

---

# PAPEL DE LA PROTEÍNA QUINASA ACTIVADA POR AMP (AMPK) EN EL METABOLISMO Y BALANCE ENERGÉTICO

---

Trabajo Fin de Grado

Revisión bibliográfica

*Departamento de Bioquímica  
y Biología Molecular y Celular*

AUTOR: JAIME MARTÍN GARCÍA  
DIRECTORA: MARÍA ITURRALDE NAVARRO  
Curso 2021-2022

# Contenido

1-Abstract.....	2
2-Introducción.....	3
2.1-Obesidad y balance energético.....	3
2.2-Regulación del balance energético en el hipotálamo: Señales de saciedad.....	4
3-Objetivos de la revisión.....	8
4-Metodología.....	8
5-Papel de la AMPK en el metabolismo y su regulación .....	9
5.1-AMPK.....	9
5.2-Papel de la AMPK en la regulación hipotalámica del balance energético .....	11
5.3-Efectos de AMPK en la célula.....	13
5.4-Papel de la AMPK en la termogénesis .....	14
5.5-AMPK en la regulación de la homeostasis de la glucosa .....	16
5.6 Aproximaciones terapéuticas a la AMPK .....	19
6-Conclusions.....	21
7-Bibliografía .....	23

## 1-Abstract

Obesity is an increasing problem in the most developed countries, and there has been a clear increase in its incidence over the last 30 years. Within the control of this pandemic, the study of metabolism and its regulatory mechanisms has become very important, and among them is AMP-activated protein kinase (AMPK). AMPK is a protein kinase with an essential role in a variety of metabolic processes. 1) it acts as a sensor of the cell's energy status, through the AMP/ATP and ADP/ATP ratios, causing changes in the cell's metabolism; 2) it is a mediator in the processes of regulation of the energy balance carried out in the hypothalamus, modulating its action through interaction with certain hormones. All this causes changes in gene expression (POMC, AgRP and NPY peptides, among others) in the neurons of the hypothalamus; 3) it has a regulatory role in thermogenesis, inducing or inhibiting the utilization of brown adipose tissue reserves; 4) it acts as a sensor of circulating glucose, being able to respond to its variations. For all these reasons, AMPK could be a very promising pharmacological target. There are drugs that exert their action through AMPK, such as metformin, an antidiabetic drug, and there are others under study, such as the compound MT 63-78. However, more studies are needed on AMPK, as well as its possible use in pharmacology.

## Resumen

La obesidad se presenta como un problema cada vez mayor en los países más desarrollados, habiéndose producido un claro incremento en su incidencia a lo largo de los últimos 30 años. Dentro del control de dicha pandemia, el estudio del metabolismo y sus mecanismos de regulación ha cobrado gran importancia, y entre ellos se encuentra la proteína quinasa activada por AMP (AMPK). AMPK es una proteína quinasa con un papel esencial en una variedad de procesos metabólicos. 1) actúa como un sensor del estado energético de la célula, a través de los ratios AMP/ATP y ADP/ATP, provocando cambios en el metabolismo de la célula; 2) es un mediador en los procesos de regulación del balance energético llevados a cabo en el hipotálamo, modulando su acción a través de la interacción con determinadas hormonas. Todo ello provoca cambios en la expresión de genes (péptidos POMC, AgRP y NPY, entre otros) en las neuronas del hipotálamo; 3) tiene un papel regulador en la termogénesis, induciendo o inhibiendo la utilización de las reservas del tejido adiposo pardo; 4) actúa como sensor de la glucosa circulante, siendo capaz de responder a sus variaciones. Por todo esto, la AMPK podría tratarse de una diana farmacológica muy prometedora. Existen fármacos que ejercen su acción a través de la AMPK, como la metformina, un fármaco antidiabético, y hay otros en estudio como el compuesto MT 63-78. Sin embargo, son necesarios más estudios sobre la AMPK, así como de su posible uso en farmacología.

## 2-Introducción

### 2.1-Obesidad y balance energético

La obesidad es un problema de salud pública a nivel global, especialmente en los países más desarrollados<sup>(1)</sup>. Los datos acerca de esta enfermedad son abrumadores, siendo en Europa ya más de la mitad de la población obesa o en estado de sobrepeso<sup>(2)</sup>. Además, la tendencia en los últimos años respecto a la obesidad es de claro crecimiento, habiéndose producido un incremento en la prevalencia de la obesidad en el mundo en los últimos 30 años del 27.5% en adultos y del 47.1% en niños<sup>(3)</sup>, figura 1. Esta tendencia generalizada no solo muestra un incremento en la cantidad de población obesa en general, sino un incremento considerablemente superior en la población infantil, lo cual dará lugar a un aumento aún mayor en la cantidad de obesos en las poblaciones adultas futuras.

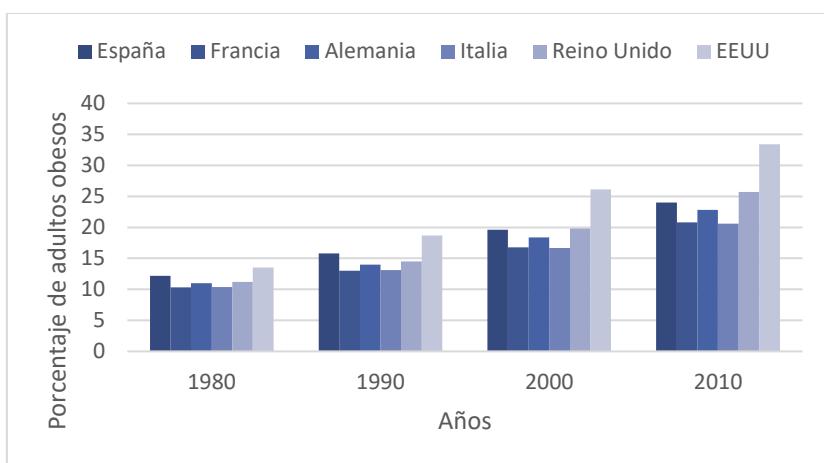


Figura 1<sup>(34)</sup>: Representación gráfica del porcentaje de adultos obesos en los principales países de la Unión Europea y Estados Unidos entre los años 1980 y 2010, basada en los datos de la Organización Mundial de la Salud. Se puede observar una clara tendencia al alza en todos estos países, causa de la creciente preocupación sobre la incidencia de esta enfermedad a nivel global.

La obesidad se define como un estado de adiposidad excesiva, con un índice de masa corporal (IMC) superior a 30 kg/m<sup>2</sup> (el sobrepeso se considera con un IMC entre 25 y 29.99 kg/m<sup>2</sup>)<sup>(4)</sup>, el cual provoca un riesgo para la salud del individuo y una mayor probabilidad de desarrollar enfermedades<sup>(5)</sup>, entre las que se encuentran la diabetes de tipo 2, la hipertensión y las enfermedades cardiovasculares<sup>(6)</sup>. El riesgo derivado del padecimiento de obesidad es tal, que cada 5 puntos de incremento del IMC por encima de los 25 kg/m<sup>2</sup> provocan un incremento medio en la mortalidad del 29%, un incremento en la mortalidad por enfermedad cardiovascular del 41% y un incremento por causas relacionadas con las diabetes del 210%<sup>(3)</sup>.

El desarrollo de la obesidad está directamente relacionado con un desequilibrio en el balance energético. El balance energético es un concepto que hace referencia al balance entre la energía que recibe el cuerpo a partir del alimento que se le introduce, y la energía que el cuerpo invierte en llevar a cabo sus funciones vitales. Cuando este balance es positivo, es decir, la cantidad de energía que entra en el cuerpo supera a la

cantidad de energía gastada, este exceso se almacena en el tejido adiposo<sup>(4)</sup>. La obesidad se establece como resultado de un balance energético positivo sostenido en el tiempo<sup>(7)</sup>.

El control de este balance energético es un proceso altamente regulado por el organismo. Aunque muchos factores ajenos al propio organismo, como factores sociales o el coste de los alimentos afectan directamente al aporte energético a corto plazo, la mayoría de las personas son capaces de llevar a cabo una homeostasis energética a largo plazo con elevada precisión gracias a determinados mecanismos moleculares<sup>(8)</sup>.

Aunque parezca muy simple reducir un comportamiento como la alimentación a una serie de mecanismos moleculares, la importancia de estos mecanismos de regulación es tal con respecto al desarrollo de la obesidad que se han encontrado mutaciones en determinados genes relacionadas directamente con la aparición de la obesidad<sup>(9,10)</sup>.

Conocedores tanto de la incidencia como de la gravedad de la obesidad (y el sobrepeso). El estudio de los mecanismos moleculares que tienen relación directa con este problema se presenta como un tema de gran interés científico.

## 2.2-Regulación del balance energético en el hipotálamo: Señales de saciedad

El hipotálamo se encuentra localizado en la base del cerebro, concretamente alrededor del tercer ventrículo cerebral, y tiene un peso en el humano adulto de en torno a los 2.5 gramos<sup>(11)</sup>. Se trata de un área muy compleja, que se divide en 5 regiones: Área preóptica, área hipotalámica anterior, región tuberal, región mamilar y materia blanca<sup>(12)</sup>, las cuales además se subdividen en más regiones, entre las cuales se encuentra el núcleo arcuato, localizado en la región tuberal del hipotálamo<sup>(12)</sup>, con una función esencial en el control metabólico del organismo.

El núcleo arcuato integra señales tanto nutricionales como hormonales para generar una respuesta metabólica coordinada. Dentro del núcleo arcuato, encontramos dos principales poblaciones de neuronas: Por un lado las anorexigénicas, que secretan pro-opiomelanocortina (POMC) y son supresoras del apetito, y por otro lado las orexigénicas, que secretan proteína relacionada con el agutí (AgRP) y neuropéptido-Y (NPY), estimulantes del apetito<sup>(13),(14)</sup>. Por otro lado, el núcleo ventromedial del hipotálamo integra señales periféricas como el péptido similar al glucagón (GLP1) u hormonas tiroideas, que disminuyen la actividad de la proteína quinasa activada por AMP (AMPK) e inducen cambios a nivel metabólico en el organismo<sup>(35)</sup>, figura 2.

