

Особенности экспрессии молекул-маркеров инсулинорезистентности при экспериментальной болезни Альцгеймера

К.фарм.н. Я.В. ГОРИНА*, к.м.н. Ю.К. КОМЛЕВА, к.б.н. О.Л. ЛОПАТИНА, В.В. ВОЛКОВА, к.б.н. Г.Е. ГЕРЦОГ, Н.Н. ПОПОВА, проф. А.Б. САЛМИНА

ГБОУ ВПО «Красноярский государственный медицинский университет им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого» Минздрава России, Красноярск, Россия

Болезнь Альцгеймера (БА) характеризуется значительной потерей нейронов и синапсов, особенно в гиппокампе и коре больших полушарий мозга, внеклеточным накоплением β -амилоида и формированием нейрофибриллярных сплетений. Резистентность ЦНС к инсулину играет важную роль в развитии когнитивных нарушений и нейродегенерации. Однако клеточные и молекулярные механизмы связи инсулинорезистентности и БА остаются в значительной степени невыясненными. Большое значение имеет идентификация молекул-маркеров инсулинорезистентности, что, возможно, позволит сформировать новые подходы к направленной фармакологической коррекции нейродегенерации. Приведены данные об особенностях экспрессии IRAP, GLUT4 и IL-18 в различных областях головного мозга (гиппокамп, обонятельная луковица) у крыс с экспериментальной БА.

Ключевые слова: молекулы-маркеры, инсулинорезистентность, нейродегенерация, инсулинрегулируемая аминопептидаза, GLUT4, IL-18.

Features of molecule expression markers of insulin resistance in experimental Alzheimer's disease

YA.V. GORINA, YU.K. KOMLEVA, O.L. LOPATINA, V.V. VOLKOVA, G.E. GERSOG, N.N. POPOVA, A.B. SALMINA

Krasnoyarsk State Medical University, Krasnoyarsk, Russian Federation

Alzheimer's Disease (AD) is characterized by a significant loss of neurons and synapses, especially in the hippocampus and cortex, the extracellular β -amyloid accumulation and formation of neurofibrillary tangles. Insulin resistance plays important role in neurodegeneration and cognitive disorders in the central nervous system, especially AD. However, the cellular and molecular mechanisms that connect insulin resistance and Alzheimer's pathogenesis remain largely unexplained. Therefore, great importance is the identification of molecular markers that allow to define new approaches to targeted pharmacological correction of neurodegeneration. This article describes the study of the expression of molecular markers, namely, IRAP, GLUT4, and IL-18 in different brain regions (hippocampus, olfactory bulb) rats with experimental AD.

Keywords: molecular markers, insulin resistance, neurodegeneration, insulin-regulated aminopeptidase, GLUT4, IL-18.

doi: 10.14341/probl201561443-48

По мере старения населения число страдающих деменцией людей, по прогнозам ученых, к 2050 г. возрастет до 115 млн, что, несомненно, создаст значимую проблему для здравоохранения [1]. Клинически заболевание проявляется прогрессирующей потерей памяти и постепенным снижением когнитивных функций [2]. Болезнь Альцгеймера (БА) характеризуется значительной потерей нейронов и синапсов, особенно в гиппокампе и коре больших полушарий, внеклеточным накоплением β -амилоида и формированием нейрофибриллярных сплетений [3]. Однако диагноз устанавливается, как правило, на стадии значительного повреждения головного мозга, что существенно снижает эффективность лечения [4]. Большое значение может иметь идентификация молекул-маркеров, позволяющая выявить заболевание на ранних стадиях у людей с высоким риском развития слабоумия.

Результаты недавних исследований свидетельствуют о ключевой роли инсулинорезистентности в

развитии когнитивных нарушений и нейродегенерации, в частности при БА [5, 6].

