



ALZHEIMERIN TAUTI JA INSULIINIRESISTENSSIN OSUUS TAUDIN KEHITYKSESSÄ

Kandidaatintyö



KARI KUNNAS
3. KESÄKUUTA 2016
OULUN YLIOPISTO

Sisällysluettelo

1. JOHDANTO	2
2. ALZHEIMERIN TAUDIN NEUROLOGISET OIREET	4
3. SAIRASTUMISRISKI JA TAUDIN KEHITYSTÄ EDISTÄVÄT TEKIJÄT	6
4. ALZHEIMERIN TAUTI METABOLINEN SAIRAUUS?	8
5. ALZHEIMERIN TAUDIN YHTEYS MUIHIN INSULIINIRESISTENSSISAIRAUKSIIN	11
6. ELINTARVIKKEISTA SAATAVIEN NITROSOAMIINIEN VAIKUTUS	15
7. INSULIININ TOIMINTAAN VAIKUTTAVIA HOITOMENETELMIÄ	17
8. LÄHDELUETTELO	20

1. Johdanto

Hermoston rappeutumissairaudet ovat muun muassa muistiin ja liikkumiseen haitallisesti vaikuttavia sairauksia. Ne johtuvat pääasiassa hermosolujen virheellisestä toiminnasta tai niiden tuhoutumisesta. Tällaisia sairauksia ovat esimerkiksi Parkinsonin, Huntingtonin ja tämän tutkielman kohteena oleva Alzheimerin tauti. Liikkumiseen vaikuttavissa sairauksissa, kuten Parkinsonin taudissa, hermoston rappeutuminen kohdistuu keskushermoston motorisesta toiminnasta vastaavalle alueelle. Dementiaa aiheuttavat sairaudet, niin kuin Alzheimerin tauti, aiheuttavat tuhoa pääasiassa aivojen muistiin liittyvillä alueilla, kuten aivotursossa. Hermoston rappeutumissairauksien tarkat syntymekanismit ovat vielä suurelta osin tuntemattomia eikä niihin ole parannuskeinoja, mutta niiden oireita voidaan vaihtelevissa määrin hillitä lääkkeillä ja kuntoutusmenetelmillä, kuten fysio- ja puheterapialla (EU Joint Programme - Neurodegenerative Disease Research, 2014; Alzheimer info (Hoito/Kuntoutus)).

Alzheimerin taudin ensimmäisiä oireita ovat lähimuistin heikentyminen ja uusien asioiden opettelemisen vaikeutuminen. Vähitellen myös puhuminen ja puheen ymmärtäminen alkavat huonontua, eikä ihmisten ja esineiden tunnistaminen näkemisen perusteella suju normaalisti. Myös toiminnan suunnittelu, aloittaminen sekä toteuttaminen alkavat kärsiä. Tavalliselta hajamielisyydeltä vaikuttavan vaiheen jälkeen oireet alkavat pahentua ja oudoissa paikoissa liikkuminen sekä talousasioiden hoitaminen vaikeutuvat. Lopulta tavalliset arkipäivän askareetkin, kuten kaupassa käynti, ruuan laitto ja jopa pukeutuminen osoittautuvat haasteellisiksi. Sairauden kehittyessä viimeisiin vaiheisiinsa puhe- ja jopa kävelykyky huononevat huomattavasti. Kognitiivisten kykyjen heikkeneminen on psyykelle raskasta ja monilla potilailla todetaankin masennusta ja ahdistuneisuutta. Osalla esiintyy myös vaikeaa levottomuutta ja vainoharhaisuutta, joka voi joskus olla taudin ensimmäisiä oireita (Alzheimer info (Alzheimerin tauti/Taudin vaiheet)).

Alzheimerin tauti on tärkeää diagnosoida mahdollisimman varhain, heti muistihäiriöiden ilmetyä. Diagnostiikka tapahtuu eliminaatioprosessilla, joka alkaa lääkärin suorittamalla haastattelulla, jonka tarkoituksena on selvittää muistihäiriön vakavuutta. Potilaat suorittavat muistia, päättelyä, hahmotusta ja orientaatiota mittaavia testejä, joiden perusteella lääkäri arvioi, mihin muistisairauteen tulokset viittaavat ja kuinka vakava se on. Jos potilaalla todetaan muistisairaus, otetaan häneltä yleensä verikoe, jolla pyritään rajaamaan taudin syytä. Tarvittaessa potilas lähetetään laajoihin, mahdollisesti monipäiväisiin jatkotutkimuksiin, jotka voivat sisältää neuropsykologisia testejä. Jos diagnoosia ei niidenkään perusteella saada varmistetuksi, tilannetta seurataan ja diagnostia yritetään myöhemmin uudestaan (Alzheimer info (Alzheimerin tauti/Tutkimuksiin hakeutuminen)).

Alzheimer ei yleensä ole periytyvä sairaus, mutta muutamalla prosentilla (noin 1-5 %) siihen sairastuneista se kuitenkin voi johtua geeneistä. Yleisempää onkin, että sairauden osasyynä on jotkin riskiä nostavat geenimutaatiot, mutta taudin lopullinen puhkeaminen tapahtuu muista syistä. Alzheimerin taudin kehittyminen on yleisempää ihmisillä, joiden suvussa on sitä esiintynyt. Lisäksi naisilla vaikuttaisi olevan miehiä korkeampi riski sairastua (Duodecim Terveyskirjasto, 2015).

Tässä tutkielmassa keskityn Alzheimerin tautiin liittyviin, aivojen insuliiniresistenssistä johtuviin, neurologisiin ominaisuuksiin. Käyn aluksi läpi kyseisen sairauden vaikutuksia aivojen rakenteeseen sekä sairastumisriskiä nostavia ja taudin kehittymistä edistäviä tekijöitä. Tämän jälkeen siirryn käsittelemään Alzheimerin taudin ominaisuuksia ja näyttöä, jonka mukaan sitä voitaisiin pitää insuliinidonnaisena aineenvaihduntasairautena. Tarkastelen myös sen yhteneväisyyttä muiden insuliinisairauksien kanssa ja niiden osallisuutta Alzheimerin taudin syntyyn. Lisäksi käsittelen elintarvikkeissa nykyisin yleisesti esiintyvien nitrosoamiinien mahdollisia vaikutuksia taudin kehittymiseen. Lopuksi kerron aivojen insuliinin määrään ja sitoutumiseen vaikuttavista hoitomenetelmistä.

2. Alzheimerin taudin neurologiset oireet

Alzheimerin tautia (AT) sairastavilla välittäjäaineiden, erityisesti asetyylikoliinin, toiminnassa esiintyy häiriöitä. Eläinmalleilla on osoitettu, että asetyylikoliini on muistin ja tiedonkäsittelyn kannalta tärkeä välittäjäaine. AT-potilailla asetyylikoliinin määrä on alhainen, sen stimuloimat kolinergiset hermosolut ovat harventuneet etuaivojen pohjassa (basal forebrain) ja sitä syntetisoivaa koliiniasetylaasitransferaasi-entsyymiä on aivokuorella normaalia vähemmän. Asetyylikoliinin toiminnanhäiriöt korreloivat kognitiivisten kykyjen heikkenemisen kanssa enemmän kuin muiden välittäjäaineiden. AT kuitenkin vaikuttaa myös muiden neurotransmitterien, kuten serotoniinin ja noradrenaliinin, toimintaan. (Agamanolis, 2014)

Alzheimerin tautiin sairastuessa aivojen hermosolujen ulkopinnalle kertyy beeta-amyloidiplakkeja, jotka koostuvat noin 36-43 aminohapon muodostamista peptideistä. Beeta-amyloidit ($A\beta$) ovat osa suurempia amyloidiprekursoriproteiineja (APP), jotka ovat erityisesti synapseissa sijaitsevia solukalvon läpäiseviä proteiineja. Terveillä henkilöillä α -sekretaasit pilkkovat APP:sta sen solun ulkopuolisen osan pois, eikä $A\beta$ -plakkeja muodostu. Alzheimerin tautia sairastavilla pilkkomisen voivat kuitenkin virheellisesti hoitaa β - ja γ -sekretaasit, jolloin $A\beta$ alkaa kasaantua ja muodostaa plakkeja. APP:n varsinaista funktiota ei tunneta, mutta sen on todettu olevan osana synapsien muodostumista, hermoston plastisuutta ja raudan kuljetusta (Agamanolis, 2014; Duce ym., 2011).

Plakit ovat myrkyllisiä hermosoluille, koska ne häiritsevät neuronien aktiopotentiaalin muodostamista, vaurioittavat synapseja ja pahimmillaan tappavat kyseisiä soluja. Ne ovat erityisesti aivotursoja vaurioittavia molekyylijä. Haitallisuus johtuu ainakin osittain vapaista radikaaleista, joita muodostuu, kun liukoinen $A\beta$ reagoi sinkki-, kupari- ja rautaionien kanssa. Liukoisen $A\beta$:n määrä korreloi selvästi Alzheimerin taudissa esiintyvien neurologisten toimintahäiriöiden kanssa.