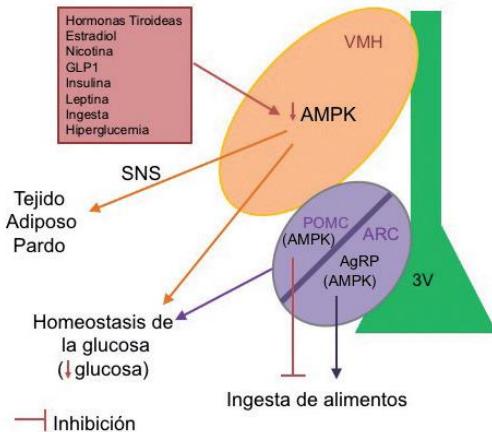


Figura 2<sup>(35)</sup>: En el núcleo arcuado del hipotálamo (ARC) se regula la ingesta de alimentos a través de dos poblaciones neuronales, unas anorexigénicas, que secretan proopiomelanocortina (POMC) y que inhiben la ingesta de alimentos, y otras orexigénicas que liberan proteína relacionada con el agoutí (AgRP) y neuropéptido Y (NPY) y que estimulan la ingesta de alimentos, modulando la actividad de AMPK. El núcleo ventromedial del hipotálamo (VMH) integra señales periféricas como hormonas tiroideas o el péptido similar al glucagón (GLP1), que disminuyen la actividad de AMPK en el VMH y activa la termogénesis en el tejido adiposo pardo. Ambos núcleos están implicados en el control de la glucemia, ya que la AMPK es inhibida por altos niveles de glucosa para reducirlos a nivel periférico. 3V, tercer ventrículo.

### Neuronas Anorexigénicas

Las neuronas anorexigénicas se conectan con otras neuronas de segundo orden y que se encuentran en otras regiones del hipotálamo: núcleo paraventricular (área hipotalámica anterior), hipotálamo ventromedial (región tuberal), hipotálamo lateral (área hipotalámica anterior) y núcleo dorsomedial del hipotálamo (región tuberal), las cuales reciben información procedente del núcleo arcuado y la transmiten a circuitos nerviosos fuera del hipotálamo dando lugar a una respuesta coordinada<sup>(12),(13)</sup>, figura 3.

La POMC secretada por las neuronas anorexigénicas es precursora de la hormona estimulante de melanocitos (MSH), a la que da lugar tras modificaciones postraduccionales. La MSH se une a los receptores de melanocortina (MCR) MC3R y MC4R<sup>(16)</sup> situados en neuronas de segundo orden, provocando a nivel del organismo una supresión del apetito y un aumento del gasto energético<sup>(15)</sup>. El MC3R se expresa fuertemente en el hipotálamo ventromedial, mientras que MC4R se expresa con mayor intensidad en la región paraventricular del hipotálamo<sup>(14)</sup>.

Debido a su importancia en la regulación metabólica, la eliminación del gen MC4R en ratones provoca obesidad de carácter severo mientras que la eliminación de MC3R provocaba una obesidad más suave<sup>(14)</sup>). La eliminación de uno de los dos alelos del gen MC4R provoca una obesidad de menor gravedad, lo cual convierte dicho gen en una potencial diana para el tratamiento de la obesidad<sup>(17)</sup>. Sin embargo, diversos estudios con fármacos contra dicha diana mostraron como efectos adversos un incremento en la presión sanguínea y en la frecuencia cardíaca<sup>(18),(19)</sup>, lo cual detuvo el desarrollo de este tipo de fármacos. Sin embargo, ensayos posteriores con un fármaco agonista de MC4R denominado Setmelanotide demostraron su capacidad para disminuir la ingesta de

comida así como el peso corporal sin tener un impacto en la presión sanguínea ni en la frecuencia cardíaca, demostrando que es posible el tratamiento de la obesidad por estas vías<sup>(17)</sup>.

### Neuronas orexigénicas

En contraposición a las neuronas POMC, encontramos las neuronas AgRP/NPY (orexigénicas), responsables de la secreción de AgRP y NPY, cuyo efecto en el organismo es el de estimular el apetito y disminuir el gasto energético. Por un lado, AgRP actuará como agonista inverso de los receptores MC3R y MC4R, provocando pues un efecto inverso al que provocaba la POMC secretada por las neuronas anorexigénicas, mientras que NPY actuará a través de sus propios receptores, los NPY Y1 y NPY Y2<sup>(13)</sup>. Es importante mencionar que también producen Ácido  $\gamma$ -aminobutírico (GABA), neurotransmisor que se une a los receptores GABA inhibiendo la transmisión nerviosa<sup>(21)</sup>, inhibiendo de esta forma tanto neuronas anorexigénicas como otras poblaciones neuronales de segundo orden implicadas en la inhibición de la ingesta, como las neuronas del núcleo paraventricular<sup>(22)</sup>.

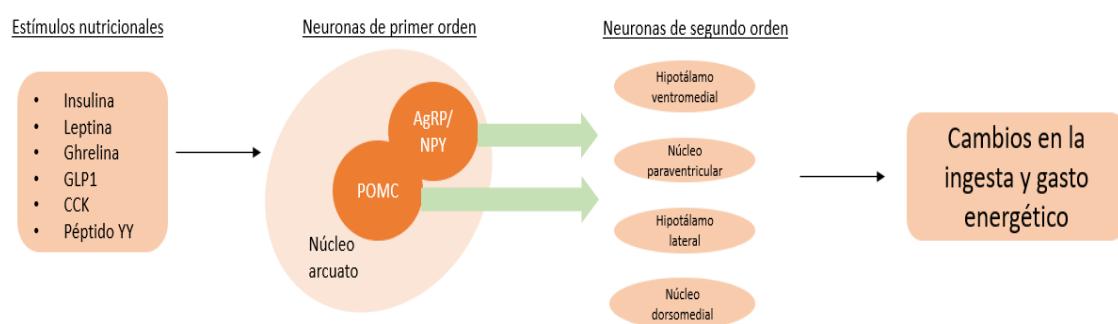


Figura 3<sup>(13,14)</sup>: Representación esquemática de la integración de estímulos nutricionales llevada a cabo en el hipotálamo por las neuronas del núcleo arcuato. Estas neuronas reciben estímulos en forma de hormonas procedentes de la circulación sanguínea, y transmiten la información a hormonas de segundo orden mediante diversos mecanismos, dando lugar a cambios a nivel metabólico en el organismo. Se distinguen dos poblaciones neuronales de primer orden en el núcleo arcuato, las anorexigénicas que secretan proopiomelanocortina (POMC), inhibidoras de la ingesta, y las orexigénicas, que secretan proteína relacionada con el agutí (AgRP) y neuropéptido Y (NPY).

### Leptina e insulina, sensores de adiposidad

La insulina es una hormona secretada por las células  $\beta$  del páncreas tras la ingesta de alimentos<sup>(23)</sup>. Por otro lado, la leptina circula por el torrente sanguíneo en función de la cantidad de grasa corporal en el organismo<sup>(24)</sup>, siendo ésta producida principalmente en el tejido adiposo blanco y siendo su producción inducida sobre todo por la insulina<sup>(25)</sup>.

Tanto la leptina como la insulina circulan por los vasos sanguíneos en concentraciones proporcionales al contenido de grasa corporal y al balance energético, lo cual las convierte en las principales hormonas responsables de controlar el peso corporal y la cantidad de tejido adiposo<sup>(24)</sup>.

Ambas hormonas son estimulantes de la expresión de POMC por parte de las neuronas anorexigénicas del hipotálamo<sup>(26)</sup>, e inhibidoras de la expresión de AgRP en las neuronas orexigénicas<sup>(30)</sup>. Las neuronas anorexigénicas y orexigénicas disponen de receptores tanto de insulina como de leptina. Cuando dichas hormonas se unen a sus respectivos receptores en las neuronas POMC y NPY/AgRP, provocan una cascada de transducción de señales que da lugar a un aumento en la síntesis del mRNA POMC y a una disminución en la síntesis de mRNA AgRP, cada uno en sus respectivas neuronas<sup>(30)</sup>. Por un lado, la leptina al unirse a su receptor provoca la activación de las quinasas Jano (JAK), la cual fosforilará el receptor de la leptina que a su vez activará el transductor de señal y activador de la transcripción 3 (STAT3). STAT3 será responsable de estimular la síntesis del mRNA POMC y de inhibir la síntesis del mRNA AgRP<sup>(30)</sup>. Por otro lado, tanto leptina como insulina activarán la fosfoinositol-3 quinasa (PI3K), la cual acabará inactivando el factor de transcripción FoxO1, que es un represor de la expresión del mRNA POMC y activador de la expresión del mRNA AgRP<sup>(30)</sup>. Además, esta cascada provocará también la inhibición AMPK a través de una vía mediada por la diana en mamíferos de rapamicina (mTOR) y por la quinasa SK6, mediante la fosforilación en la Ser491 de AMPK<sup>(30)</sup>, figura 4.

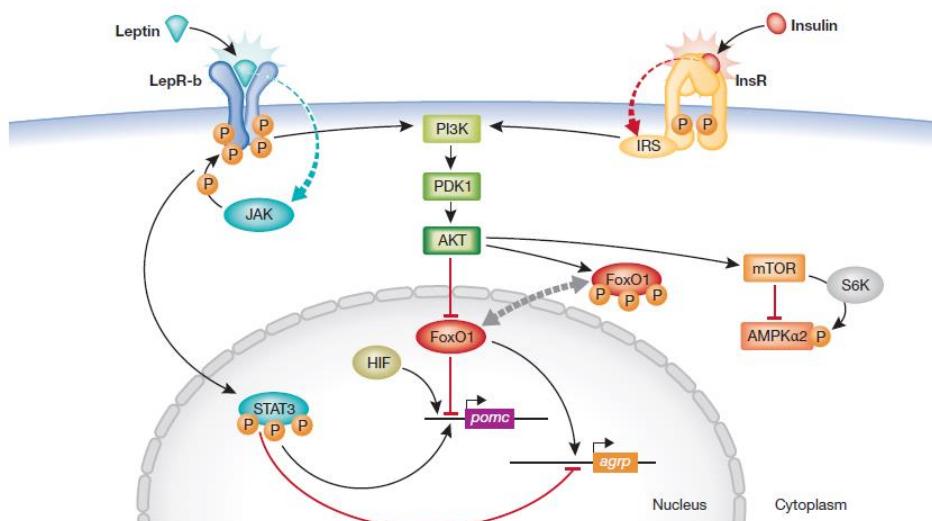


Figura 4<sup>(30)</sup>: La leptina estimula la expresión de proopiomelanocortina (POMC) mediante la activación del transductor de señal y activador de la transcripción 3 (STAT3) y de la fosfoinositol-3 quinasa (PI3K), mientras que la insulina causa el mismo efecto mediante la activación también de PI3K, donde ambas vías convergen. La proteína quinasa activada por AMP (AMPK) es inhibida por la leptina y la insulina en un mecanismo mediado por la diana en mamíferos de rapamicina (mTOR), a través de la fosforilación de la serina 491 de AMPK por la quinasa SK6.

