

AMPK ȘI SINDROMUL METABOLIC: ASPECTE GENETICE

Constantin Crețu, Ghenadie Curocichin, Nicolae Barbacar

Laboratorul Genetică, USMF Nicolae Testemițanu

Summary

AMPK and the metabolic syndrome: genetic insights

AMPK (AMP-activated protein kinase) is involved in the real-time control of energy metabolism, both at the cellular level and at the whole body level. Significant deregulations of some of the signaling pathways mediated by this enzyme have been implicated in the pathophysiology of the metabolic syndrome and its morbid complications. The dysfunctions of these pathways have a certain genetic influence and some alleles of AMPK genes could contribute to it.

Rezumat

AMPK (AMP-activated protein kinase) este implicată în controlul în timp real al metabolismului energetic, atât la nivel celular cât și la nivelul întregului organism. Dereglări semnificative ale unora dintre căile de semnalizare mediate de către această enzimă au fost implicate în fiziopatologia sindromului metabolic și a complicațiilor sale morbide. Factorii de natură genetică au o anumită influență în dereglarea acestor căi și unele alele polimorfice ale genelor AMPK ar putea contribui la aceasta.

Introducere

Bolile cardiovasculare constituie, pe plan global, una din principalele cauze ale mortalității populației [44, 45]. Factorii de risc metabolici (obezitatea, concentrația anormală a lipidelor sanguine, hipertensiunea, hiperglicemia, etc) contribuie la aproximativ 28% (2004) din decese în lume și în aproximativ 20-50% (în funcție de factor) din bolile cardiovasculare [38]. Sindromul metabolic (sindromul X sau sindromul insulinorezistenței) reprezintă un ansamblu de factori de risc (intoleranță la glucoză, insulinorezistență, obezitate abdominală, dislipidemie și hipertensiune), care datorită interdependenței patofiziologice, se întâlnesc la același individ mai frecvent decât prin întâmplare [9, 36]. Din aceste considerente, prezența sindromului metabolic sporește riscul de apariție a bolilor cardiovasculare de 2 ori și a diabetului zaharat de tip 2 de 5 ori [2, 9]. Studiile epidemiologice în diverse populații indică o frecvență a sindromului la adulți de 15-35% [2, 9, 13], aceasta aflându-se într-o corelație pozitivă cu vârsta [9].

Deși nu există o explicație patofiziologică unică, este pe larg acceptată ipoteza că insulinorezistența poate conduce la apariția unor componente (hiperglicemie, dislipidemie, hipertensiune) ale sindromului [2, 9, 31]. Insulinorezistența s-ar putea instala preferențial în obezitate (în special, cea de tip visceral) [31], în condițiile excesului de acizi grași liberi [8, 37], a modificării concentrației unor adipocitokine (de ex., creșterea concentrației leptinei, micșorarea concentrației adiponectinei) [7] și a inflamației cronice [23]. Aceste procese asociate obezității au fost implicate în dereglarea mai multor căi de semnalizare în ficat, muși și țesutul adipos [14, 31, 37], dintre care un interes deosebit o prezintă calea de semnalizare mediată de AMPK (AMP-activated protein kinase).

AMPK reprezintă, în același timp, un sensor al balanței energetice (raportului ATP:ADP) din celulă (fiind activată allosteric de AMP și inhibată de ATP) și o enzimă cheie ce participă în menținerea constantă acesteia [4]. Micșorarea concentrației ATP din celulă (din cauza consumului sporit sau blocării sintezei) determină creșterea concentrației AMP, care activează

allosteric kinaza. Enzima activată blochează prin fosforilare căile anabolice și activează căile catabolice [15, 20]. La mamifere, AMPK participă în controlul balanței energetice nu doar la nivel celular, dar și la nivelul întregului organism [26]. Implicarea tulburărilor acestei căi de semnalizare în apariția insulinorezistenței pe fondul obezității și potențialul terapeutic al acesteia este sugerată de următoarele observații: 1. reducerea activității AMPK în mușchi și ficat la animalele model ale obezității [49] și în mușchii, țesutul adipos al indivizilor obezi sau cu diabet zaharat de tip 2 [11, 12, 21]; 2. inactivarea globală a AMPK (knock-out) sau doar la nivel de țesut (mușchi, ficat) induce la unele animale model apariția intoleranței la glucoză și insulinorezistenței [21]; 3. metformina și tiazolidinedionele (utilizate în terapia diabetului zaharat de tip 2) activează indirect AMPK în ficat și în mușchi [55]; 4. unele adipocitokine activează (de ex., leptina și adiponectina) sau inhibă (de ex., resistina) calea de semnalizare a AMPK [33]; 5. reducerea activității AMPK a fost observată în disfuncția celulelor β pancreatice – cauză a intoleranței la glucoză și a diabetului zaharat de tip 2 [42].