Alzheimerin tautiin kuuluvia plakkeja kutsutaan nimellä senile plaques (SP). Ne ovat pallomaisia, halkaisijaltaan suurimmillaan jopa sadan mikrometrin kokoisia, pääasiassa beeta-amyloideista muodostuvia kertymiä. SP:t jakautuvat kahteen alaryhmään: diffuse A β plaques (A β P) ja neuriittiplakkeihin (NP). Näistä ensimmäiset ovat ekstrasellulaarisia A β kasaantumia. NP:t ovat A β P:tä, joissa tapahtuu hermosoluja rappeuttavia prosesseja yhdessä pariutuneiden, helikaalisten tau-filamenttien kanssa. (Agamanolis, 2014)

Tau-proteiinit ovat pääasiassa keskushermoston soluissa esiintyviä, hermosolujen mikrotubuluksia stabiloivia, proteiineja. Niiden hyperfosforylaatio kuuluu Alzheimerin taudin oireisiin ja sen seurauksena niiden toiminta häiriintyy. Vialliset tau-proteiinit vääristävät mikrotubulusten välejä, häiriten soluorganellien kuljetusta aksoneissa. Niitä esiintyy ensimmäiseksi aivotursojen läheisellä entorhinal cortex -nimisellä alueella, jonka jälkeen niitä ilmenee myös itse aivotursoissa. Viimeaikaisten hiirikokeiden perusteella vialliset tau-proteiinit leviävät hermosolujen välillä siirtymällä synapsien läpi.

Neurofibrillary tangles (NFT) ovat hermosolujen soomaosiin ja dendriitteihin kasautuvia tau-filamentteja, jotka ovat myös mukana NP:en hermostoa rappeuttavissa prosesseissa. Pitkälle kehittyneessä Alzheimerin taudissa aivoturson hermosyhyhovastoon on sulautunut ekstrasellulaarista NFT:tä. Vielä ei tiedetä, kuinka tau kasautuu NFT:ksi. (Agamanolis, 2014)

3. Sairastumisriski ja taudin kehitystä edistävät tekijät

Tyypin 2 diabetes mellitus (T2DM) on Alzheimerin taudin riskitekijä. T2DM -potilailla insuliinin määrä on alhainen ja heillä on aivoissa resistenssiä sitä kohtaan. Tämä johtaa häiriöihin aivojen energia-aineenvaihdunnassa. On myös todettu, että liukoinen A β kilpailee insuliinin kanssa insuliinireseptoreihin sitoutumisesta, mikä korostaa insuliiniin liittyviä ongelmia entisestään. (Luo ym., 2016; Xie ym., 2002)

Alzheimerin taudin kehittymiseen liittyy myös neuroinflammaatiota. Amyloidin kertyminen vaikuttaa inflammaation syntyyn aivoissa ja NP:t toimivatkin niiden ympärille kerääntyneiden reaktiivisten mikroglia-solujen (jotka aktivoituvat tullessaan kosketuksiin plakkien kanssa) ja reaktiivisten astrosyyttien kanssa tulehdusprosessin aikaansaamiseksi. Ne tuottavat tulehdusprosessille tyypillisiä akuutin vaiheen proteiineja (APP), joiden määrä seerumissa on Alzheimerin tautia sairastavilla koholla. Lisäksi ne vapauttavat neurotoksiineja, sytokiineja, komplementin prekursoreita ja indusoituvaa syklo-oksigenaasientsyymi 2:ta (COX-2). Mikroglia-solut voivat myöskin tuottaa vapaita radikaaleja. Neuroinflammaation syntyyn vaikuttavat myös aivokudokseen kohdistuneet vammat, koska vahingoittuessaan kudokset vapauttavat inflammaation syntyä edistäviä APP-proteiineja (Agamanolis, 2014; Giulian ym., 1995; Lääketieteellinen Aikakausikirja Duodecim, 1998).

Homokysteiinin vaikutusta Alzheimerin tautiin tutkitaan, koska sen korkea määrä voi ilmeisesti nostaa edellä mainittujen neurotoksiinien tehokkuutta. Ruokavaliosta saatava folaatti laskee homokysteiiniarvoja vastavaikutteisesti. Homokysteiinin määrä kuitenkin lisääntyy vanhetessa ja henkilöillä, joilla on haitallinen 5,10-metyleenitetrahydrofolaatti-reduktaasin (MTHFR) polymorfismi, lisääntyminen on merkittävämpää. MTHFR on folaatin metaboliaan liittyvä, tärkeä entsyymi, jonka edellä mainittu polymorfismi on yleinen. Homokysteiinit on yhdistetty vapaiden radikaalien määrän nousuun, glutamaatin eksitotoksisuuteen, apoptoosiin ja ATP:n määrän alhaisuuteen. (Agamanolis, 2014)

Suurin Alzheimerin tautia edistävä geneettinen riskitekijä on eräs apolipoproteiini E - geenin alleeli. Kyseinen proteiini vastaa kolesterolin kuljetuksesta ja sillä on kolme alleeli: ApoE-2, ApoE-3 ja ApoE-4. ApoE-2 alentaa sairastumisen riskiä, ApoE-3 on yleisin alleeli ja ApoE-4 nostaa riskiä. Henkilöt, joilla on alleeli ApoE-4 homotsygoottisesti, sairastuvat keskimäärin 70-vuotiaana Alzheimerin tautiin, muut sairastuvat yleensä myöhemmin, jos ollenkaan. Sairastuminen ei kuitenkaan ole ehdotonta millään alleelilla. Osittain tästä johtuen vanheneminen nostaa riskiä sairastua Alzheimerin tautiin, etenkin henkilöillä, joilla on ApoE-4 -alleeli, mutta pelkkä ikääntyminen ei tautia aiheuta. ApoE-4 -proteiinin on osoitettu Alzheimerin taudin hiirimalleilla kiihdyttävän beeta-amyloidien kertymistä aivotursoon ja edistävän insuliinin toimintahäiriöitä. (Agamanolis, 2014; Chan ym., 2016)

Vapaiden happiradikaalien aiheuttama oksidatiivinen stressi lisääntyy Alzheimerin tautia sairastavilla muita nopeammin, koska monet tautiin liittyvät solutason epätavallisuudet, kuten A β -plakkien kertyminen, edistävät radikaalien syntyä. A β on myös myrkyllistä mitokondrioille ja oksidatiivinen stressi aiheuttaa mitokondriaalisia mutaatioita ja toimintahäiriöitä, jotka lisäävät radikaalien syntyä (Agamanolis, 2014).

4. Alzheimerin tauti metabolinen sairaus?

Alzheimerin tautiin kuuluu useita oireita, kuten oksidatiivinen stressi ja neuroinflammaatio, jotka uusien tutkimusten perusteella voivat olla seurausta aivojen insuliiniresistenssistä sekä ainakin osittain siitä johtuvista häiriöistä glukoosin hyödyntämisessä ja energiametaboliassa ylipäättään. Aikaisemmin Alzheimerin tautiin liittyvän hermoston rappeutumisen on ajateltu johtuvan pääasiassa beeta-amyloidiplakeista, fosforyloituneista tau-proteiineista tai neuroinflammaatiosta. Kuitenkin useat kokeet ja ihmistutkimukset viittaisivat AT:n olevan metabolinen sairaus, joka estää glukoosin käyttämistä energian tuottamiseen aivoissa. Lisäksi insuliinia sekä insuliinin kaltaisia kasvutekijöitä (IGF) kohtaan kehittyvän resistenssin seurauksena neurotrofiinisten faktoreiden signalointi häiriintyy. Neurotrofiinit ovat proteiineja, jotka edistävät hermosolujen selviytymistä, kehittymistä ja toimintaa (Steen ym., 2005; Watson, 2006; Luchsinger, 2010; Hoyer, 2004).

IGF:t ovat insuliinin kaltaisia peptidejä, jotka stimuloivat proteiinisynteesiä ja edistävät erikoistuneiden solujen selviytymistä. Niitä esiintyy erityisesti kudoksissa, jotka kasvavat tai korjaantuvat. IGF:t jaetaan kahteen alatyyppeihin: IGF-1 ja IGF-2. Insuliini ja IGF-1 inhiboivatkin muun muassa glykogeenisyntaasikinaasi-3 β :aa (GSK-3 β), jonka on todettu olevan osallisena sekä Alzheimerin taudin että T2DM:n kehittämisessä. GSK-3 β heikentää Wnt-signalointireitin toimintaa, joka edistää synaptista plastisuutta.

