Mitohondrijski proteini razdvajanja i otpornost na inzulin kod dijabetesa

Martinčić, Monika

Undergraduate thesis / Završni rad

2017

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **Josip Juraj Strossmayer University of Osijek, Department of Chemistry / Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Odjel za kemiju**

Permanent link / Trajna poveznica: https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:182:617591

Rights / Prava: In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

Download date / Datum preuzimanja: **2024-03-29**

Repository / Repozitorij:

Repository of the Department of Chemistry, Osijek



Sveučilište J. J. Strossmayera u Osijeku

Odjel za kemiju

Preddiplomski studij kemije

Monika Martinčić

Mitohondrijski proteini razdvajanja i otpornost na inzulin kod dijabetesa

Uncoupling proteins and insulin resistance in diabetes

Završni rad

Mentor: doc. dr. sc. Martina Šrajer Gajdošik

Osijek, 2017.

Sažetak

Mitohondrijski proteini razdvajanja (UCP) su nosači aniona koji se nalaze u unutrašnjoj membrani mitohondrija i omogućuju protok protona iz citoplazme u matriks. Oni raspršuju proton motornu silu, te umjesto sinteze ATP-a dolazi do stvaranja topline. UCP-ovi se nalaze u raznim tkivima organizma i pretpostavlja se da utječu na razvoj dijabetesa. Zbog djelovanja UCP-a dolazi do smanjenog lučenja inzulina te do inzulinske rezistencije, stanje u kojem dolazi do smanjenog odgovora tkiva na ovaj hormon. Sam inzulin sintetizira se u beta stanicama gušterače, te se izlučuje kada su stanice potaknute određenom količinom glukoze u krvi. Glukoza ulazi u stanice pomoću transportera glukoze (GLUT). U ovom završnom radu proučit ćemo što je dijabetes te kako izgleda metabolizam glukoze. Reći ćemo kako disfunkcija beta stanica utječe na razvoj ove bolesti i nastanak inzulinske rezistencije. Mehanizam djelovanja samih UCP-ova nije još u potpunosti razjašnjen, ali postoje tri pretpostavke koje ćemo navesti.

Ključne riječi: Dijabetes, inzulinska rezistencija, metabolizam glukoze, mitohondrijski proteini razdvajanja, sinteza i sekrecija inzulina, mitohondrijska disfunkcija

Abstract

Uncoupling proteins (UCP) are anion carriers expressed in the mitochondrial inner membrane that enable proton flow from cytoplasm to the matrix. They disperse the proton motor force resulting in heat production instead of ATP synthesis. UCPs are found in various tissues and are supposedly have an affect on development of diabetes. Due to UCPs activity, insulin secretion is reduced and insulin resistance, a condition in which cells do not respond normally to the insulin, is developed. Insulin synthesis takes place in pancreatic beta cells and it's secretion is induced by specific concentrations of glucose. Glucose transporters (GLUT) allow glucose to enter the cells. In this work, we will discuss what diabetes is and how glucose metabolism works. We will find out how dysfunction of beta cells affects diabetes and insulin resistance. The mechanism of action of UCPs is still debated but three potential mechanism will be discussed as well.

Key words

Diabetes, insulin resistance, glucose metabolism, uncoupling proteins, sythesis and insulin secretion, mitochondrial dysfunction

Sadržaj

1. Uvod 4
2. Dijabetes 5
3. Metabolizam glukoze 6
3.1 Utjecaj dijabetesa na glikolizu i glukoneogenezu 8
3.2 Sinteza i izlučivanje inzulina 8
4. Dijabetes tipa II 10
4.1 Disfunkcija β-stanica 10
4.2 Otpornost na inzulin 11
5. Proteini razdvajanja i njihova uloga kod dijabetesa 13
5.1 UCP1 14
5.2 UCP2 15
5.3 UCP3 18
6. Signalni put djelovanja inzulina 19
7. Mehanizmi nastanka inzulinske rezistencije 21
7.1 Inzulinska rezistencija kod pretilosti 21
8. Mitohondrijska disfunkcija i inzulinska rezistencija 23
9. Zaključak 25
10. Literatura 26

1. Uvod

Dijabetes je najraširenija metabolička bolest u svijetu, a nastaje kao rezultat nedostatka inzulina ili otpornosti na njega. Očituje se kroničnom hiperglikemijom odnosno povećanom koncentracijom glukoze u krvi. Razlikujemo dva glavna tipa dijabetesa, a to su tip I i II. Dijabetes tipa I je genetski naslijeđen dok je tip II stečeni [1]. Prekomjerna težina se smatra glavnim rizičnim čimbenikom za nastanak DM2 jer se sav kalorijski višak odlaže u obliku masti [2]. Javlja se nekontrolirana razgradnja masti jer ih organizam umjesto ugljikohidrata koristi kao metaboličko gorivo, iako glukoze ima u izobilju [1]. Zbog pretjerane razgradnje masti, povećava se koncentracija acetil-CoA koji se, osim u ciklusu limunske kiseline, koristi i za sintezu ketonskih tijela. Nakupljanjem ketonskih tijela smanjuje se pH krvi (ketoacidoza) što može prouzročiti komu i smrt [3]. Bitnu ulogu u nastanku bolesti ima mitohondrijska disfunkcija koja se definira kao redukcija broja mitohondrija, njihove gustoće ili funkcije. Smanjenje njegove funkcije može doprinijeti nakupljanju masti i slobodnih masnih kiselina [4]. Do pojave bolesti dolazi zbog poremećaja u funkcioniranju β-stanica Langerhansovih otočića gušterače i poremećaja u sintezi i izlučivanju inzulina. Inzulin je peptidni hormon koji regulira metabolizam glukoze, masti i energetsku homeostazu [5]. Javlja se inzulinska rezistencija koja predstavlja stanje u kojem je odgovor ciljanih stanica na inzulin smanjen. U trenutku kada otočići zbog svoje disfunkcije više nisu u mogućnosti povećati lučenje inzulina, dolazi do nastanka intolerancije na glukozu [2]. Veliku ulogu u nastanku dijabetesa imaju mitohondrijski proteini razdvajanja zvani UCP-ovi (engl. *uncoupling proteins*). Oni se nalaze na unutrašnjoj strani mitohondrija i omogućuju protok protona iz citoplazme u matriks. Kada protoni prolaze u matriks kroz UCP, ne dolazi do sinteze ATP-a već se stvara toplina [3]. Najznačajniji UCP je UCP2 koji utječe na funkciju β-stanica jer smanjuje sintezu ATP-a, a time negativno utječe na sekreciju inzulina [9]. Za razliku od UCP2, prekomjerna ekspresija UCP3 poboljšava izlučivanje inzulina koji je stimuliran glukozom. Ti rezultati pokazuju da UCP2 i UCP3 imaju različite funkcije regulacije β-stanica [6].

2. Dijabetes

Šećerna bolest (*lat. diabetes mellitus*) je kronični metabolički poremećaj koji nastaje zbog apsolutnog ili relativnog nedostatka hormona inzulina [2]. Naziva se još i dijabetes te je to najčešća metabolička bolest stanovništva. Bolest je kronična i neizlječiva, a karakterizirana je hiperglikemijom nastalom zbog poremećaja učinka inzulina, njegovoj sekreciji ili oboje.

Prema ADA (-American Diabetes Association-), dijabetes se klasificira u 4 glavne skupine: [2]

1. Tip I šećerne bolesti - nastaje kao posljedica autoimunog razaranja β-stanica gušterače u kojima se sintetizira inzulin. Tip I je šećerna bolest ovisna o inzulinu (IDDM, *engl. Insulin Dependent Diabetes Mellitus*). Takve osobe moraju doživotno primati inzulin, a pojavljuje se prije 20.-e godine života.
2. Tip II šećerne bolesti – nastaje kao rezultat poremećaja u sekreciji inzulina zbog dugogodišnje rezistencije na taj hormon, te je to najčešći oblik šećerne bolesti (~ 90% oboljelih). β-stanice gušterače izlučuju normalne ili čak povišene količine inzulina, ali tkiva ne odgovaraju na hormon.
3. Gestacijski dijabetes – nastaje kod genetski podložnih žena tijekom trudnoće, a također je uzrokovan inzulinskom rezistencijom. Kod 20 - 50 % žena kojima je postavljena dijagnoza gestacijskog dijabetesa, poslije se tijekom života razvije šećerna bolest tipa II.
4. Posebni tipovi šećerne bolesti – pojavljuju se rijetko, a uzroci mogu biti specifični genski defekti na razini β-stanice, bolesti gušterače, autoimune endokrinopatije ili nastaju kao nuspojava kod aplikacije lijekova.

