



Kandidaatintutkielma

# Apoptoosi Alzheimerin taudin aiheuttajana

Enni Pirilä

# Sisällysluettelo

Käytetyt lyhenteet .....	3
1. Johdanto .....	5
2. Apoptoosi .....	6
2.1. Apoptosomi .....	6
2.2. Apoptoosin sisäinen ja ulkoinen reaktiotie.....	7
3. Kaspasit .....	9
3.1. Kaspasien rakenne .....	10
3.2. Kaspasien toiminta.....	11
3.2.1. Kaspasien aktivaatio .....	11
4. Alzheimerin tauti.....	12
4.1. Alzheimerin taudin oireet .....	13
4.1.1. Taudin eteneminen .....	13
4.2. Alzheimerin taudin syntymekanismi .....	15
4.2.1. Kolinerginen hypoteesi .....	15
4.2.2. Amyloidi-hypoteesi.....	15
4.2.3. Tauhypoteesi .....	16
4.2.4. Alttiutta lisäävät geneettiset riskitekijät.....	16
4.2.5. Tautia aiheuttavat tunnetut geenimutaatiot .....	17
4.2.5.1. Amyloidin prekursoriproteiinia koodaava geeni .....	17
4.2.5.2. Preseniliini 1 -geeni .....	18
4.2.5.3. Preseniliini 2 -geeni .....	19
4.3. Alzheimerin taudin ennaltaehkäisy ja hoito .....	19
5. Apoptoosi Alzheimerin taudin taustalla .....	20
5.1. Bcl-2-proteiiniperheen rooli Alzheimerin taudissa .....	21
5.2. Kaspasien rooli Alzheimerin taudissa.....	22
5.3. APP:n solunsisäisen C-terminaalisen osan rooli Alzheimerin taudissa .....	23
5.4. TNF-proteiiniperheen rooli Alzheimerin taudissa.....	24
5.5. Wnt-signaaloinnin ja preseniliinin rooli Alzheimerin taudissa .....	25
6. Apoptoosia estävät Alzheimer-lääkkeet.....	25
6.1. TNF- $\alpha$ :n inhibiittorit.....	26
6.2. Kaspasien inhibiittorit.....	27
7. Kirjallisuusviitteet .....	28

## Käytetyt lyhenteet

AKE	Asetyylikoliini-esteraasi
Apaf-1	Apoptoottisten proteaasien aktivaattitekijä 1
ApoE	Apolipoproteiini E
APP	Amyloidin prekursoriproteiini
ATP	Adenosiinitrifosfaatti
Bad	Bcl-2:een liittyvä kuoleman promoottori
Bak	Bcl-2 homologin antagonistinen tappaja
Bax	Bcl-2:een liittyvä proteiini X
Bcl	B-solulymfooma (proteiini)
BH	Bcl-2 homologi
Bid	BH3: n kanssa reagoivan domeenin kuoleman agonisti
Bim	Bcl-2: n kanssa reagoiva solukuoleman säätelijä
BRUCE	Bakuloviruksen IAP-proteiinin toiston sisältävä ubikitiinia konjugoiva entsyymi
CAD	Karbamyylifosfaatti-syntetaasi-2
CARD	Kaspaasien väräysdomeeni
ChAT	Koliiniasetyylitransferaasi
cIAP	Solullisen apoptoosin inhibiittori
CrmA	Sytokiinivasteen muokkaaja-A
dATP	Deoksiadenosiinitrifosfaatti
DED	Kuolemanefektori-domeeni
DISC	Kuolemaa tehostava signaalintikompleksi
DNA	Deoksiribonukleinihappo
DP5/Hrk	Kuolemanproteiini 5 / <i>harakiri</i>
DR	Kuoleman reseptori
FADD	Fas-proteiiniin liittyvä kuolemandomeeni
FasL	Fas-ligandi
FasR	Fas-reseptori, myös CD95, APO-1/FasR tai CD95/APO-1
Fc	Pirstoutuneesti kristallisoituva
FLICE	FADD:a muistuttava ICE

GSK-3 $\beta$	Glykogeenisyntaasikinaasi-3 $\beta$
HD	Helikaalinen domeeni
IAP	Apoptoosin inhibiittori
ICE	IL-1 $\beta$ :aa konvertoiva entsyymi
IgG1	Immunoglobuliini G1
IL-1 $\beta$	Interleukiini-1 $\beta$
ILP-2	IAP:ia muistuttava proteiini 2
kDa	kilo-Dalton
KHG26377	2-syklopropylimino-3-metyyli-1,3-tiazoliinihydrokloridi
MAbi	Monoklonaalinen vasta-aine
ML-IAP	Melanoma-IAP
mRNA	lähetti-RNA
NAIP	NOD:ia muistuttavan reseptoriperheen apoptoosia inhiboiva proteiini
NBD	$\alpha/\beta$ -Nukleotidejä sitova domeeni
NFT	Neurofibrillivyyhti
NH <sub>2</sub>	Aminoryhmä
NMDA	N-metyyli-D-aspartaatti
NOD	Nukleotidien oligomerisaatiodomeeni
p75	TNFR2:n solunulkoinen osa
PARP	Poly-ADP-riboosi-polymeraasi
TACE	TNF- $\alpha$ :a konvertoiva entsyymi
TNF	Tuumorinekroositekijä
TNFR	TNF-reseptori
TRAIL	TNF:än liittyvä apoptoosia tehostava ligandi
TREM2	Ärsykkeen aiheuttava, myeloidisoluissa ekspressoitu, reseptori 2
VACHT	Vesikulaarinen asetyylikoliinin kuljettaja
VLDL	Hyvin alhaisen tiheyden lipoproteiini
WHD	Siivellinen heliksidomeeni
WHO	Maailman terveysjärjestö
XIAP	X-linkitetty IAP

## 1. Johdanto

Ihmisen aivot ovat kompleksinen systeemi, jonka toimintaa ei täysin tunneta. Aivojen toiminnan keskiössä ovat kuitenkin hermosolut, neuronit, joita esiintyy aivojen lisäksi myös muualla kehossa. Hermosolujen tärkein tehtävä on viestien kuljettaminen solujen välillä (Kempermann 2006, Pino *et al.* 2017). Niiden tai niiden toiminnan etenevä väheneminen eli hermostollinen rappeuma on keskeinen aivosairauksien, kuten muistisairauksien, aiheuttaja (Przedborski *et al.* 2003).

Alzheimerin tauti on maailman yleisin muistisairaus ja se on luokiteltu Maailman terveysjärjestön (WHO) mukaan maailmanlaajuisesti kansanterveyden prioriteetiksi (Lane *et al.* 2018). Maailmassa on tällä hetkellä jopa 50 miljoonaa Alzheimerin tautia sairastavaa potilasta ja luvun on arvioitu kasvavan yli 150 miljoonaan vuoteen 2050 mennessä (Livingston *et al.* 2020). Taudin esiintyvyys on yleisempää naisilla kuin miehillä, minkä lisäksi jopa 15–20 prosenttia yli 85-vuotiaista sairastaa sitä. Alzheimerin taudin johtaminen kuolemaan kestää yleensä yli 10 vuotta ensimmäisten oireiden alkamisesta (Juva 2021).

Alzheimerin tauti rappeuttaa aivoja edeten yleensä ohimolohkojen sisäosista aivokuorelle. Sen on todettu olevan dementian eli laaja-alaisen muistin ja muun kognitiivisen toimintakyvyn heikkenemisen yleisin aiheuttaja (Juva 2021). Lukuisista tutkimuksista huolimatta taudin perimmäistä syytä ei täysin tunneta. Tauti ei itsessään ole yleensä perinnöllinen, mutta sairastumisalttius saattaa olla. Eräs teoria sairauden aiheuttajasta on hermostollinen apoptoosi (Breijyeh & Karaman 2020).

Apoptoosi, eli ohjattu solukuolema on yleensä normaali osa kudosten ja solujen elinkaarta. Liiallinen tai liian vähäinen apoptoosi voi aiheuttaa solu- ja kudostyyppin mukaan muun muassa neurodegeneratiivisia sairauksia, autoimmuunisairauksia ja erilaisia syöpiä (Elmore 2007). Solu hajoaa apoptoottiseksi kappaleiksi, kun sen morfologia muuttuu sytoplasman ja kromatiinin kondensaation myötä. Apoptoosiin johtavia reaktioteitä ja niihin vaikuttavia molekyyliä tunnetaan useita (Maślińska 2003).

## 2. Apoptoosi

Apoptoosi on normaali fysiologinen reaktio, jossa solu tuhotaan hallitusti. Useat spesifiset proteiinit, kuten kaspasit, ohjaavat prosessia (Mašlińska 2003). Apoptoosia hyödynnetään niin alkion kehityksessä kuin myöhemmissäkin monisoluisen eliön elinkaaren vaiheissa, kuten immuunipuolustuksen toiminnassa ja hormoniriippuvaisessa solukuolemassa (Mašlińska 2003, Elmore 2007). Apoptoosin voi aiheuttaa niin solunsisäiset kuin ulkoisetkin signaalit (Mašlińska 2003). Proapoptoottisia signaaleja ovat muun muassa kasvutekijöiden väheneminen, Deoksiribonukleiinihapon (DNA) vauriot sekä onkogeenien aktivoituminen (Yuan & Akey 2013).

Muun muassa kromatiinin kondensaatio, tuman pirstoutuminen, solukalvon rakenteen muuttuminen, solun kutistuminen sekä apoptoottisten kappaleiden fagosytoosi ovat apoptoottiselle solulle tyypillisiä morfologisia ominaisuuksia (Reed 2000, Obulesu & Lakshmi 2014). Kromatiinin hajoamisesta huolimatta solukalvo estää haitallisten aineiden pääsyn solulimasta solun ulkopuolelle (Mašlińska 2003). Näin solu voi käyttää uudelleen osiaan, eikä sen ulkopuolelle pääse myöskään muodostumaan tulehdusvastetta. Lopulta solu hajoaa pieniksi kalvon ympäröimiksi kappaleiksi, jotka hävitetään fagosytoosin avulla (Green & Evan 2002, Inohara & Nuñez 2003, Mašlińska 2003).

### 2.1. Apoptosomi

Apoptosomi toimii prokaspasien solunsisäisen eli mitokondriaalisen aktivaation alustana. Ihmisen apoptosomin pääasiallisena rakennusmateriaalina toimivat apoptoottisten proteaasien aktivaatiotekijä 1 (Apaf-1) -molekyylit (Dorstyn *et al.* 2018). Apaf-1 löytyy yleensä terveen solun solulimasta inaktiivisena monomeerina (Liu *et al.* 1996). Stimuloituna Apaf-1 monomeereista rakentuu suurempia rengasrakenteisia polymeerejä, jotka aktivoivat prokaspaseja apoptoosin sisäisessä aktivaatiotiessä (Yuan & Akey 2013). Inaktiivisen Apaf-1:n aktivaatio käynnistyy sytokromi c:n sitoutumisesta (Dorstyn *et al.* 2018). Apoptoottisen signaalin seurauksena sytokromi c vapautuu mitokondriosta ja sitoutuu monomeeriseen Apaf-1:een. Tämä saa aikaan sen konformaation muutoksen, nukleotidien vaihdoksen ja oligomerisaation apoptosomiksi (Kim *et al.* 2005).

Apaf-1:n proteiinidomeeneja ovat kaspasien väräysdomeeni (CARD), nukleotidien oligomerisaatiodomeeni (NOD), helikaalinen domeeni (HD) 2 sekä säätelyalue. NOD pitää sisällään  $\alpha/\beta$  nukleotidejä sitovan domeenin (NBD), HD1:n ja siivellisen heliksidomeenin

(WHD) (Dorstyn *et al.* 2018). Säätealue koostuu kahdesta  $\beta$ -propellista, joissa on seitsemän ja kahdeksan osaa (Reubold *et al.* 2011).  $\beta$ -propellien  $\beta$ -transdusiini-toistojaksot vastaavat sytokromi c:n sitoutumisesta NBD- ja HD1-alueisiin (Zou *et al.* 1997, Zou *et al.* 1999, Yu *et al.* 2005). Ihmisen apoptosomi koostuu seitsemästä Apaf-1 molekyylistä, jotka muodostavat rengasrakenteen. Renkaan keskeltä löytyy NOD, josta ulottuu seitsemän HD2-alueita, joiden päissä on kaksi  $\beta$ -propellia (Acehan *et al.* 2002, Yu *et al.* 2005). Keskus pysyy vakaana Apaf-1-molekyylien välisten  $\alpha$ -helikaalisten vuorovaikutusten, vetysidosten ja suolasiltojen avulla (Zhou *et al.* 2015, Cheng *et al.* 2016).

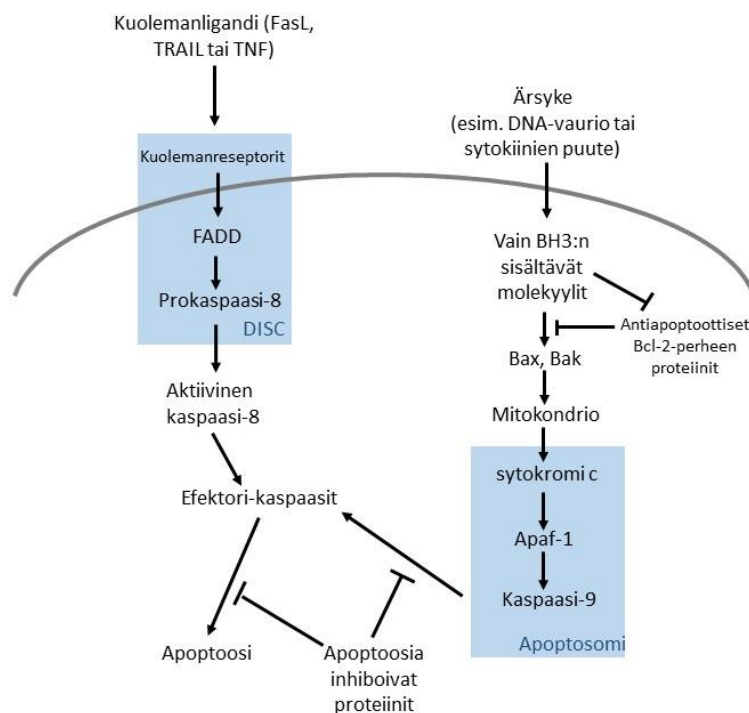
Initiaattori-prokaspasiin aktivoitumisen edellytyksenä on apoptosomi-kompleksien muodostuminen. Initiaattori-prokaspasit aktivoivat myös muut solun kuolemaan osallistuvat prokaspasit. Kaspasiin aktivoituminen aikaansaa proteolyysin, joka hajottaa solun (Yan & Shi 2005). Apaf-1 muodostaa sytokromi c:n ja deoksiadenosiinitrifosfaatin (dATP) kanssa kompleksin, joka toimii prokaspasi-9:n aktivaation alustana (Zou *et al.* 1997, Rodrigues & Lazebnik 1999, Shiozaki *et al.* 2002). Kyseinen kompleksi on saanut nimen Apaf-1 apoptosomi (Zou *et al.* 1997). Vaikka kompleksi sisältää dATP:n, ATPaasi-aktiivisuutta ei ole havaittu. Tämä tarkoittaa, että se ei osallistu adenosiinitrifosfaatin (ATP) hydrolyysiin (Kim *et al.* 2005, Zhou *et al.* 2015). Apoptosomin keskuksessa sijaitsevan CARD:n on havaittu olevan tärkeä osa kaspasi-9:n aktivaatiota (Li *et al.* 2017). Prokaspasi-9:n N-terminaalinen CARD muodostaa Apaf-1:n CARD:n kanssa CARD-CARD-interaktioita, jotka mahdollistavat niiden sitoutumisen toisiinsa (Dorstyn *et al.* 2018).

## **2.2. Apoptoosin sisäinen ja ulkoinen reaktiotie**

Apoptoosia ohjaa kaksi pääreaktiotietä, joita ovat ulkoinen eli kuolemanreseptorien säätelemä ja sisäinen eli mitokondriaalinen reaktiotie (Kuva 1) (Jan & Chaudhry 2019). Ulkoinen reaktiotie käynnistyy, kun solun ulkopuolisia ligandeja, kuten tuumorinekroositekijä (TNF), Fas-ligandi (FasL) ja TNF:än liittyvä apoptoosia tehostava ligandi (TRAIL), liitetään kuolemanreseptorin solun ulkopuoliseen osaan. Kuolemanreseptoreja ovat muun muassa TNF- (TNFR) 1 ja Fas-reseptorit (FasR tai CD95/APO-1) (Jin *et al.* 2005, Elmore 2007, Guicciardi & Gores 2009). FasL/FasR ja TNF- $\alpha$ /TNFR1 vuorovaikutukset käynnistävät kuolemanreseptoreja muodostamaan kuolemaa tehostavia signaalintikomplekseja (DISC) (Jin *et al.* 2005, Bredesen *et al.* 2006, Elmore 2007, Guicciardi & Gores 2009). DISC sisältää Fas-reseptoriin liittyvän kuolemandomeenin, prokaspasi-8:n ja -10:n sekä Fas-proteiiniin liittyvää kuolemandomeenia muistuttavan interleukiini- $\beta$ :aa konvertoivan

entsyymien (FLICE), joka on apoptoosin inhibiittoriproteiini (Bredesen *et al.* 2006). Kaspasi-8:n aktivoituessa sen esidomeeni jää DISC:iin ja aktiivinen domeeni irtoaa aloittaen kaspaseja aktivoivan kaskadin (Medema *et al.* 1997).

Apoptoosin sisäisessä aktivaatiossa sytokromi c:tä vapautuu mitokondrion sisäkalvon sitoutumiskohdista. Nämä sitoutumiskohdat sisältävät kardiolipiineja (Gonzalvez & Gottlieb 2007). Vasteena oikeanlaiselle signaalille pro-apoptoottiset B-solulymfooma (Bcl) -2-proteiniiniperheen proteiinit muodostavat mitokondrion ulkokalvolle aukon, jonka läpi sytokromi c sekä muut efektoriproteiinit pääsevät kulkeutumaan solulimaan (Brunelle & Letai 2009, Tait & Green 2010). Solulimaan päästyään sytokromi c sitoutuu Apaf-1:n  $\beta$ -propelleihin, mikä aikaansaa nukleotidien vaihdoksen ja heptameerisen apoptosomin rakennuksen (Zou *et al.* 1999). Prokaspasi-9-molekyylit sitoutuvat Apaf-1-renkaaseen muodostaen holo-apoptosomin. Kolmiarvoisissa komplekseissa, jotka koostuvat Apaf-1:stä, sytokromi c:stä ja prokaspasi-9:stä, holo-apoptosomi voi muodostua suoraan (Malladi *et al.* 2009). Näiden kolmen muodostama kompleksi on kooltaan noin 1,4 megadaltonia ja vaatii muodostuakseen joko dATP:n tai ATP:n läsnäolon (Saleh *et al.* 1999).