Glukoosin hyödyntämisessä esiintyy häiriöitä jo AT:n alkuvaiheissa, joko ennen kognitiivisten toimintojen heikkenemistä tai sen kanssa samaan aikaan. Ongelmat lisääntyvät kykyjen heikkenemisen jatkuessa. Biokemiallisia todisteita resistenssistä insuliinia ja IGF:ää kohtaan sekä signaalin transduktion häiriöistä on löydetty ihmisiltä kuoleman jälkeisissä aivotutkimuksissa. Resistenssi insuliinia ja IGF:ää kohtaan ilmenee muun muassa niitä vastaanottavien reseptorien heikompana toimintana ja näin ollen niiden synnyttämä stimulaatio ei ole normaalilla tasolla. Hermo- ja gliasoluissa ekspressoitavia insuliini- ja IGF-reseptoreita on eniten aivojen niillä alueilla, joita hermostonrappeumasairaudet, etenkin AT, tuhoavat. Toimivan insuliinin ja IGF-polyptidien vähyys johtuu niiden vääränlaisesta ekspressiosta aivoissa ja aivo-

selkäydinnesteessä. Insuliinin puute on tyypin 1 diabeteksen ja resistenssi sitä kohtaan tyypin 2 diabeteksen oire. Lisäksi edellä mainitut biokemialliset ja molekulaariset poikkeavuudet ovat erittäin samanlaisia kuin mitä syntyy tyypin 1 ja 2 diabetes mellitusten seurauksena. Näinpä Alzheimerin taudista ja siihen liittyvästä hermoston rappeutumisesta onkin ehdotettu käytettäväksi nimitystä tyypin 3 diabetes (Schmid, 1995; Cadigan & Liu, 2006; Langbaum ym., 2010; Rivera ym., 2005; Steen ym., 2005; de la Monte & Wands, 2005; Broughton ym., 2007; Freude ym., 2009; Zeger ym., 2007; Hoyer, 2004).

Insuliinin sitoutuminen reseptoriinsa stimuloi solulimassa sijaitsevien vesikkeliön sulautumista solukalvolle. Kyseiset vesikkelit varastoivat glukoositransportteri 4 (GLUT4) - proteiineja, jotka nimensä mukaisesti vastaavat glukoosin siirtämisestä solun sisään. GLUT4-proteiinia ekspressoitetaan aivoissa erityisesti ohimolohkoissa, joihin myös Alzheimerin taudissa vaurioituvat aivotursot sijoittuvat. Niinpä insuliinin toiminta on välttämätöntä keskushermoston muistista ja kognitiosta vastaavien alueiden aineenvaihdunnalle ja energiantuotolle. Kuolemanjälkeiset tutkimukset AT:n vaurioittamilla ihmisaivoilla osoittavat, että GLUT4-proteiinin ekspressio näillä alueilla on samalla tasolla, kuin terveissä aivoissa. Glukoosiaineenvaihdunnan häiriöt todennäköisesti johtuvatkin siis ongelmista GLUT4-proteiinien siirtämisessä solulimasta solukalvolle (Huang & Czech, 2007; González-Sánchez & Serrano-Ríos, 2007; Steen ym., 2005; Winocur ym., 2005).

Koska insuliiniin liittyvät ongelmat vaikuttavat glukoosin soluun pääsemiseen ja metaboliaan, ne pilaavat aivojen energiatasapainon. Tämä johtaa vapaiden radikaalien muodostumiseen, jotka tuhoavat soluorganelleja ja aiheuttavat kemiallisia vaurioita DNA:han, RNA:han, proteiineihin ja lipideihin. Niistä seuraa myös mitokondriaalisia häiriöitä. Vauriot estävät hermosolujen toimintaa ja tuhoavat niitä muun muassa rikkomalla niiden rakennetta ja häiritsemällä solujen välistä kommunikointia. Vauriot siis edistävät apoptoosia ja aiheuttavat inflammaatioresponssia sekä beeta-amyloidien kasaantumista. Myös koeolosuhteissa keinotekoisesti reseptorien määrän ja toiminnan rajoittaminen on aiheuttanut Alzheimerin taudille tyypillisiä kognitiivisten kykyjen heikkenemistä ja

biokemiallisten sekä molekulaaristen poikkeavuuksien syntymistä (de la Monte ym., 2009; de la Monte & Wands, 2005; de la Monte ym., 2011; Grünblatt ym., 2007; Hoyer ym., 2000; Labak ym., 2010; Lester-Coll ym., 2006).

Proliinin ohjaamien kinaasien (proline-directed kinases), kuten insuliinin inhiboima GSK-3 β , liiallinen aktiivisuus hyperfosforyloi tau-proteiinia. Hyperfosforyloituneet tau-proteiinit laskostuvat virheellisesti ja muodostavat vyyhtejä, jotka solujen sisään kertyessään rikkovat hermosolujen sisäistä tukirankaa ja häiritsevät aksonien toimintaa. Tämän seurauksena solu luhistuu ja synapsit tuhoutuvat. Insuliini ja IGF säätelevät tau-proteiinin ekspressiota ja fosforylaatiota. Alzheimerin taudista johtuva resistenssi insuliinia ja IGF:ää kohtaan estää signalointia phosphoinositol-3-kinaasin (PI3K), proteiinikinaasi B:n (PKB tai Akt) ja kanonisen Wnt-reitin (Wnt/ β -catenin pathway) kautta, mikä johtaa tau-proteiinien fosforylaatioon (Iqbal ym., 2009; Schubert ym., 2003; Schubert ym., 2004; Doble & Woodgett, 2003).

Normaalia korkeampi APP:n ekspressointi ja sen virheellinen proteolyysi johtavat AT:lle tyypillisten, neurotoksisten, oligomeerisiksi fibrilleiksi tai plakiksi muodostuneen A β :n kertymiseen. Geneettisesti Alzheimerin taudin puhkeamiseen ja A β :n kertymiseen vaikuttavat mutaatiot APP:ssä sekä presiniliini 1:ssä ja 2:ssä (PS1 ja PS2). Lisäksi ApoE-4:n periminen edistää plakkien muodostumista. Yksittäisestä (ei periytyneestä) Alzheimerin taudista, jollaisia ainakin 90 % tapauksista ovat, johtuvan A β :n kertymisen syitä ei kunnolla tunneta, mutta insuliini- ja IGF-resistenssi vaikuttaisi olevan siihen sekä syy että seuraus. APP muodostetaan Golgin laitteen trans-sivulla, josta se kuljetetaan solukalvolle solunulkoista erityystä varten. Insuliini vaikuttaa APP:n toimintaan inhiboimalla sen solunsisäistä kerääntymistä ja hajotusta. Insuliini myös edistää A β :n poistamista aivoista. Jos insuliinin toiminnassa on ongelmia ja A β :a kertyy, se häiritsee insuliinin sitoutumista reseptoreihinsa huonontaan tilannetta entisestään, koska esimerkiksi A β -oligomeerit vähentävät insuliinireseptorien ekspressiota (Watson ym., 2003; Gasparini ym., 2001; Gasparini ym., 2002; Messier & Teutenberg, 2005; Ling ym., 2002; Xie ym., 2002).

5. Alzheimerin taudin yhteys muihin insuliiniresistenssisairauksiin

Muita aivojen insuliiniresistenssiin liittyviä sairauksia ovat muun muassa T2DM ja ei-alkoholiperäinen steatohepatiitti (non-alcoholic steatohepatitis (NASH)). Kyseisten tautien on todettu lisäävän seramidien tuotantoa. Ne ovat lipidimolekyylejä, jotka voivat läpäistä veri-aivoesteen ja edistävät insuliiniresistenssiä. Näin ollen T2DM ja NASH voivat mahdollisesti vaikuttaa aivojen neurodegeneraatioon ja edistää Alzheimerin taudille tyypillisen insuliiniresistenssin muodostumista. Näyttöä löytyykin sille, että T2DM ja rasva-aineenvaihdunnan häiriöt joko auttavat AT:n kehitystä tai toimivat sille kofaktoreina. T2DM:sta esiintyy usein ylipainoisilla ihmisillä, joilla on myös tavallista useammin ei-alkoholiperäinen rasvamaksa. 50-70 %:lla ylipainoisista on rasvamaksa ja noin kolmanneksella se kehittyy toistaiseksi tuntemattomista syistä NASH:ksi. Rasvamaksasta kärsivillä maksan paino kasvaa triglyseridien kertymisen seurauksena noin 5-10 %. Jos sen lisäksi syntyy inflammaatioresponssi ja maksasolut vaurioituvat tai kuolevat, aletaan puhua NASH:sta. Tämä voi johtaa maksakirroosiin tai maksasolusyöpään (Wilding, 2014; Marra ym., 2008; Neuschwander-Tetri & Caldwell, 2003).