Kod šećerne bolesti tipa I (DM1) tipični simptomi su poliurija (učestalo mokrenje), polifagija (pojačan apetit) i polidipsija (pojačan osjećaj žeđi) uz nagli gubitak tjelesne težine. Nalaz hiperglikemije i često acidoze potvrđuje dijagnozu dijabetesa. Međutim, šećerna bolest tipa II (DM2) ima blage simptome i sporo se razvija, te veoma dugo ostaje nedijagnosticirana. Često se otkrije slučajno i to u fazi kada su već nastale kronične komplikacije dijabetesa. Svrha terapije dijabetesa je u održavanju koncentracije glukoze u što je moguće bližem fiziološkom rasponu (-3.9 – 6.1 mmol/L-). Razina glukoze u krvi se kod pacijenata oboljelih od DM2 regulira oralnim hipoglikemicima, samokontrolom glukoze pomoću glukometra, te uravnoteženom prehranom i tjelovježbom [2]. Prekomjerna težina se

smatra glavnim rizičnim čimbenikom za nastanak DM2 jer se sav kalorijski višak odlaže u obliku masti. Hormoni inzulin i leptin koje izlučuju adipociti (masne stanice) su važni za kontrolu apetita i kalorijsku homeostazu. Leptin je razmjeran masi masnog tkiva, te šalje signale preko membranskih receptora o stanju sitosti [1]. U stanju gladovanja kada se više energije troši nego unosi, smanjuje se količina masnog tkiva, a time i izlučivanje leptina i inzulina. Najnovija istraživanja upućuju na to da adipociti izlučuju hormon rezistin koji tkiva čini neosjetljivim na inzulin. Količina izlučenog rezistina izravno je razmjerna masi masnog tkiva [3].

Kronična hiperglikemija uzrokuje trajna oštećenja krvnih žila u gotovo svim organima. Mikrovaskularne komplikacije pojavljuju se na mrežnici, bubrezima i perifernim živcima dok se makrovaskularne očituju u obliku generalizirane ateroskleroze srčanih, moždanih ili perifernih krvnih žila. Kronične komplikacije šećerne bolesti izazivaju znatan porast invalidnosti, sljepoće te smrtnosti u stanovništvu [1].

3. Metabolizam glukoze

Homeostaza glukoze se održava usklađivanjem nekoliko procesa, a to su procesi razgradnje (glikoliza), pohrane (glikogeneza) i *de novo* sinteze glukoze (glukoneogeneza), pri čemu ključnu ulogu imaju hormoni inzulin i glukagon. Ovisno o količini glukoze u krvi, izlučuju se hormoni pomoću specifičnih receptora, te usmjeravaju metaboličke procese prema anabolizmu ili katabolizmu [7].

Glikoliza je proces razgradnje glukoze koji se zbiva u citoplazmi, te se nizom reakcija glukoza prevodi u piruvat. Pomoću nje regulira se sekrecija inzulina i metaboličke funkcije raznih stanica, te nastaje energija u obliku molekula ATP. Ovisno o tipu stanica, glikoliza je regulirana u nekoliko koraka kao što su unos glukoze, fosforilacija glukoze te pretvorba fruktoza-6-fosfata u fruktoza-1,6-bisfosfat. Glavni regulacijski enzimi glikolize su heksokinaza, piruvat-kinaza i fosfofruktokinaza [7]. U prvoj se fazi, glukoza fosforilacijom i izomerizacijom pretvara u fruktoza-1,6-bisfosfat pri čemu se utroše dvije molekule ATP-a. U drugoj fazi, fruktoza-1,6-bisfosfat se cjepa pomoću aldolaze u gliceraldehid-3-fosfat i dihidroksiaceton-fosfat. U trećoj fazi se proizvodi ATP tako da se gliceraldehid-3-fosfat oksidira i fosforilira u 1,3-bisfosfoglicerat. Ta molekula zatim prenosi fosforilnu skupinu na

ADP, a nastaje ATP i 3-fosfoglicerat. Premještanjem fosforila i dehidratacijom nastaje fosfoenolpiruvat koji prelazi u piruvat pri čemu nastaje još jedna molekula ATP-a [3].

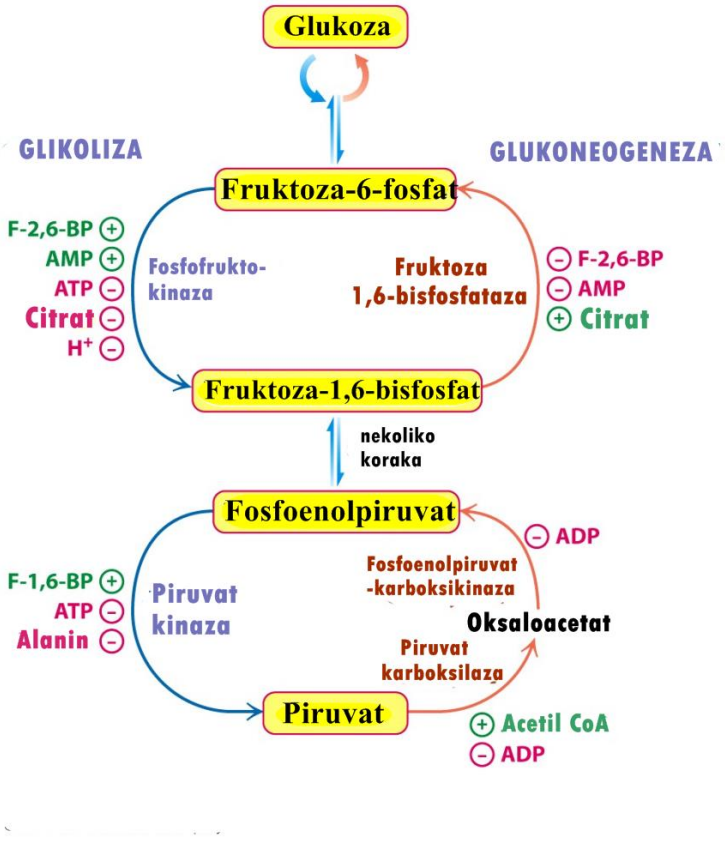
Glukoneogeneza je proces sinteze glukoze iz neugljikohidratnih preteča tj. dolazi do pretvorbe piruvata u glukozu. Glikoliza i glukoneogeneza su recipročno koordinirane tako da je u stanici jedan od procesa neaktivan dok je drugi aktivan. Glukoneogenezu također kataliziraju heksokinaza, piruvat-kinaza i fosfofruktokinaza, ali ona nije obrnuta reakcija glikolize. U prvom koraku dolazi do nastanka fosfoenolpiruvata, tako da se prvo piruvat karboksilira u oksaloacetat. Zatim se oksaloacetat dekarboksilira i fosforilira pri čemu nastaje fosfoenolpiruvat. U drugom koraku dolazi do hidrolize fruktoza-1,6-bisfosfata u fruktoza-6-fosfat dok se u trećem koraku glukoza-6-fosfat hidolizira u glukozu [3]

Sumarna jednadžba glikolize:

glukoza + 2 Pi + 2 ADP + 2 NAD^+ → 2 piruvat + 2 ATP + 2 NADH + 2 H^+ + 2 H_2O

Sumarna jednadžba glukoneogeneze:

2 piruvata + 2 NADH + 4 ATP + 2 GTP → glukoza + 2 NAD^+ + 4 ADP + 2 GDP + 6 Pi



Slika 1. Recipročna regulacija glukoneogeneze i glikolize [3].

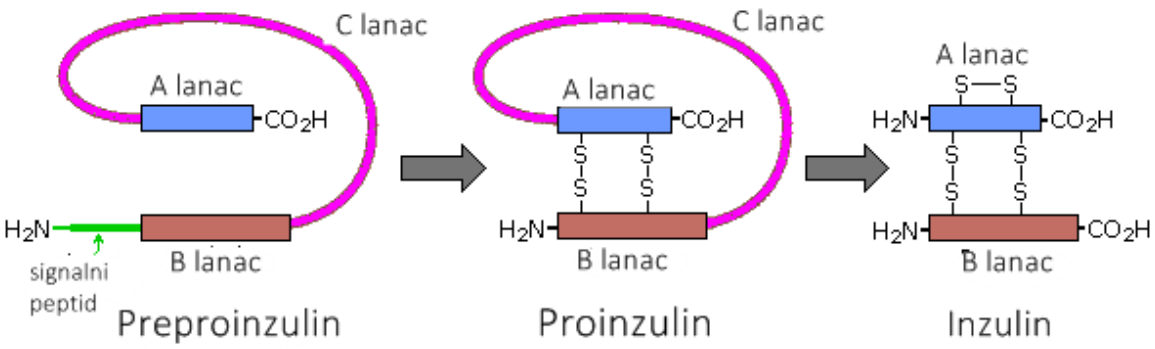
3.1 Utjecaj dijabetesa na glikolizu i glukoneogenezu

Kod šećerne bolesti tipa I količina inzulina nije dovoljna dok je količina glukagona previsoka. Bolesnik se nalazi u stanju biokemijskog gladovanja usprkos velikoj količini glukoze u krvi. Ulazak glukoze u masne i mišićne stanice je onemogućen zbog manjka inzulina dok je jetra zagušena ketogenim i glukoneogenim procesima. Kada je koncentracija glukoze u krvi visoka, poveća se razina fruktoza-6-fosfata u jetrima, koja preko međuprodukta fruktoza-2,6-bisfosfata aktivira enzim glikolize, fosfofruktokinazu. Velika razina glukagona u odnosu na inzulin dovodi do pada fruktoza-2,6-bisfosfata u jetrima, te je stoga glikoliza potisnuta, a glukoneogeneza potaknuta [3]. Visoki omjer glukagon/inzulin dovodi do prekomjerne proizvodnje glukoze u jetrima i njezinog otpuštanja u krv. Kada razina glukoze u krvi premaši reapsorpcijsku sposobnost bubrežnih kanalića dolazi do njezinog otpuštanja putem mokraće, te zbog toga dijabetičari često mokre. Manjak inzulina također uzrokuje nekontroliranu razgradnju masti i proteina, a to dovodi do stvaranja velikih količina acetil-CoA procesom β-oksidacije [2]. Većina acetil CoA ne može ući u ciklus limunske kiseline zbog nedostatka oksaloacetata, te dolazi do stvaranja ketonskih tijela. Visoke koncentracije ketonskih tijela uzrokuju smanjenje sposobnosti održavanja kiselo-bazne ravnoteže i pojavljuje se acidoza (povišena pH-vrijednosti krvi). Kod dijabetesa je značajno da organizam za gorivo koristi masti umjesto ugljikohidrata iako glukoze ima u izobilju [3].

