

LA AMPK Y LA HOMEOSTASIS ENERGÉTICA*

Selene Fragoso Iñiguez ¹ y Patricia Coello Coutiño²

RESUMEN

Debido a la necesidad de mantener la homeostasis energética en los organismos, es una prioridad para los seres vivos el contar con una enzima capaz de evaluar el contenido energético celular. En células animales, la Cinasa Activada por AMP, AMPK (por sus siglas en inglés) es una enzima que regula algunos procesos metabólicos de acuerdo al estado energético; se activa durante el ejercicio, diabetes tipo II, obesidad y anoxia por lo que ha sido propuesta como un regulador metabólico durante condiciones energéticas anormales. Esta enzima es un complejo heterotrimérico que se activa alostéricamente por AMP, sin embargo para su completa activación necesita ser fosforilada por una cinasa río arriba conocida como LKB1. En todos los eucariontes analizados se encuentran complejos ortólogos a AMPK, lo que sugiere una alta conservación funcional en el control metabólico.

PALABRAS CLAVE: AMPK, SnRK1, ATP.

ABSTRACT

Energetic homeostasis is a priority for all the organisms. Therefore, it is very important to have an enzyme capable of evaluating the changes in energetic status. In animal cells, the AMP Activated Kinase (AMPK) is an enzyme that regulates some metabolic pathways according to the energetic status. This enzyme is activated during exercise, type II diabetes, obesity and anoxia, and it has been postulated as a metabolic regulator during abnormal energetic conditions. This enzyme is a heterotrimeric complex that is activated allosterically by AMP; however, for a complete activation, it needs to be phosphorylated by an upstream kinase, LKB1. There have been found orthologs to AMPK in all the eukaryotes analyzed so far, suggesting a high functional conservation in the metabolic control.

KEY WORDS: AMPK, SnRK1, ATP.

INTRODUCCIÓN

¡Vivir resulta a veces tan apremiante! Estamos siempre ocupados en miles de asuntos a la vez que terminamos haciendo las cosas de una manera autónoma, nos enfocamos sólo en lo que nos interesa y hemos perdido la capacidad de observar los detalles de la vida que la hacen tan compleja, pero estas sutilezas pueden resultar sumamente importantes, puesto que si nuestro organismo no funciona adecuadamente sería imposible realizar todo lo que necesitamos hacer día con día. Pero... ¿Quién y cómo se encarga del buen funcionamiento de nuestro organismo?

Para sobrevivir necesitamos energía y ésta se obtiene de nuestro medio am-

biente, sin embargo esto no es suficiente ya que para poder ser utilizada, la energía debe transformarse en el organismo. Los seres heterótrofos oxidan los alimentos a Acetil CoA obteniendo ATP a través del ciclo de Krebs y la fosforilación oxidativa, mientras que los autótrofos deben transformar la energía solar en ATP para poder utilizarla.

El ATP es una molécula clave en el metabolismo de los seres vivos, se considera universalmente como la "moneda energética de la célula" puesto que al hidrolizar los enlaces fosfato que contiene, se libera una gran cantidad de energía (7.3 Kcal /mol); en promedio un adulto necesita ingerir 2500 Kcal diarias, un mol de glucosa que se asimila en el cuerpo típicamen-

te produce 29 moles de ATP que equivalen a aproximadamente 212 Kcal. De manera que la energía celular puede medirse como el contenido de ATP. Sin embargo éste no es constante y varía de acuerdo a las condiciones fisiológicas, por lo que es necesario un mecanismo que indique cuando hay poco ATP y cuáles son los pasos que el organismo debe seguir para poder mantener su homeostasis energética. Existe una enzima denominada cinasa activada por AMP o **AMPK** (por sus siglas en inglés, **AMP** activated **Kinase**) que se activa cuando disminuye el contenido de ATP y aumenta el de AMP, esta enzima es capaz de apagar vías que consumen ATP y encender otras que ayuden a conservarlo (1).