AT:n ja lievän kognitiivisen heikentymisen (MCI) yleisyys on kasvanut viime vuosikymmeninä, kuten myös T2DM:n ja NASH:n yleisyys, joten niiden keskinäistä yhteyttä on syytä tutkia. Yhteyttä tukee T2DM-potilaiden ja ylipainosta tai rasva-aineenvaihdunnan häiriöistä kärsivien henkilöiden korkeampi todennäköisyys sairastua dementiaan. Hermoston rappeutumista ilmenee myös eläinmalleilla, joille on kokeellisesti aiheutettu T2DM, riippumatta siitä ovatko ne ylipainoisia vai eivät. Lisäksi eläimillä syntyy AT:n tyypistä hermoston rappeutumista, jos niiden aivoihin injektoidaan streptosotosiinia (streptozotocin, STZ), joka on kemikaali, joka erityisesti tuhoaa insuliinia tuottavia haiman β -soluja, aiheuttaen T2DM:sta. Lisäksi insuliiniherkkyyttä parantavat ja insuliinin määrää nostavat hoitomenetelmät ovat helpottaneet MCI:n ja AT:n oireita niin eläinmalleilla, kuin niistä kärsivillä ihmisilläkin. AT, T2DM ja NASH myös aiheuttavat samankaltaisia biokemiallisia ja molekulaarisia poikkeavuuksia (de la Monte, 2009; Verdelho ym., 2007;

Martins ym., 2006; Winocur ym., 2005; Lester-Coll ym., 2006; Weinstock & Shoham, 2004; Nitta ym., 2002; de la Monte, 2006; Reger ym., 2008).

Huolimatta kognitiivisten häiriöiden ilmentymisestä, patologiset aivotutkimukset (post-mortem) diabeetikoilla ja eläinmalleilla, jotka oli lihotettu ja joilla oli T2DM sekä NASH, kuitenkin toivat esiin vain kohtalaisen vähäisiä neurodegeneratiivisia vaurioita. Pääasiassa T2DM johtaa ihmisten aivoissa verisuonisairauksiin, iskemian aiheuttamiin vaurioihin, kudosten vaurioihin ja A β -peptidien aiheuttamaan räsitukseen. Tutkittavaa on kuitenkin vielä jäljellä, jotta saadaan selvitettyä, kuinka suurelta osin insuliiniresistenssi vastaa T2DM:n ja NASH:n aiheuttamista kognitiivisista häiriöistä (de la Monte ym., 2009; Sonnen ym., 2009; Moroz ym., 2008).

Vielä ei ole selvää, miksi perifeerinen insuliiniresistenssi johtaa kognitiivisten kykyjen heikkenemiseen. Asiaa alettiin tutkia, kun huomattiin rasvamaksan ja NASH:n aiheuttaman maksan insuliiniresistenssin johtavan tavallista suurempaan seramidien tuottamiseen. Rasvamaksan ja NASH:n osuus maksan insuliiniresistenssin muodostumisessa selvitettiin mittaamalla insuliini- ja IGF-reseptorien toimintaa, ekspressiota ja signalointia useiden eläinmallien maksoista. Osalla käytetyistä eläinmalleista ilmeni ruokinnan aiheuttamaa ylipainoa ja NASH:a, osaa ruokittiin korkearasvaisella ruualla, mutta niiden paino pidettiin normaalina ja joitakin ruokittiin alkoholilla. Eläinmalleilla saattoi myös olla rasvamaksa tai NASH joko luonnostaan tai nitrosoamiineille altistumisen seurauksena. Tulosten perusteella NASH:n todettiin poikkeuksetta vähentävän insuliini- ja IGF-reseptoreihin sitoutumista, niiden ekspressiota, signalointia ja toimintaa ylipäänsä. Lisäksi havaittiin oksidatiivisen stressin lisääntymistä (de la Monte ym., 2009; Lyn-Cook ym., 2009; de la Monte & Wands, 2008; de la Monte ym., 2008).

Insuliinin sitoutuminen maksassa stimuloi lipogeneesiä, joka tuottaa triglyseridivarastoja. Jos maksaan kehittyy insuliiniresistenssiä esimerkiksi inflammaation tai oksidatiivisen

vahingon seurauksena, se alkaa hajottaa rasva-aineita. Lipolyysi aiheuttaa seramidien ja muiden myrkyllisten lipidien syntyä, mikä lisää insuliiniresistenssiä entisestään.

Jos muihin kuin rasvakudokseen kertyy liikaa rasvaa, niissä aktivoituu inflammatoriaa aiheuttavia sytokiinejä, happiradikaaleja muodostuu, eikä rasva-aineenvaihdunnalle tärkeä beeta-oksidaatio toimi mitokondrioissa. Tätä kutsutaan lipotoksiseksi tilaksi, jota ainakin rasvahapot edistävät. Rasvahappojen lisäksi sfingolipidien ja seramidien on myös todettu mahdollisesti olevan edistäviä tekijöitä lipotoksisuuden kehittymisessä.

Seramidit ovat rasvahapoista ja sfingosiineista muodostuvia signaalimolekyylejä. 16-24 hiilen pituiset seramidit ovat solukalvolla luonnollisestikin esiintyviä molekyylejä, joilla on sekä rakenteellisia että toiminnallisia tehtäviä (Capeau, 2008; Leonard ym., 2005; Kao ym., 1999; Holland & Summers, 2008; Langeveld & Aerts, 2009; Lee ym., 1994; Malhi ym., 2006; Summers, 2006; Stratford ym., 2004; Straczkowski & Kowalska, 2008; Ruvolo, 2003).

Seramideja tuotetaan seriinistä ja palmitiinihaposta syntetisoimalla (*de novo*), sfingomyeliinejä hydrolysoimalla sekä sfingolipidejä ja glykosfingolipidejä hajottamalla. Ylipainosta johtuvaa insuliiniresistenssiä ei kehity, jos seramidien muodostumista ja kertymistä estetään. Seramidit vaikuttavat proteiinien (mukaan lukien erään insuliinin signaalintoihin vaikuttavan proteiinin) fosforylaatioon, muuttaen niiden funktiota ja sitä kautta häiriten solujen normaalia toimintaa, mikä voi johtaa jopa solujen kuolemaan. Ne myös vaikeuttavat solujen selviytymistä aktivoimalla ohjelmoitua solukuolemaa edistäviä proteiineja ja inhiboimalla Aktin fosforylaatiota ja kinaasiaktiivisuutta (Coward, 2009; Kitatani ym., 2008; Holland ym., 2007; Silveira ym., 2008; Liu ym., 1997; Arboleda ym., 2007).

Seramidien edistävää vaikutusta insuliinisairauksien, mukaan lukien hermoston rappeutumisen, kehittymisessä pidetään todennäköisenä, koska niitä voidaan tuottaa maksassa, elinten ympärille kertyvässä rasvakudoksessa ja aivoissa. Ne ovat rasvaliukoisia ja näin ollen voivat mahdollisesti läpäistä veri-aivoesteen. Luultavasti siitä johtuen niitä onkin löydetty dementiapotilailta, kuten AT:a sairastavilta henkilöiltä, tavallista suuremmissa määrin keskushermostosta. *In vitro* -tutkimuksissa seramidien todettiin

aiheuttavan insuliiniresistenssiä kolinergisissä hermosoluissa. Muita oireita olivat muun muassa mitokondrioiden toiminnan ja kolinergisten toimintojen väheneminen, vapaiden happiradikaalien muodostuminen, DNA-vauriot ja APP-proteiinien lisääntynyt ekspressointi. Dopaminergisillä soluilla ongelmia ilmeni PI3K-Akt signalointireitin toiminnassa, eikä IGF-1:n stimuloima energiametabolia toiminut normaalilla tasolla. Alustavien *in vivo* -tutkimusten mukaan vatsakalvolle istutetut seramidit aiheuttavat insuliiniresistenssiä aivoissa, hermoston rappeutumista ja motorisia häiriöitä. Tämä viittaisi siihen, että muuallakin kuin aivoissa tuotetut seramidit voivat aiheuttaa myös AT:lle tyypillisiä oireita (Summers, 2006; Shah ym., 2008; Alessenko ym., 2004; Nakane ym., 2000; Katsel ym., 2007; Hannun & Obeid, 2008; Tong & de la Monte, 2009; Arboleda ym., 2007; de la Monte ym., 2009).

6. Elintarvikkeista saatavien nitrosoamiinien vaikutus

Nitrosoamiinit ovat karsinogeenisiä, joita löytyy nykyään suurissa määrin prosessoidusta ruuasta, kuten jauhelihasta ja pekonista. Niitä muodostuu nitriittien reagoimissa sekundääristen amiinien tai proteiinien kanssa. Natriumnitriittiä lisätään liha- ja kalaruokiin estämään *Clostridium botulinum* -bakteerin tuottamien toksien muodostumista. Sitä lisätään ruokiin myös tuomaan väriä, parantamaan niiden säilyvyyttä ja antamaan lihalle makua. Nitriitit reagoivat kuumissa, happamissa tai oksidoivissa ympäristöissä, minkä seurauksena muodostuu typpihapoketta. Syntyvät NO^+ -kationit reagoivat dimetyyliamiinien kanssa, jolloin muodostuu nitrosoamiineja. Nitrosoamiinien ja niiden kaltaisten yhdisteiden vaikutusta AT:n syntyyn tutkitaan, koska niiden määrä prosessoidussa ruuassa on kasvanut viime vuosikymmeninä ja niille altistumisen lisääntyminen korreloi AT:n yleistymisen kanssa (de la Monte & Tong, 2009; Lijinsky, 1999).

