

# **Aggiornamenti sulla modulazione dell'invecchiamento**

Trent'anni fa il concetto di antiossidante era, al di fuori della comunità scientifica, praticamente sconosciuto. Oggi questo termine è diventato onnipresente e molto sentito se si parla della modulazione dei processi di invecchiamento.

In questo articolo, si descrive un metodo per contrastare un fattore importante di invecchiamento che oggi è oscuro come gli antiossidanti lo erano 35 anni fa.

Si parla di un enzima chiamato AMPK che permette alle cellule di funzionare con vitalità e si discute sugli effetti anti-aging che si verificano in risposta ad una maggiore attività dello stesso.

Gli appassionati di longevità saranno entusiasti di conoscere quanti sono i processi degenerativi che possono essere invertiti quando l'attività di AMPK è migliorata:

Gli effetti biologici dell'aumento di questa attività includono l'inibizione dello stoccaggio dei grassi, la riduzione della sintesi di colesterolo e trigliceridi e un maggiore assorbimento di glucosio nel muscolo.

Per comprendere il significato di AMPK, è importante rivedere alcune cause di invecchiamento che non dipendono dai nutrienti e dagli ormoni.

Con l'avanzare dell'età, le nostre cellule perdono la capacità di ripulirsi dai detriti accumulati, spesso definiti come "spazzatura cellulare". Queste cellule senili perdono la loro capacità di degradare spazzatura cellulare attraverso un processo chiamato autofagia. L'accumulo di queste cellule difettose è un catalizzatore per tutte le malattie degenerative.

Tutto ciò può essere ricondotto a un deficit di AMPK e, questo disturbo, mette a repentaglio l'invecchiamento sano.

Un'altra caratteristica dell'attivazione di AMPK è la stimolazione del metabolismo energetico, grazie all'impulso evocato nelle cellule a bruciare glucosio e acidi grassi. Questo è solo uno dei modi in cui AMPK abbassa il glucosio nel sangue e riduce il deposito di grasso corporeo.

AMPK è acronimo di adenosina monofosfato-activated protein chinasi. Si tratta di un enzima che svolge un ruolo critico nella omeostasi cellulare. Funge da interruttore generale per regolare le funzioni cellulari come l'assorbimento di glucosio, l'ossidazione dei grassi, e la formazione di nuovi mitocondri. Diminuisce con l'invecchiamento. Durante l'invecchiamento, si assiste infatti a un costante aumento nel sangue dei livelli di glucosio e a un eccesso di accumulo di grasso corporeo: l'impatto del deficit AMPK si può chiaramente vedere.

Il sovraccarico nutrizionale ostacola l'attività di AMPK, pertanto non dovrebbe sorprendere che un metodo per migliorare l'attività di questo enzima sia la restrizione calorica. In un ambiente a basso contenuto calorico, le cellule mettono in atto meccanismi di sopravvivenza (come l'AMPK) per ottimizzare il bilancio energetico. All'opposto l'eccesso di cibo cronico disattiva AMPK e abbrevia la durata della vita.

Studi sui primati convalidano gli effetti sulla longevità quando la restrizione calorica è stata eseguita correttamente. Gli uomini trovano difficile da sempre mangiare meno ma bisogna abituarsi a farlo.

Le cellule producono continuamente prodotti di scarto che vengono efficacemente rimossi dai segnali governati da AMPK. Quando AMPK cala di attività, i prodotti di scarto si accumulano e rendono le nostre cellule disfunzionali.

Talvolta la disfunzione è così grave che le cellule senili non riescono nemmeno a autodistruggersi (apoptosi), perché non hanno capacità energetiche sufficienti per eseguire anche semplici attività di manutenzione. Queste cellule senili emettono segnali esterni cronici che creano uno stato sistemico di basso livello di infiammazione in tutto il corpo che invecchia. AMPK aumenta la capacità di pulizia cellulare.

