



Kandidaatintutkielma

# Epigeneettiset muutokset Alzheimerin taudissa

Johanna Helenius

Oulun yliopisto  
Biokemian ja molekyyli lääketieteen tiedekunta  
2023

## Sisällysluettelo

1. Johdanto .....	5
2. Alzheimerin tauti .....	6
2.1. Taudin tausta .....	6
2.2. Aivojen rappeutuminen .....	6
2.4.1. Beta-amyloidikertymät .....	6
2.4.2. Tau-proteiinikimput .....	7
3. Epigenomi .....	8
3.1. Epigeneettiset mekanismit .....	8
3.2. Geeniekspression säätely .....	10
4. Epigeneettiset muutokset Alzheimerin taudissa .....	10
4.1. DNA:n metylaatio .....	11
4.2. Histonien muokkaus .....	13
4.3. RNA-välitteiset muutokset .....	14
5. Tulevaisuuden näkymät .....	16
6. Yhteenveto .....	16
Kirjallisuusviitteet .....	19

## Käytetyt lyhenteet

A $\beta$	beta-amyloidi
ANK1	ankyriini 1
APOE	apolipoproteiini E
APP	amyloidiprekursoriproteiini (engl. amyloid precursor protein)
AT	Alzheimerin tauti
ATP	adenosiinitrifosfaatti (engl. adenosinetriphosphate)
BACE1	beta-sekretaasi 1 (engl. beta-secretase 1)
BACE1-AS	beta-secretase 1 antisense RNA
BDNF-AS	brain-derived neurotrophic factor antisense RNA
BIN1	bridging integrator 1
circRNA	circular RNA
circCORO1C	circular RNA coro1c protein homolog
circHOMER1	circular RNA homer protein homolog 1
CiRS-7	circular RNA 7
CpG	sytosiini-guaaniini dinukleotidi
DNA	deoksiriboosinukleinihappo
dNMT	DNA metyyli transferaasi
EWAS	epigenomewide association study
GSK3B	glycogen syntase kinase 3 beta
GWAS	genomewide association study
HAT	histoni asetyyli transferaasi
HDAC	histoni deasetylaasi
hmC	hydroksimetyloitu sytosiini
HOX	homeoottinen geeni
lncRNA	long non-coding RNA
MAPT	microtubule associated protein tau
mC	metyloitu sytosiini
miRNA/miR	mikro-RNA
mRNA	lähetti-RNA
ncRNA	ei-koodaava RNA (engl. non-coding RNA)
NFT	neurofibrillivyöhytti (engl. neurofibrillary tangle)

piRNA	piwi-interacting RNA
PSEN1	presenilin 1
RISC	RNA-induced silencing complex
RNA	ribonukleiinihappo
SAM	S-adenosyylimetioniini
siRNA	pieni häiritsevä RNA (engl. small interfering RNA)
SNCA42	synuclein alpha 42
TET	DNA demetylaasi

## 1. Johdanto

Alzheimerin tauti (AT) on aivoja rappeuttava, etenevä muistisairaus, jonka esiintyvyys kasvaa iän myötä. Väestön ikääntyessä AT yleistyy ja ennusteiden mukaan tautitapaukset tulevat kasvamaan merkittävästi vuoteen 2060 mennessä. Tällä kehityksellä on suuret yhteiskunnalliset vaikutukset terveydenhuollon kuormittavuuden ja kustannusten vuoksi (Hajjo et al., 2022).

AT on polygeeninen, monitekijäinen sairaus, jonka perimmäistä syytä ei tiedetä. Tauti on harvinainen alle 65-vuotiailla. Taudin etenemistä on mahdollista hidastaa lääkityksellä, mutta parantavaa hoitoa tautiin ei ole. AT:a sairastavan henkilön aivoissa esiintyy mikroskooppisia muutoksia, joihin kuuluu sekä beta-amyloidin (A $\beta$ ), että tau-proteiinin kertyminen. Nämä kertymät vahingoittavat keskushermostoa, aiheuttaen muistin heikentymistä, mikä on usein taudin ensimmäinen ja merkittävin oire (Juva, 2021).