Nitrosoamiinit aiheuttavat haitalliset vaikutuksensa alkyloimalla guaniinia, mikä johtaa DNA:n epästabiilisuuteen ja vaurioitumiseen. Nitrosoamiinien aktivoituminen johtaa myös happiradikaalien muodostumiseen, rasvojen peroksidaatioon ja proteiinien adduktioon. Oksidatiivisen stressin aiheuttamat vauriot edistävät inflammaation syntyä ja voivat johtaa insuliiniresistenssin muodostumiseen, mitkä ovat AT:n oireita. Lisäksi nitrosoamiineista johtuvat solu- ja molekyyli-tason muutokset ovat samankaltaisia kuin AT:n aiheuttamat muutokset (Swann & Magee, 1968; Fournier, 1990; Robbiano ym., 1996; Kyrtopoulos ym., 1997; Chuang & Hu, 2006; Yadav & Bhatnagar, 2007; Espey ym., 2002; de la Monte & Tong, 2009; de la Monte & Tong, 2008).

Aiemmin, kokeellisen T2DM:n tuottamisen yhteydessä, mainittu STZ on nitrosoamiinien kaltainen AT:n tyypistä hermoston rappeutumista aiheuttava yhdiste. Myös sen vaikutuksiin kuuluu insuliiniresistenssin muodostuminen ja aivoissa esiintyvän insuliinin vähentyminen. STZ saa nitrosoamiinien tapaan aikaan AT:lle tyypillisiä oireita, kuten vapaiden radikaalien syntymistä, DNA-vaurioita, inflammaatiota aiheuttavien sytokiinien aktivoitumista, rasvojen peroksidaatiota ja solukuolemaa (de la Monte & Tong, 2009).

Nitrosoamiinien vaikutusta hermosolujen toimintaan on tutkittu altistamalla soluja *in vitro* rakenteellisesti STZ:aa muistuttavalle nitrosoamiinille, N-nitrosodietyyliamiinille (NDEA). Kyseistä nitrosoamiinia esiintyy prosessoiduissa ruuissa, minkä vuoksi aine valittiinkin tutkimuksen kohteeksi. Tutkimuksessa haluttiin selvittää, aiheuttaako vähäinen NDEA:lle altistuminen STZ:n kaltaista hermoston rappeutumista. Rottien keskushermoston neuroneilla suoritettu tutkimus osoitti NDEA:n määrän kasvun vähentävän mitokondrioiden oksidatiivista fosforylaatiota ja ATP:n määrää. Niiden väheneminen johtaa 4-hydroksinonenaalin (HNE) ja 8-hydroksi-2'-deoksiguanosiinin (8-OHdG) kertymiseen, joita näin ollen havaittiin NDEA-käsitellyissä hermosoluissa tavallista enemmän. Niiden muodostumisen määrä lisääntyi NDEA:n määrästä riippuen. HNE on sytoskeletonin rakennetta muokkaava, proteiinien kanssa adduktoituva, yhdiste. 8-OHdG on vaurioituneeseen DNA:han liittyvä, epätavallinen nukleosidi, joka lisää DNA-vaurioita ja epästabiloi sitä. NDEA-käsittely vaikutti myös insuliinin ja IGF:n toimintaan neuroneissa vähentämällä niiden reseptoreita sekä IGF-2 peptidien määrää. NDEA:lle altistuminen voi siis aiheuttaa aivoissa insuliiniresistenssiä, joka on AT:lle tyypillinen oire. Erityisesti yli 50 µg/ml NDEA-käsittely sai niin ikään AT:lle tyypillisten tau-proteiinin, fosforyloituneen tau-proteiinin, APP:n ja Aβ:n määrän kasvamaan soluissa (de la Monte & Tong, 2009).

7. Insuliinin toimintaan vaikuttavia hoitomenetelmiä

Tällä hetkellä kohtalaisen vaikeaa ja vaikeaa AT:a hoidetaan memantiinilla, jonka toiminta perustuu ylimääräisen glutamiinin vaikutuksen estämiseen. Sen on todettu helpottavan päivittäisten toimien, kuten peseytymisen ja pukeutumisen suorittamista sekä vähentävän käytöshäiriöitä. Helpotusten ansiosta potilaat kykenevät paremmin itsenäiseen työskentelyyn. Memantiinin kohtalaisen lieviin sivuvaikutuksiin kuuluvat huimaus, päänsärky, uneliaisuus, kohonnut verenpaine ja ummetus. Sitä voidaan käyttää yksinään tai yhdessä lievän ja keskivaikean Alzheimerin taudin hoitamiseen käytettyjen asetyylikoliiniesteraasien kanssa. Asetyylikoliinin toimintaa edistävät lääkkeet parantavat älyllisiä toimintoja ja helpottavat arkiaskareiden suorittamista, kuten memantiinikin. Asetyylikoliiniesteraasihoitoa saaneilla taudin eteneminen on hitaampaa, vaikka hoitoa voidaankin antaa vain noin vuoden ajan, jonka jälkeen sen teho heikkenee. Sen sivuvaikutuksiin kuuluvat ripuli, oksentelu ja pahoinvointi (Alzheimer info (Memantiinihoito); Alzheimer info (Asetyylikoliiniesteraasihoito)).

Edellä mainitut lääkkeet eivät kuitenkaan paranna AT:a ja viimeaikaisten tutkimusten, jotka ovat tuoneet esiin insuliinin suuren vaikutuksen AT:n taudinkuvassa, perusteella on alettu kehittää insuliinin määrää ja sen sitoutumista parantavia hoitomenetelmiä. Näinpä onkin tutkittu intranasalisesti (nenän kautta) annostellun insuliinin vaikutusta AT:n ja MCI:n oireisiin. Insuliinin lisääminen aivoissa hoidetaan intranasalisesti, koska silloin insuliini kulkeutuu suoraan aivo-selkäydinnesteseen, ilman sen määrän lisääntymistä plasmassa (Reger ym., 2006; Reger ym., 2008; Zhang ym., 2016).

Intranasalisen insuliinin tehokkuutta on tutkittu jo ihmiskokeillakin, henkilöillä, joilla on AT varhaisessa vaiheessa tai MCI. Eräässä kaksoissokkokeessa 25:stä, AT:sta tai MCI:stä kärsivästä, koehenkilöstä 12:lle annosteltiin lumelääkettä ja 13:lle insuliinia. 21 päivää kestäneen käsittelyn jälkeen koehenkilöiltä mitattiin kognitiivisia kykyjä. Tulokset osoittivat insuliinia saaneiden henkilöiden muistavan verbaalista informaatiota paremmin ja heidän keskittymis- ja toimintakykynsä oli parempi kuin lumelääkettä saaneiden (Reger ym., 2008).

Aikaisemmassa kokeessa insuliinin vaikutusta muistiin on tutkittu annostelemalla insuliinia terveille henkilöille neljä kertaa päivässä kahdeksan viikon ajan. Koehenkilöt olivat nuoria aikuisia ja heitä oli 38, joista puolille annosteltiin insuliinia ja lopuille lumelääkettä. Loppukokeissa mitattiin sanalistan muistamista viikko sen lukemisen jälkeen. Insuliinia saaneet koehenkilöt pärjäsivät kokeessa huomattavasti kontrolliryhmää paremmin. Lisäksi insuliinia saaneiden koehenkilöiden mieliala parani (Benedict ym., 2004).

Intranasaali insuliinin inhalaatio siis lieventää varhaisen AT:n ja MCI:n vaikutuksia kognitiivisiin kykyihin ja parantaa muistia myös terveillä henkilöillä, joten sen käyttäminen AT:n hoitokeinona vaikuttaa lupaavalta. Se ei kuitenkaan paranna sairautta kokonaan, joten muitakin hoitoja tarvitaan.

Glukagonin kaltainen peptidi 1 (GLP-1) ei rakenteensa puolesta muistuta insuliinia. Sen aktivoima signaalireitti on kuitenkin päällekkäinen insuliinin aktivoiman signaalireitin loppuosan kanssa. Näin ollen se saa aikaan samoja reaktioita kuin insuliini, vaikuttaen muun muassa PI3K:n ja Aktin aktiivisuuteen. GLP-1 lisää insuliiniherkkyyttä ja stimuloi insuliinin eritystä laskematta kuitenkaan verensokerin määrää. GLP-1 reseptorit (GLP-1R) ovat yleisiä aivoissa ja niitä aktivoivia, hitaasti hajoavia, agonisteja on kehitetty T2DM:n hoitoa varten. Soluviljelmillä ja AT:n eläinmalleilla suoritettujen kokeiden osoittivat GLP-1R agonistien lisäävän synapsien muodostumista ja neurogeneesiä, suojaavan oksidatiiviselta stressiltä, vähentävän A β -plakkien määrää ja mikroglia-solujen aktiivisuutta sekä parantavan muistia. GLP-1R agonistien toimivuutta ihmisillä tutkitaan parhaillaan, erään tutkimuksen on tarkoitus valmistua vuoden 2017 alussa ja toisen vuoden 2018 lopussa (Yarchoan & Arnold, 2014; American Diabetes Association, 2013; Perry & Greig, 2004; McClean ym., 2011; Ribarič, 2016).