Нарушение передачи сигналов инсулина в головном мозге инициирует сигнальные каскады реакций, включающих ингибирование фосфатидилинозитид-3 киназы (PI3K) и протеинкиназы B (Акткиназы) и активацию β -киназы гликогенсинтазы (GSK-3 β), которая индуцирует гиперфосфорилирование тау-белка, накопление А β -олигомеров и окислительный стресс, приводящий к митохондри-

Сведения об авторах:

Горина Яна Валерьевна — к.фарм.н., доц. каф. биохимии с курсами медицинской, фармацевтической и токсикологической химии ГБОУ ВПО «Красноярский государственный медицинский университет имени проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого» Минздрава России
e-mail: yana_20@bk.ru

Комлева Юлия Константиновна — к.м.н., доц.;

Лопатина Ольга Леонидовна — к.биол.н., доц.;

Волкова Виктория Викторовна — студ. III курса педиатр. факульт.;

Герцог Галина Евгеньевна — к.биол.н., доц.;

Попова Нина Николаевна — ст.препод. каф.;

Салмина Алла Борисовна — д.м.н., проф., зав. каф.

альной дисфункции, апоптозу клеток, секреции провоспалительных цитокинов и нейродегенерации [7].

Кроме того, нарушение эффектов инсулина может вызвать или усилить процессы нейровоспаления, способствующие развитию нейродегенерации [8]. Нейровоспаление характеризуется активацией микроглии и астроцитов, резко возрастающей продукцией провоспалительных цитокинов (IL-1, IL-6, TNF), формированием внутриклеточных мультибелковых комплексов (инфламмасом), способствующих формированию синаптической и когнитивной дисфункции [9]. Инфламмасы активируют каспазы 1 и 5, которые запускают секрецию провоспалительных цитокинов (IL-1, IL-18, IL-33), инициируя нейровоспаление с последующим возникновением когнитивных расстройств и слабоумия [10].

Имеются данные о существенном вкладе инфламмасы в развитие инсулинорезистентности, что предполагает существование связи между формированием инфламмасы в клетках головного мозга и локальной инсулинорезистентностью при нейровоспалении и нейродегенерации [11]. Согласно предложенной гипотезе, нарушение церебрального метаболизма глюкозы, связанное с инсулинорезистентностью, запускает каскад патологических реакций, а именно митохондриальную дисфункцию, окислительный стресс, эксайтотоксичность, апоптоз, активацию провоспалительных цитокинов, и, следовательно, способствует накоплению β -амилоида и гиперфосфорилированию тау-белка, тем самым вызывая когнитивную дисфункцию и нейродегенерацию [12].

Одним из потенциальных молекул-маркеров инсулинорезистентности является инсулинрегулируемая аминопептидаза (IRAP). Эта цинк-содержащая металлопептидаза обеспечивает протеолиз нейропептидов (в частности, окситоцина и вазопрессина) [13]. Ее ингибирование улучшает память у экспериментальных животных [14]. IRAP участвует в развитии нейродегенеративных заболеваний, ассоциированных с инсулинорезистентностью [15]. Этот фермент локализован в клетках с инсулинозависимым глюкозным транспортером GLUT4, регулирует его внутриклеточный транспорт и, вероятно, может участвовать в механизме развития инсулинорезистентности, сопряженной с нарушением транслокации GLUT4 к мембране [16].

Таким образом, БА представляет собой, по-видимому, нейроэндокринное расстройство, связанное с мозгоспецифическим нарушением инсулин/IGF-сигнальных механизмов, т.е. «диабет 3-го типа». Однако молекулярный механизм нарушения передачи сигналов инсулина в нейронах остается в значительной степени неизвестным.

Цель настоящей работы — изучение экспрессии молекул-маркеров, а именно, IRAP, GLUT4 и IL-18

в различных областях головного мозга (гиппокамп, обонятельная луковица) у крыс с экспериментальной БА.

Материал и методы

Моделирование нейродегенерации

Крысам опытной группы (10 самцов в возрасте 7 мес) с помощью стереотаксической установки (Narishige, Япония) в СА1 зону гиппокампа с каждой стороны вводили по 5 мкл бета-амилоида 1-42 (Sigma-Aldrich, США). Использовали стереотаксические координаты $ML \pm 2,2$ мм, AP — 3,0 мм, DV — 2,8 мм. Бета-амилоид 1-42 растворяли в фосфатно-солевом буфере (PBS, Sigma-Aldrich, США) до концентрации 2 мкг/мкл с последующей агрегацией в термостате при 37 °C в течение 7 дней [17]. Контрольную группу составили 10 крыс, которым в те же участки мозга вводили PBS. Животных содержали в клетках со свободным доступом к воде и корму при постоянной температуре 21 ± 1 °C и регулярном световом цикле 12 ч день/12 ч ночь. Эксперименты проводились в соответствии с принципами гуманности, изложенными в Директиве Европейского сообщества (2010/63/EC).

