

Diabetes Mellitus'un Alzheimer İle Olası İlişkisi

Duygu ŞAHİN¹

Öz

Diabetes Mellitus, pankreasın insülin salgısının tam ya da kısmi yetersizliği ya da insülin etkisinin yetersizliği ile oluşan, kendini hiperglisemi ile belli eden, karbonhidrat, lipid ve protein metabolizma bozukluğu ile de karakterize bir endokrin ve metabolizma hastalığıdır. Beyinde insülin reseptörlerinin keşfi ile insülinin beyin fizyolojisinde önemli bir rol oynadığı, serebral insülin sinyalinde ve glukoz homeostazında meydana gelen bozuklukların beyin patolojisine katkıda bulunduğu belirtilmektedir. İnsülin, reseptörü aracılığıyla kan-beyin bariyerini aşarak santral sinir sistemine girmekte, beyin glukoz metabolizmasında regülatör etkisine ek olarak, nöromodülatör ve nöroendokrin bir molekül gibi davranmakta, nöronal gelişim ve sağkalımda önemli bir rol almaktadır. İnsülin periferde olduğu gibi, beyinde de etkilerini, reseptörü aracılığıyla, insülin reseptör substrat/fosfatidilinozitol 3-kinaz (IRS/PI3K) ve mitojen aktive protein kinaz (MAPK) sinyal yolu aracılığıyla göstermektedir. PI3K sinyal yolağının aktivasyonu, protein kinaz B (Akt) aracılığı ile, Alzheimer'ın en belirgin iki patolojik karakteristiği olan, tau hiperfosforilasyonu ile oluşan intraselüler nörofibriler yumaklar ve β -amiloid agregatlarının oluşturduğu ekstraselüler senil plakların metabolizmasının regülasyonunda etkili olmaktadır. Son yıllarda yapılan çalışmalarla, Alzheimer, Merkezi Sinir Sisteminde insülin reseptör duyarlılığının ve sinyal iletiminin bozulmasından kaynaklanan insülin rezistansının gelişimine bağlı olarak meydana gelen tau ve A β metabolizmasındaki değişiklikleri içerdiğinden, Diabetes Mellitus'un beyin spesifik formu (Tip 3 DM) olarak tanımlanmaktadır.

Anahtar Kelimeler: Diabetes Mellitus, İnsülin, Tau hiperfosforilasyonu, Alzheimer

Possible Relationship Between Diabetes Mellitus and Alzheimer Disease

Abstract

Diabetes Mellitus is a chronic hyperglycemic metabolic disease leading to disorders in carbohydrate, lipid and protein metabolism due to relative or definite deficiency of insulin function and/or insulin hormone secretion. Following the demonstration of insulin receptors in the brain, insulin appears to play a role in brain physiology, and disturbances of cerebral insulin signaling and glucose homeostasis are implicated in brain pathology. Insulin penetrates the central nervous system by crossing the blood-brain barrier through a receptor mediated transport mechanism, acts as a neuromodulator and neuroendocrine molecule in addition to the regulator effect in brain glucose metabolism, and plays an important role in neuronal development and survival. As in peripheral tissue, insulin acts through its receptors in the brain, activating several signaling pathways such as insulin receptor substrate/phosphatidylinositol 3-kinase pathway (IRS/PI3K) and mitogen activated protein kinase. Alzheimer's Disease is characterized by intracellular neurofibrillary tangles, containing an abnormally hyper-phosphorylated form of tau protein, and extracellular senile plaques, mainly composed of aggregated β -amyloid. The pathway involving the stimulation of PI3K/Akt which leads to the enhanced phosphorylation of tau protein and A β deposition. In recent studies, findings demonstrate that Alzheimer is defined as the brain-specific form of Diabetes Mellitus (Type 3 DM), since it involves changes in tau and A β metabolism that occur due to the development of insulin resistance resulting from impaired insulin receptor sensitivity and signal transduction in Central Nervous System.

Keywords: Diabetes Mellitus, Insulin, Tau hyperphosphorylation, Alzheimer disease

¹ Dr. Duygu ŞAHİN, İstanbul Aydın Üniversitesi, Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya AD.
Yazışma Adresi: İstanbul Aydın Üniversitesi, Beşyol Mahallesi İnönü Cad. No:38, 34295 Küçükçekmece/İstanbul
Tel: 444 1 428, e-posta: duyguahin@aydin.edu.tr
Geliş Tarihi: 19 Nisan 2018; Kabul Tarihi: 14 Mayıs 2018

Giriş

Tip 1 ve Tip 2 Diabetes Mellitus, etiyoloji ve patogenezi bakımından farklılık gösterse de, kronik hiperglisemi ve bozulmuş insülin aktivitesinin yarattığı aynı sonuçları paylaşır. Diabetes Mellitus, vasküler, renal rahatsızlıklar, periferik nöropati ve retinopati gibi çeşitli patofizyolojik bozukluklarla ilişkilidir (1). Son yıllarda yapılan çalışmalarla, insülin homeostazındaki değişikliklerin sadece vasküler demans değil Alzheimer için de risk faktörlerinin artışı ile ilişkili olduğunu belirtmektedir (2).

İnsülin, pankreas β hücrelerinden salınan, gelişme-büyüme için gerekli enerji depolarının sürdürülebilirliği ve plazma glukoz seviyelerinin regülasyonu olmak üzere tüm metabolik homeostazi yakından ilgilendiren oldukça önemli fonksiyonlara sahip anabolik bir hormondur (3). Beyinde insülin reseptörlerinin keşfiyle, insülinin beyin fizyolojisinde önemli bir rol oynadığı, serebral insülin sinyalinde ve glukoz homeostazında meydana gelen bozuklukların beyin patolojisine katkıda bulunduğu belirtilmiştir (4,5). İnsülin beyin glukoz metabolizmasındaki regülatör etkisine ek olarak, nöromodülatör ve nöroendokrin bir molekül gibi davranmakta, nöronal gelişim ve sağkalımda önemli bir rol almaktadır (6,7). İnsülinin, Merkezi Sinir Sisteminde (MSS) sinirsel gelişim ve sinaptogenez üzerinde bir büyüme hormonu gibi rol oynadığı belirtilmiştir (8). İnsülin periferde olduğu gibi, beyinde de etkilerini, reseptörü aracılığıyla, insülin reseptör substrat/fosfotidilinozitol 3-kinaz yolu (IRS/PI3K) ve mitojen aktive protein kinaz (MAPK) yolu aracılığıyla gösterir (9,10,11). PI3K sinyal yolağının aktivasyonu, beyinde ve periferde insülin sinyal aktarımının önemli biyokimyasal basamağıdır. İnsülin, in vitro nöronal apoptozisi protein kinaz B aktivasyonu aracılığı ile inhibe ederken, in vivo tau fosforilasyonu ve amiloid β ($A\beta$) protein metabolizmasının regülasyonunda da etki göstermektedir (12,13,14). Diabetes Mellitus ile nörodejeneratif hastalıklar arasındaki klinik ilişki son yıllarda giderek artan çalışmalarla belirlenmektedir. Alzheimer ve Parkinson'da, beyinde insülin reseptör ekspresyonunun azaldığı gösterilmiştir (15,16). Nörodejeneratif hastalıkların gelişiminde önemli etkiye sahip ve insülin sinyal mekanizmasının hedefi olan çeşitli moleküller tanımlanmıştır. Glikojen sentaz kinaz-3 (GSK-

3) bu moleküllerden biri olup, tau proteininin fosforilasyonu ile ilişkili olduğu belirtilmiştir. Transjenik hayvan modelleri ve hücre kültürü çalışmaları ile, GSK-3 β 'nin aktif formunun overekspresyonunun tau hiperfosforilasyonuna neden olabileceği gösterilmiştir (12,14,17). Yapılan çalışmalarla, in vivo nörofibril-yumak patolojisinde insülin ve insülin benzeri büyüme faktörünün (IGF-1) direkt etkilerinin yanı sıra, $A\beta$ üzerindeki etkileri aracılığıyla tau fosforilasyonu üzerinde indirekt etkilerinin de olabileceği belirtilmektedir (18,19).