În această lucrare vor fi prezentate unele aspecte structurale și funcționale ale acestei enzime și va fi discutată importanța polimorfismelor din genele ce codifică subunitățile acestei enzime pentru patofiziologia sindromului metabolic.

Structura și funcțiile AMPK

AMPK reprezintă un heterotrimer cu o subunitate α catalitică și cu două subunități β și γ reglatoare [18, 41, 49], enzima fiind obținută recent și în stare homo-oligomerică (complex din 3 heterotrimeri dispuși cap-coadă) [56]. La mamifere există 2 isoforme ale subunității α ($\alpha 1$ și $\alpha 2$), 2 isoforme ale subunității β ($\beta 1$ și $\beta 2$) și 3 isoforme ale subunității γ ($\gamma 1$, $\gamma 2$, $\gamma 3$), codificate de gene localizate pe 5 cromozomi diferiți [17, 51]. Splicing-ul alternativ sau inițierea alternativă a transcripției genelor ce codifică isoformele $\alpha 1$ și $\gamma 2$ determină producerea a 3 variante suplimentare ($\alpha 1.1$, $\alpha 1.2$, $\alpha 1.3$, respectiv, $\gamma 2.1$, $\gamma 2.2$, $\gamma 2.3$), iar al isoformei $\gamma 3$ a două variante ($\gamma 3.1$, $\gamma 3.2$) suplimentare. În consecință, pot fi identificate 12 combinații heterotrimerice active ale AMPK, însă aceste combinații heterotrimerice au activitate, localizare subcelulară și, posibil, funcții diferite [16, 49, 51]. Astfel, s-a stabilit prezența în majoritatea țesuturilor a subunităților $\alpha 1$, $\beta 1$ și $\gamma 1$, în mușchii striati scheletici și cardiac a subunităților $\alpha 2$ și $\beta 2$, iar isoformele $\gamma 2$ și $\gamma 3$ au fost identificate în miocard și în mușchii striati scheletici, respectiv [1, 49]. Prin urmare, heterotrimerul $\alpha 1$ - $\beta 1$ - $\gamma 1$ al AMPK este ubicvitar, heterotrimerul $\alpha 2$ - $\beta 2$ - $\gamma 2$ este prezent în miocard, iar mușchiul striat scheletic expresează $\alpha 2$ - $\beta 2$ - $\gamma 3$.

Subunitatea α prezintă 2 domenii conservate [41]: 1. domeniul kinază cu funcții catalitice; 2. domeniul C-terminal. În apropierea domeniului kinază se află o secvență autoinhibitoare (AIS – autoinhibitory sequence), cu rol în autoreglarea AMPK. Studiile cristalografice recente au stabilit faptul că domeniul kinază are o structură bilobată tipică pentru Ser/Thr protein kinaze [41, 49]. Secvența AIS interacționează cu ambii lobi ai kinazei (N-terminal și C-terminal), menținând kinaza într-o conformație „deschisă” inactivă și stimulând, probabil, defosforilarea Thr din bucla de activare. Domeniul kinază este conectat cu domeniul C-terminal prin intermediul LS (linker sequence), care, din datele de mutagenză și de microscopie electronică, interacționează atât cu subunitatea β , cât și cu γ [56]. Subunitatea α a AMPK recunoaște și fosforilează proteinele țintă la secvența H(X,B)XXS/TXXXH (H - aminoacid hidrofob, B – aminoacid bazic, X – orice aminoacid) [41].

Subunitatea β a AMPK participă atât la formarea heterotrimerului cât și la localizarea subcelulară a complexului. Pot fi evidențiate 2 domenii conservate [34, 51]: 1. domeniul CBM (carbohydrate-binding module) sau GBD (glycogen-binding domain); 2. domeniul C-terminal. Prin intermediul CBM heterotrimerul AMPK se leagă la glicogen. Domeniul CBM interacționează, în special, cu glicogenul în care legăturile α (1-6) sunt expuse. Domeniul C-terminal al subunității β interacționează cu subunitățile α și γ , formând o foaie β pliată intermoleculară [41]. Subunitatea β este miristoilată la N-terminal, modificare ce a fost direct implicată în controlul activității AMPK [40].