*Recibido: 13 de marzo de 2008 Aceptado: 10 junio de 2008 (artículo publicado extemporáneamente)

¹Posgrado en Ciencias Bioquímicas ²Departamento de Bioquímica, Facultad de Química. Universidad Nacional Autónoma de México, México, D.F., Delegación Coyoacán, CP 04510 Teléfono 56225280, Correo E: selenefi@yahoo.com.mx

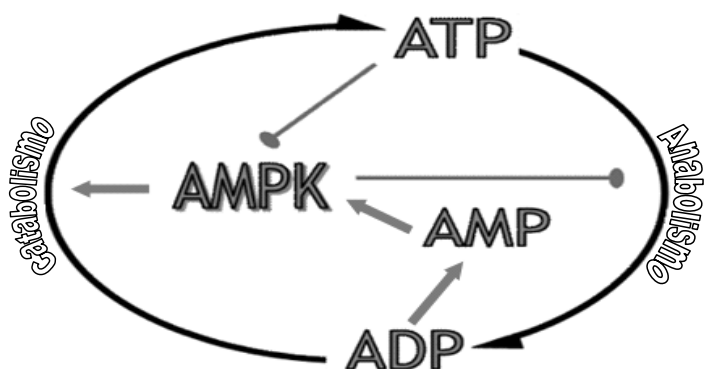


Figura 1. Activación de AMPK dependiendo de la carga energética de la célula. De manera general en las vías anabólicas el ATP, se convierte a ADP y finalmente a AMP lo que repercute en la activación de la AMPK, ésta enciende vías catabólicas e inhibe las anabólicas lo que permite optimizar el contenido de ATP.

Por esta razón se le ha atribuido a la AMPK un papel preponderante en el balance energético del organismo, regulando la ingesta de alimentos y el gasto energético. En este mismo contexto y de forma muy particular, se ha visto que la AMPK podría estar mediando la acción de adiponectina y leptina las cuales, junto con el ejercicio tienen un efecto protector contra la obesidad y la diabetes, por lo que en una visión más bien farmacológica es muy probable que se estimule a la AMPK con fines profilácticos y de tratamiento de estas enfermedades.

Composición y Regulación de la AMPK

La AMPK es un complejo heterotrimérico formado por tres

¿Es posible que esta enzima resulte ser una especie de "detector" metabólico capaz de monitorear los niveles de ATP?, en esta revisión trataremos de proporcionar datos al respecto.

AMPK

La mayoría de los procesos celulares que consumen energía lo hacen impulsados por el paso de ATP a ADP. Cuando algún estrés hace que esta relación disminuya, aumenta el contenido intracelular de AMP lo que activa a la AMPK (Fig. 1), por ejemplo durante el ejercicio, la isquemia y también en la diabetes, en donde, a pesar de haber glucosa en la sangre, ésta no puede entrar a la célula y por lo tanto la célula resiente la falta de energía.

Una vez activada, la AMPK fosforila un gran número de proteínas provocando el apagamiento de ciertas vías anabólicas que consumen energía, como la biosíntesis de macromoléculas, crecimiento y proliferación celular, mientras que enciende las vías que producen ATP como la glucólisis y la oxidación de ácidos grasos. Esto puede ser a través de la fosforilación de enzimas involucradas directamente en la regulación de las vías correspondientes, o a través de regular la expresión génica de la célula (Fig. 2).

Otros factores que activan a la AMPK son adipocinas (Cuadro 1) como la adiponectina y la leptina (2).