Bu derlemede, beyin dokusunda $A\beta$ plak birikiminin ve fosfo-tau oluşumunun insülin sinyal yolağı ile etkileşimi incelenerek, Diabetes Mellitus ve Alzheimer arasındaki olası ilişkinin tartışılması amaçlanmıştır.

Diabetes Mellitus

Diabetes Mellitus, pankreasın insülin salgısının tam ya da kısmi yetersizliği ya da insülin etkisinin yetersizliği ile oluşan, kendini hiperglisemi ile belli eden, karbonhidrat, lipid ve protein metabolizma bozukluğu ile de karakterize bir endokrin ve metabolizma hastalığıdır (20,21).

Tip 1 Diabetes Mellitus

Tip 1 diyabet, endojen insülin salgılamakapasitesinin büyük bir kısmının ya da tamamının ortadan kalkmasıdır. Hücrel kaynaklı otoimmün yıkım sonucu pankreatik β hücrelerinin harabiyetine bağlı olarak, kan-glukoz konsantrasyonunun yükselmesi ile karakterizedir. β hücrelerindeki harabiyete bağlı olarak glukoz alımının ardından, pankreastan insülin salgılanamaz ve Tip 1 diyabetiklerde insülin eksikliğinin tipik bulguları görülür (22-24).

Tip 2 Diabetes Mellitus

Tip 2 diyabet, insülin sekresyonundaki yetersizlik ya da bazı vakalarda glukoz yüklemesine karşı göreceli bir yetmezlik ve buna eklenen periferik dokuların insüline yanıt vermedeki yetmezliği (insülin rezistansı) ile ilişkilidir. Tip 2 diyabette pankreasın β hücrelerinin bir kısmı fonksiyonlarını korurlar ve glukoz homeostazını korumak için yeterli olmayan düzeylerde insülin salgırlar (22). Tip 1 diyabetin aksine, insülin yetersizliğinin şiddetli olmadığını ve Tip 2 diyabetin patogeneziinde temel rolü insülin rezistansının oluşturduğunu belirtmek gerekir (25).

İnsülin

İnsülin iki zincirde toplam 51 aminoasiti olan 5600 dalton ağırlığında bir polipeptid hormondur. Pankreasın Langerhans adacıklarında, β hücrelerinde insülin prekürsörü olan preproinsülin olarak sentezlenmektedir. Preproinsülin, endoplazmik retikulum ve golgi kompleksinde, hidrofobik pre-bölgesini ve C peptid segmentini kaybederek aktif formuna dönüşür. İnsülin salınımı besinler, gastrointestinal hormonlar, diğer hormonlar ve sinirsel uyarılar ile stimüle edilmektedir. Glukoz, insanda, insülinin hem biyosentezini hem de salınımını uyaran besin öğesidir (3).

Periferde ve Merkezi Sinir Sisteminde İnsülin-Glukoz İlişkisi

İnsülin, gelişme-büyüme için gerekli enerji depolarının sürdürülebilirliği ve plazma glukoz seviyelerinin regülasyonu olmak üzere tüm metabolik homeostazi yakından ilgilendiren oldukça önemli iki temel fonksiyona sahiptir. Bu fonksiyonların gerçekleşebilmesinde Merkezi Sinir Sistemi (MSS) anahtar bir rol oynamaktadır (26).

İnsülin periferdeki etkisini, glukoz alımını insülin-duyarlı glukoz taşıyıcısı GLUT-4 aracılığıyla sağlayarak, kan glukoz seviyelerinin düşmesine neden olarak gösterir ve glukozun düşük seviyeleri β hücreleri tarafından insülin-duyarlı GLUT-2 aracılığıyla tanımlanarak insülin sekresyonu azaltılır (9). İnsülin yağ ve kas dokusunda, GLUT-4'ün intraselüler bölgeden plazma membranına translokasyonunu uyarak, glukoz alımını artırmaktadır. İnsülin aynı zamanda hücre büyümesi ve farklılaşması üzerine uyarıcı etkiler göstermektedir. Yağ, kas ve karaciğer dokusunda, lipogenezi, glikojen ve protein sentezini uyarak; lipoliz, glikojenoliz ve protein yıkımını inhibe ederek substratların depolanmasını desteklemektedir. İnsülin, karaciğerde glukoz alımını stimüle etmemesine rağmen, glikojenoliz ve glukoneogenezi bloke ederken, glikojen sentezini stimüle eder ve bu şekilde açlık kan glukoz düzeylerini regüle eder (27).

Periferel dokuların aksine, Merkezi Sinir Sistemi (MSS)'nde glukoz transportunun çoğunluğu insülin bağımsız olsa da (4,9), nöronlarda transport insülin-duyarlı GLUT-4 ve GLUT-8 ile gerçekleşmektedir (4). Serebellum, hipotalamus ve hipokampus insülin-duyarlı GLUT-4 içermektedir,

GLUT-8 ise intraselüler lokasyon göstermektedir, glukoz internalizasyonundan ziyade endoplazmik retikulumda protein glikozilasyonuna katılmaktadır (9). İnsülin-duyarlı GLUT-1, glukozun kan beyin bariyerinden transportunu difüzyon aracılığıyla yapmaktadır (9). İnsülin-duyarlı glukoz taşıyıcıları GLUT-1 (astrositlerde), GLUT-3 (nöronlarda) ve GLUT-5 (mikroglia), MSS tarafından glukoz alımının büyük bir kısmını gerçekleştirmektedir (28). Pankreas tarafından kullanılan glukoz taşıyıcısı insülin-duyarlı GLUT-2, hipotalamusta bazı hücrelerde gözlenmiştir (9). İnsülin'in bilişsel ve sinaptik gelişim üzerine etkilerinin bir kısmının, insülin duyarlı glukoz taşıyıcıları aracılığıyla olabileceği düşünülmektedir (28).

Beyin Dokusunda İnsülin Fonksiyon ve Sinyali

Oldukça uzun yıllar boyunca, beyin dokusu insülin-duyarlı bir organ olarak tanımlanmıştır (17,30). İlk defa 1960'ların sonunda köpek serebrospinal sıvısında (CSF) immunoreaktif insülin varlığının belirlenmesi, dolaşımdaki insülinin kan-beyin bariyerini geçebildiğine dair bir kanıt olarak kabul edilmiştir (29). 1970'lerin sonunda ratlarda yapılan çalışmada, beyinde insülin reseptörlerinin keşfi ile (5), insülinin beyin fizyolojisinde önemli bir rol oynadığı, serebral insülin sinyalinde ve glukoz homeostazında meydana gelen bozuklukların beyin patolojisi üzerinde etkisinin olabileceği belirtilmiştir (4). İnsülin reseptörleri (IR) beyin dokusunda özellikle olfaktor bulb, hipotalamus, serebral korteks, serebellum ve hipokampüste yüksek konsantrasyonda olmak üzere çeşitli bölgelerde bulunmaktadır (17,30). Nöronal insülin reseptörünün moleküler yapısı ve birçok biyokimyasal özelliği bakımından periferel dokularda bulunan reseptöründen farklıdır (12).