Activatorii alosterici (de obicei, AMP) și inhibitorul alosteric (ATP) se atașează la subunitatea γ a AMPK [41, 49]. Subunitatea γ a AMPK prezintă 3 domenii [51]: 1. domeniul N-terminal (cu funcție necunoscută); 2. domeniul Bateman 1 (Bateman A); 3. domeniul Bateman 2 (Bateman B). Domeniile Bateman, dispuse cap la cap, sunt formate prin pliarea a 2 secvențe CBS (cystathionine β -synthase) (domeniul Bateman 1 – CBS1 și CBS2, domeniul Bateman 2 – CBS3 și CBS4). Secvențele CBS (de aproximativ 60 Aa) se întâlnesc la unele enzime și proteine canal ce utilizează nucleotide în calitate de reglatori alosterici [27]. În structurile AMPK de la mamifere se observă legarea a 3 molecule de AMP (la secvențele CBS1, CBS3 și CBS4), dar doar 2 molecule AMP (din CBS1 și CBS3) pot fi înlocuite cu ATP. Siturile CBS1 și CBS3 au afinitate diferită față de AMP, presupunându-se că anume atașarea AMP la CBS1 (situs cu afinitate sporită) induce activarea alosterică a enzimei [53]. Legarea AMP la CBS3 (situs cu afinitate redusă) a AMPK, însă, previne defosforilarea Thr din bucla de activare de către protein fosfataze, asigurând fosforilarea subunității α de către kinaza LKB1 și, astfel, sporind activitatea enzimei de câteva sute de ori [53]. În unele tipuri de celule, fosforilarea Thr poate fi realizată și de kinazele CaMKK β (Ca²⁺/calmodulin-dependent kinase kinase β) și TAK1 (transforming growth factor- β -activated kinase 1) [18, 20].

Fiind activată de AMP, AMPK acționează atât pe termen scurt (fosforilarea proteinelor țintă), cât și pe termen lung (controlul expresiei genelor) [18]. Primele ținte identificate ale AMPK au fost acetyl-CoA carboxilaza și 3-hidroxi-3-metilglutaril-CoA reductaza, enzime implicate în sinteza acizilor grași și a colesterolului, respectiv [10, 19]. Inhibarea prin fosforilare a acestora blochează în ficat sinteza acizilor grași și a colesterolului, însă stimulează β oxidarea acizilor grași [17]. Pe termen lung, AMPK blochează sinteza trigliceridelor, colesterolului și stimulează oxidarea acizilor grași prin fosforilarea și inactivarea factorilor de transcripție SREBP-1c (sterol regulatory element binding protein 1c), ChREBP (carbohydrate response element binding protein), HNF4 α (hepatocyte nuclear factor 4 α), responsabili de transcripția enzimelor cheie ale lipogenezei [28, 32]. AMPK reglează metabolismul glucidelor pe următoarele căi: 1. stimularea importului glucozei în mușchi (transportul în membrană și expresia GLUT4 – glucose transporter type-4) [35]; 2. blocarea sintezei glicogenului (prin fosforilarea și inhibarea glicogen sintazei) [25, 34]; 3. stimularea glicolizei în mușchiul striat cardiac (prin fosforilarea și activarea isoformei cardiace a 6-fosfofructo-2-kinazei) [51]; 4. inhibarea gluconeogenezei hepatice (prin reducerea expresiei fosfoenolpiruvat carboxikinazei și glucozo-6-fosfatazei) [21]. AMPK inhibă sinteza proteinelor pe 2 căi: 1. fosforilarea și activarea eEF2K (eukaryotic elongation factor 2 kinase), enzimă ce fosforilează și inactivează factorul eEF-2 [3]; 2. blocarea căii mTOR (mammalian target of rapamycin) [19].

Acțiunile AMPK nu se limitează doar la controlul metabolismului celular. La mamifere, enzima a fost implicată și în controlul hipotalamic al comportamentului alimentar. Repausul alimentar stimulează activitatea AMPK în mai multe regiuni hipotalamice (în special, în nucleul arcuat și paraventricular) și, prin aceasta senzația de foame, iar hrănirea inhibă activitatea hipotalamică a AMPK, astfel provocând senzația de sațietate [30].

