

NIEUWS UIT DE BASISWETENSCHAPPEN: FYSIOLOGIE

HET AMP-GEACTIVEERDE PROTEÏNEKINASE: DE METABOLE DIRIGENT

W. DERAVE^{1,2}

Inleiding

Een vraag die fysiologen reeds lang bezighoudt, is hoe een cel bij acute verstoring van het energie-evenwicht erin slaagt om de situatie terug te stabiliseren. Of met andere woorden: hoe kan een cel bij een verhoogde nood aan en verbruik van adenosinetrifosfaat (ATP) de ATP-genererende processen snel en doeltreffend activeren? In cellen dienen er heel wat metabole signalen gecoördineerd te worden en moet de activatie van energiesystemen geregeld worden. De nood aan ATP in een skeletspiercel kan tijdens een plotse activatie van de spier in enkele seconden verhonderdvoudigen. Hiervoor is een snelle mobilisatie van brandstof nodig. Er moet een signaal bestaan dat ervoor zorgt dat de spiercellen de beschikbare brandstofreserves in de vorm van glycogeen en triglyceriden gaan aanspreken, dat glucose en vetzuren uit de bloedbaan opgenomen worden, en dat biochemische reactiewegen zoals de glycolyse en de Krebs-cyclus aangezwengeld worden. Dat signaal komt voornamelijk vanuit de cel. Het werd onwaarschijnlijk geacht dat één enkel systeem in staat is om zowel de taak van nauwgezette energiesensor als die van activator van zovele energiesystemen te combineren. Toch lijkt dergelijke regelaar gevonden. Meer nog, hij is niet alleen in staat om energiegenererende processen te activeren, maar ook om desgewenst ATP-verbruikende processen tijdelijk stil te leggen. Wat volgt is een voorstelling van het AMP-geactiveerde proteïnekinase (AMPK).

Samenvatting

Bij cellen die grote schommelingen in energieverbruik kennen, zoals spiercellen, is een minutieuze koppeling tussen energieverbruikende en energieleverende processen vereist. Het adenosinemonofosfaat (AMP)-geactiveerde proteïnekinase (AMPK) speelt een cruciale rol in deze koppeling. Niet enkel in de intracellulaire energiehuishouding, maar ook als tweede boodschapper van hormonale signalen is het AMPK betrokken. Begrijpelijkerwijze wordt het AMPK momenteel beschouwd als een belangrijk doelwit voor de ontwikkeling van geneesmiddelen voor de behandeling van talrijke metabole aandoeningen.

Dit overzichtartikel wil een fysiologische en biochemische inleiding in de huidige kennis van het AMPK aanbieden en gaat in op enkele mogelijke klinische toepassingen.

Adenosinemonofosfaatgeactiveerde proteïnekinase (AMPK)

Dat AMPK een grote verscheidenheid aan functies vervult, suggereert dat het evolutionair al lang meegaat. Dat AMPK, of een analogon daarvan, voorkomt in bijna alle eukaryoten, duidt aan dat een dergelijk systeem reeds bestond nog voor de splitsing in dieren- en plantenrijk, dus meer dan een miljard jaar geleden. AMPK werd als één van de eerste proteïnekinasen ontdekt in 1973 en eerst „3-hydroxy-3-methylglutaryl-coënzym-A-reductasekinase” (HMG-CoA-reductasekinase) genoemd (1). Het

¹ Laboratorium Inspanningsfysiologie en Biomechanica, Faculteit Lichamelijke Opvoeding en Kinesitherapie, K.U.Leuven.

² Correspondentieadres: dhr. W. Derave, FLOK, Tervuursevest 101, 3001 Leuven; e-mail: wim.derave@flok.kuleuven.ac.be

belang van die ontdekking begint echter nu pas goed door te dringen, en de laatste vijf jaar werden talrijke fysiologische functies van AMPK onthuld. Het is dan ook begrijpelijk dat AMPK momenteel een belangrijke „target” genoemd wordt voor de ontwikkeling van geneesmiddelen voor de behandeling van talrijke – vooral metabole – aandoeningen.