İnsülin, reseptör aracılı doyumluk duyarlı transport mekanizması ile kan-beyin bariyerini aşarak santral sinir sistemine girer (26,30,31). Bunun yanında, hem olgunlaşmamış hem de olgun memeli nöronal hücrelerinde preproinsülin I ve II mRNA varlığının ve insülin sentezinin belirlenmesi (32) ile insülinin küçük bir kısmının beyinde, de novo sentezlenebildiği (33) onaylanmıştır.

İnsülin beyin glukoz metabolizmasındaki regülatör etkisine ek olarak, nöromodülatör ve nöroendokrin bir molekül gibi davranmakta, nöronal gelişim

ve sağkalımda önemli bir rol almaktadır (6,7). İnsülinin, MSS'de sinirsel gelişim ve sinaptogenez üzerinde bir büyüme hormonu gibi rol oynadığı belirtilmiştir (8).

İnsülin Sinyal Yolağı

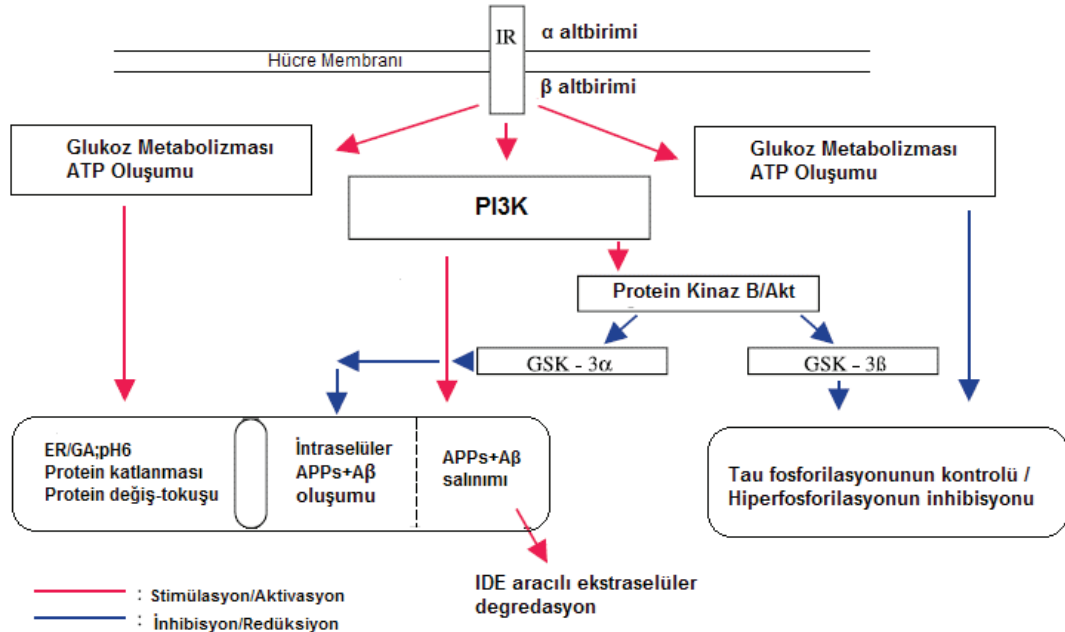
İnsülin periferde olduğu gibi, beyinde de etkilerini, reseptörü aracılığıyla, insülin reseptör substrat/ fosfotidilinozitol 3-kinaz yolu (IRS/PI3K) ve mitojen aktive protein kinaz (MAPK) yolu aracılığıyla gösterir (9,10,11). PI3K yolağında, regülatör p85 altbirimi ve katalitik p110 altünitesi, fosfotidilinozitol 4,5-difosfatı (PIP2) fosforilleyerek fosfotidilinozitol 3,4,5-trifosfatın (PIP3) oluşumunu sağlar. PIP3, fosfoinozitol bağımlı protein kinaz 1'in (PDK1) fosforilasyonunu uyararak serin/threonin kinaz Akt (Protein Kinaz B) ve Protein Kinaz C'yi içeren kaskattaki diğer enzimleri aktive eder (26). Akt aktivasyonu glikojen sentaz kinaz 3 (GSK3) ve 6-fosfofrukto-2-kinaz gibi metabolik enzimleri ve ayrıca GLUT-4'ün intraselüler kompartımandan plazma membranına translokasyonunu uyararak glukoz metabolizması üzerine etki eder (34). PI3K, insülin ve IGF1'in mitojenik ve metabolik aktivitesinde oldukça önemli bir role sahiptir (27). Aktive PI3K/Akt sinyal yolağı glikojen sentaz kinaz 3 (GSK-3)'ün α ve β sitozolik formlarını serin 21 ve

9 rezidüsünden fosforilleyerek inhibe eder (12,17). GSK3- α 'nın Amiloid β (A β) peptid oluşumunun regülasyonuna katkısının olduğu (35) ve diğer taraftan GSK3- β 'nin tau fosforilasyonunda rol oynadığı düşünülmektedir (36), (Şekil 1). Yapılan nöronal hücre kültür çalışmasında GSK3- β 'nin tau fosforilasyonunu arttırdığı ve tau'nun mikrotübül affinitesini azalttığı belirlenmiştir (14).

Belirtildiği gibi hem insülin mRNA'sı hem de IR, öğrenme ve hafıza için önemli bir bölge olan hipokampüste yüksek oranda eksprese edilmektedir ki bu durum insülinin bilişsel fonksiyonda rolü olabileceğini desteklemektedir (37). İnsülinin bu etkisinin tam mekanizması açık olmamakla birlikte, insülin tarafından uyarılan PI3K ve MAPK sinyal yollarının öğrenme ve hafızada kritik katkılarının olabileceği düşünülmektedir (17).

İnsülin ve Serebral Amiloidozis

Beyin dokusunda Amiloid- β (A β) birikiminin nöronal fonksiyon bozukluğu, nörodejenerasyon ve demansa yol açan olaylar zincirini başlattığı ileri sürülmektedir (38). A β peptidin öncül proteini olan Amiloid Prekürsör Proteini (APP)'nin normal fonksiyonları tam olarak anlaşılammıştır fakat elde edilen kanıtlar ile APP'nin hücre bağlantılarında,



