



Kandidaatintutkielma

# Alzheimerin tauti ja beeta-amyloidiproteiinin vaikutus

Joona Toivola

Oulun yliopisto

Biokemian ja molekyyli lääketieteen tiedekunta

2020

## Sisällysluettelo

Käytetyt lyhenteet	3
1. Johdanto	4
2. Alzheimerin tauti	4
2.1 Alzheimerin taudin historia	4
2.2 Taudin toteaminen	5
2.3 Hoito	5
3. Proteiinien väärinlaskostuminen	7
3.1 Proteiinien rakenne ja laskostuminen	7
3.2 Proteiinien väärinlaskostumiseen	8
3.3 Väärinlaskostumisen seuraukset	10
4. Beeta-amyloidiproteiini	10
4.1 Rakenne	11
4.2 Toiminta	12
4.3 Väärinlaskostuminen	13
5. Beeta-amyloidiproteiinin merkitys Alzheimerin taudissa	14
5.1 Väärinlaskostuminen ja oligomeerit	14
5.2 Beeta-amyloidi plakki	15
5.3 Fibrillisaatio	16
5.4 Tau-proteiinin ja Neurofibrillaarinen solmu	18
5.5 Mahdolliset Alzheimerin taudin ehkäisykeinot	19
Kirjallisuusviitteet	20

## Käytetyt lyhenteet

AB	Beeta-amyloidi
ADDL	Beeta-amyloidin oligomeroitunut aggregaatti
APP	Amyloidi prekursori proteiini
AT	Alzheimerin tauti
BACE	Beeta-sekretaasi 1
ER	Karkea solulimakalvosto
MAPK	Mitogeeni-aktivoitu proteiinikinaasi
N	Proteiinin laskostunut tila
NFT	Neurofibrillaarinen solmu
PHF	Parilliset kietoutuneet helikaasifilamenttit
PS1	Preseniliini 1
PS2	Preseniliini 2
SH2	Src Homology 2
TrkA	Tyrosiinikinaasireseptori A
U	Proteiinin laskostumaton tila
WHO	World Health Organization

# 1. Johdanto

Muistisairauksiksi kutsutaan sellaisia sairauksia, joilla on pysyvä vaikutus ihmisen aivoihin ja toimintakykyyn. Nykyään yhä useampi ihminen pelkää muistisairauksien puolesta ja tämä on aiheuttanut lisääntyvän määrän kysymyksiä, oletuksia ja uutisia aiheeseen liittyen. Ikääntymisen myötä muistisairauksien riski nousee: terveyskirjaston tietojen mukaan esimerkiksi alle 65-vuotialla Alzheimerin tautia esiintyy vain todella harvoin, kun taas yli 85-vuotialla se esiintyy jo 15-20 prosentilla. (2020 Kustannus Oy Duodecim 2018)

Tämä johtuu siitä, että Alzheimerin tauti on progressiivinen, eli se kehittyy ajan myötä pahemmaksi. Myös noin 70 %:lla Alzheimerin tautia sairastavista henkilöistä se on pääsääntöinen muistioireiden ja dementian syy. Alzheimerin taudin lisäksi yleisimpiä muistisairauksia ovat verisuoniperäiset muistisairaudet, Lewyn kappale -dementia ja frontotemporaalinen dementia (otsalohkorappeumasta johtuva). WHO määrittelee Alzheimerin taudin globaaliksi terveysprioriteetiksi sen vakavuuden takia. (Duthey Béatrice & Tanna Saloni 2013)

Vaikka taudista on paljon tietoa saatavilla, siihen ei kuitenkaan ole vielä olemassa sairautta muuttavaa hoitoa. Useita hoitomuotoja on kuitenkin jo kehitteillä ja tulevaisuudessa on odotettavissa suuria harppauksia ja kehityksiä Alzheimerin ja siitä johtuvan dementian hoitamiseen. (Lane ym. 2018)

## 2. Alzheimerin tauti

### 2.1 Alzheimerin taudin historia

Dementiaa on kuvailtu teksteissä monien vuosituhansien ajan ja jopa Vanhassa Testamentissa. Meidän tietomme taudista on kuitenkin todella tuoretta. Vuonna 1907 Alois Alzheimer kuvaili 51-vuotiaan naisen tapausta dementialla ja pysyvällä luonteen muutoksella. Ruumiinavauksessa hän huomasi aivoissa seniilejä muistolaattoja sekä neurofibrillaalisia kietoutumia. Nämä yhdistettiin nopeasti dementiaan ja tästä syntyi Alzheimerin kuuluisa tutkimus, johon nykyinen modernin ajan tutkimuksemmekin perustuu. Alzheimer ei

kuitenkaan itse tunnustanut löytäneensä tautia, vaan hänen mentorinsa Emil Kraepel Münchenin Lääketieteellisestä koulusta antoi Alois Alzheimerille kunniaa lisätessään termin Alzheimerin tauti omaan kirjaansa. Vuonna 1911 lääketieteellinen yhteisö käytti termiä dementian oireiden syyksi Euroopassa ja Yhdysvalloissa laajasti. Nykyinen käsitys Alzheimerin taudista kuitenkin lähti täysin kehittymään 1980-luvulla. Tässä vaiheessa lisääntyi käsitys siitä, että erilaisiin dementiahäiriöihin liittyy suhteellisten ja heikentyneiden kognitiivisten kykyjen malleja, jotka vaihtelevat perussairauden etiologiasta ja neuropatologiasta riippuen. Tämä mahdollisti uudenlaisen dementian määrittämisen. (Weller & Budson 2018)

## **2.2 Taudin toteaminen**

AT:n toteaminen käy yleensä helposti, sillä se on syy kolmasosassa kaikista dementiatapauksista. Dementiaa kuvaillaan kognitiivisten kykyjen heikkenemisenä, joka vaikuttaa jokapäiväiseen elämään. Ensimmäiset oireet vaikuttavat pieniltä ja hajamielisyydeltä. Tämä tarkoittaa yleensä lyhyenajan muistinmenetystä, sekä uuden oppimisen vaikeutumista.