#### Otras hormonas reguladoras

La grelina es una hormona, producida en la submucosa del estómago y liberada durante el ayuno para estimular la ingesta, ligando del receptor de grelina (GHSR). GHSR se encuentra en las hormonas orexigénicas, por lo que la unión de la grelina dará lugar a

una estimulación de dichas neuronas, mediante una cascada de transducción de señales<sup>(28)(29)</sup>, induciendo un aumento en el consumo de alimento.

Además de la grelina, encontramos hormonas como GLP1, el cual se libera en el epitelio intestinal tras la ingesta y cuyo principal efecto es inducir la liberación de insulina, con los efectos regulatorios que eso conlleva<sup>(31)</sup>; el péptido YY, liberado en el intestino con la función de inhibir la ingesta de comida<sup>(32)</sup>; la colecistoquinina (CCK), por último, también es secretada en el intestino en respuesta a la alimentación para inhibir la ingesta<sup>(33)</sup>.

Estas señales nutricionales suponen una diana para tratamientos farmacológicos prometedora. Tirzepatide, fármaco para diabéticos, es un agonista del polipéptido insulinotrópico dependiente de glucosa (GIP) y del péptido similar al glucagón 1 (GLP1), que ha demostrado ser capaz de reducir el peso corporal de forma considerable en los pacientes de forma dependiente a la dosis<sup>(20)</sup>.

#### *Regulación por señales nutricionales*

Las señales nutricionales también son capaces de controlar la ingesta de comida y el balance energético. La AMPK actúa como sensor energético en el hipotálamo, activándose cuando caen los niveles de ATP e induciendo la ingesta<sup>(14)</sup>.

### 3-Objetivos de la revisión

El objetivo de esta revisión bibliográfica es revisar los conocimientos existentes sobre AMPK y los nuevos estudios realizados sobre esta durante los últimos años, así como los mecanismos de regulación metabólica subyacentes a ella, y discutir dichos conocimientos. Para ello, se desarrollarán: 1) en primer lugar las características intrínsecas de la proteína, como su estructura o su regulación a nivel molecular; 2) su función en la regulación metabólica en el hipotálamo; 3) su función a nivel celular; 4) su papel en la termogénesis; 5) su papel en la regulación de la homeostasis de glucosa; 6) por último, se abordarán las aproximaciones a la utilización de la AMPK como diana terapéutica.

### 4-Metodología

La elaboración de esta revisión bibliográfica ha sido llevada a cabo mediante la consulta de artículos de investigación y de revisión ya publicados relacionados con los temas tratados en este trabajo. Para su búsqueda se ha utilizado principalmente el servidor PubMed (<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/>) ofrecido por la Biblioteca Nacional de Medicina de los Estados Unidos.

A través de este servidor ha sido posible encontrar una gran variedad de artículos de los cuales se ha podido extraer toda la información recogida en esta revisión, además de otros artículos a los que se ha llegado directamente a través de las citaciones de artículos consultados. Todo ello ha conducido a la consulta de más de un centenar de artículos, de los que la información ha sido seleccionada adecuadamente para finalmente citar un total de 86 artículos que han permitido recabar toda la información requerida para tratar los temas destacados en este trabajo.

Los artículos mencionados han sido citados siguiendo las Normas de Vancouver del año 2018, con la ayuda del gestor de referencias bibliográficas *RefWorks* (<https://www.refworks.com/>).

Además, más del 50% de los artículos citados fueron publicados a partir del año 2016 (5 años antes del momento en el que se comenzó a realizar este trabajo), con el fin de disponer de la información más actualizada posible, además de recoger los últimos estudios y descubrimientos realizados en la materia.

## 5-Papel de la AMPK en el metabolismo y su regulación

### 5.1-AMPK

La AMPK es una proteína quinasa, formada por 3 subunidades: la subunidad  $\alpha$  (de las que se han caracterizado las isoformas  $\alpha 1$  y  $\alpha 2$ ), la subunidad  $\beta$  (de la que se han caracterizado las isoformas  $\beta 1$  y  $\beta 2$ ) y la subunidad  $\gamma$  (de la que se han caracterizado las isoformas  $\gamma 1$ ,  $\gamma 2$  y  $\gamma 3$ ). La asociación de estas 3 subunidades da lugar a un heterotrímero para conformar la AMPK madura<sup>(36)</sup>. La subunidad  $\alpha$  es la subunidad catalítica, y en ella encontramos un dominio de proteína quinasa serina/treonina, siendo la AMPK activada por la fosforilación de la treonina 172 que se encuentra en dicho dominio (Thr172); por otro lado, las subunidades  $\beta$  y  $\gamma$  poseen una función reguladora<sup>(37)</sup>. Cabe mencionar que la subunidad  $\alpha$  también lleva a cabo un papel regulador, ya que posee una región con función de inhibir a la enzima (dominio autoinhibitorio) evitando que se fosfore la treonina cuando los niveles de ATP son elevados<sup>(38,39)</sup>, y que permite la fosforilación de Thr172 cuando el AMP se une a la subunidad  $\gamma$ <sup>(39)</sup>, figura 5.

La importancia de la AMPK reside en su papel en la regulación del balance energético, tanto a nivel de células como a nivel del organismo en su totalidad, siendo un sensor del estado energético de la célula al activarse cuando la relación AMP/ATP o ADP/ATP es alta, lo cual se produce cuando la energía celular está comprometida<sup>(38)</sup>, mediante diversos mecanismos.

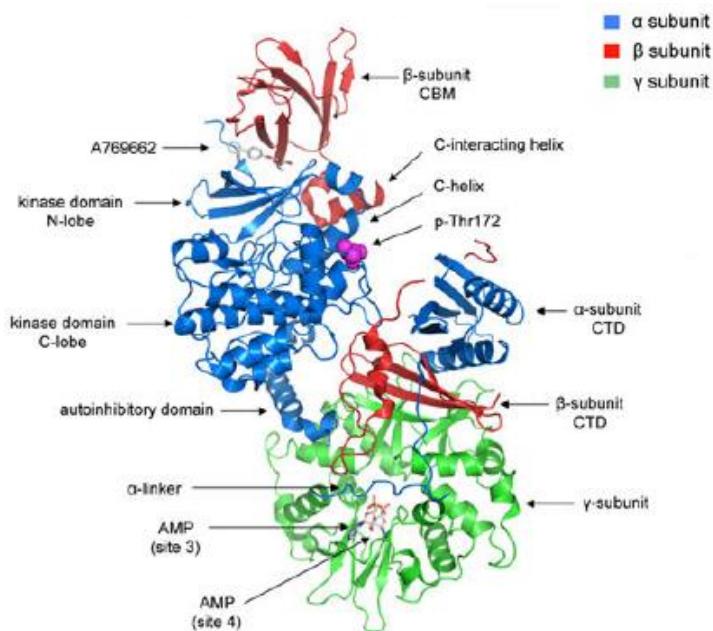


Figura 5<sup>(40)</sup>: Estructura cristalizada del complejo formado por las subunidades  $\alpha 1\beta 2\gamma 1$  de AMPK. La imagen muestra el activador A769662 unido al trímero. También se muestran moléculas de AMP unidas a los sitios 3 y 4. El residuo Thr172 se encuentra fosforilado.

### Mecanismo de activación de la AMPK

La AMPK debe ser fosforilada en el residuo Thr172 para activarse. Esta fosforilación se lleva a cabo por un grupo de enzimas llamadas de forma genérica AMPK quinasas (AMPKK), entre las que destacan la quinasa supresora de tumores (LKB1) y la quinasa dependiente de  $\text{Ca}^{2+}$ /Calmodulina (CaMKK)<sup>(36,38,41)</sup>. La relación AMP/ATP es el principal regulador de la actividad de la AMPK, teniendo el AMP distintas acciones sobre la enzima de forma que un aumento en su concentración inducirá un incremento en la actividad de la enzima. Adicionalmente, se ha observado que el ADP también es un inductor de la actividad de la AMPK, especialmente en el tejido muscular durante la actividad física, en la que la concentración de ADP es mucho mayor a la de AMP, convirtiendo al ADP en el principal regulador en estos casos<sup>(42)</sup>.

El AMP y/o ADP actúan sobre la AMPK de tres formas distintas para estimular su actividad catalítica. En primer lugar el AMP es capaz de activar las AMPKK, dando lugar por tanto a un aumento en la frecuencia de fosforilación de Thr172 y por tanto incrementando la actividad enzimática. En segundo lugar, el AMP inhibe fosfatasas responsables de desfosforilar el residuo 172 y por tanto inhibidoras de la acción de la AMPK<sup>(36,38,43)</sup>. Por último, el AMP estimula la acción de la AMPK de forma alostérica, uniéndose a la subunidad  $\gamma$  e induciendo cambios conformativos en el dominio de autoinhibición de la subunidad  $\alpha$  que facilitan la acción de las AMPKK sobre Thr172<sup>(39)</sup>, figura 6.

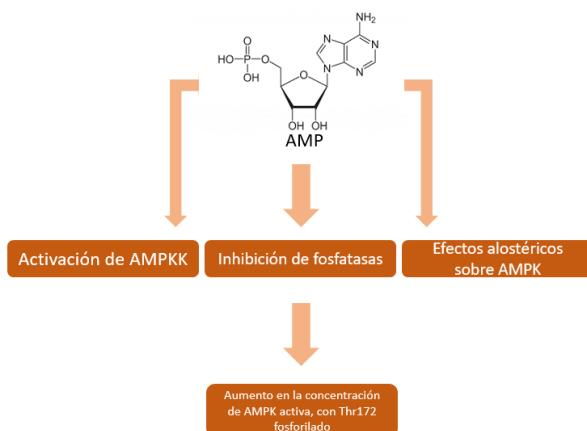


Figura 6<sup>(36-42)</sup>: Esquema representativo la activación de la AMPK cuando los niveles de AMP celular son elevados con respecto a los niveles de ATP.