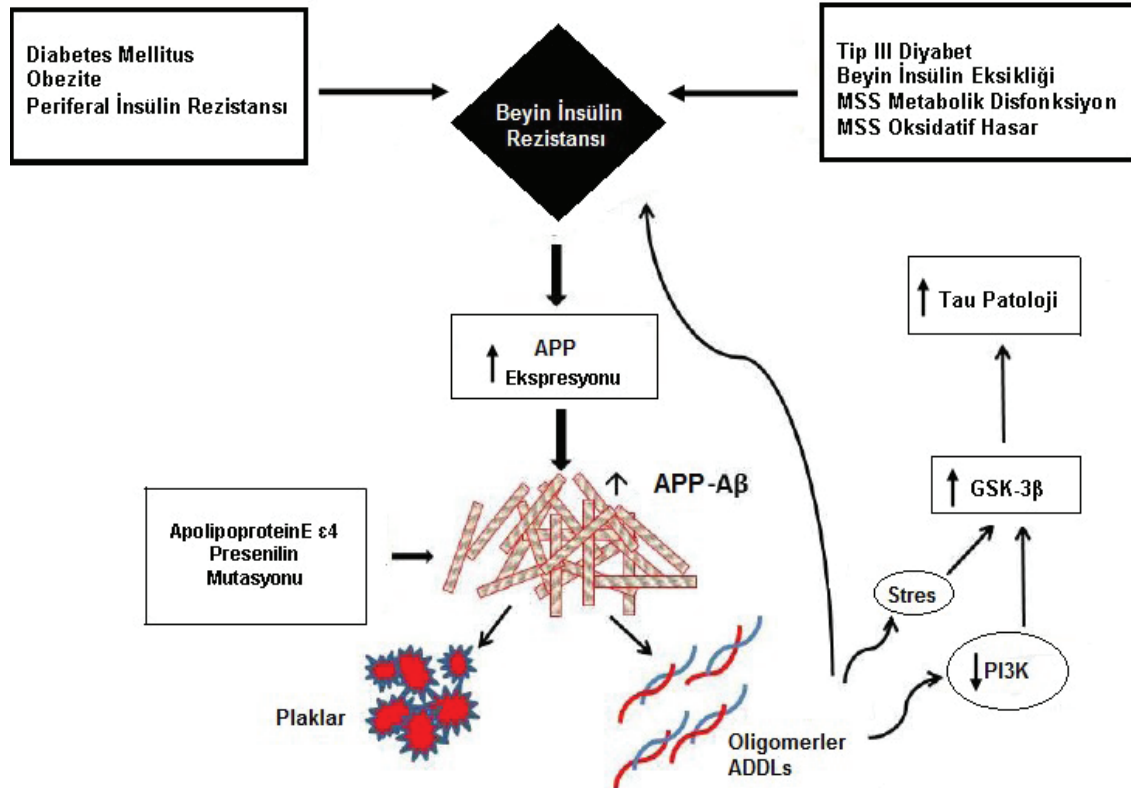
Şekil 1. Normal koşullar altında İnsülin/İnsülin reseptörünün tau protein ve A β peptid metabolizması üzerindeki etkileri (12). (IR: İnsülin reseptörü, PI3K: Fosfotidilinozitol 3-kinaz, GSK: Glikojen sentaz kinaz, APP: Amiloid prekürsör proteini, A β : Amiloid β , IDE: İnsülin degrade enzim)

nöronların canlılığının, akson ve dendritlerin uzamasının düzenlenmesinde önemli rolleri olduğu ileri sürülmektedir. APP'nin hücre dışından sinyalleri olarak hücre içine ileten hücre yüzey reseptörü olarak fonksiyon gördüğüne dair görüşler olmakla birlikte APP'nin ligandları ve sinyal yolağındaki etkileşimleri tam olarak belirlenmemiştir (39). Nörotoksik APP-A β oligomerik fibrillerinin veya çözünemeyen agrege fibrillerin (plak) birikimiyle sonuçlanan APP'nin disregülasyonu Alzheimer'ın patolojik karakteristiklerinden biridir. APP, β ve γ sekretazların ardışık olarak proteolitik yıkımı ile A β peptidini oluşturmaktadır (40). Patofizyolojik olarak APP gen ekspresyonunun artışı değişen proteolizi ile birliktedir ve 40 veya 42 aminoasit uzunluğunda A β peptid agregatlarının birikimi ile sonuçlanır. Presenilin1 (PS1), Presenilin2 (PS2) ve APP genlerinde mutasyon veya Apolipoprotein-E ϵ 4 (ApoE- ϵ 4) allelindeki kalıtsal bir hasar, beyin dokusunda A β peptid sentezi ve birikiminin artışından sorumludur (13).

İnsülin ve IGF-1'in A β metabolizmasında etkilerinin olduğu bilinmektedir (18,19). İnsülin, direkt olarak intraselüler A β peptid sekresyonunu artırır ve nöronal intraselüler etkileşimi stimüle ederek intraselüler A β peptid seviyelerini azaltır (18). İntaselüler A β (1-40) ve A β (1-42) seviyeleri, MAPK sinyali tarafından uyarılan, golgiden plazma membranına APP/A β transportu hızlandırılarak, azaltılır (18). Dolayısıyla, beyin dokusunda düşük insülin seviyeleri, A β 'nin intraselüler ortamdan ekstraselüler ortama salınımının azalması üzerine etki edebilir. Buna ek olarak, insülinin ekstraselüler A β seviyelerini, ekstraselüler ortama APP sekresyonunu arttırarak ve degradasyonunu insülin-degrade enzim (IDE) aracılığıyla inhibe ederek, arttırdığı belirtilmiştir (17,18,30), (Şekil 2).

İnsülin ve Tau Fosforilasyonu

Tau, mikrotübül-ilişkili protein ailesine ait, mikrotübül oluşumu ve stabilizasyonundan sorumlu bir proteindir (41). Tau proteini için fosforilasyon,