Bij de mens komt AMPK tot expressie in vele weefsels, waaronder het hart, de skeletspier, de lever, enz. AMPK is een heterotrimeer, d.w.z. bestaande uit drie verschillende subeenheden α , β en γ , waarvan de eerste een katalytische activiteit heeft, en de twee andere een regelfunctie (2). AMPK wordt geactiveerd tijdens condities van cellulaire stress. Biochemisch laat zich dat vertalen als: AMPK wordt allosterisch geactiveerd door een verhoogde AMP/ATP-ratio en creatine/fosfocreatineratio. Theoretisch is adenosinemonofosfaat (AMP) een ideale regelaar voor een AMPK, omdat AMP onder normale

omstandigheden niet voorkomt in de cel, en dus enkel opgestapeld wordt onder condities van cellulaire stress die gepaard gaan met ATP-verlies.

AMPK is een kinase, hetgeen betekent dat het andere eiwitten, meestal enzymen, kan fosforileren, wat leidt tot hetzij een activatie hetzij een deactivatie van het enzym. Reeds heel wat substraten voor AMPK zijn gekend, die elk aanleiding geven tot een ander metabool effect (fig. 1). In de volgende paragrafen wordt het voorbeeld gegeven van één van de bekendste substraten van AMPK, namelijk acetylcoënzym-A-carboxylase (ACC), dat een centrale rol speelt in de regulering van de vetoxidatie.

Stimuleren van vetverbranding

Recente studies hebben aangetoond dat er tijdens fysieke inspanning een activatie optreedt van AMPK in de actieve skeletspieren, hetgeen

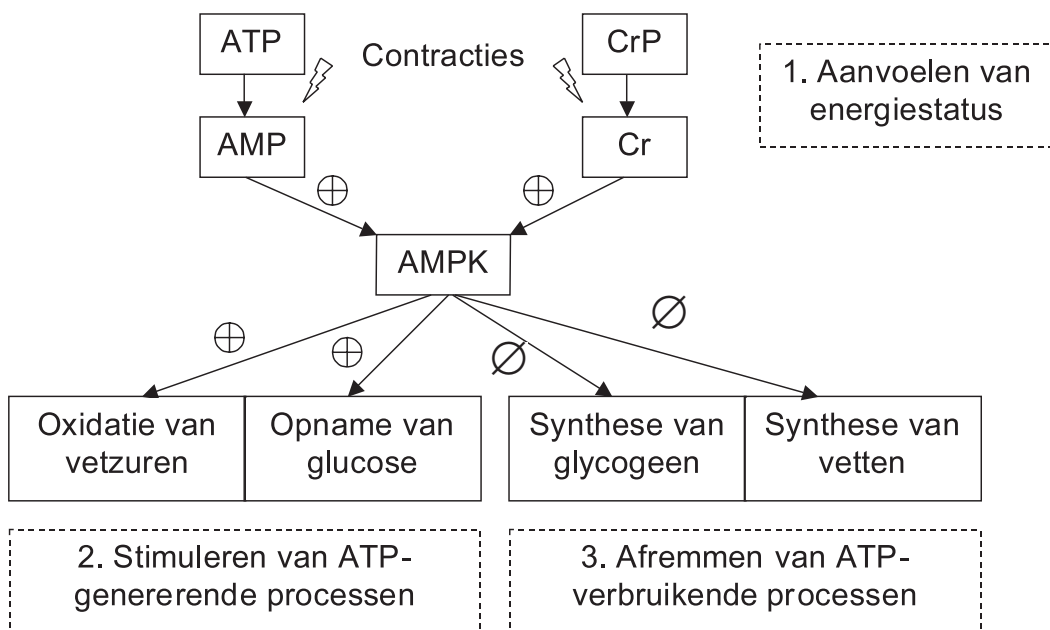


Fig. 1: Het AMPK op het kruispunt van metabole reactiewegen in de cel.

- 1) Tijdens stress (bv. contractie van spiercel) worden adenosinetrifosfaat (ATP) en creatinefosfaat (CrP) afgebroken, wat leidt tot opstapeling van adenosinemonofosfaat (AMP) en vrije creatine (Cr). De laatste twee activeren het AMP-geactiveerde proteïnekinase (AMPK).
 - 2) Het AMPK zet een aantal energiegenererende en katabole processen in gang zoals glucoseopname en vetzuuroxidatie.
 - 3) Het AMPK remt ook energieverbruikende en anabole processen zoals glycogeen- en triglyceridensynthese.
- ⊕ betekent activatie; ∅ betekent remming.