Оценку признаков БА начинали с 10-х суток после оперативного вмешательства [18].

Иммуногистохимическое исследование

На 14-й день после операции осуществляли транскраниальную перфузию 4% параформальдегидом с последующим забором головного мозга. Мозг фиксировали в 4% нейтральном забуференном формалине, после чего погружали в 20% раствор сахарозы и хранили при +4 °C. С помощью микротомы Thermo Scientific Microm HM 650 готовили срезы толщиной 50 мкм. Экспрессию IRAP, GLUT4 и IL-18 изучали методом непрямой иммуногистохимии для свободно плавающих срезов [19]. После промывки в PBS срезы блокировали 3% бычьим сывороточным альбумином (BSA) в PBS и 1% Triton X-100 в течение 1 ч при комнатной температуре с последующим инкубированием в течение ночи с первичными антителами к IRAP (Santa Cruz Biotechnology, sc-365300, rabbit monoclonal) 1:1000, GLUT4 (Abcam, ab654, rabbit monoclonal) 1:10000, IL-18 (Santa Cruz, sc-7954, rabbit polyclonal), NeuN (Millipore, ABN78, rabbit polyclonal) 1:1000 с 3% BSA в PBS и 0,2% Triton X-100 при 4 °C. После инкубации с первичными антителами срезы промывали и инкубировали со вторичными антителами Alexa Conjugated antibody в разведении 1:1000 в течение 2 ч при комнатной температуре.

Изображения были получены с помощью конфокального микроскопа Olympus FV 10i. В срезах головного мозга подсчитывали количество клеток нейрональной природы, экспрессирующих марке-

ры инсулинорезистентности на различных уровнях в гиппокампе (DG) и ольфакторной луковице (OB). Оценивали семь полей зрения для DG и пять полей зрения для OB.

Статистический анализ

Статистический анализ результатов проводили с использованием пакета анализа программы MS Excel 2010. В пределах каждой выборки определяли среднее арифметическое и ошибку среднего. Сравнение средних осуществляли с помощью Т-теста при уровне значимости $p < 0,05$. Все результаты представлены в виде $M \pm m$, где M — среднее значение, m — ошибка среднего.

Результаты

Срезы головного мозга окрашивали по стандартному протоколу двойного непрямого метода иммуногистохимии для оценки экспрессии IRAP, GLUT4 и IL-18 в клетках нейрональной природы (маркер постмитотических нейронов — NeuN). Все измерения проводились в гранулярном слое клеток зубчатой извилины и ольфакторной луковице. При экспериментальной БА отмечалось значимое увеличение экспрессии IL-18 ($p = 0,001$) в гиппокампе по сравнению с контролем (рис. 1, см. на цв. вклейке; табл. 1). В ольфакторной луковице наблюдалась тенденция к повышению экспрессии IL-18 у крыс с моделированной нейродегенерацией. Это может свидетельствовать об активации воспалительного процесса за счет сборки внутриклеточных инфламасом [21].

Несколько иная ситуация наблюдалась в отношении инсулинзависимого глюкозного транспортера GLUT4 (рис. 2, а, б, см. на цв. вклейке). При БА его экспрессия в гиппокампе ($p = 0,037$) и в ольфакторной луковице ($p < 0,001$) оказалась значимо ниже, чем в контроле (табл. 2). Возможно, это связано со снижением уровня инсулина в клетках головного мозга, наблюдаемое при БА [22], что сопровождается снижением экспрессии GLUT4 [12]. Наши данные подтверждают возникновение инсулинорезистентности при экспериментальной БА [23].

В зубчатой извилине гиппокампа крыс с моделью БА имела место тенденция к увеличению экспрессии IRAP (рис. 3, а, б, см. на цв. вклейке), в клет-

ках нейрональной природы по сравнению с контролем ($p = 0,203$). Увеличение экспрессии IRAP у подопытных крыс было выявлено также в ольфакторной луковице (табл. 3). Это соответствует нарушению экспрессии GLUT4 при БА [24].

Таким образом, в гиппокампе и ольфакторной луковице животных с экспериментальной БА интенсивность экспрессии инсулинрегулируемой аминопептидазы IRAP и провоспалительного цитокина IL-18 возрастает, тогда как экспрессия инсулинзависимого глюкозного транспортера GLUT4 в данных областях головного мозга снижается.