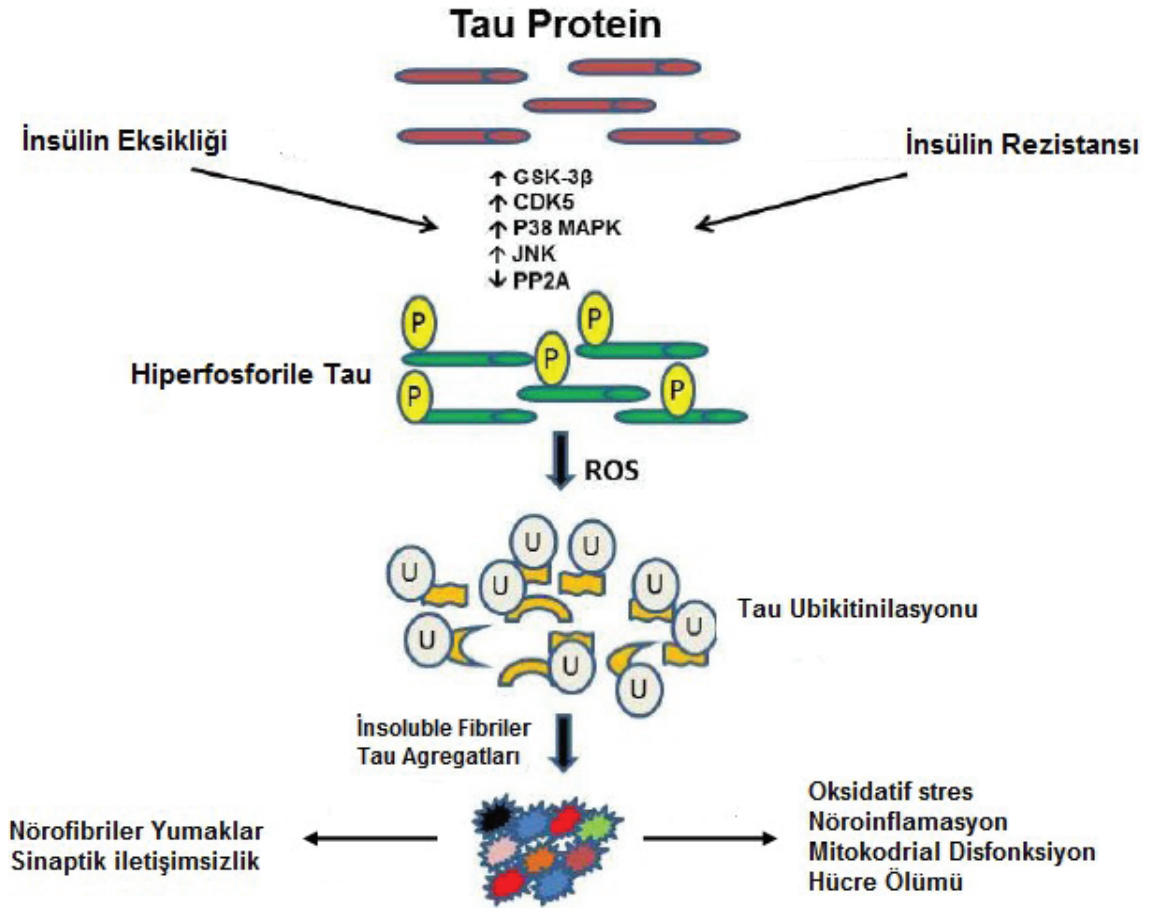


Şekil 2. Beyin insülin rezistansı ve APP-A β agregasyonu (13). (APP: Amiloid prekürsör proteini, A β : Amiloid β , PI3K: Fosfatidilinozitol 3-kinaz, GSK: Glikojen sentaz kinaz, ADDLs: APP-A β kaynaklı dağılılabılır ligandlar)

ubikitinilasyon, glikozilasyon, nitrasyon, glikasyon, oksidasyon ve deaminasyon gibi pek çok posttranslasyonel modifikasyon tanımlanmaktadır. Tau proteininin serin, tirozin ve treonin bölgelerinden fosforilasyonu ve defosforilasyonu, çeşitli protein kinaz ve protein fosfatazlar tarafından regüle edilir (12). Tau fosforilasyonundan sorumlu protein kinazlar arasında; ATP-bağımlı PK^{erk36} ve PK^{erk40}, glikojen sentaz kinaz-3β bulunmektedir (36), ve tümü insülin bağımlı görev yapmaktadır (12). Tau proteininin aşırı fosforilasyonu "taupathies" olarak isimlendirilen nörodejeneratif hastalıklarla bağlantılıdır. Aşırı fosforile tau'nun mikrotübülle bağlantısı zayıfladığı için mikrotübül stabilizasyonu dağılmaktadır. Nöronlarda, hiperfosforile tau'nun tersiyer yapısının bozulduğu, anormal filament yapısına büründüğü "Paired Helical Filament" (PHF) ve bunların oluşturduğu "neurofibrillary tangle" nörofibriler yumak (NFT) yapılarının

Alzheimer hastalığının temel karakteristik özelliği olduğu bilinmektedir (42,43). Fibriler tau'nun intranöronal birikimi, nöronal sitoskeletal ağı ve aksonal transportun bozulmasına yol açarak sinaptik iletişimsizliğe ve nörodejenerasyonun ilerlemesine neden olur (13), (Şekil 3).

İnsülin ve IGF'nin tau gen ekspresyonunu (13) ve fosforilasyonunu in vivo ve in vitro olarak regüle ettiği belirtilmiştir (36). Alzheimer'da beyin insülin ve IGF rezistansı, PI3K-Akt sinyalinin (44) ve Wnt/β-katenin sinyalinin azalması, GSK3-β aktivasyonunun artması ile sonuçlanır (45). Hong et al.'un çalışmasında glikojen sentaz kinaz 3 (GSK-3)'ün insan nöron hücre kültürlerinde mikrotübül ilişkili protein tau'nun fosforilasyonunda rol alabileceği gösterilmiştir (14). Hem nöron kültürleri hem de transjenik farelerde yapılan çalışmalarda aktif form GSK3-β'nin overekspresyonunun tau



Şekil 3. Tau patolojisinde insülin rezistansı ve eksikliğinin rolü (13). (GSK: Glikojen sentaz kinaz, CDK: Siklin bağımlı kinaz, MAPK: Mitojen aktive protein kinaz, JNK: Janus kinaz, PP-2A: Protein fosfataz 2A, ROS: Reaktif oksijen türleri)

fosforilasyonunu arttırdığı gözlenmiştir (46). Bunlara ek olarak, insülin ve ilişkili hormonu IGF-1, GSK3- β aktivitesini inhibe ederek tau fosforilasyonunu azaltmaktadır (14). IRS-2 (insülin reseptör substrat) knockout farelerde yapılan bir çalışmada insülin veya IGF-1 sinyalindeki bozulmanın beyinde tau fosforilasyonunu arttırdığı belirlenmiştir (44). Bu çalışmalarla, in vivo nörofibril-yumak patolojisinde insülin ve IGF-1'in direkt etkilerinin yanısıra, A β üzerindeki etkileri aracılığıyla tau fosforilasyonu üzerinde indirekt etkilerinin de olabileceği belirtilmektedir (7).

Bu bilgiler, APP metabolizmasının, intraselüler APP sekresyonu ve amiloid- β peptid oluşumunun, APP nin ve A β 'nin ekstraselüler boşluğa salınımının ve de tau fosforilasyonunun dengesinin, ATP ve asetilkolin aktivasyonunun dahil olduğu insülin/insülin reseptör sinyal iletiminin kontrolü altında olduğunu desteklemektedir (12).

Diabetes Mellitus ve Beyin Dokusu

Diabetes Mellitus ve Bilişsel Fonksiyon Bozuklukları

Diyabetli ve bilişsel fonksiyon bozukluğuna sahip ilk hasta 1922 yılında görülmüştür (47) ve o tarihten itibaren diyabette bilişsel disfonksiyonların önemini anlamak için çok sayıda çalışma dizayn edilmiştir. Son yıllarda yapılan çalışmalarla, bilişsel disfonksiyon bozuklukları ve demans Diabetes Mellitus'un komplikasyonları arasında gösterilmektedir (2). Yapılan çok sayıda çalışma obezite ve/veya insülin homeostazındaki değişikliklerin sadece vasküler demans değil Alzheimer için de risk faktörlerinin artışı ile ilişkili olduğunu belirtmektedir (2). Ayrıca Tip 1 ve Tip 2 Diabetes Mellitus, çeşitli nörofizyolojik fonksiyonların azalışında önemli risk faktörleridir (2). Diyabetli hastalarda yapılan post-mortem beyin çalışmalarında, demansa beyin dokusunda mikrovasküler lezyonların ve Alzheimer karakteristiği olan amiloid plakların eşlik ettiği ortaya çıkmıştır (2).

Tip 1 diyabetli hastalarda en çok gözlenen bilişsel bozukluklar; bilgi işleme hızının, psikomotor yetkinliğinin, dikkatin ve mental fleksibilitenin azalması yönünde iken, Tip 2 diyabetik hastalarda hafıza ile ilgili sorunların arttığı, psikomotor hızda ve frontal lob fonksiyonlarda azalma şeklinde

gözlenmektedir. Diyabetin kontrol altına alınması ve diyabetik komplikasyonların azaltılmasıyla bilişsel fonksiyon bozukluklarının gerilediği görülmektedir (48).

Diabetes Mellitus'da gözlenen serebral lezyonlar ve bilişsel disfonksiyonların patofizyolojisinde hiperglisemi, vasküler hastalıklar, hipoglisemi ve insülin rezistansının etkili bir rol oynayabileceği düşünülmektedir (48). Diyabetin beyin yaşlanma sürecinde serebral atrofiyi hızlandırarak etkili olabileceği belirtilmektedir (49). İnsülin ve glukoz homeostazındaki değişikliklerin, beyin insülin ve reseptörünün fonksiyonlarını etkileyebileceği ve diyabetin bu şekilde β -amiloid oligomerizasyonu ve tau hiperfosforilasyonuna katkısının olabileceği düşünülmektedir (7).