**Kuva 1.** Kaavio apoptoosin ulkoisesta (vasemmalla) ja sisäisestä (oikealla) reaktiitiestä. DISC ja apoptosomi on merkitty kuvaan sinisellä. Ulkoinen reaktiotie käynnistyy kuolemanligandien sitoutuessa solun pinnan kuolemanreseptoreihin. Tätä seuraa initiaattori- ja efektori-kaspasien aktivoituminen. Sisäisessä reaktiitiessä ärsyke laukaisee Bcl-2-proteiniiniperheen proapoptoottisten protei-



iinien aktivoitumisen, mikä johtaa apoptosomi muodostumiseen ja efektori-kaspaasien aktivaatioon. Reaktiotiet yhdistyvät kaspaasien aktivaation myötä. Myös apoptoosin yleisimmät inhibiittorit ja niiden inhiboimat reaktiot on merkitty kuvaan. Bak tarkoittaa Bcl-2 homologin antagonistista tappajaa, Bax BCL-2:een liittyvä proteiini X, DISC kuolemaa tehostava signaalintikompleksi ja FADD Fas-proteiiniin liittyvä kuolemandomeeni. Kuva suomennettu ja muokattu lähteestä: (Xu & Shi 2007).

Solukuoleman toteutuksen reaktiotie on sama sisäisessä ja ulkoisessa signaloinnissa (Sankari *et al.* 2012). Kummastakin muodostumisreitistä seuraa initiaattori-prokaspaasien aktivaatio apoptosomissa (Malladi *et al.* 2009). Kun apoptosomikompleksi on proteolyttisesti aktiivinen, se kykenee aktivoimaan efektori-prokaspaaseja leikkaamalla niihin silmukoita (Riedl & Shi 2004). Efektori-kaspaasit hajottavat proteolyttisesti substraatteja, jotka aikaansaavat apoptoosin (Hengartner 2000, Hu *et al.* 2013).

### 3. Kaspaasit

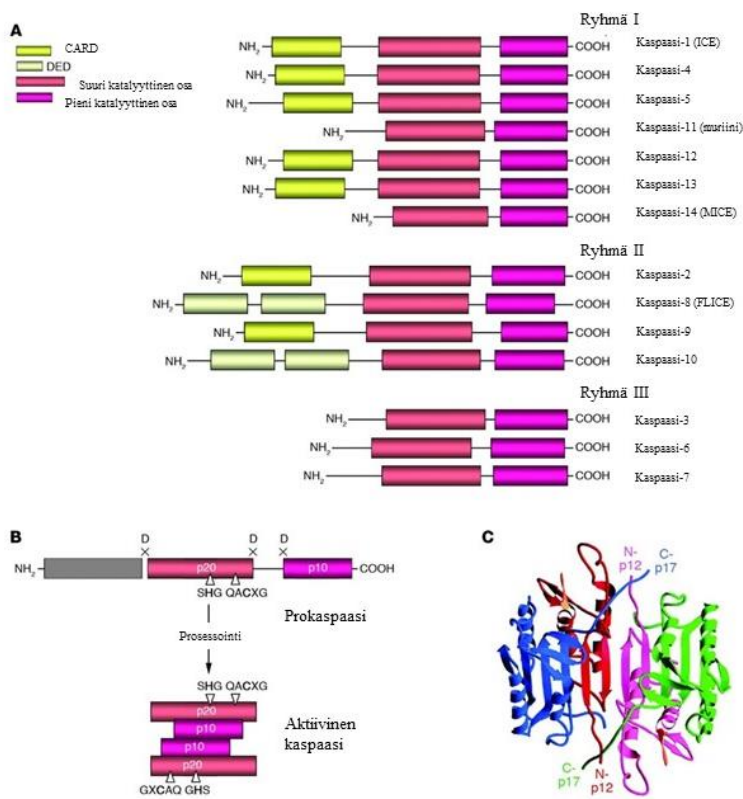
Kaspaasit eli asparagiinihappoja substraateista leikkaavat kysteiiniproteaasit toimivat avainasemassa apoptoosin aloituksessa (Alnemri *et al.* 1996). Kaspaaseja löytyy inaktiivisina proentsyymeinä lähes kaikista eläinsoluista. Ihmisten ja hiirten kudoksia tutkimalla on löydetty noin 14 erilaista kaspaasia. Rakenteellisesti ne voidaan jakaa alaluokkiin joko aminohappoketjun tai proteaasi-spesifisyyden mukaan (Reed 2000). Yleisemmin ne jaetaan kuitenkin toiminnallisuuden mukaan initiaattoreihin ja efektoreihin (Salvesen & Dixit 1997). Esimerkkejä initiaattori-kaspaaseista ovat kaspaasi-2, -8, -9 ja -10. Efektori-kaspaaseja ovat puolestaan kaspaasi-3, -6 ja -7 (Shi 2002).

Aktiiviset efektori-kaspaasit vastaavat pääosin solukuolemaan johtavasta kohdemolekyylien proteolyysistä (Shi 2002). Efektori-kaspaasien yleisimpiä substraatteja ovat muun muassa proteiinikinaasit, signaalitransduktioproteiinit, solutukirangan ja tumamatriisin proteiinit, kromatiinia muokkaavat ja DNA:ta korjaavat proteiinit sekä endonukleaasien inhiboivat osat (Salvesen & Dixit 1997, Thornberry & Lazebnik 1998, Cryns & Yuan 1999). Suurin osa kaspaaseista osallistuu solukuolemaan. Ainakin ihmisen kaspaasi-1:n, -4:n ja -5:n on kuitenkin havaittu osallistuvan tulehdusvastetta edistävien sytokiinin tuotantoon. Esimerkki tällaisesta esiastesytokiinista on pro-interleukiini-1 $\beta$  (Reed 2000). Sytokiineja tuottavien kaspaasien tetrapeptidispesifit leikkauskohdat muistuttavatkin

enemmän pro-sytokiinien kuin apoptoosiin osallistuvien proteiinien vastaavia leikkauskohtia (Salvesen & Dixit 1997, Reed 1998).

### 3.1. Kaspasien rakenne

Suurinta osaa kaspaseista yhdistää aminohappoketjun ja rakenteen samankaltaisuus (Kuva 2). Inaktiivisina ne esiintyvät noin 30–50 kilodaltonin (kDa) kokoisina proentsyymeinä, jotka koostuvat aminoryhmän (NH<sub>2</sub>) sisältävästä terminaaliosasta sekä suuresta ja pienestä osasta, jotka ovat noin 20 ja 10 kDa:n kokoisia (Thornberry & Lazebnik 1998). Aktivoituessaan prokaspasiin suuri ja pieni osa muodostavat proteolyysin seurauksena heterodimeerin (Thornberry & Lazebnik 1998). Kaspasi-1:n ja kaspasi-3:n kristallirakenteen tutkiminen on osoittanut kahden heterodimeerin muodostavan heterotetra-merin, jolla on kaksi katalyyttistä, itsenäisesti toimivaa osaa yhtä molekyyliä kohden (Thornberry & Lazebnik 1998, Cryns & Yuan 1999). Osat kuitenkin toimivat tiiviisti yhteistyössä substraattien sitoutumisen ja katalyysin mahdollistamiseksi (Thornberry & Lazebnik 1998).



**Kuva 2.** Kaspasien rakenne. (A) Kaspasi-perheen kolme pääryhmää, ryhmä I: sytokiinien tuotantoon osallistuvat kaspasit, ryhmä II: Initiaattori-kaspasit ja ryhmä III: efektori-kaspasit.

Kunkin kaspasien eri domeenit havainnollistettuna. (B) Kaavio prokaspasien aktivaatiosta. Tietyn asparagiinihappo-sidoksen leikkaaminen johtaa prokaspasien aktivaatioon. (C) Kaspasi-3:n heterotetrameerin 3D-rakenne. Heterotetrameeri muodostuu, kun kaksi heterodimeeriä sitoutuvat toisiinsa vetysidoksin. Kuvassa DED tarkoittaa kuolemanefektori-domeenia Kuva suomennettu lähteestä: (Lavrik *et al.* 2005).

Initiaattori-prokaspaseilla on suuri, yli 90 aminohaposta koostuva, N-terminaalinen osa, joka mahdollistaa vuorovaikutuksen muiden proteiinien kanssa ja siten aikaansaa kaspasien aktivaation (Salvesen & Dixit 1997, Shi 2002). Efektori-kaspaseilla on puolestaan ainoastaan lyhyt, 20–30 aminohapon, N-terminaalinen osa, joka toteuttaa apoptoosia (Hengartner 2000, Hu *et al.* 2013). Efektori-kaspaseihin kohdistuva proteolyysi sekä niiden aktivaatio ovat riippuvaisia initiaattori-kaspasien toiminnasta. Efektori-prokaspasien suuren ja pienen osan välinen leikkauskohta vastaakin yleensä initiaattori-kaspasien suosimaa spesifiä tetrapeptidiä (Salvesen & Dixit 1997, Shi 2002).

### **3.2. Kaspasien toiminta**

Kaspasit aktivoituvat niihin kohdistuvan proteolyysin seurauksena (Alnemri *et al.* 1996). Kaspasit säätelevät apoptoosia leikkaamalla kohdennettuja proteiineja (Green & Evan 2002, Cairrão & Domingos 2010). Initiaattori-kaspasien tärkein tehtävä on efektori-kaspasien aktivaatio (Hengartner 2000, Hu *et al.* 2013). Efektori-kaspasit puolestaan aktivoivat soluliman endonukleaaseja, jotka saavat aikaan muun muassa kromatiinin kondensaation ja apoptoottisten kappaleiden muodostumisen. Efektori-kaspaseista tärkeimpänä pidetään kaspasi-3:a, koska se aktivoi kromosomaalista DNA:ta hajottavan karbamyylifosfaatti-syntetaasi-2 (CAD) -endonukleasin (Green & Evan 2002, Cairrão & Domingos 2010).

#### **3.2.1. Kaspasien aktivaatio**

Kaspasit syntetisoidaan epäaktiivisina proentsyymeinä, jotka aktivoidaan proteolyysin avulla (Shiozaki 2002, Li *et al.* 2017). Niiden aktivaatio riippuu sekä solutyypistä että vaurion laadusta (LeBlanc *et al.* 1999). Initiaattori-kaspasien aktivaation mekanismeja tiedetään olevan useita, mutta biokemiallisesti ne muistuttavat pitkälti toisiaan. Prokaspasien ei ajatella olevan täysin inaktiivisia, vaan ne kykenevät lähekkäin joutuessaan transprosessimaan toisiaan ja muodostamaan aktiivisia proteaaseja (Salvesen & Dixit 1999). Kaksi aktivaatiomekanismia kuitenkin tunnetaan muita paremmin (Reed 2000). Toiseen

niistä liittyy TNF-reseptorit ja toiseen mitokondriosta vapautuvat kaspaseja aktivoivat proteiinit (Reed 1997, Salvesen & Dixit 1997, Yuan 1997, Green & Reed 1998, Wallach *et al.* 1999). TNF-reseptoreihin liittyvässä mekanismissa kuolemanreseptorit aktivoivat muun muassa kaspasi-8:n. Eräs näistä TNF-reseptoreista on FasR (Peter & Krammer 1998). Initiaattori-kaspasien aktivaatio on tarkkaan säädeltyä ja vaatii yleensä useamman molekyylistä koostuvan kompleksin muodostumisen (Shiozaki 2002). Tästä esimerkkinä voidaan pitää prokaspasi-9:n aktivaatiota, jota johdetaan Apaf-1:n ja sytokromi c:n toimesta (Li *et al.* 1997). Siinä sytokromi c:n sitoutuminen Apaf-1:een aiheuttaa kaspasi-9:n aktivaation, mikä puolestaan johtaa kaspasien aktivaation kautta solukuoleman ohjelmoinnin tapahtumasarjaan (Li *et al.* 1997). Efektori-kaspasien aktivaatio tapahtuu initiaattori-kaspasien toimesta, leikkaamalla tiettyjä asparagiinihappotähteitä, jolloin efektori-kaspasi jakautuu suureen ja pieneen osaan (Shiozaki 2002). Esimerkiksi kaspasi-3 aktivoidaan minkä tahansa initiaattori-kaspasin toimesta (Green & Evan 2002, Cairrão & Domingos 2010).

#### 4. Alzheimerin tauti

Alzheimerin tauti on neurodegeneratiivinen asteittain etenevä sairaus, jonka syntymekanismista ei ole varmuutta (Kuva 3). Alzheimerin tauti voidaan jaotella oireiden alkamisiän perusteella myöhään alkavaan ja varhaisiin Alzheimerin tautiin. Yleisesti Alzheimerin taudista puhuttaessa viitataan sairauden myöhäisemmällä iällä alkavaan muotoon. Noin 1–6 % kaikista Alzheimerin taudin tapauksista on varhaisiin Alzheimeria (Breijyeh & Karaman 2020). Varhaisiin Alzheimerin taudista puhutaan, kun potilas on sairastuessaan alle 65-vuotias. Yleisesti ilmenemisikä vaihtelee kuitenkin 30:n ja 60 ikävuoden välillä (Bekris *et al.* 2010). Alzheimerin taudin diagnosoinnissa hyödynnettyjä biomarkkereita ovat  $\beta$ -amyloidi-42- ja Tauproteiinipitoisuuksien muutokset aivo-selkäydinnesteessä (Buchhave *et al.* 2012).

Alzheimerin taudin epätyypillisinä muotoina voidaan pitää niitä muotoja, jotka eivät täysin vastaa myöhäis- tai varhaisiin Alzheimerin tautia. Näitä ovat muun muassa posteriorinen kortikaalinen atrofia ja otsalohkodementian kaltainen Alzheimerin tauti (Alladi *et al.* 2007). Epätyypillisistä muodoista yleisin on posteriorinen kortikaalinen atrofia, jolle tyypillistä on varsinkin nähdyn hahmottamisen heikentyminen (McMonagle *et al.* 2006, Suárez-González *et al.* 2015). Otsalohkodementian kaltaisessa Alzheimerin taudissa neuropatologiset muutokset poikkeavat usein Alzheimerille tyypillisistä muutok-

sista, joita ovat päälaki- ja ohimolohkojen sekä tiettyjen otsalohkon ja pihtipoimujen osien rappeutuminen (Wenk 2003, Forman *et al.* 2006).

#### **4.1. Alzheimerin taudin oireet**

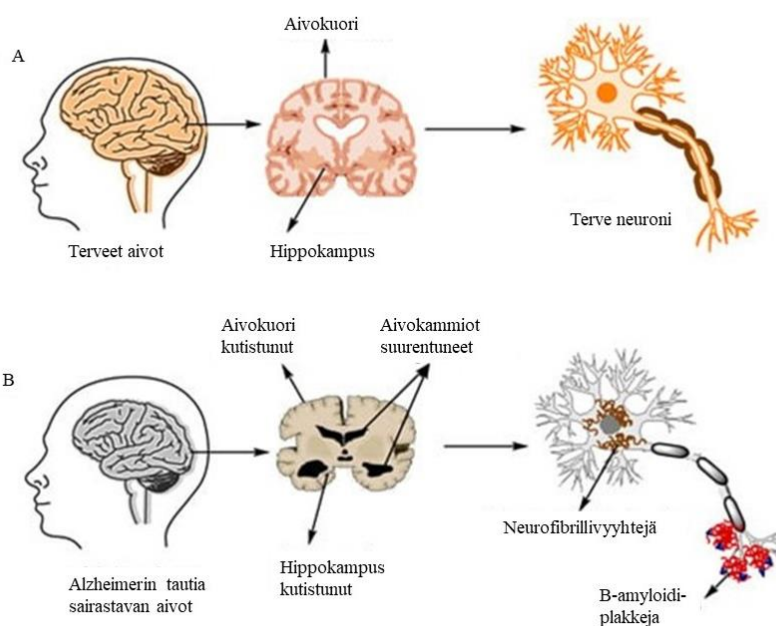
Yleensä ensimmäisenä havaittava oire on muistin heikentyminen. Tauti vaikuttaa varsinkin lähimuistiin, mikä vaikeuttaa muun muassa uuden oppimista. Taudin edetessä puheen tuottaminen ja ymmärtäminen sekä näköön pohjautuva hahmottaminen heikentyvät. Puheen tuottamisen vaikeus voidaan havaita esimerkiksi sanojen hakemisena. Näköön pohjautuva hahmottaminen puolestaan viittaa muun muassa esineiden, ihmisten tai paikkojen tunnistamiseen. Myös toiminnanohjauksessa, kuten sen suunnittelussa tai aloituksessa, havaitaan usein ongelmia Alzheimerin tautia sairastava potilas saattaa muiden kognitiivisten oireiden lisäksi kärsiä masentuneisuudesta, apatiasta, aggressiivisuudesta, unen häiriöistä, levottomuudesta tai jopa psykoottisuudesta. Näistä yleisimpiä taudin alkuvaiheessa ovat masentuneisuus ja apatia (Juva 2021). Taudin edetessä vainoharhaisuus ja hallusinaatiot sekä niiden aiheuttama aggressiivisuus lisääntyvät (Lyketsos *et al.* 2011).

Dementia on etenevää kognitiivista rappeumaa aiheuttava oireyhtymä, joka vaikeuttaa sitä sairastavan itsenäistä toimintaa. Siinä potilaan tila heikkenee asteittain (Chertkow *et al.* 2013). Vaikka oireet ovat yksilöllisiä, yleistä on muistin, suunnitelmallisuuden ja arviointikyvyn heikentyminen sekä kielellisen tuottamisen, esineiden tunnistamisen ja aiemmin opittujen taitojen toteuttamisen vaikeus (Duong *et al.* 2017). Muutokset persoonallisuudessa ja käytöksessä ovat yhteydessä dementiaan, mutta niitä ei pidetä diagnosoinnin kriteereinä (Chertkow *et al.* 2013). Noin 70–80 % dementiaa kärsivistä potilaista sairastaa Alzheimerin tautia (Juva 2021). Alzheimerin tautiin liittyvä dementia diagnosoidaan yleensä kaksivaiheisesti. Ensin dementia diagnosoidaan näytteenotto- ja kuvantamismenetelmien lisäksi potilasta haastatteleamalla, minkä jälkeen Alzheimerin tauti diagnosoidaan aivojen rappeuman kuvaamisella (McKhann *et al.* 1984, Chertkow *et al.* 2013).

