



**TURUN
YLIOPISTO**

Matemaattis-luonnontieteellinen
tiedekunta

Aminohappoketjusta hermoston rappeutumiseen

Saana Leikkola

Biologia

LuK-tutkielma

Turun yliopisto

Biologian laitos

07.05.2024

Turun yliopiston laatu järjestelmän mukaisesti tämän julkaisun alkuperäisyys on tarkastettu Turnitin OriginalityCheck -järjestelmällä

TURUN YLIOPISTO
Biologian laitos
Matemaattis-luonnontieteellinen tiedekunta

LEIKKOLA; SAANA: Aminohappoketjusta hermoston rappeutumiseen

LuK-tutkielma
Fysiologia ja genetiikka
Toukokuu 2024

Biologisesti toimiva proteiini on natiivirakenteessa eli sille suotuisimmassa muodossa, joka pysyy koossa erilaisten kemiallisten sidosvoimien ansiosta. Aminohappoketjua voikin pitää tietynlaisena raaka-aineena ja aminohappojen järjestyksestä seuraavaa kiertymistä sekä laskostumista reseptinä natiivirakenteen saavuttamiseksi. Natiivirakenne saavutetaan erilaisten välirakenteiden kautta ja laskostamisessa toimii avustavia komponentteja kuten kätilöproteiinit. Oikean konformaation varmistaa solun oma proteiineihin erikoistunut laadunvalvontajärjestelmä. Laadunvalvonnassa proteiini voidaan uudelleen laskostaa, hajottaa ja poistaa eri mekanismien avulla. Poikkeavassa konformaatiossa olevat proteiinit on tärkeä havaita, koska ne haittaavat solun toimintaa ja sitä kautta koko elimistön normaalia toimintaa. Valitettavasti laadunvalvontakaan ei kaikkia poikkeamia huomaa tai pysty ehkäistä niitä, joten lääketieteessä tunnetaan myös proteopatioiden luokka eli proteiinien laskostumishäiriöistä johtuvien sairauksien luokka, josta tutkielmassa nostan esiin neurodegeneratiiviset sairaudet ja erityisesti nopeasti yleistyvän Alzheimerin taudin, joka aiheutuu proteiinien väärästä konformatiosta. Alzheimerin taudissa muodostuu hermostoa vähitellen rappeuttavia säikeitä ja plakkia, mikä johtaa neuronien tuhoutumiseen, vegetatiiviseen tilaan ja lopulta yksilön menehtymiseen. Lisäksi tuon katsauksessa esiin myös taudin neuropatologiset tunnusmerkit ja riskitekijät. Lopussa keskityn Alzheimerin taudin tämänhetkiseen hoitoon sekä sen tulevaisuuden näkymiin.

Avainsanat: Proteiini, laskostuminen ja Alzheimer

Sisällys

1	Johdanto	1
2	Polypeptidiketjusta proteiiniksi.....	1
2.1	Proteiinien itsejärjestäytyminen	1
2.1.1	Proteiinien natiivirakenne	2
2.1.2	Laskostuminen	3
2.2	Proteiinien rakennetasot	4
2.3	Proteiinien laskostumisen säätely nisäkässoluissa	5
2.3.1	Kätilöproteiinit	5
2.3.2	Laadunvalvonta	7
3	Laskostumishäiriöt aivojen rappeumasairauksissa	10
3.1	Neurodegeneratiiviset sairaudet ja proteiinien aggregaatio aivoissa	11
3.2	Alzheimerin tauti.....	12
3.2.1	Alzheimerin taudin patogeneesi, diagnosointi ja riskitekijät	13
3.2.2	Neuropatologiset tunnusmerkit	14
3.2.3	Beeta-amyloidiplakki ja tau-kimput.....	15
3.2.4	Alzheimerille altistavia tekijöitä	17
3.3	Alzheimerin lääkehoito nyt ja tulevaisuudessa	18
4	Yhteenveto	19

1 Johdanto

Solun normaalille toiminnalle välttämättömät proteiinit koostuvat yksittäisten aminohappojen muodostamasta ketjusta, jonka ribosomi on translaatioissa valmistanut transkriptin pohjalta. Translaation jälkeen aminohappoketju pitää saada kuitenkin toiminnalliseksi natiivimuotoiseksi proteiiniksi kiertymisen ja laskostamisen avulla. Natiivimuoto on suotuisin muoto proteiinille ja se pysyy koossa erilaisten kemiallisten sidosvoimien ansiosta. Aminohappoketjua voikin pitää tietynlaisena raaka-aineena ja aminohappojen järjestyksestä seuraavaa kiertymistä sekä laskostumista reseptinä, jolla saavutetaan toimintakykyinen proteiini. Lopullinen proteiinin rakenne saavutetaan erilaisten välirakenteiden kautta ja laskostamisessa toimii avustavia komponentteja kuten kätilöproteiinit. Myös virheisiin on varauduttu. Proteiinien oikean konformaation varmistaa solun oma proteiineihin erikoistunut laadunvalvontajärjestelmä. Laadunvalvonta on hyvin tärkeä prosessi, sillä proteiinien väärinlaskostuminen on hyvin yleistä solun eliniän aikana. Väärin laskostuneet proteiinit ovat haitallisia elimistölle useasta eri syystä: ne eivät toimi oikein ilman oikeaa konformaatiota, ne aggregoituvat ja ovat toksisia solulle. Solu pyrkiikin uudelleen laskostamaan viallisesti laskostuneita proteiineja, hajottamaan ja poistamaan ne eri mekanismeilla.

Lääketieteessä proteiinien laskostumishäiriöistä johtuvat sairaudet muodostavat proteopatian sairausluokan, jossa proteiinin epänormaali rakenne häiritsee kehon toimintaa. Tässä tutkielmassa keskityn Alzheimerin tautiin, joka on yksi keskushermoston proteopatioista. Alzheimerin taudin sekä muiden muistisairauksien ennustetaan yleistyvän väestön ikääntyessä, kuten myös sairauden hoitoon liittyvien kustannusten. Tutkielmassa pääpaino on siinä, miten Alzheimerin taudissa proteiinien väärästä muodosta seuraa hermostoa vähitellen rappeuttavia säikeitä ja plakkia. Lisäksi tuon katsauksessa esiin taudin neuropatologiset tunnusmerkit, taudin kuvan, etenemisen, diagnoosin, riskitekijät sekä tautiin liitetyt muutokset geeneissä. Katsauksen lopussa tarkastellaan vielä Alzheimerin taudin tämänhetkistä hoitoa ja uusia potentiaalisia taudin hoitomuotoja.

2 Polypeptidiketjusta proteiiniksi

2.1 Proteiinien itsejärjestäytyminen

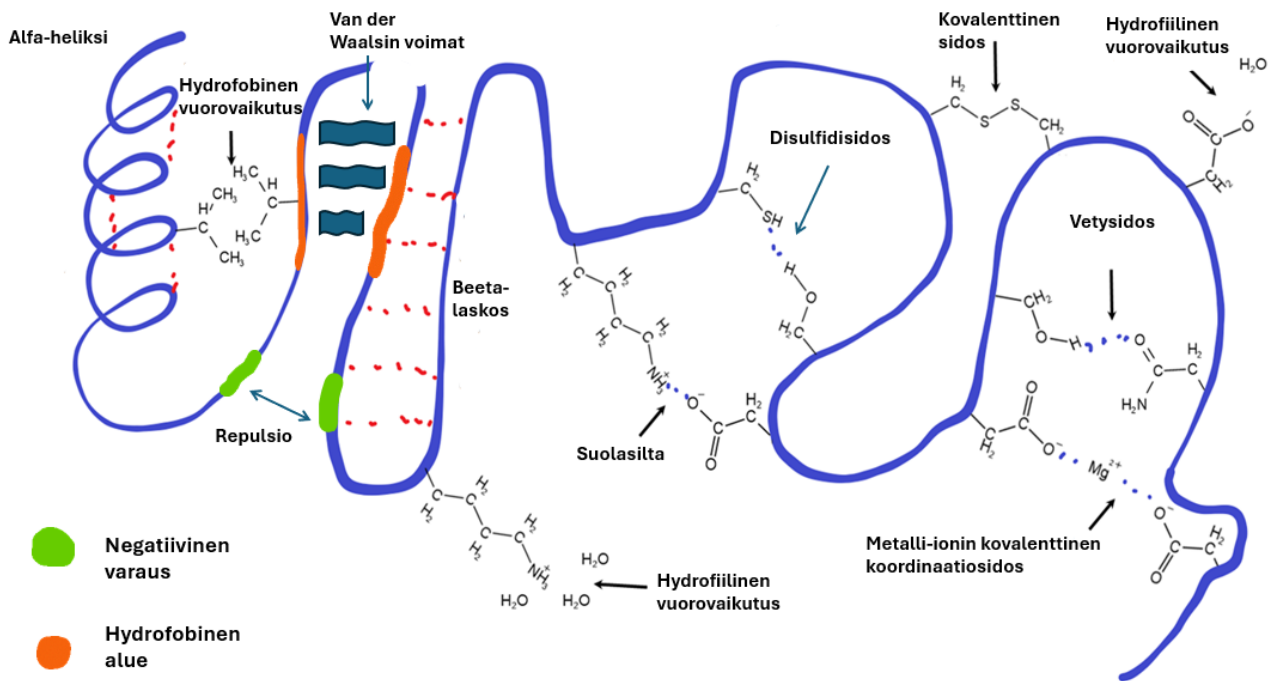
Makromolekyylien rakenteiden muodostumisesta on esitetty kaksi toisistaan poikkeavaa mekanismia: itsekokoonpano ja itseorganisaatio eli itsejärjestäytyminen. Itsejärjestäytymisessä molekyylit vuorovaikuttavat fyysisesti keskenään vakaassa joustavassa rakenteessa toisin kuin itsekokoamisessa, jossa komponentit kootaan joustavaksi rakenteeksi. Biologiassa itsejärjestäytymistä tapahtuu avoimessa järjestelmässä eli ympäristön kanssa vuorovaikutuksessa olevassa systeemissä, joka on ajettu pois lämpötasapainostaan eli alueesta, jossa systeemi tuottaa ja

luovuttaa yhtä paljon lämpöä. Itsejärjestäytymisessä tapahtuu ajansaatossa evoluutiota luonnonvalinnan seurauksena. Itsejärjestäytyminen liittyy organismin sopeutumiseen ja kehitykseen. Itsejärjestäytyminen on hyvin laaja käsite, ja sitä tapahtuu luonnossa monenlaisissa elävissä järjestelmissä. Esimerkiksi ihmisen aivoja sekä puun kasvua voidaan pitää itsejärjestäytyvänä rakenteena soluilla olevan itsejärjestäytymiskyvyn vuoksi. Itsejärjestäytymisen ymmärtämistä voidaan hyödyntää keinotekoisien kudosten valmistamisessa. (Sthijns ym., 2019.)