Обсуждение

В мозге больных БА выявлены нейрофибрилярные изменения, потеря нейронов, синаптическая дисфункция как свидетельство эксайтотоксичности, а также выраженный воспалительный процесс. Воспаление играет важную роль в этиопатогенезе БА [25], хотя пока не ясно, является ли оно причиной или вторичным проявлением данного заболевания [26]. Кроме того, остается открытым вопрос о связи воспаления и инсулинорезистентности при нейродегенерации.

Установлено, что резистентность мозга к инсулину возрастает за счет накопления β -амилоида: у пациентов с БА обнаруживается высокая концентрация провоспалительных цитокинов в спинномозговой жидкости [27]. *In vivo* показано, что воспаление сопровождается образованием и накоплением β -амилоида [21]. β -Амилоид активирует микроглию и астроциты, которые в свою очередь запускают процесс высвобождения провоспалительных цитокинов, ингибирующих рецепторы инсулина за счет увеличения фосфорилирования серина IRS-1 (insulin substrate-1) и протеинкиназы B (Akt-киназы), что способствует развитию нейродегенерации [28].

Наши данные [29] о повышении экспрессии провоспалительного цитокина IL-18 на клетках нейрональной природы в гиппокампе и ольфакторной луковице животных с экспериментальной БА могут свидетельствовать о запуске воспалительного процесса и согласуются с результатами исследования экспрессии IL-18 в мозге больных БА.

IL-18 увеличивает экспрессию GSK-3 и циклинзависимой киназы 5 (Cdk5), которые участвуют в гиперфосфорилировании тау-белка [30]. Кроме того, IL-18 может активировать JNK и MAPK p38 сигнальных путей, способствуя запуску апоптоза клеток [31].

Таким образом, IL-18 — один из ключевых медиаторов воспаления и иммунной реакции может играть важную роль в развитии патофизиологических процессов в мозге и способствовать прогрессированию БА.

Таблица 1. Количество клеток (в %), экспрессирующих IL-18 у крыс опытной и контрольной групп

Группа животных	Зона головного мозга	
	гиппокамп	ольфакторная луковица
Экспериментальная БА	34,79 $\pm$ 2,78	50,27 $\pm$ 9,32
Контроль	14,30 $\pm$ 2,31	31,67 $\pm$ 3,47
p	0,001	0,193

Таблица 2. Количество клеток (в %), экспрессирующих GLUT4 у крыс опытной и контрольной групп

Группа животных	Зона головного мозга	
	гиппокамп	ольфакторная луковица
Экспериментальная БА	9,11±1,59	36,00±1,15
Контроль	18,30±3,50	73,33±2,23
<i>p</i>	0,037	<0,001

Таблица 3. Количество клеток (в %), экспрессирующих IRAP у крыс опытной и контрольной групп

Группа животных	Зона головного мозга	
	гиппокамп	ольфакторная луковица
Экспериментальная БА	20,48±4,25	69,63±14,34
Контроль	12,19±3,10	61,42±5,80
<i>p</i>	0,203	0,689

Доставка глюкозы к клеткам головного мозга осуществляется с помощью глюкозных транспортеров (GLUT). Один из них, инсулинозависимый GLUT4, совместно с рецепторами инсулина в большом количестве экспрессируется в гиппокампе. Инсулин стимулирует экспрессию гена GLUT4 и его транспорт из цитоплазмы к плазматической мембране, тем самым модулируя поглощение и утилизацию глюкозы. Таким образом, инсулин/IGF — сигнальный путь играет ключевую роль в регуляции трансмембранного транспорта глюкозы [12]. Снижение экспрессии GLUT4 в гиппокампе и ольфакторной луковице при БА [32] может быть следствием снижения уровня инсулина в клетках головного мозга [22] и участвовать в нарушении церебрального метаболизма глюкозы.

Выявленная нами тенденция к увеличению экспрессии инсулинрегулируемой аминопептидазы IRAP в клетках нейрональной природы при экспериментальной БА может быть связана с нарушением стимулированного инсулином транспорта GLUT4 к клеточной мембране, что необходимо для захвата глюкозы клетками мозга [33].

