

DOI: 10.13376/j.cbls/2015127

文章编号: 1004-0374(2015)07-0922-06

解偶联蛋白与阿尔茨海默病

张军¹, 于霄¹, 郭羽¹, 吴琼², 邹原^{2*}

(1 大连医科大学病理学教研室, 大连 116044; 2 大连医科大学生理学教研室, 大连 116044)

摘要: 解偶联蛋白 (uncoupling protein, UCP) 是线粒体内膜上的质子转运蛋白, 被激活时能引发质子漏, 质子经 UCP 渗漏回基质, 使氧化磷酸化部分解耦联, 降低线粒体膜电位, 减少过量活性氧的产生。另外, UCP 对 ATP 合成、钙离子稳态、能量代谢等也有调节作用。阿尔茨海默病是一种中枢神经系统退行性疾病, 由多种因素共同作用引起, 其中活性氧的作用越来越引起重视。UCP, 特别是 UCP2 在中枢神经系统疾病方面的保护作用日益引起关注, 有望成为阿尔茨海默病治疗的靶向目标。

关键词: 解偶联蛋白 2; 阿尔茨海默病; 活性氧

中图分类号: Q71; R749.16 **文献标志码:** A

Uncoupling protein and Alzheimer's disease

ZHANG Jun¹, YU Xiao¹, GUO Yu¹, WU Qiong², ZOU Yuan^{2*}

(1 Department of Pathology, Dalian Medical University, Dalian 116044, China; 2 Department of Physiology, Dalian Medical University, Dalian 116044, China)

Abstract: Uncoupling protein (UCP) is the mitochondrial inner membrane carrier protein. When the concept of mild uncoupling has been introduced, UCP predicts the existence of a protein-regulated proton leak with the main purpose of controlling mitochondrial oxidative stress, and reducing the generation of superoxide anion. In addition, UCP interferes with ATP synthesis, as a potential modulator of mitochondrial Ca²⁺ uptake and energy metabolism. Alzheimer's disease (AD) is progressively neurodegenerative disorder. A large number of studies have shown that reactive oxygen species (ROS) plays a significant role in AD pathogenesis. UCP has an important impact on mitochondrial ROS production, ATP generation and calcium regulation, suggesting that UCP, especially UCP2, may be a potential target for AD treatment.

Key words: uncoupling protein 2; Alzheimer's disease; reactive oxygen species

解偶联蛋白 (uncoupling protein, UCP) 是一种位于线粒体内膜上的载体蛋白, 起质子通道作用, 它可以驱散质子电化学梯度, 使呼吸链和 ATP 的合成解耦联, 产能转化为产热。其中以 UCP2 的研究较多。UCP2 在体内分布广泛。最新资料证明, UCP2 也存在于部分神经元中, 它们可以被自由基和游离脂肪酸激活, 引发质子漏, 质子经 UCP2 渗漏回基质, 使氧化磷酸化部分解耦联, 降低线粒体膜电位, 减少过量活性氧的产生, 对神经元功能有重要影响。UCP2 在中枢神经系统的作用日益引起重视, 参与多种中枢神经系统疾病的发生发展。阿尔茨海默病 (Alzheimer's disease, AD) 是一种以进行性认知功能

障碍和记忆损害为主的中枢神经系统退行性疾病, 发病机制目前还不是十分清楚, 但自由基氧化应激学说在老龄化神经变性疾病中备受关注, 采取抑制自由基的措施可能会延缓疾病进程, 目前已有多种抗氧化剂用于研究治疗阿尔茨海默病^[1-2]。

1 解偶联蛋白

解偶联蛋白是线粒体内膜上的质子转运蛋白。

收稿日期: 2015-03-09; 修回日期: 2015-04-12

基金项目: 辽宁省教育厅科研项目(L2012329); 国家自然科学基金项目(81071725)