##### **4.1.1. Taudin eteneminen**

Alzheimerin taudin eteneminen voidaan jakaa neljään vaiheeseen, joita ovat prekliininen, lievä, keskivaikea ja vaikea vaihe (De-Paula *et al.* 2012, Dubois *et al.* 2016, Wattmo *et al.* 2016, Breijyeh & Karaman 2020). Prekliinisessä vaiheessa, ensimmäisten aivokuoren ja hippokampuksen muutosten tapahtuessa, oireet ovat usein lieviä, eikä niitä siksi osata

erottaa normaalista hajamielisydestä. Tämän takia tauti havaitaan usein vasta sen edetessä lievään vaiheeseen useampaa vuotta myöhemmin. Seuraavissa vaiheissa tauti aiheuttaa etenevästi vaikeuksia normaaleissa arjen toiminnoissa (Dubois *et al.* 2016, Juva 2021). Aluksi monimutkaisemmat asiat, kuten vieraalle paikkakunnalle matkustaminen, aiheuttavat potilaalle haasteita (Juva 2021). Lievälle vaiheelle tyypillisiä oireita ovat keskittymiskyvyn ja muistin heikkeneminen, vaikeus tunnistaa paikkoja tai ajankulua, mielialan vaihtelut sekä muut psyykkiset oireet (Wattmo *et al.* 2016). Tämä vaikeuttaa arjen askareiden toteuttamista, kuten ruuanlaittoa ja kaupassa käyntiä (Juva 2021). Keskivaikeassa vaiheessa tauti etenee pidemmälle aivokuorella heikentäen entisestään muistia (Breijyeh & Karaman 2020). Tämä tekee ihmisten tunnistamisesta sekä kielellisestä tuottamisesta ja ymmärtämisestä vaikeaa (Breijyeh & Karaman 2020, Juva 2021). Perustoimintojen, kuten pukeutumisen ja tarpeilla käymisen, itsenäinen toteuttaminen voivat tuottaa potilaalle vaikeuksia (Juva 2021). Myös impulsiivisuus on muistin heiketessä yleistä. Vaikeassa vaiheessa tauti on levinnyt jo koko aivokuoren alueelle, minkä seurauksena potilas ei tunnista ympäristöään tai läheisiään (kuva 3) (De-Paula *et al.* 2012). Myös nieleminen saattaa tuottaa vaikeuksia, minkä lisäksi puhe- ja kävelykyky voivat kadota kokonaan (De-Paula *et al.* 2012, Juva 2021). Loppua kohden potilaan keho lakkaa hitaasti toimimasta heikentäen muun muassa immuunipuolustuksen toimintaa (De-Paula *et al.* 2012).



**Kuva 3.** Aivojen ja neuronien fysiologinen rakenne (A) terveellä ja (B) Alzheimerin tautia sairastavalla. Taudissa aivot kutistuvat rappeutumisen myötä vaiheittain. Neuroneihin ja niiden ympäril-

le muodostuu neurofibrillivyyhtejä ja  $\beta$ -amyloidiplakkeja. Kuva suomennettu lähteestä: (Breijyeh & Karaman 2020).

## **4.2. Alzheimerin taudin syntymekanismi**

Alzheimerin taudin aiheuttajaa ei täysin varmasti tiedetä, mutta sen syntymekanismiin tutkimuksessa valtaa pitävät kolme hypoteesia: kolinerginen, amyloidi- sekä tauhypoteesi (Breijyeh & Karaman 2020, Kametani & Hasegawa 2018). Alzheimerin taudin kehitykseen vaikuttavia tekijöitä ovat, päähypoteesien ulkopuolelta, myös muun muassa nikotiini- ja muskariiniasetyylikoliinireseptorien väheneminen presynaptisissa kolinergisissa terminaaleissa (Monczor 2005, Ferreira-Vieira *et al.* 2016).

### **4.2.1. Kolinerginen hypoteesi**

Kolinerginen hypoteesi sai alkunsa, kun 1970-luvulla löydettiin yhteys neokortikaalisen sekä presynaptisen kolinergian eli koliinin erityksen vajaatoiminnan ja koliiniasetyyli-transferaasin (ChAT) välillä. ChAT on vastuussa kognitiivisiin toimintoihin liittyvän asetyylikoliinin synteesistä, minkä takia kolinerginen hypoteesi liitettiin Alzheimerin tautiin. Asetyylikoliini syntetisoidaan kolinergisten neuronien sytoplasmassa koliinista ja asetyylikoentsyymi-A:sta ChAT-entsyymin toimesta. Sieltä se kuljetetaan vesikulaaristen asetyylikoliinin kuljettajien (VACht) avulla synaptisiin vesikkeleihin. Asetyylikoliini osallistuu aivoissa muun muassa muistin toimintaan, oppimiseen ja keskittymiskykyyn. Kolinergisten neuronien on havaittu rappeutuvan Alzheimerin taudissa, mikä aiheuttaa taudille tyypillisen muistin ja kognitiivisten toimintojen heikkenemisen.  $\beta$ -Amyloidin uskotaan vaikuttavan kolinergiseen neurotransmissioon vähentämällä koliinin ottoa ja asetyylikoliinin eritystä. Kolinergisen synaptisen kadon ja amyloidifibrillien muodostumisen on havaittu olevan yhteydessä  $\beta$ -amyloidi-oligomeerien neurotoksisuuteen ja asetyylikoliinisteraasin vuorovaikutukseen  $\beta$ -amyloidipeptidien kanssa (Monczor 2005, Ferreira-Vieira *et al.* 2016).

### **4.2.2. Amyloidi-hypoteesi**

Amyloidi-hypoteesi ehdottaa Alzheimerin taudin aiheuttajaksi ikääntymiseen liittyvää  $\beta$ -amyloidin hajotuksen vähenemistä.  $\beta$ -amyloidia hajotetaan amyloidin prekursoriproteiinista  $\beta$ - ja  $\gamma$ -sekretaasin toimesta. Kun  $\beta$ -amyloidia ei hajoteta yhtä tehokkaasti,  $\beta$ -amyloidi-40 ja -42 proteiineja alkaa kertyä aivoihin. Kun  $\beta$ -amyloidi-42:n määrä suhteessa  $\beta$ -amyloidi-40:n määrään kasvaa,  $\beta$ -amyloidi-fibrillejä muodostuu enemmän, jolloin neuro-

toksisuus ja sen myötä hermostolliset solukuolemat lisääntyvät. Vaikka amyloidi-hypoteesia on pitkään pidetty pitävimpänä hypoteesina Alzheimerin taudin syntymekanismista, viime vuosien tutkimukset ovat osoittaneet, että se olisi sitä ainoastaan perinnöllisen Alzheimerin taudin kohdalla. Satunnaisesti ilmenevän Alzheimerin kohdalla muut hypoteesit ovat osoittautuneet oikeammiksi, koska amyloidi-plakkeja esiintyy ikääntyessä myös terveen ihmisen aivoissa (Ricciarelli & Fedele 2017, Kametani & Hasegawa 2018, Paroni *et al.* 2019).

#### **4.2.3. Tauhypoteesi**

Tauhypoteesin mukaan Tauproteiini olisi suurin tekijä Alzheimerin taudin taustalla (Kametani & Hasegawa 2018). Tau on mikrotubuluksiin liittyvä proteiini, joka säätelee tubuluksien rakentumista (Brier *et al.* 2016, Kametani & Hasegawa 2018). Tauproteiinin kertymät heikentävät aksoneja ja siten aiheuttavat neurodegeneraatiota (Brier *et al.* 2016). Tauproteiinin lisääntynyt hyperfosforylaatio vähentää sen affiniteettia mikrotubuluksiin ja lisää sen kertymistä, mikä vaikuttaa hermostolliseen muovautuvuuteen (Morris *et al.* 2015). *Tau*-geeni sijaitsee ihmisellä kromosomissa 17 ja sen isoformeista tunnetaan kuusi erilaista, jotka johtuvat eksonien 2, 3 ja 10 vaihtoehtoisesta silmukoinnista (Goedert *et al.* 1989). Varsinkin 3R ja 4R -isoformien ajatellaan liittyvän Alzheimerin tautiin, sillä tutkimuksissa niitä on havaittu hyperfosforyloituneessa muodossa (Goedert 1993, Goedert *et al.* 1996, Serrano-Pozo *et al.* 2011, Iqbal *et al.* 2016). Tauhypoteesissa keskeisessä roolissa ovat neurofibrillivyyhdet (NFT), jotka ovat hyperfosforyloituneen Tauproteiinin kertymiä (Carradori *et al.* 2016). Varsinkin 3R ja 4R -isoformit muodostavat neurofibrillivyyhteitä (Zempel & Mandelkow 2014).

#### **4.2.4. Alttiutta lisäävät geneettiset riskitekijät**

Vaikka myöhäsiän Alzheimerin tauti ei ole suoraan perinnöllinen, tiettyjä sairastumisriskeä lisääviä geneettisiä tekijöitä tunnetaan. Näitä ovat muun muassa Apolipoproteiini-E:tä (ApoE) koodaavan geenin tiettyjen alleelien esiintyminen ja *TREM2*-geenin mutaatiot (Guerreiro *et al.* 2013, Jonsson *et al.* 2013, Ferreira Silva *et al.* 2019). *TREM2*-geeni sijaitsee kromosomissa 6p21 ja sen koodaamaa ärsykkeen aiheuttavaa, myeloidisolussa ekspressoitua, reseptori 2 (*TREM2*) -proteiinia esiintyy varsinkin mikroglia soluissa, fagosyyteissa ja keskushermostossa (Allcock *et al.* 2003, Jiang *et al.* 2018). Sen keskeisiä tehtäviä ovat fagosytoosin ja tulehdusreaktioiden säätely (Jiang *et al.* 2018). *TREM2*:n toi-



minnan heikentäminen johtaa tutkimuksissa myös  $\beta$ -amyloidin kertymien muodostumiseen (Xiang *et al.* 2016).

*APOE*-geenin on havaittu olevan yhteydessä sekä perinnöllisen että satunnaisesti esiintyvän Alzheimerin taudin ilmenemiseen. Varsinkin *APOE- $\epsilon$ 4* genotyyppi lisää sairastumisen riskiä. *APOE*-geeni sijaitsee kromosomissa 19 ja se koostuu neljästä eksonista. *APOE*-geenin koodaamalla ApoE-proteiinilla on tärkeä rooli kolesterolin ja triglyseridien aineenvaihdunnassa. ApoE koostuu 299 aminohaposta ja se on yksi aivojen kylomikronien yleisimmistä apolipoproteiineista. Se sitoutuu tiettyihin reseptoreihin ja aikaansaa kylomikronien ja hyvin alhaisen tiheyden lipoproteiinien (VLDL) jäänteiden poistamisen verenkierrosta endosytoosin avulla. ApoE myös sitoo kertynyttä  $\beta$ -amyloidia (Bekris *et al.* 2010).

#### ***4.2.5. Tautia aiheuttavat tunnetut geenimutaatiot***

Tunnetut geenimutaatiot aiheuttavat yleensä varhaisiän Alzheimerin tautia. Autosomaalisia dominantteja tautia aiheuttavia mutaatioita on löydetty kolmesta eri geenistä. Näitä ovat kromosomissa 21 sijaitseva amyloidin prekursoriproteiinia (APP) koodaava geeni, kromosomissa 14 sijaitseva *preseniliini 1*-geeni ja kromosomissa 1 sijaitseva *preseniliini 2*-geeni. Näistä yleisimpiä ovat *preseniliini 1*-geenin mutaatiot, joiden esiintyvyys varhaisiän Alzheimerin tautia sairastavilla potilailla on 18–50 % (Bekris *et al.* 2010). Noin 10–15 % tautitapauksista johtuu *APP*-geenin mutaatioista, kun taas *preseniliini 2*-geenin mutaatiot vastaavat noin 12 prosentista (Bekris *et al.* 2010, Qin *et al.* 2020).

##### ***4.2.5.1. Amyloidin prekursoriproteiinia koodaava geeni***

*APP*-geeni paikallistettiin kromosomiin 21, kun Alzheimerin taudille tyypillisiä neuropatologisia muutoksia sekä amyloidin kertymiä havaittiin potilailla, joilla on Downin syndrooma (trisomia 21). *APP*-geenin mutaatioita on löydetty yli 32 erilaista, mutta suurelle osalle näistä yhteistä on mutaation sijainti joko sekretaasin katkaisukohdissa tai *APP*:n transmembraanisen domeenin eksoneissa 16 ja 17. *APP* on neuronien synapseihin keskittyvä, tyypin I integraalinen kalvoproteiini, joka muistuttaa signaalinvälittäjäreseptoria. Se syntetisoidaan solulimakalvostolla, josta se siirretään Golgin laitteeseen sulfaatiota, fosforylaatiota sekä N- ja O-linkitettyä glykosylaatiota varten. Post-transkriptionaalisten muokkausten jälkeen *APP* kuljetetaan solun pinnalle eritysureittiä pitkin (Bekris *et al.* 2010).

Joitakin tunnettuja *APP*-geenin mutaatioita ovat eksonien 7, 8 ja 15 vaihtoehtoinen silmukointi. Esimerkiksi *APP695* pitää sisällään eksonin 15, mutta ei eksoneita 7 ja 8, kun taas *APP751* sisältää eksonit 16 ja 17, mutta siitä puuttuu kokonaan eksonit 7, 8 ja 15. Suurin osa geenin varianteista sisältää  $\beta$ -amyloidia koodaavan sekvenssin, jonka sijainti saattaa kuitenkin vaihdella varianttien välillä. Kaksi erittäin harvinaista geenin muotoa, *APP365* ja *APP563*, joista puuttuu kokonaan  $\beta$ -amyloidia koodaava sekvenssi, on löydetty. Tämä viittaa yhdessä geenimuotojen ekspression erojen kanssa siihen, että varianteilla voi olla toiminnallisia eroja (Bekris *et al.* 2010).

#### 4.2.5.2. *Preseniliini 1* -geeni

Preseniliinit ovat epätyypillisten aspartyyliproteaaasi-kompleksien tärkeitä osia, jotka vastaavat APP:n  $\gamma$ -sekretaasin pilkkomisesta. *Preseniliini 1* -geeni koodaa polytooppista kalvoproteiinia. Kyseisestä geenistä on löydetty yli 176 erilaista mutaatiota, joista suuren osan on havaittu vähentävän  $\gamma$ -sekretaasin aktiivisuutta. Alzheimerin taudin vaikeimmat muodot aiheutuvat juuri *Preseniliini 1* -geenin mutaatioista, jotka voivat aiheuttaa taudin alkamisen jo 30-vuotiaana. *Preseniliini 1* -geenin mutaation takia sairastuneiden keski-ikä on kuitenkin lähes 60 vuotta, mikä kertoo ikäjakauman olevan suhteellisen suuri. *Preseniliini 1* -geeniin liittyvän Alzheimerin taudin tyypillisiä oireita ovat etenevä dementia ja parkinsonismi, muutokset notch-signaaloinnissa sekä  $\beta$ -amyloidin solunsisäisen osan muodostuminen (Bekris *et al.* 2010). Kyseisessä taudin muodossa havaitaan jonkin verran myös tyypillisistä poikkeavia oireita, kuten spastista parapareesia eli jalkojen lihasten heikkoutta ja jäykkyyttä (Bekris *et al.* 2010, Fink 2013).

*Preseniliini 1* -geeni koostuu 12 eksonista, jotka koodaavat 467 aminohapon proteiinia, joka voi lävistää solukalvon jopa 6–10 kertaa. Preseniliini 1-proteiinin amino- ja karboksiterminaalit osoittavat kuitenkin soluliman suuntaan. Preseniliini 1 on  $\gamma$ -sekretaasikompleksin katalyyttisen ytimen muodostava polytooppinen kalvoproteiini.  $\gamma$ -sekretaasi on solukalvoon integroitunut proteiini, joka sijaitsee yleensä solun pinnalla, mutta se voi esiintyä myös Golgin laitteessa, mitokondriossa tai solulimakalvostolla.  $\gamma$ -sekretaasikompleksi pilkkoo tyypin I transmembraaniproteiineja, kuten amyloidin prekursoriproteiinia ja notch-proteiinia (Bekris *et al.* 2010).

#### 4.2.5.3. Preseniliini 2 -geeni

*Preseniliini 2* -geenin mutaatioita on löydetty tähän mennessä 14 kappaletta. Niiden aiheuttama Alzheimerin tauti puhkeaa yleensä 45–88 vuoden iässä. Missense-mutaatiot, eli aminohapon vaihtumisen aiheuttavat pistemutaatiot *preseniliini 2*-geenissä kuitenkin harvoin aiheuttavat varhaisiän Alzheimerin taudin puhkeamista. Toisin kuin *preseniliini 1*-geenin mutaatiotapauksissa, *preseniliini 2*-geenin mutaatiot voivat aiheuttaa mutaatiosta kärsivän suvun sisällä suurta vaihtelua perinnöllisen Alzheimerin taudin alkamisiässä. Aivot, ja tarkemmin neuronit ovat *preseniliini 2*:n tärkein ilmentymispaikka. *Preseniliini 2*-geeni koostuu 12 eksonista, mutta se on järjestäytynyt 10:ksi transloituneeksi eksoniksi, jotka osallistuvat *preseniliini 2*-proteiinin koodaamiseen. *Preseniliini 2*-proteiini koostuu 448 aminohaposta ja siinä on yhdeksän transmembraanista domeenia, joista kuudennen ja seitsemännen välissä esiintyy suurempi silmukkarakenne. Kuten *preseniliini 1*, myös *preseniliini 2* on  $\gamma$ -sekretaasin osa. Sen on myös havaittu osallistuvan  $\beta$ -amyloidin tuotantoon, vaikkakin heikommalla tehokkuudella kuin *preseniliini 1*. *Preseniliini* vaihtelevat muodot vaikuttavat APP:n proteolyyttisen muokkaamisen säätelyyn: esimerkiksi *preseniliini 2*:n muodot, joista puuttuu viides eksoni, näyttäisivät lisäävän  $\beta$ -amyloidin tuotantoa, kun taas kolmannen ja neljännen eksonin puuttuessa  $\beta$ -amyloidin tuotanto ei poikkea normaalista (Bekris *et al.* 2010).