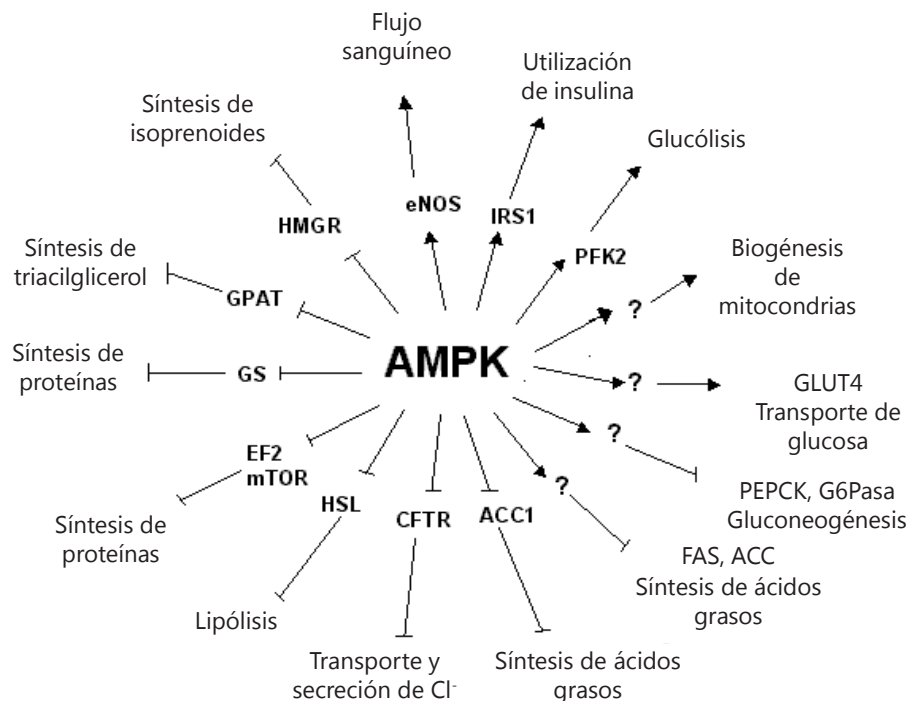


Figura 2. Blancos de AMPK. Las proteínas y procesos activados por AMPK se indican con una flecha, mientras que los inhibidos con una flecha sin punta. Cuando el efecto es causado por un cambio en la expresión génica se colocó un signo de interrogación pues no se conoce el factor de transcripción sobre el que actúa la AMPK. Abreviaciones ACC, acetil-CoA carboxilasa; CFTR, regulador transmembranal de la fibrosis quística; EF2, factor de elongación 2; eNOS sintasa endotelial de óxido nítrico; FAS, sintasa de ácidos grasos; PEPCK, fosfoenolpiruvato carboxicinas; G6Pasa, glucosa-6-fosfatasa; GPAT, glicerol-3-fosfato aciltransferasa; GLUT4, transportador de glucosa; GS, glucógeno sintasa; HMGR, 3-hidroxi-3-metilglutaril-CoA reductasa; HSL, hormona sensible a lipasa; IRS1, sustrato receptor de insulina; PFK2, fosfofructocinas; mTOR, blanco de rapamicina en mamíferos. Adaptado de de la referencia 1.

En años recientes se ha cambiado el concepto de que el tejido adiposo blanco sólo sirve como reservorio de energía en forma de grasa, ahora se sabe que este tejido es altamente dinámico y se encuentra involucrado en una gran variedad de procesos fisiológicos y metabólicos. Además de acumular/liberar ácidos grasos, los adipocitos secretan adipocinas, que son proteínas con propiedades de señalización que participan en una gran variedad de procesos como el balance energético, inmunidad, sensibilidad a insulina, formación de nuevos vasos sanguíneos, presión sanguínea, metabolismo de lípidos y hemostasis, de las cuales se han descrito cerca de 50 variedades (15).*

Dos de estas adipocinas han sido ampliamente estudiadas, la Adiponectina y la leptina

Adiponectina. Suprime la producción hepática de glucosa, reduce la resistencia a la insulina través de disminuir el contenido de triglicéridos; incrementa la oxidación de ácidos grasos, favorece la toma de glucosa y la producción de lactato en miocitos, la fosforilación de acetil-CoA carboxilasa y la reducción de moléculas involucradas en la gluconeogénesis en el hígado y la reducción de los niveles de glucosa (2).

Leptina: su secreción puede reducir el apetito e incrementar el gasto energético (favorece la lipólisis). Ha sido asociada también con la angiogenesis, la hematopoyesis, la inmunidad y la formación de huesos y se piensa que juega un papel importante en el desarrollo sexual normal y en la reproducción (15).

**Proceso mediante el cual se detiene el sangrado y cuyo mecanismo final para conseguirlo es la coagulación.*

Cuadro 1. El tejido graso es dinámico.

subunidades, una catalítica conocida como α y dos reguladoras β y γ . En humanos existen dos isoformas de la α ($\alpha 1$ y $\alpha 2$), dos de la subunidad β ($\beta 1$ y $\beta 2$) y tres de la γ ($\gamma 1$, $\gamma 2$, y $\gamma 3$). La expresión de la subunidad $\alpha 1$ es citoplásmica y parece ser ubicua en el cuerpo, mientras que la subunidad $\alpha 2$ se restringe al corazón, músculo e hígado pero puede estar localizada tanto en el citoplasma como en el núcleo (3). Esta subunidad está constituida por dos dominios, uno con la actividad de cinasa (DK) y un dominio autorregulador (DR).