Participarea decisivă a AMPK în controlul metabolismului glucidic și lipidic și prezența dereglărilor acestui sistem în unele disfuncții metabolice au intensificat studiile de asociație dintre polimorfismele din genele ce codifică subunitățile enzimei și componentele sindromului metabolic.

Polimorfismele AMPK și sindromul metabolic

Până în prezent, au fost investigate unele polimorfisme SNPs (single-nucleotide polymorphisms) din toate genele (PRKAA1, PRKAA2, PRKAB1, PRKAB2, PRKAG1, PRKAG2, PRKAG3) AMPK, dar asocierile statistice semnificative cu unele componente ale sindromului metabolic (insulinorezistență, concentrațiile colesterolului total, LDL-colesterolului și HDL-colesterolului) și unele complicații ale acestuia (diabet zaharat de tip 2) au prezentat doar polimorfismele din PRKAA2, PRKAG2 și PRKAG3 (Tabel 1).

Polimorfismele în gena PRKAA2 ce codifică subunitatea α 2 a AMPK au fost asociate atât cu concentrațiile colesterolului total, LDL-colesterolului și HDL-colesterolului (la

caucazieni) [47], cât și cu insulinorezistența (la japonezi) [22]. Totuși, alte studii (la caucazieni) nu a identificat o asociere semnificativă dintre polimorfismele SNPs (single-nucleotide polymorphism) selectate din PRKAA2 și diabetul zaharat tip 2 [50] sau sindromul ovarului policistic [48]. Toate cele 5 SNPs intronice studiate [47] din această genă prezintă asociere statistic semnificativă cu concentrația colesterolului total (explicând 0.13-0.59% din varianță) și cu concentrația LDL-colesterolului (explicând 0.11-0.55% din varianță), dar nu prezintă asociere cu parametrii glicemici. Un SNP (rs2796498), din cadrul acestui studiu, a fost asociat cu obezitatea abdominală. Analiza haplotipică a evidențiat: 1. existența unui haplotip protector (TACGA, frecvența 34.7%) – cu concentrațiile scăzute ale LDL-colesterolului și colesterolului total; 2. existența unui haplotip ce conferă risc sporit (TGAGA, frecvența 10.5%) – cu concentrația scăzută a HDL-colesterolului.

Tabel 1 Polimorfismele AMPK și implicarea acestora în sindromul metabolic

Gena	Locus	SNP	Caracteristica	Fenotip	Referința
PRKAA2	1p31	rs2051040	intronic	insulinorezistență	[22]
		rs1124900	intronic	colesterol total,	
		rs2796516	intronic	LDL-colesterol	[47]
		rs2746342	intronic	și HDL-	
		rs2796498	intronic	colesterol	
rs1418442	intronic				
PRKAG2	7q36.1	-26 C/T IVS1 +43C/T	5'-UTR intronic	insulinorezistență trigliceride colesterol total	[54]
PRKAG3	2q35	rs5017427 rs692243 rs6436094	intronic P71A 3'-UTR	diabet zaharat, tip 2 LDL-colesterol și apoB-100	[24] [52]

Polimorfismele SNPs din PRKAA2 genotipate la japonezi [22] nu prezintă asociere individuală cu diabetul zaharat de tip 2. În schimb, analiza haplotipică a permis identificarea unui haplotip (AGTAAT) asociat cu diabetul zaharat de tip 2, însă acest haplotip nu a fost replicat într-un studiu ulterior [29]. SNP intronic rs2051040 chiar dacă nu este asociat cu diabetul zaharat, a fost asociat cu insulinorezistența (cuantificată prin HOMA-IR – homeostasis model assessment of insulin resistance). Semnificativ este faptul că rs1418442 este asociat atât valorile colesterolului total și LDL-colesterolului [47], cât și cu diabetul zaharat de tip 2 (asociere slabă) [29], autorii speculând implicarea acestui SNP în patogeneza sindromului metabolic. Polimorfismele rs9803799 și rs1342514 prezintă asociere cu intervenția metforminei și modificărilor modului de viață, respectiv, în prevenția diabetului zaharat de tip 2 (interacțiune genă-mediul) [24].

Polimorfismele cercetate în genele PRKAB1 și PRKAB2 nu au prezentat asociere semnificativă cu diabetul zaharat de tip 2 în diferite populații [43, 50], însă polimorfismele rs6690158 și rs17159890 din PRKAB2 au fost asociate (la caucazieni) cu intervenția metforminei și modificărilor modului de viață, respectiv, în prevenția diabetului zaharat de tip 2 [24].