Itsejärjestäytyminen on määritelty solubiologiassa organelin tai makromolekyylikompleksin ominaisuudeksi luoda komponenteista rakenne vuorovaikutusten avulla spontaanisti ilman ulkoista ohjausta. Itsejärjestäytyvässä kompleksissa molekyyliosien vuorovaikutukset määräävät rakenteen toiminnan ja ulkomuodon. (Dundr & Misteli, 2001.) Proteiinimolekyylit ovat elävässä solussa jatkuvasti hetkellisissä vuorovaikutuksissa monien eri komponenttien kanssa, mikä mahdollistaa itsejärjestäytymisen. Itsejärjestäytyminen on keskeistä elämälle, koska se mahdollistaa toimivien kokonaisuuksien muodostumisen.

2.1.1 Proteiinien natiivirakenne

Proteiinien natiivirakenne tarkoittaa oikein laskostunutta ja biologisesti toimivaa muotoa proteiinista. Proteiinien natiivirakenne on termodynaamisesti suotuisin ja vakain muoto suurimmalle osalle proteiineista. Natiivirakenne on rakenteeltaan tiivis, eikä se yleensä sisällä kanavia tai aukkoja. Natiivirakenteisen proteiinin stabiilisuus on monien eri sidosten ja vuorovaikutusten ansiota, jotka ovat esitettyinä kuvassa 1. Lisäksi rikkisillat stabiloivat natiivirakennetta. Natiivirakenne voi kuitenkin hajota denaturaatiossa lämpötilan tai tiettyjen kemikaalien konsentraation nousun seurauksena, koska proteiinien optimiolosuhtealue eli ympäristötekijöiden vaihteluväli, jonka proteiinien rakenne sietää on hyvin kapea. Proteiini voi kuitenkin spontaanisti palautua natiivirakenteeseen suotuisten olosuhteiden palautuessa. Lisäksi tunnetaan myös termostabiileja proteiineja eli proteiineja, jotka eivät helposti tuhoudu tai menetä toimintaansa korkeissakaan lämpötiloissa. Yksi tällainen termostabiili proteiini on E. colin (engl. *Escherichia coli*) Ecdysteroidi-fosfaatti-fosfataasi eli E-PPaasi, joka aktivoituu eli muuttuu T-PPaasiksi vasta 96 °C:ssa heksameerirakenteen tiivistymisen seurauksena. Heksameerirakenteen tiivistymisen ansiosta proteiinin entsymaattinen toiminta aktivoituu.



Kuva 1. Natiivirakenteista proteiinia koossa pitävät ja rakenteeseen vaikuttavat voimat: kovalenttinen- ja hydrofobinen -vuorovaikutus, vetysidos, elektrostaattinen vuorovaikutus eli suolasilta sekä proteiinien väliset voimat eli Van der Waals ja repulsio. (Kuva muokattu Malik, 2024)

Proteiinien natiivirakenne muodostuu laskostumisprosessissa ja siihen vaikuttaa laskostettavan peptidiketjun aminohapposekvenssi. Samanlaiset aminohapposekvenssit laskostuvat samanlaisiksi rakenteiksi, ja tätä tietoa voidaan hyödyntää eri tutkimuksissa proteiindirakenteita ennustettaessa. Natiivirakenne on joustava rakenne, mikä mahdollistaa biologisesti tärkeät konformaatiomuutokset eli avaruudellisen sijoittumisen muutokset. Konformaatiomuutokset jaetaan kolmeen tasoon: Pienen mittakaavan muutokset, joissa osa polypeptidiketjusta voi omaksua erilaisia konformaatioita ja atomit ovat jatkuvassa liikkeessä. Esimerkiksi kuparista riippuvainen amiini-oksidaasi (engl. copper amine oxidases, CAO) aktivoituu pienen pyörähtämisliikkeen seurauksena CAO:n histidiinien suuntauksen muuttuessa. Toinen konformaatiomuutostaso on proteiinien rakenteessa tapahtuvat suuret muutokset kuten sarana-alueen muutos ja ligandin sitoutumisesta aiheutuva konformaatiomuutos. Kolmas konformaatiomuutostaso on väärin laskostuneiden proteiinien aggregoituminen eli kasautuminen.

2.1.2 Laskostuminen

Laskostuminen perustuu laskostamattoman ja energeettisesti suotuisan muodon väliseen energia eroon. Laskostetussa muodossa, johon atomikompleksit energeettisesti pyrkivät, ei-kovalenttiset vuorovaikutukset, kuten vetysidokset, ovat yleisiä ja voimakkaita ja entropia on alhainen, mikä mahdollistaa laskostuneen muodon muodostumisen. Laskostumisessa proteiinin pysyvyys ja muoto muuttuvat. Proteiinien natiivirakenne onkin eräänlainen sopimus, jossa proteiini on vakaa,

toimintakykyinen ja dynaaminen. Erilaisten konformaatioiden suuri määrä mahdollistaa proteiini- ja nukleotidiketjun mukautumiskyvyn sekä sen, että laskostumisreaktiot ovat heterogeenisiä eli moninaisia ja kompleksisia. (Kim ym., 2013.)

Proteiinien laskostamisprosessiin liittyy kolme proteiinin eri muotoa: laskostamaton tila, osittain laskostunut eli välituote tila (engl. molten globule, MG) ja laskostettu muoto. Laskostamattoman ja MG:n välinen vaihe on hidas, kun taas MG:n ja laskostetun välinen vaihe on nopea. (Kim ym., 2013.) Laskostaminen tapahtuu ennalta määrättyssä järjestyksessä, ja sen kesto vaihtelee paljon proteiinien mukaan. Lisäksi laskostaminen voi osittain käynnistyä jo ennen kuin proteiini on kokonaan transloitu. Tällaisissa tapauksissa proteiinit alkavat laskostua jo ribosomin ulostulotunnelissa ja ribosomi toimii yhtenä stabiloivana tekijänä laskostumisessa. Ilmiötä kutsutaan kotranslationaaliseksi laskostumiseksi. (Finkelstein, 2018.) Uusien tutkimusten myötä on löydetty myös proteiineja, jotka laskostuvat spontaanisti ja itsenäisesti, mutta niiden heikkoudeksi on havaittu vähäisempi tehokkuus sekä alttius väärin laskostumiselle (Kim ym., 2013). Laskostamisprosessissa hydrofobiset aminohappotähteet haudataan muodostuvan rakenteen sisäosiin epäsuotuisten vuorovaikutusten välttämiseksi. Hydrofobisia aminohappotähteitä hyödynnetään myös laadunvalvonnassa. Jotkin proteiinien toiminnalliset osat voivat jäädä myös laskostamattomiksi.

2.2 *Proteiinien rakennetasot*

Yleensä proteiinien rakennetasot luokitellaan primääri-, sekundaari-, tertiääri- ja kvaternääri-tasoiksi. Proteiinien laskostaminen alkaa primäärirakenteesta, joka on lineaarinen eri aminohapoista koostuva ketju, jolla on amino- ja karboksyyli- ja karbonyyli-ryhmät. Primäärirakenteen laskostamisessa aminohappojen kemiallisen monimuotoisuuden avulla rakentuu lopulta toiminnallinen proteiini. 20:n erilaisen aminohapon erot johtuvat sivuketjujen erilaisista fysiokemikaalisista ominaisuuksista kuten muodosta ja varauksesta.

Aminohappojen sivuketjujen eri ominaisuudet vaikuttavat itse proteiinin lopulliseen rakenteeseen. Esimerkiksi glysiini, jolla ei ole sivuketjuja, on erittäin joustava, mikä mahdollistaa sen sijainnin proteiinin rakenteen sisällä tai ulkopuolella. Vastaavasti bentseenirenkaattomissa eli alifaattisissa aminohapoissa kuten leusiinissa, hydrofobinen sivuketju piilotetaan laskostamisessa rakenteen sisään. Lisäksi alifaattiset aminohapot vuorovaikuttavat ligandien hydrofobisten osien kanssa sekä keskenään muodostetussa proteiinissa.

Monet proteiinit läpikäyvät laskostumisen sytoplasmassa vapauduttuaan ribosomista, mutta osa laskostuu spesifeissä osastoissa kuten ER:llä heti ribosomissa suoritetun translaation jälkeen (Dobson, 2003). Proteiinien spontaanin laskostumisen käynnistävä tekijä on hydrofobisten

sivuketjujen ja veden vuorovaikutuksen minimointi. Spontaania laskostumista ohjaavat pääosin vetysidosten muodostuminen, van der Waals ja hydrofobiset voimat.

Sekundaarirakenne on tyypillisesti spiraalimaisista α -helikseistä ja ei-rinnakkaisista tai yhdensuuntaisista β -levyistä koostuva rakenne. Sekundaarirakenne saavutetaan stabiloivilla molekyyliinsäisillä vetysidoksilla, jotka muodostuvat peptididoksen vedyn ja amidi- ja karboksyylihapon välille. Toisinaan aminohappoketjut voivat myös esiintyä satunnaisina kierteinä heti translaation jälkeen ilman, että ne ovat saavuttaneet vielä varsinaista sekundaarirakennetta.

Tertiäärirakenne muodostuu tietyissä vaiheissa, ja rakenteen vakaus varmistetaan disulfididoksilla ja kovalenttisilla sidoksilla. Toiminnallinen tertiäärirakenne muodostuu sekundaarirakenteiden hydrofiilisten ja hydrofobisten osien avulla hydrofobisessa romahduksessa. Hydrofobisessa romahduksessa hydrofobiset osat suuntautuvat proteiinin ydintä kohti vesipitoista ympäristöä välttääkseen ja hydrofiiliset osat kohti vesipitoista ympäristöä. Viimeinen rakennetaso, eli kvaternäärirakenne, muodostuu tertiäärirakenteiden laskostettujen polypeptidiketjujen välisten vuorovaikutusten seurauksena. Kvaternäärirakenne on usein ei-kovalenttinen kokonaisuus ja eri tertiäärirakenteiden yksiköiden rajapinnoilla vaikuttavat hydrofobiset vuorovaikutukset. Tertiäärirakenteiden yksiköiden vuorovaikutuksia on havaittu sekundaarirakenteen elementtien välillä ja myös alayksiköiden väliset disulfididokset ovat mahdollisia. Lisäksi metalli-ioninen tiedetään toimivan vuorovaikutusten välittäjinä kvaternäärirakenteessa.