Клинически БА характеризуется прогрессивными нарушениями когнитивных функций и памяти. Показано, что пептиды ангиотензин IV и LVV-геморфин 7, играющие важную роль в процессе обучения и памяти, обладают высоким сродством к IRAP и являются его конкурентными ингибиторами [34].

Высокие концентрации IRAP присутствуют в областях мозга, ответственных за память, а именно в гиппокампе, миндале и коре [35]. Кроме того, IRAP колоколизирован с GLUT4 и регулирует его внутриклеточный транспорт [36].

Известно, что транслокация GLUT4 в мембрану клетки обеспечивается активностью IRAP [37]; отсутствие экспрессии IRAP сопровождается снижением экспрессии и GLUT4 [38]. Поэтому обнаруженное нами несоответствие между экспрессией этих молекул может объясняться отсутствием влияния других инсулинопосредованных [39] или цитоскелет-зависимых [40] механизмов регуляции транспорта GLUT4 в очаге нейровоспаления. В последние годы IRAP считают одним из маркеров инсулинорезистентности при БА. В исследованиях *in vivo* установлено, что ингибиторы IRAP улучшают память у грызунов [15]. Увеличение экспрессии IRAP и IL-18 в клетках нейрональной природы при нейротоксическом действии β-амилоида соответствует нарушению внутриклеточного транспорта GLUT4 и определяет снижение чувствительности к действию инсулина, что может иметь своим результатом развитие когнитивного дефицита.

Заключение

Уменьшение экспрессии GLUT4 на фоне увеличения экспрессии IRAP и IL-18 в нейронах головного мозга при экспериментальной болезни Альцгеймера свидетельствует о сопряженности механизмов нейровоспаления и инсулинорезистентности, что открывает возможность новых подходов к направленной фармакологической коррекции нейродегенерации.

Информация о финансировании и конфликте интересов

Участие авторов:

Концепция и дизайн исследования — Комлева Ю.К.

Сбор и обработка материала — Горина Я.В.,

Комлева Ю.К., Лопатина О.Л., Волкова В.В.

Статистическая обработка данных — Герцог Г.Е., Попова Н.Н.

Написание текста — Горина Я.В.

Редактирование — Салмина А.Б.

Работа выполнена при поддержке гранта Президента РФ для ведущих научных школ РФ (НШ-1172.2014.7).

Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов.