## 5.2-Papel de la AMPK en la regulación hipotalámica del balance energético

La AMPK se encuentra ampliamente distribuida por el hipotálamo, expresándose fuertemente en las regiones del núcleo arcuato, hipotálamo ventromedial, hipotálamo dorsomedial, hipotálamo paraventricular e hipotálamo lateral<sup>(44)</sup>.

La función de la AMPK en el hipotálamo está implicada directamente en la regulación del balance energético y la ingesta de comida<sup>(44)</sup>. Además, hormonas implicadas en la regulación del balance energético en el hipotálamo, como leptina o grelina, son capaces también de modular la actividad de la AMPK<sup>(45)</sup>.

La actividad de la AMPK hipotalámica es inducida por las condiciones de ayuno, mientras que se inhibe en condiciones como la hipotermia o la alimentación<sup>(46)</sup>, provocando ciertos efectos en las poblaciones neuronales del hipotálamo encaminados al mantenimiento de la homeostasis energética del organismo, figura 2.

### *Efectos de la AMPK en las neuronas hipotalámicas*

La AMPK del hipotálamo regula el balance energético del organismo principalmente mediante la modulación de las poblaciones neuronales que expresan POMC y sobre las poblaciones neuronales que expresan AgRP/NPY<sup>(46)</sup>. Se ha observado que expresando una AMPK activa de forma constitutiva en el hipotálamo de ratón provoca un aumento en los niveles de AgRP y NPY, mientras que cuando se les expresa una AMPK con menor actividad se observa una disminución en los niveles de AgRP y NPY<sup>(47)</sup>. Además, se ha determinado que ratones knockout en la subunidad  $\alpha 2$  de AMPK en neuronas POMC muestran una mayor relación AgRP/POMC y NPY/POMC, lo que es equivalente a una reducción en la expresión de POMC<sup>(47)</sup>. En ambos casos, el peso corporal y la ingesta de comida se modificó considerablemente, lo cual es indicativo de la importancia de la AMPK en dicha regulación.

### *Implicación de la autofagia en la función de AMPK*

Recientes estudios han demostrado que en el efecto sobre las neuronas orexigénicas y anorexigénicas del hipotálamo podría estar implicado un proceso denominado **autofagia**<sup>(47)</sup>, en el cual la AMPK tiene un papel regulador<sup>(48)</sup>. La **autofagia** es un proceso celular a través del cual proteínas, macromoléculas, organelos... son enviados al lisosoma a ser degradados. La **autofagia** tiene un rol central en las células eucariotas, participando en procesos como la muerte celular, la diferenciación celular, o la presentación de antígenos, aunque su principal papel es contribuir a sostener el balance energético de la célula aportando ATP y moléculas básicas para los procesos anabólicos (aminoácidos, nucleótidos...)<sup>(49)</sup>.

La regulación de la **autofagia** la lleva a cabo mediante la fosforilación de la quinasa activadora de **autofagia** similar a **Unc-51 1 (ULK1)**, activándola y promoviendo los procesos de **autofagia**, habiéndose observado como la activación de la AMPK por la exposición a bisfenol A induce la **autofagia**<sup>(50)</sup>. Esta activación se da de forma directa e indirecta: En primer lugar, la AMPK activa directamente **ULK1** mediante su fosforilación; en segundo lugar, AMPK induce la acción de **ULK1** mediante la inactivación de **mTOR**, inhibidor de **ULK1**<sup>(48,51)</sup>. De esta forma, la AMPK activada es inductora de la **autofagia** en la célula.

La implicación de este proceso en el papel regulatorio de la AMPK en el hipotálamo se publicó en el año 2018<sup>(47)</sup>. Dicho estudio demostró como la inhibición genética o farmacológica de la **autofagia** disminuía el efecto de la AMPK en la expresión de péptidos orexigénicos y anorexigénicos en el núcleo arcuato, poniendo en evidencia una relación directa entre la **autofagia** y la acción de la AMPK en la regulación del metabolismo a nivel de hipotálamo. Sin embargo, aunque este es un posible mecanismo que podría explicar en parte el modo de acción de la AMPK a este nivel, aún es un tema en investigación, y no se pueden descartar acciones adicionales a través de las cuales actúe la AMPK.

### *Señales de regulación de AMPK en el hipotálamo*

Determinados mecanismos hormonales son capaces de influir en la actividad de la AMPK<sup>(52)</sup>, en los cuales median las hormonas reguladoras del hipotálamo, como son la leptina, insulina o grelina.

Hormonas como la leptina o la insulina provocan una inhibición en la actividad de la AMPK en las poblaciones neuronales del hipotálamo, cuya consecuencia es una alteración en la expresión de los péptidos NPY, AgRP y POMC; mientras tanto, otras señales como la grelina o moléculas cannabinoides inducen la actividad de la AMPK<sup>(46,52)</sup>, tabla 1.

Inductores de la actividad AMPK	Inhibidores de la actividad AMPK
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Ayuno</li> <li>• Hipoglicemia</li> <li>• AgRP</li> <li>• Grelina</li> <li>• Cannabinoides</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Leptina</li> <li>• Insulina</li> <li>• Ácido <math>\alpha</math>-lipoico</li> <li>• Agonistas de melanocortina</li> <li>• Ingesta de alimento</li> <li>• Hiperglicemia</li> </ul>

Tabla 1: Resumen de las distintas señales, tanto hormonales como de otra naturaleza, que inducen o inhiben la actividad de la AMPK en el hipotálamo<sup>(46,52)</sup>.

### 5.3-Efectos de AMPK en la célula

La función de la AMPK en la célula es restablecer una relación AMP/ATP adecuada. Para ello, la AMPK activada inhibe de forma precisa las rutas anabólicas que consumen ATP y activa al mismo tiempo rutas que regeneran el ATP mediante procesos catabólicos<sup>(37,40)</sup>, además de llevar a cabo la fosforilación de ciertos factores de transcripción, permitiendo una respuesta metabólica a largo plazo<sup>(40)</sup>.

#### *AMPK regula el metabolismo glucídico, lipídico y proteico de la célula*

En primer lugar, la activación de la AMPK juega un papel esencial en el metabolismo glucídico, llevando a cabo la fosforilación de la proteína que interactúa con la tiorredoxina (TXNIP) y del miembro 1 de la familia de dominios TBC1 (TBC1D1), proteínas esenciales en la translocación de los transportadores de glucosa (GLUT) GLUT1 y GLUT4 a la membrana, activándolos y por tanto induciendo la entrada de glucosa en la célula; además, la AMPK regula la glicólisis mediante diversas acciones, fosforilando la 6-fosfofructo-2-quinasa/fructosa-2,6-bifosfatasa 3 (PFKFB3) e inhibiendo el almacenamiento de glucosa a través de la fosforilación de la glicógeno sintasa<sup>(40)</sup>. Además, la AMPK es capaz de fosforilar factores de transcripción para llevar a cabo una regulación a largo plazo. La AMPK reduce la gluconeogénesis en el hígado, dado que es un proceso que consume ATP, mediante la inhibición del coactivador transcripcional regulado por la unión al elemento de respuesta para cAMP-2 (CREB-2) y de los factores de transcripción modulados por las histonas deacetilasas HDAC4/HDAC5/HDAC7<sup>(48,53)</sup>.

En cuanto al metabolismo lipídico, AMPK fosforila las acetil-CoA carboxilasas (ACC) ACC1 y ACC2, disminuyendo de esta forma la síntesis de ácidos grasos y aumentando su oxidación; inhibe la hidroximetilglutarilcoenzima-A reductasa (HMGCR), disminuyendo la síntesis de colesterol; inhibe las enzimas glicerol-3-fosfato aciltransferasa (GPAT), inhibiendo la síntesis de triglicéridos. Además, influye en la función de los factores de transcripción proteína de unión a elementos respondedores a carbohidratos (ChREBP) y proteína de unión a elementos respondedores a esteroles (SREBP1), reduciendo la expresión de genes lipogénicos<sup>(48)</sup>.

Por último, AMPK inhibe el metabolismo proteico mediante la inhibición del complejo 1 de la diana en mamíferos de rapamicina (mTORC1), lo cual conduce a la inhibición de la síntesis de proteínas. Esto se produce a través de la fosforilación y activación del Complejo de esclerosis tuberosa 2 (ETC2), un regulador negativo de mTORC1, y a través de la fosforilación de Raptor, una subunidad del complejo mTORC1 y cuya fosforilación conlleva a la inhibición de mTORC1<sup>(40,48)</sup>. Otro mecanismo por el cual AMPK disminuye la síntesis de proteínas es la inhibición de la síntesis de RNA ribosomal, a través de la fosforilación del factor de transcripción intermedio-1A<sup>(48)</sup>.

	Efectos directos	Efectos mediados por factores de transcripción
<b>Metabolismo glucídico</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Aumento entrada de glucosa</li> <li>• Aumento glucólisis</li> <li>• Disminución almacenamiento de glucosa</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Disminución gluconeogénesis en el hígado</li> </ul>
<b>Metabolismo lipídico</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Aumento oxidación ácidos grasos</li> <li>• Disminución síntesis de ácidos grasos</li> <li>• Disminución síntesis de triglicéridos</li> <li>• Disminución síntesis de colesterol</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Disminución de la expresión de genes lipogénicos</li> </ul>
<b>Metabolismo proteico</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Disminución de la síntesis de proteínas</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Disminución de la expresión de RNA ribosomal</li> </ul>

Tabla 2<sup>(48)</sup>: Tabla resumen de los efectos de la AMPK activada en el metabolismo de la célula.

#### 5.4-Papel de la AMPK en la termogénesis

La termogénesis podría definirse como la combustión de macronutrientes en el tejido adiposo pardo y beige cuya finalidad es la generación de calor; además, cabe mencionar que el almacenamiento de lípidos cuya finalidad es la reserva energética se da en el tejido adiposo blanco<sup>(54)</sup>.

El mecanismo mejor caracterizado para la generación de calor en los tejido adiposo pardo y beige es la termogénesis a través de la proteína desacoplante 1 (UCP1)<sup>(55)</sup>, también conocida como termogenina. Sin embargo, debe señalarse que aunque este es el mecanismo central de la termogénesis en el tejido adiposo pardo, estudios recientes han mostrado la existencia de mecanismos alternativos para la generación de calor independientes de UCP1 tanto en el tejido adiposo pardo como en el tejido adiposo beige<sup>(56)</sup>.