2.3 *Proteiinien laskostumisen säätely nisäkässoluissa*

2.3.1 Kätilöproteiinit

Laskostamista avustetaan laskostamiskatalyytti-proteiineilla, esimerkiksi peptidyyli-prolyyli-isomeraaseilla, jotka katalysoivat laskostamisprosessin hitaita vaiheita (Hartl, 2017). Lisäksi kriittisiä vaikuttajia tehokkaassa laskostumisprosessissa, ja proteiinien homeostasiassa ovat kaperoniinit eli kätilöproteiinit. Kätilöproteiinit toimivat erityisesti solustressissä, ja ne pyrkivät estämään haitallisia vuorovaikutuksia ja aggregoitumista. Kätilöproteiinit stabiloivat muodostuvaa proteiinirakennetta kiinnittyessään siihen ja avustavat laskostumisessa. Kätilöproteiinit eivät varsinaisesti nopeuta laskostumista vaan tarjoavat polypeptideille tehokkaammat olosuhteet omaksua oikea konformaatio (Dobson, 2003).

Kätilöproteiineja esiintyy ympäri solua, ja ne mahdollistavat soluille kyvyn hallita ja ylläpitää suurta määrää aggregoitumiselle herkkiä peptidiketjuja laskostamisessa. Kätilöproteiinit työskentelevät yhdessä konservoituneilla reiteillä osallistumatta itse lopulliseen rakenteeseen eli ne eivät näy

lopullisessa proteiinissa. Ne ovat rakenteeltaan suuria sylinterikomplekseja, joiden keskellä on laskostumispaikka laskostuvalle aminohappoketjulle. Kätilöproteiinit ovat myös osa laadunvalvontaa, ja ne vastaavat osaltaan proteolyyttisen hajottamisen toteutumisesta. (Kim ym., 2013.) Laadunvalvonnassa kätilöproteiinit tunnistavat virheellisessä konformaatioissa olevat proteiinit ja pakottavat ne prosessoitavaksi kätilöproteiinien onteloon hydrofobisilla tai elektrostaattisilla vuorovaikutuksilla. Kätilöproteiinien affiniteetti eli vetovoima tiettyä proteiinia kohtaan vaihtelee paljon. Myös kätilöproteiinia avustavalla proteiinilla on vaikutusta kätilöproteiiniin selektiivisyyteen. Esimerkiksi Hsp70 toimii yhdessä erityyppisten J-proteiinien eli Hsp40:n kanssa. Kaikilla J-proteiineilla on erilainen selektiivisyys laskostuneille proteiineille eli Hsp70:stä ja J-proteiinista muodostuvan kompleksin tiettyä laskostunutta proteiinia kohtaan olevaan affiniteettiin vaikuttaa, mikä J-proteiini kompleksissa on mukana. (Devi ym., 2021.) Kätilöproteiinit jakautuvat useaan eri luokkaan sekvenssihomologian eli yhdenmukaisuuden mukaan. Jaottelu tiettyyn ryhmään sekä nimeäminen perustuvat niiden molekyylipainoon. Tutkimuksissa on havaittu, että solut sisältävät vähintään kaksi erilaista päällekkäisiä toimintoja suorittavaa kätilöproteiinijärjestelmää ja että samat reitit toimivat eukaryoottisolujen sytosolissa ja soluorganelleissa (Hartl, 2017).

Monet kätilöproteiinit ovat lämpöshokki- tai stressiproteiineja. Lämpöshokkiproteiinit jaetaan kolmeen luokkaan ja niitä on havaittu niin bakteereilla kuin ihmisilläkin. Ensimmäisen luokan muodostavat pienet ATP:stä riippumattomat lämpöshokkiproteiinit. Näitä ilmennetään tyypillisesti soluissa stressitilanteissa, ja ne toimivat stabiloivina tekijöinä sekä lisäpuskurina aggregaation välttämiseksi. Toisen luokan muodostavat ATP:tä tarvitsevat kätilöproteiinit. Ne ovat rakenteeltaan monomeereja tai dimeerejä ja niiden toimintaan liittyy yleensä muita proteiineja, jotka avustavat proteiinien laskostumisessa ja muissa toiminnoissa. ATP:stä riippuvaisten kätilöproteiinien lisäksi neuroneissa on ATP:stä riippumattomia kätilöproteiineja, jotka muodostavat ohjatun verkoston proteolyyttisten reittien koneistojen sekä kätilöproteiineja avustavien proteiinien kanssa. (Ciechanover & Kwon, 2017.) Kolmanteen luokkaan kuuluvat rengasrakenteiset oligomeeriset kätilöproteiinit kuten Hsp70 ja Hsp90. Kolmannen luokan kätilöproteiinit muun muassa erottelevat ja tunnistavat laskostumisongelmaisia proteiineja tunnistamalla niiden hydrofobisia aminohappotähteitä ja sitoutuvat niihin estäen aggregaation. (Kim ym., 2013.)

Kätilöproteiinit voivat uudelleen laskostaa proteiineja kolmella eri tavalla, mutta niiden ominaisuudet tunnistaa ja sitoa poikkeavia hydrofobisia osia laskoksessa ovat samat. Ensimmäinen tapa, jota Hsp70 esimerkiksi hyödyntää, on laskostettavan proteiinin pitäminen aukinaisessa muodossa, kunnes spontaani laskostuminen toteutuu. Hsp70 voi auttaa väärin laskostuneiden proteiinien uudelleen laskostamisessa toisellakin mekanismilla. Tässä väärin laskostunut proteiini palautetaan

alkuperäiseen konformaatioon ATP:n avulla. Kolmas menetelmä on hajottamismenetelmä, jossa kättilöproteiinit, kuten ihmisen Hsp70:n, Hsp40:n ja Hsp110:n muodostama kompleksi, hyödyntävät ATP:n hydrolyysienergiaa aggregaattien liuottamiseen ja avaamiseen ja laskostumisen nollaamiseen. (Ciechanover & Kwon, 2017.)

2.3.2 Laadunvalvonta

Proteiinien laadunvalvonta pohjautuu kolmeen toiminnaltaan erilaiseen, mutta toisiinsa liittyvään järjestelmään: kättilöproteiineihin, proteolyyttiseen järjestelmään ja erikoistuneisiin laadunvalvontaosastoihin konsentrintiin. Näillä eri strategioilla proteiinit voidaan uudelleen laskostaa, hajottaa tai kuljettaa ja kerätä eristäviin laadunvalvontaosastoihin. (Bagola & Sommer, 2006.) Natiivirakenteiset proteiinit ovat hyvin herkkiä ja alttiita solunulkoisten ja solunsisäisten stressitekijöiden vaikutukselle ja niiden aiheuttamille häiriöille. Näistä häiriöistä voi seurata toksisen aktiivisuuden lisääntyminen tai rakenteen hajoaminen ja solun normaalin toiminnan estyminen. Erityisesti ympäristömyrkkujen, kuten torjunta-aineiden, on todettu vaikuttavan negatiivisesti proteiinien laadunvalvontaan (engl. Protein quality control, PQC) häiritsemällä proteosomaalisen hajoamiskoneiston tai kättilöproteiinien toimintaan. Laadunvalvontajärjestelmän ongelmista seuraa, ettei rakenteellisesti poikkeavia polypeptidejä huomata ja hajoteta, mikä taas voi johtaa polypeptidien keskinäiseen aggregaatioon ja patologiaan tiloihin kuten Huntingtonin tautiin. PQC on tärkeä oikein laskostuneiden ja väärin laskostuneiden proteiinien välistä tasapainoa ylläpitävä kokonaisuus ja merkittävä tekijä solujen selviytymisessä ja normaalissa toiminnassa. (Devi ym., 2021.)

PQC koostuu kättilöproteiineista, ubikitiini-proteosomi järjestelmästä (engl. Ubiquitin-proteasome system, UPS) ja autofagiakoneistosta. PQC:ssä kättilöproteiinit ovat yleisin väärin laskostuneiden proteiinien korjauksesta huolehtiva mekanismi, mutta jos kättilöproteiinien kapasiteetti ei riitä tai uudelleen laskostaminen ei ole mahdollista käynnistyvät muut PQC-mekanismit (Rolli & Sontag, 2022). PQC-järjestelmää ohjaa esimerkiksi kalneksiini, joka tunnistaa ja ohjaa poikkeavasti laskostuneet proteiinit hajotukseen. Oikein laskostuneiden proteiinien erottaminen väärin laskostuneista tapahtuu glykosylaatio- ja deglykosylaatioreaktioiden avulla (Dobson, 2003). Lisäksi kalneksiini toimii endoplasmakalvostolla (engl. endoplasmic reticulum, ER) eräänlaisena liikenteenohjaajana kalretikuliinin, Hsp70:en eli BiP:n (engl. Binding immunoglobulin protein) ja ERp 57:n eli endoplasmisen retikulumin lumenaalisen proteiinin (engl. endoplasmic reticulum-resident protein 57) kanssa tunnistuen virheellisesti laskostuneet peptidit ja pitäen ne ER:llä ja sallien vain oikein laskostuneiden pääsyn sytosoliin. (Chaudhuri & Subhankar, 2006.) Tällä ER:llä tapahtuvalla laadunvalvonnalla on iso merkitys, koska solun ulkopuolella kättilöproteiinien määrä on

vähäinen, jolloin virheen huomaaminen ja korjaaminen on haastavampaa. Esimerkiksi klusteriini on yksi harvoista solun ulkopuolella toimivista kättilöproteiineista. (Dobson, 2003.)