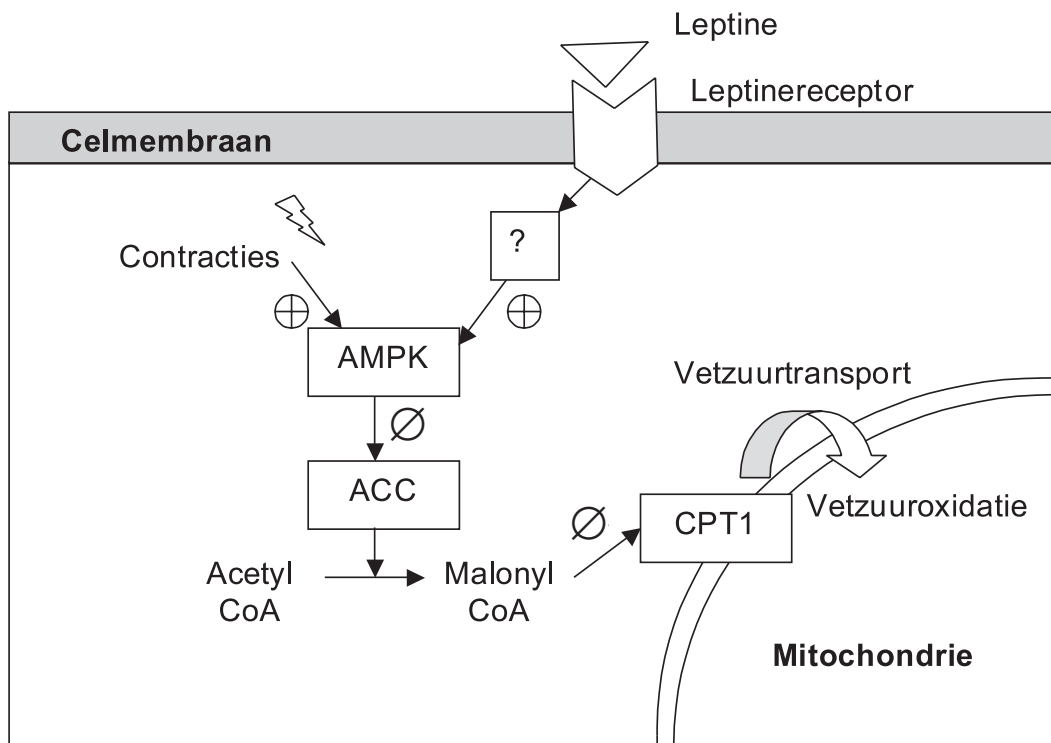


Fig. 2: De regeling van de vetzuurverbranding door het AMPK in de spiercel.

Het AMPK wordt geactiveerd door bijvoorbeeld contracties of leptine (via de leptinereceptor en een nog onbekende tussenstap). Het AMPK remt de werking van het enzym acetyl-coënzym-A-carboxylase (ACC). Hierdoor wordt minder van het reactieproduct malonyl-coënzym-A (Malonyl CoA) gevormd, waardoor de remming op carnitinepalmitoyltransferase-1 (CPT1) wegvalt. Zodoende kan CPT1 ongeremd vetzuren binnenbrengen in de mitochondriën, waar ze via verbranding energie leveren.

⊕ betekent activatie; ∅ betekent remming.

te verwachten valt vanwege de rol van het AMPK en de gevoeligheid voor AMP-accumulatie (3). Tijdens contracties hebben de spiercellen nood aan extra brandstof, die ze onder meer halen uit de verbranding van vetzuren. Biochemici hebben onlangs ontdekt dat het AMPK de vetzuuroxidatie stimuleert via een complex proces (overzicht in ref. 4). Zoals reeds vermeld, is het AMPK in staat het enzym ACC te fosforyleren, wat leidt tot een inactivatie van ACC (fig. 2). Dit heeft tot gevolg dat de concentratie van malonyl-CoA, het product dat gesynthetiseerd wordt door ACC, gaat dalen. Malonyl-CoA verhindert op zijn beurt de activiteit van carnitinepalmitoyltransferase-1 (CPT1) en daarmee ook de opname van langeketenvetzuren in de mitochondriën, waar de

vetoxidatie plaatsvindt. Aldus veroorzaakt een verhoogde AMPK-activiteit via een daling van malonyl-CoA een verhoogde opname en verbranding van vetzuren in de spiercellen (fig. 2). Naast de oxidatie van vetzuren behoren ook een verhoogde opname van glucose en een verminderde synthese van glycogeen tot het arsenaal van processen waarmee het AMPK de positieve energiebalans van de spiercellen kan herstellen (5, 6).