La función de la UCP1, es disipar la energía del gradiente de protones generado por la cadena de transporte electrónico de la membrana mitocondrial, evitando que dicha energía se utilice para llevar a cabo la síntesis de ATP a través de las ATP sintetasas<sup>(56)</sup>.

#### *Mecanismo de la termogénesis mediada por AMPK*

La AMPK tiene un impacto relevante en la termogénesis desde el núcleo ventromedial del hipotálamo (VMH), habiéndose observado cómo la inhibición de la AMPK en el VMH, así como su eliminación, en ratones los volvía resistentes a la obesidad inducida por dietas altas en grasa, a través de un incremento sustancial en la termogénesis<sup>(57)</sup>.

En el mecanismo de acción de la AMPK en la regulación de la termogénesis cabe distinguir dos acciones separadas, por un lado su acción en el hipotálamo y por otro lado la que realizará en los adipocitos pardos<sup>(58)</sup>, figura 7.

En el hipotálamo, la AMPK es inhibida por frío o por hormonas inductoras de la termogénesis, dando lugar a la liberación de norepinefrina que se unirá a los receptores  $\beta_2$ -adrenérgicos del tejido adiposo pardo y que darán lugar mediante una cascada de señalización a una activación de la AMPK local, resultando en un incremento de la lipólisis en el tejido adiposo pardo<sup>(58)</sup>.

Dentro de las hormonas reguladoras de la termogénesis se incluyen hormonas como las hormonas tiroideas, GLP1, o la leptina. Se ha podido demostrar como la hormona tiroidea T3, cuya inyección induce un aumento en el gasto energético estimulando la termogénesis, llevan a cabo su acción a través de la inhibición de la AMPK<sup>(59)</sup>.

Por otro lado, se ha observado también que GLP1 puede ser un inductor de la termogénesis mediada por la inhibición de la AMPK: la utilización de un agonista de receptores de GLP1 (GLP1-R) denominado liraglutide mostró ser capaz de inducir la termogénesis y la transformación de tejido adiposo blanco en tejido adiposo beige (*browning*) de forma dependiente a AMPK, demostrando simultáneamente la importancia de la AMPK en la regulación de la termogénesis en el hipotálamo como en su papel en los efectos de GLP1<sup>(60)</sup>, habiendo llegado a ser aprobado ya por la FDA para su uso como medicamento bajo el nombre de Saxenda<sup>(61)</sup>.

La leptina también ha demostrado también ser un inductor de la termogénesis, a través de la inhibición de la AMPK en el hipotálamo<sup>(59)</sup>.

Además de las ya mencionadas hormonas, con un papel regulador en la actividad de la AMPK y por tanto en los procesos en los que ésta está implicada, encontramos otras moléculas reguladoras de la termogénesis, como las proteínas morfogenéticas óseas (BMPs). Dichas proteínas son responsables de la regulación de diversos procesos, entre los cuales se encuentra el desarrollo de los adipocitos (concretamente BMP2, BMP4,

BMP7 y BMP9), además de en la diferenciación de adipocitos blancos en adipocitos pardos y de la regulación de la termogénesis (en este caso BMP7 y BMP8B)<sup>(62)</sup>. Concretamente, la inducción de la termogénesis por BMP8B ocurre por la inhibición de AMPK en el hipotálamo ventromedial<sup>(62)</sup>, al igual que el resto de hormonas mencionadas previamente.

En el tejido adiposo pardo, de forma independiente al hipotálamo, AMPK podrá ser activada por ciertos estímulos a nivel local, principalmente por el ratio AMP:ATP y por la acción de las AMPK quinasas LKB1 y CaMKK $\beta$ , dando lugar también a una inducción de la termogénesis a través de la activación de la lipólisis<sup>(58)</sup>. En ambos casos, la generación de calor se producirá gracias a UCP1 y su acción en el metabolismo mitocondrial<sup>(55)</sup>.

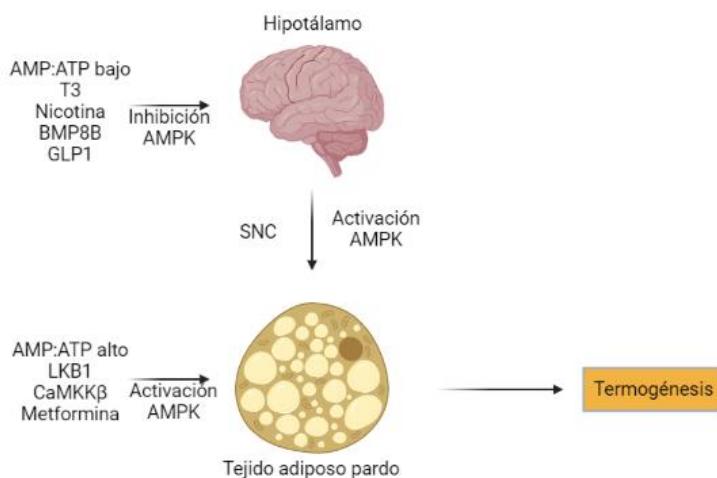


Figura 7<sup>(58)</sup>: Resumen ilustrativo del mecanismo de regulación de la termogénesis mediado por AMPK. Diferentes estímulos actúan sobre la AMPK en el hipotálamo, inhibiéndola y provocando una activación de la AMPK en el tejido adiposo pardo a través del SNC. Por otro lado, la AMPK puede ser activada también a nivel local en el tejido adiposo pardo por otros estímulos. En ambos casos, la activación de AMPK en el tejido adiposo pardo conducirá a un incremento en la lipólisis y a un efecto termogénico.

### 5.5-AMPK en la regulación de la homeostasis de la glucosa

La AMPK es capaz de regular su actividad en función de la glucosa extracelular<sup>(63)</sup>, teniendo una función esencial como sensor de los niveles de glucosa para proteger el SNC de la hipoglucemia.

#### Mecanismo de regulación de AMPK por glucosa

Un estudio del año 2017 mostró como la AMPK puede ser regulada a través de un mecanismo totalmente independiente del ratio AMP/ATP, en el cual la AMPK es capaz de detectar la ausencia de fructosa 1-6 difosfato, intermediario de la glucolisis y por

tanto directamente relacionado con la cantidad de glucosa, y ser activada en ese supuesto<sup>(64)</sup>.

Estudios previos mostraron como la AMPK puede ser activada por la escasez de glucosa mediante un complejo mecanismo en el que la formación de un complejo en la membrana del lisosoma compuesto por la v-ATP sintasa, AXIN, Ragulator, LKB1 y AMPK, que incrementa la fosforilación en Thr172 y por consiguiente la activación de la AMPK<sup>(65,66)</sup>, sin embargo, hasta el citado estudio de 2017 no se logró determinar cómo se producía dicha activación.

La fructosa 1-6 difosfato ejerce su acción reguladora a través de la aldolasa, de la cual es sustrato, de forma que cuando este metabolito se encuentra de forma abundante en la célula (indicando unos niveles elevados de glucosa), no se producirá la activación de la AMPK<sup>(64)</sup>. Se ha podido observar cómo ratones knockdown para la aldolasa presentaban un elevado grado de activación de la AMPK incluso en condiciones de abundante glucosa, lo que podría indicar que la aldolasa ejerce su acción reguladora inhibiendo la formación del complejo lisosomal cuando se encuentra unida a fructosa 1-6 difosfato<sup>(64)</sup>.

Sin embargo, en 2021 se demostró que este no es el único mecanismo de regulación de la AMPK mediado por la glucosa. Se ha podido observar cómo en condiciones de glucosa abundante la función de la AMPK es reprimida mediante su degradación y desactivación<sup>(67)</sup>. Esto ocurre mediante dos mecanismos diferentes: Por un lado, la glucosa estimula especies reactivas de oxígeno que actúan como señalizadoras de la serina/treonina proteína quinasa AKT, que fosforilará AMPK en el residuo Ser491, facilitando el reconocimiento de AMPK por la proteína MG53 que conllevará a su ubiquitinación y degradación. Por otro lado, también a través de la estimulación de especies reactivas de oxígeno, se producirá una inhibición de la fosforilación en Thr172 que evitará la activación de la AMPK<sup>(67)</sup>. De esta forma, la AMPK podría ser por un lado activada cuando el metabolito fructosa 1-6 difosfato se encuentre reducido, y por otro lado inhibida por mecanismos mediados por especies reactivas de oxígeno cuando la glucosa se encuentre elevada, actuando como un sensor de la glucemia en la célula y en el organismo, figura 8.

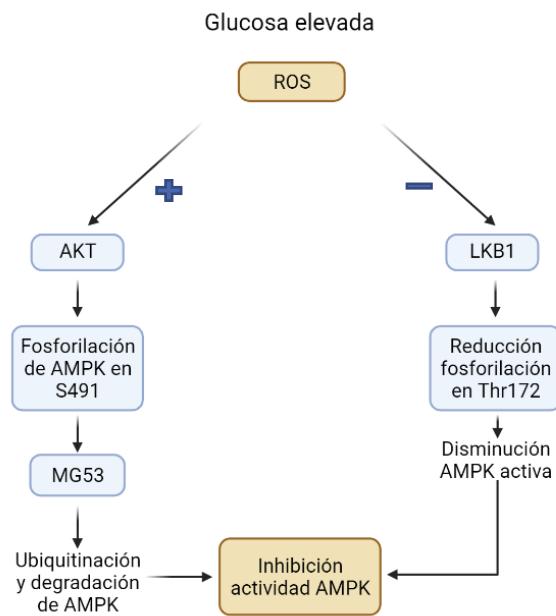


Figura 8<sup>(67)</sup>: Representación esquemática de las dos vías de inhibición de la actividad AMPK mediadas por la concentración de glucosa elevada, en ambos casos estimulando las especies reactivas de oxígeno: Por un lado, estimulando AKT, lo que conducirá a la ubiquitinación y degradación de AMPK mediada por MG53; por otro lado, mediante la inhibición de LKB1, quinasa esencial en la activación de AMPK mediante la fosforilación de Thr172.

### Efectos de AMPK hipotalámica en la glucemia

La AMPK tiene un papel fundamental como sensor de glucosa, como se ha explicado con anterioridad, cuyo objetivo es proteger el sistema nervioso central de la hipoglicemia. En el núcleo ventromedial del hipotálamo se lleva a cabo dos principales reacciones contra la hipoglicemia: la respuesta contra-reguladora a la hipoglicemia (CRR) y la producción de glucosa hepática, a través de los cuales se persigue restablecer los niveles de glucosa en sangre, y en la cual juega un papel esencial concretamente la AMPK del núcleo ventromedial del hipotálamo<sup>(63,68,69)</sup>.