Kun tauti edistyy, vaikeutuvat myös sanojen löytäminen ja asioiden tunnistaminen ne nähdessään. Taudin vielä jatkuessa vaikeutuvat organisaatiokyky, eli taito suunnitella, hahmottaa ja toteuttaa tiettyjä aktiviteetteja. Yleensä sairauden sairastavilla esiintyy myös psyykkisiä oireita kuten masennusta ja ahdistuneisuutta. Näistä oireista voidaan päätellä, että Alzheimerin taudilla on selvästi osaa aivojen toimimattomuudessa ja muistisolujen käyttämisessä. Vaikean dementian oireet ovat helposti tunnistettavissa ja siksi taudin toteaminen on helppoa. (Lane ym. 2018, Weller & Budson 2018)

## **2.3 Taudin hoito**

On suorastaan yllättävää, kuinka AT:n hoito ei ole edistynyt samanlaista tahtia kuin esimerkiksi monien syöpien tai HI-viruksen hoitomekanismit. Tähän kuitenkin vaikuttaa se, että dementia on monitekijäinen monille potilaille, joten myös AT:n diagnoosissa täytyy ottaa huomioon aliluokitteluja mahdollisen terapian suhteen. Kaikesta julkisesta huomiosta huolimatta, AT:hen

ei ole vielä kuin viisi hyväksyttyä lääketieteellistä parannusta, joista kaksi on lääkkeitä. Nämä lääkkeet eivät kuitenkaan ehkäise AT:n syntymistä, vaan enemmänkin lieventävät sen vaikutuksia esimerkiksi lisäämällä keskittymiskykyä, toimintakykyä ja vähentämällä psyykkisiä oireita. (Cipriani ym. 2011, Masters & Beyreuther 1998, Tiwari ym. 2019)

Näistä lääkkeistä yleisimpiä on donepezil, joka vaikuttaa parantamalla muistia. Donepezil toimii elimistössä koliiniesteraasin inhibiittorina, mikä vaikuttaa näin ollen asetylikoliinin hydrolyysiin. Hydrolyysin tarkoituksena on tuhota asetylkoliinimolekyylit, mutta hydrolyysin inhiboituessa, asetylikoliinin määrä synapseissa kasvaa. Tämän lääkkeen täysin suoraa vaikutusta Alzheimerin tautiin ei tunneta, mutta AT:n tiedetään vaikuttavan kolienergisiin systeemeihin, joihin Donepezil-lääke vaikuttaa. Donepezil-läkettä annetaan yleensä potilaille, jotka kärsivät lievästä Alzheimerin taudin oireista ja dementiaasta. Toinen lääke on nimeltään Memantine. Memantine-läkettä annetaan potilaille, joilla Alzheimerin taudin vaikutukset ovat edenneet pidemmälle. Memantine on osoittanut vaikutusta estämällä N-metyyli-D-aspartaatti reseptoreita (NMDA reseptori), jotka toimivat ionikanavina ja glutamaattireseptoreina. Memantine estää siis lopulta neuronien hajoamista ja helpottaa vaurioituneiden neuronien korjaantumista, jolla on siis suora vaikutus esimerkiksi dementiaan ja näin ollen myös Alzheimerin tautiin. (Cipriani ym. 2011, Masters & Beyreuther 1998, Tiwari ym. 2019)

Vaikka nämä lääkkeet kuulostavat tehokailta, sitä ne eivät kuitenkaan ole. Vain hyvin pieni keskiarvoinen osa näiden lääkkeiden vaikutuksista tuntuu auttavan Alzheimerin taudin aiheuttamiin vaikutuksiin. Joitakin kliinisiä yrityksiä on viime aikoina myös jouduttu pysäyttämään, sillä niillä on ollut todella suuri epäonnistumisprosentti. Kaikista suurin ongelma kuitenkin lääkityksissä on selvästi kuitenkin se, että lääkitys ei ratkaise itse neurodegeneratiivista taudin kulkua. Lääkinnällinen ratkaisu ei siis tunnu olevan pätevä AT:n hoitamisessa. Suureksi vaihtoehdoksi on nousemassa taudin muokkaavaa terapiaa. Tämä on kuitenkin havaittu hankalaksi muodostaa tehokkaaksi hoitokeinoksi. AT:n hoidossa täytyy siis paneutua syvemmälle sen alkulähteelle, ja siihen kuinka Alzheimerin tauti todellisuudessa saa alkunsa. (Cipriani ym. 2011, Masters & Beyreuther 1998, Tiwari ym. 2019)