În PRKAG2 au fost identificate polimorfisme SNP ce prezintă asociere semnificativă cu diabetul zaharat de tip 2 (la caucazieni) și insulinorezistență, diabet zaharat de tip 2, concentrația trigliceridelor și colesterolului total (la chinezi) [24, 54] și cu intervenția modificărilor modului

de viață în prevenția diabetului zaharat de tip 2 [24]. În cazul polimorfismului -26C/T, indivizii homozigoți după alela minoră (TT) prezintă concentrații sporite ale glucozei plasmatice, valori mai mari a HOMA-IR și mai mici a HOMA-β, autorii presupunând participarea acestui polimorfism în disfuncția celulelor β [54]. Asocierea dintre acest polimorfism și insulinorezistență, diabet zaharat de tip 2 nu a fost replicat într-o populație tunisiană [39]. În cazul polimorfismului IVS1 +43C/T, la indivizii homozigoți după alela minoră (TT) se constată concentrația sporită a colesterolului total și trigliceridelor, însă concentrațiile LDL și HDL-colesterolului nu diferă de concentrațiile prezente la indivizii cu alela C. Două polimorfisme PRKAG2 (-90G/T, 59G/T) dintr-o populație tunisiană nu prezintă asociere statistic semnificativă cu diabetul zaharat de tip 2 și cu bolile cardiovasculare [39].

În PRKAG3 au fost caracterizate 2 polimorfisme SNP, ce prezintă asociere cu concentrațiile LDL-colesterolului, colesterolului total și ApoB-100, dar care nu sunt asociate cu glicemia sau sensibilitatea la insulină [52]. Unul dintre SNPs (rs692243) este nesinonim (P71A), iar celălalt (rs6436094) este localizat în regiunea 3'-UTR. Indivizii homozigoți după alela minoră, în cazul ambelor SNPs, prezintă concentrații sporite ale LDL-colesterolului, colesterolului total și ApoB-100, cele mai mari concentrații fiind observate la indivizii homozigoți după alela minoră a ambelor SNPs (GG/GG). Semnificativ este faptul că aceste SNPs nu prezintă asociere cu concentrațiile HDL-colesterolului, trigliceridelor, acizilor grași neesterificați din plasmă, leptinei, adiponectinei și nici cu conținutul intramuscular sau intrahepatic al trigliceridelor [52].

Într-un alt studiu, prin secvențierea exonilor și situsurilor de splicing din PRKAG3 la indivizi obezi și normoponderali au fost identificate 87 variante ale secvenței (dintre care 6 SNPs, inclusiv rs692243, asocierea cărora nu a fost testată), importanță prezentând, în special, mutația R225W [5]. Această mutație determină sporirea activității AMPK în mușchii striati scheletici. În rezultatul acestui fapt, probabil, în mușchi are loc creșterea numărului de mitocondrii, importului de glucoză, sintezei glicogenului și reducerea conținutului intramuscular al trigliceridelor [5, 6]. Mutația R225W reprezintă un exemplu concludent al potențialului efect al unor variante în secvența genelor AMPK asupra activității enzimei și funcțiilor acesteia.

În afara componentelor sindromului metabolic și complicațiilor acestuia, unele polimorfisme AMPK au prezentat asociere cu cancerul de colon (PRKAA1, PRKAG2) și cancerul rectal (PRKAG2) [46].

Concluzii

AMPK și căile de semnalizare asociate asigură menținerea constantă a balanței energetice din celulă și contribuie la homeostazia energetică la nivelul întregului organism. Dereglările acestui sistem, din interacțiunea factorilor de mediu cu cei genetici, sunt implicate în patogeneza sindromului metabolic și a altor boli comune. Unele alele polimorfice din genele AMPK ar putea contribui la dereglarea acestui sistem.