*通信作者: E-mail: zouyuan@hotmail.com

现已发现的 UCP 有 5 种: UCP1、UCP2、UCP3、UCP4、UCP5(BMCP1)。UCP1 是解偶联蛋白家族中第一个被发现的^[3], 仅在棕色脂肪组织中表达, 主要功能是产热。UCP3 仅在骨骼肌和人类的心肌中表达, UCP4 和 BMCP1 主要在中枢神经系统表达, UCP4 在中枢神经系统的表达量是有争议的, UCP4 在脊髓、胼胝体和黑质部位表达最少^[4]。也有文献报道, UCP4 在脑的不同部位表达不同, 在皮质和下丘脑表达量最多^[5]。UCP2 则表达广泛, 在中枢神经系统也有表达。解偶联蛋白家族的 5 个成员在组织中的分布不同, 可能有不同的生理作用。UCP2 研究大部分集中在肥胖、糖尿病、炎症和抑制细胞死亡等方面。UCP2 在中枢神经系统方面的作用日益引起关注^[6]。在中枢神经系统内 UCP2 的作用不在于产热, 而在于降低介导氧化损伤的活性氧的产生。线粒体活性氧的失调在神经变性疾病中的作用已是研究的焦点, 尝试改变活性氧的产生或降解在神经变性疾病研究中可能会有重要作用^[7]。解偶联蛋白, 尤其是 UCP2, 通过调节线粒体活性氧的水平, 可能成为中枢神经系统疾病的一个重要调节因子^[8-9]。

1.1 UCP2在脑内的分布

原位杂交法表明, UCP2 mRNA 在小鼠的下丘脑、边缘系统、小脑、脉络丛和脑干有表达^[10], 在下丘脑最强的杂交信号位于弓形核、室旁核、视交叉上核和腹内侧核, 在大鼠和人类也如此^[11-12]。UCP2 蛋白在大鼠和非人类哺乳动物下丘脑中已有报道, 但在小鼠下丘脑的分布目前了解得比较少。另外, UCP2 分布也有种属差异, UCP2 mRNA 在小鼠小脑表达丰富, 在大鼠海马表达丰富。UCP2 mRNA 和蛋白在下丘脑的大量分布表明 UCP2 在代谢、自主调节和内分泌调节方面有重要作用。

1.2 UCP2抑制活性氧(reactive oxygen species, ROS)的产生

神经元中 UCP2 对降低 ROS 及随之的氧化应激有重要作用, 这也是 UCP2 能改变神经变性疾病病理变化的最重要的解释之一。ROS 主要由呼吸链产生, ROS 的形成主要与线粒体跨膜电化学梯度($\Delta\mu\text{H}^+$)呈正相关。 $\Delta\mu\text{H}^+$ 水平高时, 超氧阴离子产生增加, 易导致氧化应激。Skulachev^[13]发现线粒体具有轻度解偶联活性, 以防 $\Delta\mu\text{H}^+$ 的过度升高, 从而减少 ROS 的形成; 而加入 UCP2 抑制剂 GDP 后, 线粒体产生的 ROS 则明显增多。通过 UCP2 使线粒体解偶联活动增加, 降低 ROS 或氧化应激。在正常

生理情况下, 细胞中约 2% 的氧消耗于线粒体电子传递过程中活性氧的产生, 但 ROS 可以被体内的抗氧化机制清除, 无氧化应激的出现, 不对机体产生损伤。 $\Delta\mu\text{H}^+$ 的增加可刺激线粒体内膜面的 ROS 的生成, 因为它增加了随机单个电子传递给分子氧, 但同时也刺激了 UCP2 对线粒体的解偶联, 从而减少 ROS 的生成或氧化应激。即当线粒体内膜电势升高, ROS 产生增加时, UCP2 可以降低 $\Delta\mu\text{H}^+$, 从而抑制 ROS 的生成。证实 UCP2 限制 ROS 产生的报道有: (1) Arsenijerich 等^[14]将巨噬细胞中的 UCP2 基因敲除后发现其产生 ROS 增加; (2) UCP2 基因敲除小鼠骨骼肌和巨噬细胞中活性氧产生增加^[15], 而当机体 ROS 产生增多时则能够上调 UCP2 的表达, 大鼠肝脏四氯化碳损伤后 24 h, UCP2 表达显著增加。Mattiasson 等^[16]的研究证明, 在离体的脑组织线粒体中 UCP2 的功能是分散 ROS, 而不是降低 ROS 的产量。UCP2 可以看作是一种通道, 使线粒体 ROS 更容易转运至细胞液中, 在细胞液中 ROS 可以被快速歧化或被抗氧化剂清除。目前还有一种学说: 超氧阴离子本身就能诱导 UCP 的表达^[17], 激活 UCP1~3 的质子转运功能^[18-19], 而且氧化应激的产物, 如 4-hydroxy-2-nonenal 可以调节线粒体解偶联活性^[20]。所以, ROS 诱导的解偶联活动可能是一个简单的负反馈去限制氧化应激损伤, 对神经变性疾病和老化来说是一个保护作用。而 UCP 是否能被 ROS 激活还存在争议, 有待进一步证明^[21]。UCP 家族其他成员在中枢神经系统中也有相同功能, 过表达 UCP4 能降低培养神经元的 ROS 产量, 在暴露神经毒性物质后 UCP4 能限制 ROS 产量^[22]。同样, 过表达 BMCP1 的细胞也能降低 ROS 的产量, 提高解偶联活性^[23]。在神经系统中 UCPs 限制 ROS 的生成以及随后的氧化应激非常重要, 因为 ROS 的生成以及随后的氧化应激是很多神经系统变性疾病发病的主要机制。UCP2 在中枢神经系统中抑制 ROS 的产生与其他系统是一样的。