Quando il diabete di tipo II si manifesta, spesso causato da una perdita nelle cellule di sensibilità all'insulina, con un meccanismo simile a quello del farmaco metformina, AMPK migliora la sensibilità all'insulina abbassando il livello di zucchero nel sangue.

Lo stress cellulare si verifica in risposta a condizioni estreme di temperatura, all'esposizione a sostanze tossiche, a danni meccanici, a fenomeni di infiammazione, e all'eccesso di radicali liberi. Una sana risposta allo stress permette alle cellule di sopravvivere a questi eventi dannosi e distruttivi.

AMPK innesca vie di segnalazione che migliorano la risposta allo stress cellulare.

La sua capacità di reagire allo stress cellulare diminuisce con l'età, e questo compromette il mantenimento del bilancio energetico cellulare. In particolare, una carenza di AMPK può rendere l'invecchiamento più vulnerabile all'impatto della senescenza immunitaria e dell'infiammazione cronica.

Le sirtuine sono una famiglia di geni coinvolti nella regolazione del metabolismo energetico cellulare.

SIRT1 è quello più studiato a causa del ruolo poliedrico nella sopravvivenza cellulare, l'infiammazione, l'apoptosi (morte cellulare programmata).

AMPK promuove l'attività funzionale di SIRT1, che influenza favorevolmente i fattori benefici della longevità. Diversi studi indicano che SIRT1 è associato al prolungamento della durata della vita. SIRT1 aumenta durante la restrizione calorica e può migliorare la resistenza cellulare allo stress, che è una difesa ben nota contro il processo di invecchiamento.

Il resveratrolo è un integratore diventato popolare in merito alla sua capacità di migliorare SIRT1. Il resveratrolo può farlo aumentando AMPK.

I ricercatori hanno identificato diversi percorsi di "segnalazione" coinvolti nella regolazione di processi di invecchiamento. Queste "vie di segnalazione" promuovono la longevità negli organismi inferiori.

Uno di questi "segnali", dal nome p53, controlla la proliferazione cellulare. P53 è conosciuto come un gene soppressore del tumore e la perdita di p53 predispone le cellule allo sviluppo di tumore maligno. P53 è anche coinvolto nella regolazione del metabolismo cellulare e nell'autodistruzione (apoptosi) delle cellule senescenti.

Il Fattore Nucleare - kappa beta (NF-kB) è un segnale cellulare interno che induce infiammazione cronica. Alcuni nutrienti come per esempio la curcumina sopprimono l'attivazione di NF-kB.

Mantenendo alta l'attività di AMPK, l'attività di p53 è protetta, mentre viene soppressa quella di NF-kB .

## Sommario delle azioni di AMPK

AMPK è un regolatore critico del metabolismo energetico. I vantaggi dell' attivazione di AMPK sono: più bassi livelli di glucosio e trigliceridi ematici, insieme alla riduzione della massa grassa addominale.

AMPK consente di eliminare componenti disfunzionali cellulari (autofagia), e aiuta quindi a ridurre l'infiammazione cronica di basso.

La resistenza cellulare allo stress migliora in risposta ad una maggiore attivazione AMPK.

La maggiore attività di AMPK può allungare la durata della vita in organismi inferiori.

L'esercizio fisico attiva AMPK, anche se questo effetto diminuisce con l'avanzare dell'età.

La metformina è capace di aumentare l'attività di AMPK.

In risposta al ridotto apporto calorico, le cellule attivano AMPK come meccanismo di sopravvivenza. Questa attivazione benefica di AMPK svanisce quando si riprende il normale consumo alimentare.

## Bibliografia

Villena JA, Violette B, Andreelli F, Kahn A, Vaulont S, Sul HS. Induced adiposity and adipocyte hypertrophy in mice lacking the AMP-activated protein kinase- $\alpha$ 2 subunit. *Diabetes*. 2004 Sep;53(9):2242-9.