3.2 Sinteza i izlučivanje inzulina

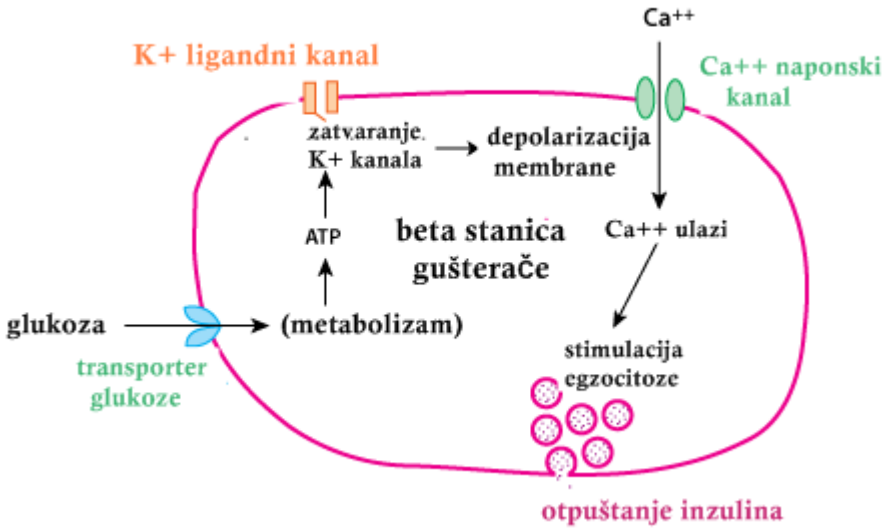
Inzulin je peptidni hormon građen od dva lanca koji su međusobno povezani disulfidnim vezama koji regulira metabolizam glukoze, masti i energetsku homeostazu preko djelovanja na jetru, masno tkivo i skeletne mišiće [2]. Sinteza inzulina zbiva se u β-stanicama Langerhansovih otočića gušterače gdje prvo transkripcijom mRNA i translacijom na ribosomima nastaje inaktivni preproinzulin. Preproinzulin sadržava signalnu sekvenciju aminokiselina koja se prolaskom kroz membranu endoplazmatskog retikuluma odcjepljuje i nastaje hormonski prekursor proinzulin. On se sastoji od tri domene, a to su amino-terminalni B-lanac, karboksi-terminalni A lanac te polipeptidni lanac od 33 aminokiseline,

C-peptid, koji ih povezuje. Proteolitičkim cijepanjem proinzulina nastaju C-peptid i inzulin koji se pohranjuju u sekretornim granulama Golgijevog aparata i izlučuju u cirkulaciju [3].



Slika 2. Sinteza inzulina [8].

Stimulacijom β-stanica, inzulin egzocitozom izlazi iz stanica i difundira u krv zajedno sa C-peptidom koji je biološki inaktivan. Sekrecija inzulina potaknuta je određenom količinom glukoze u krvi koja ulazi u stanice pomoću transportera glukoze (GLUT-2). Glukoza se u β-stanici fosforilira i ulazi u glikolitički proces kojim nastaje ATP. Velika koncentracija ATP-a uzrokuje zatvaranje membranskih kalijevih kanala, dolazi do porasta pozitivnog naboja i depolarizacije stanične membrane čime se otvaraju membranski kalcijevi kanali i potiče se egzocitoza i izlazak inzulina iz stanica [7].



Slika 3. Sekrecija inzulina [9].

4. Dijabetes tipa II

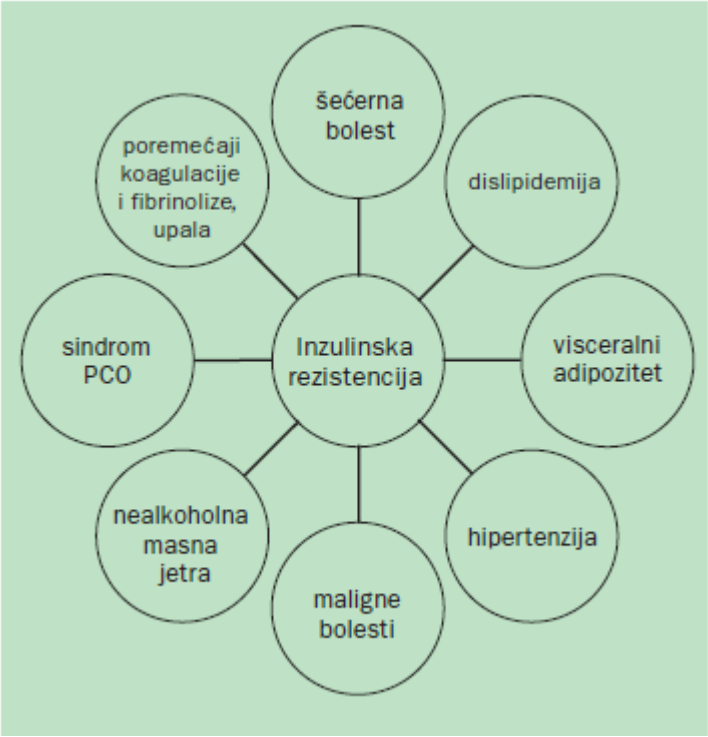
Dijabetes tipa II je najčešća metabolička bolest u svijetu dok je u Sjedinjenim Američkim Državama glavni razlog sljepoće, završnog stadija bolesti jetre, te gubitka udova (amputacija). Nastaje kao kombinacija poremećaja osjetljivosti na inzulin, te izlučivanja i sinteze inzulina. Rana patogeneza obuhvaća inzulinsku rezistenciju zbog čega dolazi do povećane sinteze inzulina što na kraju dovodi do nastanka hiperglikemije i hiperinzulinemije [2]. Za razvoj šećerne bolesti tipa II bitnu ulogu imaju abdominalna pretilost, stres i nedovoljna tjelesna aktivnost kao i nasljednost. Održavanje normalne razine glukoze u krvi ovisi o kompleksnom međudjelovanju između regulacije sekrecije inzulina iz β-stanica gušterače i inzulin-osjetljivih organa, jetre i skeletnih mišića. Njihova preobrazba u inzulin-otporne organe je vidljiva kod bolesnika DM2 i dovodi do nastanka hiperglikemije. Nove hipoteze upućuju na to da su promjene u tim organima uzrokovane mitohondrijskom disfunkcijom [4].

4.1 Disfunkcija β-stanica

Jednom kad se pojavi hiperglikemija kod bolesnika, jasno je prisutna i disfunkcija β-stanica koja se očituje na različite načine kao što su smanjen odgovor inzulina na intravenoznu glukozu i pad sposobnosti glukoze da omogući odgovor inzulina na neglukozne sekretore. β-stanice ne mogu učinkovito obraditi proinzulin do inzulina i smanjeno je otpuštanje amilina koji pomaže u glikoregulaciji [10]. Ukratko, dolazi do povišene bazalne sekrecije i smanjene reakcije na stimulaciju glukoze. Na ekspresiju gena β-stanica utječu masne kiseline i glukoza promjenama u aktivaciji transkripcijskih faktora. Dugotrajna aktivacija dovodi do prilagodljivih i neprilagodljivih odgovora na glukolipotoksične uvjete. Budući da masno tkivo sadržava adipocite i citokine, pretilost se smatra stimulansom za promjenu ekspresije gena β-stanica što dovodi do povećanja oksidativnog stresa i nedostatka izlučivanja inzulina [4].

4.2 Otpornost na inzulin

Inzulinska rezistencija označava stanje u kojem inzulin, unatoč održanom lučenju iz gušterače, ne može ostvariti svoje unutar-stanične učinke [11]. Nastaje kao rezultat neočekivanih događaja u perifernim tkivima odnosno u skeletnim mišićima, jetri i masnom tkivu. U jetri dolazi do negativne povratne informacije u mehanizmima, poput glikolize i sinteze glikogena, koji su normalno inicirani inzulinom. Oni postaju neispravni te usprkos hiperglikemije, dolazi do glikogenolize i glukoneogeneze. Kod perifernih tkiva osjetljivih na inzulin, inzulin postaje manje efikasan u stimulaciji unosa glukoze, a najviše su pogođena adipozna tkiva i skeletni mišići [12]. Još nije u potpunosti razjašnjen mehanizam nastanka inzulinske rezistencije, te se smatra da nastaje kao rezultat niza faktora (genetski, pretilost, dob, prehrana). Povezano s inzulinskom rezistencijom nastaju različita klinička stanja uključujući dijabetes.



Slika 4. Klinička stanja povezana sa inzulinskom rezistencijom [11].