1.3 UCP2减少ATP合成

正常情况下, 线粒体呼吸链上传递电子的同时将质子转移至线粒体膜间腔, 从而产生跨膜质子梯度, 而该质子可通过 ATP 合酶重新漏回基质, 从而催化 ATP 的合成。在 UCPs 存在的情况下, 为质子漏回基质提供了又一个通道, 质子可以不通过 ATP 合酶而通过 UCPs 直接回到基质侧, 因此, UCPs 可使 ATP 合成减少。很多研究证实 UCP2 调节 ATP 合成: (1) 脂肪变性的肝细胞中 UCP2 表达增多,

同时伴有线粒体中 ATP 含量较对照组下降 15%~30%^[24-25]。转导 UCP2 基因的酵母菌,随着 UCP2 mRNA 转录增多,合成 ATP 的能力随之降低。(2) UCP2 在 β 细胞表达增高的同时,伴有 β 细胞内 ATP 储备减低 50%^[26]。然而,这种功能也是有组织特异性的。在神经系统中,海马内 UCP2 的解偶联作用并没有使 ATP 水平下降,其原因是虽然 UCPs 抑制单个 ATP 的合成,但 UCPs 可刺激神经元线粒体的增殖,所以,总体水平上 ATP 升高。因此,神经元解偶联效应可刺激线粒体的生成并提高 ATP 的合成;肌肉中的 UCP3 的解偶联作用也能提高细胞的 ATP 和 ADP 水平,这和 PPAR γ 有关^[27-28]。

1.4 UCP2调节钙稳态

线粒体在钙离子的摄取和储存方面有重要的作用,因为钙离子不能像其他第二信使可以代谢出去,因此,细胞内钙离子必须保持在稳态。线粒体内钙离子的流入和流出取决于线粒体的膜电位。体外培养的神经元短暂接触解偶联剂,如 FCCP 和二硝基苯酚,线粒体膜电位下降,线粒体内钙离子摄取受抑制,细胞受到保护。这表明解偶联降低线粒体膜电位,限制线粒体钙超载,降低凋亡发生的概率^[29]。因此,神经元中 UCP2 调节线粒体膜电位的能力也就是 UCP2 调节神经元钙离子稳态的能力。线粒体大量存在于突触前末梢,而轴突末梢中的钙离子在囊泡的运输、融合、释放和再循环中有重要作用。所以,UCP2 通过调节突触前钙离子浓度而直接影响神经递质。

1.5 UCP2突触递质的传递和可塑性

在中枢神经系统神经递质传递过程中,突触发挥着不可替代的作用,因此,其生存环境的微小改变对于突触递质的传递都具有重要的意义。而线粒体富集于轴突末端,能够为递质传递提供能量的同时还能保持突触所在微环境的稳态。突触的功能会随着 UCP2 表达状态的改变而改变^[30-31]。UCP2 高表达可以为突触提供适当的温度,更有利于递质的传递,同时还能减少 ROS 的生成。有研究证实,在短时间内快速激活解偶联蛋白和缓慢刺激神经元解偶联蛋白的功能有显著的不同。快速激活 UCP2,在线粒体增殖之前,增加的解偶联会影响线粒体产生 ATP 的能力,可能会导致一个时期内 ATP 的下降;然而,缓慢激活 UCP2,增加的解偶联可以促使线粒体的增殖,随后使得解偶联的线粒体数量增多,从而导致总体 ATP 浓度的增加。这种现象已经在过表达 UCP2 动物的海马区得到证实^[32]。线粒体在突