Anthony NM, Gaidhu MP, Ceddia RB. Regulation of visceral and subcutaneous adipocyte lipolysis by acute AICAR-induced AMPK activation. *Obesity (Silver Spring)*. 2009 Jul;17(7):1312-7.

Daval M, Diot-Dupuy F, Bazin R, et al. Anti-lipolytic action of AMP-activated protein kinase in rodent adipocytes. *J Biol Chem*. 2005 Jul 1;280(26):25250-7.

Henin N, Vincent MF, Gruber HE, Van den Berghe G. Inhibition of fatty acid and cholesterol synthesis by stimulation of AMP-activated protein kinase. *FASEB J*. 1995 Apr;9(7):541-6.

Henriksen BS, Curtis ME, Fillmore N, Cardon BR, Thomson DM, Hancock CR. The effects of chronic AMPK activation on hepatic triglyceride accumulation and glycerol 3-phosphate acyltransferase activity with high fat feeding. *Diabetol Metab Syndr*. 2013 May 31;5:29.

Friedrichsen M, Mortensen B, Pehmoller C, Birk JB, Wojtaszewski JF. Exercise-induced AMPK activity in skeletal muscle: role in glucose uptake and insulin sensitivity. *Mol Cell Endocrinol*. 2013 Feb 25;366(2):204-14.

Towler MC, Hardie DG. AMP-activated protein kinase in metabolic control and insulin signaling. *Circ Res*. 2007 Feb 16;100(3):328-41.

Rutter GA, Da Silva Xavier G, Leclerc I. Roles of 5'-AMP-activated protein kinase (AMPK) in mammalian glucose homeostasis. *Biochem J*. 2003 Oct 1;375(Pt 1):1-16.

Pirkmajer S, Kulkarni SS, Tom RZ, et al. Methotrexate promotes glucose uptake and lipid oxidation in skeletal muscle via AMPK activation. *Diabetes*. 2014 Oct 22.

Hoh Kam J, Lenassi E, Jeffery G. Viewing ageing eyes: diverse sites of amyloid Beta accumulation in the ageing mouse retina and the up-regulation of macrophages. *PLoS One*. 2010 Oct 1;5(10).

Arahamian T, Takemura Y, Goukassian D, Walsh K. Ageing is associated with diminished apoptotic cell clearance in vivo. *Clin Exp Immunol*. 2008 Jun;152(3):448-55.

Neumann H, Kotter MR, Franklin RJ. Debris clearance by microglia: an essential link between degeneration and regeneration. *Brain*. 2009 Feb;132(Pt 2):288-95.

Salminen A, Kaarniranta K. AMP-activated protein kinase (AMPK) controls the aging process via an integrated signaling network. *Ageing Res Rev*. 2012 Apr;11(2):230-41.

Bijland S, Mancini SJ, Salt IP. Role of AMP-activated protein kinase in adipose tissue metabolism and inflammation. *Clin Sci (Lond)*. 2013 Apr;124(8):491-507.

Carling D. The AMP-activated protein kinase cascade—a unifying system for energy control. *Trends Biochem Sci*. 2004 Jan;29(1):18-24.

Hardie DG. Sensing of energy and nutrients by AMP-activated protein kinase. *Am J Clin Nutr*. 2011 Apr;93(4):891S-6.

Lage R, Diéguez C, Vidal-Puig A, López M. AMPK: a metabolic gauge regulating whole-body energy homeostasis. *Trends Mol Med*. 2008 Dec;14(12):539-49.

Hardie DG, Ross FA, Hawley SA. AMPK: a nutrient and energy sensor that maintains energy homeostasis. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2012 Mar 22;13(4):251-62.

Winder WW, Hardie DG. AMP-activated protein kinase, a metabolic master switch: possible roles in type 2 diabetes. *Am J Physiol*. 1999 Jul;277(1 Pt 1):E1-10.

Andrade BM, Cazarin J, Zancan P, Carvalho DP. AMP-activated protein kinase upregulates glucose uptake in thyroid PCCL3 cells independent of thyrotropin. *Thyroid*. 2012 Oct;22(10):1063-8.