### 4.3. Alzheimerin taudin ennaltaehkäisy ja hoito

Yleisesti terveiden elintapojen, perusterveyden ja aivojen aktiivisen käytön on havaittu vähentävän sairastumisen riskiä (Juva 2021). Vakavien masennusjaksojen sekä pään vammojen on puolestaan havaittu lisäävän riskiä (Breijyeh & Karaman 2020, Juva 2021). Joidenkin tutkimusten mukaan sydän- ja verisuonitaudit, ylipaino sekä liikunnan puute lisäävät myös riskiä. Keski-ikä kohonneella verenpaineella, diabeteksella ja korkealla verenpaineella voi myös olla osuutensa taudin puhkeamiseen (Breijyeh & Karaman 2020). Keinoja sairastumisriskin pienentämiseen ovat siis muun muassa säännöllinen liikunta ja terveet elintavat, tupakoimattomuus, aivojen aktivoiminen, kohtuullinen alkoholinkäyttö sekä päähän kohdistuvilta vammoilta suojautuminen (Juva 2021).

Alzheimerin taudin etenemistä pysäyttävää hoitokeinoa ei ole vielä löydetty, mutta oireita pystytään lievittämään ja etenemistä hidastamaan lääkehoidolla. Lääkehoidon lisäksi hoidossa hyödynnetään muistin harjoittelua, fysioterapiaa ja sosiaalista stimulointia (Breijyeh & Karaman 2020, Juva 2021). Hoidossa pidetään tärkeänä varsinkin potilaan ja tämän

omahoitajan tai -lääkärin välistä avointa kommunikaatiota ja hoivasuhdetta sekä rutiinien ja rauhallisen ympäristön ylläpitämistä. Myös kognitiivinen käyttäytymisterapia on osoittautunut hyödylliseksi (Yiannopoulou & Papageorgiou 2020). Käytetyt lääkkeet muun muassa parantavat keskittymis- ja toimintakykyä sekä vähentävät psyykkisiä oireita (Juva 2021).

Alzheimerin taudin oireiden hoitoon hyväksytyt lääkkeet lukeutuvat kahteen ryhmään: kolinesteraasi-entsyymien inhibiittoreihin ja N-metyyli-D-aspartaatin (NMDA) antagonisteihin (Breijyeh & Karaman 2020). Useimmat nykyisistä lääkkeistä pyrkivät tasoittamaan taudin aiheuttamaa hermovälittäjäaineiden epätasapainoa estämällä niiden hajotusta (Yiannopoulou & Papageorgiou 2020, Juva 2021). Esimerkiksi donepetsiili, galantamiini ja rivastigmiini ovat asetyylikoliinesteraasin (AKE) estäjiä eli ne inhiboivat asetyylikoliinin hajotusta (Yiannopoulou & Papageorgiou 2020, Juva 2021). Näistä käytetään myös nimitystä AKE-lääkkeet (Juva 2021). AKE:n estäjät lisäävät vapaan asetyylikoliinin määrää synapseissa ja siten hidastavat kognitiivista rappeutumista (Hampel *et al.* 2018). AKE-lääkkeet kehitettiin kolinergisen hypoteesin pohjalta (Yiannopoulou & Papageorgiou 2020).

Muistisairauksien hoidossa yleisesti käytössä oleva NMDA:n antagonisti on glutamaatin toimintaan vaikuttava memantiini (Yiannopoulou & Papageorgiou 2020, Juva 2021). Memantiinin toiminta perustuu sen kykyyn sitoutua avoimiin, NMDA-reseptorien ohjaamiin kalsiumkanaviin, mikä estää ionien NMDA-välitteisen kuljetuksen. Tämä tasapainottaa hermoston toimintahäiriötä aiheuttavaa kohonnutta glutamaatti-tasoa. Lisäksi demensian aiheuttamiin psykologisiin oireisiin voidaan määrätä masennus- ja psykoosilääkkeitä (Danysz & Parsons 2003, Yiannopoulou & Papageorgiou 2020). Tällä hetkellä tutkitaan mahdollisuutta Alzheimerin taudin hidastamiseen tai jopa ennaltaehkäisyyn väärin laskostuneiden proteiinien poistamisella ja virheellistä laskostumista estämällä (Yiannopoulou & Papageorgiou 2020).

## **5. Apoptoosi Alzheimerin taudin taustalla**

Vaikka apoptoosin roolista Alzheimerin taudin taustalla ei ole varmuutta, niiden uskotaan liittyvän toisiinsa varsinkin  $\beta$ -amyloidin ja Bcl-2-perheen proteiinien kautta. Tarkemmin solunsisäisen  $\beta$ -amyloidin on ehdotettu lisäävän apoptoosia lisäämällä p53-riippuvaisen transkriptionaalisen Bcl-2:een liittyvän proteiini X:n (Bax) säätelyä ja vähentämällä an-

tiapoptoottisia Bcl-2-proteiineja (Kitamura *et al.* 1998, Zhang *et al.* 2002, Ohyagi *et al.* 2005). Myös kaspasien aktivaation ja niiden kyvyn leikata APP:a on ajateltu liittyvän synapsien menetykseen (Pellegrini *et al.* 1999, Lu *et al.* 2003, Park *et al.* 2020). Tekijöitä apoptoosin aiheuttamien neurodegeneratiivisten sairauksien, kuten Alzheimerin taudin, taustalla on paljon, mutta ainakin Bcl-2-proteiiniperheen, kaspasien,  $\beta$ -amyloidin, TNF-perheen proteiinien ja APP:n uskotaan olevan tärkeässä roolissa Alzheimerin taudissa. Myös reaktiiviset happiradikaalit, sekä eri entsyymien toiminnan häiriöt, voivat aiheuttaa hermostollista apoptoosia (Obulesu & Lakshmi 2014). Mitokondrioiden ajatellaan liittyvän Alzheimerin tautiin johtavaan apoptoosiin juuri oksidatiivisen stressin myötä (Chauhan *et al.* 1997, Holinger *et al.* 1999). Oksidatiivisen stressin on ehdotettu osallistuvan hermostorappeumaan amyloidi-plakkien ja neurofibrillivyyhtien muodostumisen kautta (Kitamura *et al.* 1998).

Amyloidi-hypoteesin mukaan hermostollinen rappeutuminen saisi alkunsa APP:n epänormaalista käsittelystä, mikä johtaisi  $\beta$ -amyloidin kertymiseen (Hardy & Selkoe 2002).  $\beta$ -amyloidin määrän on havaittu kasvavan hermostollisen apoptoosin myötä (LeBlanc *et al.* 1999). Tämän perusteella apoptoosin on päätelty aktivoivan amyloidin prekursoriproteiinin prosessointiin osallistuvia sekretaaseja (LeBlanc *et al.* 1999, Selkoe 2001). Koska  $\beta$ -amyloidi on hermostolle haitallista ja tehostaa apoptoosia, sen lisääntyminen voi aikaansaada tapahtumaketjun, joka päättyy solun kuolemaan (Yankner *et al.* 1990, Forloni *et al.* 1993).

### **5.1. Bcl-2-proteiiniperheen rooli Alzheimerin taudissa**

Bcl-2-proteiiniperheen proteiineja yhdistää niiden kyky muodostaa rakenteeseensa heterodimeerejä niille tyypillisen Bcl-2 homologi (BH) -domeenin avulla. Koska osa perheen proteiineista inhiboi apoptoosia ja osa tehostaa sitä, riippuu solun kuolemaan pyrkivän viestin toteuttaminen näiden konsentraatioiden eroista solun sisällä (Oltvai *et al.* 1993). Bcl-2-proteiinit jakautuvat solussa pelkästään solulimaan, enimmäkseen mitokondrioon tai tasaisesti useampaan kalvolla rajattuun osaan (Krajewski *et al.* 1993). Proteiiniperheen proteiineilla on myös tärkeä rooli mitokondriaalisen sytokromi c:n vapauttamisen säätelyssä. Bcl-2-proteiinien toiminnan on havaittu myös joissain tapauksissa olevan riippuvaista kaspasien aktivaatiosta (Jürgensmeier *et al.* 1998, Korsmeyer 1999).

Bcl-2-proteiiniperhe pitää sisällään kolme alaluokkaa, joita ovat antiapoptoottiset proteiinit, proapoptoottiset efektorit ja ainoastaan BH3-domeenin sisältävät proapoptoottiset pro-

teiniit. Antiapoptoottisia proteiineja ovat muun muassa Bcl-2, Bcl-X<sub>L</sub> ja Bcl-w. Nämä sisältävät tyypillisesti yhteensä neljä BH-domeenia ja ekspansion lisääntyessä inhiboivat solukuoleman vastetta (Korsmeyer 1999). Varsinkin Bcl-2 ja Bcl-X<sub>L</sub> ovat, neuroneissa suurina määrinä esiintyessään, osoittautuneet hermostoa suojaaviksi proteiineiksi (Jürgensmeier *et al.* 1998). Terveissä aivoissa antiapoptoottiset proteiinit vartioivat solun selviytymistä säätelemällä Bcl-2 homologin antagonistista tappajaa (Bak) ja Bax-proteiinia (Green 2019).

Proapoptoottisiin efektoihin lukeutuu muun muassa Bax- ja Bak-proteiinit (Korsmeyer 1999). Niiltä kaikilta löytyy ainakin joko BH1- tai BH2-domeeni. Hermostollisen apoptoosin kannalta tärkeimpänä proapoptoottisena efektorina voidaan pitää Bax-proteiinia (Akhtar *et al.* 2004). Bax-proteiinin päätehtävän ajateltiin ensin olevan Bcl-2:n kanssa sitoutuminen (Oltvai *et al.* 1993). Bax pystyy heterodimerisoimaan antiapoptoottisia proteiineja, mutta tällä saattaa olla Bax-proteiinia inhiboiva vaikutus (Oltvai *et al.* 1993, Sedlak *et al.* 1995, Akhtar *et al.* 2004). Muun muassa Bax ja Bak säätelevät sytokromi c:n vapautumista. Bak- ja Bax-proteiineilla on myös havaittu yhteisvaikutusta solukuolemaan (Kiefer *et al.* 1995, Narita *et al.* 1998). Molempien puuttuminen aiheuttaa hiirikokeissa hermostollisissa prekursorisoluissa DNA-vaurioita, jotka lisäävät p53:n, Apaf-1:n ja kaspasi-9:n toimintaa (D'Sa-Eipper *et al.* 2001).

Kolmannessa alaluokassa proteiinien välillä esiintyy eniten vaihtelua. Ainoastaan BH3-domeenin sisältäviin proapoptoottisiin proteiineihin lukeutuvat muun muassa Bcl-2:n kanssa reagoiva solukuoleman säätelijä (Bim), BH3:n kanssa reagoivan domeenin kuoleman agonisti (Bid), Bcl-2:een liittyvä solukuoleman agonisti (Bad), Kuolemanproteiini 5 / *harakiri* (DP5/Hrk), Puma ja Noxa. Kaikki niistä tehostavat solukuolemaa kohdatessaan laajan kirjon ärsykeitä. Näistä voidaan nostaa oleellisimpina Bid (Korsmeyer 1999). Se käynnistää kaspasi-riippuvaisen apoptoosin reagoimalla kahden ensimmäisen Bcl-2-perheen alaluokan proteiinien kanssa BH3-domeenin avulla (Wang *et al.* 1996, Li *et al.* 1998, Luo *et al.* 1998, Gross *et al.* 1999). Bid myös linkittää ulkoisen ja sisäisen apoptoosin reaktiotiet toisiinsa (Luo *et al.* 1998).

## 5.2. Kaspasien rooli Alzheimerin taudissa

Tutkimukset kaspasien aktivaatiosta Alzheimerin tautiin liittyen ovat osoittaneet, että sytokromi c:n translokaatiota mitokondriosta solulimaan ei tapahdu merkityksellisesti. Tä-

hän pohjaten kuolemanreseptoreihin liittyvän kaspasien aktivaation reaktiotien uskotaan olevan todennäköisin hermostollisen, kaspaseista riippuvaisen, apoptoosin syy. Teoriaa tukee myös se, että Apaf-1:n määrässä ei ole havaittu selvää muutosta. Apaf-1 toimii normaalisti alustana sytokromi c:lle ja kaspasi-9:lle (Li *et al.* 1997). Kaspasit leikkaavat Tauproteiinia, minkä on havaittu tehostavan NFT-kertymien muodostumista (Gamblin *et al.* 2003, Rissman *et al.* 2004). Varsinkin kaspasi-3 ja -6 leikkaavat Tauproteiinia sen C-terminuksen kohdalta (Gamblin *et al.* 2003, Guo *et al.* 2004, Rissman *et al.* 2004). Tämän perusteella on päätelty useiden eri kaspasien osallistuvan Tauproteiinin proteolyysiin. Koska Alzheimerin tautia tutkitaan lähinnä patologisten näytteiden avulla, on kaspasien yhdistäminen Tauproteiiniin ja NFT-muodostumiin haasteellista (Guo *et al.* 2004). Eläinkokeet ovat kuitenkin osoittaneet kaspasien ja Alzheimerin taudin välillä uskottavan yhteyden (de Calignon *et al.* 2009).

Kaspasien aktivaation laukaisijoiksi on ehdotettu muun muassa  $\beta$ -amyloidia, oksidatiivista stressiä ja p53:a (Mattson *et al.* 1998, Vogt *et al.* 1998, Engidawork *et al.* 2001). Tutkimukset ovat osoittaneet kaspasi-inhibiittorien estävän  $\beta$ -amyloidin tehostamaa solu-kuolemaa (Mattson *et al.* 1998). Syyksi tälle on ehdotettu  $\beta$ -amyloidin kykyä linkittää kuolemanreseptoreita toisiinsa (Ivins *et al.* 1999). Happiradikaalien aiheuttama oksidatiivinen stressi aikaansaa erilaisia ärsykeitä, jotka voivat käynnistää apoptoosin. Happiradikaalien on myös havaittu lisäävän FasR:n geeniekspressiota lähettiribonukleiinihapossa (mRNA) sekä proteiinien ekspressiota mikroglia soluissa (Vogt *et al.* 1998). Lipidien peroksidaation tuote, 4-hydroksinonenaali, aiheuttaa Fas-reseptorin tehostamaa kaspasi-8:n aktivaatiota (Liu *et al.* 2000). Happiradikaalit voisivat siis joko suoraan tai  $\beta$ -amyloidin kautta aktivoida kuolemanreseptorireaktiotietä (Kitamura *et al.* 1998). p53 on stressin tehostama transkriptiotekijä, joka voi aktivoitua muun muassa DNA-vaurioiden, hypoksian ja happiradikaalien toimesta (Engidawork *et al.* 2001). Ei-hermostollisissa soluissa p53:n on havaittu tehostavan FasR:n ekspressiota. Sama voisi päteä myös keskushermoston soluihin, jolloin p53 voisi olla eräs tekijä Alzheimerin taudin taustalla (Bennett *et al.* 1998, Müller *et al.* 1998). p53:n, FasR:n ja happiradikaalien välillä on havaittu yhteys, joka viittaa kuolemanreseptorireaktiotien aktivaatioon (Vogt *et al.* 1998).

### **5.3. APP:n solunsisäisen C-terminaalisen osan rooli Alzheimerin taudissa**

Alzheimer-potilaiden aivoissa on havaittu,  $\beta$ -amyloidi-kertymistä riippumatonta, kaspasien aikaansaamaa APP:n C-terminaalisen osan leikkausta (Lu *et al.* 2003). Tämän seurauksena muodostuu APP:n polypeptidi, C31, joka on sytotoksinen (Lu *et al.* 2000, McPhie *et*

*al.* 2001, Galvan *et al.* 2002, Nishimura *et al.* 2002). Varsinkin kaspasi-6 ja -8 osallistuvat tähän. Ei ole varmasti tiedossa, onko  $\beta$ -amyloidin neurotoksisella luonteella osuutta C31:n muodostumiseen (Pellegrini *et al.* 1999). Tutkimukset ovat osoittaneet näiden kahden välillä kuitenkin yhteyden. APP:n esiintymisen havaittiin vaikuttavan  $\beta$ -amyloidin ja C31:n aikaansaaman apoptoosiin. APP:sta riippuvainen apoptoosin reaktiotie vaatii toimakseen kaspasiin sitoutumiskohdan APP:n C-terminukseen. Leikkauskohdan puuttuminen vähensi tutkimuksissa sekä  $\beta$ -amyloidin että C31:n toksisia vaikutuksia. Myös kaspasi-8:n ja -9:n todettiin säätelevän näitä, mikä osoittaisi APP:n C-terminuksen leikkauksen ja C31:n muodostumisen vaikuttavan  $\beta$ -amyloidin neurotoksisuuteen (Lu *et al.* 2003).

#### **5.4. TNF-proteiiniperheen rooli Alzheimerin taudissa**

Sytokiinien aiheuttama neurologinen tulehdus on yksi teorioista Alzheimerin taudin kehityksen taustalla (Tarkowski *et al.* 2003). Sytokiini-tasojen on havaittu olevan huomattavasti korkeammat Alzheimer-potilaiden verenkierrassa ja keskushermostossa, kuin terveillä (Fillit *et al.* 1991, Tarkowski *et al.* 2003). Tulehduksen muodostumisen kannalta tärkeä sytokiini on TNF- $\alpha$ , joka on, 17 kDa:n kokoinen, glykosyloitumaton tyyppin kaksi transmembraaniproteiini (Carswell *et al.* 1975, Tang *et al.* 1996, Tarkowski *et al.* 2003). Se liitetään solukalvoon homotrimeerinä, joka leikataan TNF- $\alpha$ :aa konvertoivan entsyymin (TACE) toimesta liukoiseksi trimeeriksi (Tang *et al.* 1996). Keskushermostossa TNF- $\alpha$ :a kykenevät syntetisoimaan mikroglia-solut, neuronit ja astrosyytit (Lieberman *et al.* 1989, Jannelsin *et al.* 2005, Jannelsin *et al.* 2008). TNF- $\alpha$  sitoutuu TNFR1- ja TNFR2-tyypin reseptoreihin. Tutkimuksissa, joissa on verrattu Alzheimerin tautia sairastavan aivoja terveisiin, on havaittu sitoutumisaffiniteetin lisääntyneen TNF- $\alpha$ :n ja TNFR1:n välillä, mutta vähentyneen TNF- $\alpha$ :n ja TNFR2:n välillä. TNFR1:n signaali on tutkimusten mukaan oleellista  $\beta$ -amyloidin indusoiman hermostollisen solukuoleman toiminnalle (Cheng *et al.* 2010). TNFR1 ja -2 on yhdistetty varsinkin myöhäisiin Alzheimerin tautiin (Perry *et al.* 2001).