T2DM:n hoitoon käytetyt tiatsolidiinidionit (TZD) nostavat insuliiniherkkyyttä lisäämällä GLUT-4:n ekspressiota. Kahden markkinoilla olevan TZD-lääkkeen käyttö on kuitenkin

rajoitettua niiden haitallisten sivuvaikutusten, kuten luunmurtumien, vuoksi. Alustavat ihmisillä suoritettut tutkimukset viittaavat niiden parantavan muistia, kognitiota ja AT:n biomarkkereita, mutta näitä tuloksia ei vielä ole varmistettu laajemmilla tutkimuksilla. Kyseisen lääkkeen käyttöön AT:n hoitamisessa liittyy kuitenkin ongelmia, koska se läpäisee veri-aivoesteen heikosti ja se lisää insuliiniherkkyyttä myös perifeerisissä kudoksissa, mikä johtaa veressä olevan insuliinin määrän alentumiseen ja sen vuoksi mahdollisesti jopa kognition heikkenemiseen. Tutkimuksia AT:sta johtuvan MCI:n hoitamiseksi eräällä TZD-lääkkeellä, pioglitatsonilla, on meneillään. Yhden tutkimuksen pitäisi valmistua vuoden 2019 kesällä ja toisen vuoden 2021 keväällä (Yarchoan & Arnold, 2014; American Diabetes Association, 2013; Festuccia ym., 2008; Watson ym., 2005; Kim ym., 2011; Ribarič, 2016).

8. Lähdeluettelo

- Agamanolis DP (2014) Alzheimer's disease <http://neuropathology-web.org/chapter9/chapter9bAD.html#ad> Viitattu 17.5.2016
- Allessenko AV, Bugrova AE & Dudnik LB (2004) Connection of lipid peroxide oxidation with the sphingomyelin pathway in the development of Alzheimer's disease. *Biochem Soc Trans* 32(Pt 1): 144-146.
- Alzheimer infon www-sivut (Alzheimerin tauti/Taudin vaiheet), Alzheimer etenee neljässä vaiheessa <http://www.alzheimerinfo.fi/alzheimerin-tauti/alzheimer-etenee-neljaessae-vaiheessa> Viitattu 28.5.2016
- Alzheimer infon www-sivut (Alzheimerin tauti/Tutkimuksiin hakeutuminen), Miten Alzheimerin tauti tunnistetaan? <http://www.alzheimerinfo.fi/alzheimerin-tauti/miten-alzheimerin-tauti-tunnistetaan> Viitattu 28.5.2016
- Alzheimer infon www-sivut (Asetyylikoliiniesteraasihoito), Asetyylikoliiniesteraasin estäjät tehostavat aivojen välittäjäaineiden toimintaa <http://www.alzheimerinfo.fi/hoito/asetyylikoliiniesteraasin-estaejaet-tehostavat-aivojen-vaelittaajaeaineiden> Viitattu 1.6.2016
- Alzheimer infon www-sivut (Hoito/Kuntoutus), Perustarpeista ja kuntoutuksesta huolehtiminen tärkeää <http://www.alzheimerinfo.fi/hoito/perustarpeista-ja-kuntoutuksesta-huolehtiminen-taerkeaeae> Viitattu 28.5.2016
- Alzheimer infon www-sivut (Memantiinihoito), Memantiinia käytetään Alzheimerin taudin edetessä http://www.alzheimerinfo.fi/hoito/memantiinia_kaytetaan_alzheimerin_taudin_edetessa Viitattu 1.6.2016
- American Diabetes Association (2013) Standards of Medical Care in Diabetes–2013. *Diabetes Care* 36(Suppl 1): S11-66.
- Arboleda G, Huang TJ, Waters C, Verkhatsky A, Fernyhough P & Gibson RM (2007) Insulin-like growth factor-1-dependent maintenance of neuronal metabolism through the phosphatidylinositol 3-kinase-Akt pathway is inhibited by C2-ceramide in CAD cells. *Eur J Neurosci* 25(10): 3030-3038.
- Broughton SK, Chen H, Riddle A, Kuhn SE, Nagalla S, Roberts CT, Jr & Back SA (2007) Large-scale generation of highly enriched neural stem-cell-derived oligodendroglial cultures: maturation-dependent differences in insulin-like growth factor-mediated signal transduction. *J Neurochem* 100(3): 628-638.
- Cadigan KM & Liu YI (2006) Wnt signaling: complexity at the surface. *J Cell Sci* 119(Pt 3): 395-402.
- Capeau J (2008) Insulin resistance and steatosis in humans. *Diabetes Metab* 34(6 Pt 2): 649-657.
- Chan ES, Shetty MS, Sajikumar S, Chen C, Soong TW & Wong BS (2016) ApoE4 expression accelerates hippocampus-dependent cognitive deficits by enhancing Aβ impairment of insulin signaling in an Alzheimer's disease mouse model. *Sci Rep* 6: 26119.
- Chuang CH & Hu ML (2006) Synergistic DNA damage and lipid peroxidation in cultured human white blood cells exposed to 4-(methyl-nitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanone and ultraviolet A. *Environ Mol Mutagen* 47(2): 73-81.
- Cowart LA (2009) Sphingolipids: players in the pathology of metabolic disease. *Trends Endocrinol Metab* 20(1): 34-42.
- de la Monte SM, Longato L, Tong M & Wands JR (2009) Insulin resistance and neurodegeneration: roles of obesity, type 2 diabetes mellitus and non-alcoholic steatohepatitis. *Curr Opin Investig Drugs* 10(10): 1049-1060.
- de la Monte SM & Tong M (2009) Mechanisms of nitrosamine-mediated neurodegeneration: potential relevance to sporadic Alzheimer's disease. *J Alzheimers Dis* 17(4): 817-825.

- de la Monte SM, Tong M, Bowling N & Moskal P (2011) si-RNA inhibition of brain insulin or insulin-like growth factor receptors causes developmental cerebellar abnormalities: relevance to fetal alcohol spectrum disorder. *Mol Brain* 4: 13-6606-4-13.
- de la Monte SM, Tong M, Lester-Coll N, Plater M, Jr & Wands JR (2006) Therapeutic rescue of neurodegeneration in experimental type 3 diabetes: relevance to Alzheimer's disease. *J Alzheimers Dis* 10(1): 89-109.
- de la Monte SM & Wands JR (2005) Review of insulin and insulin-like growth factor expression, signaling, and malfunction in the central nervous system: relevance to Alzheimer's disease. *J Alzheimers Dis* 7(1): 45-61.
- de la Monte SM & Wands JR (2008) Alzheimer's disease is type 3 diabetes-evidence reviewed. *J Diabetes Sci Technol* 2(6): 1101-1113.
- de la Monte SM, Yeon JE, Tong M, Longato L, Chaudhry R, Pang MY, Duan K & Wands JR (2008) Insulin resistance in experimental alcohol-induced liver disease. *J Gastroenterol Hepatol* 23(8 Pt 2): e477-86.
- Doble BW & Woodgett JR (2003) GSK-3: tricks of the trade for a multi-tasking kinase. *J Cell Sci* 116(Pt 7): 1175-1186.
- Duce JA, Tsatsanis A, Cater MA, James SA, Robb E, Wikke K, Leong SL, Perez K, Johanssen T, Greenough MA, Cho HH, Galatis D, Moir RD, Masters CL, McLean C, Tanzi RE, Cappai R, Barnham KJ, Ciccotosto GD, Rogers JT & Bush AI (2010) An iron-export ferroxidase activity of β -amyloid protein precursor is inhibited by zinc in Alzheimer's Disease. *Cell* 142(6): 857-867.
- Duodecim Terveyskirjasto (2015) Alzheimerin tauti
http://www.terveyskirjasto.fi/terveyskirjasto/tk.koti?p_artikkeli=dlk00699 Viitattu 28.5.2016
- Espey MG, Miranda KM, Thomas DD, Xavier S, Citrin D, Vitek MP & Wink DA (2002) A chemical perspective on the interplay between NO, reactive oxygen species, and reactive nitrogen oxide species. *Ann N Y Acad Sci* 962: 195-206.
- EU Joint Programme - Neurodegenerative Disease Research (2014) What is neurodegenerative disease?
<http://www.neurodegenerationresearch.eu/about/what/> Viitattu 28.5.2016
- Festuccia WT, Oztezcan S, Laplante M, Berthiaume M, Michel C, Dohgu S, Denis RG, Brito MN, Brito NA, Miller DS, Banks WA, Bartness TJ, Richard D & Deshaies Y (2008) Peroxisome proliferator-activated receptor-gamma-mediated positive energy balance in the rat is associated with reduced sympathetic drive to adipose tissues and thyroid status. *Endocrinology* 149(5): 2121-2130.
- Fournier P (1990) Biotransformation of dimethylnitrosamine. *J Toxicol Clin Exp* 10(5): 283-296.
- Freude S, Schilbach K & Schubert M (2009) The role of IGF-1 receptor and insulin receptor signaling for the pathogenesis of Alzheimer's disease: from model organisms to human disease. *Curr Alzheimer Res* 6(3): 213-223.
- Gasparini L, Gouras GK, Wang R, Gross RS, Beal MF, Greengard P & Xu H (2001) Stimulation of beta-amyloid precursor protein trafficking by insulin reduces intraneuronal beta-amyloid and requires mitogen-activated protein kinase signaling. *J Neurosci* 21(8): 2561-2570.
- Gasparini L, Netzer WJ, Greengard P & Xu H (2002) Does insulin dysfunction play a role in Alzheimer's disease? *Trends Pharmacol Sci* 23(6): 288-293.
- Giulian D, Haverkamp LJ, Li J, Karshin WL, Yu J, Tom D, Li X & Kirkpatrick JB (1995) Senile plaques stimulate microglia to release a neurotoxin found in Alzheimer brain. *Neurochem Int* 27(1): 119-137.
- Gonzalez-Sanchez JL & Serrano-Rios M (2007) Molecular basis of insulin action. *Drug News Perspect* 20(8): 527-531.