Het AMPK oefent niet enkel acute effecten uit op de energiehomeostase van de cel, maar heeft ook een invloed bij het tot expressie brengen van genen van eiwitten die betrokken zijn bij metabole reactieketens. Een chronische stimulatie van het AMPK leidt bijvoorbeeld tot een verhoogde expressie van glucosetransporters

(GLUT4) en hexokinase, en tot een verminderde expressie van het bovenvermelde ACC (overzicht in ref. 7). Men vermoedt dat vele chronische aanpassingen die optreden in skeletspieren door fysieke training bemiddeld worden via stimulering van het AMPK.

AMPK als tweede boodschapper

Het AMPK coördineert niet enkel de intracellulaire metabole signalen (die van binnen in de cel komen), maar ook hormonale signalen afkomstig van andere weefsels. Blijven we nog even bij het voorbeeld van de vetverbranding. Leptine, een hormoon dat in 1994 werd ontdekt, wordt geproduceerd in de vetcellen (8). Eens in de bloedbaan terechtgekomen, zorgt leptine in de hypothalamus voor een vermindering van de eetlust, en in perifere organen zoals de skeletspieren voor een verminderde vetopslag. Leptine biedt dus als het ware een natuurlijk beschermingsmechanisme tegen verdere opstapeling van vet in het lichaam via een negatieve feedback vanuit vetcellen. Onlangs is gebleken dat leptine de reserves aan triglyceriden in spieren weet te verminderen door een activatie van de vetzuuroxidatie in de mitochondriën via het AMPK (9). De spiercellen bezitten op de plasmamembraan receptoren waarop leptine kan binden. Op welke manier deze receptoren het signaal verdergeven aan het AMPK is nog niet gekend, maar vanaf het AMPK gebeurt de activatie van de vetverbranding via bovenbeschreven signaalmechanisme. Deze ontdekkingen hebben tal van mogelijke therapeutische implicaties. Defecten in één van de eiwitten die het leptinesignaal doorgeven hebben grote gevolgen (8). Afwezigheid van leptinereceptoren leidt tot ernstige zwaarlijvigheid bij genetisch gemanipuleerde muizen (10). Bij mensen is obesitas vaak geassocieerd met een verminderde gevoeligheid voor leptine (11). De eerste studies die de effecten van toediening van leptine onderzochten, tonen hoopvolle effecten aan van gewichtsverlies bij zwaarlijvigen (12). Momenteel wordt echter duidelijk dat leptinetoediening slechts bij een beperkt percentage van zwaarlijvigen tot grote gewichtsafname leidt (13). Daarom wordt verder gezocht naar leptineanalogs en alternatieve strategieën. In dit kader is de mogelijke farmacologische activatie van het AMPK voor de

behandeling van obesitas van belang, waarover meer in de volgende paragrafen.

AMPK en insulineresistentie

Obesitas is in sterke mate geassocieerd met diabetes type 2. De kans om diabetes te ontwikkelen is vele malen groter voor iemand met een hoge „body mass index” (BMI) dan voor iemand met een lage BMI. Een onderliggende reden hiervoor wordt uitgelegd in de lipotoxiciteitshypothese (14). Volgens deze theorie liggen de te hoge vetreserves (triglyceriden) in niet-vetweefsel, zoals lever- en spiercellen, aan de grondslag van een verstoorde insulinerewerking (15). Het mechanisme waarmee lipiden de insulinegevoeligheid van skeletspieren verstoren is nog niet volledig ontrafeld, maar houdt vermoedelijk verband met de werking van diacylglycerol (DAG) en proteïnekinase C (PKC) (16). Wel is gekend dat leptine in staat is om de insulineresistentie in dierexperimentele modellen met diabetes type 2 te verminderen (17). Dit betekent dat leptine, door bemiddeling van het AMPK, de triglyceridenreservoirs in spiercellen kan doen afnemen en de insulinegevoeligheid doen toenemen. Naar analogie met leptine kan ook fysieke activiteit het AMPK stimuleren en op een gelijkaardige manier de insulinegevoeligheid van spieren stimuleren door een verhoging van de vetzuuroxidatie en een vermindering van de vetreserves in de spiercellen (fig. 3).