Eukaryoottisolujen laadunvalvontajärjestelmässä toimii kaksi proteolyyttistä järjestelmää eli UPS:n ubikitiini-proteasomi-reitti (engl. Ubiquitin proteasome pathway, UPP) sekä autofagia. UPS on solun sisäinen hajotusjärjestelmä, ja se huolehtii yli 80 % epänormaalien ja normaalien solun sisäisten proteiinein hajotuksesta. Lisäksi se toimii solusyklissä ja apoptoosissa eli ohjelmoidussa solukuolemassa. UPS:n ubikitiini-proteasomi-reitin toiminta on riippuvainen kättilöproteiineista, jotka ovat vastuussa väärin laskostuneiden proteiinien tunnistuksesta (Ciechanover & Kwon, 2017). Ubikitiini-proteasomi-reitin päätehtävä on liittää ubikitiini kohdeproteiiniin ja hajottaa kohdeproteiini. UPP:n toiminta koostuu kolmen eri entsyymien sarjoittaisesta yhteistoiminnasta. E1-entsyymi toimii reitin aktivoivana entsyyminä. Aktivoinnin seurauksena ubikitiini siirretään E2-entsyymille ja E2 kuljettaa ubikitiinin kohdeproteiiniin. Ubikitiinin kiinnittyminen kohdeproteiiniin tapahtuu E3-entsyymien avulla, joka toimii ligaasina eli liittäjänä entsyyminä. Lopuksi proteasomi hajottaa ubikitinoidut substraatit noin 8–12 aminohapon mittaisiksi peptideiksi, jotka aminopeptidaasi pilkkoo vapaiksi aminohapoiksi tai ne esitellään solun pinnalla immuunipuolustukselle. (Kloetzel & Ossendorp, 2004.)

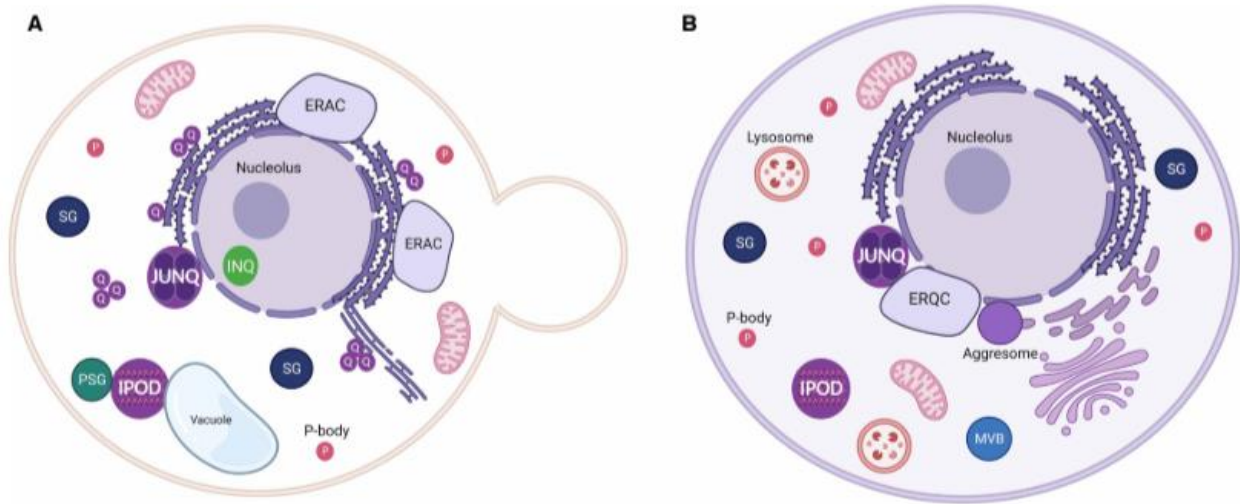
Toinen laadunvalvontaverkoston proteolyyttinen järjestelmä on autofagia, joka on osa lysosomaalista hajotusjärjestelmää. Autofagia on prosessi, jossa solu hajottaa ja kierrättää lysosomin avulla omaa sytosolista materiaalia. Autofaginen järjestelmä on varajärjestelmä, johon UPS:ä paenneet tai aggregoitumiselle alttiit proteiinit ohjataan. Autofagia jaetaan kolmeen eri luokkaan: mikroautofagiaan, CMA:han (engl. chaperone-mediated autophagy CMA) ja makroautofagiaan sen mukaan, millä mekanismilla lasti on lysosomiin toimitettu. Mikroautofagiassa lasti niellään suoraan ja hajotetaan. Makroautofagiassa p62 ja NBR1 autofagia-adaptoriproteiineilla kerätyt väärin laskostuneet proteiinit kerääntyvät autofagosomiin p62 ja LC3 vuorovaikutuksessa. Tämä jälkeen autofagosomi ja lysosomi fuusioituvat ja muodostuu autolysosomi. Autolysosomissa lysosomin hydrolaasit hajottavat lastin. CMA on erikoistunut sytosolisten proteiinien hajotukseen erityisesti KFFERQ-pentapeptidisekvenssin omaaviin, väärinlaskostuneisiin proteiineihin. CMA:ssa sytosolinen molekyylikaperoni Hsc70 tunnistaa hajotukseen kuuluvan proteiinin. Tunnistamisen seurauksena proteiini ohjautuu lysosomaaliseen vesikkeliin hydrolaasien hajotettavaksi. (Ciechanover & Kwon, 2017.)

Erilaisiin laadunvalvontaosastoihin konsentroiduissa eli eristämismekanismissa keskiössä ovat erilaiset osastot, joihin kohdeproteiinit ohjataan. Eristyksen merkitys riippuu väärinlaskostuneen proteiinin liukoisuudesta. Liukenemattomat proteiinit eristetään niiden myrkyllisten vuorovaikutusten

estämiseksi, kun taas liukoiset konsentroidaan laadunvalvontaosastoihin hajoamisen tai uudelleen laskostamisen tehostamiseksi. (Chen ym., 2011.) Solussa toimivista laadunvalvontaosastoista tunnetaan muun muassa jukstanukleaarinen laadunvalvonta (engl. juxtannuclear quality control site, JUNQ), joka eristää enimmäkseen liukoisia väärin laskostuneita proteiineja. Toinen tunnettu osasto on erityisesti stressiolosuhteissa toimiva perivakuolaarinen laadunvalvontaosasto. Perivakuolaarisen osaston tiedetään sisältävän liukenemattomia, aggregoituneita substraatteja, josta tulee myös laadunvalvontaosaston nimitys IPOD (engl. insoluble protein deposit). Lisäksi tumassa tiedetään toimivan oma intranukleaarinen laadunvalvontaosasto (engl. Intranuclear quality control cite, INQ). (Devi ym., 2021.)

Tutkimuksissa on saatu selville JUNQ:in ja IPOD:in muodostuvan aktiivisella solun kuljetuskoneistosta riippuvaisella tavalla. Lisäksi kättilöproteiinien on ehdotettu vaikuttavan niiden muodostumiseen. Esimerkiksi sytosolisten väärin laskostuneiden tai aggregoituneiden proteiinien kanssa vuorovaikuttavan Hsp 140 on havaittu sijaitsevan IPOD:in ja JUNQ:in osastojen lähellä, jossa se mahdollisesti avustaa liuottamaan aggregaatteja uudelleenlaskostumisen tai hajoamisen edesauttamiseksi. IPOD ja JUNQ välillä on myös muita eroja. Esimerkiksi JUNQ:in on havaittu olevan ubikitiini-riippuvainen proteiinien hajotuksessa, mutta IPOD:in ei. Lisäksi JUNQ:in on havaittu toimivan väliaikaisena varastopaikkana väärin laskostuneille hajotetuille proteiineille, joiden uudelleen laskostaminen tai hajottaminen ei ole mahdollista ubikitiini-proteosomisysteemille tietyissä stressiolosuhteissa. (Bagola & Sommer, 2006.)

Osastoja, joihin väärin laskostuneita proteiineja voidaan eristää, löytyy niin solun sytosolista kuin tumasta (kuva 2), ja ne käsittelevät erityyppisiä väärin laskostuneita proteiineja. JUNQ ja IPOD ovat sytosolisten proteiinien keräysoastoja, kun taas INQ:ihin kerätään tuman väärin laskostuneet proteiinit. (Sontag ym., 2023.) Muita sytoplasman osastoja ovat MVB (engl. multi-vesicular bodies), stressigranulat ja P-kappaleet. Lisäksi nisäkässoluille ominaisia ovat aggresomit ja ER-laadunvalvontajärjestelmä (engl. Endoplasmic reticulum quality controll, ERQC). Nisäkässoluista puuttuvat Q-kappaleet, ERAC (engl. ER-associated compartment) ja proteosomivarastogranulat, jotka taas hiivasolulta on tunnistettu. (Rolli & Sontag, 2022.) Lisäksi muiden solunsisäisten osastojen on havaittu olevan yhteydessä endoplasmiseen retikulumiin (engl. Endoplasmic reticulum, ER) ja sytosoliin sekä membraaniproteiinien hajotukseen. Samoin ERAC:illa on havaittu olevan samanlaisia piirteitä JUNQ:in kanssa ja ERAC:in keräysoastojen on havaittu sijaitsevan JUNQ alueella ER:n läheisyydessä. Osastojen yhteydestä ja toiminnasta on kuitenkin edelleen avoimia kysymyksiä kuten mitkä piirteet ovat yleisiä kaikille osastoille ja mitkä erikoistumia. (Bagola & Sommer, 2006.)



Kuva 2. Eristämismekanismissa toimivat proteiinien laadunvalvontaosastot. A kuva on hiivasolusta ja B nisäkässolusta. Hiivassa sytosolisia osastoja ovat JUNQ, IPOD, Q-kappaleet, P-kappaleet, stressigranulat, ERAC ja INQ on tumanosasto. B kuvan nisäkässoluissa sytosolisia osastoja ovat myös aggresomit ja MVB (engl. multivesicular body). Lisäksi nisäkässoluissa ER linkittyneenä toimii ERQC ja itse tuma voi myös toimia itsenäisesti eristysosastona. (Rolli & Sontag, 2022.)

3 Laskostumishäiriöt aivojen rappeumasairauksissa

Lääketieteessä proteiinien laskostumishäiriöstä johtuvat sairaudet kuuluvat proteopatiaksi kutsuttuun sairausluokkaan. Näissä sairauksissa proteiinien epänormaalin rakenteen seurauksena kehon toiminta häiriintyy solu- kudus- ja elintasolla. Proteopatian kehitykselle altistavia riskitekijöitä on myös tunnistettu. Esimerkiksi translaation jälkeiset modifikaatiot ja kohdeproteiinin tuotannon lisääntyminen on tunnistettu riskitekijöiksi. Proteopatasairauksissa tutkimuskohteena on ollut pitkään erityisesti prioneihin liittyvä proteiinien laskostumishäiriöiden kykyä levitä infektiivisesti solujen välillä. Tällaisessa leviämisessä väärin laskostuneet pienet partikkelit kykenevät monistamaan laskostamismuutosta terveisiin, ympärillä oleviin proteiineihin aiheuttaen sairauden tehokkaan etenemisen.