Bibliografie

1. Arad, M., C.E. Seidman, and J.G. Seidman, AMP-activated protein kinase in the heart: role during health and disease. *Circ Res*, 2007. 100(4): p. 474-488.;
2. Batsis, J.A., R.E. Nieto-Martinez, and F. Lopez-Jimenez, Metabolic syndrome: from global epidemiology to individualized medicine. *Clin Pharmacol Ther*, 2007. 82(5): p. 509-524.;
3. Browne, G.J., S.G. Finn, and C.G. Proud, Stimulation of the AMP-activated protein kinase leads to activation of eukaryotic elongation factor 2 kinase and to its phosphorylation at a novel site, serine 398. *J Biol Chem*, 2004. 279(13): p. 12220-12231.;
4. Carling, D., The AMP-activated protein kinase cascade--a unifying system for energy control. *Trends Biochem Sci*, 2004. 29(1): p. 18-24.;
5. Costford, S.R., N. Kavaslar, et al., Gain-of-function R225W mutation in human AMPKgamma(3) causing increased glycogen and decreased triglyceride in skeletal muscle. *PLoS One*, 2007. 2(9): p. e903.;

6. Crawford, S.A., S.R. Costford, et al., Naturally occurring R225W mutation of the gene encoding AMP-activated protein kinase (AMPK) γ 3 results in increased oxidative capacity and glucose uptake in human primary myotubes. *Diabetologia*, 2010. 53(9): p. 1986-1997.;
7. Deng, Y. and P.E. Scherer, Adipokines as novel biomarkers and regulators of the metabolic syndrome. *Ann N Y Acad Sci*, 2010. 1212: p. E1-E19.;
8. Despres, J.P. and I. Lemieux, Abdominal obesity and metabolic syndrome. *Nature*, 2006. 444(7121): p. 881-887.;
9. Eckel, R.H., S.M. Grundy, and P.Z. Zimmet, The metabolic syndrome. *Lancet*, 2005. 365(9468): p. 1415-1428.;
10. Foretz, M., N. Taleux, et al., [Regulation of energy metabolism by AMPK: a novel therapeutic approach for the treatment of metabolic and cardiovascular diseases]. *Med Sci (Paris)*, 2006. 22(4): p. 381-388.;
11. Gaidhu, M.P., N.M. Anthony, et al., Dysregulation of lipolysis and lipid metabolism in visceral and subcutaneous adipocytes by high-fat diet: role of ATGL, HSL, and AMPK. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2010. 298(4): p. C961-971.;
12. Gauthier, M.S., E.L. O'Brien, et al., Decreased AMP-activated protein kinase activity is associated with increased inflammation in visceral adipose tissue and with whole-body insulin resistance in morbidly obese humans. *Biochem Biophys Res Commun*, 2011. 404(1): p. 382-387.;
13. Grundy, S.M., Metabolic syndrome pandemic. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2008. 28(4): p. 629-636.;
14. Guilherme, A., J.V. Virbasius, et al., Adipocyte dysfunctions linking obesity to insulin resistance and type 2 diabetes. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2008. 9(5): p. 367-377.;
15. Hardie, D.G., The AMP-activated protein kinase pathway--new players upstream and downstream. *J Cell Sci*, 2004. 117(Pt 23): p. 5479-5487.;
16. Hardie, D.G., AMP-activated protein kinase as a drug target. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*, 2007. 47: p. 185-210.;
17. Hardie, D.G., AMP-activated/SNF1 protein kinases: conserved guardians of cellular energy. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2007. 8(10): p. 774-785.;
18. Hardie, D.G., AMP-activated protein kinase: a cellular energy sensor with a key role in metabolic disorders and in cancer. *Biochem Soc Trans*, 2011. 39(1): p. 1-13.;
19. Hardie, D.G., S.A. Hawley, and J.W. Scott, AMP-activated protein kinase--development of the energy sensor concept. *J Physiol*, 2006. 574(Pt 1): p. 7-15.;
20. Hardie, D.G. and K. Sakamoto, AMPK: a key sensor of fuel and energy status in skeletal muscle. *Physiology (Bethesda)*, 2006. 21: p. 48-60.;
21. Hegarty, B.D., N. Turner, et al., Insulin resistance and fuel homeostasis: the role of AMP-activated protein kinase. *Acta Physiol (Oxf)*, 2009. 196(1): p. 129-145.;
22. Horikoshi, M., K. Hara, et al., A polymorphism in the AMPK α 2 subunit gene is associated with insulin resistance and type 2 diabetes in the Japanese population. *Diabetes*, 2006. 55(4): p. 919-923.;
23. Hotamisligil, G.S., Inflammation and metabolic disorders. *Nature*, 2006. 444(7121): p. 860-867.;
24. Jablonski, K.A., J.B. McAteer, et al., Common variants in 40 genes assessed for diabetes incidence and response to metformin and lifestyle intervention in the diabetes prevention program. *Diabetes*, 2010. 59(10): p. 2672-2681.;
25. Jensen, T.E., J.F. Wojtaszewski, and E.A. Richter, AMP-activated protein kinase in contraction regulation of skeletal muscle metabolism: necessary and/or sufficient? *Acta Physiol (Oxf)*, 2009. 196(1): p. 155-174.;
26. Kahn, B.B., T. Alquier, et al., AMP-activated protein kinase: ancient energy gauge provides clues to modern understanding of metabolism. *Cell Metab*, 2005. 1(1): p. 15-25.;