Nedavna istraživanja su pokazala da se u adipoznom tkivu oslobađaju čimbenici širokog spektra koji su važni za razvoj i zaštitu od inzulinske rezistencije. Uz slobodne masne kiseline i molekule dobivene iz masnih kiselina nastaju i adipokini koje definiramo kao proteine koje su proizvedeni i izlučeni iz adipocita [11]. Adipokini su sve više prisutni

prilikom nastajanja DM2, masno tkivo pokazuje kronične i niske razine upala, dolazi do oslobađanja protuupalnih citokina, te infiltracije s makrofagima. Čimbenici otpušteni iz masnog tkiva imaju važnu ulogu u metabolizmu glukoze. Dok neki adipokini poput TNF-a (faktor nekroze tumora) i rezistina doprinose razvoju inzulinske rezistencije u mišićima, leptin i adiponektin ublažavaju simptome otpornosti na inzulin. Skeletni mišići su glavno mjesto zbrinjavanja glukoze, a taj proces je kontroliran inzulinom. Kao ključni čimbenik razvoja inzulinske rezistencije mišića predložena je oslabljena oksidacija mitohondrijskih masnih kiselina što dovodi do akumulacije metabolita masnih kiselina u mišićima [10]. Nedavna istraživanja su pokazala da je mitohondrijska disfunkcija vrlo važna u razvoju DM2. Kod potomaka bolesnika sa DM2 primijećeno je smanjenje mitohondrijske aktivnosti i povećanje intramuskularne masti. Daljnjom analizom gena, primijećena je smanjena ekspresija gena koji kodiraju proteine uključene u oksidativnu fosforilaciju i metabolizam masnih kiselina [11].

Tablica 1. Uzroci otpornosti na inzulin [11].

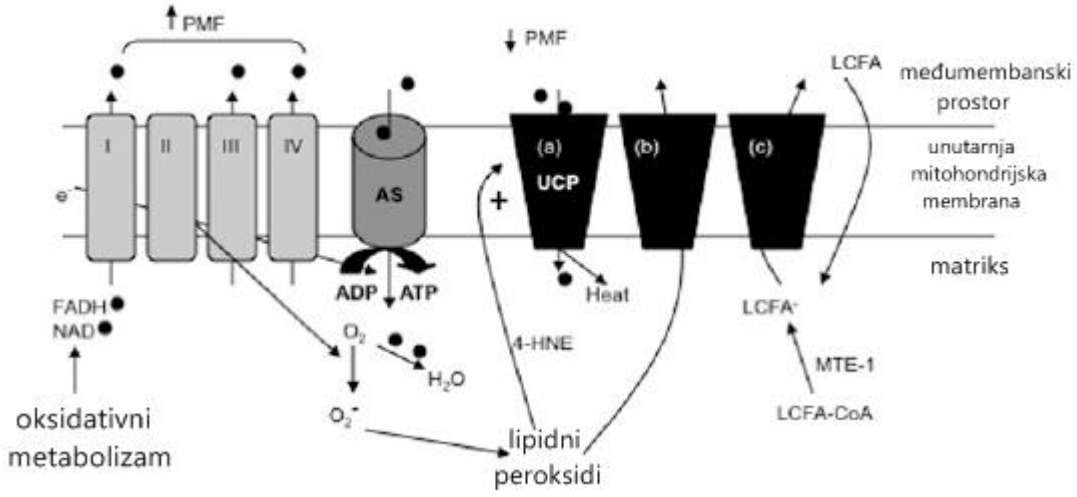
<table>
<tr><th>PRIROĐENI</th><th>STEČENI</th></tr>
<tr><td>Prereceptorski
Mutacije inzulina
Antiinzulinska protutijela</td><td rowspan="3">Nezdrava prehrana
Tjelesna neaktivnost
Starija životna dob
Lijekovi
Povećana sekrecija antagonista inzulina
Glukotoksičnost
Lipotoksičnost
Primjena inzulina</td></tr>
<tr><td>Receptorski
Smanjen broj receptora
(nedostatak aktivacije tirozin kinaze)
Smanjeno vezanje inzulina
Mutacije receptora
Protutijela na inzulinski receptor</td></tr>
<tr><td>Postreceptorski
Poremećaj prijenosa signala
Mutacije transportera glukoze (GLUT)</td></tr>
</table>

5. Proteini razdvajanja i njihova uloga kod dijabetesa

Proteini razdvajanja (UCP, *engl. uncoupling proteins,*) pripadaju obitelji mitohondrijskih transporterskih proteina koji se nalaze u unutarnjoj membrani mitohondrija, te odvajaju oksidacijsku fosforilaciju [12]. Odvajanje oksidacijske fosforilacije (odvajanje, *engl. uncoupling*) predstavlja gubitak spajanja između brzine prijenosa elektrona u respiratornom lancu (disanje) i proizvodnje ATP-a (fosforilacija). Proteini razdvajanja su zapravo spojevi koji mogu stimulirati potrošnju kisika bez istodobnog povećanja proizvodnje ATP-a [13]. Kod sisavaca razlikujemo 5 UCP-a koji imaju sličnu strukturu, ali se različito raspoređuju po tkivima. Za razvoj DM2 bitni su UCP1, UCP2 i UCP3. To su proteini anionskog nosača koji transportiraju protone (H^+) do matriksa mitohondrija, a energiju protona raspršuju kao toplinu i razdvajaju oksidaciju supstrata iz proizvodnje ATP-a [6]. Proizvodnja ATP-a je najvažnija uloga metabolizma mitohondrija koji nastaje kada energija dobivena iz hranjivih tvari putuje kroz unutarnju mitohondrijsku membranu pomoću enzima ATP sintaze. Molekule goriva se u organizam unose hranom u obliku ugljikohidrata, masnih kiselina i aminokiselina. Te molekule oksidiraju se u ciklusu limunske kiseline do ugljikovog dioksida. Tijekom ciklusa nastaju visoko energijski elektroni, NADH i $FADH_2$, koji se upotrebljavaju za sintezu ATP-a [3]. Do metaboličkog odvajanja dolazi kada se energija dobivena oksidacijom hranjivih tvari ne koristi za sintezu ATP-a već bude raspršena u obliku topline. Prema tome stupanj metaboličke učinkovitosti određuje količina odvajanja u tkivu [12].

Tijekom oksidacijske fosforilacije, proizvode se NADH i $FADH_2$ koji doniraju elektrone na elektron transportni lanac te se rezultirajući protoni pumpaju u intermembranski prostor kako bi nastala što veća sila gibanja protona (PMF, *engl. proton motive force*). Protoni se mogu vratiti u matriks pomoću ATP sintaze, prilikom čega nastaje ATP iz ADP-a (dolazi do smanjena PMF-a) ili dolazi do raspršenja PMF-a uslijed djelovanja mitohondrijskih proteina razdvajanja (UCP). [6] Moguća su tri mehanizma koji ilustriraju razdvajanje (*vidi sliku 5*). U primjeru *(a),* UCP djeluje kao protonofor (protonski translokator) koji dopušta povratak protona i proizvodnju topline (taj proces može biti poboljšan superoksidom O_2^- ili nusproizvodom peroksidacije lipida, 4-hidroksinonenalom (4-HNE)). U primjeru *(b),* lipidni peroksidi se formiraju iz matriksa pomoću UCP-a čime se omogućuje mitohondrijska detoksikacija. U primjeru *(c),* UCP transportira anion masnih kiselina dugog lanca ($LCFA^-$) kako bi uravnotežio difuziju neutralne masti (LCFA) preko

unutarnje mitohondrijske membrane ili dolazi do uklanjanja viška LCFA-CoA koji nije metaboliziran beta oksidacijom [12]



Slika 5. Uloga UCP kod disanja i metabolizma [12].

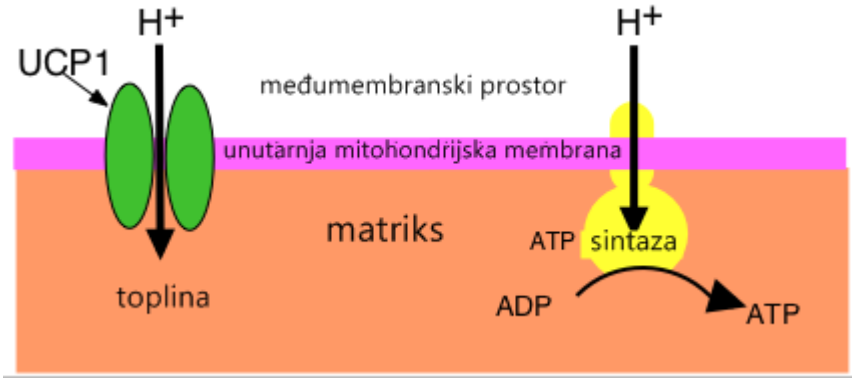
5.1 UCP1

Mitohondrijski protein razdvajanja 1 (UCP1, termogenin) nalazi se u smeđem masnom tkivu koje je odgovorno za termogenezu kod novorođenčadi. Gen za UCP1 obuhvaća regiju na kromosomu 4, a sadrži 6 eksona i 5 introna [14]. Veza između UCP1 i DM2 otkrivena je puno prije nego što su otkriveni ostali mitohondrijski proteini razdvajanja. Pokazalo se da su koncentracije proteina u smeđem masnom tkivu i UCP1 mRNA regulirani inzulinom. UCP1 se smatra odgovornim genom za razvoj pretilosti kod bolesnika sa dijabetesom zato što smanjuje membranski potencijal i proizvodnju reaktivnih kisikovih spojeva (ROS, *engl. reactive oxigen species*) čime se povećava potrošnja energije. Neravnoteža između unosa i potrošnje energije su glavni razlog nastanka pretilosti i dijabetesa. Istraživanja provedena na „knockout“ [1]miševima, koji su bili izloženi hladnoći, pokazala su da je UCP1 važan prilikom regulacije topline [12]. Prije se smatralo da smeđe masno tkivo ima funkcionalnu ulogu samo kod glodavaca i ljudske dojenčadi međutim nedavna istraživanja su pokazala da ukoliko se

[1] Knockout miš je genetički modificirani miš u kojem istraživači zamjenjuju gen od interesa sa mutiranim genom, te se istražuje kako to utječe na organizam

odrastao čovjek izloži blagoj hladnoći, njegovo smeđe masno tkivo troši više glukoze po gramu nego bilo koje drugo tkivo. Smeđe masne stanice izgaraju i otpuštaju toplinu te se njihova aktivacija kod ljudi također može iskoristi u sigurnom liječenju pretilosti, a dodatno pomaže i u liječenju dijabetesa [6]. Kod odraslih osoba smeđe masno tkivo se nalazi na vratu, oko kralježnice, iznad ključne kosti te u abdominalnoj šupljini.