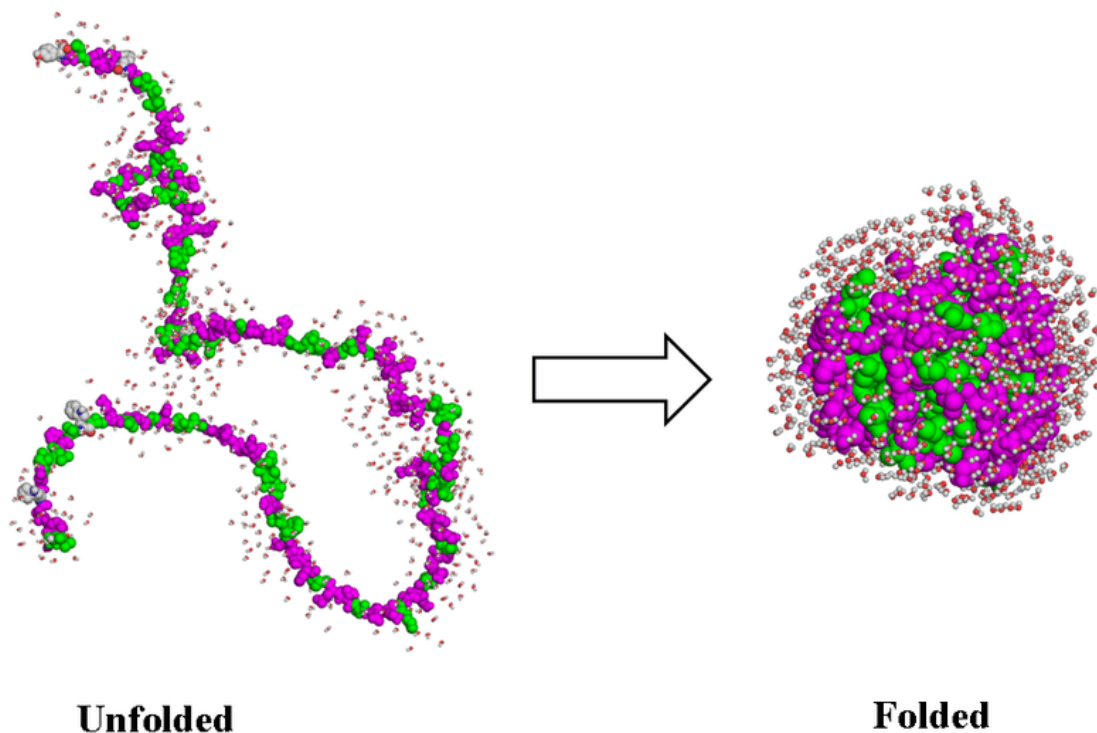
### 3. Proteiinien väärinlaskostuminen

#### 3.1 Proteiinien rakenne ja laskostuminen

Proteiinit ovat kaikista maailmankaikkeuden makromolekyyleistä monipuolisimpia. Proteiineilla on ominaisuuksia, jotka mahdollistavat niiden yhdistymisen proteomeiksi, joissa voi olla enintään 20 000 erilaista proteiinia. Yksittäiset proteiinit rakentuvat aminohappoketjuista, mutta vain pelkstä helminauhamaisesta polypeptidiketjusta ei ole toimivaksi proteiiniksi. Jotta solut pysyisivät toimivina ja terveinä, niiden täytyy ylläpitää proteiinisynteesiä, sekä proteiinien laskostumista ja hajoamista. Proteiininen laskostuminen ja hajoaminen on todella tärkeä osa proteiinien toimivuutta, sillä juuri laskostuminen antaa proteiineille niiden toiminnalliset ominaisuudet. Solut säätelevät proteiinien toimintaa tuottamalla, laskostamalla ja hajottamalla niitä. Suurimman epätasapainon saa proteiini, joka on laskostumaton. Laskostumattomista proteiineista epätasapainoisin tekee se, että ne ovat heterogeenisiä ja niiden jokainen molekyyli on omassa konformaatioissaan kaikilla ajanhetkillä. Laskostumattomassa proteiinissa vallitsee yleinen kaaos. Laskostumattomatkin proteiinit voivat kuitenkin muodostaa heikkoja sidoksia (kuva 1) koko ketjun matkalta ja muodostaa heikkoja alfa-kierrettä. Alfa-kierre on pylväsmäinen ja koostuu yhdestä aminohappoketjusta. Alfa-kierre on proteiinien tärkeimpiä sekundäärisiä rakenteita. Kierre syntyy, kun aminohapon alfa-hiilestä lähtevän karbonyylin happi muodostaa vetysidoksen toisella puolella olevan hiilen kanssa. (Creighton 1995, Hartl 2017)

Proteiinit pyrkivät aina laskostumaan niille ominaiseen alimman energiatason rakenteeseen, jonka määrittelee proteiinin aminohappoketju. Proteiinien laskostuminen lähtee liikkeelle laskostumattomasta tai osittain laskostuneesta tilasta. Osittain laskostunut tila tapahtuu yleensä hyvin nopeasti tietyillä proteiineilla, kuten esimerkiksi barnaasilla. Toiset proteiinit kuten esimerkiksi  $CI_2$  eivät siirry osittaiseen tilaan ollenkaan vaan niillä on kaksi vaihetta, laskostumaton ja laskostunut. Proteiineilla on siis monenlaisia reittejä, jotka lopulta johtavat proteiinin lopulliseen kolmiulotteiseen rakenteeseen. Jotta proteiini saataisiin laskostettua, se tarvitsee paljon energiaa. Vapaan energian määrä proteiinin muuttumistilassa määrittää laskostumisreaktion nopeuden. Nämä reaktiot tapahtuvat klassisessa proteiinien laskostumisessa termodynamiikan lakien säätelemänä spontaanisti. Isoimmille ja monimutkaisemmille proteiineille reaktiota ohjaavat tekijät tulevat enemmän esiin kuin

spontaanisuus. Näiden proteiinien laskostumista helpottavat kaperoniproteiinit, jotka edistävät laskostuvan proteiinin siirtymistä laskostumattomasta tilasta (U) laskostuneeseen tilaan (N) vähentäen vaadittavan vapaan energian määrää. Laatukontrollina toimivat laadunvalvojaproteiinit, jotka tarkkailevat proteiinien laskostumista haluttuun konformaatioon. Kaperonit voivat myös kiinnittyä laskostuvaan proteiiniin ja muuttaa sen laskostumistapaa ja stabiloida sen natiivia, laskostunutta, tilaa. Kaperonit ovat usein myös tilanteesta riippuvaisia; joissakin olosuhteissa kaperoneja tarvitaan, sillä muuten proteiinien laskostuminen ei voisi onnistua esimerkiksi liian suuren lämpötilan takia. (Creighton 1995, Hatters 2017)



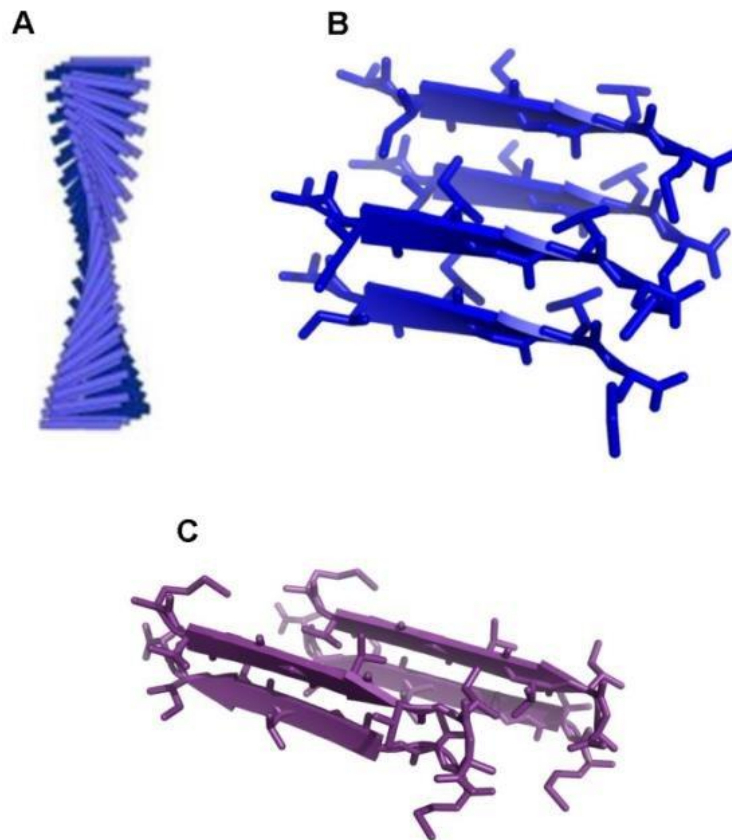
*Kuva 1: Proteiinin laskostuminen. Vasemmalla laskostumaton aminohappoketju, joka on muodostanut ketjussaan heikkoja sidoksia itsensä kanssa. Oikealla laskostunut proteiini, joka on muodostanut tertiäärisen ja stabiilin rakenteensa. (Guidi ym. 2016)*

### 3.2 Proteiinien väärinlaskostuminen

Proteiinit toimivat oikealla tavalla, kun niiden aminohapot ovat laskostuneet oikealla tavalla. Väärinlaskostuneissa proteiineissa aminohapot eivät kuitenkaan ole laskostuneet oikein ja nämä proteiinit muodostavat muiden proteiinien kanssa aggregaatteja, jotka ovat liukoisia tai



liukenemattomia ja voivat olla soluille myrkyllisiä. Proteiini voi väärinlaskostua aminohappoketjun mutaation tai laskostumisprosessin häiriintymisen takia. Esimerkiksi jotkin väärinlaskostuneet proteiinit sisältävät paljon  $\beta$ -levyjä, jotka ovat järjestäytyneet risti- $\beta$ -rakenteeksi (cross- $\beta$  structure; kuva 2). Nämä rakenteet ovat todella vakaita, liukenemattomia ja pystyvät suojautumaan proteiineja hajottavilta entsyymeiltä. Esimerkiksi Ataxin-1 proteiini on herkästi väärinlaskostuva hermoproteiini, joka väärinlaskostuu aminohappoketjussa toistuvan glutamiinijakson takia. Tämän takia proteiinin myrkyllisyys soluille myös määräytyy glutamiinijaksojen pituudesta. Näiden väärinlaskostuneiden proteiinien rakennetta vakauttavat niiden sisuksissa olevat vetysidokset jokaisen  $\beta$ -levyn välillä. (Ashraf ym. 2014)