27. Kemp, B.E., Bateman domains and adenosine derivatives form a binding contract. *J Clin Invest*, 2004. 113(2): p. 182-184.;
28. Kemp, B.E., D. Stapleton, et al., AMP-activated protein kinase, super metabolic regulator. *Biochem Soc Trans*, 2003. 31(Pt 1): p. 162-168.;
29. Keshavarz, P., H. Inoue, et al., Single nucleotide polymorphisms in genes encoding LKB1 (STK11), TORC2 (CRTC2) and AMPK alpha2-subunit (PRKAA2) and risk of type 2 diabetes. *Mol Genet Metab*, 2008. 93(2): p. 200-209.;
30. Kola, B., Role of AMP-activated protein kinase in the control of appetite. *J Neuroendocrinol*, 2008. 20(7): p. 942-951.;
31. Laclaustra, M., D. Corella, and J.M. Ordovas, Metabolic syndrome pathophysiology: the role of adipose tissue. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*, 2007. 17(2): p. 125-139.;
32. Leff, T., AMP-activated protein kinase regulates gene expression by direct phosphorylation of nuclear proteins. *Biochem Soc Trans*, 2003. 31(Pt 1): p. 224-227.;
33. Lim, C.T., B. Kola, and M. Korbonits, AMPK as a mediator of hormonal signalling. *J Mol Endocrinol*, 2010. 44(2): p. 87-97.;
34. McBride, A. and D.G. Hardie, AMP-activated protein kinase--a sensor of glycogen as well as AMP and ATP? *Acta Physiol (Oxf)*, 2009. 196(1): p. 99-113.;
35. Moffat, C. and M. Ellen Harper, Metabolic functions of AMPK: aspects of structure and of natural mutations in the regulatory gamma subunits. *IUBMB Life*, 2010. 62(10): p. 739-745.;
36. Moller, D.E. and K.D. Kaufman, Metabolic syndrome: a clinical and molecular perspective. *Annu Rev Med*, 2005. 56: p. 45-62.;
37. Muoio, D.M. and C.B. Newgard, Mechanisms of disease: molecular and metabolic mechanisms of insulin resistance and beta-cell failure in type 2 diabetes. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2008. 9(3): p. 193-205.;
38. Narayan, K.M., M.K. Ali, and J.P. Koplan, Global noncommunicable diseases--where worlds meet. *N Engl J Med*, 2010. 363(13): p. 1196-1198.;
39. Nouira, S., I. Arfa, et al., Identification of two novel variants in PRKAG2 gene in Tunisian type 2 diabetic patients with family history of cardiovascular disease. *Diabetes Res Clin Pract*, 2010. 87(2): p. e7-10.;
40. Oakhill, J.S., Z.P. Chen, et al., beta-Subunit myristoylation is the gatekeeper for initiating metabolic stress sensing by AMP-activated protein kinase (AMPK). *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2010. 107(45): p. 19237-19241.;
41. Oakhill, J.S., J.W. Scott, and B.E. Kemp, Structure and function of AMP-activated protein kinase. *Acta Physiol (Oxf)*, 2009. 196(1): p. 3-14.;
42. Prentki, M. and C.J. Nolan, Islet beta cell failure in type 2 diabetes. *J Clin Invest*, 2006. 116(7): p. 1802-1812.;
43. Prochazka, M., V.S. Farook, et al., Variant screening of PRKAB2, a type 2 diabetes mellitus susceptibility candidate gene on 1q in Pima Indians. *Mol Cell Probes*, 2002. 16(6): p. 421-427.;
44. Rayner, M., S. Allender, and P. Scarborough, Cardiovascular disease in Europe. *Eur J Cardiovasc Prev Rehabil*, 2009. 16 Suppl 2: p. S43-47.;
45. Roger, V.L., A.S. Go, et al., Heart disease and stroke statistics--2011 update: a report from the American Heart Association. *Circulation*, 2011. 123(4): p. e18-e209.;
46. Slattery, M.L., J.S. Herrick, et al., Genetic variation in a metabolic signaling pathway and colon and rectal cancer risk: mTOR, PTEN, STK11, RPKAA1, PRKAG2, TSC1, TSC2, PI3K and Akt1. *Carcinogenesis*, 2010. 31(9): p. 1604-1611.;
47. Spencer-Jones, N.J., D. Ge, et al., AMP-kinase alpha2 subunit gene PRKAA2 variants are associated with total cholesterol, low-density lipoprotein-cholesterol and high-density lipoprotein-cholesterol in normal women. *J Med Genet*, 2006. 43(12): p. 936-942.;
48. Sproul, K., M.R. Jones, et al., Association study of AMP-activated protein kinase subunit genes in polycystic ovary syndrome. *Eur J Endocrinol*, 2009. 161(3): p. 405-409.;