UCP1 izaziva odvajanje tako da transportira protone preko unutarnje membrane u matriks mitohondrija čime se sila gibanja protona raspršuje u obliku topline. O mehanizmu prijenosa protona se još uvijek raspravlja. Protein razdvajanja smješta se u unutarnju membranu mitohondrija gdje omogućuje protonima, koji su ispumpani iz matriksa u međumembranski prostor, da se vrate u matriks bez prolaska kroz ATP sintazu. Time se sila gibanja protona raspršuje u obliku topline i ne dolazi do stvaranja ATP-a [14].



Slika 6. Stvaranje topline pomoću UCP1 u smeđem masnom tkivu [15].

5.2 UCP2

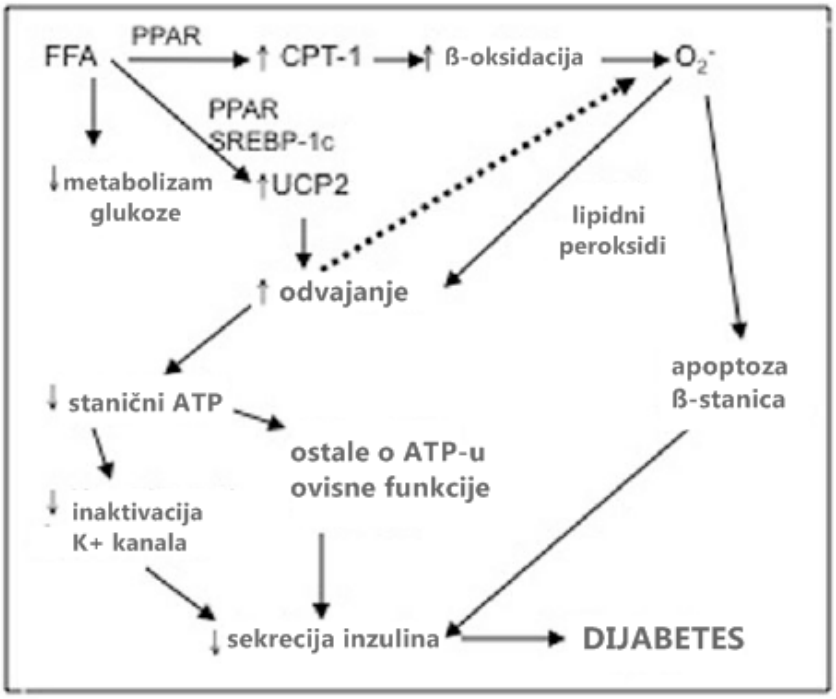
UCP2 je najrašireniji mitohondrijski protein razdvajanja koji se nalazi u bijelom masnom tkivu, srcu, mišićima, bubrezima te plućima glodavaca i ljudi. Kod ljudi koji boluju od dijabetesa, UCP2 je nađen u β-stanicama gušterače. To je protein koji na aminokiselinskoj razini dijeli 56-59% identiteta sa UCP1. Njegov gen obuhvaća regiju na kromosomu 11, a ima 8 eksona i 7 introna [16]. U β-stanicama reaktivni kisikovi spojevi (ROS) aktiviraju UCP2, što rezultira propuštanjem protona u mitohondrijsku unutrašnju membranu i smanjenjem sinteze ATP-a. Zbog prevelike ekspresije UCP2 dolazi do inhibicije lučenja inzulina [10].

UCP2 utječe na nekoliko specifičnih funkcija tkiva kao što su: [16]

1. Odgovor na oksidativni stres u jetri, mozgu i ostalim tkivima
2. Regulaciju metabolizma masnih kiselina u bijelom masnom tkivu i skeletnim mišićima
3. Regulaciju raspoloživosti energije u srcu
4. Regulaciju sekrecije inzulina u β-stanicama gušterače

UCP2 je glavna poveznica između pretilosti, dijabetesa i disfunkcije beta stanica. Kod pokusnih pretilih dijabetičnih miševa (ob/ob miševi) razina UCP2 u Langerhansovim otočićima je izrazito visoka. Dok je kod miševa koji imaju nedostatak UCP2 uočena je velika razina ATP-a i povećana sekrecija inzulina stimuliranog glukozom što dokazuje da UCP2 negativno utječe na sekreciju inzulina. Većina glodavaca koji su pretili i dijabetični, također su i hiperglikemični i hiperlipemični. Prema tome, glukolipotoksični uvjeti mogu biti uzrok izrazite regulacije ekspresije gena UCP2 [12].

Slobodne masne kiseline induciraju ekspresiju gena UCP2 i potiskuju metabolizam glukoze. Paralelno dolazi do povećanja koncentracije enzima β-oksidacije, uključujući karnitin palmitoil transferazu-1 (CPT-1), koji su posredovani faktorima transkripcije kao što su PPAR (*engl. peroxisome proliferator-activated receptor*) i SREBP-1c (*engl. sterol regulatory element binding protein 1c*) [12]. Metabolički nusproizvodi, uključujući superoksid O_2^-, se povećavaju. Superoksid ili lipidni peroksidi aktiviraju UCP2 i povećava se odvajanje, dolazi do smanjenja sinteze ATP-a i oštećenja kalijevih kanala (KATP kanali) zbog čega dolazi do njihove inaktivacije, te ostalih o ATP-u ovisnih funkcija. Sve to zajedno dovodi do smanjenja mase β-stanica i izlučivanja inzulina što može dovesti do dijabetesa. *(vidi sliku 7).*



Slika 7. Uloga UCP2 u patogenezi dijabetesa tipa II [12].

Kada je riječ o odvajanju kod oksidativne fosforilacije, koncentracija ATP-a se mijenja obrnuto sa promjenama u ekspresiji UCP2. Molekula ATP-a u organizmu ima važnu ulogu za pohranu energije, ali i sudjeluje u staničnom signaliziranju. Niske koncentracije ATP-a oslabljuju zatvaranje membranskih kalijevih kanala β-stanica što utječe na izlučivanje inzulina [12]. Ukoliko se kalijevi kanali ne zatvore, neće doći do depolarizacije stanične membrane i otvaranja membranskih kalcijevih kanala, a inzulin neće moći izaći iz stanice egzocitozom. U uvjetima glukolipotoksičnosti, aktivnost UCP2 u β-stanicama se mijenja. Kod β-stanica koje su uzgojene u nezasićenoj masnoj kiselini (MUFA) javlja se veće odvajanje nego kod kontroliranih stanica, a isto zapažanje je primijećeno kod β-stanica koje su bile izložene glukozi kroz 72h [12]. Kod obje vrste stanica, kao nusprodukt su proizvedeni ROS za koje se pretpostavlja da su endogeni aktivatori za ekspresiju UCP2. Eksperimenti su provedeni i na izoliranim sustavima i na životinja, te je postavljena hipoteza koja kaže da je indukcija ekspresije UCP2 i/ili njihova aktivnost u glukolipotoksičnim uvjetima štetna za izlučivanje inzulina [12]. Druga hipoteza kaže da molekule poput UCP2 štite stanice od ROS tako što smanjuju njihovu proizvodnju. Odvajanje smanjuje potencijal mitohondrijske membrane čime se smanjuje proizvodnja ROS. Blago odvajanje može se pojaviti kada organizam troši preveliku količinu "goriva" (u vrijeme obroka) te UCP2 može djelovati kao metabolička kočnica koja sprječava prekomjernost inzulina [16].