Brusq JM, Ancellin N, Grondin P, et al. Inhibition of lipid synthesis through activation of AMP kinase: an additional mechanism for the hypolipidemic effects of berberine. *J Lipid Res*. 2006 Jun;47(6):1281-8.

Reznick RM, Zong H, Li J, et al. Aging-associated reductions in AMP-activated protein kinase activity and mitochondrial biogenesis. *Cell Metab*. 2007 Feb;5(2):151-6.

O'Neill HM, Maarbjerg SJ, Crane JD, et al. AMP-activated protein kinase (AMPK) beta1beta2 muscle null mice reveal an essential role for AMPK in maintaining mitochondrial content and glucose uptake during exercise. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2011 Sep 20;108(38):16092-7.

Coughlan KA, Valentine RJ, Ruderman NB, Saha AK. Nutrient excess in AMPK downregulation and insulin resistance. *J Endocrinol Diabetes Obes*. 2013; Sep 14.

Saha AK, Xu XJ, Balon TW, Brandon A, Kraegen EW, Ruderman NB. Insulin resistance due to nutrient excess: is it a consequence of AMPK downregulation? *Cell Cycle*. 2011 Oct 15;10(20):3447-51.

Lee SH, Min KJ. Caloric restriction and its mimetics. *BMB Rep*. 2013 Apr;46(4):181-7.

Ribaric S. Diet and aging. *Oxid Med Cell Longev*. 2012;741468.

Canto C, Auwerx J. Calorie restriction: is AMPK as a key sensor and effector? *Physiology (Bethesda)*. 2011 Aug;26(4):214-24.

Boily G, Seifert EL, Bevilacqua L, et al. SirT1 regulates energy metabolism and response to caloric restriction in mice. *PLoS One*. 2008 Mar 12;3(3):e1759.

McKiernan SH, Colman RJ, Aiken E, et al. Anderson RM. Cellular adaptation contributes to calorie restriction-induced preservation of skeletal muscle in aged rhesus monkeys. *Exp Gerontol*. 2012 Mar;47(3):229-36.

Kemnitz JW. Calorie restriction and aging in nonhuman primates. *ILAR J*. 2011 52(1):66-77.

Colman RJ, Anderson RM, Johnson SC, et al. Caloric restriction delays disease onset and mortality in rhesus monkeys. *Science*. 2009 Jul 10;325(5937):201-4.

Kastman EK, Willette AA, Coe CL, et al. A calorie-restricted diet decreases brain iron accumulation and preserves motor performance in old rhesus monkeys. *J Neurosci*. 2010 Jun 9;30(23):7940-7.

Bodkin NL, Alexander TM, Ortmeier HK, Johnson E, Hansen BC. Mortality and morbidity in laboratory-maintained Rhesus monkeys and effects of long-term dietary restriction. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*. 2003 Mar;58(3):212-9.

Lane MA, Black A, Handy A, Tilmont EM, Ingram DK, Roth GS. Caloric restriction in primates. *Ann N Y Acad Sci*. 2001 Apr;928:287-95.

Freund A, Orjalo AV, Desprez PY, Campisi J. Inflammatory networks during cellular senescence: causes and consequences. *Trends Mol Med*. 2010 16(5):238-46.

Cevenini E, Monti D, Franceschi C. Inflamm-aging. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*. 2013 Jan;16(1):14-20.

Ren JL, Pan JS, Lu YP, Sun P, Han J. Inflammatory signaling and cellular senescence. *Cell Signal*. 2009 Mar;21(3):378-83.

Turdi S, Fan X, Li J, et al. AMP-activated protein kinase deficiency exacerbates aging-induced myocardial contractile dysfunction. *Aging Cell*. 2010 Aug;9(4):592-606.

Guilherme A, Virbasius JV, Puri V, Czech MP. Adipocyte dysfunctions linking obesity to insulin resistance and type 2 diabetes. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2008 May;9(5):367-77.