Diabetes Mellitus'ta Bilişsel Disfonksiyon Patofizyolojisi

Hipergliseminin Rolü

Glukoz, beyin dokusu için temel enerji kaynağıdır, ancak kronik hiperglisemi beyin için istenmeyen bir durumdur (2). Hiperglisemi, periferik organlarda etkilerini, polioli yolu aktivasyonu, İleri glikasyon son ürünleri (AGEs), protein kinaz C'nin diaçilgliserol aktivasyonu ve heksozamin yolağının artmış glukoz şantı (48,49) ile gösterirken beyinde de aynı mekanizmalar geçerli olabilir, diyabetik hastalarda belirlenen bilişsel fonksiyon değişikliklerine bu şekilde katkı yapabilir (48).

Beyin yaşlanma sürecinden sorumlu olan hiperglisemi/hiperinsülinemi'nin toksik etkilerine 1) AGE birikimi, 2) artan oksidatif strese eşlik eden reaktif oksijen türlerinin (ROS) artışı, 3) mikrovasküler patoloji olarak sınıflandırılan 3 mekanizmanın aracılık ettiği düşünülmektedir (2,48).

Diyabette beyin yaşlanmasının arttığı, yapılan deneysel hayvan modeli çalışmaları tarafından da desteklenmiştir (2). Streptozotosin enjekte edilmiş diyabetik ratlarda kranial sinirlerde, siyatik sinirde, serebral korteks ve retinada artmış polioli yolağı aktivasyonu sonucu artmış sorbitol miktarları ölçülmüştür (50). Bu yolağın diyabetik insanlarda nörobilişsel disfonksiyona katkısı net olarak bilinmemektedir (48).

AGE ve reseptörü RAGE'lerin diyabetin serebral komplikasyonlarının gelişimine katkısı çok açık olmamakla beraber, diyabetik farelerde bilişsel hasarla birlikte nöronlar ve glial hücrelerde RAGE ekspresyonunun arttığı gözlenmiştir (51). Hiperglisemi aynı zamanda, reaktif oksijen türlerini (ROS) artırarak son organ hasarının oluşmasına neden olur. Streptozotosin indüklü diyabetik ratlarda RAGE, galektin-3 (proaterojenik molekül) ve polioliol yolağı aktivasyonlarının beyin dokusunda artmış olduğu; glikolitik bir enzim olan gliseraldehit 3-P dehidrogenaz aktivitesinin azaldığı ve süperoksit seviyelerinin yükseldiği belirtilmiştir (48).

Diyabetik hayvanların beyin dokularında gözlenen diğer biyokimyasal değişiklikler ise, azalan asetilkolin seviyeleri (52), serotonin turnoverı, dopamin aktivitesi ve artan norepinefrin seviyeleridir (53). Bu değişikliklerin de bilişsel fonksiyon bozukluklarına katkısının olabileceği (2) ve tümünün insülin tedavisi ile geri dönüştürülebilir olduğu belirtilmektedir.

İnsülin Rezistansının Rolü

İnsülin, enerji homeostazı ve besin alımı üzerindeki modulator etkilerinin yanı sıra, önemli bir nörotrofik faktör olarak da rol almaktadır (31,37,54). Bir taraftan hiperinsülineminin Alzheimer için bir risk faktörü olduğu belirtilirken, diğer taraftan insülinin önemli bir nörotrofik faktör olması, insülin rezistansının beyin dokusu üzerindeki paradoksal etkilerini açığa çıkarmaktadır (2). İnsülinin, beyinde ılımlı konsantrasyonlarda nörotrofik etki gösterirken, çok yüksek konsantrasyonlarda A β atılımının azalması ile ilişkili olabileceği belirtilmektedir.

İnsülin rezistansının, bilişsel fonksiyonlar üzerindeki mekanizması çok açık olmamakla birlikte nörotransmisyon ve hafıza üzerine etkilerinin olduğu düşünülmektedir (48). İnsülinin serebral glukoz metabolizması üzerindeki tartışmalı etkilerine rağmen, tip 2 diyabet oluşumuna katkısı olan insülin rezistansının, Alzheimer'ın patogenezinde de rol oynayabileceği düşünülmektedir (48).

İnsülin rezistansı ve Tip 2 Diabetes Mellitus kognitif disfonksiyonların oluşumuna yukarıda anlatılan diğer mekanizmalara ek olarak 3 indirekt mekanizma ile katkıda bulunur. **1:** Tip 2 diyabetik hastalarda kognitif disfonksiyonlar inflamatuvar

markerlarla koreledir, ve artan inflamasyon Alzheimer'ın veya makrovasküler hastalıkların gelişimine katkı sağlayabilir (48). Tip 2 diyabetik hastalarda, C-reaktif proteini, α -1antikimotripsin, IL-6 ve interselüler adezyon molekülü-1 yüksek değerlerde görülmektedir (55). Bu bulgular, insülin rezistansı ve Alzheimer hastalığının artan inflamasyon nedeni ile ortak bir patofizyolojiyi paylaştığını desteklemektedir (48). **2:** Hipotalamik-hipofiz adrenal aksinin bozulması. Tip 2 diyabetik insan ve hayvan çalışmalarında hipotalamik-hipofiz adrenal aksinin artan serum kortizol seviyeleri ile birlikte up-regüle olduğu belirtilmiştir (56,57). Hiperkortizoleminin bilişsel disfonksiyonlara yol açtığı bilinmektedir (48). **3:** Senil plakların oluşumunu uyarmak. Ekstraselüler senil plakların ana bileşeni olan β -Amiloid ve intraselüler nörofibriler yumakların ana bileşeni olan tau proteini Alzheimer'ın patolojik belirteçidir.

Sonuç

Tip 1 ve Tip 2 Diabetes Mellitus, etiyojoloji ve patogenez bakımından farklılık gösterse de, kronik hiperglisemi ve bozulmuş insülin aktivitesinin yarattığı aynı sonuçları paylaşır. Diabetes Mellitus, vasküler, renal rahatsızlıklar, periferik nöropati ve retinopati gibi çeşitli patofizyolojik bozukluklarla ilişkilidir (1).

Yapılan çalışmalar Diabetes Mellitus ve Alzheimer arasındaki olası ilişkiye dikkat çekmektedir. Alzheimer hastalarında yapılan çalışmalarda kontrol grubuna göre serebrospinal sıvı insülin seviyelerinin ve insülin aracılı glukoz kullanımının azaldığı gözlenmiştir (58,59). İlk epidemiyolojik araştırma olan Rotterdam çalışmasında, Tip 1 diyabetli hastalarda anlamlı ölçüde yüksek demans prevalansı olduğu belirtilmiştir (60). Diyabet/insülin rezistansı ile hipokampal ve amigdalar atrofi arasındaki ilişkinin manyetik rezonans görüntülemesi ile incelendiği in vivo çalışmada; diyabetli bireylerde hipokampal ve amigdalar atrofi derecesinin kontrol grubuna göre daha yüksek olduğu ve insülin rezistans şiddeti ile korele olduğu gözlenmiştir (61).