La respuesta contra-reguladora de la glucosa implica la detección de una disminución en los niveles de glucosa en plasma y la secreción de varias hormonas, incluidas el glucagón, la epinefrina, el cortisol y la hormona del crecimiento (GH), para coordinar la recuperación de la hipoglucemia<sup>(70)</sup>. Resultado de esta respuesta contra-reguladora, se da, entre otras cosas, un incremento de la producción de glucosa hepática a través de la gluconeogénesis y la glucogenólisis<sup>(70)</sup>.

Se ha visto como ratones knockdown para la AMPK del núcleo ventromedial del hipotálamo mostraban una deficiencia en cuanto a la respuesta de las señales hormonales contra la hipoglucemia, concretamente el glucagón y la epinefrina. Además, las ratas necesitaban un aporte de glucosa exógena superior a los ratones wild type para mantener unos niveles de glucosa adecuados, mostrando de esta forma la relación directa entre la AMPK del hipotálamo y la regulación de la homeostasis de glucosa<sup>(69)</sup>. La

activación de la AMPK del hipotálamo es por tanto esencial para la respuesta contra la hipoglucemia a este nivel.

## 5.6 Aproximaciones terapéuticas a la AMPK

Expuestas las diversas funciones de la AMPK en los procesos del organismo relacionados con la ingesta de alimento y el gasto energético, cabe preguntarse las posibles aproximaciones terapéuticas que podrían hacerse sobre dicha proteína con el objetivo de lograr, principalmente, mejorías en cuanto a las herramientas farmacológicas de las que disponemos en la lucha contra la obesidad.

Las aproximaciones terapéuticas apuntan a la activación de la AMPK, debido a sus efectos estimuladores del metabolismo; la AMPK puede ser activada de dos formas: Directamente, mediante fármacos que se unen a la AMPK e inducen un incremento en su actividad; indirectamente, mediante cualquier molécula que genere una acumulación<sup>(71)</sup> de AMP o de calcio, los cuales provocarán la activación de la AMPK. Entre los activadores indirectos encontramos biguanidas, tiazolidinedionas, polifenoles, ginsenósidos o el ácido  $\alpha$ -lipoico, mientras que entre los activadores directos encontramos compuestos como el ribonucleótido de 5-aminoimidazol-4-carboxamida(AICAR), Tienopiridona, benzimidazol, el salicilato, el 5-(5-hidroxil-isoxazol-3-il)-furan-2-ácido fosfónico (Compuesto 13), el compuesto PT-1 y el compuesto MT 63-78 (ambos obtenidos mediante *screening molecular*)<sup>(71)</sup>, además de las estatinas<sup>(72)</sup>.

Activadores indirectos AMPK	Activadores directos AMPK
<ul style="list-style-type: none"><li>• Biguanidas</li><li>• Tiazolidinedionas</li><li>• Polifenoles</li><li>• Gisenósidos</li><li>• Ácido <math>\alpha</math>-lipoico</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>• AICAR</li><li>• Tienopiridona</li><li>• Benzimidazol</li><li>• Salicilato</li><li>• Compuesto 13</li><li>• PT-1</li><li>• MT 63-78</li><li>• Estatinas<sup>(72)</sup></li></ul>

Tabla 1<sup>(71,72)</sup>: Listado de activadores indirectos y directos de la AMPK conocidos.

De la gran variedad de activadores de AMPK conocidos, se han seleccionado en este artículo para comentar en mayor profundidad los que, ya sea por su amplia utilización a lo largo del tiempo o por su potencial farmacológico, se han considerado más importantes.

### Metformina

La metformina es el fármaco más representativo del grupo de las biguanidas. Su utilización ha demostrado beneficios claros en cuanto al metabolismo de la glucosa y complicaciones relacionadas con la diabetes, además de cáncer, obesidad, enfermedades del hígado o enfermedades relacionadas<sup>(73,74)</sup>. Es un fármaco derivado de

la galegina, un compuesto de origen herbáceo, del que también se han derivado otras biguanidas, aunque cabe mencionar que dos otras biguanidas (fenformina y buformina) fueron retiradas del mercado por causar acidosis láctica<sup>(75,76)</sup>. Esto suscitó cierta preocupación en torno a las biguanidas, que condujo a la retirada del mercado de la metformina, que finalmente fue devuelta tras probarse su seguridad<sup>(77)</sup>.

En cuanto a su mecanismo de acción, esta íntimamente relacionado con su capacidad para activar la AMPK, incrementando los ratios AMP/ATP y ADP/ATP al ser un activador indirecto, aunque se ha descrito que la metformina también actúa por vías independientes a AMPK<sup>(73)</sup>.

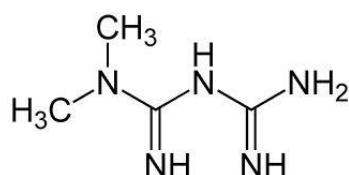


Figura 9: Estructura química de la metformina

### Estatinas

Las estatinas son un grupo de fármacos cuya principal función es reducir el colesterol sanguíneo mediante la inhibición de la HMGCR<sup>(78)</sup>. Recientemente, se ha podido observar como las estatinas también tienen la capacidad de ejercer un efecto terapéutico a través de la activación de la AMPK, dado que se ha observado como las estatinas aumentan el nivel de fosforilación en la Thr172<sup>(72)</sup>. Se han asociado efectos antitumorales, efectos cardioprotectores, efectos neuroprotectores y efectos anti-hiperglicémicos relacionados con dicha activación<sup>(79)</sup>, aunque aún es un tema que debe ser estudiado en mayor profundidad.

### Trimetazidina

La trimetazidina (TMZ) es una tiazolidinediona que ha demostrado mejorar la salud cardíaca, siendo capaz de inhibir la enzima cetoacil-CoA tiolasa 3 (3-KAT) y cambiando el sustrato del metabolismo cardíaco de ácidos grasos a glucosa<sup>(80)</sup>. Recientemente se ha demostrado cómo TMZ tiene la capacidad de activar la AMPK influyendo en los niveles de ATP de los cardiomiositos, por lo cual podría haber una estrecha relación entre la inducción de la AMPK y los beneficios terapéuticos de TMZ<sup>(81)</sup>.

### MT 63-78

El compuesto denominado MT 63-78, obtenido de un *screening* molecular, se mostró como un potente y específico activador de la AMPK, con capacidad para inhibir el desarrollo del cáncer de próstata, especialmente de aquellos impulsados por la lipogénesis. Además aumenta la acción de otros fármacos utilizados contra el cáncer de próstata<sup>(82)</sup>.

## AICAR

El AICAR ha sido uno de los moduladores (activador) de la actividad AMPK más utilizados, sin embargo, ha caído en desuso tras el hallazgo de que muchos de sus efectos eran causados por interacciones colaterales a nivel celular, y no por su inducción de la AMPK, además de la llegada de nuevos métodos de estudio como la generación de *knockout* y *knockdown* y de nuevos moduladores de AMPK más específicos<sup>(83)</sup>.

## Tienopiridona A-769662

El compuesto A-769662 es un miembro de la familia de las tienopiridonas, que activa la AMPK tanto alostéricamente como mediante la inhibición de la desfosforilación en Thr172<sup>(84)</sup>. En contraposición al AICAR, el compuesto A-769662 se presenta como un gran candidato para la realización de ensayos que implican la activación de la AMPK debido a su elevada especificidad<sup>(71)</sup>. También se han realizado ciertas pruebas en cuanto a su potencial como medicamento (por ejemplo para el tratamiento de la osteoporosis<sup>(85)</sup> o contra la artritis inflamatoria<sup>(86)</sup>), aunque aún está lejos de llegar a serlo.

## 6-Conclusions

Thanks to the in-depth study that has been and continues to be carried out on AMPK, we are becoming increasingly aware of its functions and mechanism, as well as its potential applications.

Today we know that AMPK is a central protein in a variety of metabolic processes. Among the processes in which AMPK acts is its important role in the hypothalamus, being essential in the integration of metabolic signals responsible for regulating the energy balance; it also has a function at the cellular level, being able to respond to different energy situations in order to maintain cellular energy homeostasis, modulating glucose, lipid and protein metabolism; It also has a role in thermogenic regulation, modulating it both from the hypothalamus and from the brown adipose tissue in response to various signals; finally, it regulates glucose homeostasis, detecting variations in blood glucose levels and responding to them.

All this knowledge, together with the growing impact of obesity in the western world, as well as other pathologies related to energy balance such as atherosclerosis, diabetes or hypertension, make AMPK not only an object of study for basic research, but also a target to be taken into account for the development of drugs or possible ways to improve the outlook for these types of diseases and, ultimately, people's quality of life.

In fact, the application of the knowledge we have of AMPK is already a reality, with the existence of drugs that exert a therapeutic effect through AMPK, such as metformin, as well as the discovery of drug action pathways through AMPK that until recently were unknown, as is the case with statins. Not only this, but new drug candidates specifically

targeting AMPK, such as compounds MT 63-78 and A-769662, both obtained by Molecular Screening, are already under research and development.

However, although the knowledge we have about AMPK is profound, there are still unknowns about this protein and its role, and studies must continue in order to unravel them as well as to develop its different applications.

### *Conclusiones*

Gracias al profundo estudio que se ha llevado, y se sigue llevando, a cabo sobre AMPK, somos cada día más conocedores de sus funciones y de su mecanismo, así como de sus potenciales aplicaciones.

Hoy sabemos que la AMPK se erige como una proteína central en una diversidad de procesos metabólicos. Entre los procesos en los que actúa AMPK, se encuentra su importante papel en el hipotálamo, siendo esencial en la integración de señales metabólicas encargadas de regular el balance energético; también posee una función a nivel celular, siendo capaz de responder a las diferentes situaciones energéticas de estas para mantener la homeostasis energética celular, modulando el metabolismo glucídico, lipídico y proteico; además, dispone de un papel en la regulación termogénica, modulándolo tanto desde el hipotálamo como desde el tejido adiposo pardo en respuesta a diversas señales; por último, regula la homeostasis de glucosa, detectando variaciones en los niveles de glucemia y respondiendo frente a ellos.