Salminen A, Kaarniranta K. AMP-activated protein kinase (AMPK) controls the aging process via an integrated signaling network. *Ageing Res Rev*. 2012 Apr;11(2):230-41.

Guo L, Xie B, Mao Z. Autophagy in Premature Senescent Cells Is Activated via AMPK Pathway. *Int J Mol Sci*. 2012;13(3):3563-82.

Rubinsztein DC, Mariño G, Kroemer G. Autophagy and aging. *Cell*. 2011 Sep 2;146(5):682-95.

Mosser DD, Caron AW, Bourget L, Denis-Larose C, Massie B. Role of the human heat shock protein hsp70 in protection against stress-induced apoptosis. *Mol Cell Biol*. 1997 Sep;17(9):5317-27.

Ragoonanan V, Hubel A, Aksan A. Response of the cell membrane-cytoskeleton complex to osmotic and freeze/thaw stresses. *Cryobiology*. 2010 Dec;61(3):335-44.

Tesh VL. Activation of cell stress response pathways by Shiga toxins. *Cell Microbiol*. 2012 Jan;14(1):1-9.

Baskurt OK, Meiselman HJ. Red blood cell mechanical stability test. *Clin Hemorheol Microcirc*. 2013;55(1):55-62.

Khansari N, Shakiba Y, Mahmoudi M. Chronic inflammation and oxidative stress as a major cause of age-related diseases and cancer. *Recent Pat Inflamm Allergy Drug Discov*. 2009 Jan;3(1):73-80.

Rahman K. Studies on free radicals, antioxidants, and co-factors. *Clin Interv Aging*. 2007;2(2):219-36.

Luo Z, Zang M, Guo W. AMPK as a metabolic tumor suppressor: control of metabolism and cell growth. *Future Oncol*. 2010 Mar;6(3):457-70.

Hwang JW, Yao H, Caito S, Sundar IK, Rahman I. Redox regulation of SIRT1 in inflammation and cellular senescence. *Free Radic Biol Med*. 2013 Mar 27;61C:95-110.

Yang H, Zhang W, Pan H, Feldser HG, Lainez E, Miller C, et al. SIRT1 activators suppress inflammatory responses through promotion of p65 deacetylation and inhibition of NF- $\kappa$ B activity. *PLoS One*. 2012 7(9):e46364.

Hernández-Jiménez M, Hurtado O, Cuartero MI, Ballesteros I, Moraga A, Pradillo JM, McBurney MW, Lizasoain I, Moro MA. Silent information regulator 1 protects the brain against cerebral ischemic damage. *Stroke*. 2013 Aug;44(8):2333-7.

Wang Y, Liang Y, Vanhoutte PM. SIRT1 and AMPK in regulating mammalian senescence: a critical review and a working model. *FEBS Lett*. 2011 Apr 6;585(7):986-94.

Salminen A, Hyttinen JM, Kaarniranta K. AMP-activated protein kinase inhibits NF- $\kappa$ B signaling and inflammation: impact on health span and life span. *J Mol Med (Berl)*. 2011 Jul;89(7):667-76.

Longo VD, Kennedy BK. Sirtuins in aging and age-related disease. *Cell*. 2006 Jul 28;126(2):257-68.

Cantó C, Auwerx J. Caloric restriction, SIRT1 and longevity. *Trends Endocrinol Metab*. 2009 Sep;20(7):325-31.

Haigis MC, Sinclair DA. Mammalian sirtuins: biological insights and disease relevance. *Annu Rev Pathol*. 2010 5:253-95.

Yu W, Zhou HF, Lin RB, Fu YC, Wang W. Short-term calorie restriction activates SIRT1 4 and 7 in cardiomyocytes in vivo and in vitro. *Mol Med Rep*. 2014 Apr;9(4):1218-24.