*Kuva 2: Amyloidiproteiinin väärinlaskostumisesta johtuva risti- $\beta$ -rakente. A) Kuvaelma koko rakenteesta, jossa  $\beta$ -levyt ovat kasautuneet päällekkäin ja muodostavat kierremäisen rakenteen. B)  $\beta$ -levyt voivat olla toisiinsa nähden samansuuntaisesti tai C) vastakkain. (Sirangelo ym. 2018)*

### **3.3 Väärinlaskostumisen seuraukset**

Solulla voi olla hankaluuksia poistaa aggregaatteja solun sisältä, ja ajan kuluessa kerääntyneet aggregaatit häiritsevät ja muuttavat solun normaalia toimintaa. Tutkimuksen ja kehityksen myötä on huomattu, että proteiinien väärinlaskostumisella on yhteys moniin neurologisiin sairauksiin. Esimerkiksi häiriintyneestä proteiinista syntyneet aggregaatit voivat aiheuttaa Huntingtonin tautia, amyloidiproteiinien väärinlaskostuminen aiheuttaa Alzheimerin tautia tai Parkinsonin tautia ja normaalia solun sisäistä liikennöintiä estävät proteiinit voivat aiheuttaa Tay–Sachs'n tautia. Proteiinien väärinlaskostumisesta voi aiheutua myös rakenteellisia sairauksia kuten keuhkolaajentumaa ja diabetesta. Rakenteellisissa sairauksissa, ja myös joissakin neurologisissa sairauksissa, proteiinien väärinlaskostuminen aiheuttaa mitokondriossa muutoksia, jotka aiheuttavat oksidatiivisten aineiden siirtymisen solun sisälle. Oksidatiiviset aineet ovat myrkyllisiä soluille ja aiheuttavat nopeasti lisääntyessään solukuoleman. Proteiinien väärinlaskostumista voi tapahtua myös kaikkialla ihmisen kehon soluissa, ja niiden kaikkia vaikutuksia ei vielä tunneta. (Murphy & LeVine 2010)

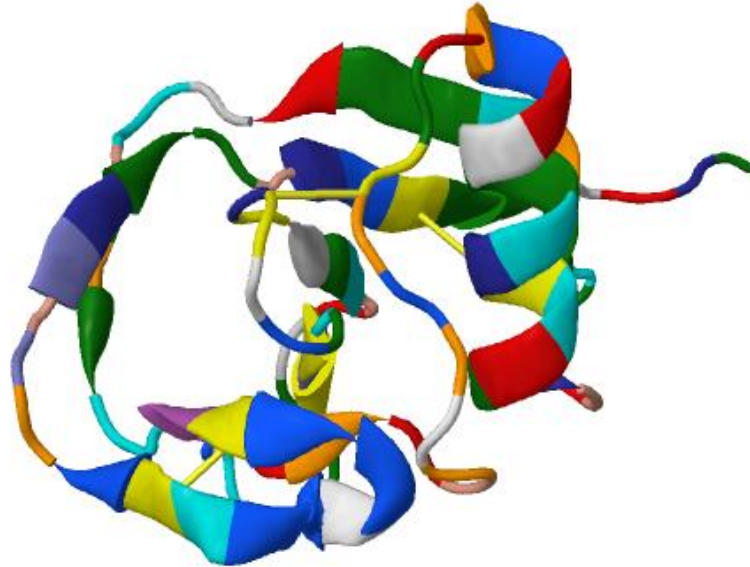
## **4. Beeta-amyloidiproteiini**

Lukuisat tutkimukset jo monien vuosien varrelta osoittavat, että beeta-amyloidiproteiini (AB) toimii hyvin suurella osalla ihmisen muistia. AB:n toiminta korreloituu suoraan siihen, kuinka hyvin solu pystyy tuottamaan muistisoluja ja niiden määrään soluissa. AB:n vaikutusta on tutkittu monella erilaisella tavalla, mutta yhtenä esimerkkinä voisi olla tutkimus, jossa käytettiin AB:n vasta-aineita. Tutkimuksessa huomattiin, että niillä rotilla, joille vasta-ainetta oli annettu, oli selvästi heikompi kyky oppia uusia asioita kuin rotilla, joille vasta-ainetta ei annettu. (Huber ym. 1993)

## 4.1 Rakenne

Beeta-amyloidiproteiini koostuu kahdesta alfakierreestä, joista ensimmäinen kierre sijoittuu aminohappojen kahdeksan ja 25 välille. (Kuva 3) Toinen alfakierre sijoittuu aminohappojen 28 ja 38 välille. AB on osa suurempaa proteiinikokonaisuutta nimeltään amyloidiprekursoriproteiini. Amyloidiprekursoriproteiinissa AB toimii N-terminaalina, eli proteiinin aktiivisena yksikkönä. Amyloidiprekursoriproteiini (APP) on tyypin yksi solukalvon glykoproteiini, joka replikoituu kromosomista 21. APP toimii solussa solukalvoproteiinina, jonka uskotaan myös olevan osana transkription regulaatiota (sitoutuminen APBB1-KAT5 - proteiiniin, jolloin se inhiboi Notch-signaalin kulkemisen), ja erityisesti synapsiraon syntymisessä ja korjautumisessa. Ihmisillä APP sijoittuu neuroneiden pinnoille, sekä toimii reseptorina, neuroneiden kasvun avustamisessa, adheesiossa ja aksonien syntymisessä. (Berchansky Alexander 2019, Olney Laura ym. 2019)

Beeta-amyloidiproteiini syntyy, kun APP siirretään kohdesolun solukalvoon tai neuronaaliseen kalvoon, jolloin AB leikkautuu solun ulkopuolelle. Tämä tapahtuu, kun APP:n entsyymi, beeta-sekretaasi (BACE), toimii poikkeavalla tavalla, kuromalla N-terminaalin ja gamma-sekretaasi C-terminaalin. Kurouma tapahtuu määrittelemättömästi muodostaen aminohappoketjuja, jotka ovat yleisesti pituudeltaan 42:n aminohapon pituisia. Tästä aminohappoketjusta ensimmäiset 16 aminohappoa ovat hydrofobisia ja näin ollen sijoittuvat proteiinin sisälle. Nämä sisäisimmät aminohapot sisältävät erityisiä kupariatomien sitoutumisrakenteita (HIS13 ja HIS14). AB:n toinen sitoutumisalue sijaitsee aminohappojen 12 ja 23 välillä. Tähän alueeseen voi sitoutua kolesterolia, apolipoproteiinia ja joitakin entsyymejä. (Berchansky Alexander 2019, Olney Laura ym. 2019)