La subunidad β contiene tres dominios: hacia el N-terminal un dominio de unión a glucógeno (GBD, Glucogen Binding Domain), el dominio KIS (por sus siglas en inglés, Kinase Interacting Sequence) y el dominio ASC (Association with Snf1 Complex) en el extremo C-terminal. Mediante el dominio KIS se une a la subunidad α mientras que la subunidad γ une al ASC, por lo que esta subunidad constituye la base del complejo, permitiendo la interacción

entre las tres subunidades.

Finalmente la subunidad γ está formada básicamente por dos motivos Bateman, constituidos a su vez por cuatro CBS (Cystathione β synthase), los cuales pueden unir ligandos que contengan adenosina, como AMP, ATP o S-Adenosilmetionina, lo que sugiere que es realmente la subunidad γ la que está monitoreando el contenido celular de ATP y AMP. De manera interesante, mutaciones en esta subunidad conducen a enfermedades cardíacas (4).

El modelo propuesto para la regulación de AMPK postula que en presencia de altos niveles de ATP, el DR de la subunidad α , enmascara al DK; cuando estos niveles caen y aumenta el contenido de AMP, la subunidad γ une AMP lo que produce un cambio conformacional exponiendo el dominio catalítico para facilitar su acción (Fig. 3). Sin embargo, para la activación completa del complejo es necesaria la fosforilación de la subunidad α en un residuo de treonina; en humanos es la T172, fosforilación que es

llevada a cabo por la cinasa de proteínas LKB1 (Conocida también como STK11, Serine/Threonine Kinase, y que ha sido descrita como supresor tumoral), en algunas células de origen neuronal donde no existe expresión de la LKB1, la AMPK puede ser fosforilada por la cinasa CaMKK- β (Calmodulin dependent protein Kinase Kinase) (5).

Si no tienes energía, no piensas en reproducirte

La LKB1, había sido ampliamente estudiada antes de que se conociera la función descrita, ya que el gen correspondiente está mutado en pacientes con el síndrome de Peutz-Jeghers, el cual se caracteriza por una predisposición a desarrollar tumores en el tracto digestivo (6).

De manera que la LKB1 está íntimamente ligada con el desarrollo de cáncer. Se propone que en el síndrome Peutz-Jeghers la propensión a la formación de tumores se debe a que no hay quien active a la AMPK y por tanto no existe quien detecte los niveles energéticos de la célula y regule el metabolismo, lo que deriva en que la célula no registre cambios en su contenido energético y siga reproduciéndose. Esta conexión entre cáncer y energía resume bastante bien la importancia que tiene la AMPK en el mantenimiento de la homeostasis energética.

SNF1 y su papel dentro del metabolismo del carbono

Snf1 (por sus siglas en inglés Sucrose Non Fermenting) es la proteína homóloga a la AMPK en la levadura (*Saccharomyces cereviceae*), este microorganismo utiliza como fuente de energía preferida la glucosa, a través de un proceso conocido como fermentación en donde la energía química contenida en la glucosa es liberada mediante su degradación a etanol a través de la glucólisis.

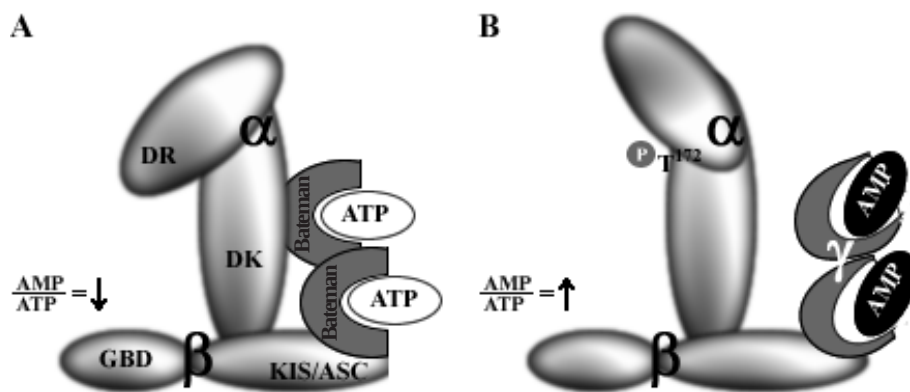


Figura 3. Activación de AMPK. El dominio catalítico (DK) de la subunidad α permanece bloqueado mientras los niveles de ATP son normales (A), cuando éstos disminuyen la subunidad γ sufre una modificación conformacional debida a la unión con AMP, esto permite que el dominio catalítico se exponga y que se fosforile la T172 completando así el estado de activación del complejo (B).