Veel wijst er dus op dat het AMPK een belangrijke rol speelt en een uiterst interessant doelwit is ter ontwikkeling van geneesmiddelen voor de behandeling van diabetes type 2 (18). Drie recente bevindingen versterken nog deze gedachte. Ten eerste werd aangetoond dat langdurige farmacologische activatie van het AMPK door chronische injecties van 5-amino-imidazol-4-carboxamideribonucleoside (AICAR, een AMP-analoon dat eveneens het AMPK stimuleert) bij dierexperimentele modellen met diabetes type 2 leidt tot een verbeterde glucosehomeostase (19). Ten tweede blijkt dat twee veelgebruikte antidiabetische geneesmiddelen, met name rosiglitazon en metformine, een activatie veroorzaken van het AMPK en waarschijnlijk via die weg hun positieve effecten bij diabetici bewerkstelligen (20, 21) (fig. 3). Ten slotte werd aangetoond dat de activatie van het AMPK tijdens fysieke activiteit intact is in skeletspieren bij diabetici van type 2 (22). Dit wijst erop dat het systeem

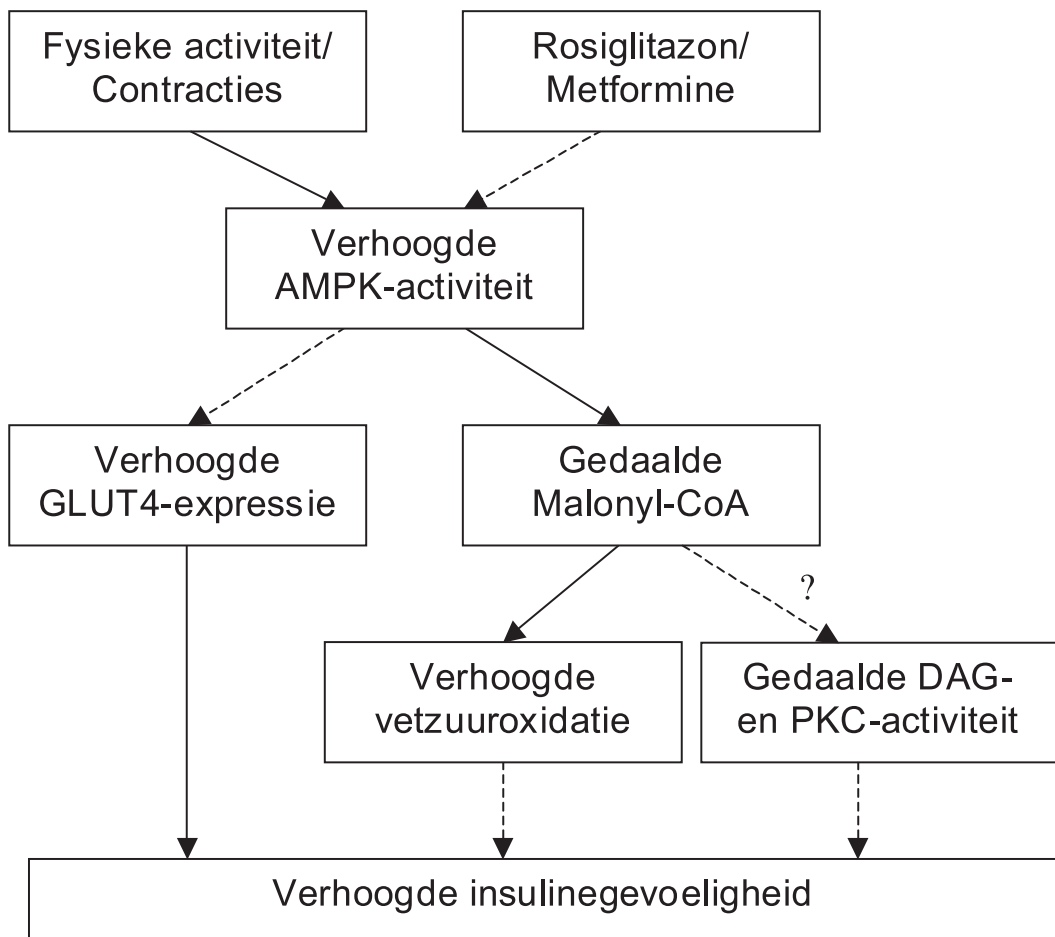


Fig. 3: Vermoedelijke werking van het AMPK op insulinegevoeligheid.