Eräs TNF-perheen sytokiini on TRAIL (Genc *et al.* 2009). TRAIL pystyy sitoutumaan viiteen reseptoriin, joista kahdella, Kuolemanreseptori (DR) 4:llä ja 5:llä, tiedetään olevan solukuoleman reaktioita laukaiseva osa. TRAIL toisaalta edistää tulehdusta estäviä mekanismeja, toisaalta toimii myös tuhoajana (Wiley *et al.* 1995, Aktas *et al.* 2007). Terveissä aivoissa TRAIL:n geeniekspressiota esiintyy, mutta valmiina proteiininä sen määrä ei ole merkittävä. Alzheimerin tautia sairastavalla sitä esiintyy puolestaan suurempina pitoisuuksina (Nitsch *et al.* 2000, Uberti *et al.* 2004). Tämä viittaa TRAIL:n säätelemän apoptoosin



olevan yksi neurodegeneratiivisten sairauksien aiheuttajista. TRAIL:n lähde keskushermostossa ei kuitenkaan täysin tiedetä (Nitsch *et al.* 2000). Myös  $\beta$ -amyloidi näyttäisi lisäävän TRAIL:n ekspressiota (Cantarella *et al.* 2003). TRAIL:n aikaansaaman kuolemanreaktion inhiboinnin havaittiin suojaavan aivoja  $\beta$ -amyloidin neurotoksisuudelta.

### **5.5. Wnt-signaaloinnin ja preseniliinin rooli Alzheimerin taudissa**

Wnt-signaali säätelee muun muassa solujen erilaistumista ja apoptoosia. Se osallistuu varsinkin keskushermoston kehittymiseen (Pećina-Šlaus 2010). Erään teorian mukaan Wnt-signaaloinnilla voisi olla osuutta hermostorapteen kehittymiseen (Caricasole *et al.* 2003). Preseniliini-1 proteiinit voivat muodostaa multiproteiinikomplekseja  $\beta$ -kateniinin ja glykogeenisyntaasikinaasi-3 $\beta$ :n (GSK-3 $\beta$ ) kanssa (Yu *et al.* 1998, Kang *et al.* 1999, Levesque *et al.* 1999). Tutkimukset ovatkin osoittaneet  $\beta$ -kateniinin määrän vähentyneen *preseniliini 1*-geenin mutaation aiheuttamaa Alzheimerin tautia sairastavilla (Levesque *et al.* 1999). Kyseiset mutaatiot myös häiritsevät  $\beta$ -kateniinin translokaatiota tumaan ja siten voivat vaikuttaa Wnt:n aktivointiin (Nishimura *et al.* 1999, Palacino *et al.* 2001). GSK-3 $\beta$ :n on havaittu keskittyvän hermosolujen solukeskuksiin sekä hermosolujen esiasteisiin akhtarja sijoittuvan Alzheimerin tautiin liittyvien neurofibrillimuutosten kanssa samoihin paikkoihin (Pei *et al.* 1997). Koska preseniliini reagoi GSK-3 $\beta$ :n kanssa, preseniliinien uskotaan säätelevän GSK-3 $\beta$ :n ja Tauproteiinin välistä vuorovaikutusta. Wnt-signaali voisi myös säädellä APP:n käsittelyä, mikä tekisi siitä tärkeän reaktiotien amyloidiplakkien ja neurofibrillimuutosten muodostumisessa (De Ferrari & Inestrosa 2000). Preseniliinin vaikutus näihin ei kuitenkaan liity  $\beta$ -kateniinin ja preseniliini 1:n vuorovaikutukseen (Xia *et al.* 2001).

## **6. Apoptoosia estävät Alzheimer-lääkkeet**

Alzheimerin taudin hoitaminen apoptoosia estävillä lääkkeillä tapahtuu usein inhiboimalla apoptoosiin osallistuvia molekyylejä. Esimerkiksi TNF- $\alpha$ :n ja kaspasien inhibiittoreita pidetään potentiaalisina lääkkeinä Alzheimerin taudin hoidossa (Chang *et al.* 2017, Yuan & Akey 2013). Yleisimmät apoptoosin inhibiittorit sisältävätkin prokaspaseja inhiboivia osia (Yuan & Akey 2013). Myös antiapoptoottisen Bcl-2:n kykyä toimia lääkkeenä on tutkittu (Rohn *et al.* 2008). Bcl-2 osallistuu solunsisäisen kalsiumin säätelyyn ja voisi siten normalisoida neuronien kalsiumionisignaaleja Alzheimer-potilailla. Hiirikokeet ovat

osoittaneet Bcl-2:n liiallisen ilmentymisen vähentävän kaspasi- 3:n ja -9:n aktiivisuutta sekä NFT-muodostumia ja parantavan muistia (Callens *et al.* 2021).

Muita mahdollisia lääkkeitä hermostollisen apoptoosin aiheuttamien sairauksien hoitoon voisivat olla NMDA-reseptorien estäjät ja oksidatiivisen stressin tai mitokondriaalisten muutosten aiheuttaman apoptoosin inhibiittorit. Myös antioksidantit, solusyklin tai GSK-3 $\beta$ :n inhibiittorit ja statiinit ovat osoittaneet potentiaalia hermostollisten rappeumasairauksien hidastamisessa (Sureda *et al.* 2011). Lukuisten molekyylien kykyä suojata aivoja  $\beta$ -amyloidin neurotoksisuudelta on myös tutkittu, näistä maininnan arvoinen on 2-syklopropylimino-3-metyyli-1,3-tiazoliinihydrokloridi (KHG26377) (Kim *et al.* 2016).

### **6.1. TNF- $\alpha$ :n inhibiittorit**

TNF- $\alpha$ :n inhibiittoreita käytetään jo yleisesti muun muassa Crohnin taudin, nivelreuman ja nivelpsoriaasin hoidossa. Yleisimpiä TNF- $\alpha$ :n inhibiittoreita ovat TNF- $\alpha$ -spesifiset monoklonaaliset vasta-aineet (MAbit) ja fuusioproteiinit. MAbeja ovat muun muassa infliksimabi, adalimumabi ja golimumabi, joista infliksimabia on tutkittu eniten potentiaalisena lääkkeenä Alzheimerin tautiin (Cheng *et al.* 2014). Infliksimabi voi sitoa niin liukoista kuin transmembraanistakin TNF- $\alpha$ :a. Tunnetuin fuusioproteiini on etanersepti (Wong *et al.* 2008). Siinä TNF-reseptori-2:n solunulkoinen osa (p75) ja immunoglobuliini G1:n (IgG1) pirstoutuneesti kristallisoituvan (Fc) -osan C-terminus ovat yhdistyneet muodostaen dimeerin (Klinkhoff 2004, McCoy & Tansey 2008). Fc-osa mahdollistaa säilymisen verenkierrossa ja TNF-reseptorit sitoutumisen TNF-trimeeriin, mikä estää trimeerin sitoutumisen solun pinnan reseptoreihin (Mohler *et al.* 1993, Spencer-Green 2000). MAbit ja etanersepti sitoutuvat joko m-TNF- $\alpha$ :an tai s-TNF- $\alpha$ :an estäen TNF-reseptorien sitoutumista kohdemolekyylisiin ja siten TNF- $\alpha$ :n signalointia (McCoy & Tansey 2008, Cheng *et al.* 2014).

TNF- $\alpha$ :n inhibiittoreiden käyttöä Alzheimer-lääkkeinä on tutkittu sekä kliinisten että eläinkokeiden avulla (Chang *et al.* 2017). Hiirikokeet ovat osoittaneet TNF- $\alpha$ :n inhibition vähentäneen  $\beta$ -amyloidin kertymistä (McAlpine *et al.* 2009). Infliksimabi vähensi kokeissa TNF- $\alpha$ :n tasoja,  $\beta$ -amyloidiplakkien muodostumista, Tauproteiinin fosforylaatiota ja kognitiivista vajaatoimintaa (Medeiros *et al.* 2007, Shi *et al.* 2011, Kim *et al.* 2016). Eräässä tutkimuksessa infliksimabilla havaittiin kognitiota parantavia vaikutuksia Alzheimerin tautia sairastavien naispotilaiden keskuudessa (Shi *et al.* 2011). Kliinisessä kokeessa etanerseptin havaittiin parantavan Alzheimer-potilaiden kognitiivisia kykyjä.

Tämän arveltiin johtuvan etanerseptin kyvystä kulkeutua nopeasti aivoselkäydin-nesteeseen (Tobinick *et al.* 2006). Lääkkeen toimintaa ei kuitenkaan myöhemmissä kokeissa pystytty todistamaan (Roerink *et al.* 2015). TNF- $\alpha$ :n inhibiittoreilla uskotaan kuitenkin olevan enemmän potentiaalia kuin nykyiset tutkimukset ovat osoittaneet (Chang *et al.* 2017). Niiden tehokkuutta heikentää kuitenkin niiden rajallinen kyky läpäistä veriaivoestettä (Boado *et al.* 2010).

## 6.2. Kaspasien inhibiittorit

Kaspasien inhibiittorit voidaan jakaa luonnollisiin ja synteettisiin inhibiittoreihin (Dhani *et al.* 2021). Kaspasien inhibitio on varsinkin virusten geeneille tyypillistä, koska apoptoosi lukeutuu isäntäsolujen immuunipuolustuksen suojautumiskeinoihin. Tämän takia monet luonnolliset inhibiittorit ovat virusperäisiä (Deveraux & Reed 1999, Benedict *et al.* 2002, Callus & Vaux 2007). Luonnollisiin inhibiittoreihin lukeutuva sytokiinivasteen muokkaaja-A (CrmA) oli ensimmäinen löydetty kaspasien inhibiittori (Garcia-Calvo *et al.* 1998, Dhani *et al.* 2021). Se on seriniiproteaasien inhibiittori, joka muun muassa inhiboi kaspaseja, jotka osallistuvat sytokiinin tuotantoon (Garcia-Calvo *et al.* 1998). CrmA löydettiin lehmärokkoviruksen seurauksena (Ray *et al.* 1992). Se inhiboi kaspasi-1:n eli interleukiini-1 $\beta$ :aa (IL-1 $\beta$ ) konvertoivan entsyymin (ICE), kaspasi-8:n ja kaspasi-10:n toimintaa sekä vähentää tulehdusta estämällä IL-1 $\beta$ :n ja interferoni- $\gamma$ :n muodostumista (Ray *et al.* 1992, Miura *et al.* 1995). Luonnollisiin inhibiittoreihin lukeutuvat myös apoptoosia inhiboivien (IAP) -proteiinien perhe (Dhani *et al.* 2021). Ihmisestä on löydetty kahdeksan IAP-perheen proteiinia, joita ovat NOD:ia muistuttavien reseptorien perheen apoptoosia inhiboiva proteiini (NAIP), X-linkitetty IAP (XIAP), solullisen apoptoosin inhibiittori (cIAP) -1 ja -2, surviviini, Bakuloviruksen IAP-proteiinin toiston sisältävä ubikitiinia konjugoiva entsyymi (BRUCE, baculovirus inhibitor of apoptosis protein repeat-containing ubiquitin-conjugating enzyme) Melanooma-IAP (ML-IAP) ja IAP:ia muistuttava proteiini 2 (ILP-2) (Liston *et al.* 2003). Näistä tutkituin on XIAP, joka inhiboi kaspaseja-3, -7 ja -9 (Deveraux *et al.* 1997, Chai *et al.* 2001, Silke *et al.* 2001, Gyrd-Hansen & Meier 2010).

Synteettisiä inhibiittoreita on kyetty valmistamaan useita ja ne voidaan yleistäen jakaa peptidipohjaisiin ja peptidiä sisältämättömiin yhdisteisiin. Peptidipohjaiset inhibiittorit, joissa peptidiä on muokattu aldehydin, ketonin tai nitriiliryhmän kautta, ovat palautuvia inhibiittoreita, jotka sitoutuvat kohdemolekyylin katalyyttiseen kysteiniin. Ne pystyvät

hydrolysoimaan kohdettaan muuttamatta entsyymien rakennetta (Thornberry 1998, Callus & Vaux 2007). Inhibition kohteena olevat kaspasit riippuvat niiden peptidirakenteesta (Thornberry 1997). Esimerkiksi Ac-YVAD-CHO inhiboi kaspasi-1:tä sen pro-IL-1 $\beta$ -leikkauskohdan ansiosta, kun taas Ac-DEVD-CHO inhiboi kaspasi-3:a PARP-leikkauskohdan takia. Peptidipohjaisten inhibiittoreiden ongelmana on kuitenkin niiden epästabii- lius sekä nopea aineenvaihdunta (Weber *et al.* 2008, Lee *et al.* 2018). Lääkekehityksen kannalta potentiaalisina peptidiä sisältämättöminä yhdisteinä pidetään kaspasi-3:a ja - 7:ää inhiboivia isatiini-johdannaisia, kuten sulfonamideja (Zhenodarova 2010).

## 7. Kirjallisuusviitteet

- Acehan, D., Jiang, X., Morgan, D. G., Heuser, J. E., Wang, X., & Akey, C. W. (2002). Three-dimensional structure of the apoptosome: implications for assembly, procaspase-9 binding, and activation. *Molecular cell*, 9(2), 423–432. [https://doi.org/10.1016/s1097-2765\(02\)00442-2](https://doi.org/10.1016/s1097-2765(02)00442-2)
- Akhtar, R. S., Ness, J. M., & Roth, K. A. (2004). Bcl-2 family regulation of neuronal development and neurodegeneration. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Cell Research*, 1644(2-3), 189-203. <https://doi.org/10.1016/j.bbamcr.2003.10.013>
- Aktas, O., Schulze-Topphoff, U., & Zipp, F. (2007). The role of TRAIL/TRAIL receptors in central nervous system pathology. *Frontiers in Bioscience*, 12(8), 2912 - 2921. <https://doi.org/10.2741/2281>
- Alladi, S., Xuereb, J., Bak, T., Nestor, P., Knibb, J., Patterson, K., & Hodges, J. R. (2007). Focal cortical presentations of Alzheimer's disease. *Brain: a journal of neurology*, 130(Pt 10), 2636–2645. <https://doi.org/10.1093/brain/awm213>
- Allcock, R. J., Barrow, A. D., Forbes, S., Beck, S., & Trowsdale, J. (2003). The human TREM gene cluster at 6p21.1 encodes both activating and inhibitory single IgV domain receptors and includes NKp44. *European journal of immunology*, 33(2), 567–577. <https://doi.org/10.1002/immu.200310033>
- Alnemri, E. S., Livingston, D. J., Nicholson, D. W., Salvesen, G., Thornberry, N. A., Wong, W. W., & Yuan, J. (1996). Human ICE/CED-3 Protease Nomenclature. *Cell*, 87(2), 171. [https://doi.org/10.1016/S0092-8674\(00\)81334-3](https://doi.org/10.1016/S0092-8674(00)81334-3)
- Bekris, L. M., Yu, E., Bird, T. D. & Tsuang, D. W. (2010). Genetics of Alzheimer Disease. *Journal of geriatric psychiatry and neurology*, 23(4), 213. <https://doi.org/10.1177/0891988710383571>
- Benedict, C. A., Norris, P. S., & Ware, C. F. (2002). To kill or be killed: viral evasion of apoptosis. *Nature immunology*, 3(11), 1013–1018. <https://doi.org/10.1038/ni1102-1013>

- Bennett, M., Macdonald, K., Chan, W., Luzio, J. P., Simari, R., & Weissberg, P. (1998). Cell Surface Trafficking of Fas: A Rapid Mechanism of p53-Mediated Apoptosis. *Science*. <https://doi.org/10.1126/science.282.5387.290>
- Boado, R. J., Hui, E. K., Lu, J. Z., Zhou, Q. H., & Pardridge, W. M. (2010). Selective targeting of a TNFR decoy receptor pharmaceutical to the primate brain as a receptor-specific IgG fusion protein. *Journal of biotechnology*, 146(1–2), 84–91. <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2010.01.011>
- Bredesen, D. E., Rao, R. V., & Mehlen, P. (2006). Cell death in the nervous system. *Nature*, 443(7113), 796–802. <https://doi.org/10.1038/nature05293>
- Breijyeh, Z. & Karaman, R. (2020). Comprehensive Review on Alzheimer's Disease: Causes and Treatment. *Molecules*, 25(24). <https://doi.org/10.3390/molecules25245789>
- Brier, M. R., Gordon, B., Friedrichsen, K., McCarthy, J., Stern, A., Christensen, J., Owen, C., Aldea, P., Su, Y., Hassenstab, J., Cairns, N. J., Holtzman, D. M., Fagan, A. M., Morris, J. C., S. Benzinger, T. L., & Ances, B. M. (2016). Tau and A $\beta$  imaging, CSF measures, and cognition in Alzheimer's disease. *Science Translational Medicine*. <https://doi.org/aaf2362>
- Brunelle, J. K., & Letai, A. (2009). Control of mitochondrial apoptosis by the Bcl-2 family. *Journal of cell science*, 122(Pt 4), 437–441. <https://doi.org/10.1242/jcs.031682>
- Buchhave, P., Minthon, L., Zetterberg, H., Wallin, A. K., Blennow, K., & Hansson, O. (2012). Cerebrospinal fluid levels of  $\beta$ -amyloid 1-42, but not of tau, are fully changed already 5 to 10 years before the onset of Alzheimer dementia. *Archives of general psychiatry*, 69(1), 98–106. <https://doi.org/10.1001/archgenpsychiatry.2011.155>
- Cairrão, F. & Domingos, P. M. (2010). Apoptosis: Molecular Mechanism. In: *Encyclopedia of Life Sciences (ELS)*. Chichester: John Wiley & Sons Ltd.
- Callens, M., Kraskovskaya, N., Derevtsova, K., Annaert, W., Bultynck, G., Bezprozvanny, I., & Vervliet, T. (2021). The role of Bcl-2 proteins in modulating neuronal Ca<sup>2+</sup> signaling in health and in Alzheimer's disease. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Cell Research*, 1868(6), 118997. <https://doi.org/10.1016/j.bbamcr.2021.118997>
- Callus, B. A., & Vaux, D. L. (2007). Caspase inhibitors: viral, cellular and chemical. *Cell death and differentiation*, 14(1), 73–78. <https://doi.org/10.1038/sj.cdd.4402034>
- Cantarella, G., Uberti, D., Carsana, T., Lombardo, G., Bernardini, R., & Memo, M. (2003). Neutralization of TRAIL death pathway protects human neuronal cell line from  $\beta$ -amyloid toxicity. *Cell Death & Differentiation*, 10(1), 134-141.
- Caricasole, A., Copani, A., Caruso, A., Caraci, F., Iacovelli, L., Sortino, M. A., Terstappen, G. C., & Nicoletti, F. (2003). The Wnt pathway, cell-cycle activation and  $\beta$ -amyloid: Novel therapeutic strategies in Alzheimer's disease? *Trends in*