Las levaduras pueden adaptar su metabolismo para utilizar otras fuentes de carbono como sacarosa e incluso etanol. Esto se logra a través de la combinación de dos mecanismos principalmente, la inducción y la represión por glucosa (7). En presencia de glucosa, varios genes que codifican para

proteínas que permiten el uso de otros carbohidratos, permanecen reprimidos transcripcionalmente; esta represión se da por la acción de la proteína Mig 1 (Multicopy Inhibitor of GAL genes), que en presencia de glucosa, se une a los promotores de los genes blanco. En ausencia de glucosa, Mig1

se fosforila y se transloca rápidamente al citoplasma, liberando a los genes blanco de la represión, permitiendo así la utilización de fuentes alternas de carbono (Fig. 4) (8).

La proteína responsable de la fosforilación de Mig1 es Snf1 quien recibió este nombre porque la mutante $\Delta snf1$ es incapaz de crecer en ausencia de glucosa. El gen *snf1* es esencial para el crecimiento en cualquier fuente alterna de carbono puesto que se necesita para la activación de los genes reprimidos por glucosa pero además, es necesario para la esporulación, la acumulación de glucógeno y la biogénesis de peroxisomas (9), por lo que Snf1 tiene un papel clave en el metabolismo de la levadura.

Cinasas Relacionadas con Snf1

Existen cinasas homólogas de AMPK y por tanto de Snf1, en un gran número de organismos eucariontes; esto ha sido comprobado mediante la búsqueda no sólo del gen, sino de la