Haigis MC, Guarente LP. Mammalian sirtuins--emerging roles in physiology, aging, and calorie restriction. *Genes Dev*. 2006 Nov 1;20(21):2913-21.

Rogina B, Helfand SL. Sir2 mediates longevity in the fly through a pathway related to calorie restriction. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2004 Nov 9;101(45):15998-6003.

Chen D, Bruno J, Easlson E, et al. Tissue-specific regulation of SIRT1 by calorie restriction. *Genes Dev*. 2008 Jul 1;22(13):1753-7.

Cohen DE, Supinski AM, Bonkowski MS, Donmez G, Guarente LP. Neuronal SIRT1 regulates endocrine and behavioral responses to calorie restriction. *Genes Dev*. 2009 Dec 15;23(24):2812-7.

Ghosh S, Liu B, Zhou Z. Resveratrol activates SIRT1 in a lamin A-dependent manner. *Cell Cycle*. 2013 Mar 15;12(6):872-6.

Liu B, Zhou Z. Activation of SIRT1 by resveratrol requires lamin A. *Aging (Albany NY)*. 2013 Feb;5(2):94-5.

Lin CH, Lin CC, Ting WJ, et al. Resveratrol enhanced FOXO3 phosphorylation via synergetic activation of SIRT1 and PI3K/Akt signaling to improve the effects of exercise in elderly rat hearts. *Age (Dordr)*. 2014 Oct;36(5):9705.

Chen S, Xiao X, Feng X, et al. Resveratrol induces Sirt1-dependent apoptosis in 3T3-L1 preadipocytes by activating AMPK and suppressing AKT activity and survivin expression. *J Nutr Biochem*. 2012 Sep;23(9):1100-12.

Duursma A, Agami R. p53-Dependent regulation of Cdc6 protein stability controls cellular proliferation. *Mol Cell Biol*. 2005 Aug;25(16):6937-47.

Eischen CM, Weber JD, Roussel MF, Sherr CJ, Cleveland JL. Disruption of the ARF-Mdm2-p53 tumor suppressor pathway in Myc-induced lymphomagenesis. *Genes Dev*. 1999 Oct 15;13(20):2658-69.

Chen Z, Trotman LC, Shaffer D, et al. Crucial role of p53-dependent cellular senescence in suppression of Pten-deficient tumorigenesis. *Nature*. 2005 Aug 4;436(7051):725-30.

Ventura A, Kirsch DG, McLaughlin ME, et al. Restoration of p53 function leads to tumour regression in vivo. *Nature*. 2007 Feb 8;445(7128):661-5.

Liang Y, Liu J, Feng Z. The regulation of cellular metabolism by tumor suppressor p53. *Cell Biosci*. 2013 Feb 6;3(1):9.

Purvis JE, Karhohs KW, Mock C, Batchelor E, Loewer A, Lahav G. p53 dynamics control cell fate. *Science*. 2012 Jun 15;336(6087):1440-4.

Lowe J, Shatz M, Resnick MA, Menendez D. Modulation of immune responses by the tumor suppressor p53. *BioDiscovery*. 2013;8:2.

Hoesel B, Schmid JA. The complexity of NF- $\kappa$ B signaling in inflammation and cancer. *Mol Cancer*. 2013 Aug 2;12:86.

Pal S, Bhattacharjee A, Ali A, Mandal NC, Mandal SC, Pal M. Chronic inflammation and cancer: potential chemoprevention through nuclear factor kappa B and p53 mutual antagonism. *J Inflamm (Lond)*. 2014 Aug 9;11:23.

Singh S , Aggarwal BB. Activation of transcription factor NF-kappa B is suppressed by curcumin (diferuloylmethane) [corrected]. *J Biol Chem*. 1995 Oct 20;270(42):24995-5000.

Shishodia S, Amin HM, Lai R, Aggarwal BB. Curcumin (diferuloylmethane) inhibits constitutive NF-kappaB activation, induces G1/S arrest, suppresses proliferation, and induces apoptosis in mantle cell lymphoma. *Biochem Pharmacol* . 2005 Sep 1;70(5):700-13.