Tip 2 diyabet ve Alzheimer, yaş-bağımlı süreçleri içermesi, kolesterol seviyelerinin artması, metabolik bozuklukların ortaya çıkışı, β -amiloid agregasyonu, ikincil mesajcı sistem anormallikleri (GSK3 aşırı aktivasyonu gibi),

oksidatif stres artışı ve inflamasyon cevap artışı gibi ortak karakteristikleri paylaşmaktadır (62). Alzheimer'ın en belirgin iki patolojik karakteristiği, tau hiperfosforilasyonu ile oluşan intraselüler nörofibriler yumaklar ve temel olarak β -amiloid agregatlarının oluşturduğu ekstraselüler senil plaklardır (62). Her iki patolojik belirtecin Tip 2 diyabette de görüldüğü belirtilmiştir (63,64). Tip 2 Diabetes Mellitus, pankreas adacıklarında β hücrelerinin kaybı ve adacık amiloid birikimi ile karakterize nöropati ile ilişkili dejeneratif bir hastalık olarak tanımlanırken, Alzheimer da, bu duruma benzer şekilde büyük oranda nöronal hücre kaybının görüldüğü nörodejeneratif bir hastalık olarak tanımlanmaktadır (65). Pankreas adacık amiloid proteini (IAPP) ve amiloid APP %90 oranında yapısal benzerlik göstermektedir (65). Hücre kaybı, amiloid plak birikimi ve dejeneratif değişikliklerle ilişkileri bakımından da Tip 2 DM ve Alzheimer ortak özellikler göstermektedir.

Pre-diyabet ve erken dönem Tip 2 diyabet hastalarında yapılan çalışmalarda, yüksek serum insülin seviyelerinin bilişsel fonksiyon bozukluklarıyla ilişkili olabileceği belirtilmiştir (66). Artan A β seviyeleri ile artan serum insülin seviyeleri arasındaki ilişkiye dikkat çekilmektedir (67). Alzheimer ile Tip 2 diyabet arasındaki temel fizyolojik bağlantının periferik ve serebral insülin sinyal anormalliklerinden kaynaklandığı belirtilmektedir (12). Alzheimer'da bilişsel disfonksiyonlardan, insülin sinyalindeki hasarın kısmen sorumlu olduğu giderek artan bir şekilde kabul görmektedir (7,13,62). Son yıllarda yapılan çalışmalarla, Alzheimer, MSS'deki insülin reseptör duyarlılığının bozulmasından kaynaklanan MSS'de insülin rezistansının gelişimine bağlı olarak meydana gelen tau ve A β metabolizmasındaki değişiklikleri içerdiğinden, Diabetes Mellitus'un beyin spesifik formu (Tip 3 DM) olarak tanımlanmaktadır (1).

KAYNAKLAR

1. de la Monte SM, Wands JR. 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* 2005; 7(1): 45-61.

2. S Roriz-Filho J, Sá-Roriz TM, Rosset I et al. (Pre)diabetes, brain aging, and cognition. *Biochim Biophys Acta* 2009; 1792(5): 432-43.

3. Peter FH, Karam JH, Saler PR. *Pancreatic Hormones and Diabetes Mellitus in "Basic and Clinical Endocrinology"*. 3 rd ed. Toronto: Prentice Hall International Inc; 1992.

4. Biessels GJ, Bravenboer B, Gispen WH. Glucose, insulin and the brain: modulation of cognition and synaptic plasticity in health and disease: a preface. *Eur J Pharmacol* 2004; 490(1-3): 1-4.

5. Havrankova J, Roth J, Brownstein M. Insulin receptors are widely distributed in the central nervous system of the rat. *Nature* 1978; 272: 827-829.

6. Cardoso S, Correia S, Santos RX et al. Insulin is a two-edged knife on the brain. *J Alzheimers Dis* 2009; 18: 483-507.

7. Gasparini L, Xu H. Potential roles of insulin and IGF-1 in Alzheimer's disease. *Trends Neurosci* 2003; 26(8): 404-6.

8. Nelson TJ, Sun MK, Hongpaisan J, Alkon DL. Insulin, PKC signaling pathways and synaptic remodeling during memory storage and neuronal repair. *Eur J Pharmacol* 2008; 585: 76-87.

9. Banks WA, Owen JB, Erickson MA. Insulin in the brain: there and back again. *Pharmacol Ther* 2012; 136(1): 82-93.

10. Niswender KD, Morrison CD, Clegg DJ et al. Insulin activation of phosphatidylinositol 3-kinase in the hypothalamic arcuate nucleus: a key mediator of insulin-induced anorexia. *Diabetes* 2003; 52: 227-231.

11. Plum L, Belgardt BF, Bruning JC. Central insulin action in energy and glucose homeostasis. *J Clin Invest* 2006; 116: 1761-1766.

12. Hoyer S. Glucose metabolism and insulin receptor signal transduction in Alzheimer disease. *Eur J Pharmacol* 2004; 490(1-3): 115-25.

13. de la Monte SM. Brain insulin resistance and deficiency as therapeutic targets in Alzheimer's disease. *Curr Alzheimer Res* 2012; 9(1): 35-66.

14. Hong M, Lee VM. Insulin and insulin-like growth factor-1 regulate tau phosphorylation in cultured human neurons. *J Biol Chem* 1997; 272: 19547-19553.
15. Frolich L. et al. Brain insulin and insulin receptors in aging and sporadic Alzheimer's disease. *J Neural Transm* 1998; 105, 423-438.
16. Frolich L. et al. A disturbance in the neuronal insulin receptor signal transduction in sporadic Alzheimer's disease. *Ann NY Acad Sci* 1999; 893, 290-293.
17. Correia SC, Santos RX, Perry G, et al. Insulin-resistant brain state: the culprit in sporadic Alzheimer's disease? *Ageing Res Rev* 2011; 10(2): 264-73.
18. Gasparini L, Gouras GK, Wang R et al. Stimulation of b-amyloid precursor protein trafficking by insulin reduces intraneuronal b-amyloid and requires mitogen-activated protein kinase signalling. *J Neurosci* 2001; 21: 2561-2570.
19. Carro E, Trejo JL, Gomez-Isla T et al. Serum insulin growth factor 1 regulates brain amyloid-b levels. *Nat Med* 2002; 8: 1390-1397.
20. Burtis CA, Ashwood ER. *Tietz Textbook of Clinical Chemistry*. 3rd ed. WB Saunders Company; 1999.
21. Sack BS. Implications of the Revised Criteria for Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. *Clinical Chemistry* 1997; 43: 2230-32.
22. Berne RM, Levy MN. *Principles of physiology*. USA. 1990.
23. Bloom A, Ireland J. *A colour atlas of diabetes*. 2nd ed. Spain: Wolfe publishing; 1992.
24. Bothwell TH, Charlton RW. A general approach to the problems of iron deficiency and iron overload in the population at large. *Semin Hematol* 1982; 19: 54-67.
25. Bingöl G. *Biyokimya*. 4. Baskı. Ankara: Taş kitabevi; 1983.
26. Gerozissis K. Brain insulin, energy and glucose homeostasis; genes, environment and metabolic pathologies. *Eur J Pharmacol* 2008; 585(1): 38-49.
27. Saltiel AR, Kahn CR. Insulin signalling and the regulation of glucose and lipid metabolism. *Nature* 2001; 414(6865): 799-806.
28. McEwen BS, Reagan LP. Glucose transporter expression in the central nervous system: Relationship to synaptic function. *Eur J Pharmacol* 2004; 490: 13-24.
29. Margolis RU, Altszuler N. Insulin in the cerebrospinal fluid. *Nature* 1967; 215: 1375-1376.
30. Plum L, Schubert M, Brüning JC. The role of insulin receptorsignaling in the brain. *Trends Endocrinol Metab* 2005; 16(2): 59-65.
31. Banks WA. The source of cerebral insulin. *Eur J Pharmacol* 2004; 490(1-3): 5-12.
32. Schechter R, Beju D, Gaffney T et al. Preproinsulin I and II mRNAs and insulin electron microscopic immunoreaction are present within the rat fetal nervous system. *Brain Res* 1996; 736: 16-27.
33. Wozniak M, Rydzewski B, Baker SP, Raizada MK. The cellular and physiological actions of insulin in the central nervous system. *Neurochem Int* 1993; 22: 1-10.
34. Belfiore A, Frasca F, Pandini G et al. Insulin receptor isoforms and insulin receptor/insulin-like growth factor receptor hybrids in physiology and disease. *Endocr Rev* 2009; 30(6): 586-623.
35. Phiel CJ, Wilson CA, Lee VM, Klein PS. GSK-3alpha regulates production of Alzheimer's disease amyloid-beta peptides. *Nature* 2003; 423: 435-439.
36. Ishiguro K, Shiratsuchi A, Sato S et al. Glycogen synthase kinase 3 beta is identical to tau protein kinase I generating several epitopes of paired helical filaments. *FEBS Lett* 1993; 325: 167-172.
37. Zhao WQ, Chen H, Quon MJ, Alkon DL. Insulin and the insulin receptor in experimental models of learning and memory. *Eur J Pharmacol* 2004; 490(1-3): 71-81.
38. Hardy J, Selkoe DJ. The amyloid hypothesis of Alzheimer's Disease: Progress and problems on the road to therapeutics. *Science* 2002; 297: 353-356.