*Pharmacological Sciences*, 24(5), 233-238. [https://doi.org/10.1016/S0165-6147\(03\)00100-7](https://doi.org/10.1016/S0165-6147(03)00100-7)

- Carradori, D., Gaudin, A., Brambilla, D., & Andrieux, K. (2016). Application of Nanomedicine to the CNS Diseases. *International Review of Neurobiology*, 130, 73-113. <https://doi.org/10.1016/bs.irn.2016.06.002>
- Carswell, E. A., Old, L. J., Kassel, R. L., Green, S., Fiore, N., & Williamson, B. (1975). An endotoxin-induced serum factor that causes necrosis of tumors. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 72(9), 3666-3670. <https://doi.org/10.1073/pnas.72.9.3666>
- Chai, J., Shiozaki, E., Srinivasula, S. M., Wu, Q., Datta, P., Alnemri, E. S., & Shi, Y. (2001). Structural basis of caspase-7 inhibition by XIAP. *Cell*, 104(5), 769-780. [https://doi.org/10.1016/s0092-8674\(01\)00272-0](https://doi.org/10.1016/s0092-8674(01)00272-0)
- Chang, R., Yee, L., & Sumbria, R. K. (2017). Tumor necrosis factor  $\alpha$  Inhibition for Alzheimer's Disease. *Journal of Central Nervous System Disease*, 9. <https://doi.org/10.1177/1179573517709278>
- Chauhan, D., Pandey, P., Ogata, A., Teoh, G., Krett, N., Halgren, R., Rosen, S., Kufe, D., Kharbanda, S., & Anderson, K. (1997). Cytochrome c-dependent and -independent Induction of Apoptosis in Multiple Myeloma Cells. *Journal of Biological Chemistry*, 272(48), 29995-29997. <https://doi.org/10.1074/jbc.272.48.29995>
- Cheng, T. C., Hong, C., Akey, I. V., Yuan, S., & Akey, C. W. (2016). A near atomic structure of the active human apoptosome. *eLife*, 5, e17755. <https://doi.org/10.7554/eLife.17755>
- Cheng, X., Shen, Y., & Li, R. (2014). Targeting TNF: A therapeutic strategy for Alzheimer's disease. *Drug Discovery Today*, 19(11), 1822-1827. <https://doi.org/10.1016/j.drudis.2014.06.029>
- Cheng, X., Yang, L., He, P., Li, R., & Shen, Y. (2010). Differential activation of tumor necrosis factor receptors distinguishes between brains from Alzheimer's disease and non-demented patients. *Journal of Alzheimer's disease : JAD*, 19(2), 621-630. <https://doi.org/10.3233/JAD-2010-1253>
- Chertkow, H., Feldman, H. H., Jacova, C., & Massoud F. (2013). Definitions of dementia and predementia states in Alzheimer's disease and vascular cognitive impairment: consensus from the Canadian conference on diagnosis of dementia. *Alzheimer's research & therapy*, 5(Suppl 1), S2. <https://doi.org/10.1186/alzrt198>
- Cryns, V., & Yuan, Y. Y. (1999). Proteases to die for (vol 12, pg 1551, 1998). *GENES & DEVELOPMENT*, 13(3), 371.
- D'Sa-Eipper, C., Leonard, J. R., Putcha, G., Zheng, T. S., Flavell, R. A., Rakic, P., ... & Roth, K. A. (2001). DNA damage-induced neural precursor cell apoptosis requires p53 and caspase 9 but neither Bax nor caspase 3. *Development*, 128(1), 137-146.

- Danysz, W., & Parsons, C. G. (2003). The NMDA receptor antagonist memantine as a symptomatological and neuroprotective treatment for Alzheimer's disease: preclinical evidence. *International journal of geriatric psychiatry*, 18(Suppl 1), S23–S32. <https://doi.org/10.1002/gps.938>
- de Calignon, A., Spire-Jones, T. L., Pitstick, R., Carlson, G. A., & Hyman, B. T. (2009). Tangle-bearing neurons survive despite disruption of membrane integrity in a mouse model of tauopathy. *Journal of neuropathology and experimental neurology*, 68(7), 757–761. <https://doi.org/10.1097/NEN.0b013e3181a9fc66>
- De Ferrari, and, G. V., & Inestrosa, N. C. (2000). Wnt signaling function in Alzheimer's disease. *Brain Research Reviews*, 33(1), 1-12. [https://doi.org/10.1016/S0165-0173\(00\)00021-7](https://doi.org/10.1016/S0165-0173(00)00021-7)
- Deveraux, Q. L., & Reed, J. C. (1999). IAP family proteins--suppressors of apoptosis. *Genes & development*, 13(3), 239–252. <https://doi.org/10.1101/gad.13.3.239>
- Deveraux, Q. L., Takahashi, R., Salvesen, G. S., & Reed, J. C. (1997). X-linked IAP is a direct inhibitor of cell-death proteases. *Nature*, 388(6639), 300–304. <https://doi.org/10.1038/40901>
- De-Paula, V. J., Radanovic, M., Diniz, B. S. & Forlenza, O. V. (2012). Alzheimer's Disease. In: *Harris, J. (eds) Protein Aggregation and Fibrillogenesis in Cerebral and Systemic Amyloid Disease. Subcellular Biochemistry, vol 65*. Springer, Dordrecht. [https://doi.org/10.1007/978-94-007-5416-4\\_14](https://doi.org/10.1007/978-94-007-5416-4_14)
- Dhani, S., Zhao, Y., & Zhivotovsky, B. (2021). A long way to go: Caspase inhibitors in clinical use. *Cell Death & Disease*, 12(10). <https://doi.org/10.1038/s41419-021-04240-3>
- Dorstyn, L., Akey, C. W., & Kumar, S. (2018). New insights into apoptosome structure and function. *Cell Death and Differentiation*, 25(7), 1194-1208. <https://doi.org/10.1038/s41418-017-0025-z>
- Dubois, B., Hampel, H., Feldman, H. H., Scheltens, P., Aisen, P., Andrieu, S., Bakardjian, H., Benali, H., Bertram, L., Blennow, K., Broich, K., Cavado, E., Crutch, S., Dartigues, J., Duyckaerts, C., Epelbaum, S., Frisoni, G. B., Gauthier, S., Genthon, R., . . . Jack, C. R. (2016). Preclinical Alzheimer's disease: Definition, natural history, and diagnostic criteria. *Alzheimer's & Dementia*, 12(3), 292-323. <https://doi.org/10.1016/j.jalz.2016.02.002>
- Duong, S., Patel, T., & Chang, F. (2017). Dementia: What pharmacists need to know. *Canadian Pharmacists Journal: CPJ*, 150(2), 118-129. <https://doi.org/10.1177/1715163517690745>
- Elmore, S. (2007). Apoptosis: a review of programmed cell death. *Toxicologic pathology*, 35(4), 495–516. <https://doi.org/10.1080/01926230701320337>
- Engidawork, E., Gulesserian, T., Yoo, B. C., Cairns, N., & Lubec, G. (2001). Alteration of caspases and apoptosis-related proteins in brains of patients with Alzheimer's

- disease. *Biochemical and biophysical research communications*, 281(1), 84–93.  
<https://doi.org/10.1006/bbrc.2001.4306>
- Ferreira-Vieira, T. H., Guimaraes, I. M., Rodrigues Silva, F. & Ribeiro, F. M. (2016). Alzheimer's disease: targeting the cholinergic system. *Current neuropharmacology*, 14(1), 101-115. <http://doi.org/10.2174/1570159X13666150716165726>
- Ferreira Silva, M. V., Loures, M. G., Vieira Alves, L. C., Gomes Borges, K. B., & Carvalho, G. (2019). Alzheimer's disease: Risk factors and potentially protective measures. *Journal of Biomedical Science*, 26. <https://doi.org/10.1186/s12929-019-0524-y>
- Fillit, H., Ding, W. H., Buee, L., Kalman, J., Altstiel, L., Lawlor, B., & Wolf-Klein, G. (1991). Elevated circulating tumor necrosis factor levels in Alzheimer's disease. *Neuroscience letters*, 129(2), 318–320. [https://doi.org/10.1016/0304-3940\(91\)90490-k](https://doi.org/10.1016/0304-3940(91)90490-k)
- Fink, J. K. (2013). Hereditary spastic paraplegia: Clinico-pathologic features and emerging molecular mechanisms. *Acta neuropathologica*, 126(3), 307.  
<https://doi.org/10.1007/s00401-013-1115-8>
- Forloni, G., Chiesa, R., Smiroldo, S., Verga, L., Salmona, M., Tagliavini, F. & Angeretti, N. (1993). Apoptosis mediated neurotoxicity induced by chronic application of  $\beta$  amyloid fragment 25-35. *Neuroreport*, 4(5), 523-526.  
<http://doi.org/10.1097/00001756-199305000-00015>
- Forman, M. S., Farmer, J., Johnson, J. K., Clark, C. M., Arnold, S. E., Coslett, H. B., Chatterjee, A., Hurtig, H. I., Karlawish, J. H., Rosen, H. J., Van Deerlin, V., Lee, V. M., Miller, B. L., Trojanowski, J. Q., & Grossman, M. (2006). Frontotemporal dementia: clinicopathological correlations. *Annals of neurology*, 59(6), 952–962.  
<https://doi.org/10.1002/ana.20873>
- Galvan, V., Chen, S., Lu, D., Logvinova, A., Goldsmith, P., Koo, E. H., & Bredesen, D. E. (2002). Caspase cleavage of members of the amyloid precursor family of proteins. *Journal of neurochemistry*, 82(2), 283–294. <https://doi.org/10.1046/j.1471-4159.2002.00970.x>
- Gamblin, T. C., Chen, F., Zambrano, A., Abraha, A., Lagalwar, S., Guillozet, A. L., Lu, M., Fu, Y., Garcia-Sierra, F., LaPointe, N., Miller, R., Berry, R. W., Binder, L. I., & Cryns, V. L. (2003). Caspase cleavage of tau: linking amyloid and neurofibrillary tangles in Alzheimer's disease. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 100(17), 10032–10037.  
<https://doi.org/10.1073/pnas.1630428100>
- Garcia-Calvo, M., Peterson, E. P., Leiting, B., Ruel, R., Nicholson, D. W. & Thornberry, N. A. (1998). Inhibition of Human Caspases by Peptide-based and Macromolecular Inhibitors\*. *Journal of Biological Chemistry*, 273(49). 32608-32613.  
<https://doi.org/10.1074/jbc.273.49.32608>
- Genc, S., Egrilmez, M.Y., Yaka, E., Cavdar, Z., Iyilikci, L., Yener, G., Genc, K. (2009). TNF-related apoptosis-inducing ligand level in Alzheimer's disease. *Neurological Sciences*, 30(3), 263-267. <http://doi.org/10.1007/s10072-009-0047-5>



- Goedert, M., Spillantini, M. G., Jakes, R., Rutherford, D., & Crowther, R. A. (1989). Multiple isoforms of human microtubule-associated protein tau: sequences and localization in neurofibrillary tangles of Alzheimer's disease. *Neuron*, 3(4), 519–526. [https://doi.org/10.1016/0896-6273\(89\)90210-9](https://doi.org/10.1016/0896-6273(89)90210-9)
- Gonzalvez, F., Gottlieb, E. Cardiolipin: Setting the beat of apoptosis. *Apoptosis* 12, 877–885 (2007). <https://doi.org/10.1007/s10495-007-0718-8>
- Green, D. R., & Reed, J. C. (1998). Mitochondria and apoptosis. *Science (New York, N.Y.)*, 281(5381), 1309–1312. <https://doi.org/10.1126/science.281.5381.1309>
- Green, D. R., & Evan, G. I. (2002). A matter of life and death. *Cancer cell*, 1(1), 19–30. [https://doi.org/10.1016/s1535-6108\(02\)00024-7](https://doi.org/10.1016/s1535-6108(02)00024-7)
- Green, D. R. (2019). The Coming Decade of Cell Death Research: Five Riddles. *Cell*, 177(5), 1094–1107. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2019.04.024>
- Gross, A., Yin, X. M., Wang, K., Wei, M. C., Jockel, J., Milliman, C., ... & Korsmeyer, S. J. (1999). Caspase cleaved BID targets mitochondria and is required for cytochrome c release, while BCL-XL prevents this release but not tumor necrosis factor-R1/Fas death. *Journal of Biological Chemistry*, 274(2), 1156–1163. <https://doi.org/10.1074/jbc.274.2.1156>
- Guicciardi, M. E., & Gores, G. J. (2009). Life and death by death receptors. *FASEB journal : official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology*, 23(6), 1625–1637. <https://doi.org/10.1096/fj.08-111005>
- Guo, H., Albrecht, S., Bourdeau, M., Petzke, T., Bergeron, C., & LeBlanc, A. C. (2004). Active caspase-6 and caspase-6-cleaved tau in neuropil threads, neuritic plaques, and neurofibrillary tangles of Alzheimer's disease. *The American journal of pathology*, 165(2), 523–531. [https://doi.org/10.1016/S0002-9440\(10\)63317-2](https://doi.org/10.1016/S0002-9440(10)63317-2)
- Gyrd-Hansen, M., & Meier, P. (2010). IAPs: from caspase inhibitors to modulators of NF-kappaB, inflammation and cancer. *Nature reviews. Cancer*, 10(8), 561–574. <https://doi.org/10.1038/nrc2889>
- Hampel, H., Mesulam, M. M., Cuello, A. C., Farlow, M. R., Giacobini, E., Grossberg, G. T., Khachaturian, A. S., Vergallo, A., Cavedo, E., Snyder, P. J., & Khachaturian, Z. S. (2018). The cholinergic system in the pathophysiology and treatment of Alzheimer's disease. *Brain : a journal of neurology*, 141(7), 1917–1933. <https://doi.org/10.1093/brain/awy132>
- Hardy, J., & Selkoe, D. J. (2002). The Amyloid Hypothesis of Alzheimer's Disease: Progress and Problems on the Road to Therapeutics. *Science*. <https://doi.org/10.1126/science.1113205>
- Hengartner, M. O. (2000). The biochemistry of apoptosis. *Nature*, 407(6805), 770–776. <https://doi.org/10.1038/35037710>
- Holinger, E. P., Chittenden, T., & Lutz, R. J. (1999). Bak BH3 peptides antagonize Bcl-xL function and induce apoptosis through cytochrome c-independent activation of

- caspases. *Journal of Biological Chemistry*, 274(19), 13298-13304.  
<https://doi.org/10.1074/jbc.274.19.13298>
- Hu, Q., Wu, D., Chen, W., Yan, Z., & Shi, Y. (2013). Proteolytic processing of the caspase-9 zymogen is required for apoptosome-mediated activation of caspase-9. *The Journal of biological chemistry*, 288(21), 15142–15147.  
<https://doi.org/10.1074/jbc.M112.441568>
- Inohara, N., & Nuñez, G. (2003). NODs: Intracellular proteins involved in inflammation and apoptosis. *Nature Reviews Immunology*, 3(5), 371-382.  
<https://doi.org/10.1038/nri1086>
- Ivins, K. J., Thornton, P. L., Rohn, T. T., & Cotman, C. W. (1999). Neuronal Apoptosis Induced by  $\beta$ -Amyloid Is Mediated by Caspase-8. *Neurobiology of Disease*, 6(5), 440-449. <https://doi.org/10.1006/nbdi.1999.0268>
- Jan, R., & Chaudhry, S. (2019). Understanding Apoptosis and Apoptotic Pathways Targeted Cancer Therapeutics. *Advanced Pharmaceutical Bulletin*, 9(2), 205-218.  
<https://doi.org/10.15171/apb.2019.024>
- Jiang, T., Zhang, Y. D., Gao, Q., Ou, Z., Gong, P. Y., Shi, J. Q., Wu, L., & Zhou, J. S. (2018). TREM2 Ameliorates Neuronal Tau Pathology Through Suppression of Microglial Inflammatory Response. *Inflammation*, 41(3), 811–823.  
<https://doi.org/10.1007/s10753-018-0735-5>
- Jin, Z., & El-Deiry, W. S. (2005). Overview of cell death signaling pathways. *Cancer biology & therapy*, 4(2), 139–163. <https://doi.org/10.4161/cbt.4.2.1508>
- Jonsson, T., Stefansson, H., Steinberg, S., Jonsdottir, I., Jonsson, P. V., Snaedal, J., Bjornsson, S., Huttenlocher, J., Levey, A. I., Lah, J. J., Rujescu, D., Hampel, H., Giegling, I., Andreassen, O. A., Engedal, K., Ulstein, I., Djurovic, S., Ibrahim-Verbaas, C., Hofman, A., Ikram, M. A., ... Stefansson, K. (2013). Variant of TREM2 associated with the risk of Alzheimer's disease. *The New England journal of medicine*, 368(2), 107–116. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1211103>
- Juva, K. (2021). Alzheimerin tauti. *Lääkärikirja Duodecim*. Duodecim Terveyskirjasto.
- Jürgensmeier, J. M., Xie, Z., Deveraux, Q., Ellerby, L., Bredesen, D., & Reed, J. C. (1998). Bax directly induces release of cytochrome c from isolated mitochondria. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 95(9), 4997-5002.
- Kametani, F., & Hasegawa, M. (2018). Reconsideration of Amyloid Hypothesis and Tau Hypothesis in Alzheimer's Disease. *Frontiers in Neuroscience*, 12.  
<https://doi.org/10.3389/fnins.2018.00025>
- Kang, D.E., Soriano, S., Frosch, M.P., Collins, T., Naruse, S., Sisodia, S.S., Leibowitz, G., Levine, F. & Koo, E.H. (1999). Presenilin 1 facilitates the constitutive turnover of  $\beta$ -catenin: Differential activity of Alzheimer's disease-linked PS1 mutants in the  $\beta$ -catenin-signaling pathway. *Journal of Neuroscience*, 19(11), 4229 - 4237.  
<https://doi.org/10.1523/jneurosci.19-11-04229.1999>