触后的分布很重要,这表明线粒体参与突触的调节远远比以前想象的要多。UCP,特别是 UCP2 可以影响线粒体的数目^[33],可以推测 UCP2 能直接影响突触可塑性,但作用机制还不是很清楚。所有证据均表明,神经元 UCP2 是维持线粒体稳态的重要蛋白。神经元 UCP2 缺乏可以引起线粒体失功能,可能影响突触可塑性和神经递质的传递,进而引起神经变性疾病的发生发展。因此,UCP2 可能是参与神经变性疾病发生发展的重要因子^[3]。

2 阿尔茨海默病

阿尔茨海默病是一种以进行性认知功能障碍和记忆损害为主的中枢神经系统退行性疾病,几乎影响工业化国家 2% 的人口,而且其发病率随年龄增长而升高,65 岁以上患病率约为 5%,85 岁以上为 20% 或者更高,女性多于男性。随着人口日益老龄化,AD 对人类健康的威胁将日益严重。AD 的主要病理特征是神经元周围神经纤维缠结和细胞外 A β 沉积^[34],神经纤维缠结和斑块主要集中在大脑调节记忆、学习和情感行为的区域,主要是海马、皮质、基底前脑和脑干。AD 发病机制非常复杂,存在多种假说,如胆碱能神经受损学说、A β 毒性学说、自由基氧化损伤学说、炎症学说、Tau 蛋白过度磷酸化假说等。自由基氧化损伤学说与 AD 的关系越来越引起学者的关注,被认为是一个重要的致病因素。早在 1956 年,Harman 就提出氧化损伤可能与衰老有关,后来的研究也证实 AD 患者的确伴有自由基的大量产生。Smith 等^[35]的实验表明,氧化损伤发生在 AD 早期,在神经纤维缠结和细胞外 A β 沉积出现之前就已发生;Nicolas 等^[36]在 AD 患者脑内,特别是神经纤维缠结中还发现了大量氧化应激的标志物,如硫巴比妥酸和丙二醛。其他一些学者也在 AD 患者脑内发现了过氧化亚硝酸盐、糖化终末产物,进一步证明了氧化应激与 AD 病理改变直接相关。目前研究证明,AD 患者的自由基产生主要有以下 4 个途径:(1) 具有氧化还原活性的铁在神经纤维缠结和 A β 沉积斑中均有升高,铁氧化 H₂O₂ 生成羟基。(2) 围绕在老年斑周围被活化的小胶质细胞是 NO 和 O²⁻ 的来源。(3) 糖基化终产物遇到一些金属能发生氧化还原反应,从而产生 ROS。此外,糖化终产物能刺激特殊受体(糖化终产物受体和清道夫受体)从而增加 ROS 的产生。(4) 线粒体的异常代谢和代谢酶的缺乏,与活性氧的生成有关,并被认为是自由基的主要来源和始动因素^[37]。

AD 的另一个比较被公认的发病机制是 A β 毒性学说。A β 在脑内沉积是引发 AD 的主要原因, A β 能激活小胶质细胞, 释放炎性细胞因子, 同时也直接诱发小胶质细胞产生呼吸爆发, 生成大量自由基, 从而损坏神经元。而 A β 的毒性机制之一就是产生氧自由基和打破钙平衡。A β 先产生氧自由基, 氧自由基又反过来增加钙内流, 产生细胞毒性^[38], A β 造成的钙失衡可被抗氧化剂阻断。许多 AD 患者尸解大脑及其他组织标本观察到的异常生物现象都与氧自由基过度作用相关。尸解测定 AD 患者和对照组老年大脑细胞保护酶活性(包括过氧化物酶、催化酶、谷胱甘肽氧化酶)时发现, AD 患者在小脑、额皮质和海马部位的过氧化物歧化酶的活性显著低于对照组^[39]。抗氧化系统不同组成与神经生理病变程度之间存在着明显的相关性。应用多光子成像技术, 无论在体内还是 AD 转基因鼠疾病模型及相似的 AD 患者组织体外实验都表明, A β 沉积与自由基有直接关系, 都是由 A β 沉积形成的淀粉样斑块聚集物产生氧自由基^[40]。预先给予钙通道阻断剂不能阻止 A β 对细胞毒性作用, 但抗氧化剂则能阻止上述作用^[38]。同时, 自由基也参与了 A β 所诱导的 AD 神经机能衰退的其他几个病理变化: 对脑的氧化破坏, 如大脑局部缺血能诱导基因表达而产生 APP; 氧化作用是把无毒、可溶性的 A β 变为有细胞毒的、不溶性缠结形式 A β 的必要条件。另外, 淀粉样变级联学说也被广泛接受。由于代谢率高, 富含易于过氧化的脂肪酸, 胞内能催化形成活性羟基的过渡金属浓度高, 抗氧化剂水平低, 再生能力差等, 脑内的细胞, 特别是神经元很容易受到 ROS 的影响。