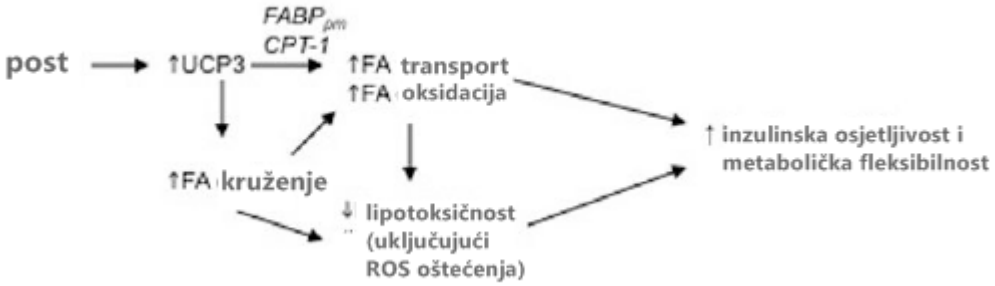
5.3 UCP3

UCP3 je također mitohondrijski nosač aniona, a ima približno 58% sličnosti sa UCP1 i 71% sa UCP2. To je jedini UCP koji je na proteinskoj razini eksprimiran isključivo u skeletnim mišićima, te je povezan sa metabolizmom energije cijelog tijela. Kod osoba s dijabetesom, razina mRNA UCP3 u skeletnim mišićima je smanjena. Pronađen je i u β-stanicama gušterače gdje utječe na izlučivanje inzulina, ali njegova fiziološka uloga nije još u potpunosti razjašnjena [17]. Nakon visoke izloženosti glukozi, ekspresija proteina UCP2 u Langerhansovim otočićima poveća se dva puta, dok se ekspresija proteina UCP3 smanji za 40%. Prekomjerna ekspresija UCP3 poboljšava izlučivanje inzulina koji je stimuliran glukozom. Ti rezultati pokazuju da UCP2 i UCP3 imaju različite funkcije regulacije β-stanica. Povećana ekspresija UCP2, a smanjena ekspresija UCP3 u stanjima hiperglikemije dovode do oslabljenog izlučivanja inzulina [6]. Nakon liječenja hormonom štitnjače koji povećava termogenezu, ekspresija UCP3 mRNA je povećana što je dokaz o odnosu između ekspresije UCP3 i metabolizma energije. Daljnja istraživanja pokazuju da UCP3 možda nema glavnu ulogu kod reguliranja metabolizma energije. Kod glodavaca, izloženost hladnoći povećava ekspresiju UCP1 u smeđem masnom tkivu, ali dolazi i do povećanja UCP3 u skeletnim mišićima. Ekspresija UCP3 doseže vrhunac nakon jednog dana dok se prilikom duže izloženosti hladnoći ekspresija UCP3 smanjuje. To upućuje da UCP3 ne igra važnu ulogu u termogenezi. Za vrijeme posta, stanje kada opada potrošnja energije, ekspresija UCP3 se povećava, ali ne utječe na promjenu energije [17].

Skeletni mišići su važni za održavanje homeostaze glukoze, a budući da je UCP3 eksprimiran u njima smatra se da imaju ulogu i kod dijabetesa. Predložen je mehanizam kojim bi UCP3 mogao utjecati na unos glukoze putem AMP kinaze. Odvajanje u mitohondrijima rezultira smanjenom proizvodnjom ATP-a što dovodi do povećanja koncentracije AMP. Kasnije dolazi do aktivacije AMP kinaze, enzima koji je odgovoran za fosforilaciju ključnih enzima koji reguliraju metabolički tok i unos glukoze [6].

Pretpostavlja se da UCP3 ima ulogu i u održavanju inzulinske osjetljivosti. Ekspresija UCP3 u skeletnim mišićima je inducirana kod zdravih osoba koje se hrane hranom sa visokim udjelom masti ili su u stanju posta. Povećanje proteina UCP3 povezano je sa povećanjem količine enzima koji transportiraju masne kiseline (FABPpm) ili sudjeluju u beta oksidaciji (CPT-1) što povećava učinkovitost oksidativnog metabolizma [12].

Povećanjem oksidacije masti u cijelom tijelu, smanjuje se masno tkivo i količina unutarmišićnih triglicerida čime se povećava tolerancija na glukozu. Prilikom razvoja DM2 dolazi do poremećaja u odgovoru UCP3, nastaju glukolipotoksični uvjeti i ekspresija UCP3 se smanjuje- *(vidi sliku 8).*



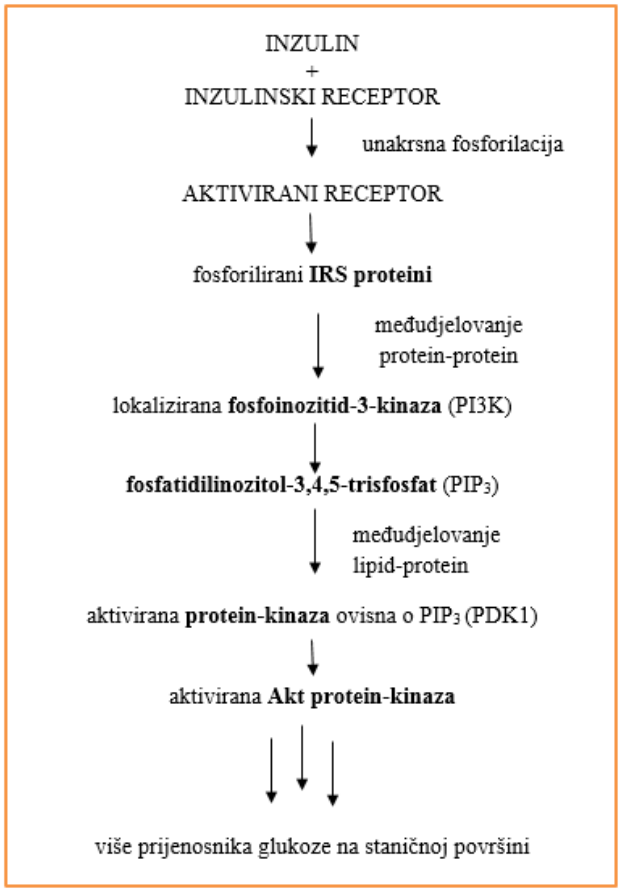
Slika 8. Utjecaj UCP3 na inzulinsku osjetljivost [12].

6. Signalni put djelovanja inzulina

Razumijevanje signalnog puta inzulina bitno je za razvoj novih lijekova protiv dijabetesa, metaboličkih sindroma i njihovih komplikacija. Inzulin i IGF-1 *(engl. insulin-like growth factor-1*) sudjeluju u različitim biološkim procesima djelovanjem na dva slična receptora tirozin kinaze [18]. Djelovanje inzulina započinje njegovim vezanjem na inzulinski receptor, dimer s dvije jednake podjedinice od kojih se svaka sastoji od α i β lanca povezanih disulfidnom vezom. Dvije α-podjedinice oblikuju vezno mjesto za jednu molekulu inzulina, a β-podjednica se sastoji od protein-kinazne domene (tirozin-kinaza). Inzulin se veže na izvanstaničnu α-podjedinicu pri čemu se one približavaju, a tirozin kinaza u β-podjedinici se aktivira. Spajanje dviju β-podjedinica kinazne domene katalizira dodavanje fosforilnih skupina iz ATP-a na tirozinske ostatke aktivacijskih petlji. Fosforilacijom dolazi do izrazitih konformacijskih promjena, a promjena aktivacijske petlje prevodi kinazu u aktivnu konformaciju [3]. Kada se dvije receptorske podjedinice nalaze u neposrednoj blizini dolazi do fosforilacije dodatnih mjesta unutar receptora. Ta mjesta postaju vezna za druge spojeve uključujući i tzv. supstrate inzulinskih receptora (IRS, *engl. insuline-receptor substrates*). Od IRS signal se prevodi preko niza molekula koje se nalaze u membrani do protein kinaze koja se na kraju odvaja od membrane [5].

Fosfotirozinske ostatke proteina IRS prepoznaju proteini koji sadržavaju domenu Src-homolog 1 (SH2). Aktivacijom SH2 započinje signalna kaskada preko efektornih molekula, a završni rezultat je prijenos inzulinskog signala do unutarstaničnih puteva zaduženih za regulaciju stanične diferencijacije. Fosfoinozitid-3-kinaza (PI3K) predstavlja ciljnu molekulu proteina IRS koja fosforilacijom fosfoinozitida pretvara fosfatidilinozitol-4,5-bifosfat (PIP_2) u fosfatidilinozitol-3,4,5-trifosfat (PIP_3) koji uzrokuje aktivaciju serin/treonin kinaze, fosfoinozitol-ovisne kinaze-1 (PDK1) [1]. Aktivirana PDK1 fosforilira i aktivira sljedeću protein kinazu, Akt. Ona nije vezana za membranu i kreće se unutar stanice fosforilirajući molekule koje nadziru transporter glukoze GLUT4 [2]. Cijela kaskada koju potiče vezanje inzulina prikazana je sažeto na slici 9. *(vidi sliku 9)*

Lipidne fosfataze prekidaju inzulinsku signalizaciju tako da uklanjaju fosforilne skupine sa inozitolnih lipida koji su bili fosforilirani u procesu signalne kaskade. Protein-tirozin-fosfataze uklanjaju fosforilne skupine sa tirozinskih ostataka inzulinskog receptora, protein-serin-fosfataze uklanjaju fosforilne skupine sa aktivirane protein-kinaze (npr. Akt) dok lipid fosfataze hidroliziraju PIP_3 do PIP_2 [3].



Slika 9. Kaskada vezanja i signalizacije inzulina [3].

7. Mehanizmi nastanka inzulinske rezistencije

Mehanizmi nastanka inzulinske rezistencije se sve više istražuju zato što otpornost na inzulin ima ključnu ulogu u patogenezi mnogih bolesti uključujući dijabetes, pretilost, hiperandrogenizam jajnika i hipertenzije [1]. Kao što je već spomenuto, inzulin osim što djeluje na metabolizam masti, lipida i ugljikohidrata, djeluje i na homeostazu glukoze. Glukoregulacija se vrši u tri organa, a to su jetra, mišići i masno tkivo. U jetri, inzulin inhibira proizvodnju glukoze tako da inhibira glukoneogenezu i glikogenolizu. U mišićima i masnom tkivu, inzulin stimulira unos, skladištenje i korištenje glukoze [19].