Proteopaattisia sairauksia aiheuttavien proteiinien yhteisiä piirteitä ovat esimerkiksi β -levyn sekundaarirakenteen määrän lisääntyminen ja tertiäärinen konformaation muutos, mikä lisää proteiinin aggregoitumista tehden aggregaatin resistentiksi poistojärjestelmälle. Aggregaattityyppejä on myös useita erilaisia, mutta niille kaikille yhteistä on liukenemattomuus ja metabolinen vakaus. Proteiiniaggregaattien kertymiseen solussa vaikuttaa useampi eri tekijä kuten proteiinisynteesin nopeus, proteaasiverkosto sekä kätilöproteiinien tuottaminen. (Chaudhuri & Subhankar, 2006.)

3.1 Neurodegeneratiiviset sairaudet ja proteiinien aggregaatio aivoissa

Alzheimerin tauti, Lewyn kappale -tauti, Parkinsonin tauti, otsa-ohimolohkorappeuma ja amyotrofinen lateraaliskleroosi (ALS) ovat keskushermoston proteopatioita. Eri sairauksissa alkuvaiheet voivat poiketa toisistaan, mutta yleisenä piirteenä kaikissa on muun muassa aggregaattien muodostumisessa tapahtuva α -kierrerakenteen katoaminen ja β -levyrakenteen lisääntyminen. Lisäksi proteopatioissa tapahtuu usein α -kierteen ja β -levyn samanaikainen destabiliaatio, josta aggregaatti muodostuu. Epäselvää on kuitenkin vielä indusoiko proteiinien kerääntyminen konformaatiomuutoksen vai johtuuko aggregaatio väärinlaskostumisesta. On myös ehdotettu, että spontaanit tai indusoidut konformaatiomuutokset johtavat väärin laskostuneen proteiinin ilmentymiseen ja aggregaattien muodostumiseen. (Chaudhuri & Subhankar, 2006.)

Chaudhuri ja kollegat (2006) esittävät, että suurelta osin ihmisten hermostoa rappeuttavien ja lopulta solukuoleman sekä sitä kautta toimintakykyä heikentävien sairauksien ensisijaisena syynä on proteiinien väärinlaskostuminen ja aggregaatio. Myös taustalla vaikuttavia tekijöitä on ehdotettu, muun muassa Csermely (2001) on esittänyt, että ikääntymisen myötä yleistyvien hermostorappeumasairauksien taustalla on kättilöproteiinien ylikuormitus, jossa väärin laskostuneiden proteiinien kertyminen estää kättilöproteiineja korjaamasta fenotyypillisiä hiljaisia mutaatioita, mistä seuraa proteopatiin taudin puhkeaminen. Lisäksi on esitetty, että proteiinien natiivirakenne muuttuu solu ympäristössä epästabiiliksi amyloidigeeniseksi välituotteeksi, joista kehittyy pieniä oligomeereja ja edelleen amyloidiksi kutsuttua fibrillimäistä rakennetta. Näiden rakenteiden merkittävä ja haastava piirre solujen kannalta on niiden hyvin organisoitu vetysidosrakenne, joka antaa rakenteelle ainutlaatuisen kineettisen vakauden (Dobson, 2006). Vaikka aluksi väärin laskostuneita proteiineja voidaan yrittää laskostaa uudelleen, oikein laskostuneen muodon saanto on kuitenkin heikko termodynaamisesti stabiilien ”umpikujakonformaatioiden” (engl. dead-end) ja ”polun ulkopuolisten” (engl. off-pathway) välituotteiden vuoksi, jotka usein johtavat liukenemattomien aggregaattien muodostumiseen ja erilaisiin sairauksiin kuten amyloiditauteihin.

Amyloiditaudeissa kudoksiin kertyy amyloidia ja muuta liukenematonta proteiinipitoista materiaalia. Lisäksi muodostuneisiin sakkaumiin liittyy usein myös muita proteiineja ja hiilihydraatteja. (Dobson, 2006.) Amyloideihin liittyville hermostorappeuma sairauksille on tyypillistä väärin laskostuneiden proteiinien aiheuttama toksisuus. Esimerkiksi Alzheimerin taudissa alkaa muodostua beeta-amyloidiplakkia, joka on toksista ja haittaa hermosolujen normaalia toimintaa. Sairauksissa aggregaattien havaitseminen myös vaihtelee. Toisinaan se on hyvin vaikeaa, esimerkiksi hermoston rappeumasairauksissa aggregaattien määrät voivat olla niin pieniä, ettei niitä edes havaita, kun taas joissain sys-

teemisissä sairauksissa aggregaatit havaitaan helposti ja proteiinia voi löytyä tällöin useita kiloja yhdestä tai useasta elimestä. Amyloidit ovat hyvin erilaisia rakenteeltaan mutta aggregoituneilla muodoilla on havaittu monia yhteisiä piirteitä. Esimerkiksi kaikki amyloidisakkaumat käyttäytyvät optisesti samalla tavalla sitoessaan tiettyä väriainemolekyyliä. Lisäksi monien amyloidien fibrillaariset rakenteet ovat morfologialtaan hyvin samankaltaisia. (Dobson, 2006.) Myös kätilöproteiinien konsentraation kasvu solussa on yhdistetty vasteeksi epätyypillisesti laskostuneiden proteiinien lisääntymiseen (Chaudhuri & Subhankar, 2006).

Amyloidien muodostuminen alkaa liukoisten oligomeerien epäspesifisten vuorovaikutusten seurauksena, mutta myös esimerkiksi domeenien vaihdot eli rakenteelliset siirtymät voivat olla tärkeitä amyloidin muodostumisessa. Varhaisimmat amyloidien rakenteet ovat misellejä tai amorfisia aggregaatteja eli pieniä kuulamaisia toisiinsa liittyneitä rakenteita. Esifibrillaariset aggregaatit muuttuvat profilamenteiksi omaksuttuaan erottuvamman morfologian. Profilamentit ovat ohuita, toisinaan kiharaisia lyhyitä rakenteita, jotka kasautuvat mahdollisesti sivusuunnassa fibrilleiksi jonkintasoisen rakenteellisen uudelleen järjestäytymisen seurauksena. Alussa ilmeneville aggregaateille on tyypillistä suhteellisen epäjärjestäytynyt rakenne. Varhaisten aggregaattien tiedetään kuitenkin jossain pisteessä omaksuvan hyvin erottuvia rakenteita. Varhaisten aggregaattien piirteenä on myös niissä havaittavat proteiinisegmentit, jotka ovat normaalisti hautautuneena. (Dobson, 2006.) Fibrillaariset amyloidit ovat tavallisesti ekstrasellulaarisia mutta esimerkiksi Alzheimerin taudissa tavataan solun sisäisiä fibrillaarisia kerrostumia.

3.2 *Alzheimerin tauti*

Alzheimerin tauti eli AD on kuolemaan johtava aivojen hermostoa rappeuttava aivosairaus. Erityisesti aivokuoren neuroninen kato on tunnusomaista AD:lle. Sairaudelle ei ole olemassa vielä parannuskeinoa ja olemassa olevien lääkkeiden hyödyt ovat suhteellisen pieniä. Lisäksi AD on pääasiallinen demencian eli muistiin ja oppimiseen liittyvän oirekokonaisuuden aiheuttaja. AD:sta kärsii tällä hetkellä pelkästään Euroopan Unionissa noin 7 miljoonaa ihmistä ja sitä voidaan pitää myös tämän vuosisadan yhtenä tappavimpana ja yhteiskunnalle kalleimpana sairautena, jonka kustannusten ja vaikutusten odotetaan kasvavan tulevaisuudessa entistä voimakkaammin (Dumas ym., 2023). Alzheimerin tauti vaikuttaa kognitiivisiin prosesseihin, motoriikkaan ja käytökseen. Taudin kehittymiseen vaikuttavat useat geneettiset ja ympäristön riskitekijät. AD:sta on myös poikkeavia tautimuotoja kuten logopeeninen etenevä anafasia ja posteriorinen kortikaalinen atrofia muoto (Montembeault & Migliaccio, 2023). Epätyypillisissä tautimuodoissa varhaiset oireet eivät ole selviä muistihäiriöitä vaan oireena voi olla käytöksellisiä oireita tai kielellisten toimintojen tai toiminnan ohjauksen heikentyminen.

Alzheimerin tauti voidaan jakaa satunnaiseen ikääntymiseen yhteydessä olevaan muotoon, joka aiheutuu geneettisten ja ympäristön riskitekijöiden yhteisvaikutuksesta. AD tapauksista 90–95 % on satunnaisia. Toinen muoto on suvullinen ja se on yhteydessä taudin aikaiseen puhkeamiseen eli taudin alkamiseen ennen 65 vuoden ikää. Suvullisessa muodossa jokin dominantti geeni edistää taudin kehittymistä. Suvullisesta muodosta on kyse 5–10 % sairastapauksissa, ja se voi aiheutua muutamien eri geenien mutaatiosta, kuten kromosomi 14. *PSEN1*-geenin mutaatiosta. (Galimberti & Scarpini, 2012.)