*Kuva 3: Beeta-amyloidiproteiinin kolmiulotteinen rakenne. (APP N-terminaalinen rakenne) (Olney Laura ym. 2019)*

## 4.2 Toiminta

AB:n tarkkaa toimintaa ei vielä tunneta. Kokeita proteiinin toiminnasta on kuitenkin tehty paljon, ja niissä on todistettu sen olemattomuus myös vaikuttavana tekijänä solun normaalille toiminnalle. Ottaen huomioon kuitenkin AB:n merkittävyys Notchin signalointiin voidaan vihjata AB:n toiminnan perustuvan solujen signalointiin. On esitetty esimerkiksi mallia, jossa tyrosiinikinaasireseptori A (TrkA) sitoisi hermokasvutekijöitä ja lähettäisi signaalin eteenpäin fosforyloimalla oman C-terminaalinsa ja aktivoimalla SH2-domeeninsa. SH2-domeeni aktivoi proteiinin, joka lopulta johtaa mitogeeni-aktivoituneen proteiinkin (MAPK) aktivaatioon. MAPK:n aktivaatio edistää solun kasvamista. Samasta signaalista on myös mahdollista päästä reaktioon, jossa solukuolema, eli apoptoosi, inhiboituu. Monissa tutkimuksissa on tutkittu näiden signaalien ilmentymistä ja on huomattu, että nämä toiminnot ovat heikentyneet ihmisillä, joilla on diagnosoitu Alzheimerin tauti. Tapauksissa on huomattava yhtäläisyys

beeta-sekretaasiin (BACE) stabiloitumisella ja AB:n tuotannon lisääntymisellä, joka taas on seurausta ikääntymisestä. AB on siis selvästi yhteydessä solun kuoleman, selviytymisen ja kasvun kanssa. AB:n on huomattu toimivan myrkyllisyyden lisäksi myös osana kaikkea signalointia, joka johtaa solun kasvuun. MAPK-signalointi on usein yhteydessä AB:n edistämässä signaalikaskadeissa, joissa tuloksena on MAPK-reseptoreita aktivoivia ligandeja. Voisi siis olettaa, että AB on eräänlainen solun kasvun ja kuoleman regulaattori, joka vaikuttaa signaalikaskadin etenemiseen. Tämä voitaisiin selittää sillä, että neuroneiden ja aktivoituja hermokasvutekijöitä erittävien astrosyyttien välillä olisi vuorovaikutusta hippokampuksen neuroneissa, joissa vallitsisi amyloidi-ympäristö. Tämä vuorovaikutus ilmentäisi alhaisen affiniteetin kasvutekijöitä (p75NTR), jotka johtaisivat solukuolemaan. Tällä tavoin AB:n voisi yhdistää solukuoleman säätelijäksi. AT:n parantamiseen on tutkittu hyvin tarkasti tätä osaluetta AB:n kaskadista, jotta taudin kulkua ja parantamista voitaisiin edistää. (Tabaton ym. 2010)

### **4.3 Väärinlaskostuminen**

Beeta-amyloidiproteiinin väärinlaskostuminen johtuu APP:n vääränlaisesta kuroutumasta. Tällainen kurouman häiriintyminen voi johtua esimerkiksi ulkoisen häiriön vaikutuksesta tai kuroumassa avustavien entsyymien (BACE, PS1/PS2, nikastrin, APH1 ja PEN2) mutaatiosta tai virheellisestä toiminnasta. Jos esimerkiksi BACE-entsyymin toiminta häiriintyy, on hyvin mahdollista, että muodostuneen AB:n rakennetta ja laskostumista ei pystytä korjaamaan ja se muodostaa nopeasti myrkyllisiä aggregaatteja. Tällainen aggregaatio voi johtua esimerkiksi proteiinien laatukontrollin ylikuormittumisesta ja mitokondrion vajaatoiminnasta. Väärinlaskostumisen jälkeiset tapahtumat aiheuttavat suurta stressiä ER:lle ja proteiinien laatukontrollille. AB:n väärinlaskostumisen syytä ei vielä tiedetä kovin hyvin, mutta tämänhetkisen tiedon mukaan sen aiheuttaa kromosomissa 21 tapahtunut mutaatio. (Ashraf ym. 2014)

AB:n väärinlaskostuminen alkaa ensin kuroutumisvaiheesta, jossa APP:n N-terminaali ja C-terminaali kuroutuvat pois. N-terminaalista syntyy AB, jonka täytyy laskostua säilyttääkseen stabiilisuutensa. Jos solussa tapahtuu mutaatiota, AB:n väärinlaskostuminen voi tapahtua. Normaalisissa tilassa beeta-amyloidit ovat liukoisia monomeerejä, jotka sisältävät vain lyhyitä

beetalauttoja ja polyproliini-II-helikaasirakenteita. Kun AB on väärinlaskostunut, ne käyvät läpi suuria konformaatiomuutoksia, jotka muodostavat risti- $\beta$ - rakenteen (Kuva 1). Näistä rakenteista muodostuu aggregaatteja, jotka lopulta muodostavat myrkylliset amyloidifibrillit. (Berchansky Alexander 2019, Huber ym. 1993)

## **5. Beeta-amyloidiproteiinin merkitys Alzheimerin taudissa**

Biokemiallisesti Alzheimerin tauti voidaan jakaa kolmeen neuropatologiseen osaan: Beeta-amyloidin aiheuttama solunulkoisen plakin kerääntyminen, solunsisäinen neurofibrillaaristen solmujen syntyminen (NFTs) ja synaptinen degeneraatio. Nämä tapahtuvat yleisesti aivojen myöhäisaivoaivopassa, hippokampuksessa ja muissa toistuvissa alueissa, jotka ovat tärkeitä kognitiiviselle toiminnalle. (Sadigh-Eteghad ym. 2015)

### **5.1 Väärinlaskostuminen ja oligomeerit**

Beeta-amyloidia tuotetaan solussa APP:sta (Aivoissa yleisin isomeeri on APP770) proteolyyttisen kurouman avulla. APP:sta kuroutuu kahdenlaista beeta-amyloidia: amyloidigeneettistä ja ei-amyloidigeneettistä, joista ensimmäinen saa aikaan AT:n ensivaiheet. Kun beeta-amyloidiproteiini väärinlaskostuu, sen konformaatio muuttuu. Tästä seuraa muutoksia AB:n metaboliassa, jotka vaikuttavat AB:n tuotantoon, AB42/AB40 (Amyloidin kaksi konformaatiota) suhteeseen ja vähentyneeseen AB:n hajottamiseen. AB42/AB40 suhdetta voi suurentaa mutaatiot kolmessa eri geenissä: APP, presenilin-1 ja presenilin-2. Näiden geenien mutaatio on todettu vaikuttavan radikaalisti AB:n väärinlaskostumiseen ja siitä johtuvaan AB42-peptidin oligomerisaatioon. AB:n myrkyllisyys syntyy, kun sen konformaatio muuttuu alfakierteestä beetalevyksi. Tätä todistavat tutkimukset, joissa on tutkittu, että AB:n myrkyllisyys riippuu sen rakenteesta, ei sen aminohappojärjestyksestä. Tällainen radikaali konformaation muutos altistaa hydrofobisia aminohappoja ja aiheuttaa aggregaattiproteiinien muodostumisen. Huomioitavaa on myös, että toisten proteiinien väärinlaskostuminen voi aiheuttaa toisissa normaalisti toimivissa proteiineissa odottamattomia konformaation

muutoksia ja tällöin myös mahdollisesti myrkyllisyyttä. (Ashraf ym. 2014, Murphy & LeVine 2010, Tabaton ym. 2010)