抑制自由基的形成, 阻止下游形成羟自由基可以减缓疾病的发展, 当然也是研究的重要方向。抗氧化剂是能抵抗氧化应激损伤的物质, 基于自由基损伤在 AD 发病中的作用, 学者们认为抗氧化剂治疗 AD 可能会取得一定的疗效, 而 UCP2 为另一种抗氧化剂, 在 AD 的发病及其发展中也会发挥一定的作用。

3 阿尔茨海默病与解偶联蛋白

虽然没有研究表明神经元解偶联活动与 AD 有直接联系, 但解偶联蛋白很可能调节很多导致神经变性的病理机制, 如氧化应激、钙离子稳态、能量代谢的失调和突触功能障碍^[41]。活性氧增多是 AD 的病因之一^[42], 而 UCP2 能通过调节线粒体质子泵

从而降低 ROS, 因此推测神经元中 UCP2 对 AD 有保护作用^[43]。在脑中风和外伤情况下, 均发现 UCP2 mRNA 水平和蛋白质水平增加, 起神经保护作用, 而且改善损伤后功能的恢复。UCP2 可能是通过激活氧化还原信号和激活 Caspase-3, 抑制细胞凋亡等起保护作用。进一步证明解偶联剂, 如 dinitrophenol 也能起神经保护作用, 也就是说线粒体解偶联作用与 UCP2 神经保护作用联系起来^[20]。另外, UCP2 的抗炎、调节胰岛素分泌等作用可能均参与 AD 的发生发展。葡萄糖作用后海马部位 UCP4 表达增加, UCP4 表达增加可以抑制糖酵解, 而糖代谢异常正是 AD 的危险因素^[44-45]。而且, 饮食限制也能提高海马皮质 UCP4 的表达, 饮食限制是为了在 AD 模型中保护神经元免于失功能及死亡^[41]。

阿尔茨海默病的发病机制是复杂的, 影响因素也很多, 随着分子水平的不断深入研究, 人们对阿尔茨海默病会有更清楚的认识。随着对 UCP 家族成员功能的研究越来越深入, UCP 的作用会越来越多地被发现, UCP, 尤其是 UCP2 对自由基调节的研究将对阿尔茨海默病的发生、发展及治疗起到一定的参考价值。

[参 考 文 献]

- [1] Mena NP, Urrutia PJ, Lourido F, et al. Mitochondrial iron homeostasis and its dysfunctions in neurodegenerative disorders. *Mitochondrion*, 2015, 21: 95-105
- [2] Hroudová J, Singh N, Fišar Z. Mitochondrial dysfunctions in neurodegenerative diseases: relevance to Alzheimer's disease. *Biomed Res Int*, 2014, 2014: 175062
- [3] Andrews ZB, Diano S, Horvath TL, et al. Mitochondrial uncoupling proteins in the CNS: in support of function and survival. *Nat Rev Neurosci*, 2005, 6: 829-40
- [4] Mao W, Yu XX, Zhong A. UCP4, a novel brain-specific mitochondrial protein that reduces membrane potential in mammalian cells. *FEBS Lett*, 1999, 443: 326-30
- [5] Liu D, Chan SL, Souza-Pinto NC, et al. Mitochondrial UCP4 mediates an adaptive shift in energy metabolism and increases the resistance of neurons to metabolic and oxidative stress. *Neuromol Med*, 2006, 8: 389-414
- [6] Wu Z, Zhao Y, Zhao B. Superoxide anion, uncoupling proteins and Alzheimer's disease. *J Clin Biochem Nutr*, 2010, 46: 187-94
- [7] Luque-Contreras D, Carvajal K, Toral-Rios D, et al. Oxidative stress and metabolic syndrome: cause or consequence of Alzheimer's disease? *Oxid Med Cell Longev*, 2014, 2014: 497802
- [8] Kim-Han JS, Dugan LL. Mitochondrial uncoupling proteins in the central nervous system. *Antioxid Redox Signal*, 2005, 7: 1173-81

