулина, действуя, как субстратный сенсор. Увеличение уровня глюкозы подавляет активность AMPK в культурах β-клеток, тогда как в эксперименте AICAR-индуцированная активация AMPK снижает глюкозостимулированную секрецию инсулина [57]. Этот эффект может рассматриваться как нежелательный при СД2, хотя AMPK-опосредованное подавление секреции инсулина с физиологической точки зрения может быть оправдано, так как поддержание гомеостаза глюкозы в условиях депривации и дефицита глюкозы требует снижения секреции инсулина. Таким образом, роль AMPK в регуляции β-клеточной функции остается нерешенным вопросом, требующим дальнейшего изучения.

Данные последних работ позволяют рассматривать дефект на уровне печени, жировой клетки, панкреатической β-клетки и скелетной мускулатуры как следствие неадекватно функционирующей AMPK-сигнальной системы.

Интеграция межтканевого взаимодействия посредством AMPK

Центральная роль AMPK – регуляция гомеостаза глюкозы в организме в целом, интеграция гормонального и субстратного сигналинга в различный тканях (рис. 2).

Лептин уменьшает количество жира, снижая потребление пищи, улучшает чувствительность к инсулину в части уменьшения накопления триглицеридов в периферических тканях. Способность лептина индуцировать окисление СЖК и утилизацию глюкозы является тем метаболическим ответом, который реализуется через активацию AMPK [58, 59]. Адипонектин – другой адипокин, который снижает уровень глюкозы и СЖК у экспериментальных животных. Эти эффекты частично обусловлены адипонектин-индуцированной активацией AMPK, что приводит к увеличению окисления СЖК и утилизации глюкозы в мышцах [60]. Более того, активация AMPK адипонектином подавляет эндогенную продукцию глюкозы через ингибицию экспрессии генов ключе-

вых ферментов печеночного глюконеогенеза [52]. В гипоталамусе AMPK также функционирует как субстратный сенсор. Инъекции анорексигенных гормонов в гипоталамус грызунов ингибируют активность AMPK, а назначение орексигенных пептидов увеличивает ее активность [61]. Снижение пищевых субстратов активирует гипоталамическую AMPK, а гипергликемия и переедание – подавляет.

Интересным аспектом этих данных является тот факт, что и на уровне гипоталамуса система AMPK выступает в роли «метаболического переключателя», предотвращающего нарушение энергетического обеспечения организма в целом.

Таким образом, активация AMPK-сигнальной системы вызывает многочисленные метаболические эффекты, которые могут рассматриваться как положительные у пациентов с СД2 и метаболическим синдромом. Это касается и увеличения утилизации и метаболизма глюкозы в мышцах и других тканях, снижения продукции глюкозы печенью, а также снижения синтеза и увеличения окисления СЖК. AMPK-система является вероятным механизмом, посредством которого осуществляется антигипергликемический эффект метформина и TZD. Безусловно важным результатом активации AMPK является увеличение окисления жира, индуцированного адипокинами, лептином и адипонектином, что приводит к предотвращению эктопического накопления жира и улучшению чувствительности к инсулину. Активация AMPK-системы физической нагрузкой – также важный биологический результат, доказавший свою эффективность в предотвращении и лечении СД2.

Лавинообразное увеличение количества работ, посвященных изучению AMPK-системы – очередная попытка получить объяснение растущей распространенности СД2 и метаболического синдрома в современном мире и найти новую фармакологическую точку приложения, которая позволила бы справиться с этой проблемой.