Hypothetisch model van het mechanisme waardoor fysieke activiteit en antidiabetische geneesmiddelen (rosiglitazon en metformine) leiden tot een verbeterde insulinewerking in perifere weefsels (zoals spierweefsels). De volle lijnen wijzen op effecten die reeds voldoende ondersteund zijn door wetenschappelijk onderzoek bij zowel dieren als mensen. De stippellijnen wijzen op effecten die reeds tijdens dierexperimenten werden aangetoond, maar nog niet of nog onvoldoende gevalideerd zijn bij mensen.

(DAG: diacylglycerol; PKC: proteïnekinase C)

voor AMPK-bemiddelde activatie van de glucoseopname en de vetzuurverbranding in insulineresistente spieren goed functioneert en dus een geschikt doelwit is voor eventuele behandeling. Het lijkt er trouwens sterk op dat één van de erkende behandelingen van insulineresistentie, namelijk fysieke activiteit, eveneens via het AMPK werkzaam is. Onlangs werd aangetoond dat men niet alleen tijdens de uren na fysieke activiteit, maar ook na ‘artificiële’ AMPK-activatie door AICAR, een verhoogde insulinegevoeligheid

van de spieren aantreft (23). Daarenboven lijkt training (d.w.z. herhaaldelijke stimuli van fysieke activiteit) de activiteit en expressie van AMPK in spieren te verhogen, hetgeen zou kunnen verklaren waarom getrainden een hogere insulinegevoeligheid vertonen (24). Al deze bevindingen verschaffen dus een verklarend mechanisme voor de gekende preventieve en therapeutische effecten van fysieke activiteit bij diabetes type 2, obesitas en andere aandoeningen die gepaard gaan met insulineresistentie (25). Tevens openen ze de weg

voor een rationele en doelgerichte ontwikkeling van geneesmiddelen voor de behandeling van deze ziekten.

Besluit

We kunnen besluiten dat de centrale rol van het AMPK in de regeling van de energiehuishouding van talrijke lichaamscellen steeds duidelijker wordt. Het ligt binnen de verwachtingen dat de snelle vooruitgang die wetenschappers boeken in het begrijpen van de functies van het AMPK belangrijke gevolgen zullen hebben. Enerzijds zullen we beter begrijpen hoe en waarom fysieke activiteit een positief beschermend en helend effect heeft op metabole aandoeningen, en anderzijds opent dit nieuwe perspectieven voor de ontwikkeling van geneesmiddelen voor de behandeling van diabetes type 2 en obesitas.

Dankbetuiging

Ik dank prof. Peter Hespel voor het kritisch nalezen van dit manuscript.

Abstract

AMP-activated protein kinase (AMPK)

Cells with large fluctuations in energy consumption, like muscle cells, require a fine coupling between energy-demanding and energy-consuming processes. The AMP-activated protein kinase (AMPK) plays a crucial role in this coupling. AMPK is not only important for the intracellular energy homeostasis, but it also plays a role as a second messenger for hormonal signals. Consequently, AMPK is currently considered an important target for the development of pharmacotherapies for several metabolic disorders.

This review article aims to provide a short physiological and biochemical introduction to AMPK and discusses some of the possible clinical applications.