- Kempermann, G. (2006). Adult neurogenesis: stem cells and neuronal development in the adult brain. *Oxford University Press*, USA.
- Kiefer, M. C., Brauer, M. J., Powers, V. C., Wu, J. J., Umansky, S. R., Tomei, L. D., & Barr, P. J. (1995). Modulation of apoptosis by the widely distributed Bcl-2 homologue Bak. *Nature*, *374*(6524), 736-739. <https://doi.org/10.1038/374736a0>
- Kim, D. H., Choi, S. M., Jho, J., Park, M. S., Kang, J., Park, S. J., Ryu, J. H., Jo, J., Kim, H. H., & Kim, B. C. (2016). Infliximab ameliorates AD-associated object recognition memory impairment. *Behavioural brain research*, *311*, 384–391. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2016.06.001>
- Kim, H. E., Du, F., Fang, M., & Wang, X. (2005). Formation of apoptosome is initiated by cytochrome c-induced dATP hydrolysis and subsequent nucleotide exchange on Apaf-1. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *102*(49), 17545–17550. <https://doi.org/10.1073/pnas.0507900102>
- Kitamura, Y., Shimohama, S., Kamoshima, W., Ota, T., Matsuoka, Y., Nomura, Y., Smith, M. A., Perry, G., Whitehouse, P. J., & Taniguchi, T. (1998). Alteration of proteins regulating apoptosis, Bcl-2, Bcl-x, Bax, Bak, Bad, ICH-1 and CPP32, in Alzheimer's disease. *Brain Research*, *780*(2), 260-269. [https://doi.org/10.1016/S0006-8993\(97\)01202-X](https://doi.org/10.1016/S0006-8993(97)01202-X)
- Klinkhoff, A. (2004). Biological agents for rheumatoid arthritis: targeting both physical function and structural damage. *Drugs*, *64*(12), 1267–1283. <https://doi.org/10.2165/00003495-200464120-00001>
- Krajewski, S., Tanaka, S., Takayama, S., Schibler, M. J., Fenton, W., & Reed, J. C. (1993). Investigation of the subcellular distribution of the bcl-2 oncoprotein: residence in the nuclear envelope, endoplasmic reticulum, and outer mitochondrial membranes. *Cancer research*, *53*(19), 4701-4714.
- Lane, C. A., Hardy J. & Schott J. M. (2018). Alzheimer's disease. *European journal of neurology*, *25*(1), 59-70. <https://doi.org/10.1111/ene.13439>
- Lavrik, I. N., Golks, A., & Krammer, P. H. (2005). Caspases: pharmacological manipulation of cell death. *The Journal of Clinical Investigation*, *115*(10), 2665-2672. <https://doi.org/10.1172/JCI26252>
- LeBlanc, A., Liu, H., Goodyer, C., Bergeron, C., & Hammond, J. (1999). Caspase-6 Role in Apoptosis of Human Neurons, Amyloidogenesis, and Alzheimer's Disease. *Journal of Biological Chemistry*, *274*(33), 23426-23436. <https://doi.org/10.1074/jbc.274.33.23426>
- Lee, H., Shin, E. A., Lee, J. H., Ahn, D., Kim, C. G., Kim, J. H., & Kim, S. H. (2018). Caspase inhibitors: a review of recently patented compounds (2013-2015). *Expert opinion on therapeutic patents*, *28*(1), 47–59. <https://doi.org/10.1080/13543776.2017.1378426>
- Levesque, G., Yu, G., Nishimura, M., Zhang, D.M., Levesque, L., Yu, H., Xu, D., Liang, Y., Rogava, E., Ikeda, M., Duthie, M., Murgolo, N., Wang, L., VanderVere, P.,

- Bayne, M.L., Strader, C.D., Rommens, J.M., Fraser, P.E. & St. George-Hyslop, P. (1999). Presenilins interact with armadillo proteins including neural-specific plakophilin-related protein and  $\beta$ -catenin. *Journal of Neurochemistry*, 72(3), 999 - 1008. <http://doi.org/10.1046/j.1471-4159.1999.0720999.x>
- Li, H., Zhu, H., Xu, C., & Yuan, J. (1998). Cleavage of BID by Caspase 8 Mediates the Mitochondrial Damage in the Fas Pathway of Apoptosis. *Cell*, 94(4), 491-501. [https://doi.org/10.1016/S0092-8674\(00\)81590-1](https://doi.org/10.1016/S0092-8674(00)81590-1)
- Li, P., Nijhawan, D., Budihardjo, I., Srinivasula, S. M., Ahmad, M., Alnemri, E. S., & Wang, X. (1997). Cytochrome c and dATP-Dependent Formation of Apaf-1/Caspase-9 Complex Initiates an Apoptotic Protease Cascade. *Cell*, 91(4), 479-489. [https://doi.org/10.1016/S0092-8674\(00\)80434-1](https://doi.org/10.1016/S0092-8674(00)80434-1)
- Li, Y., Zhou, M., Hu, Q., Bai, X., Huang, W., Scheres, S. H., & Shi, Y. (2017). Mechanistic insights into caspase-9 activation by the structure of the apoptosome holoenzyme. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 114(7), 1542-1547. <https://doi.org/10.1073/pnas.1620626114>
- Lieberman, A. P., Pitha, P. M., Shin, H. S., & Shin, M. L. (1989). Production of tumor necrosis factor and other cytokines by astrocytes stimulated with lipopolysaccharide or a neurotropic virus. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 86(16), 6348–6352. <https://doi.org/10.1073/pnas.86.16.6348>
- Liston, P., Fong, W. G., & Korneluk, R. G. (2003). The inhibitors of apoptosis: there is more to life than Bcl2. *Oncogene*, 22(53), 8568–8580. <https://doi.org/10.1038/sj.onc.1207101>
- Liu, W., Kato, M., Akhand, A. A., Hayakawa, A., Suzuki, H., Miyata, T., ... & Nakashima, I. (2000). 4-hydroxynonenal induces a cellular redox status-related activation of the caspase cascade for apoptotic cell death. *Journal of cell science*, 113(4), 635-641. <https://doi.org/10.1242/jcs.113.4.635>
- Liu, X., Kim, C. N., Yang, J., Jemmerson, R., & Wang, X. (1996). Induction of Apoptotic Program in Cell-Free Extracts: Requirement for dATP and Cytochrome c. *Cell*, 86(1), 147-157. [https://doi.org/10.1016/S0092-8674\(00\)80085-9](https://doi.org/10.1016/S0092-8674(00)80085-9)
- Livingston, G., Huntley, J., Sommerlad, A., Ames, D., Ballard, C., Banerjee, S., ... & Mukadam, N. (2020). Dementia prevention, intervention, and care: 2020 report of the Lancet Commission. *The Lancet*, 396(10248), 413-446. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)30367-6](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)30367-6)
- Lu, D. C., Rabizadeh, S., Chandra, S., Shayya, R. F., Ellerby, L. M., Ye, X., Salvesen, G. S., Koo, E. H., & Bredesen, D. E. (2000). A second cytotoxic proteolytic peptide derived from amyloid  $\beta$ -protein precursor. *Nature Medicine*, 6(4), 397-404. <https://doi.org/10.1038/74656>
- Lu, D. C., Soriano, S., Bredesen, D. E., & Koo, E. H. (2003). Caspase cleavage of the amyloid precursor protein modulates amyloid  $\beta$ -protein toxicity. *Journal of neurochemistry*, 87(3), 733-741. <https://doi.org/10.1046/j.1471-4159.2003.02059.x>

- Luo, X., Budihardjo, I., Zou, H., Slaughter, C., & Wang, X. (1998). Bid, a Bcl2 Interacting Protein, Mediates Cytochrome c Release from Mitochondria in Response to Activation of Cell Surface Death Receptors. *Cell*, 94(4), 481-490. [https://doi.org/10.1016/S0092-8674\(00\)81589-5](https://doi.org/10.1016/S0092-8674(00)81589-5)
- Lyketsos, C. G., Carrillo, M. C., Ryan, J. M., Khachaturian, A. S., Trzepacz, P., Amatniek J., Cedarbaum, J., Brashear, R., & Miller, D. S. (2011). Neuropsychiatric symptoms in Alzheimer's disease. *Alzheimer's & dementia : the journal of the Alzheimer's Association*, 7(5), 532-539. <https://doi.org/10.1016/j.jalz.2011.05.2410>
- Malladi, S., Challa-Malladi, M., Fearnhead, H. O., & Bratton, S. B. (2009). The Apaf-1\*procaspase-9 apoptosome complex functions as a proteolytic-based molecular timer. *The EMBO journal*, 28(13), 1916-1925. <https://doi.org/10.1038/emboj.2009.152>
- Maślińska, D. (2003). Apoptoza--fizjologiczna śmierć komórki oraz jej udział w patogenezie chorób [Apoptosis: physiological cell death and its role in pathogenesis of diseases]. *Neurologia i neurochirurgia polska*, 37(2), 315-326.
- Mattson, M. P., Partin, J., & Begley, J. (1998). Amyloid  $\beta$ -peptide induces apoptosis-related events in synapses and dendrites. *Brain Research*, 807(1-2), 167-176. [https://doi.org/10.1016/S0006-8993\(98\)00763-X](https://doi.org/10.1016/S0006-8993(98)00763-X)
- McAlpine, F. E., Lee, J. K., Harms, A. S., Ruhn, K. A., Blurton-Jones, M., Hong, J., Das, P., Golde, T. E., LaFerla, F. M., Oddo, S., Blesch, A., & Tansey, M. G. (2009). Inhibition of soluble TNF signaling in a mouse model of Alzheimer's disease prevents pre-plaque amyloid-associated neuropathology. *Neurobiology of disease*, 34(1), 163-177. <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2009.01.006>
- McCoy, M. K., & Tansey, M. G. (2008). TNF signaling inhibition in the CNS: implications for normal brain function and neurodegenerative disease. *Journal of neuroinflammation*, 5, 45. <https://doi.org/10.1186/1742-2094-5-45>
- McKhann, G., Drachman, D., Folstein, M., Katzman, R., Price, D., Stadlan, E. M. (1984). Clinical diagnosis of Alzheimer's disease: report of the NINCDS-ADRDA Work Group under the auspices of Department of Health and Human Services Task Force on Alzheimer's Disease. *Neurology*, 34(7), 939-944. <https://doi.org/10.1212/wnl.34.7.939>
- McMonagle, P., Deering, F., Berliner, Y., & Kertesz, A. (2006). The cognitive profile of posterior cortical atrophy. *Neurology*, 66(3), 331-338. <https://doi.org/10.1212/01.wnl.0000196477.78548.db>
- McPhie, D. L., Golde, T., Eckman, C. B., Yager, D., Brant, J. B., & Neve, R. L. (2001).  $\beta$ -Secretase cleavage of the amyloid precursor protein mediates neuronal apoptosis caused by familial Alzheimer's disease mutations. *Molecular Brain Research*, 97(1), 103-113. [https://doi.org/10.1016/S0169-328X\(01\)00294-7](https://doi.org/10.1016/S0169-328X(01)00294-7)
- Medeiros, R., Prediger, R. D., Passos, G. F., Pandolfo, P., Duarte, F. S., Franco, J. L., Dafre, A. L., Di Giunta, G., Figueiredo, C. P., Takahashi, R. N., Campos, M. M., &

- Calixto, J. B. (2007). Connecting TNF- $\alpha$  signaling pathways to iNOS expression in a mouse model of Alzheimer's disease: relevance for the behavioral and synaptic deficits induced by amyloid beta protein. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, 27(20), 5394–5404. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.5047-06.2007>
- Medema, J. P., Scaffidi, C., Kischkel, F. C., Shevchenko, A., Mann, M., Krammer, P. H., & Peter, M. E. (1997). FLICE is activated by association with the CD95 death-inducing signaling complex (DISC). *The EMBO journal*, 16(10), 2794–2804. <https://doi.org/10.1093/emboj/16.10.2794>
- Miura, M., Friedlander, R. M., & Yuan, J. (1995). Tumor necrosis factor-induced apoptosis is mediated by a CrmA-sensitive cell death pathway. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 92(18), 8318–8322. <https://doi.org/10.1073/pnas.92.18.8318>
- Mohler, K. M., Torrance, D. S., Smith, C. A., Goodwin, R. G., Stremmer, K. E., Fung, V. P., Madani, H., & Widmer, M. B. (1993). Soluble tumor necrosis factor (TNF) receptors are effective therapeutic agents in lethal endotoxemia and function simultaneously as both TNF carriers and TNF antagonists. *Journal of immunology (Baltimore, Md. : 1950)*, 151(3), 1548–1561.
- Monczor, M. (2005). Diagnosis and treatment of Alzheimer's disease. *Current Medicinal Chemistry-Central Nervous System Agents*, 5(1), 5-13.
- Morris, M., Knudsen, G. M., Maeda, S., Trinidad, J. C., Ioanoviciu, A., Burlingame, A. L., & Mucke, L. (2015). Tau post-translational modifications in wild-type and human amyloid precursor protein transgenic mice. *Nature neuroscience*, 18(8), 1183–1189. <https://doi.org/10.1038/nn.4067>
- Müller, M., Wilder, S., Bannasch, D., Israeli, D., Lehlbach, K., Li-Weber, M., ... & Krammer, P. H. (1998). p53 activates the CD95 (APO-1/Fas) gene in response to DNA damage by anticancer drugs. *The Journal of experimental medicine*, 188(11), 2033-2045. <https://doi.org/10.1084/jem.188.11.2033>
- Narita, M., Shimizu, S., Ito, T., Chittenden, T., Lutz, R. J., Matsuda, H., & Tsujimoto, Y. (1998). Bax interacts with the permeability transition pore to induce permeability transition and cytochrome c release in isolated mitochondria. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 95(25), 14681-14686.
- Nishimura, M., Yu, G., Levesque, G., Zhang, D. M., Ruel, L., Chen, F., Milman, P., Holmes, E., Liang, Y., Kawarai, T., Jo, E., Supala, A., Rogaeva, E., Xu, D., Janus, C., Levesque, L., Bi, Q., Duthie, M., Rozmahel, R., . . . Fraser, P. E. (1999). Presenilin mutations associated with Alzheimer disease cause defective intracellular trafficking of  $\beta$ -catenin, a component of the presenilin protein complex. *Nature Medicine*, 5(2), 164-169. <https://doi.org/10.1038/5526>
- Nishimura, I., Uetsuki, T., Kuwako, K., Hara, T., Kawakami, T., Aimoto, S., & Yoshikawa, K. (2002). Cell death induced by a caspase-cleaved transmembrane fragment of the Alzheimer amyloid precursor protein. *Cell Death & Differentiation*, 9(2), 199-208. <https://doi.org/10.1038/sj.cdd.4400931>

- Nitsch, R., Bechmann, I., Deisz, R. A., Haas, D., Lehmann, T. N., Wendling, U., & Zipp, F. (2000). Human brain-cell death induced by tumour-necrosis-factor-related apoptosis-inducing ligand (TRAIL). *The Lancet*, *356*(9232), 827-828. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(00\)02659-3](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(00)02659-3)
- Obulesu, M. & Lakshmi, M. J. (2014). Apoptosis in Alzheimer's Disease: An Understanding of the Physiology, Pathology and Therapeutic Avenues. *Neurochemical Research*, *39*, 2301–2312. <https://doi.org/10.1007/s11064-014-1454-4>
- Ohyagi, Y., Asahara, H., Chui, H., Tsuruta, Y., Sakae, N., Miyoshi, K., Yamada, T., Kikuchi, H., Taniwaki, T., Murai, H., Ikezoe, K., Furuya, H., Kawarabayashi, T., Shoji, M., Checler, F., Iwaki, T., Makifuchi, T., Takeda, K., Kira, I., . . . Tabira, T. (2005). Intracellular A $\beta$ 42 activates p53 promoter: A pathway to neurodegeneration in Alzheimer's disease. *The FASEB Journal*, *19*(2), 1-29. <https://doi.org/10.1096/fj.04-2637fje>
- Oltvai, Z. N., Millman, C., & Korsmeyer, S. 1993. Bcl 2 heterodimerizes in vivo with a conserved homolog, Bax, that accelerates programmed cell death. *Cell*, *74*, 609.
- Palacino, J. J., Murphy, M. P., Murayama, O., Iwasaki, K., Fujiwara, M., Takashima, A., Golde, T. E., & Wolozin, B. (2001). Presenilin 1 Regulates  $\beta$ -Catenin-mediated Transcription in a Glycogen Synthase Kinase-3-independent Fashion. *Journal of Biological Chemistry*, *276*(42), 38563-38569. <https://doi.org/10.1074/jbc.M105376200>
- Park, G., Nhan, H. S., Tyan, S., Kawakatsu, Y., Zhang, C., Navarro, M., & Koo, E. H. (2020). Caspase Activation and Caspase-Mediated Cleavage of APP Is Associated with Amyloid  $\beta$ -Protein-Induced Synapse Loss in Alzheimer's Disease. *Cell Reports*, *31*(13), 107839. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2020.107839>
- Paroni, G., Bisceglia, P., & Seripa, D. (2019). Understanding the Amyloid Hypothesis in Alzheimer's Disease. *Journal of Alzheimer's disease : JAD*, *68*(2), 493–510. <https://doi.org/10.3233/JAD-180802>
- Pećina-Šlaus, N. (2010). Wnt signal transduction pathway and apoptosis: A review. *Cancer Cell International*, *10*, 22. <https://doi.org/10.1186/1475-2867-10-22>
- Pei, J., Tanaka, T., Tung, Y., Braak, E., & Iqbal, K. (1997). Distribution, Levels, and Activity of Glycogen Synthase Kinase-3 in the Alzheimer Disease Brain. *Journal of Neuropathology & Experimental Neurology*, *56*(1), 70-78. <https://doi.org/10.1097/00005072-199701000-00007>
- Pellegrini, L., Passer, B. J., Tabaton, M., Ganjei, J. K., & D'Adamio, L. (1999). Alternative, Non-secretase Processing of Alzheimer's  $\beta$ -Amyloid Precursor Protein during Apoptosis by Caspase-6 and -8. *Journal of Biological Chemistry*, *274*(30), 21011-21016. <https://doi.org/10.1074/jbc.274.30.21011>
- Perry, R. T., Collins, J. S., Harrell, L. E., Acton, R. T., & Go, R. C. (2001). Investigation of association of 13 polymorphisms in eight genes in southeastern African American