Литература

1. Klein, S., et al. 2004. Weight management through lifestyle modification for the prevention and management of type 2 diabetes: rationale and strategies. A statement of the American Diabetes Association, the North American Association for the Study of Obesity, and the American Society for Clinical Nutrition. Diabetes Care. 27:2067–2073.
2. Wing, R.R., et al. 2001. Behavioral science research in diabetes: lifestyle changes related to obesity, eating behavior, and physical activity. Diabetes Care. 24:117–123.
3. Hardie, D.G. 2004. The AMP-activated protein kinase pathway: new players upstream and downstream. J. Cell Sci. 117:5479–5487.
4. Kemp, B.E., et al. 2003. AMP-activated protein kinase, super metabolic regulator. Biochem. Soc. Trans. 31:162–168.
5. Carling, D. 2004. The AMP-activated protein kinase cascade: a unifying system for energy control. Trends Biochem. Sci. 29:18–24.
6. Hardie, D.G. 2003. Minireview. The AMP-activated protein kinase cascade: the key sensor of cellular energy status. Endocrinology. 144:5179–5183.
7. Hardie DG, Salt IP, Hawley SA, Davies SP 1999 AMP-activated protein kinase: an ultrasensitive system for monitoring cellular energy charge. Biochem J 338:717–722.
8. Hardie DG, Hawley SA 2001 AMP-activated protein kinase: the energy charge hypothesis revisited. Bioessays 23:1112–1119.
9. Birnbaum, M.J. 2005. Activating AMP-activated protein kinase without AMP. Mol. Cell. 19:289–290.
10. Hurley, R.L., et al. 2005. The Ca2+/calmodulin-dependent protein kinase kinases are AMP-activated protein kinase kinases. J. Biol. Chem. 280:29060–29066.
11. Fryer, L.G.D., Parbu-Patel, A., and Carling, D. 2002. The anti-diabetic drugs rosiglitazone and metformin stimulate AMP-activated protein kinase through distinct signaling pathways. J. Biol. Chem. 277:25226–25232.
12. Corton, J.M., Gillespie, J.G., Hawley, S.A., and Hardie, D.G. 1995. 5-Aminoimidazole-4-carboxamide ribonucleoside. A specific method for activating AMP-activated protein kinase in intact cells? Eur. J. Biochem. 229:558–565.
13. Longnus, S.L., Wambolt, R.B., Parsons, H.L., Brownsey, R.W., and Allard, M.F. 2003. 5-Aminoimidazole- 4-carboxamide 1-beta-D-ribofuranoside (AICAR) stimulates myocardial glycogenolysis by allosteric mechanisms. Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol. 284:R936–R944.
14. DeFronzo, R.A., Gunnarsson, R., Bjorkman, O., Olsson, M., and Wahren, J. 1985. Effects of insulin on peripheral and splanchnic glucose metabolism in noninsulin-dependent (type II) diabetes mellitus. J. Clin. Invest. 76:149–155.
15. Hutber, C.A., Hardie, D.G., and Winder, W.W. 1997. Electrical stimulation inactivates muscle acetyl-CoA carboxylase and increases AMP-activated protein kinase. Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab. 272:E262–E266.
16. Merrill, G.F., Kurth, E.J., Hardie, D.G., and Winder, W.W. 1997. AICA riboside increases AMP-activated protein kinase, fatty acid oxidation, and glucose uptake in rat muscle. Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab. 273:E1107–E1112.
17. Kurth-Kraczek, E., Hirshman, M., Goodyear, L., and Winder, W. 1999. 5 AMP-activated protein kinase activation causes GLUT4 translocation in skeletal muscle. Diabetes. 48:1667–1671.
18. Barnes, B.R., et al. 2004. The 5 -AMP-activated protein kinase 3 isoform has a key role in carbohydrate and lipid metabolism in glycolytic skeletal muscle. J. Biol. Chem. 279:38441–38447.
19. MacRae CA, Ghaisas N, Kass S, Donnelly S, Basson CT, Watkins HC, Anan R, Thierfelder LH, McGarry K, Rowland E et al. 1995. Familial hypertrophic cardiomyopathy with Wolff-Parkinson-White syndrome maps to a locus on chromosome 7q3. J Clin Invest 96, 1216–1220.
20. Tian R, Musi N, D'Agostino J, Hirshman MF & Goodyear LJ.2001. Increased adenosine monophosphate-activated protein kinase activity in rat hearts with pressure-overload hypertrophy. Circulation 104, 1664–1669.
21. McLeod LE & Proud CG.2002. ATP depletion increases phosphorylation of elongation factor eEF2 in adult cardiomyocytes independently of inhibition of mTOR signalling. FEBS Lett 531, 448–452.
22. Horman S, Beauloye C, Vertommen D, Vanoverschelde JL, Hue L & Rider MH. 2003. Myocardial ischemia and increased heart work modulate the phosphorylation state of eukaryotic elongation factor-2. J Biol Chem 278, 41970–41976.
23. Browne GJ, Finn SG & Proud CG. 2004. Stimulation of the AMP-activated protein kinase leads to activation of eukaryotic elongation factor 2 kinase and to its phosphorylation at a novel site, serine 398. J Biol Chem 279, 12220–12231.
24. Browne GJ & Proud CG. 2004. A novel mTOR-regulated phosphorylation site in elongation factor 2 kinase modulates the activity of the kinase and its binding to calmodulin. Mol Cell Biol 24, 2986–2997.
25. Chan AY, Soltys CL, Young ME, Proud CG & Dyck JR. 2004. Activation of AMP-activated protein kinase inhibits protein synthesis associated with hypertrophy in the cardiac myocyte. J Biol Chem 279, 32771–32779.
26. Saddik M, Gamble J,Witters LA & Lopaschuk GD. 1993 . Acetyl-CoA carboxylase regulation of fatty acid oxidation in the heart. J Biol Chem 268, 25836–25845.
27. Thampy KG. 1989. Formation of malonyl coenzyme A in rat heart. Identification and purification of an isozyme of A carboxylase from rat heart. J Biol Chem 264, 17631–17634.
28. Dyck JR, Barr AJ, Barr RL, Kolattukudy PE & Lopaschuk GD . 1998. Characterization of cardiac malonyl-CoA decarboxylase and its putative role in regulating fatty acid oxidation. Am J Physiol 275, 2122–2129.
29. Russell RR 3rd, Li J, Coven DL, Pypaert M, Zechner C, Palmeri M, Giordano FJ, Mu J, Birnbaum MJ & Young LH 2004.AMP-activated pro-