- [9] Yao J, Irwin RW, Zhao L, et al. Mitochondrial bioenergetic deficit precedes Alzheimer's pathology in female mouse model of Alzheimer's disease. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2009, 106: 14670-5
- [10] Richard D, Rivest R, Huang Q, et al. Distribution of the uncoupling protein 2 mRNA in the mouse brain. *Comp Neurol*, 1998, 397: 549-60
- [11] Richard D, Clavel S, Huang Q, et al. Uncoupling protein 2 in the brain: distribution and function. *Biochem Soc Trans*, 2001, 29: 812-7
- [12] Diano S, Urbanski HF, Horvath B, et al. Mitochondrial uncoupling protein 2 (UCP2) in the nonhuman primate brain and pituitary. *Endocrinology*, 2000, 141: 4226-38
- [13] Skulachev VP. Uncoupling: new approaches to an old problem of bioenergetics. *Biochim Biophys Acta*, 1998, 1363: 100-24
- [14] Arsenijevic D, Onuma H, Pecqueur C, et al. Disruption of the uncoupling protein-2 gene in mice reveals a role in immunity and reactive oxygen species production. *Nat Genet*, 2000, 26: 435-9
- [15] Pecqueur C, Alves-Guerra MC, Gelly C, et al. Uncoupling protein 2, in vivo distribution, induction upon oxidative stress, and evidence for translational regulation. *Biol Chem*, 2001, 276: 8705-12
- [16] Mattiasson G, Shamloo M, Gido G, et al. Uncoupling protein-2 prevents neuronal death and diminishes brain dysfunction after stroke and brain trauma. *Nat Med*, 2003, 9: 1062-8
- [17] Voehringer DW, Hirschberg DL, Xiao J, et al. Gene microarray identification of redox and mitochondrial elements that control resistance or sensitivity to apoptosis. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2000, 97: 2680-5
- [18] Echtay KS, Roussel D, St-Pierre J, et al. Superoxide activates mitochondrial uncoupling proteins. *Nature*, 2002, 415: 96-9
- [19] Echtay KS, Murphy MP, Smith RA, et al. Superoxide activates mitochondrial uncoupling protein 2 from the matrix side. *Studies using targeted antioxidants. J Biol Chem*, 2002, 277: 47129-35
- [20] Echtay KS, Esteves TC, Pakay JL, et al. A signalling role for 4-hydroxy-2-nonenal in regulation of mitochondrial uncoupling. *EMBO J*, 2003, 22: 4103-10
- [21] Couplan E, del Mar Gonzalez-Barroso M, Alves-Guerra MC, et al. No evidence for a basal, retinoic, or superoxide-induced uncoupling activity of the uncoupling protein 2 present in spleen or lung mitochondria. *J Biol Chem*, 2002, 277: 26268-75
- [22] Mattson MP, Liu D. Mitochondrial potassium channels and uncoupling proteins in synaptic plasticity and neuronal cell death. *Biochem Biophys Res Commun*, 2003, 304: 539-49
- [23] Kim-Han JS, Reichert SA, Quick KL, et al. BMCP1: a mitochondrial uncoupling protein in neurons which regulates mitochondrial function and oxidant production. *J Neurochem*, 2001, 79: 658-68
- [24] Chavin KD, Yang S, Chatham J, et al. Obesity induces expression of uncoupling protein 2 in hepatocytes and promotes liver ATP depletion. *J Biol Chem*, 2000, 274: 5692-700
- [25] Stuart JA, Harper JA, Brindle KM, et al. Physiological levels of mammalian uncoupling protein 2 do not uncouple yeast mitochondria. *J Biol Chem*, 2001, 276: 18633-9
- [26] Chan CB, DeLeo D, Joseph JW, et al. Increased uncoupling protein-2 levels in beta-cells are associated with impaired glucose-stimulated insulin secretion: mechanism of action. *Diabetes*, 2001, 50: 1302-10