3.2.1 Alzheimerin taudin patogeneesi, diagnosointi ja riskitekijät

AD näkyy aivoissa puheesta ja tiedon prosessoinnista vastaavan aivokuoren (lat. cortex cerebri) sekä muistille keskeisen hippokampuksen (lat. hippocampus) surkastumisena. Lisäksi aivopoimut ovat kaventuneet ja niitä ympäröivät uurteet leventyneet sekä aivo-selkäydinneste kammiot (lat. ventriculus encephali) laajentuneet. Myös mikroglia-solujen muoto on muuttunut. Muutokset aivoissa johtuvat hermokudoksen neuronien ulkoisesta plakin kertymisestä sekä neuronien sisäisistä säikeistä. Alzheimerin taudin kehitykseen kuuluu kliininen oireeton vaihe, jota seuraa varhaisen taudin vaihe ja lopulta dementia vaihe. Noin 85 % Alzheimerin tapauksista on muistipainotteisia eli oireet alkavat muistihäiriöillä kuten uuden oppimisen vaikeutumisena. Tauti etenee yleensä hitaasti ja tasaisesti, mutta etenemisessä on paljon vaihtelua yksilöiden välillä. Tyypillistä taudin etenemisessä on myös nopeamman etenemisen vaiheet. Taudin kestossa ensioireista kuolemaan on hyvin paljon vaihtelua. Keskimääräiseksi kestoksi on arvioitu 12 vuotta. Alzheimerin taudin eteneminen jaetaan kolmeen muotoon: varhaiseen, keskivaikeaan ja vaikeaan. Varhaisen muodon tyypillisiä oireita ovat muun muassa monimutkaisten ja abstraktien asioiden ymmärtämisen vaikeutuminen, ajantajun ja ympäristön hahmottamisen heikkeneminen sekä eristäytyminen. Keskivaikeassa muodossa voi ilmetä erilaisia harhoja, sairauden tunne tyypillisesti häviää ja rutiinitoiminnoissa avuntarve kasvaa. Vaikean muodon piirteitä ovat muun muassa ajoittaiset epileptiset kohtaukset, raajojen jäykistyminen ja kävelykyvyn heikkeneminen. Myös puhumisen ja ymmärtämisen kyky vaikeutuu huomattavasti tai jopa häviää.

Alzheimerin taudissa kliinisen diagnoosin osuvuus on 90 % luokkaa. Diagnoosikriteerit taudissa ovat hyvin tiukat, koska ainoa täysin luotettava tapa taudin osoittamiseksi on aivokudoksen näyte, jota ei voida ottaa elävältä potilaalta. Tämän vuoksi sairaus todetaan usein poissulkumenetelmällä. AD diagnosoidaan patofysiologisten ja kognitiivisten testien yhdistelmällä. Kliininen diagnoosi perustuu dementian merkkeihin ja biomarkkereihin kuten amyloidipositroniemissiotomografiaan (PET) ja A β - tai τ -peptidien patologisiin tasoihin aivo-selkäydinnesteessä. CSF:ää ja PET-kuvausta hyödynnetään melko vähän muun muassa korkeista kustannuksista johtuen (Dumas ym., 2023). Hyvin varhaisessa

taudin vaiheessa oireita ei yleensä edes huomata. Ensimmäisenä oireena on yleensä lyhytkestoisen muistin huonontuminen. Seuraavaksi ilmenee kielellisten ja motoristen taitojen menetys, minkä jälkeen tapahtuu pitkäkestoisen muistin heikkeneminen. Lopulta potilaan tietoisuus häviää ja on saavutettu vegetatiivinen vaihe. Tauti päättyy lopulta yksilön kuolema usein infektion aiheuttamana.

3.2.2 Neuropatologiset tunnusmerkit

Alzheimerin taudissa tärkeimmät neuropatologiset tunnusmerkit ovat ekstrasellulaariset eli solun ulkoiset beeta-amyloidi-plakit eli A β -plakit ja intrasellulaariset neurofibrilliset säikeet eli NFT:t (Galimberti & Scarpini, 2012). Alzheimerin taudissa aivojen neuronien solukeskukseen tai aksonin päähän alkaa kertyä beeta-amyloidia, jota terve neuronin solukeskus tuottaa normaalistikin. Taudissa neuronin solukeskuksessa amyloidiprekursoriproteiinin (APP) pilkkoutuminen on lisääntynyt, ja kerääntynyt A β alkaa muodostaa proteolyysille immuuneja ja erittäin liukenemattomia fibrillejä, jotka tunnetaan englanniksi nimeltä senile plaques (SP) (Galimberti & Scarpini, 2012). Beeta-amyloidin kertyminen hidastaa solun normaaleja toimintoja kuten solusignalointia ja neuronien välistä kommunikaatiota.

Taudissa esiintyvät NFT:t koostuvat tau-proteiineista. Tau-proteiini on neuronien tukirangan toimintaa suojaava proteiini. Tau-proteiini edistää hermosolujen aksonien tukirangan mikrotubulusten rakentumista eli polymerisaatiota ja suojaa mikrotubuluksia hajotukselta eli depolymerisaatiolta. AD:ssa tau-proteiinin muoto muuttuu hyperfosforylaation seurauksena, jolloin se muodostaa liukenemattomia fibrillejä. AD:n pahentuessa plakkien ja säikeiden määrä kasvaa, ja lopulta ne aiheuttavat neuronien kuoleman. Neuronien kuolema voi tapahtua myös immuunijärjestelmän toiminnan vuoksi, kun astrosyytit, jotka tunnistavat beeta-amyloidin TLR4 reseptoreillaan, alkavat yhdessä mikroglia-solujen kanssa tuottaa tulehdusreaktion käynnistäviä inflammatorisia yhdisteitä, sytokiineja, kuten IL-1 β :aa ja TNF- α :aa, jotka ajavat neuronin apoptoosiin lisäten neuronien tuhoutumista.

AD:sta on kuvattu myös monia muita A β -plakkien ja NFT-muodostuksen kanssa mahdollisesti päällekkäisiä patogeneenisia mekanismeja kuten mitokondrioiden toimintahäiriöt ja oksidatiiviset vaurioit (Galimberti & Scarpini, 2012). Lisäksi AD:sta on havaittu toimimattomia kolienergisia eli asetyyli-koliinia tuottavia neuroneita. Näitä kolienergisia neuroneita on erityisesti aivokuorella ja hippokampuksessa. AD:ssa kolienergisten neuronien asetyyli-koliinivesikkeliin tuottamiseen vaikuttava koliiniasetyyylitransferaasin (engl. Choline acetyl transferase, CHAT) lasku korreloi plakkien määrän ja taudin vakavuuden kanssa.

3.2.3 Beeta-amyloidiplakki ja tau-kimput

Beeta-amyloidipeptidi ($A\beta$) on terveen neuronin tuottama proteiini, joka hajotetaan ja kierrätetään muiden proteiinien tavoin. $A\beta$ tyypillisimmät muodot ovat $A\beta_{1-40}$ ja $A\beta_{1-42}$. Lisäksi monia $A\beta$:n translaation jälkeisiä modifikaatioita on tunnistettu, kuten seriinin 26 ja 8 fosforylaatiot. (Thal ym., 2015.) Beeta-amyloidi muodostuu neuronin solukalvolla olevasta amyloidin esiaste-proteiinista (engl. Amyloid Precursor Protein, APP). APP:n uskotaan olevan välttämätön neuronin kasvulle ja vauriosta toipumiselle. APP hajotetaan solussa kahden eri reitin avulla, joista toinen on haitallinen ja toinen ei. Haitattomassa reitissä eli ei-amyloidigeneettisessä α -sekretaasi ja γ -sekretaasientsyymit pilkkovat solukalvolla olevan APP:n pieniksi, aivoille turvallisiksi fragmenteiksi, jotka on helppo hävittää. Toinen reitti on amyloidigeneettinen reitti, joka tuottaa kemiallisilta ominaisuuksiltaan tarrautuvaa beeta-amyloidia. Beeta-amyloidi ei vähäisissä määrissä haittaa solun normaalia toimintaa ja pientä määrää pidetään myös aksonin pään kehitystä edistävänä tekijänä. Haitallisessa reitissä beeta-amyloidia tuotetaan kuitenkin liikaa eikä neuroni pysty hajottamaan sitä.

Amyloidigeneettisessä haitallisessa reitissä α -sekretaasin tilalla toimii β -sekretaasi, joka yhdessä γ -sekretaasin kanssa pilkkoo APP:n beeta-amyloidi monomeereja muodostaviksi fragmenteiksi. Normaalisti monomeerit hajotetaan fagosytoosilla aivoissa mikroglia-solujen ja reseptorivälitteisten astrosyyttien toimesta sekä neprilysiini-proteasilla. AD:ssa monomeereja tuottava hajottamistapa on lisääntynyt, eikä kaikkia monomeereja pystytä enää hajottamaan, mistä seuraa, että monomeerit alkavat aggregoitua synapsiraossa oligomeeri-, protofibrilli- ja amyloidifibrilliaggregaateiksi. Nämä puolestaan aggregoituvat taudille ominaiseksi plakiksi, SP:ksi. Muodostunut plakki estää neurotransmitterien eli hermovälittäjäaineiden siirtymisen synapsiraossa pre-synaptisesta neuronista post-synaptiseen. Beeta-amyloidi kertyy myös aivojen verisuonien ympärille aiheuttaen aivoamyloidia-angiopatiaa (engl. cerebral amyloid angiopathy, CAA), joka lisää verisuonien repeämien ja verenvuodon riskiä. Beeta-amyloidin kertyminen vaatii kuitenkin aikaa, mikä on yhteydessä taudin hitaaseen kehittymiseen. AD puhkeaminen nuoremmalla iällä on kuitenkin mahdollista tiettyjen geneettisten mutaatioiden seurauksena, jolloin beeta-amyloidia tuotetaan normaalia enemmän tai β -sekretaasi on normaalia aktiivisempi.

AD:ssa plakkityyppejä on sijainniltaan ja rakenteeltaan erilaisia. Esimerkiksi ”pehmo” amyloidi rajoittuu entorinaalisen aivokuoren kerroksiin ja hippokampukseen. Muita ihmisen aivoissa esiintyviä $A\beta$ -plakkeja ovat muun muassa diffuusi- ja ydinplakit, neuriittiset plakit ja nauhamaiset plakit. AD:ssa esiintyvä $A\beta$ -kerrostumien pääyhdiste amyloidifibrilli koostuu yhdestä tai useammasta poikkileikkaukseltaan suhteellisen samankaltaisesta protofilamentista. *In vitro* on selvinnyt muun muassa, että monissa fibrilleissä N-pää on konformaatioiltaan joustava, mutta Alzheimerin taudin

aivokudoksen A β -fibrillien yksityiskohtaista rakennetta ei tunneta. Myös fibrillipolymorfismi-ilmiö eli A β kyky omaksua useita erilaisia fibrillirakenteita on vielä epäselvä. (Thal ym., 2015.)