tein kinase mediates ischemic glucose uptake and prevents postischemic cardiac dysfunction,apoptosis, and injury. J Clin Invest 114, 495–503.
30. Li J, Miller EJ, Ninomiya-Tsuji J, Russell RR 3rd & Young LH 2005. AMP-activated protein kinase activates p38 mitogenactivated protein kinase by increasing recruitment of p38 MAPK to TAB1 in the ischemic heart. Circ Res 97, 872–879.
31. Meisse D, Van de Casteele M, Beauloye C, Hainault I, Kefas BA, Rider MH, Foufelle F & Hue L. 2002. Sustained activation of AMP-activated protein kinase induces c-Jun N-terminal kinase activation and apoptosis in liver cells. FEBS Lett 526, 38–42.
32. Kefas BA, Cai Y, Ling Z, Heimberg H, Hue L, Pipeleers D & Van de Casteele M. 2003. AMP-activated protein kinase can induce apoptosis of insulin-producing MIN6 cells through stimulation of c-Jun-N-terminal kinase. JMol Endocrinol 30, 151–161.
33. Igata M, Motoshima H, Tsuruzoe K, Kojima K, Matsumura T, Kondo T, Taguchi T, Nakamaru K, Yano M, Kukidome D, Matsumoto K, Toyonaga T, Asano T, Nishikawa T & Araki E . 2005. Adenosine monophosphate-activated protein kinase suppresses vascular smooth muscle cell proliferation through the inhibition of cell cycle progression. Circ Res 97, 837–844.
34. Hickson-Bick DL, Buja ML & McMillin JB. 2000. Palmitate-mediated alterations in the fatty acid metabolism of rat neonatal cardiac myocytes. JMol Cell Cardiol 32, 511–519.
35. Blair E, Redwood C, Ashrafian H, Oliveira M, Broxholme J, Kerr B, Salmon A, Ostman-Smith I &Watkins H. 2001. Mutations in the 2 subunit of AMP-activated protein kinase cause familial hypertrophic cardiomyopathy: evidence for the central role of energy compromise in disease pathogenesis. Hum Mol Genet 10, 1215–1220.
36. Arad M, Benson DW, Perez-Atayde AR, McKenna WJ, Sparks EA, Kanter RJ, McGarry K, Seidman JG & Seidman CE. 2002. Constitutively active AMP kinase mutations cause glycogen storage disease mimicking hypertrophic cardiomyopathy. J Clin Invest 109, 357–362.
37. Gollob MH, Green MS, Tang AS, Gollob T, Karibe A, Ali Hassan AS, Ahmad F, Lozado R, Shah G, Fananapazir L, Bachinski LL, Roberts R & Hassan AS. 2001a. Identification of a gene responsible for familialWolff-Parkinson-White syndrome. N Engl JMed 344, 1823–1831.
38. Gollob MH, Seger JJ, Gollob TN, Tapscott T, Gonzales O, Bachinski L & Roberts R. 2001b. Novel PRKAG2 mutation responsible for the genetic syndrome of ventricular preexcitation and conduction system disease with childhood onset and absence of cardiac hypertrophy. Circulation 104, 3030–3033.
39. Gollob MH. 2003. Glycogen storage disease as a unifying mechanism of disease in the PRKAG2 cardiac syndrome. Biochem Soc Trans 31, 228–231.
40. 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.
41. Yamagishi S., et al. Palmitat-induced apoptosis of microvascular endothelial cells and pericytes. Mol Med 2002; 8: 179-184
42. Li LX, et al. Induction of uncoupling protein 2 mRNA in beta-cells is stimulated by oxidation of FA but not by nutrient oversupply. Endocrinology. 2002; 143: 1371-1377
43. Bradley J. Davis, Zhonglin Xie, Benoit Viollet and Ming-Hui Zou. 2006. Activation of the AMP-Activated Kinase by Antidiabetes Drug Metformin Stimulates Nitric Oxide Synthesis In Vivo by Promoting the Association of Heat Shock Protein 90 and Endothelial Nitric Oxide Synthase. Diabetes 55:496–505.
44. Derave, W., et al. 2000. Dissociation of AMP-activated protein kinase activation and glucose transport in contracting slow-twitch muscle. Diabetes. 49:1281–1287.