Do sada su predložena dva moguća mehanizma nastanka inzulinske rezistencije, ali nisu još u potpunosti razjašnjena. Prvi mehanizam uključuje promjene u IRS-1 koje nastaju kao posljedica mutacija ili djelovanja serinskih IRS proteina koji fosforiliraju serinske ostatke proteina IRS smanjujući njegovu sposobnost privlačenja PI3K [1].

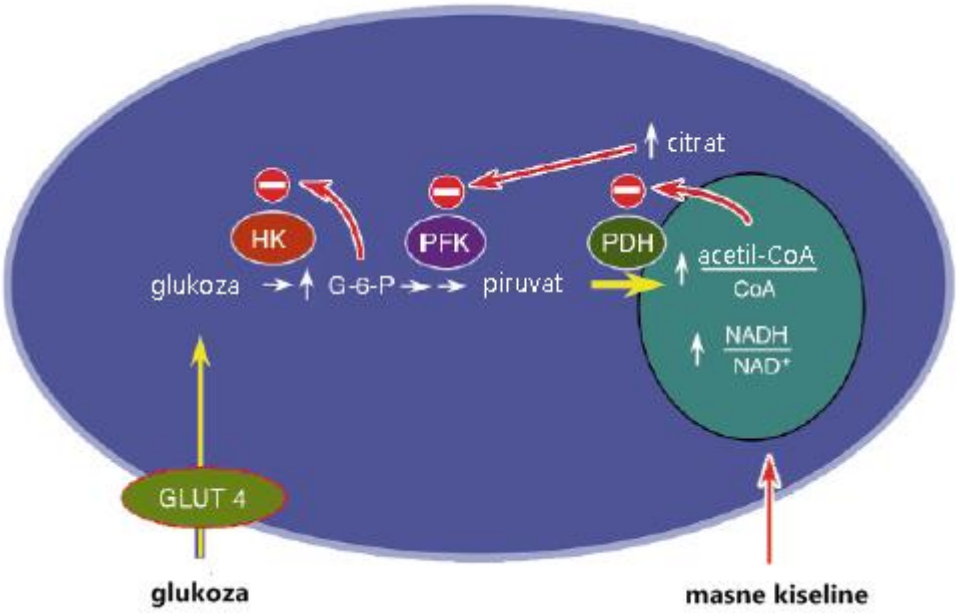
Pojedine serin kinaze aktiviraju se kao uzrok mitohondrijske disfunkcije. Neki od uzroka mitohondrijske disfunkcije su djelovanje kinaza, hiperinzulinemija, pretilost, upala, stres, hiperglikemija i mnogi drugi. Drugi mehanizam uključuje povećanu ekspresiju podjedinice p85alfa PI3K. Naime, ova se kinaza sastoji od dvije regulatorne podjedinice p85 alfa i p85 beta, te dvije katalitičke podjedinice p110 alfa i p110 beta. U normalnim uvjetima postoji balans između slobodnih p85 monomera i p85-p110 heterodimera koji su zaduženi za aktivnost PI3K. Disbalans podjednica utječe na promjene aktivnosti PI3K jer se p85 monomeri i p85-p110 heterodimeri natječu za isto vezno mjesto na tirozin-fosforiliranim IRS proteinima [1].

7.1 Inzulinska rezistencija kod pretilosti

Povećano iskorištavanje slobodnih masnih kiselina (FFA) doprinosi nastanku inzulinske rezistencije jer se stimulacijom ključnih enzima i opskrbom energije za glukoneogenezu povećava proizvodnja glukoze. Kod pretilosti dolazi do pojava slabih i kroničnih upala koje su uključene u patogenezu određenih bolesti [19]. Upala ustvari predstavlja stanje u kojem je povišen broj bijelih krvnih stanica ili protuupalnog citokina u tkivu ili cirkulaciji. Započinje u masnom tkivu i jetri te dolazi do povišene infiltracije makrofaga i ekspresije

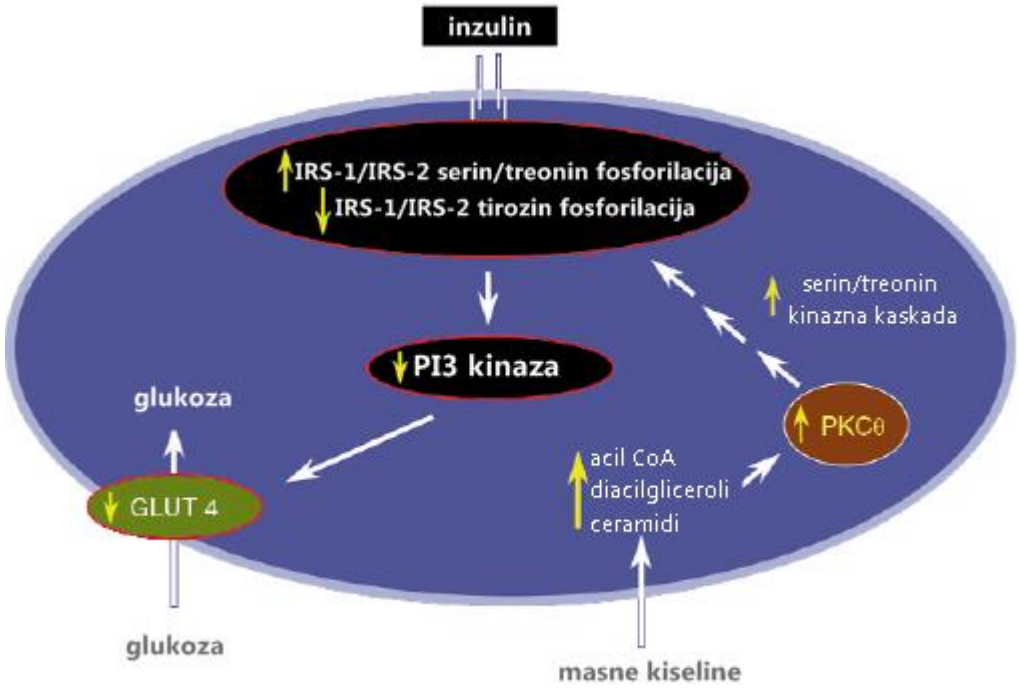
citokina. Upala inhibira signalnu aktivnost inzulina u hepatocitima i adipocitima preko nekoliko mehanizama. Prvi je inhibicija proteina IRS-1 i inzulinskog receptora. Drugi je inhibicija funkcije nuklearnog receptora koji pokreće sintezu lipida i skladištenje masti u stanicama (PPARγ). Treći mehanizam uključuje povećanje citoplazmatskih slobodnih masnih kiselina stimuliranjem lipolize. Učinci ta tri mehanizma se promatraju u jetri i masnom tkivu. Kod pretilih osoba, upala jetre povezana je sa pojavom tako zvane masne jetre koja nastaje kao posljedica akumuliranja lipida u hepatocitima [20]. Masne kiseline se oksidiraju do acetil-CoA koji se koristi kao građevni materijal za sintezu glukoze procesom glukoneogeneze u jetri. U normalnim uvjetima, glukoneogeneza je inhibirana djelovanjem inzulina, a pojačava se kod inzulinske rezistencije [7].

Povećanjem koncentracije masnih kiselina, poveća se omjer acetil-CoA/CoA i NADH/NAD^+ uz dodatnu inaktivaciju piruvat-dehidrogenaze (PDH). Time se povećava koncentracija citrata što dovodi do inhibicije fosfofruktokinaze (PFK). [20] Naknadno povećanje koncentracije unutar-staničnog glukoza-6-fosfata dovodi do inhibicije aktivnosti heksokinaze II (HK) čime se povećava koncentracija glukoze u stanici, te smanjuje se mišićni unos glukoze *(vidi sliku 10).*



Slika 10. Utjecaj masnih kiselina na unos glukoze [21].

Pretpostavljen je mehanizam kojim bi masne kiseline inducirale nastanak inzulinske rezistencije u mišićima. Povećanjem količine masnih kiselina u mišićima ili smanjenjem unutar staničnog metabolizma masnih kiselina, povećava se količina metabolita masnih kiselina kao što su acil-CoA, ceramidi i diacilgliceroli. Ti metaboliti aktiviraju kaskade serin/treonin (aktivirani protein-kinazom C theta – PKCθ) koje fosforiliraju serin/treonin ostatke inzulinskog receptora (IRS-1 i IRS-2) što dovodi do smanjenja sposobnosti inzulinskog receptora da aktivira PI3K. Kao posljedica, aktivnost prijenosa glukoze je smanjena [21] *(vidi sliku 11).*