- Alzheimer disease patients as compared to age-matched controls. *American journal of medical genetics*, 105(4), 332–342. <https://doi.org/10.1002/ajmg.1371>
- Peter, M. E., & Krammer, P. H. (1998). Mechanisms of CD95 (APO-1/Fas)-mediated apoptosis. *Current Opinion in Immunology*, 10(5), 545-551. [https://doi.org/10.1016/S0952-7915\(98\)80222-7](https://doi.org/10.1016/S0952-7915(98)80222-7)
- Pino, A., Fumagalli, G., Bifari, F., & Decimo, I. (2017). New neurons in adult brain: distribution, molecular mechanisms and therapies. *Biochemical pharmacology*, 141, 4–22. <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2017.07.003>
- Przedborski, S., Vila, M., & Jackson-Lewis, V. (2003). Neurodegeneration: what is it and where are we?. *The Journal of clinical investigation*, 111(1), 3–10. <https://doi.org/10.1172/JCI17522>
- Qin, Q., Yin, Y., Wang, Y., Lu, Y., Tang, Y. & Jia, J. (2020). Gene mutations associated with early onset familial Alzheimer's disease in China: An overview and current status. *Molecular Genetics & Genomic Medicine*, 8(10). <https://doi.org/10.1002/mgg3.1443>
- Ray, C. A., Black, R. A., Kronheim, S. R., Greenstreet, T. A., Sleath, P. R., Salvesen, G. S., & Pickup, D. J. (1992). Viral inhibition of inflammation: cowpox virus encodes an inhibitor of the interleukin-1 beta converting enzyme. *Cell*, 69(4), 597–604. [https://doi.org/10.1016/0092-8674\(92\)90223-y](https://doi.org/10.1016/0092-8674(92)90223-y)
- Reed, J. C. (1997). Cytochrome c: can't live with it--can't live without it. *Cell*, 91(5), 559–562. [https://doi.org/10.1016/s0092-8674\(00\)80442-0](https://doi.org/10.1016/s0092-8674(00)80442-0)
- Reed, J. C. (1999). Caspases and cytokines: roles in inflammation and autoimmunity. *Advances in immunology*, 73, 265–299. [https://doi.org/10.1016/s0065-2776\(08\)60788-9](https://doi.org/10.1016/s0065-2776(08)60788-9)
- Reed, J. C. (2000). Mechanisms of Apoptosis. *The American Journal of Pathology*, 157(5), 1415-1430. [https://doi.org/10.1016/S0002-9440\(10\)64779-7](https://doi.org/10.1016/S0002-9440(10)64779-7)
- Reubold, T. F., Wohlgemuth, S., & Eschenburg, S. (2011). Crystal structure of full-length Apaf-1: how the death signal is relayed in the mitochondrial pathway of apoptosis. *Structure (London, England : 1993)*, 19(8), 1074–1083. <https://doi.org/10.1016/j.str.2011.05.013>
- Ricciarelli, R., & Fedele, E. (2017). The amyloid cascade hypothesis in Alzheimer's disease: it's time to change our mind. *Current neuropharmacology*, 15(6), 926-935.
- Riedl, S. J., & Shi, Y. (2004). Molecular mechanisms of caspase regulation during apoptosis. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 5(11), 897–907. <https://doi.org/10.1038/nrm1496>
- Rissman, R. A., Poon, W. W., Blurton-Jones, M., Oddo, S., Torp, R., Vitek, M. P., LaFerla, F. M., Rohn, T. T., & Cotman, C. W. (2004). Caspase-cleavage of tau is an early event in Alzheimer disease tangle pathology. *The Journal of clinical investigation*, 114(1), 121–130. <https://doi.org/10.1172/JCI20640>



- Rodriguez, J., & Lazebnik, Y. (1999). Caspase-9 and APAF-1 form an active holoenzyme. *Genes & development*, *13*(24), 3179–3184. <https://doi.org/10.1101/gad.13.24.3179>
- Roerink, M. E., Groen, R. J., Franssen, G., Lemmers-van de Weem, B., Boerman, O. C., & van der Meer, J. W. (2015). Central delivery of iodine-125-labeled cetuximab, etanercept and anakinra after perispinal injection in rats: possible implications for treating Alzheimer's disease. *Alzheimer's research & therapy*, *7*(1), 70. <https://doi.org/10.1186/s13195-015-0149-7>
- Rohn, T. T., Vyas, V., Hernandez-Estrada, T., Nichol, K. E., Christie, L. A., & Head, E. (2008). Lack of pathology in a triple transgenic mouse model of Alzheimer's disease after overexpression of the anti-apoptotic protein Bcl-2. *Journal of Neuroscience*, *28*(12), 3051-3059. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.5620-07.2008>
- Saleh, A., Srinivasula, S. M., Acharya, S., Fishel, R., & Alnemri, E. S. (1999). Cytochrome c and dATP-mediated Oligomerization of Apaf-1 Is a Prerequisite for Procaspase-9 Activation. *Journal of Biological Chemistry*, *274*(25), 17941-17945. <https://doi.org/10.1074/jbc.274.25.17941>
- Salvesen, G. S., & Dixit, V. M. (1997). Caspases: Intracellular Signaling by Proteolysis. *Cell*, *91*(4), 443-446. [https://doi.org/10.1016/S0092-8674\(00\)80430-4](https://doi.org/10.1016/S0092-8674(00)80430-4)
- Salvesen, G. S., & Dixit, V. M. (1999). Caspase activation: the induced-proximity model. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *96*(20), 10964–10967. <https://doi.org/10.1073/pnas.96.20.10964>
- Sankari, S. L., Masthan, K. M., Babu, N. A., Bhattacharjee, T., & Elumalai, M. (2012). Apoptosis in cancer--an update. *Asian Pacific journal of cancer prevention : APJCP*, *13*(10), 4873–4878. <https://doi.org/10.7314/apjcp.2012.13.10.4873>
- Sedlak, T. W., Oltvai, Z. N., Yang, E., Wang, K., Boise, L. H., Thompson, C. B., & Korsmeyer, S. J. (1995). Multiple Bcl-2 family members demonstrate selective dimerizations with Bax. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *92*(17), 7834-7838.
- Selkoe, D. J. (2001). Alzheimer's Disease: Genes, Proteins, and Therapy. *Physiological Reviews*. <https://doi.org/10.1152/physrev.2001.81.2.741>
- Shi, J. Q., Shen, W., Chen, J., Wang, B. R., Zhong, L. L., Zhu, Y. W., Zhu, H. Q., Zhang, Q. Q., Zhang, Y. D., & Xu, J. (2011). Anti-TNF- $\alpha$  reduces amyloid plaques and tau phosphorylation and induces CD11c-positive dendritic-like cell in the APP/PS1 transgenic mouse brains. *Brain research*, *1368*, 239–247. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2010.10.053>
- Shi, J. Q., Wang, B. R., Jiang, W. W., Chen, J., Zhu, Y. W., Zhong, L. L., Zhang, Y. D., & Xu, J. (2011). Cognitive improvement with intrathecal administration of infliximab in a woman with Alzheimer's disease. *Journal of the American Geriatrics Society*, *59*(6), 1142–1144. <https://doi.org/10.1111/j.1532-5415.2011.03445.x>

- Shiozaki, E. N., Chai, J., & Shi, Y. (2002). Oligomerization and activation of caspase-9, induced by Apaf-1 CARD. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 99(7), 4197–4202. <https://doi.org/10.1073/pnas.072544399>
- Silke, J., Ekert, P. G., Day, C. L., Hawkins, C. J., Baca, M., Chew, J., Pakusch, M., Verhagen, A. M., & Vaux, D. L. (2001). Direct inhibition of caspase 3 is dispensable for the anti-apoptotic activity of XIAP. *The EMBO journal*, 20(12), 3114–3123. <https://doi.org/10.1093/emboj/20.12.3114>
- Spencer-Green, G. (2000). Etanercept (Enbrel): update on therapeutic use. *Annals of the rheumatic diseases*, 59 Suppl 1(Suppl 1), i46–i49. [https://doi.org/10.1136/ard.59.suppl\\_1.i46](https://doi.org/10.1136/ard.59.suppl_1.i46)
- Suárez-González, A., Henley, S. M., Walton, J., & Crutch, S. J. (2015). Posterior cortical atrophy: an atypical variant of Alzheimer disease. *The Psychiatric clinics of North America*, 38(2), 211–220. <https://doi.org/10.1016/j.psc.2015.01.009>
- Sureda, F. X., Junyent, F., Verdaguer, E., Auladell, C., Pelegri, C., Vilaplana, J., Folch, J., Canudas, A. M., Zarate, C. B., Pallès, M., & Camins, A. (2011). Antiapoptotic drugs: a therapeutic strategy for the prevention of neurodegenerative diseases. *Current pharmaceutical design*, 17(3), 230–245. <https://doi.org/10.2174/138161211795049732>
- Tait, S. W., & Green, D. R. (2010). Mitochondria and cell death: outer membrane permeabilization and beyond. *Nature reviews. Molecular cell biology*, 11(9), 621–632. <https://doi.org/10.1038/nrm2952>
- Tang, P., Hung M-C, & Klostergaard, J. (1996). Human pro-tumor necrosis factor is a homotrimer. *Biochemistry*, 35(25), 8216–8225. <https://doi.org/10.1021/bi952182t>
- Tarkowski, E., Andreasen, N., Tarkowski, A., & Blennow, K. (2003). Intrathecal inflammation precedes development of Alzheimer's disease. *Journal of neurology, neurosurgery, and psychiatry*, 74(9), 1200–1205. <https://doi.org/10.1136/jnnp.74.9.1200>
- Thornberry, N. A. (1997). The caspase family of cysteine proteases. *British medical bulletin*, 53(3), 478–490. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.bmb.a011625>
- Thornberry, N. & Lazebnik, Y. (1998). Caspases: enemies within. *Science (New York, N.Y.)*, 281(5381), 1312–1316. <https://doi.org/10.1126/science.281.5381.1312>
- Thornberry, N. A. (1998). Caspases: key mediators of apoptosis. *Chemistry & biology*, 5(5), R97–R103. [https://doi.org/10.1016/s1074-5521\(98\)90615-9](https://doi.org/10.1016/s1074-5521(98)90615-9)
- Tobinick, E., Gross, H., Weinberger, A., & Cohen, H. (2006). TNF-alpha modulation for treatment of Alzheimer's disease: a 6-month pilot study. *MedGenMed : Medscape general medicine*, 8(2), 25.
- Uberti, D., Cantarella, G., Facchetti, F., Cafici, A., Grasso, G., Bernardini, R., & Memo, M. (2004). TRAIL is expressed in the brain cells of Alzheimer's disease patients. *Neuroreport*, 15(4), 579–581. <http://doi.org/10.1097/00001756-200403220-00002>

- Vogt, M., Bauer, M. K., Ferrari, D., & Schulze-Osthoff, K. (1998). Oxidative stress and hypoxia/reoxygenation trigger CD95 (APO-1/Fas) ligand expression in microglial cells. *FEBS Letters*, *429*(1), 67-72. [https://doi.org/10.1016/S0014-5793\(98\)00562-6](https://doi.org/10.1016/S0014-5793(98)00562-6)
- Wallach, D., Varfolomeev, E. E., Malinin, N. L., Goltsev, Y. V., Kovalenko, A. V., & Boldin, M. P. (1999). Tumor necrosis factor receptor and Fas signaling mechanisms. *Annual review of immunology*, *17*, 331–367. <https://doi.org/10.1146/annurev.immunol.17.1.331>
- Wang, K., Yin, X. M., Chao, D. T., Milliman, C. L., & Korsmeyer, S. J. (1996). BID: a novel BH3 domain-only death agonist. *Genes & development*, *10*(22), 2859-2869.
- Wattmo, C., Minthon, L., & Wallin, Å. K. (2016). Mild versus moderate stages of Alzheimer's disease: three-year outcomes in a routine clinical setting of cholinesterase inhibitor therapy. *Alzheimer's research & therapy*, *8*(1), 1-15. <https://doi.org/10.1186/s13195-016-0174-1>
- Weber, I. T., Fang, B., & Agniswamy, J. (2008). Caspases: structure-guided design of drugs to control cell death. *Mini reviews in medicinal chemistry*, *8*(11), 1154–1162. <https://doi.org/10.2174/138955708785909899>
- Wenk, G. L. (2003). Neuropathologic changes in Alzheimer's disease. *The Journal of clinical psychiatry*, *64* Suppl 9, 7–10.
- Wiley, S.R., Schooley, K., Smolak, P.J., Din W.S., Huang, C.-P., Nicholl, J.K., Sutherland, G.R., Smith, T.D., Rauch, C., Smith, C.A. & Goodwin, R.G. (1995). Identification and characterization of a new member of the TNF family that induces apoptosis. *Immunity*, *3*(6), 673 – 682. [http://doi.org/10.1016/1074-7613\(95\)90057-8](http://doi.org/10.1016/1074-7613(95)90057-8)
- Wong, M., Ziring, D., Korin, Y., Desai, S., Kim, S., Lin, J., Gjertson, D., Braun, J., Reed, E., & Singh, R. R. (2008). TNF $\alpha$  blockade in human diseases: Mechanisms and future directions. *Clinical immunology (Orlando, Fla.)*, *126*(2), 121. <https://doi.org/10.1016/j.clim.2007.08.013>
- Xia, X., Qian, S., Soriano, S., Wu, Y., Fletcher, A.M., Wang, X.-J., Koo, E.H., Wu, X. & Zheng, H. (2001). Loss of presenilin 1 is associated with enhanced  $\beta$ -catenin signaling and skin tumorigenesis. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *98*(19), 10863 - 10868. <http://doi.org/10.1073/pnas.191284198>
- Xiang, X., Werner, G., Bohrmann, B., Liesz, A., Mazaheri, F., Capell, A., Feederle, R., Knuesel, I., Kleinberger, G., & Haass, C. (2016). TREM2 deficiency reduces the efficacy of immunotherapeutic amyloid clearance. *EMBO molecular medicine*, *8*(9), 992–1004. <https://doi.org/10.15252/emmm.201606370>
- Xu, G., & Shi, Y. (2007). Apoptosis signaling pathways and lymphocyte homeostasis. *Cell Research*, *17*(9), 759-771. <https://doi.org/10.1038/cr.2007.52>

- Yan, N., & Shi, Y. (2005). MECHANISMS OF APOPTOSIS THROUGH STRUCTURAL BIOLOGY. *Annual Review of Cell and Developmental Biology*. <https://doi.org/10.1146/annurev.cellbio.21.012704.131040>
- Yankner, B.A., Duffy, L.K. & Kirschner, D.A. (1990). Neurotrophic and neurotoxic effects of amyloid  $\beta$  protein: Reversal by tachykinin neuropeptides. *Science*, 250(4980), 279 – 282 <http://doi.org/10.1126/science.2218531>
- Yiannopoulou, K. G., & Papageorgiou, S. G. (2020). Current and Future Treatments in Alzheimer Disease: An Update. *Journal of Central Nervous System Disease*, 12. <https://doi.org/10.1177/1179573520907397>
- Yu, G., Chen, F., Levesque, G., Nishimura, M., Zhang, D., Levesque, L., Rogaeva, E., Xu, D., Liang, Y., Duthie, M., George-Hyslop, P. H. S., & Fraser, P. E. (1998). The Presenilin 1 Protein Is a Component of a High Molecular Weight Intracellular Complex That Contains  $\beta$ -Catenin. *Journal of Biological Chemistry*, 273(26), 16470-16475. <https://doi.org/10.1074/jbc.273.26.16470>
- Yu, X., Acehan, D., Ménétret, J. F., Booth, C. R., Ludtke, S. J., Riedl, S. J., Shi, Y., Wang, X., & Akey, C. W. (2005). A structure of the human apoptosome at 12.8 Å resolution provides insights into this cell death platform. *Structure (London, England : 1993)*, 13(11), 1725–1735. <https://doi.org/10.1016/j.str.2005.09.006>
- Yuan, J. (1997). Transducing signals of life and death. *Current opinion in cell biology*, 9(2), 247–251. [https://doi.org/10.1016/s0955-0674\(97\)80069-5](https://doi.org/10.1016/s0955-0674(97)80069-5)
- Yuan, S., & Akey, C. W. (2013). Apoptosome Structure, Assembly, and Procaspase Activation. *Structure*, 21(4), 501-515. <https://doi.org/10.1016/j.str.2013.02.024>
- Zempel, H., & Mandelkow, E. (2014). Lost after translation: missorting of Tau protein and consequences for Alzheimer disease. *Trends in neurosciences*, 37(12), 721–732. <https://doi.org/10.1016/j.tins.2014.08.004>
- Zhang, Y., McLaughlin, R., Goodyer, C., & LeBlanc, A. (2002). Selective cytotoxicity of intracellular amyloid beta peptide1-42 through p53 and Bax in cultured primary human neurons. *The Journal of cell biology*, 156(3), 519–529. <https://doi.org/10.1083/jcb.200110119>
- Zhenodarova, S. M. (2010). Small-molecule caspase inhibitors. *Russian Chemical Reviews*, 79(2), 119. <http://doi.org/10.1070/RC2010v079n02ABEH004056>
- Zhou, M., Li, Y., Hu, Q., Bai, X. C., Huang, W., Yan, C., Scheres, S. H., & Shi, Y. (2015). Atomic structure of the apoptosome: mechanism of cytochrome c- and dATP-mediated activation of Apaf-1. *Genes & development*, 29(22), 2349–2361. <https://doi.org/10.1101/gad.272278.115>
- Zhuang, S., Lynch, M. C., & Kochevar, I. E. (1999). Caspase-8 mediates caspase-3 activation and cytochrome c release during singlet oxygen-induced apoptosis of HL-60 cells. *Experimental cell research*, 250(1), 203–212. <https://doi.org/10.1006/excr.1999.4501>

- Zou, H., Henzel, W. J., Liu, X., Lutschg, A., & Wang, X. (1997). Apaf-1, a human protein homologous to *C. elegans* CED-4, participates in cytochrome c-dependent activation of caspase-3. *Cell*, *90*(3), 405–413. [https://doi.org/10.1016/s0092-8674\(00\)80501-2](https://doi.org/10.1016/s0092-8674(00)80501-2)
- Zou, H., Li, Y., Liu, X., & Wang, X. (1999). An APAF-1.cytochrome c multimeric complex is a functional apoptosome that activates procaspase-9. *The Journal of biological chemistry*, *274*(17), 11549–11556. <https://doi.org/10.1074/jbc.274.17.11549>