Amyloidifibrillin synnystä ja rakenteesta tiedetään, että aggregaattien esiasteena toimivalla monomeerisellä beeta-amyloidilla on satunnainen α -heliksi-muoto suojojen puuttuessa, vesiliuoksissa ja alhaisissa peptidipitoisuuksissa. Beeta-amyloidimonomeerissa hydrofobiset sivuketjut sijaitsevat pääosin suhteellisen joustavan peptidikonformaation suojoissa ja monomeerin on havaittu olevan stabiili voimakkaissakin denaturoivissa olosuhteissa. Alkuvaiheen ja stationäärivaiheen välissä on havaittu joukko erilaisia välituotteita, joista joitain on onnistuttu valmistamaan myös *in vitro*. Lisäksi tutkimuksissa on havaittu tiettyjä toksisia ominaisuuksia omaavia välituoteoligomeereja kuten A β -globuleereja. Oligomeerisista välituotteista osa jatkaa fibrilleihin päättyvään reittiin ja osa taas kertyy stabiileiksi ei-fibrillaarisiksi oligomeereiksi. Itse amyloidifibrilli muodostuu kolmessa vaiheessa: alkuvaiheessa, kasvuvaiheessa ja stationäärivaiheessa. Alkuvaiheessa tapahtuu fibrillien nukleaatio eli beeta-amyloidin ytimen muodostuminen, jonka jälkeen tapahtuu fibrillien pidentyminen monomeerien lisäyksellä eli kasvuvaihe. Lopuksi saavutetaan stationäärivaihe, jossa tapahtuu toissijainen nukleaatio eli jo muodostuneiden fibrillien kyky tehostaa uusien muodostumista kasvaa. (Thal ym., 2015.)

Terveen henkilön aivoissa neuronien mikrotubulusten pinnalla toimii niitä vakauttava tau-proteiini, joka mahdollistaa sooman ja aksonien pään välisen ravinteiden ja molekyylien kulun sekä neuronin tukirangan normaalin muodostumisen. Aivoissa tau-proteiinia esiintyy kuudessa eri isoformissa, jotka tehdään vaihtoehtoisella silmukoinnilla tau-pre-mRNA:sta. Kaikki isoformit ovat liukoisia, hydrofiilisiä ja lämpöstabiileja ja niiden fosforylaatioaste säätelee niiden aktiivisuutta mikrotubuluskokoonpanoissa. Normaalityössä aivojen tau-proteiini sisältää 2–3 moolia fosfaattia per mooli proteiinia, joka on optimaalinen suhde mikrotubuluksen muodostumisen edistämiseen ja vuorovaikutukseen tubuliinin kanssa. Terveellä henkilöllä käytännössä kaikki tau-proteiini on mikrotubuluksiin sitoutuneena. AD:ssa tau-proteiinin muoto kuitenkin muuttuu, kun beeta-amyloidi aktivoi solun sisäisen kinaasin. AD:ssa tau-proteiinin kaikki kuusi isoformia hyperfosforyloituvat ja aggregoituvat kierteisiksi filamentteiksi (engl. Paired helical filaments, PHF). AD:ssa beeta-amyloidin muodostumisessa aktivoitua kinaasi fosforyloi tau-proteiinin ja fosforyloinnin seurauksena tau-proteiini muuttuu hyperfosforyloituneeseen muotoon ja irtoaa mikrotubuluksesta. Hyperfosforyloituneena tau-proteiini polymeroituu dimeerisiksi kierteisiksi filamentteiksi, jotka alkavat muodostaa neurofibrillaarisia säikeitä eli NFT:tä suorien filamenttien kanssa. Tästä seuraa mikrotubulusten romahtaminen ja yhdisteiden kuljetuksen estyminen, koska hyperfosforyloitunut tau-proteiini ei sitoudu tubuliiniin, mikä taas estää mikrotubulusten muodostumisen ja hajottaa jo olemassa olevia

mikrotubuluksia. Lisäksi hyperfosoforyloitunut tau-proteiini häiritsee muiden mikrotubulukseen assosioituvien proteiinien toimintaa. (Iqbal ym., 2010.)

3.2.4 Alzheimerille altistavia tekijöitä

Alzheimerin taudin alkamisen syytä tai laukaisevaa tekijää ei vielä tiedetä, mutta tutkimuksissa on löydetty joitain sairastumisriskiä pienentäviä tekijöitä kuten sosiaalinen ja fyysinen aktiivisuus, kognitiivisia taitoja haastavat tehtävät ja jotkut lääkkeet, kuten ei-steroidaaliset anti-inflammatoriset lääkkeet (engl. non-steroidal anti-inflammatory drug, NSAID). Myös sairastumisriskiä kasvattavia tekijöitä on havaittu kuten tupakointi, korkea kolesteroli ja diabetes. (Silva ym., 2019.) Ympäristöllisiä riskitekijöitä on tunnistettu yli 60, ja ne jaetaan yleensä kuuteen luokkaan seuraavasti: ilmanlaatu, työperäinen altistuminen, hivenaineet, raskasmetallit, muut metallit ja muut (Killin ym., 2016). Lisäksi itse neuronien dendriittirakenteet aiheuttavat proteiinien laadunvalvontajärjestelmälle haasteita verrattuna muihin solutyyppeihin. Haastetta aiheutuu myös neuronien postmitoottisuudesta eli siitä, etteivät ne enää jakaudu mitoottisesti, jolloin ne eivät voi laimentaa toksisia yhdisteitä jakaantumisen avulla, mistä seuraa niiden herkkyys väärin laskostuneille proteiineille.

Ikä on merkittävä sairastumisriskiä kasvattava tekijä. Esimerkiksi AD:n esiintyvyys kasvaa 75–84-vuotiailla jopa 19 %. Merkittäviä tekijöitä AD:n puhkeamiselle ikääntymisen lisäksi ovat insuliinisisäntömuutokset, ribosomaalisten ja oksidatiivisten fosforylaatioreittien häiriöt sekä hypothalamus-aivolisäke-lisämunaisakselin (engl. hypothalamic-pituitary-adrenal, HPA) toimintaan liittyvien geenien muutokset. Lisäksi geneettisiä yhteyksiä sairauteen on tunnistettu, samoin kun epigeneettisiä tekijöitä. On myös ehdotettu, että virusinfektioilla on merkitystä AD:n puhkeamisessa. Myös ruokavaliollisia tekijöitä kuten aliravitsemus on yhdistetty riskitekijäksi AD:lle. Myös verisuonitautien ja AD yhteisesiintyvyyttä ilmenee, ja niiden vuorovaikutuksesta on esitetty kahdenlaisia teorioita. Joko ne mahdollisesti edistävät toistensa havaitsemista tai verisuonitaudit edistäisivät AD:n kehittymistä. Immuunijärjestelmän toimintahäiriöitä pidetään myös AD:n riskitekijänä. (Armstrong, 2019.)

Geneettisistä riskitekijöistä mutaatiot *PSEN1*:ssä eli preseniliini 1:ssä, amyloidiprekursoriproteiinissa *APP*:ssa ja *PSEN2*:ssa eli preseniliini 2:ssa on todettu johtavan varhaiseen familiaaliseen AD:hen, kun taas apolipoproteiini E:n polymorfian on havaittu olevan kytköksissä taudin myöhäisempään muotoon. Varhaiseen muotoon liitettyssä amyloidiprekursoriproteiinia koodaavassa geenissä olevia mutaatioita tunnetaan yli 30, joista 15 % on havaittu olevan kytköksissä aikaisin alkavaan AD:hen. *PSEN1* ja *PSEN2* geenien mutaatioissa *PSEN1* on osoitettu olevan enemmän yhteydessä varhaiseen AD:hen kuin *PSEN2*:n. *APP* ja *PSEN1* geenimutaatioista suurimman osan on todettu johtavan beeta-

amyloidi 42:en ja 40:en välisten muotojen suhteen muutokseen, mikä taas suosii amyloidigeenistä kaskadia ja beeta-amyloidien kertymistä aivokudokseen. Uusimpana geneettisenä riskitekijänä on havaittu *TREM2* -geenin mutaatio, joka vaikuttaa keskushermoston tulehdusvasteen ja fagosyyttien ohjaamiseen sekä heikentää beeta-amyloidien poistoa edistäen plakkien muodostumista. (Silva ym., 2019.) Lisäksi Downin syndrooma eli kromosomi 21:en trisomia on riskitekijöiden listalla. Kromosomi 21 vastaa APP:n tuotosta, jolloin Downin syndroomaa sairastavalla on ylimääräinen *APP*-geeni, joka mahdollisesti lisää APP:n tuottoa ja sitä kautta beeta-amyloidi plakin tuottoa ja riskiä sairastua AD:hen (Tosh ym., 2021).

3.3 Alzheimerin lääkehoito nyt ja tulevaisuudessa

Tällä hetkellä käytössä olevat AD:n hallintaan pyrkivät lääkkeet keskittyvät taudin etenemisen hidastamiseen ja oireiden mukaiseen hoitoon vaikuttamalla välittäjäainehäiriöihin. Alzheimerin taudin hoidossa käytössä on kolme eri lääkeluokkaa. Tällä hetkellä käytössä olevat lääkkeet ovat Aducanumab, Memantine, Donepezil, Galantamine ja Rivastigmine. Donepezil, Galantamine ja Rivastigmine ovat koliiniesteraasi-estäjiä eli ne estävät asetyylikoliinin tuhoutumisen, kun taas Aducanumab on amyloidille spesifi vasta-aine eli se poistaa beeta-amyloidiplakkeja. Glutamaattia säätelevä Memantiini on NMDA-reseptorin antagonisti eli estää reseptorien toiminnan. (Lamptey ym., 2022.) Memantiinin ja Donepetsiilin yhdistelmäkäytöllä on havaittu merkittävää hyötyä kohtalaisessa ja vaikeassa AD:ssa (Yiannopoulou & Papageorgiou, 2013).

AD:ssa on tärkeä hoitaa dementiaan käyttäytymis- ja psykologisten oireita (engl. Behavioural and psychological symptoms of dementia, BPSD), sillä niiden esiintyvyys kasvaa dementian edetessä, ja ne lisäävät merkittävästi omaisten sekä laitoshoidon hoitotaakkaa. Käyttäytymisoireita hoidetaan usein psykoosi- ja masennuslääkkeillä, mutta koliiniesteraasi-estäjien ja Memantiinin on havaittu myös vaikuttavan lieviin käyttäytymisoireisiin. SSRI-lääkkeitä, jotka estävät serotoniinin takaisinoton, pidetään tehokkaimpina lääkkeinä AD:hen liittyvän masennuksen hoidossa. Lisäksi SSRI-lääkkeitä voidaan hyödyntää AD:hen liittyvän aggressiivisuuden ja psykoosin hoidossa. Myös varsinaisia psykoosi-lääkkeitä on käytössä AD:en hoidossa, mutta ne ovat herättäneet paljon keskustelua, sillä psykoosilääkkeitä käyttävällä AD potilaalla on havaittu lisääntynyt aivoverisuonisairauksien ja korkeamman kuolleisuuden riski. Antipsykoottisiin lääkkeisiin liittyy myös muita riskejä kuten riski kognitiivisten toimintojen heikkenemisen entisestään. (Yiannopoulou & Papageorgiou, 2013.)