Hardie DG. AMP-activated protein kinase: a master switch in glucose and lipid metabolism. *Rev Endocr Metab Disord*. 2004;5:119-25.

Muoio DM, Seefeld K, Witters LA, Coleman RA. AMP-activated kinase reciprocally regulates triacylglycerol synthesis and fatty acid oxidation in liver and muscle: evidence that sn-glycerol-3-phosphate acyltransferase is a novel target. *Biochem J*. 1999 Mar 15;338(Pt 3):783-91.

Murase T, Misawa K, Haramizu S, Minegishi Y, Hase T. Nootkatone, a characteristic constituent of grapefruit, stimulates energy metabolism and prevents diet-induced obesity by activating AMPK. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2010 Aug;299(2):E266-75.

Lee MS, Kim IH, Kim CT, Kim Y. Reduction of body weight by dietary garlic is associated with an increase in uncoupling protein mRNA expression and activation of AMP-activated protein kinase in diet-induced obese mice. *J Nutr*. 2011 Nov;141(11):1947-53.

Park JE, Kim JY, Kim J, et al. Pomegranate vinegar beverage reduces visceral fat accumulation in association with AMPK activation in overweight women: A double, randomized, and placebo-controlled trial. *J Funct Foods*. 2014 May;(8):274-81.

Cool B, Zinker B, Chiou W, et al. Identification and characterization of a small molecule AMPK activator that treats key components of type 2 diabetes and the metabolic syndrome. *Cell Metab* . 2006 Jun;3(6):403-16.

Salminen A, Kaarniranta K, Kauppinen A. Inflammaging: disturbed interplay between autophagy and inflammasomes. *Aging (Albany NY)*. 2012 Mar;4(3):166-75.

Stenesen D, Suh JM, Seo J, et al. Adenosine nucleotide biosynthesis and AMPK regulate adult life span and mediate the longevity benefit of caloric restriction in flies. *Cell Metab*. 2013 Jan 8;17(1):101-12.

Ulgherait M, Rana A, Rera M, Graniel J, Walker DW. AMPK modulates tissue and organismal aging in a non-cell-autonomous manner. *Cell Rep*. 2014 Sep 25;8(6):1767-80.

Hardie DG. AMP-activated protein kinase: a key system mediating metabolic responses to exercise. *Med Sci Sports Exerc*. 2004 Jan;36(1):28-34.

Mortensen B, Poulsen P, Wegner L, et al. Genetic and metabolic effects on skeletal muscle AMPK in young and older twins. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2009 Oct;297(4):E956-64.

Hawley SA, Gadalla AE, Olsen GS, Hardie DG. The antidiabetic drug metformin activates the AMP-activated protein kinase cascade via an adenine nucleotide-independent mechanism. *Diabetes*. 2002 Aug;51(8):2420-5.

Matsui Y, Hirasawa Y, Sugiura T, Toyoshi T, Kyuki K, Ito M. Metformin reduces body weight gain and improves glucose intolerance in high-fat diet-fed C57BL/6J mice. *Biol Pharm Bull*. 2010 33(6):963-70.

Kristensen JM, Treebak JT, Schjerling P, Goodyear L, Wojtaszewski JF. Two weeks of metformin treatment induces AMPK-dependent enhancement of insulin-stimulated glucose uptake in mouse soleus muscle. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2014 May 15;306(10):E1099-109.

Available at: <http://www.bloomberg.com/news/2014-11-18/exercise-in-a-bottle-is-next-food-frontier-for-nestle.html>. Accessed November 21, 2014.

Palacios OM, Carmona JJ, Michan S, et al. Diet and exercise signals regulate SIRT3 and activate AMPK and PGC-1alpha in skeletal muscle. *Aging (Albany NY)*. 2009 Aug 15;1(9):771-83.

EL, Bigornia S, 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 Jan 7;404(1):382-7.