39. Vetrivel KS, Thinakaran G. Amyloidogenic processing of beta-amyloid precursor protein in intracellular compartments. *Neurology* 2006; 66: 69-73.
40. Vardy ER, Catto AJ, Hooper NM. Proteolytic mechanisms in amyloid-metabolism: therapeutic implications for Alzheimer's disease. *Trends in Molecular Medicine* 2005; 11: 464-472.
41. Watanabe A, Hasegawa M, Suzuki T et al. In vivo phosphorylation sites in fetal and adult rat tau. *J Biol Chem* 1993; 268: 25712-25717.
42. Johnson GVW, Stoothoff WH. Tau phosphorylation in neuronal cell function and dysfunction. *Journal of Cell Science* 2004; 117: 5721-5729.
43. Avila J, Lucas JJ, Perez M, Hernandez F. Role of tau protein in both physiological and pathological conditions. *Physiological Review* 2004; 84: 361-384.
44. Schubert M, Gautam D, Surjo D et al. Role for neuronal insulin resistance in neurodegenerative diseases. *Proc Natl Acad Sci USA* 2004; 101(9): 3100-3105.
45. De Ferrari GV, Inestrosa NC. Wnt signaling function in Alzheimer's disease. *Brain Res Brain Res Rev* 2000; 33(1): 1-12.
46. Lucas JJ, Hernández F, Gómez-Ramos P et al. Decreased nuclear β -catenin, tau hyperphosphorylation and neurodegeneration in GSK-3 β conditional transgenic mice. *EMBO J* 2001; 20: 27-39.
47. Miles WR, Root HF. Psychologic tests applied to diabetic patients. *Arch Intern Med* 1922; 30: 767-777.
48. Kodl CT, Seaquist ER. Cognitive dysfunction and diabetes mellitus. *Endocr Rev* 2008; 29(4): 494-511.
49. Biessels GJ, Van der Heide LP, Kamal A et al. Ageing and diabetes: implications for brain function. *Eur J Pharmacol* 2002; 441: 1-14.
50. Sredy J, Sawicki DR, Notvest RR. Polyol pathway activity innervous tissues of diabetic and galactose-fed rats: effect of dietary galactose withdrawal or tolrestat intervention therapy. *J Diabet Complications* 1991; 5: 42-47.
51. Toth C, Schmidt AM, Tuor UI et al. Diabetes, leukoencephalopathy and rage. *Neurobiol Dis* 2006; 23: 445-461.
52. Welsh B, Wecker L. Effects of streptozotocin-induced diabetes on acetylcholine metabolism in rat brain. *Neurochem Res* 1991; 16: 453-460.
53. Biessels GJ, Kappelle AC, Bravenboer B et al. Cerebral function in diabetes mellitus. *Diabetologia* 1994; 37: 643-650.
54. Steen E, Terry BM, Rivera EJ et al. Impaired insulin and insulin-like growth factor expression and signaling mechanisms in Alzheimer's disease- is this type 3 diabetes? *J Alzheimers Dis* 2005; 7: 63-80.
55. Hak AE, Pols HA, Stehouwer CD et al. Markers of inflammation and cellular adhesion molecules in relation to insulin resistance in nondiabetic elderly: the Rotterdam study. *J Clin Endocrinol Metab* 2001; 86: 4398-4405.
56. Lee ZS, Chan JC, Yeung VT et al. Plasma insulin, growth hormone, cortisol, and central obesity among young Chinese type 2 diabetic patients. *Diabetes Care* 1999; 22: 1450-1457.
57. Tojo C, Takao T, Nishioka T et al. Hypothalamic-pituitary-adrenal axis in WBN/Kob rats with non-insulin dependent diabetes mellitus. *Endocr J* 1996; 43: 233-239.
58. Craft S, Peskind E, Schwartz MW et al. Cerebrospinal fluid and plasma insulin levels in Alzheimer's disease: relationship to severity of dementia and apolipoprotein E genotype. *Neurology* 1998; 50: 164-168.
59. Craft S, Asthana S, Cook DG et al. Insulin dose-response effects on memory and plasma amyloid precursor protein in Alzheimer's disease: interactions with apolipoprotein E genotype. *Psychoneuroendocrinology* 2003; 28: 809-822.

60. Ott A, Stolk RP, Hofman A et al. Association of diabetes mellitus and dementia: the Rotterdam Study. *Diabetologia* 1996; 39(11): 1392-7.
61. den Heijer T, Vermeer SE, van Dijk EJ et al. Type 2 diabetes and atrophy of medial temporal lobe structures on brain MRI. *Diabetologia* 2003; 46(12): 1604-10.
62. Lin L, Hölscher C. Common pathological processes in Alzheimer disease and type 2 diabetes: a review. *Brain Res Rev* 2007; 56(2): 384-402.
63. Churcher I. Tau therapeutic strategies for the treatment of Alzheimer's disease. *Curr Top Med Chem* 2006; 6: 579-595.
64. Glabe CG. Common mechanisms of amyloid oligomer pathogenesis in degenerative disease. *Neurobiol Aging* 2006; 27: 570-575.
65. Ristow M. Neurodegenerative disorders associated with diabetes mellitus. *J Mol Med (Berl)*. 2004; 82(8): 510-29.
66. Stolk RP, Breteler MM, Ott A et al. Insulin and cognitive function in an elderly population. The Rotterdam Study. *Diabetes Care* 1997; 20: 792-795.
67. Watson GS, Peskind ER, Asthana S et al. Insulin increases CSF Abeta42 levels in normal older adults. *Neurology* 2003; 60: 1899-19