- Grunblatt E, Salkovic-Petrisic M, Osmanovic J, Riederer P & Hoyer S (2007) Brain insulin system dysfunction in streptozotocin intracerebroventricularly treated rats generates hyperphosphorylated tau protein. *J Neurochem* 101(3): 757-770.
- Hannun YA & Obeid LM (2008) Principles of bioactive lipid signalling: lessons from sphingolipids. *Nat Rev Mol Cell Biol* 9(2): 139-150.
- Holland WL, Brozinick JT, Wang LP, Hawkins ED, Sargent KM, Liu Y, Narra K, Hoehn KL, Knotts TA, Siesky A, Nelson DH, Karathanasis SK, Fontenot GK, Birnbaum MJ & Summers SA (2007) Inhibition of ceramide synthesis ameliorates glucocorticoid-, saturated-fat-, and obesity-induced insulin resistance. *Cell Metab* 5(3): 167-179.
- Holland WL & Summers SA (2008) Sphingolipids, insulin resistance, and metabolic disease: new insights from in vivo manipulation of sphingolipid metabolism. *Endocr Rev* 29(4): 381-402.
- Hoyer S (2004) Causes and consequences of disturbances of cerebral glucose metabolism in sporadic Alzheimer disease: therapeutic implications. *Adv Exp Med Biol* 541: 135-152.
- Hoyer S (2004) Glucose metabolism and insulin receptor signal transduction in Alzheimer disease. *Eur J Pharmacol* 490(1-3): 115-125.
- Hoyer S, Lee SK, Loffler T & Schliebs R (2000) Inhibition of the neuronal insulin receptor. An in vivo model for sporadic Alzheimer disease? *Ann N Y Acad Sci* 920: 256-258.
- Huang S & Czech MP (2007) The GLUT4 glucose transporter. *Cell Metab* 5(4): 237-252.
- Iqbal K, Liu F, Gong CX, Alonso Adel C & Grundke-Iqbal I (2009) Mechanisms of tau-induced neurodegeneration. *Acta Neuropathol* 118(1): 53-69.
- Kao Y, Youson JH, Holmes JA, Al-Mahrouki A & Sheridan MA (1999) Effects of insulin on lipid metabolism of larvae and metamorphosing landlocked sea lamprey, *Petromyzon marinus*. *Gen Comp Endocrinol* 114(3): 405-414.
- Katsel P, Li C & Haroutunian V (2007) Gene expression alterations in the sphingolipid metabolism pathways during progression of dementia and Alzheimer's disease: a shift toward ceramide accumulation at the earliest recognizable stages of Alzheimer's disease? *Neurochem Res* 32(4-5): 845-856.
- Kim B, Sullivan KA, Backus C & Feldman EL (2011) Cortical neurons develop insulin resistance and blunted Akt signaling: a potential mechanism contributing to enhanced ischemic injury in diabetes. *Antioxid Redox Signal* 14(10): 1829-1839.
- Kitatani K, Idkowiak-Baldys J & Hannun YA (2008) The sphingolipid salvage pathway in ceramide metabolism and signaling. *Cell Signal* 20(6): 1010-1018.
- Kyrtopoulos SA, Anderson LM, Chhabra SK, Souliotis VL, Pletsas V, Valavanis C & Georgiadis P (1997) DNA adducts and the mechanism of carcinogenesis and cytotoxicity of methylating agents of environmental and clinical significance. *Cancer Detect Prev* 21(5): 391-405.
- Labak M, Foniok T, Kirk D, Rushforth D, Tomanek B, Jasinski A & Grieb P (2010) Metabolic changes in rat brain following intracerebroventricular injections of streptozotocin: a model of sporadic Alzheimer's disease. *Acta Neurochir Suppl* 106: 177-181.
- Langbaum JBS, Chen K, Caselli RJ, Lee W, Reschke C, Bandy D, Alexander GE, Burns CM, Kaszniak AW, Reeder SA, Corneveaux JJ, Huentelman MJ, Fleisher AS & Reiman EM (2010) Hypometabolism in Alzheimer's-Affected Brain Regions in Cognitively Normal Latinos Carrying the Apolipoprotein E ϵ 4 Allele. *Arch Neurol* 67(4): 462-468.
- Langeveld M & Aerts JM (2009) Glycosphingolipids and insulin resistance. *Prog Lipid Res* 48(3-4): 196-205.

- Lee Y, Hirose H, Ohneda M, Johnson JH, McGarry JD & Unger RH (1994) Beta-cell lipotoxicity in the pathogenesis of non-insulin-dependent diabetes mellitus of obese rats: impairment in adipocyte-beta-cell relationships. *Proc Natl Acad Sci U S A* 91(23): 10878-10882.
- Leonard BL, Watson RN, Loomes KM, Phillips AR & Cooper GJ (2005) Insulin resistance in the Zucker diabetic fatty rat: a metabolic characterisation of obese and lean phenotypes. *Acta Diabetol* 42(4): 162-170.
- Lester-Coll N, Rivera EJ, Soscia SJ, Doiron K, Wands JR & de la Monte SM (2006) Intracerebral streptozotocin model of type 3 diabetes: relevance to sporadic Alzheimer's disease. *J Alzheimers Dis* 9(1): 13-33.
- Lijinsky W (1999) N-Nitroso compounds in the diet. *Mutat Res* 443(1-2): 129-138.
- Ling X, Martins RN, Racchi M, Craft S & Helmerhorst E (2002) Amyloid beta antagonizes insulin promoted secretion of the amyloid beta protein precursor. *J Alzheimers Dis* 4(5): 369-374.
- Liu B, Obeid LM & Hannun YA (1997) Sphingomyelinases in cell regulation. *Semin Cell Dev Biol* 8(3): 311-322.
- Luchsinger JA (2010) Type 2 diabetes, related conditions, in relation and dementia: an opportunity for prevention? *J Alzheimers Dis* 20(3): 723-736.
- Luo J, Warmlander SK, Graslund A & Abrahams JP (2016) Reciprocal Molecular Interactions between the Aβ Peptide Linked to Alzheimer's Disease and Insulin Linked to Diabetes Mellitus Type II. *ACS Chem Neurosci* 7(3): 269-274.
- Lyn-Cook LE, Jr, Lawton M, Tong M, Silbermann E, Longato L, Jiao P, Mark P, Wands JR, Xu H & de la Monte SM (2009) Hepatic ceramide may mediate brain insulin resistance and neurodegeneration in type 2 diabetes and non-alcoholic steatohepatitis. *J Alzheimers Dis* 16(4): 715-729.
- Lääketieteellinen Aikakauskirja Duodecim (1998) Tulehduskipulääkettä Alzheimerin taudin ehkäisyyn?
http://duodecimlehti.fi/web/guest/arkisto?p_p_id=Article_WAR_DL6_Articleportlet&viewType=viewArticle&tunnus=duo80414&dlehtihaku_view_article_WAR_dlehtihaku_p_auth Viitattu 19.5.2016
- Malhi H, Bronk SF, Werneburg NW & Gores GJ (2006) Free fatty acids induce JNK-dependent hepatocyte lipoapoptosis. *J Biol Chem* 281(17): 12093-12101.
- Marra F, Gastaldelli A, Svegliati Baroni G, Tell G & Tiribelli C (2008) Molecular basis and mechanisms of progression of non-alcoholic steatohepatitis. *Trends Mol Med* 14(2): 72-81.
- Martins LJ, Hone E, Foster JK, Sunram-Lea SI, Gnjec A, Fuller SJ, Nolan D, Gandy SE & Martins RN (2006) Apolipoprotein E, cholesterol metabolism, diabetes, and the convergence of risk factors for Alzheimer's disease and cardiovascular disease. *Mol Psychiatry* 11(8): 721-736.
- McClellan PL, Parthasarathy V, Faivre E & Holscher C (2011) The diabetes drug liraglutide prevents degenerative processes in a mouse model of Alzheimer's disease. *J Neurosci* 31(17): 6587-6594.
- Moroz N, Tong M, Longato L, Xu H & de la Monte SM (2008) Limited Alzheimer-type neurodegeneration in experimental obesity and type 2 diabetes mellitus. *J Alzheimers Dis* 15(1): 29-44.
- Nakane M, Kubota M, Nakagomi T, Tamura A, Hisaki H, Shimasaki H & Ueta N (2000) Lethal forebrain ischemia stimulates sphingomyelin hydrolysis and ceramide generation in the gerbil hippocampus. *Neurosci Lett* 296(2-3): 89-92.
- Neuschwander-Tetri BA & Caldwell SH (2003) Nonalcoholic steatohepatitis: summary of an AASLD Single Topic Conference. *Hepatology* 37(5): 1202-1219.
- Nitta A, Murai R, Suzuki N, Ito H, Nomoto H, Katoh G, Furukawa Y & Furukawa S (2002) Diabetic neuropathies in brain are induced by deficiency of BDNF. *Neurotoxicol Teratol* 24(5): 695-701.