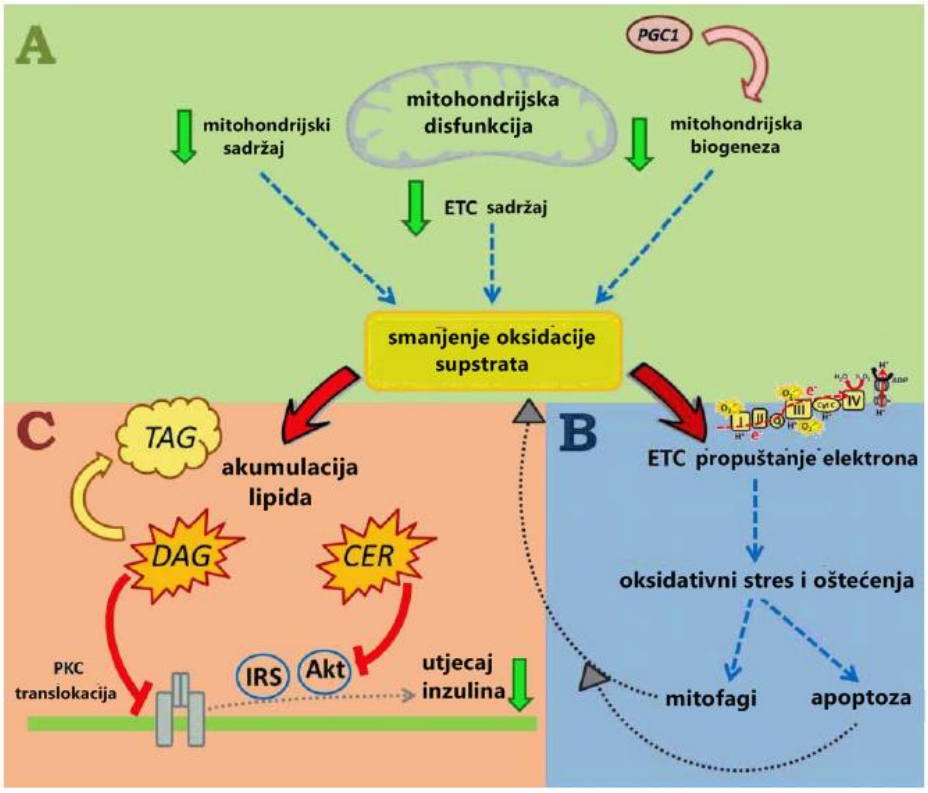
Slika 11. Predloženi mehanizam nastanka inzulinske rezistencije inducirane masnim kiselinama [21].

8. Mitohondrijska disfunkcija i inzulinska rezistencija

U eukariotskim stanicama proizvodnja energije u obliku ATP-a je kontrolirana mitohondrijima. Glukoza i masne kiseline ulaze u stanicu pomoću različitih membranskih transportera. Masne kiseline se mogu pretvoriti u aktivne ili inertne lipidne vrste ili se mogu transportirati u mitohondrije i oksidirati do acetil-CoA (isto kao i glukoza). Acetil-CoA nakon toga ulazi u ciklus limunske kiseline i stvara redukcijske oblike (NADH i $FADH_2$)

koji doniraju elektrone za stvaranje ATP-a u elektron transportnom lancu. Tijekom prijenosa elektrona nastaje superoksid koji izaziva oksidativni stres i potencira indukciju nuklearnog faktora NRF_2 [22]. Mitohondrijska disfunkcija definira se kao redukcija broja mitohondrija, njihove gustoće ili funkcije. Budući da je mitohondrij primarna organela za oksidaciju i metabolizam masnih kiselina i glukoze, smanjenje njegove funkcije može doprinijeti nakupljanju masti i slobodnih masnih kiselina što u konačnici dovodi do inzulinske rezistencije [23].

Smanjenje ekspresije mitohondrijskih oksidativnih proteina, kao što su kompleksi u elektron transportnom lancu (ETC) vode do smanjenja oksidacije supstrata. Smanjeni protok elektrona kroz ETC može dovesti do propuštanja elektrona i stvaranja superoksida nakon čega slijedi nastanak oksidativnog stresa i oštećenja. Mitohondriji mogu reagirati na oštećenja u zdravom okolišu kroz mitofagne puteve tako da uklone oštećeni dio mitohondrija i spriječe smrt stanice. U slučaju visokog stresa i apoptoze, tako uklanjaju i sve što uzrokuje smanjenje iskorištavanja supstrata i sve što dovodi do povećanja nakupljanja lipida. Aktivni intermedijeri lipida, kao što su diacilgliceroli (DAG) i ceramid (CER), zatim izazivaju inhibiciju signalizacijskog puta inzulina [22] *(vidi sliku 12).*



Slika 12. Rezultati mitohondrijske disfunkcije [22].

9. Zaključak

Dijabetes će, kao najraširenija metabolička bolest, biti još mnogo istraživana jer i nakon dosadašnjeg dugog niza istraživanja postoje nerazjašnjeni mehanizmi nastanka inzulinske rezistencije kao i same bolesti. Mitohondrijski proteini razdvajanja (UCP-ovi) mogu djelovati na razvoj šećerne bolesti kroz 4 aspekta, (a) smanjenjem potencijala mitohondrijske membrane, (b) povećanjem potrošnje energije, posebice kroz metabolizam masti i glukoze, (c) smanjenjem stvaranja reaktivnih oblika kisika (ROS) ili (d) polimorfizmom gena. Razlikujemo UCP1, UCP2 i UCP3, te kombinacija svih njih zajedno može dovesti do nastanka bolesti. Uzroci mitohondrijske disfunkcije također se moraju dodatno istražiti jer su tijekom 20 godina dobiveni različiti, često oprečni, rezultati. Dok neka istraživanja govore da mitohondrijska disfunkcija uzrokuje metaboličke bolesti, druga istraživanja pokazuju da nema promjena ili povećanja oksidativnog stresa kod pretilih ljudi i ljudi sa inzulinskom rezistencijom. Inzulinska rezistencija je cilj istraživanja u liječenju dijabetesa, ali budući da sami mehanizmi nastanka nisu u potpunosti razjašnjeni, do sada nije došlo do razvoja novih lijekova. Iako su oksidativni stres, masna jetra, hipoksija i lipodistrofija usko povezani sa pretilosti i otpornosti na inzulin, oni ne moraju i izravno doprinositi razvoju otpornosti na inzulin.

10. Literatura

1. E. Lukić, *Intrinzična inzulinska rezistencija u nedijabetičara i pojava hiperglikemije u teškoj akutnoj bolesti*, Zagreb, 2016.
2. J. Sertić, *Klinička kemija i molekularna dijagnostika*, Medicinska naklada, Zagreb, 2008.
3. J.M.Berg, J.Tymoczko, L.Stryer, *Biokemija*, Školska knjiga, Zagreb, 2013.
4. B.F. B. Lowell, G. I. Shulman, Mitochondrial Dysfunction and Type 2 Diabetes, *Science*, **307** (2005), 384-387.
5. C. Taha, A. Klip, The insulin signaling pathway, *J. Membrane Biology*, **169** (1999), 1-12.
6. J. Liu, J. Li, W.J. Li, C.M. Wang, The role of uncoupling proteins in diabetes mellitus, *J. Diabetes Res*., **2013** (2013), 2-7.
7. X. Guoa, H. Lia, H. Xua, S. Wooa, H. Dongb, F. Lub, A. J.Langec, C. Wua, Glycolysis in the control of blood glucose homeostasis, *Acta Pharm. Sin. B*, **2** (2012), 358-367.
8. https://www2.chemistry.msu.edu/faculty/reusch/virttxtjml/nucacids.htm (21.7.2017)
9. https://courses.washington.edu/conj/bess/humoral/humoralregulation.htm (21.7.2017)
10. S. E. Kahn, The relative contributions of insulin resistance and beta-cell dysfunction to the pathophysiology of type 2 diabetes, *Diabetologia*, **46** (2003), 4-19.
11. L. S. Duvnjak, Patofiziologija metaboličkog sindroma, *Medicus*, **13** (2004), 15-25.
12. C. B. Chan, M. E. Harper, Uncoupling proteins: role in insulin resistance and insulin insufficiency, *Curr Diabetes*, **2 (**2006), 271-283.
13. A.A.Starkov , "Mild" uncoupling of mitochondria, *Biosci Rep*., **17** (1997) , 273-290.
14. L.A. Brondani; T. S. Assmann; G. C. K. Duarte; J. L. Gross; L. H. Canani; D. Crispim, The role of the uncoupling protein 1 (UCP1) on the development of obesity and type 2 diabetes mellitus, *Arq Bras Endocrinol Metab*, **56** (2012), 21-25.
15. . http://www.biology-pages.info/A/AdiposeTissue.html (21.8.2017)
16. B.M. Souza, T.S. Assmann, L.M. Kliemann, J.L. Gross, L.H. Canani, C. D., The role of uncoupling protein 2 (UCP2) on the development of type 2 diabetes mellitus and its chronic complications, *Arq Bras Endocrinol Metab*, **55** (2011), 239-248.

17. P. Schrauwen, M. Hesselink, UCP2 and UCP3 in muscle controlling body metabolism, *J. Exp. Biol.*, **205** (2002), 2275-2285.
18. J. Boucher, A. Kleinridders, C. R. Kahn, Insulin receptor signaling in normal and insulin-resistant states, *CSH Perspectives*, **6** (2014), 1-23.
19. D. E. Moller, M.D., J. S. Flier, Insulin resistance — mechanisms, syndromes, and implications, *N. Engl. J. Med*, **325** (1991), 938-948.
20. J. Ye, Mechanisms of insulin resistance in obesity, *Front. Med*., **7** (2013), 14-24.
21. G. I. Shulman, Cellular mechanisms of insulin resistance, *J. Clin. Inves*., **106** (2000), 171-176.
22. M. K Montgomery, N. Turner, Mitochondrial dysfunction and insulin resistance: an update, *Endocr. Connect*., **4** (2015), 1-15.
23. J. Kim, Y. Wei, J. R. Sowers, Role of mitochondrial dysfunction in insulin resistance, *Circ. Res*., **102** (2008), 401-414.