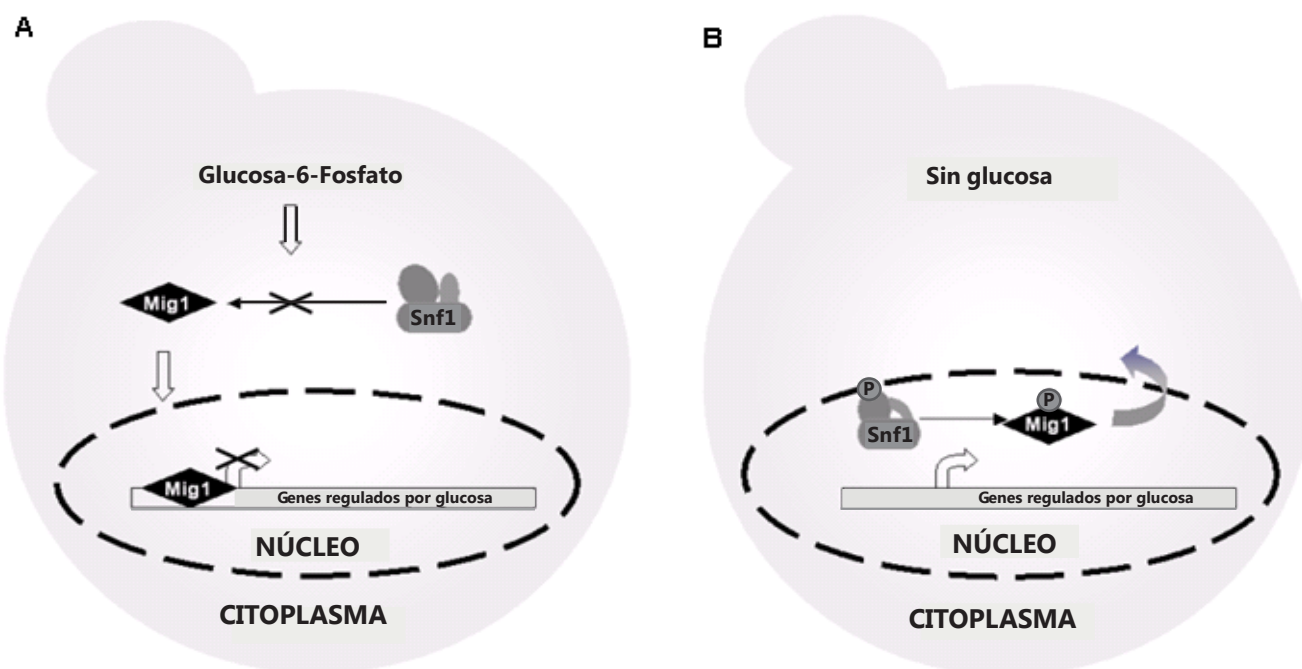


Figura 4. Representación esquemática de la represión por glucosa en levadura. (A) En presencia de glucosa, Mig1 entra al núcleo donde se une a los promotores de los genes reprimidos por glucosa impidiendo su transcripción. (B) En ausencia de glucosa, el complejo Snf1 fosforila a Mig1 y con ello se exporta del núcleo favoreciendo la expresión de los genes reprimidos por glucosa.

actividad de AMPK. Con este fin y puesto que tanto AMPK como Snf1 presentan dominios catalíticos altamente conservados, se han podido diseñar péptidos sintéticos para la evaluación de la actividad de AMPK; por ejemplo, la acetil-CoA carboxilasa es un sustrato conocido de la AMPK y a partir de su secuencia de aminoácidos se diseñó el péptido SAMS (10), un péptido que ha resultado sumamente útil en la caracterización de cinasas relacionadas con Snf1 (SnRK por *Snf1 Related Kinases*) de plantas.

En plantas, la primera secuencia de una cinasa relacionada con Snf1 (SnRK) se publicó en 1991 y desde entonces se han identificado 73 proteínas más que forman parte de esta familia. Estas pueden ser clasificadas en tres subfamilias SnRK1, SnRK2 y SnRK3. Se considera SnRK1 como la homóloga funcional a AMPK y Snf1. Se han descrito miembros de esta subfamilia en centeno, cebada, papa, trigo y *Arabidopsis* entre otros. Este subgrupo puede ser dividido a su vez en SnRK1a, que está presente en todas las plantas y SnRK1b, que está representado sólo en los cereales (11, 12). Las SnRK de plantas tienen como sustratos *in vitro* a la HMG-CoA

reductasa, la sacarosa fosfato sintasa y la nitrato reductasa, inactivándolas al fosforilarlas (13).

Además, la expresión en antisentido de una SnRK1 en papa, resultó en un aumento de la expresión de genes que codifican para la sacarosa sintasa y la ADP-glucosa pirofosforilasa, enzimas clave en el paso de sacarosa a almidón (14). Se ha demostrado también que, SnRK1 es necesaria para la expresión de la α -amilasa (15). Esto sugiere que estas enzimas, en analogía con las AMPK, pueden regular varias vías biosintéticas incluyendo la síntesis de isoprenoides, la síntesis de sacarosa y la asimilación del nitrógeno a través de la fosforilación directa de las enzimas claves de dichos procesos o regulando la expresión génica.

CONSIDERACIONES FINALES

Recientemente se ha postulado que la unión de AMP en la subunidad γ , no es el único mecanismo en que esta subunidad participa en la activación del complejo, ya que existe una secuencia pseudosustrato en ella, la cual mantiene bloqueado el sitio activo de α hasta que la unión del AMP produce un cambio conformacional que favorece la

activación (16). Esta información puede ser de mucha utilidad en el desarrollo de fármacos para activar al complejo, cuyo blanco sea γ .

La información que se tiene de estas cinasas de proteínas ha permitido proponer que la familia AMPK/Snf1/SnRK1, tiene la función principal de ser una especie de "sensor" del contenido energético de la célula ya sea animal o vegetal, lo que a su vez actuaría activando procesos metabólicos esenciales para permitir el funcionamiento óptimo del organismo, incluso en condiciones de estrés.

La existencia de homólogos al complejo AMPK/Snf1/SnRK1, en todos los seres vivos en que se ha buscado, sugiere que este complejo es indispensable para la supervivencia de los seres vivos y que debe haber surgido tempranamente en la evolución para solventar la necesidad innata de los organismos de mantener la homeostasis, particularmente la energética.