LITERATUUR

1. BEG ZH, ALLMANN DW, GIBSON DM. Modulation of 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase activity with cAMP and with protein fractions of rat liver cytosol. *Biochem Biophys Res Commun* 1973; 54: 1362-1369.
2. HARDIE DG, CARLING D. The AMP-activated protein kinase. Fuel gauge of the mammalian cell? *Eur J Biochem* 1997; 246: 259-273.
3. WOJTAZIEWSKI JF, NIELSEN P, HANSEN BF, RICHTER EA, KIENS B. Isoform-specific and exercise intensity-dependent activation of 5'-AMP-activated protein kinase in human skeletal muscle. *J Physiol* 2000; 528 Pt 1: 221-226.
4. WINDER WW. Energy-sensing and signaling by AMP-activated protein kinase in skeletal muscle. *J Appl Physiol* 2001; 91: 1017-1028.
5. MERRILL GF, KURTH EJ, HARDIE DG, WINDER WW. AICA riboside increases AMP-activated protein kinase, fatty acid oxidation, and glucose uptake in rat muscle. *Am J Physiol* 1997; 273: E1107-E1112.
6. WOJTAZIEWSKI JF, JORGENSEN SB, HELLSTEN Y, HARDIE DG, RICHTER EA. Glycogen-dependent effects of 5-aminoimidazole-4-carboxamide (AICA)-riboside on AMP-activated protein kinase and glycogen synthase activities in rat skeletal muscle. *Diabetes* 2002; 51: 284-292.
7. HARDIE DG, HAWLEY SA. AMP-activated protein kinase: the energy charge hypothesis revisited. *Bioessays* 2001; 23: 1112-1119.
8. FRIEDMAN JM, HALAAS JL. Leptin and the regulation of body weight in mammals. *Nature* 1998; 395: 763-770.
9. MINOKOSHI Y, KIM YB, PERONI OD, et al. Leptin stimulates fatty-acid oxidation by activating AMP-activated protein kinase. *Nature* 2002; 415: 339-343.
10. HALAAS JL, GAJIWALA KS, MAFFEI M, et al. Weight-reducing effects of the plasma protein encoded by the obese gene. *Science* 1995; 269: 543-546.
11. MAFFEI M, HALAAS J, RAVUSSIN E, et al. Leptin levels in human and rodent: measurement of plasma leptin and of RNA in obese and weight-reduced subjects. *Nat Med* 1995; 1: 1155-1161.
12. HEYMSFIELD SB, GREENBERG AS, FUJIOKA K, et al. Recombinant leptin for weight loss in obese and lean adults: a randomized, controlled, dose-escalation trial. *JAMA* 1999; 282: 1568-1575.
13. LEE DW, LEINUNG MC, ROZHAVSKAYA-ARENA M, GRASSO P. Leptin and the treatment of obesity: its current status. *Eur J Pharmacol* 2002; 440: 129-139.
14. UNGER RH. Lipotoxic diseases. *Annu Rev Med* 2002; 53: 319-336.
15. FRIEDMAN J. Fat in all the wrong places. *Nature* 2002; 415: 268-269.
16. RUDERMAN N, SAHA AK, VAVVAS D, WITTERS LE. Malonyl-CoA, fuel sensing, and insulin resistance. *Am J Physiol* 1999; 276: E1-E18.
17. SHIMOMURA I, HAMMER RE, IKEMOTO S, BROWN MS, GOLDSTEIN JL. Leptin reverses insulin resistance and diabetes mellitus in mice with congenital lipodystrophy. *Nature* 1999; 401: 73-76.

18. WINDER WW, HARDIE DG. AMP-activated protein kinase, a metabolic master switch: possible roles in type 2 diabetes. *Am J Physiol* 1999; 277: E1-E10.
19. SONG XM, FIEDLER M, GALUSKA D, et al. 5-Aminoimidazole-4-carboxamide ribonucleoside treatment improves glucose homeostasis in insulin-resistant diabetic (ob/ob) mice. *Diabetologia* 2002; 45: 56-65.
20. ZHOU G, MYERS R, LI Y, CHEN Y, et al. Role of AMP-activated protein kinase in mechanism of metformin action. *J Clin Invest* 2001; 108: 1167-1174.
21. FRYER LG, PARBU-PATEL A, CARLING D. The anti-diabetic drugs rosiglitazone and metformin stimulate AMP-activated protein kinase through distinct pathways. *J Biol Chem* 2002; 277: 25226-25232.
22. MUSI N, FUJII N, HIRSHMAN MF, et al. AMP-activated protein kinase (AMPK) is activated in muscle of subjects with type 2 diabetes during exercise. *Diabetes* 2001; 50: 921-927.
23. FISHER JS, GAO J, HAN DH, HOLLOSZY JO, NOLTE LA. Activation of AMP kinase enhances sensitivity of muscle glucose transport to insulin. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2002; 282: E18-E23.
24. DURANTE PE, MUSTARD KJ, PARK SH, WINDER WW, HARDIE DG. Effects of endurance training on activity and expression of AMP- activated protein kinase isoforms in rat muscles. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2002; 283: E178-E186.
25. DERAVE W, HESPEL P. Fysieke activiteit, insulinegevoeligheid en type-2-diabetes. *Tijdschr Geneesk* 2001; 57: 529-534.