49. Steinberg, G.R. and B.E. Kemp, AMPK in Health and Disease. *Physiol Rev*, 2009. 89(3): p. 1025-1078.;
50. Sun, M.W., J.Y. Lee, et al., Haplotype structures and large-scale association testing of the 5' AMP-activated protein kinase genes PRKAA2, PRKAB1, and PRKAB2 [corrected] with type 2 diabetes. *Diabetes*, 2006. 55(3): p. 849-855.;
51. Towler, M.C. and D.G. Hardie, AMP-activated protein kinase in metabolic control and insulin signaling. *Circ Res*, 2007. 100(3): p. 328-341.;
52. Weyrich, P., F. Machicao, et al., Role of AMP-activated protein kinase gamma 3 genetic variability in glucose and lipid metabolism in non-diabetic whites. *Diabetologia*, 2007. 50(10): p. 2097-2106.;
53. Xiao, B., M.J. Sanders, et al., Structure of mammalian AMPK and its regulation by ADP. *Nature*, 2011. 472(7342): p. 230-233.;
54. Xu, M., X. Li, et al., Glucose and lipid metabolism in relation to novel polymorphisms in the 5'-AMP-activated protein kinase gamma2 gene in Chinese. *Mol Genet Metab*, 2005. 86(3): p. 372-378.;
55. Zhang, B.B., G. Zhou, and C. Li, AMPK: an emerging drug target for diabetes and the metabolic syndrome. *Cell Metab*, 2009. 9(5): p. 407-416.;
56. Zhu, L., L. Chen, et al., Structural Insights into the Architecture and Allostery of Full-Length AMP-Activated Protein Kinase. *Structure*, 2011. 19(4): p. 515-522.;

**STRATEGIES FOR IDENTIFYING GENETIC FACTORS
IN MULTIFACTORIAL STROKE
(REVIEW)**

Elena Mocan

Institute of Genetics and Plant Physiology, Academy of Sciences of Moldova

Summary

Stroke remains a major cause of death and disability both in developed and developing world countries. Understanding the genetic contributions to ischemic stroke is important not only so as to explain, or predict, the minority of cases that occur in the absence of well-established risk factors, such as smoking, hypertension and diabetes. Since many of the candidate genes tested for an association with ischemic stroke. Furthermore, the effect of each underlying gene may depend upon interaction with other loci and with environmental and lifestyle factors, as reported for some of the mendelian forms of stroke. Here we would like to describe important strategies for identifying genetic factors in multifactorial stroke.

Rezumat

Strategii pentru identificarea factoriilor genetice a ictusului multifactorial

Ictusul cerebrovascular rămâne a fi cauza majoră de deces și invaliditate, atât în țările dezvoltate cât și în cele în curs de dezvoltare. Înțelegerea contribuțiilor genetice în accidentele vascular-cerebrale ischemice, este importantă nu doar pentru a explica sau a prezice minoritatea de cazuri care apar în absența unor factori de risc bine stabiliți cum ar fi fumatul, hipertensiunea și diabetul zaharat. Astfel, multe dintre genele candidate au fost testate în asociere cu ictusul ischemic. În plus, efectul fiecărei gene de bază, ar putea depinde de interacțiunea cu alți loci și cu factorii de mediu și stilul de viață, cum s-a raportat pentru unele forme mendeliene ale ictusului. În acest articol, ne-am dori să descriem strategiile importante pentru identificarea factorilor genetici în ictusul multifactorial.