45. Mu, J., Brozinick, J.T., Jr., Valladares, O., Bucan, M., and Birnbaum, M.J. 2001. A role for AMP-activated protein kinase in contraction- and hypoxia-regulated glucose transport in skeletal muscle. Mol. Cell. 7:1085–1094.
46. Barnes, B.R., et al. 2004. The 5 -AMP-activated protein kinase 3 isoform has a key role in carbohydrate and lipid metabolism in glycolytic skeletal muscle. J. Biol. Chem. 279:38441–38447.
47. Musi, N., et al. 2002. Metformin increases AMP-activated protein kinase activity in skeletal muscle of subjects with type 2 diabetes. Diabetes. 51:2074–2081.
48. Kahn, B.B., Alquier, T., Carling, D., and Hardie, D.G. 2005. AMP-activated protein kinase: ancient energy gauge provides clues to modern understanding of metabolism. Cell Metab. 1:15–25.
49. Zeigerer, A., McBrayer, M.K., and McGraw, T.E. 2004. Insulin stimulation of GLUT4 exocytosis, but not its inhibition of endocytosis, is dependent on RabGAP AS160. Mol. Biol. Cell. 15:4406–4415.
50. You M, Matsumoto M, Pacold CM, Cho WK & Crabb DW. 2004. The role of AMP-activated protein kinase in the action of ethanol in the liver. Gastroenterology 127, 1798–1808.
51. Peralta C, Bartrons R, Serafin A, Blazquez C, Guzman M, Prats N, Xaus C, Cutillas B, Gelpi E & Rosello-Catafau J 2001. Adenosine monophosphate-activated protein kinase mediates the protective effects of ischemic preconditioning on hepatic ischemia-reperfusion injury in the rat. Hepatology 34, 1164–1173.
52. 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.
53. Nawrocki AR, Rajala MW, Tomas E, Pajvani UB, Saha AK, Trumbauer ME, Pang Z, Chen AS, Ruderman NB, Chen H, Rossetti L & Scherer PE. 2006. Mice lacking adiponectin show decreased hepatic insulin sensitivity and reduced responsiveness to peroxisome proliferator-activated receptor agonists. J Biol Chem 281, 2654–2660.
54. Benoit Viollet, Marc Foretz, Bruno Guigas, Sandrine Horman, Renaud Dentin, Luc Bertrand, Louis Hue and Fabrizio Andreelli. 2006. Activation of AMP-activated protein kinase in the liver: a new strategy for the management of metabolic hepatic disorders. J. Physiol. 574;41-53
55. Rutter, G.A. 2001. Nutrient-secretion coupling in the pancreatic islet beta-cell: recent advances. Mol. Aspects Med. 22:247–284.
56. Salt, I.P., Johnson, G., Ashcroft, S.J., and Hardie, D.G. 1998. AMP-activated protein kinase is activated by low glucose in cell lines derived from pancreatic beta cells, and may regulate insulin release. Biochem. J. 335:533–539.
57. Zhang, S., and Kim, K.H. 1995. Glucose activation of acetyl-CoA carboxylase in association with insulin secretion in a pancreatic beta-cell line. J. Endocrinol.147:33–41.
58. Kamohara, S., Burcelin, R., Halaas, J.L., Friedman, J.M., and Charron, M.J. 1997. Acute stimulation of glucose metabolism in mice by leptin treatment. Nature. 389:374–377.
59. Haque, M., et al. 1999. Role of the sympathetic nervous system and insulin in enhancing glucose uptake in peripheral tissues after intrahypothalamic injection of leptin in rats. Diabetes. 48:1706–1712.
60. Tomas, E., et al. 2002. Enhanced muscle fat oxidation and glucose transport by ACRP30 globular domain: acetyl-CoA carboxylase inhibition and AMP-activated protein kinase activation. Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 99:16309–16313.
61. Minokoshi, Y., et al. 2004. AMP-kinase regulates food intake by responding to hormonal and nutrient signals in the hypothalamus. Nature. 428:569–574.