Todo este conocimiento, unido al creciente impacto en el mundo occidental de la obesidad, así como de otras patologías relacionadas con el balance energético como pueden ser la ateroesclerosis, la diabetes o la hipertensión, convierten a la AMPK en no solo un objeto de estudio para la investigación básica, sino en una diana a tener en cuenta para el desarrollo de fármacos o de posibles vías dirigidas a la mejora en las perspectivas de este tipo de enfermedades y, en definitiva, de la calidad de vida de las personas.

De hecho, la aplicación del conocimiento del que disponemos de AMPK es ya una realidad, con la existencia de fármacos que ejercen un efecto terapéutico a través de AMPK, como puede ser la metformina, además del descubrimiento de vías de acción de fármacos a través de AMPK que hasta hace poco tiempo eran desconocidas, como sucede con las estatinas. No solo esto, sino que ya encontramos en investigación y desarrollo nuevos candidatos a convertirse en fármacos dirigidos específicamente hacia la AMPK, como pueden ser los compuestos MT 63-78 y A-769662, ambos obtenidos mediante *Screening Molecular*.

Sin embargo, aunque el conocimiento del que disponemos sobre AMPK es profundo, todavía quedan incógnitas sobre esta proteína y su papel, y los estudios deben continuarse con el fin de desvelarlas así como de desarrollar sus distintas aplicaciones.

## 7-Bibliografía

- (1) Arroyo-Johnson C, Mincey KD. Obesity Epidemiology Worldwide. *Gastroenterol Clin North Am* 2016 Dec;45(4):571-579.
- (2) Eurostat, 2021: [https://ec.europa.eu/eurostat/statistics-explained/index.php?title=Overweight\\_and\\_obesity\\_-\\_BMI\\_statistics](https://ec.europa.eu/eurostat/statistics-explained/index.php?title=Overweight_and_obesity_-_BMI_statistics)
- (3) Apovian CM. Obesity: definition, comorbidities, causes, and burden. *Am J Manag Care* 2016 Jun;22(7 Suppl):176.
- (4) Anderson AS, Key TJ, Norat T, Scoccianti C, Cecchini M, Berrino F, et al. European Code against Cancer 4th Edition: Obesity, body fatness and cancer. *Cancer Epidemiol* 2015 Dec;39 Suppl 1:34.
- (5) Romieu I, Dossus L, Barquera S, Blottiere HM, Franks PW, Gunter M, et al. Energy balance and obesity: what are the main drivers? *Cancer Causes Control* 2017 Mar;28(3):247-258.
- (6) Gadde KM, Martin CK, Berthoud HR, Heymsfield SB. Obesity: Pathophysiology and Management. *J Am Coll Cardiol* 2018 Jan 2;71(1):69-84.
- (7) Kayser B, Verges S. Hypoxia, energy balance, and obesity: An update. *Obesity reviews* 2021 Mar;22(S2):e13192-n/a.
- (8) Schwartz MW, Woods SC, Porte D, Seeley RJ, Baskin DG. Central nervous system control of food intake. *Nature (London)* 2000 Apr 6;404(6778):661-671.
- (9) O'Rahilly S, Montague CT, Farooqi IS, Whitehead JP, Soos MA, Rau H, et al. Congenital leptin deficiency is associated with severe early-onset obesity in humans. *Nature (London)* 1997 Jun 26;387(6636):903-908.
- (10) Clement K, Froguel P, Guy-Grand B, Vaisse C. A frameshift mutation in human MC4R is associated with a dominant form of obesity. *Nature genetics* 1998 Oct;20(2):113-114.
- (11) Daniel PM. Anatomy of the hypothalamus and pituitary gland. *Journal of clinical pathology* 1976;s1-7(1):1-7.
- (12) Baroncini M, Jissendi P, Balland E, Besson P, Pruvost J, Francke J, et al. MRI atlas of the human hypothalamus. *NeuroImage (Orlando, Fla.)* 2012 Jan 2;59(1):168-180.
- (13) Timper K, Brüning JC. Hypothalamic circuits regulating appetite and energy homeostasis: pathways to obesity. *Dis Model Mech* 2017 Jun 1;10(6):679-689.
- (14) Myers MG, Olson DP. Central nervous system control of metabolism. *Nature* 2012;491(7424):357-363.
- (15) Konner AC, Klockner T, Bruning JC. Control of energy homeostasis by insulin and leptin: Targeting the arcuate nucleus and beyond. *Physiology & behavior* 2009;97(5):632-638.
- (16) Sohn J, Elmquist JK, Williams KW. Neuronal circuits that regulate feeding behavior and metabolism. *Trends in neurosciences (Regular ed.)* 2013;36(9):504-512.
- (17) Collet T, Dubern B, Mokrosinski J, Connors H, Keogh JM, Mendes de Oliveira E, et al. Evaluation of a melanocortin-4 receptor (MC4R) agonist (Setmelanotide) in MC4R deficiency. *Molecular metabolism (Germany)* 2017 Oct;6(10):1321-1329.
- (18) Diamond Le, Earle Dc, Rosen Rc, Willett Ms, Molinoff Pb. Double-blind, placebo-controlled evaluation of the safety, pharmacokinetic properties and pharmacodynamic effects of intranasal PT-141, a melanocortin receptor agonist, in healthy males and patients with mild-to-moderate erectile dysfunction. *International journal of impotence research* 2004 Jan;16(1):51-59.
- (19) Greenfield JR, Miller JW, Keogh JM, Henning E, Satterwhite JH, Cameron GS, et al. Modulation of Blood Pressure by Central Melanocortinergic Pathways. *The New England Journal of Medicine* 2009 Jan 1;360(1):44-52.
- (20) Jung HN, Jung CH. The Upcoming Weekly Tides (Semaglutide vs. Tirzepatide) against Obesity: STEP or SURPASS? *Journal of obesity & metabolic syndrome* 2022;31(1):28-36.
- (21) Ngo D, Vo TS. An Updated Review on Pharmaceutical Properties of Gamma-Aminobutyric Acid. *Molecules (Basel, Switzerland)* 2019 Jul 24;24(15):2678.
- (22) Sohn, J.W., Korea Advanced Institute of Science and Technology, Daejeon, Republic of Korea. Network of hypothalamic neurons that control appetite. *BMB reports* 2015 Apr;48(4):229-233.
- (23) Tokarz VL, MacDonald PE, Klip A. The cell biology of systemic insulin function. *The Journal of cell biology* 2018 Jul 2;217(7):2273-2289.

- (24) Schwartz MW, Woods SC, Porte D, Seeley RJ, Baskin DG. Central nervous system control of food intake. *Nature (London)* 2000 Apr 6;404(6778):661-671.
- (25) Obradovic M, Sudar-Milovanovic E, Soskic S, Essack M, Arya S, Stewart AJ, et al. Leptin and Obesity: Role and Clinical Implication. *Frontiers in endocrinology (Lausanne)* 2021;12:585887.
- (26) Copperi F, Kim JD, Diano S. Role of the Melanocortin System in the Central Regulation of Cardiovascular Functions. *Frontiers in physiology* 2021 Aug 25;12:725709.
- (27) Qiu J, Wagner EJ, Rønnekleiv OK, Kelly MJ. Insulin and leptin excite anorexigenic pro-opiomelanocortin neurones via activation of TRPC5 channels. *Journal of neuroendocrinology* 2018 Feb;30(2):e12501-n/a.
- (28) Lv Y, Liang T, Wang G, Li Z. Ghrelin, a gastrointestinal hormone, regulates energy balance and lipid metabolism. *Bioscience reports* 2018 Oct 31;38(5).
- (29) Yanagi S, Sato T, Kangawa K, Nakazato M. The Homeostatic Force of Ghrelin. *Cell metabolism* 2018 Apr 3;27(4):786-804.
- (30) Varela L, Horvath TL. Leptin and insulin pathways in POMC and AgRP neurons that modulate energy balance and glucose homeostasis. *EMBO reports* 2012 Dec;13(12):1079-1086.
- (31) Holst JJ. The Physiology of Glucagon-like Peptide 1. *Physiological Reviews* 2007 Oct 1;87(4):1409-1439.
- (32) Holzer P, Reichmann F, Farzi A. Neuropeptide Y, peptide YY and pancreatic polypeptide in the gut-brain axis. *Neuropeptides (Edinburgh)* 2012;46(6):261-274.
- (33) Steinert RE, Feinle-Bisset C, Asarian L, Horowitz M, Beglinger C, Geary N. Ghrelin, CCK, GLP-1, and PYY(3-36): Secretory controls and physiological roles in eating and glycemia in health, obesity, and after RYGB. *Physiological reviews* 2017 Jan;97(1):411-463.
- (34) <https://ourworldindata.org>. Available at: <https://ourworldindata.org/obesity#:~:text=13%25%20of%20adults%20in%20the,adolescents%2C%20globally%2C%20are%20overweight>.
- (35) Rial Pensado E, Liñares Pose L, Lopez M, Contreras C. AMPK en el control del balance energético. *SEBBM* 2016:10-12.
- (36) Yan Y, Zhou XE, Xu HE, Melcher K. Structure and Physiological Regulation of AMPK. *Int J Mol Sci* 2018 Nov 9;19(11):3534. doi: 10.3390/ijms19113534.
- (37) López M. EJE PRIZE 2017: Hypothalamic AMPK: a golden target against obesity? *Eur J Endocrinol* 2017 May;176(5):R235-R246.
- (38) Miranda N, Tovar AR, Palacios B, Torres N. La AMPK como un sensor de energía celular y su función en el organismo. *Rev Invest Clín* 2007;59:6.
- (39) Littler DR, Walker JR, Davis T, Wybenga-Groot LE, Finerty Jr PJ, Newman E, et al. A conserved mechanism of autoinhibition for the AMPK kinase domain: ATP-binding site and catalytic loop refolding as a means of regulation. *Acta crystallographica. Section F, Structural biology and crystallization communications* 2010 Feb 1;66(2):143-151.
- (40) Garcia D, Shaw RJ. AMPK: Mechanisms of Cellular Energy Sensing and Restoration of Metabolic Balance. *Mol Cell* 2017 Jun 15;66(6):789-800.
- (41) Hurley RL, Anderson KA, Franzone JM, Kemp BE, Means AR, Witters LA. The Ca<sup>2+</sup>/Calmodulin-dependent Protein Kinase Kinases Are AMP-activated Protein Kinase Kinases. *J Biol Chem* 2005;280(32):29060-29066.
- (42) Coccimiglio IF, Clarke DC. ADP is the dominant controller of AMP-activated protein kinase activity dynamics in skeletal muscle during exercise. *PLoS computational biology* 2020 Jul 30;16(7):e1008079.
- (43) Herzig S, Shaw RJ. AMPK: guardian of metabolism and mitochondrial homeostasis. *Nature reviews. Molecular cell biology* 2018 Feb;19(2):121-135.
- (44) Lopez M. Hypothalamic AMPK and energy balance. *European journal of clinical investigation* 2018 Sep;48(9):e12996-n/a.
- (45) Andersson U, Filipsson K, Abbott CR, Woods A, Smith K, Bloom SR, et al. AMP-activated Protein Kinase Plays a Role in the Control of Food Intake. *J Biol Chem* 2004;279(13):12005-12008.
- (46) Wang B, Cheng K. Hypothalamic AMPK as a Mediator of Hormonal Regulation of Energy Balance. *IJMS* 2018;19(11).
- (47) Oh TS, Cho H, Cho JH, Yu S, Kim E. Hypothalamic AMPK-induced autophagy increases food intake by regulating NPY and POMC expression. *Autophagy* 2016 Nov 1;12(11):2009-2025.
- (48) Hardie DG. AMPK: a target for drugs and natural products with effects on both diabetes and cancer. *Diabetes* 2013 Jul;62(7):2164-2172.