- [27] Duval C, Cámara Y, Hondares E, et al. Overexpression of mitochondrial uncoupling protein-3 does not decrease production of the reactive oxygen species, elevated by palmitate in skeletal muscle cells. *FEBS Lett*, 2007, 581: 955-61
- [28] Wu Z, Puigserver P, Andersson U, et al. Mechanisms controlling mitochondrial biogenesis and respiration through the thermogenic coactivator PGC-1. *Cell*, 1999, 98: 115-24
- [29] Teshima Y, Akao M, Jones SP, et al. Uncoupling protein-2 overexpression inhibits mitochondrial death pathway in cardiomyocytes. *Circ Res*, 2003, 93: 192-200
- [30] Echtay KS, Murphy MP, Smith RA. Superoxide activates mitochondrial uncoupling protein 2 from the matrix side. *Studies using targeted antioxidants. J Biol Chem*, 2002, 277: 47129-35
- [31] Yu XX, Mao W, Zhong A, et al. Characterization of novel UCP5/BMCP1 isoforms and differential regulation of UCP4 and UCP5 expression through dietary or temperature manipulation. *FASEB J*, 2000, 14: 1611-8
- [32] Ding Y, Cesare P, Drew L, et al. ATP, P2X receptors and pain pathways. *J Auton Nerv Syst*, 2000, 81: 289-94
- [33] Diano S, Matthews RT, Patrylo P, et al. Uncoupling protein 2 prevents neuronal death including that occurring during seizures: a mechanism for preconditioning. *Endocrinology*, 2003, 144: 5014-21
- [34] Zetterberg H, Blennow K. Biomarker evidence for uncoupling of amyloid build-up and toxicity in Alzheimer's disease. *Alzheimers Dement*, 2013, 9: 459-62
- [35] Smith MA, Nunomura A, Lee HG, et al. Chronological primacy of oxidative stress in Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging*, 2005, 26: 579-80
- [36] Nicolas G, Bennoun M, Devaux I, et al. Lack of hepcidin gene expression and severe tissue iron overload in upstream stimulatory factor 2 (USF2) knockout mice. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2001, 98: 8780-5
- [37] Toyn JH, Ahljianian MK. Interpreting Alzheimer's disease clinical trials in light of the effects on amyloid- β . *Alzheimers Res Ther*, 2014, 6: 14-26
- [38] Berridge MJ. Calcium regulation of neural rhythms, memory and Alzheimer's disease. *J Physiol*, 2014, 592: 281-93
- [39] Famulari AL, Marschoff ER, Llesuy SF, et al. The antioxidant enzymatic blood profile in Alzheimer's and vascular diseases. Their association and a possible assay to differentiate demented subjects and controls. *J Neurol Sci*, 1996, 141: 69-78
- [40] McCord MC, Aizenman E. The role of intracellular zinc

- release in aging, oxidative stress, and Alzheimer's disease. *Front Aging Neurosci*, 2014, 6: 77
- [41] Mattson MP. Pathways towards and away from Alzheimer's disease. *Nature*, 2004, 430: 631-9
- [42] Kaur U, Banerjee P, Bir A, et al. Reactive oxygen species, redox signaling and neuroinflammation in Alzheimer's disease: the NF- κ B connection. *Curr Top Med Chem*, 2015, 15: 446-57
- [43] Mena NP, Urrutia PJ, Lourido F, et al. Mitochondrial iron homeostasis and its dysfunctions in neurodegenerative disorders. *Mitochondrion*, 2015, 21: 92-105
- [44] Watson GS, Craft S. The role of insulin resistance in the pathogenesis of Alzheimer's disease: implications for treatment. *CNS Drugs*, 2003, 17: 27-45
- [45] Blass JP. Brain metabolism and brain disease: is metabolic deficiency the proximate cause of Alzheimer dementia? *J Neurosci Res*, 2001, 66: 851-6