- Perry TA & Greig NH (2004) A new Alzheimer's disease interventive strategy: GLP-1. *Curr Drug Targets* 5(6): 565-571.
- Reger MA, Watson GS, Frey WH, 2nd, Baker LD, Cholerton B, Keeling ML, Belongia DA, Fishel MA, Plymate SR, Schellenberg GD, Cherrier MM & Craft S (2006) Effects of intranasal insulin on cognition in memory-impaired older adults: modulation by APOE genotype. *Neurobiol Aging* 27(3): 451-458.
- Reger MA, Watson GS, Green PS, Wilkinson CW, Baker LD, Cholerton B, Fishel MA, Plymate SR, Breitner JC, DeGroot W, Mehta P & Craft S (2008) Intranasal insulin improves cognition and modulates beta-amyloid in early AD. *Neurology* 70(6): 440-448.
- Ribaric S (2016) The Rationale for Insulin Therapy in Alzheimer's Disease. *Molecules* 21(6): 10.3390/molecules21060689.
- Rivera EJ, Goldin A, Fulmer N, Tavares R, Wands JR & de la Monte SM (2005) Insulin and insulin-like growth factor expression and function deteriorate with progression of Alzheimer's disease: link to brain reductions in acetylcholine. *J Alzheimers Dis* 8(3): 247-268.
- Robbiano L, Mereto E, Corbu C & Brambilla G (1996) DNA damage induced by seven N-nitroso compounds in primary cultures of human and rat kidney cells. *Mutat Res* 368(1): 41-47.
- Ruvolo PP (2003) Intracellular signal transduction pathways activated by ceramide and its metabolites. *Pharmacol Res* 47(5): 383-392.
- Schmid C (1995) Insulin-like growth factors. *Cell Biol Int* 19(5): 445-457.
- Schubert M, Brazil DP, Burks DJ, Kushner JA, Ye J, Flint CL, Farhang-Fallah J, Dikkes P, Warot XM, Rio C, Corfas G & White MF (2003) Insulin receptor substrate-2 deficiency impairs brain growth and promotes tau phosphorylation. *J Neurosci* 23(18): 7084-7092.
- Schubert M, Gautam D, Surjo D, Ueki K, Baudler S, Schubert D, Kondo T, Alber J, Galldiks N, Kustermann E, Arndt S, Jacobs AH, Krone W, Kahn CR & Bruning JC (2004) Role for neuronal insulin resistance in neurodegenerative diseases. *Proc Natl Acad Sci U S A* 101(9): 3100-3105.
- Shah C, Yang G, Lee I, Bielawski J, Hannun YA & Samad F (2008) Protection from high fat diet-induced increase in ceramide in mice lacking plasminogen activator inhibitor 1. *J Biol Chem* 283(20): 13538-13548.
- Silveira LR, Fiamoncini J, Hirabara SM, Procopio J, Cambiaghi TD, Pinheiro CH, Lopes LR & Curi R (2008) Updating the effects of fatty acids on skeletal muscle. *J Cell Physiol* 217(1): 1-12.
- Sonnen JA, Larson EB, Brickell K, Crane PK, Woltjer R, Montine TJ & Craft S (2009) Different patterns of cerebral injury in dementia with or without diabetes. *Arch Neurol* 66(3): 315-322.
- Steen E, Terry BM, Rivera EJ, Cannon JL, Neely TR, Tavares R, Xu XJ, Wands JR & de la Monte SM (2005) Impaired insulin and insulin-like growth factor expression and signaling mechanisms in Alzheimer's disease--is this type 3 diabetes? *J Alzheimers Dis* 7(1): 63-80.
- Strackowski M & Kowalska I (2008) The role of skeletal muscle sphingolipids in the development of insulin resistance. *Rev Diabet Stud* 5(1): 13-24.
- Stratford S, Hoehn KL, Liu F & Summers SA (2004) Regulation of insulin action by ceramide: dual mechanisms linking ceramide accumulation to the inhibition of Akt/protein kinase B. *J Biol Chem* 279(35): 36608-36615.
- Summers SA (2006) Ceramides in insulin resistance and lipotoxicity. *Prog Lipid Res* 45(1): 42-72.

- Swann PF & Magee PN (1968) Nitrosamine-induced carcinogenesis. The alkylation of nucleic acids of the rat by N-methyl-N-nitrosourea, dimethylnitrosamine, dimethyl sulphate and methyl methanesulphonate. *Biochem J* 110(1): 39-47.
- Tong M & de la Monte SM (2009) Mechanisms of ceramide-mediated neurodegeneration. *J Alzheimers Dis* 16(4): 705-714.
- Verdelho A, Madureira S, Ferro JM, Basile AM, Chabriat H, Erkinjuntti T, Fazekas F, Hennerici M, O'Brien J, Pantoni L, Salvadori E, Scheltens P, Visser MC, Wahlund LO, Waldemar G, Wallin A, Inzitari D & LADIS Study (2007) Differential impact of cerebral white matter changes, diabetes, hypertension and stroke on cognitive performance among non-disabled elderly. The LADIS study. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 78(12): 1325-1330.
- Watson GS, Cholerton BA, Reger MA, Baker LD, Plymate SR, Asthana S, Fishel MA, Kulstad JJ, Green PS, Cook DG, Kahn SE, Keeling ML & Craft S (2005) Preserved cognition in patients with early Alzheimer disease and amnesic mild cognitive impairment during treatment with rosiglitazone: a preliminary study. *Am J Geriatr Psychiatry* 13(11): 950-958.
- Watson GS & Craft S (2006) Insulin resistance, inflammation, and cognition in Alzheimer's Disease: lessons for multiple sclerosis. *J Neurol Sci* 245(1-2): 21-33.
- Watson GS, Peskind ER, Asthana S, Purganan K, Wait C, Chapman D, Schwartz MW, Plymate S & Craft S (2003) Insulin increases CSF A β 42 levels in normal older adults. *Neurology* 60(12): 1899-1903.
- Weinstock M & Shoham S (2004) Rat models of dementia based on reductions in regional glucose metabolism, cerebral blood flow and cytochrome oxidase activity. *J Neural Transm (Vienna)* 111(3): 347-366.
- Wilding JPH (2014) The importance of weight management in type 2 diabetes mellitus. *Int J Clin Pract* 68(6): 682-691.
- Winocur G, Greenwood CE, Piroli GG, Grillo CA, Reznikov LR, Reagan LP & McEwen BS (2005) Memory impairment in obese Zucker rats: an investigation of cognitive function in an animal model of insulin resistance and obesity. *Behav Neurosci* 119(5): 1389-1395.
- Xie L, Helmerhorst E, Taddei K, Plewright B, Van Bronswijk W & Martins R (2002) Alzheimer's beta-amyloid peptides compete for insulin binding to the insulin receptor. *J Neurosci* 22(10): RC221.
- Yadav AS & Bhatnagar D (2007) Chemo-preventive effect of Star anise in N-nitrosodiethylamine initiated and phenobarbital promoted hepato-carcinogenesis. *Chem Biol Interact* 169(3): 207-214.
- Yarchoan M & Arnold SE (2014) Repurposing diabetes drugs for brain insulin resistance in Alzheimer disease. *Diabetes* 63(7): 2253-2261.
- Zeger M, Popken G, Zhang J, Xuan S, Lu QR, Schwab MH, Nave KA, Rowitch D, D'Ercole AJ & Ye P (2007) Insulin-like growth factor type 1 receptor signaling in the cells of oligodendrocyte lineage is required for normal in vivo oligodendrocyte development and myelination. *Glia* 55(4): 400-411.
- Zhang Y, Dai CL, Chen Y, Iqbal K, Liu F & Gong CX (2016) Intranasal Insulin Prevents Anesthesia-Induced Spatial Learning and Memory Deficit in Mice. *Sci Rep* 6: 21186.