- (49) Tamargo-Gómez I, Mariño G. AMPK: Regulation of Metabolic Dynamics in the Context of Autophagy. *International journal of molecular sciences* 2018 Nov 29,;19(12):3812.
- (50) Lin M, Hua R, Ma J, Zhou Y, Li P, Xu X, et al. Bisphenol A promotes autophagy in ovarian granulosa cells by inducing AMPK/mTOR/ULK1 signalling pathway. *Environ Int* 2021;147:106298.
- (51) Guan K, Kim J, Kundu M, Viollet B. AMPK and mTOR regulate autophagy through direct phosphorylation of Ulk1. *Nature cell biology* 2011 Feb;13(2):132-141.
- (52) Xue B, Kahn BB. AMPK integrates nutrient and hormonal signals to regulate food intake and energy balance through effects in the hypothalamus and peripheral tissues. *The Journal of physiology* 2006 Jul 1,;574(1):73-83.
- (53) Hardie DG, Ross FA, Hawley SA. AMPK: a nutrient and energy sensor that maintains energy homeostasis. *Nature reviews. Molecular cell biology* 2012 Mar 22,;13(4):251-262.
- (54) Hussain MF, Roesler A, Kazak L. Regulation of adipocyte thermogenesis: mechanisms controlling obesity. *FEBS J* 2020 Aug;287(16):3370-3385.
- (55) Chouchani ET, Kazak L, Spiegelman BM. New Advances in Adaptive Thermogenesis: UCP1 and Beyond. *Cell metabolism* 2019 Jan 8,;29(1):27-37.
- (56) Ikeda K, Yamada T. UCP1 Dependent and Independent Thermogenesis in Brown and Beige Adipocytes. *Frontiers in endocrinology (Lausanne)* 2020 Jul 28,;11:498.
- (57) Seoane-Collazo P, Roa J, Rial-Pensado E, Liñares-Pose L, Beiroa D, Ruiz-Pino F, et al. SF1-Specific AMPK $\alpha$ 1 Deletion Protects Against Diet-Induced Obesity. *Diabetes* 2018;67(11):2213-2226.
- (58) van der Vaart, Jamie I, Boon MR, Houtkooper RH. The Role of AMPK Signaling in Brown Adipose Tissue Activation. *Cells (Basel, Switzerland)* 2021 May 6,;10(5):1122.
- (59) Liu H, Xu Y, Hu F. AMPK in the Ventromedial Nucleus of the Hypothalamus: A Key Regulator for Thermogenesis. *Front Endocrinol (Lausanne)* 2020 Sep 23;11:578830.
- (60) Beiroa D, Imbernon M, Gallego R, Senra A, Herranz D, Villarroya F, et al. GLP-1 agonism stimulates brown adipose tissue thermogenesis and browning through hypothalamic AMPK. *Diabetes (New York, N.Y.)* 2014 Oct;63(10):3346-3358.
- (61) FDA approves weight management drug for patients aged 12 and older. *States News Service* 2020 Dec 4,.
- (62) Martins L, Seoane-Collazo P, Contreras C, González-García I, Martínez-Sánchez N, González F, et al. A Functional Link between AMPK and Orexin Mediates the Effect of BMP8B on Energy Balance. *Cell reports* 2016;16(8):2231-2242.
- (63) Huynh MKQ, Kinyua AW, Yang DJ, Kim KW. Hypothalamic AMPK as a Regulator of Energy Homeostasis. *Journal of neural transplantation & plasticity* 2016 Dec 01,;2016:2754078-12.
- (64) Zhang C, Hawley SA, Zong Y, Li M, Wang Z, Gray A, et al. Fructose-1,6-bisphosphate and aldolase mediate glucose sensing by AMPK. *Nature (London)* 2017 Aug 3,;548(7665):112-116.
- (65) Zhang Y, Guo H, Zhang C, Lin S, Yin Z, Peng Y, et al. AMP as a Low-Energy Charge Signal Autonomous Initiates Assembly of AXIN-AMPK-LKB1 Complex for AMPK Activation. *Cell metabolism* 2013 Oct 1,;18(4):546-555.
- (66) Zhang C, Jiang B, Li M, Zhu M, Peng Y, Zhang Y, et al. The Lysosomal v-ATPase-Ragulator Complex Is a Common Activator for AMPK and mTORC1, Acting as a Switch between Catabolism and Anabolism. *Cell metabolism* 2014 Sep 2,;20(3):526-540.
- (67) Jiang P, Ren L, Zhi L, Yu Z, Lv F, Xu F, et al. Negative regulation of AMPK signaling by high glucose via E3 ubiquitin ligase MG53. *Molecular cell* 2021 Feb 4,;81(3):629-637.e5.
- (68) Hirschberg PR, Sarkar P, Teegala SB, Routh VH. Ventromedial hypothalamus glucose-inhibited neurones: A role in glucose and energy homeostasis? *Journal of neuroendocrinology* 2020 Jan;32(1):e12773-n/a.
- (69) McCrimmon RJ, Shaw M, Fan X, Cheng H, Ding Y, Vella MC, et al. Key role for AMP-activated protein kinase in the ventromedial hypothalamus in regulating counterregulatory hormone responses to acute hypoglycemia. *Diabetes* 2008 Feb;57(2):444-450.
- (70) Verberne AJM, Sabetghadam A, Korim WS. Neural pathways that control the glucose counterregulatory response. *Frontiers in neuroscience* 2014;8:38.
- (71) Kim J, Yang G, Kim Y, Kim J, Ha J. AMPK activators: mechanisms of action and physiological activities. *Experimental & molecular medicine* 2016 Apr 1,;48(4):e224.

- (72) Sun W, Lee TS, Zhu M, Gu C, Wang Y, Zhu Y, et al. Statins activate AMP-activated protein kinase in vitro and in vivo. *Circulation* 2006 Dec 12;114(24):2655-2662.
- (73) Rena G, Hardie DG, Pearson ER. The mechanisms of action of metformin. *Diabetologia* 2017 Aug 3;60(9):1577-1585.
- (74) Lv Z, Guo Y. Metformin and Its Benefits for Various Diseases. *Frontiers in endocrinology* (Lausanne) 2020;11:191.
- (75) Wise PH, Chapman M, Thomas DW, Clarkson AR, Harding PE, Edwards JB. Phenformin and lactic acidosis. *Br Med J* 1976 Jan 10;1(6001):70-72.
- (76) Montero Alonso M, Salvador Cervelló G, Perelló Roso A, Roig Osca MA. Acidosis láctica asociada al uso de buformina. *Revista clínica española* 2003;203(4):216.
- (77) Flory J, Lipska K. Metformin in 2019. *JAMA : the journal of the American Medical Association* 2019 May 21;321(19):1926-1927.
- (78) Stancu C, Sima A. Statins: mechanism of action and effects. *Journal of cellular and molecular medicine* 2001 Oct;5(4):378-387.
- (79) Dehnavi S, Kiani A, Sadeghi M, Biregani AF, Banach M, Atkin SL, et al. Targeting AMPK by Statins: A Potential Therapeutic Approach. *Drugs* 2021 May 3;81(8):923-933.
- (80) Kantor PF, Lucien A, Kozak R, Lopaschuk GD. The Antianginal Drug Trimetazidine Shifts Cardiac Energy Metabolism From Fatty Acid Oxidation to Glucose Oxidation by Inhibiting Mitochondrial Long-Chain 3-Ketoacyl Coenzyme A Thiolase. *Circulation Research* 2000 Mar 17;86(5):580-588.
- (81) Li X, Liu J, Lu Q, Ren D, Sun X, Rousselle T, et al. AMPK: a therapeutic target of heart failure—not only metabolism regulation. *Bioscience reports* 2019 Jan 31;39(1).
- (82) Zadra G, Photopoulos C, Tyekucheva S, Heidari P, Weng QP, Fedele G, et al. A novel direct activator of AMPK inhibits prostate cancer growth by blocking lipogenesis. 2014 Feb 1;6(10):1357.
- (83) Višnjić D, Lalić H, Dembitz V, Tomić B, Smoljo T. AICAr, a Widely Used AMPK Activator with Important AMPK-Independent Effects: A Systematic Review. *Cells (Basel, Switzerland)* 2021 May 4;10(5):1095.
- (84) Sanders MJ, Ali ZS, Hegarty BD, Heath R, Snowden MA, Carling D. Defining the Mechanism of Activation of AMP-activated Protein Kinase by the Small Molecule A-769662, a Member of the Thienopyridone Family. *The Journal of biological chemistry* 2007 Nov 9;282(45):32539-32548.
- (85) Abdallah BM, Alzahrani AM. A-769662 stimulates the differentiation of bone marrow-derived mesenchymal stem cells into osteoblasts via AMP-activated protein kinase-dependent mechanism. *J Appl Biomed* 2021 Sep;19(3):159-169.
- (86) Guma M, Wang Y, Viollet B, Liu-Bryan R. AMPK Activation by A-769662 Controls IL-6 Expression in Inflammatory Arthritis. *PLoS One* 2015 Oct 16;10(10):e0140452.