AGRADECIMIENTOS

A los Doctores Estela Sánchez de Jiménez y Mario Rocha Sosa por la revisión crítica de este escrito.

REFERENCIAS

1. Hardie DG, Scott JW, Pan DA, Hudson ER (2003) Management of cellular energy by the AMP-activated protein kinase system. *FEBS Letters* 548: 113-120.
2. Yamauchi T, Kamon J, Minokoshi Y, Ito Y, Wak H, Uchida S, Yamashita S, Noda M, Kita S, Ueki K, Eto K, Akanuma F, Foufelle F, Ferre P, Carling D, Kimura S, Naga R, Kahn B, Kadowaki T (2002) Adiponectin stimulates glucose utilization and fatty-acid oxidation by activating AMP-activated protein kinase. *Nat Med* 8: 1288-1295.
3. Nielsen JN, Mustard KJ, Graham DA, Yu H, MacDonald CS, Pilegaard H, Goodyear LJ, Hardie DG, Richter EA, Wojtaszewski JF (2003) 5'-AMP-activated protein kinase activity and subunit expression in exercise-trained human skeletal muscle. *J Appl Physiol* 94: 631-641.
4. Scott WJ, Hawley SA, Green KA, Anis M, Stewart G, Scullion GA, Norman DG, Hardie G (2004) CBS domains form energy-sensing modules whose binding of adenosine ligands is disrupted by disease mutations. *J Clin Invest* 113:274-284.

5. Hardie DG, Sakamoto K (2006) AMPK: a key sensor of fuel and energy status in skeletal muscle. *Physiology (Bethesda)* 21:48-60.
6. Forcet C, Etienne-Manneville S, Gaudin H, Fournier L, Debilly S, Salmi M, Baas A, Olschwang S, Clevers H, Billaud M (2005) Functional analysis of Peutz-Jeghers mutations reveal that the LKB1 C-terminal region exerts a crucial role in regulating both the AMPK pathway and the cell polarity. *Hum Mol Genet* 14:1283-1292.
7. Rolland F, Winderickx J, Thevelein JM (2002) Glucose-sensing and -signaling mechanisms in yeast. *FEMS Yeast Res* 2:183-20.
8. De Wit MJ, Waddell JA, Johnston M (1997) Regulated nuclear translocation of the Mig1 glucose repressor. *Mol Biol Cell* 8:1603-1618.
9. Halford NG, Hardie DG (1998) SNF1-related protein kinases: global regulators of carbon metabolism in plants. *Plant Mol Biol* 37: 735-748.
10. Davies SP, Carling D, Hardie DG (1989) Tissue distribution of the AMP-activated protein kinase, and lack of activation by cyclic-AMP-dependent protein kinase, studied using a specific and sensitive peptide assay. *Eur J Biochem* 186:213-128.
11. Halford N, Hey S, Jhureea D, Laurie S, McKibbin RS, Paul M, Zhang Y (2003) Metabolic signaling and carbon partitioning: role of Snf1-related (SnRK1) protein kinase. *J Exp Bot* 54:467-475.
12. Sudgen C, Donaghy PG, Halford NG, Hardie G (1999) Two SNF1-related protein kinases from spinach leaf phosphorylate and inactivate 3-hydroxy, 3-methylglutaryl-coenzyme A reductase, nitrate reductase and sucrose phosphate synthase in vitro. *Plant Physiol* 120:257-274.
13. McKibbin RS, Muttucumaru N, Paul MJ, Powers SJ, Burrell MM, Coates S, Purcell PC, Tiessen A, Geigenberger P, Halford N (2006) Production of high, low-glucose potatoes through over-expression of the metabolic regulator SnRK1. *Plant Biotechnol J* 4:409-418.
14. Laurie S, McKibbin RS, Halford NG (2003) Antisense SnF1-related (SnRK1) protein kinase gene represses transient activity of an alpha-amylase (alpha-Amy2) gene promoter in cultured wheat embryos. *J Exp Bot* 54:739-747.
15. Trayhurn P, Wood IS (2004) Adipokines: inflammation and the pleiotropic role of white adipose tissue. *Br J Nutr* 92:347-355.
16. Scott JW, Ross FA, Liu JKD, Hardie DG (2007) Regulation of AMP-activated protein kinase by a pseudosubstrate sequence on the gamma subunit. *EMBO J* 26:806-815.