Ihmisen genomi koostuu deoksiribonukleiinihaposta eli DNA:sta ja sen muodostavista emäspareista, joiden ainutlaatuinen yhdistelmä on jokaisella ihmisellä erilainen. DNA pitää sisällään tarvittavat tiedot proteiinien synteisiin, ja proteiinit puolestaan ohjaavat solujen toimintoja. Epigenomi termin alkuliite ”epi-” tulee kreikan kielestä ja tarkoittaa päällä olevaa. Näin ollen epigenomin voidaan ajatella olevan ikään kuin genomien ”päällä” sijaitseva kerros, jonka sisältämä tieto on varastoitu moninaisiin kemiallisiin ryhmiin ja muutoksiin. Nämä kemialliset yhdisteet voivat liittyä DNA:han ja säädellä sen toimintaa vaikuttaen geenien luentaan ja näin solun tuottamiin proteiineihin ja edelleen niiden aikaansaamiin toimintoihin. Nämä yhdisteet eivät muuta genomien emäsjärjestystä, vaan sitä, miten solu pystyy tätä emäsjärjestystä käyttämään (National human genome research institute [NIH], 2020). Kemiallisten muokkausten avulla epigenomi muodostaa monimutkaisen säätelyverkon, joka ohjaa geenien toimintaa, vaikuttaen siihen kuinka genomia kussakin solussa ilmenetään (Bernstein et al., 2007).

Epigenomi muokkautuu luonnollisesti kehityksen ja kudosten erilaistumisen aikana kullekin kudokselle tyypilliseksi, mutta tämän lisäksi se voi myös muuttua ympäristön tai sairauden seurauksena (National human genome research institute [NIH], 2020; Al Aboud et al., 2022). Epigeneettisiä mekanismeja ovat mm. DNA:n metylaatio, histonien post-translationalinen muokkaus ja RNA-välitteiset muutokset, joiden on osoitettu olevan tärkeässä roolissa geeniekspression säätelyssä (Bernstein et al., 2007; Frías-Lasserre & Villagra, 2017). Alzheimerin taudin heterogeeninen taudinkuva ja sen vaikea hoidettavuus ovat johtaneet taudin epigeneettisen taustan tutkimiseen. Useat tutkimukset ovat löytäneet Alzheimerin tautiin liittyviä epigeneettisiä muutoksia, mutta lisätutkimuksia tarvitaan, ennen kuin voidaan ottaa kantaa siihen, ovatko nämä muutokset osa taudin syytä vai seurausta. Epigeneettisillä

mekanismeilla on kuitenkin selkeästi rooli taudin patologiassa ja sen kautta mahdollisesti myös toimivan hoitomuodon kehittämisessä (Gao et al., 2022).

## **2. Alzheimerin tauti**

AT on hermorappeumasairaus, johon kuuluu olennaisena osana A $\beta$  plakkien ja tau-proteiinista koostuvien neurofibrilli vyyhtien (NFT, neurofibrillary tangles) kertyminen aivoihin. Nämä proteiinikertymät aiheuttavat hermosolujen tuojahaarakkeiden eli dendriittien toimintahäiriöitä ja hermosolujen kuolemaa, joka puolestaan johtaa muistin heikkenemiseen, muutokseen potilaan käytöksessä sekä lopulta elinvaurioihin. AT on monitekijäinen sairaus, jonka eri tekijöiden välillä vallitsee monimutkainen verkosto, minkä vuoksi sen perimmäinen syy on edelleen tutkimuksen alla ja kiistanalainen. On arvioitu, että taudin puhkeamiseen vaikuttaa yli 600 eri geenin lisäksi niin epigeneettisiä kuin ympäristötekijöitä (Hajjo et al., 2022).

### **2.1. Taudin tausta**

Vaikka AT:n tautimekanismi on vielä epäselvä, useita taudille altistavia riskitekijöitä tunnetaan, näistä tärkeimpänä ikä (Knopman et al., 2021). AT:n biologisina markkereina pidetään solunulkoisten A $\beta$ -plakkien ja solunsisäisten NFT:iden esiintymistä (Dunckley et al., 2006). Nämä markerit esiintyvät useimmiten tietyillä aivoalueilla, jotka ovat herkkiä taudin patologisille muutoksille. Nämä alueet sijaitsevat entorinaalisella aivokuorella, hippokampuksessa sekä ohimo- ja otsalohkoissa. Myös taudin diagnosointi perustuu näiden patologisten muutosten ilmentymiseen (Zhao & Huai, 2023).

### **2.2. Aivojen rappeutuminen**

Aivojen rappeutuminen on yhteinen tekijä kaikille AT:iin sairastuneille. Tämä voidaan nähdä aivokuoren ohenemisena ja kuduskatona. Aivojen rappeutumiseen liittyy synapsien toiminnan muuttuminen, joka puolestaan johtaa kognitiivisten taitojen vähenemiseen (Knopman et al., 2021). Diagnoosia tehdessä aivojen kuvista arvioidaan sekä hippokampuksen että aivokuoren kuduskatota (Vanninen et al., 2011).