Oligomerisaatio on kemiallinen prosessi, jossa pienemmistä monomeereistä muodostuu oligomeerejä, eli suurempia kokonaisuuksia. AB voi esiintyä monenlaisena aggregaatioasteena: monomeerinä, oligomeerinä (ADDL) ja fibrillinä. Yleisesti ottaen oligomeerit voidaan jakaa kahteen kategoriaan: ennen fibrillisaatiota ja fibrillisaation jälkeen. Tämä voidaan päätellä siitä, että näillä kahdella muodolla vaikuttaisi olevan erilaiset aggregaatioreitit. AB:n aggregaatti on todettu olevan pieniä ja liukoisia, jotka voivat sisältää noin viisi monomeeriä, ADDL tai protofibrillejä. Yleisin muoto AB:n aggregaateista on oligomeeri. Nämä oligomeerit muodostavat aivosolujen ulkopuolen väleihin talletuksia (amyloidiplakkia), jotka kasvattavat kokoaan aina uusien beeta-amyloidiproteiinien väärinlaskostuessa. Tuoreissa tutkimuksissa on todettu näiden amyloidiplakkien olevan vähemmän myrkyllisiä itse solulle, ja paljon myrkyllisemmiksi on havaittu beeta-amyloidin oligomeerit. Normaalisissa soluissa tällaiset AB:n kasaantumiset voitaisiin poistaa kaperonien ja proteosomien avulla. Soluissa, joissa on tapahtunut mutaatio, plakkia ei pystytä poistamaan lisääntyneen stressin vaikutuksesta. Syntyneet oligomeerit vaikuttavat synapsiin ja sen toimintaan heikentämällä synapsin välistä liikenteen määrää. Tämä vaikutus synapsiin on aluksi lievä ja pieni, mutta ajan kuluessa se kasvaa ja vauriot synapsissa lisääntyvät. (Ashraf ym. 2014)

## **5.2 Beeta-amyloidiplakki**

Mikroskoopilla pystytään aivosoluissa havaitsemaan hopeavärjättyjä alueita, jotka viittaavat taudin vaikuttaneisiin aivosoluihin. Tällainen tapa on vanha ja eroaa paljon nykyaikaisista EKG-mittauksista, mutta tämä oli tapa, jolla Alois Alzheimer määritteli ensimmäisenä aivosoluissa olevan beeta-amyloidiplakin. Kun amyloidifibrillejä on tarpeeksi, ne muodostavat yhdessä amyloidiplakkia, jota voidaan havaita aivosolujen ulkopuolella esimerkiksi mikroskoopin avulla. Solun sisäinen AB40- ja AB42-peptidien ylimäärä aiheuttaa beeta-amyloidiplakin syntymisen, joka edistää mikroglian ja astrosyyttien aktivaation, sekä neuronaalisen synapsin menetyksen. Tarkemmissa tutkimuksissa on huomattu, että näillä plakeilla ei kuitenkaan ole suoranaista yhteyttä dementiaa aiheuttaviin tekijöihin, joten

tutkimus onkin siirtynyt näistä plakeista liukoisiin oligomeereihin ja fibrillisaatioon. Normaleissa oloissa ja nuorilla aivoilla vallitsee tasapainotila amyloidin muodostumisen ja hajotuksen välillä. Kuitenkin vanhenevassa ja patologisessa olosuhteessa, kuten metabolisessa häiriössä ja eksitotoksisuudessa, AB:n hajottaminen ja muodostuminen häiriintyvät ja se johtaa AB:n kasautumisen plakiksi. (Sadigh-Eteghad ym. 2015)

### 5.3 Fibrillisaatio

AB:n fibrillisaatio on prosessi, jossa AB:n monomeeri muuttuu oligomeeriksi (ADDL). Tämä saa alkunsa konformaatiomuutoksesta alfakierteestä beetalevyksi. Tässä konformaation muutoksessa tärkeänä aloittajana pidetään AB:n N-terminaalia, josta konformaation muutos saa alkunsa. On tutkittu, että AB:n aminohapot 10-42 olisivat osallisia beetalevyn ytimen muodostumisessa ja 1-9 olisivat fibrillien välisen vuorovaikutuksen muodostamisessa. AB:n alfakierre kokee deprotonaation sen sivuketjuilla aminohapoissa asparagiini-7, glutamiini-11, glutamiini-22 ja asparagiini-23, ja protonisaation aminohapoissa histidiini-6, -13 ja -14. Protonisaatiot ja deprotonisaatiot aiheuttavat alfakierteen epävakautumisen ja kriittisessä konsentraatiossa alfakierre uudelleenjärjestyy oligomerisoituneeksi beetalevyksi. Kun oligomeerejä on paljon, ne fibrillisoituvat aivosolujen sisälle ja muodostavat amyloidiplakkia, jotka keräävät sisäänsä AB:n fibrillejä. Nämä fibrillit on havaittu muodostuneen lyhyistä peptideistä, jotka vuorostaan muodostuvat yksittäisistä stabiileista beetalevyistä. Näiden fibrillien muodostumista helpottaa jo muodostuneiden oligomeerien rakenne: beetalevyt sisältävät selkärangassaan vetysidosmahdollisuuden (käännöksen) toisen beetalevyn kanssa valiini-24:n ja asparagiini-27:n välissä, sekä glysiini-25:n, lysiini-28:n, isoleusiini-32:n ja glysiini-37:n välissä. Fibrillien beetalevyjen stabiilisuuden on tutkittu johtuvan elektrostaattisten vuorovaikutusten takia histidiinin ja asparagiinin/glutamiinin välillä muodostuvista suolasilloista ja hydrofobisista kontakteista. Beetalevyistä muodostuneet fibrillit ovat aluksi profibrillejä, jotka toimivat fibrillien prekursorina. Profibrillit ovat kaartuneita ja normaalisti paljon lyhyempiä kuin täysin muodostuneet fibrillit. Täysin muodostuneet fibrillit syntyvät, kun viisi tai kuusi protofilamenttia asettautuvat onton keskiön ympärille muodostaen kuvan kaksi (A) mukaisen rakenteen. Fibrillien vaikutus synaptiseen toimintahäiriöön on selvä: muodostuneet AB:n fibrillit tukkivat synapsin reseptorit ja estävät



synapsissa kulkevien viestiaineiden siirtymisen synapsiraon toiselle puolelle. (Ashraf ym. 2014, Sadigh-Eteghad ym. 2015, Tabaton ym. 2010)