ЛИТЕРАТУРА

- Prince M, Bryce R, Albanese E, et al. The global prevalence of dementia: A systematic review and metaanalysis. *Alzheimer's & Dementia*. 2013;9(1):63-75.e62. doi: 10.1016/j.jalz.2012.11.007.
- McKhann GM, Knopman DS, Chertkow H, et al. The diagnosis of dementia due to Alzheimer's disease: Recommendations from the National Institute on Aging-Alzheimer's Association workgroups on diagnostic guidelines for Alzheimer's disease. *Alzheimer's & Dementia*. 2011;7(3):263-269. doi: 10.1016/j.jalz.2011.03.005.
- Han W, Li C. Linking type 2 diabetes and Alzheimer's disease. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2010;107(15):6557-6558. doi: 10.1073/pnas.1002555107.
- Vos SJB, Verhey F, Frölich L, et al. Prevalence and prognosis of Alzheimer's disease at the mild cognitive impairment stage. *Brain*. 2015;138(5):1327-1338. doi: 10.1093/brain/awv029.
- Kim B, Feldman EL. Insulin resistance as a key link for the increased risk of cognitive impairment in the metabolic syndrome. *Exp Mol Med*. 2015;47(3):e149. doi: 10.1038/emmm.2015.3.
- Горина Я.В., Салмина А.Б., Кувачева Н.В., и др. Нейровоспаление и инсулинорезистентность при болезни Альцгеймера. // Сибирское медицинское обозрение. — 2014. - №4 — С. 11-19. [Gorina YV, Salmina AB, Kuvacheva NV, et al. Static mutations in the pathogenesis of spinocerebellar ataxias: from particular to general (Report III). *Siberian medical review*. 2014;(4):11-19. (In Russ.)]
- Cai Z, Xiao M, Chang L, Yan L-J. Role of insulin resistance in Alzheimer's disease. *Metab Brain Dis*. 2014;30(4):839-851. doi: 10.1007/s11011-014-9631-3.
- Liu C, Cui G, Zhu M, et al. Neuroinflammation in Alzheimer's disease: chemokines produced by astrocytes and chemokine receptors. *Int J Clin Exp Pathol*. 2014;7(12):8342-8355.
- Spielman LJ, Little JP, Klegeris A. Inflammation and insulin/IGF-I resistance as the possible link between obesity and neurodegeneration. *J Neuroimmunol*. 2014;273(1-2):8-21. doi: 10.1016/j.jneuroim.2014.06.004.
- Singhal G, Jaehne EJ, Corrigan F, et al. Inflammasomes in neuroinflammation and changes in brain function: a focused review. *Front Neurosci*. 2014;8. doi: 10.3389/fnins.2014.00315.
- Zhang Q-Y, Pan Y, Wang R, et al. Quercetin inhibits AMPK/TXNIP activation and reduces inflammatory lesions to improve insulin signaling defect in the hypothalamus of high fructose-fed rats. *The Journal of Nutritional Biochemistry*. 2014;25(4):420-428. doi: 10.1016/j.jnutbio.2013.11.014.
- Chen Z, Zhong C. Decoding Alzheimer's disease from perturbed cerebral glucose metabolism: Implications for diagnostic and therapeutic strategies. *Prog Neurobiol*. 2013;108:21-43. doi: 10.1016/j.pneurobio.2013.06.004.
- Chai S, Yeatman HR, Parker MW, et al. Development of cognitive enhancers based on inhibition of insulin-regulated aminopeptidase. *BMC Neurosci*. 2008;9(Suppl 2):S14. doi: 10.1186/1471-2202-9-s2-s14.
- Hermans SJ, Ascher DB, Hancock NC, et al. Crystal structure of human insulin-regulated aminopeptidase with specificity for cyclic peptides. *Protein Sci*. 2015;24(2):190-199. doi: 10.1002/pro.2604.
- Yeatman H, Albiston A, Chai S. Insulin-regulated aminopeptidase in astrocytes: Role in Alzheimer's disease? *Alzheimer's & Dementia*. 2011;7(4):S668. doi: 10.1016/j.jalz.2011.05.1922.
- Albiston AL, Yeatman HR, Pham V, et al. Distinct distribution of GLUT4 and insulin regulated aminopeptidase in the mouse kidney. *Regul Pept*. 2011;166(1-3):83-89. doi: 10.1016/j.regpep.2010.09.003.
- Li X, Yuan H-f, Quan Q-k, et al. Scavenging effect of Naoerkang (???) on amyloid beta-peptide deposition in the hippocampus in a rat model of Alzheimer's disease. *Chin J Integr Med*. 2011;17(11):847-853. doi: 10.1007/s11655-011-0896-7.
- Sipos E, Kurunczi A, Kasza Á, et al. β -Amyloid pathology in the entorhinal cortex of rats induces memory deficits: Implications for Alzheimer's disease. *Neuroscience*. 2007;147(1):28-36. doi: 10.1016/j.neuroscience.2007.04.011.
- Encinas JM, Enikolopov G. Identifying and Quantitating Neural Stem and Progenitor Cells in the Adult Brain. 2008;85:243-272. doi: 10.1016/s0091-679x(08)85011-x.
- Mabrouk RR, Mohamed HG, El-Kabarity RH. IL-18, An Indicator of Insulin Resistance? *Proc Nutr Soc*. 2013;72(OCE1). doi: 10.1017/s0029665113000943.
- Sutinen EM, Pirttilä T, Anderson G, et al. Pro-inflammatory interleukin-18 increases Alzheimer's disease-associated amyloid- β production in human neuron-like cells. *J Neuroinflammation*. 2012;9(1):199. doi: 10.1186/1742-2094-9-199.
- De La Monte SM. Insulin resistance and Alzheimer's disease. *BMB Reports*. 2009;42(8):475-481. doi: 10.5483/BMBRep.2009.42.8.475.
- Leguisamo NM, Lehn AM, Machado UF, et al. GLUT4 content decreases along with insulin resistance and high levels of inflammatory markers in rats with metabolic syndrome. *Cardiovasc Diabetol*. 2012;11(1):100. doi: 10.1186/1475-2840-11-100.
- Keller SR, Davis AC, Clairmont KB. Mice Deficient in the Insulin-regulated Membrane Aminopeptidase Show Substantial Decreases in Glucose Transporter GLUT4 Levels but Maintain Normal Glucose Homeostasis. *J Biol Chem*. 2002;277(20):17677-17686. doi: 10.1074/jbc.M202037200.
- Heneka M, Obanion M. Inflammatory processes in Alzheimer's disease. *J Neuroimmunol*. 2007;184(1-2):69-91. doi: 10.1016/j.jneuroim.2006.11.017.
- Wyss-Coray T, Rogers J. Inflammation in Alzheimer Disease--A Brief Review of the Basic Science and Clinical Literature. *Cold Spring Harb Perspect Med*. 2011;2(1):a006346-a006346. doi: 10.1101/cshperspect.a006346.
- Griffin WST. Neuroinflammatory Cytokine Signaling and Alzheimer's Disease. *N Engl J Med*. 2013;368(8):770-771. doi: 10.1056/NEJMcibr1214546.
- Griffin RJ, Moloney A, Kelliher M, et al. Activation of Akt/PKB, increased phosphorylation of Akt substrates and loss and altered distribution of Akt and PTEN are features of Alzheimer's disease pathology. *J Neurochem*. 2005;93(1):105-117. doi: 10.1111/j.1471-4159.2004.02949.x.
- Ojala J, Alafuzoff I, Herukka S-K, et al. Expression of interleukin-18 is increased in the brains of Alzheimer's disease patients. *Neurobiol Aging*. 2009;30(2):198-209. doi: 10.1016/j.neurobiolaging.2007.06.006.
- Ojala JO, Sutinen EM, Salminen A, Pirttilä T. Interleukin-18 increases expression of kinases involved in tau phosphorylation in SH-SY5Y neuroblastoma cells. *J Neuroimmunol*. 2008;205(1-2):86-93. doi: 10.1016/j.jneuroim.2008.09.012.
- Pickering M, O'Connor JJ. Pro-inflammatory cytokines and their effects in the dentate gyrus. 2007;163:339-354.