Nykyään pyritään kehittämään lääkkeitä, joilla voidaan ehkäistä sairautta sekä löytämään yhdisteitä, jotka vaikuttavat sairauden haitallisiin substraatteihin eli beeta-amyloidiplakkeihin ja solunsisäisiin

säikeisiin eli NFT:iin. Tällaisia kehitteillä olevia lääkkeitä nimitetään tautia modifioiviksi lääkkeiksi. Tautia modifioivilla lääkkeillä pyritään vähentämään A β ja hyperfosforyloituneen tau-proteiinin tuotantoa, estämään niiden aggregaatiota tai väärin laskostumista ja poistamaan tai neutraloimaan toksisia väärin laskostuneita muotoja tai aggregaatteja. Muita lähestymistapoja AD:en hoitoon on muun muassa kolesteroli ja verisuoniin kytköksissä olevien riskitekijöiden muokkaus, tulehdusta hoitavien lääkkeiden käyttäminen sekä aktiiviset ja passiiviset immunisaatio-menetelmät. (Yiannopoulou & Papageorgiou, 2013.) Lisäksi muita esille nousseita uusia hoitomahdollisuuksia ovat esimerkiksi stressin indusoimat kättilöproteiinit ja farmakologiset/kemialliset kättilöproteiinit, joita pidetään potentiaalisina tautia hidastavina sekä ennaltaehkäisevinä vaihtoehtoina johtuen niiden kyvystä inhiboida tautia aiheuttavien proteiinien konformaatiohäiriötä samalla vähentäen myös taudin vakavuutta (Chaudhuri & Subhankar, 2006). Myös AD:in aikaisempaan diagnosointiin panostetaan ja erityisesti veripohjaisten biomarkkereiden potentiaalia pidetään mittavana. Uudet diagnosointikeinot voivat tulevaisuudessa tarjota mahdollisuuden ohjata potilaat tarkempiin jatkotutkimuksiin ja menetelmien tarkentuessa ne voivat korvata CSF:n ja PET:n diagnosointi menetelmät (Dumas ym., 2023).

4 Yhteenveto

Harvemmin yksittäisten aminohappojen merkitystä ja järjestystä ajattelee lopullisen proteiinin toiminnan määrittävinä tekijöinä, ja sitä kautta koko elimistön normaalin toiminnan kivijalan palana. Tieto siitä, että kemialliset ominaisuudet ja vuorovaikutukset ovat proteiinin toiminnan perusta, on hyvin mielenkiintoinen, kuten myös proteiinien hyvin kompleksinen laskostumisprosessi, joka yllättää monipuolisuudellaan ja vaiheillaan. Yhtä mielenkiintoinen on solun laadunvalvontajärjestelmä, joka toimii yhdessä entsyymien, kättilöproteiinien ja lukuisten muiden solun toimintaa säätelevien järjestelmien kanssa. On hämmästyttävää, kuinka pieni muutos geenissä vaikuttaa laskostumisen epäonnistumiseen tai vääränlaisen proteiinin hajotusreitien yleistymisen solussa aiheuttaa mittavat vahingot luoden elimistölle toksisen koko ajan kasvavan kompleksin, jota se ei enää osaa poistaa. Proteiinien virheelliseen laskostumiseen liittyviin prosesseihin ja näistä seuraaviin ongelmiin liittyy vielä monta avointa kysymystä. Tutkimus tuottaa koko ajan uutta tarkentavaa tietoa, ja ymmärryksemme lisääntyminen proteiinien elinkaaren vaiheista, ja niihin vaikuttavista tekijöistä antaa meille uusia näkökulmia ja työkaluja tarkastella sekä ratkaista proteiinien virheellisen konformaation seurauksia. Ja myös keinoja hidastaa haittoja ja puolustautua niitä vastaan.

LÄHTEET:

- Armstrong R. 2019. Risk factors for Alzheimer's disease. *Folia Neuropathologica* 57, 87–105. <https://doi.org/10.5114/fn.2019.85929>
- Chaudhuri T & Subhankar P. 2006. Protein-misfolding diseases and chaperone-based therapeutic approaches. *FEBS Journal*. 273, 1331–1349. <https://doi.org/10.1111/j.1742-4658.2006.05181.x>
- Chen B, Retzlaff M, Roos T & Frydman J. 2011. Cellular strategies of protein quality control. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*. 3, 1–14. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a004374>
- Ciechanover A, & Kwon YT. 2017. Protein quality control by molecular chaperones in neurodegeneration. *Frontiers in Neuroscience*. 11, 1-18. <https://doi.org/10.3389/fnins.2017.00185>
- Devi S, Kim J, Singh A, Kumar S, Dubey A, Singh S, Singh R & Kumar V. 2021. Proteotoxicity: A fatal consequence of environmental pollutants-induced impairments in protein clearance machinery. *Journal of Personalized Medicine*. 11, 1–15. <https://doi.org/10.3390/jpm11020069>
- Dobson C. 2006. Protein Aggregation and Its Consequences for Human Disease. *Protein & Peptide letters*, 13,219-227
- Dumas A, Destrebecq F, Esposito G, Suchonova D & Steen Frederiksen K. 2023. Rethinking the detection and diagnosis of Alzheimer's disease: Outcomes of a European Brain Council project. *Aging Brain*. 4,1-11. <https://doi.org/10.1016/j.nbas.2023.100093>
- Dundr M & Misteli T. 2001. Functional architecture in the cell nucleus. *Biochem. J*. 356, 297-310
- Finkelstein A. 2018. 50+ Years of Protein Folding. *Biochemistry (Moscow)*. 83, 3-18. <https://doi.org/10.1134/S000629791814002X>
- Galimberti D & Scarpini E. 2012. Progress in Alzheimer's disease. *Journal of Neurology*. 259, 201–211. <https://doi.org/10.1007/s00415-011-6145-3>
- Hartl F U. 2017. Protein Misfolding Diseases. *Annual Review of Biochemistry*. 86, 21–26. <https://doi.org/10.1146/annurev-biochem>
- Iqbal K, Liu F, Gong C-X & Grundke-Iqbal I. 2010. Tau in Alzheimer Disease and Related Tauopathies. *Curr Alzheimer Ressearch*. 7, 656–664
- Bagola K & Sommer T. 2006. Protein Quality Control: On IPODs and Other JUNQ. *WormBook : the online review of C. elegans biology*. 1–14. <https://doi.org/10.1895/wormbook.1.37.1>
- Killin L, Starr M, Shiue I, & Russ T. 2016. Environmental risk factors for dementia: a systematic review. *BMC Geriatrics*, 16, 1–28. <https://doi.org/10.1186/s12877-016-0342-y>
- Kim Y, Hipp M, Bracher A, Hayer-Hartl M & Hartl, FU. 2013. Molecular chaperone functions in protein folding and proteostasis. *Annual Review of Biochemistry*. 82, 323–355. <https://doi.org/10.1146/annurev-biochem-060208-092442>

- Kloetzel PM & Ossendorp F. 2004. Proteasome and peptidase function in MHC-class-I-mediated antigen presentation. *Current Opinion in Immunology*.16,76–81.
<https://doi.org/10.1016/j.coi.2003.11.004>
- Lamprey R, Chaulagain B, Trivedi R, Gothwal A, Layek B & Singh J. 2022. A Review of the Common Neurodegenerative Disorders: Current Therapeutic Approaches and the Potential Role of Nanotherapeutics. *International Journal of Molecular Sciences*.23.
<https://doi.org/10.3390/ijms23031851>
- Malik M. 2024. Tertiary structure of proteins. LibreTexts Chemistry.
- Montembeault M & Migliaccio R. 2023. Atypical forms of Alzheimer’s disease: patients not to forget. *Current Opinion in Neurology*. 36, 245–252.
<https://doi.org/10.1097/WCO.0000000000001182>
- Rolli S & Sontag E. 2022. Spatial sequestration of misfolded proteins in neurodegenerative diseases. *Biochemical Society Transactions*. 50, 759–771.
<https://doi.org/10.1042/BST20210862>
- Silva M, Loures C, Alves L, De Souza L, Borges K & Carvalho M. 2019. Alzheimer’s disease: Risk factors and potentially protective measures. *Journal of Biomedical Science*, 26, 1-11.
<https://doi.org/10.1186/s12929-019-0524-y>
- Sontag E, Morales-Polanco F, Chen J, McDermott G, Dolan P, Gestaut D, Le Gros M, Larabell C & Frydman J. 2023. Nuclear and cytoplasmic spatial protein quality control is coordinated by nuclear–vacuolar junctions and perinuclear ESCRT. *Nature Cell Biology*, 25, 699–713.
<https://doi.org/10.1038/s41556-023-01128-6>
- Stijns M, Lapointe V, & Van Blitterswijk C. 2019. Building Complex Life through Self-Organization. *Tissue Engineering - Part A*. 25, 1341–1346.
<https://doi.org/10.1089/ten.tea.2019.0208>
- Thal D, Walter J, Saido T & Fändrich M. 2015. Neuropathology and biochemistry of A β and its aggregates in Alzheimer’s disease. *Acta Neuropathologica*. 129, 167–182.
<https://doi.org/10.1007/s00401-014-1375-y>
- Tosh J, Rhymes E, Mumford P, Whittaker H, Pulford L, Noy S, Cleverley K, Strydom A, Fisher E, Wiseman F, Nizetic D, Hardy J, Tybulewicz V, Karmiloff-Smith A, Walker M, Tybulewicz V, Wykes R & Wiseman F. 2021. Genetic dissection of down syndrome-associated alterations in APP/amyloid- β biology using mouse models. *Scientific Reports*.11, 1-13
<https://doi.org/10.1038/s41598-021-85062-3>
- Yiannopoulou K & Papageorgiou S. 2013. Current and future treatments for Alzheimer’s disease. *Therapeutic Advances in Neurological Disorders*. 6, 19–33.
<https://doi.org/10.1177/1756285612461679>