Fibrillisoituminen saa aikaan solussa infektiotaudin vasteen ja immuunipuolustuksen aktivoitumisen. Immuunipuolustus ei kuitenkaan pysty poistamaan amyloidiplakkia solusta ja se jatkaa kerääntymistään solujen ulkopuolelta sen sisälle suuriksi altaiksi, jotka voidaan havaita elektronimikroskoopilla. Seuraavaksi, muodostuneiden väärinlaskostuneiden AB:n määrä aiheuttaa neurosoluissa synaptisen selkärangan menettämisen ja tapahtuu neuriittinen dystrofia. Tapahtumat aiheuttavat vakavia soluvaurioita neurosoluille, mikä jatkuu progressiivisesti ajan kuluessa. Soluvaurioiden aiheuttamana syntyy neuroninen ionimuutos homeostasiassa (esimerkiksi kalsiumin määrän vähentyminen), oksidatiivisen stressin lisääntyminen ja monia muita biokemiallisia muutoksia. Nämä muutokset aiheuttavat myös solunmetaboliassa muutoksia: kinaasi- ja fosfataasireaktioiden muutokset aiheuttavat neuronisolujen sotkeutumisen ja solmujen syntyminen toistensa ympärille. Solmujen syntyminen ja lopullinen solukuolema aiheutuvat pitkälle levinneestä oligomerisaatiosta ja tauproteiinin hyperfosforylaatiosta. (Ashraf et al., 2014b; Haass & Selkoe, 2007)

#### **5.4 Tau-proteiini ja neurofibrillaarinen solmu**

Neurofilamentit ovat lineaarisia, noin 9-10 nanometrin pituisia mikrofilamentteja, joita voidaan löytää neuronaalisen solun rakenteista (solun tukiranka, aksoni ja dendriitti). Ne ovat neuronaalisen sytoskeletonin päärakennusaineita, jotka mahdollistavat rakenteellisen muodon solun kaikille osille. Tau on mikrotubuliineihin liittyvä neuronaalinen proteiini. Tau-proteiinia valmistavat neuronit. Normaaleissa neuronaalisen kasvun olosuhteissa hermosolun kasvutekijät kasvattavat taun ekspressiota. Kasvutekijöiden vaikutuksesta Tau-proteiinit avustavat tubuliinien rakentumista mikrotubuliineiksi. Tau-proteiinilla on kuusi isomeeriä, jotka kaikki syntyvät yhdestä taugenistä. Tau-proteiinien määrä ja rakenne määräävät sen, kuinka ne vaikuttavat mikrotubuliinien stabiilisuuteen. Tau-proteiini vuorovaikuttaa mikrotubuliinien kanssa sitoutumalla proliini-rikkaisiin alueisiin N-terminaalissa neljän erilaisen C-terminaalien alueen välityksellä (C-terminaalien osat sisältävät monta aminohappositoutumisen elementtiä). Tau-proteiinien sitoutumista mikrotubuliineihin säädellään fosforylaation ja defosforylaation avulla tietyissä aminohapoissa. Kuitenkin

patologisissa olosuhteissa ekspressio voi muuttua. Alzheimerin taudissa tau-proteiini on toinen päämolekyyleistä, joka väärinlaskostuu ja muodostaa solunsisäisiä aggregaatteja. Tau-proteiinien väärinlaskostuminen alkaa, kun Tau-geenissä tapahtuu MAPT-mutaatio. Mutatoitumisen seurauksena tau-proteiinit väärinlaskostuvat oligomeereiksi, jotka muodostuvat beetalevyistä AB:n oligomeerien tavoin. Tau-proteiinien oligomerisaatio johtuu niiden hyperfosforylaatiosta Tau-kinaasin aktivoituttua, mikä estää niitä sitoutumasta mikrotubuliineihin. Tau-kinaasin aktivaatio johtuu AB:n sisäisestä kasautumisesta neurosolun sisälle. Kun Tau-kinaasin vaikutus jatkuu pitkään, hyperfosforyloidut tau-proteiinit muodostavat profibriilejä neurofilamenttien kanssa, ja niistä syntyy täysin valmistuneita fibrillejä. (Sadigh-Eteghad ym. 2015)

Hyperfosforyloidut tau-proteiinit kasaantuvat somatodendriittisiin osiin neuroneissa, muodostaen alun neurofibrillaarisille solmuille (NFT). NFT:t ovat rakenteeltaan parillisia helikaasifilamentteja (PHF), jotka rakentuvat hyperfosforyloiduista tau-proteiineista tai neurofilamenteista. NFT:t voidaan havaita hippokampuksen pyramidaalisissa soluissa ja aivokuoren neuroneissa. Tapahtuneen mutaation takia tau-proteiinit eivät pysty kiinnittymään mikrotubuliineihin ja stabiloimaan niitä. Seurauksena epästabiilit mikrotubuliinit romahtavat ja niiden kannattelema solun tukiranka hajoaa. Kiinnittymättömät tau-proteiinit kasaantuvat solujen sisälle, sillä niitä poistavat entsyymit toimivat vajaasti lisääntyneen solunsisäisen AB:n vaikutuksesta ja muodostavat vaurioita (tau-proteiinien aggregaatteja). Seurauksena alkaa neurofibrillaaristen solmujen kehittyminen. Ajan myötä näistä vaurioista kehittyy filamentoituneita neurofibrillaarisia solmuja, jotka estävät monien tärkeiden solunsisäisten toimintojen tapahtumisen. Amyloidiplakin ja NFT:n uskotaan laukaisevaan neuroneiden tulehduksen, joka lopulta johtaa neuroneiden toimintahäiriöön ja kuolemaan aivoissa. Neuroneiden solukuolemista vastena tapahtuu AT:lle ominainen dementia. (Ashraf ym. 2014, Sadigh-Eteghad ym. 2015)

AB:n ja tau-proteiinien välillä on tärkeä yhteys AT:n edistymisen kannalta. Tutkimuksissa on esitetty kolme erilaista aineenvaihdunnan reittiä, joissa AB:n ja tau-proteiinien yhteys voitaisiin havaita. Ensimmäisenä reittinä pidetään AB:n aktivoimaa Tau-kinaasia, joka aiheuttaa taun hyperfosforylaation ja siitä seuraavan neurofibrillaaristen solmujen alkamisen. Toisena yhteytenä pidetään AB:n edistämiä proteosomien toimintahäiriöitä, jotka johtavat laskevaan tau-proteiinien hajotukseen. Kolmantena yhteytenä on AB:n aktivoima CASP3, joka edistää tau-proteiinien katkaisua ja aggregaatiota. Kaikki nämä kolme reittiä edistävät suoraan

neurofibrillaaristen solmujen muodostumista neuroneiden ulokkeisiin, ja myös todistavat sen, että AB:lla on vaikutus tau-proteiinien tuotantoon. (Sadigh-Eteghad ym. 2015)