- doi: 10.1016/s0079-6123(07)63020-9.
32. Teune L, Strijkert F, Renken R, et al. The Alzheimer's Disease-Related Glucose Metabolic Brain Pattern. *Curr Alzheimer Res.* 2014;11(8):725-732.
doi: 10.2174/156720501108140910114230.
 33. Emmanuel Y, Cochlin LE, Tyler DJ, et al. Human hippocampal energy metabolism is impaired during cognitive activity in a lipid infusion model of insulin resistance. *Brain and Behavior.* 2013;3(2):134-144.
doi: 10.1002/brb3.124.
 34. Albiston AL, Diwakarla S, Fernando RN, et al. Identification and development of specific inhibitors for insulin-regulated aminopeptidase as a new class of cognitive enhancers. *Br J Pharmacol.* 2011;164(1):37-47.
doi: 10.1111/j.1476-5381.2011.01402.x.
 35. Fernando RN, Larm J, Albiston AL, Chai SY. Distribution and cellular localization of insulin-regulated aminopeptidase in the rat central nervous system. *The Journal of Comparative Neurology.* 2005;487(4):372-390.
doi: 10.1002/cne.20585.
 36. Fernando RN, Albiston AL, Chai SY. The insulin-regulated aminopeptidase IRAP is colocalised with GLUT4 in the mouse hippocampus - potential role in modulation of glucose uptake in neurones? *Eur J Neurosci.* 2008;28(3):588-598.
doi: 10.1111/j.1460-9568.2008.06347.x.
 37. Yeh T-Yin J, Sbodio Juan I, Tsun Z-Y, et al. Insulin-stimulated exocytosis of GLUT4 is enhanced by IRAP and its partner tankyrase. *Biochem J.* 2007;402(2):279-290.
doi: 10.1042/bj20060793.
 38. Keller SR. The insulin-regulated aminopeptidase: a companion and regulator of GLUT4. *Front Biosci.* 2003;8(1-3):s410.
doi: 10.2741/1078.
 39. Stockli J, Fazakerley DJ, James DE. GLUT4 exocytosis. *J Cell Sci.* 2012;124(24):4147-4159.
doi: 10.1242/jcs.097063.
 40. Lim C-Y, Bi X, Wu D, et al. Tropomodulin3 is a novel Akt2 effector regulating insulin-stimulated GLUT4 exocytosis through cortical actin remodeling. *Nature Communications.* 2015;6:5951.
doi: 10.1038/ncomms6951.