## **5.5 Mahdolliset Alzheimerin taudin ehkäisykeinot**

Alzheimerin taudin parantamisessa ja ehkäisyssä kaikista tärkein asia on riittävän aikainen havainto taudista. Mitä pitemmälle tauti on ehtinyt edetä, sitä hankalampi se on hoitaa. Yksi tapa havainnoida tauti on yksinkertaisesti mitata beeta-amyloidiplakin määrää. Tämä on kuitenkin jo liian myöhäistä, sillä tauti on jo ehtinyt edetä liian pitkälle, kun beeta-amyloidiplakin määrä on hälyttävän suuri. Toinen ja parempi tapa on tutkia neurofibrillaaristen solmujen muodostumista aivosoluissa. Tutkimuksissa on huomattu, että NFT:t muodostuvat monia vuosia ennen kuin Alzheimerin taudin oireet alkavat. Taudin huomaamisesta kuitenkin tekee vaikean se, että AT etenee kliinisesti hiljaisena todella pitkän aikaa. Lääkehoito onkin tästä syystä nykyisellä tietämyksellä todella hankalaa, sillä tehokkain ajankohta on yleensä juuri taudin alussa, milloin oireet ovat huomaamattomat. Hankalaksi tekee myös meidän vähäinen tietomme proteostaasin mekanismeista ja kuinka niitä voidaan tasapainottaa ja tehokkaasti hallita. Proteostaasia ohjaavat ja muokkaavat kaskadit olisivatkin hyvä alue, josta voisi olla tulevaisuudessa suurta hyötyä AT:n parantamisessa ja ehkäisemisessä. (Ashraf ym. 2014)

Uusissa tutkimuksissa on huomattu, että todella tehokkaana ja mahdollisena Alzheimerin taudin ehkäisijänä olisi liikunta. Tämä mahdollisuus tajuttiin vasta 1990-luvulla, kun rotilla huomattiin kehittyvän uusia aivosoluja hippokampuksen alueelle juoksemisen seurauksena. Samanlaisia havaintoja on tehty myös toisissa samantapaisissa tutkimuksissa. Alzheimerin taudissa vakavinta on AB:n ansiosta tapahtuva hippokampuksen rappeutuminen, joka voitaisiin kokeiden perusteella estää ja ehkäistä riittävällä liikunnalla. Pelkällä perusliikunnalla ei kuitenkaan tutkimusten mukaan saa aivoille tarpeeksi virikettä. Tarvittava liikunta täytyy olla siis kognitiivisesti haastavaa, kuten esimerkiksi juokseminen metsäpolulla, jotta se estäisi Alzheimerin taudin etenemistä. AB:n tuotantoa liikunta ei kuitenkaan hidasta. Uusien aivosolujen syntyminen kuitenkin mahdollistaa hippokampuksen ja otsalohkon kasvamisen, ja yhdistettynä hyvään unen määrään, AT:n edistyminen hidastuu merkittävästi. (Raichen David & Alexander Gene 2020)

## 6. Kirjallisuusviitteet

- 2020 Kustannus Oy Duodecim (2018). Alzheimerin tauti.  
[https://www.terveyskirjasto.fi/terveyskirjasto/tk.koti?p\\_artikkeli=dlk00699](https://www.terveyskirjasto.fi/terveyskirjasto/tk.koti?p_artikkeli=dlk00699). 12.3.2020.
- Ashraf GM, Greig NH, Khan TA, Hassan I, Tabrez S, Shakil S ym. (2014). Protein misfolding and aggregation in Alzheimer's disease and type 2 diabetes mellitus. *CNS & neurological disorders drug targets* 13(7): 1280-1293.
- Berchansky Alexander (2019). Amyloid precursor protein.  
[http://proteopedia.org/wiki/index.php/Amyloid\\_precursor\\_protein](http://proteopedia.org/wiki/index.php/Amyloid_precursor_protein).
- Cipriani G, Dolciotti C, Picchi L & Bonuccelli U (2011). Alzheimer and his disease: a brief history. *Neurological sciences : official journal of the Italian Neurological Society and of the Italian Society of Clinical Neurophysiology* 32(2): 275-279.
- Creighton TE (1995). Protein folding. An unfolding story. *Current biology : CB* 5(4): 353-356.
- Duthey Béatrice & Tanna Saloni (2013) Background Paper 6.11 Alzheimer Disease and Other Dementias. : WHO.
- Guidi G, Di Tucci L & Santambrogio M (2016). ProFAX: A hardware acceleration of a protein folding algorithm.
- Hartl FU (2017). Protein Misfolding Diseases. *Annual Review of Biochemistry* 86: 21-26.
- Hatters DM (2017). Protein folding: Illuminating chaperone activity. *Nature chemical biology* 13(4): 346-347.
- Huber G, Martin JR, Löffler J & Moreau J- (1993). Involvement of amyloid precursor protein in memory formation in the rat: an indirect antibody approach. *Brain research* 603(2): 348-352.
- Lane CA, Hardy J & Schott JM (2018). Alzheimer's disease. *European journal of neurology* 25(1): 59-70.
- Masters CL & Beyreuther K (1998). Alzheimer's disease. *BMJ (Clinical research ed.)* 316(7129): 446-448.
- Murphy MP & LeVine H,3rd (2010). Alzheimer's disease and the amyloid-beta peptide. *Journal of Alzheimer's disease : JAD* 19(1): 311-323.
- Olney Laura, Harel Michal and Berchansky Alexander (2019). Amyloid beta.  
[http://proteopedia.org/wiki/index.php/Amyloid\\_beta](http://proteopedia.org/wiki/index.php/Amyloid_beta). 16.4.2020.

- Raichen David & Alexander Gene (2020). Aivot Tarvitsevat Liikuntaa . Tiede 40(5): 14-21.
- Sadigh-Eteghad S, Sabermarouf B, Majdi A, Talebi M, Farhoudi M & Mahmoudi J (2015). Amyloid-beta: a crucial factor in Alzheimer's disease. Medical principles and practice : international journal of the Kuwait University, Health Science Centre 24(1): 1-10.
- Sirangelo I, Borriello M, Irace G & Iannuzzi C (2018). Intrinsic blue-green fluorescence in amyloid fibrils. AIMS Biophysics 5: 155-165.
- Tabaton M, Zhu X, Perry G, Smith MA & Giliberto L (2010). Signaling effect of amyloid-beta(42) on the processing of AβPP. Experimental neurology 221(1): 18-25.
- Tiwari S, Atluri V, Kaushik A, Yndart A & Nair M (2019). Alzheimer's disease: pathogenesis, diagnostics, and therapeutics. International journal of nanomedicine 14: 5541-5554.
- Weller J & Budson A (2018). Current understanding of Alzheimer's disease diagnosis and treatment. F1000Research 7: 10.12688/f1000research.14506.1. eCollection 2018.