#### **2.2.1. Beta-amyloidikertymät**

A $\beta$ -peptidit ovat amyloidiprekursoriproteiinin (APP, engl. amyloid precursor protein) johdannaisia. APP on solukalvon läpäisevä proteiini, jota esiintyy runsaasti hermosolujen synapseissa. APP:llä on tärkeä rooli aivojen kehityksessä, sillä se vaikuttaa hermoston kantasolujen jakautumiseen, erikoistumiseen sekä hermosolujen kypsymiseen (Coronel et al., 2018).

APP:tä voidaan prosessoida solussa eri reaktioreiteillä, jotka eroavat toisistaan entsyymien ja lopputuotteiden osalta. Normaalisti solussa valtaosa APP:stä käsitellään ei-amyloidisella reaktioreitillä, mutta AT:ssa APP ajautuu amyloidiselle reaktioreitille, jonka lopputuotteena syntyy A $\beta$ :tä. Tarkkaa syytä sille, miksi APP ajautuu tietylle reaktioreitille, ei vielä tiedetä (Coronel et al., 2018). Amyloidisella reaktioreitillä APP pilkotaan  $\beta$ -sekretaasin ja  $\gamma$ -sekretaasin johdosta, jolloin syntyy A $\beta$ :tä. A $\beta$  eritetään solun ulkopuolelle monomeerinä, jossa sillä on taipumusta muodostaa keräymiä konsentraatiiriippuvaisella tavalla. Vaikka A $\beta$ :tä muodostuu kaikissa soluissa, synaptinen aktiivisuus tuottaa sitä suurissa määrin, minkä vuoksi sen erityis hermosolujen soluvälitilaan on erityisen suurta (Knopman et al., 2021). AT:a sairastavilla A $\beta$  muodoista vallitsevin on A $\beta$ 42, joka muodostaa liukenemattomia fibrillejä, jotka kasautuvat yhteen muodostaen A $\beta$ -plakkeja eli beta-amyloidikertymiä (Coronel et al., 2018).

Eryteisesti oligomeerisessa muodossaan A $\beta$  on soluille myrkyllistä, vaikuttaen useisiin solukalvon reseptoreihin. Tämän lisäksi A $\beta$  aiheuttaa patologisia muutoksia hermosolujen tuojahaarakkeisiin ja synaptiseen tehokkuuteen (Knopman et al., 2021). Lisääntynyt A $\beta$  on AT:ssä usein ensimmäinen patologian merkki, jonka jälkeen myös tau-proteiini alkaa kertymään aivoihin. Näiden kahden proteiinin kertyminen voidaan liittää tajunnantason heikentymiseen seitsemän vuotta ensimmäisen havainnon jälkeen. Siinä missä A $\beta$ -kertymät ovat ensimmäinen merkki sairaudesta, tau-kertymät puolestaan kuvaavat hyvin taudin etenemistä (Hanseeuw, 2019).

### ***2.2.2. Tau-proteiinikimput***

Tau on proteiini, jota löytyy normaalisti hermosolujen aksonien sytoplasmasta. Tau on osa solun mikrotubulusverkkoa ja kiinnittynyt solun plasmamembraaniin. Sen tehtävänä on stabiloida mikrotubuluksia ja näin ollen solun tukirankaa. Tau voi esiintyä kuudessa eri muodossa, riippuen sen lähetti RNA:n vaihtoehtoisesta silmukoinnista. Nämä muodot on nimetty niiden mikrotubuluksiin sitoutuvien osiensa mukaan joko 3R:ksi tai 4R:ksi. AT:ssa esiintyvät taukimput muodostuvat sekä 3R että 4R muodoista. Tau voi tulla alttiiksi posttranslaationaalisille muutoksille, mikä tarkoittaa sitä, että tau-proteiinia hyperfosforyloidaan, jolloin se alkaa kertymään solun sisään. Tau:ta eritetään ulos solusta synaptisen aktiivisuuden yhteydessä ja postsynaptiset hermosolut sekä gliasolut ottavat sitä sisäänsä (Knopman et al., 2021).

Tau-proteiinin posttranslaationaaliset muutokset vaikuttavat AT:n etenemisnopeuteen. Hyperfosforyloituneet tau-kertymät muodostavat NFT:itä ja AT:ssa näitä alkaa esiintyä ensin ohimolohkossa, josta ne myöhemmin leviävät myös muihin aivojen osiin.

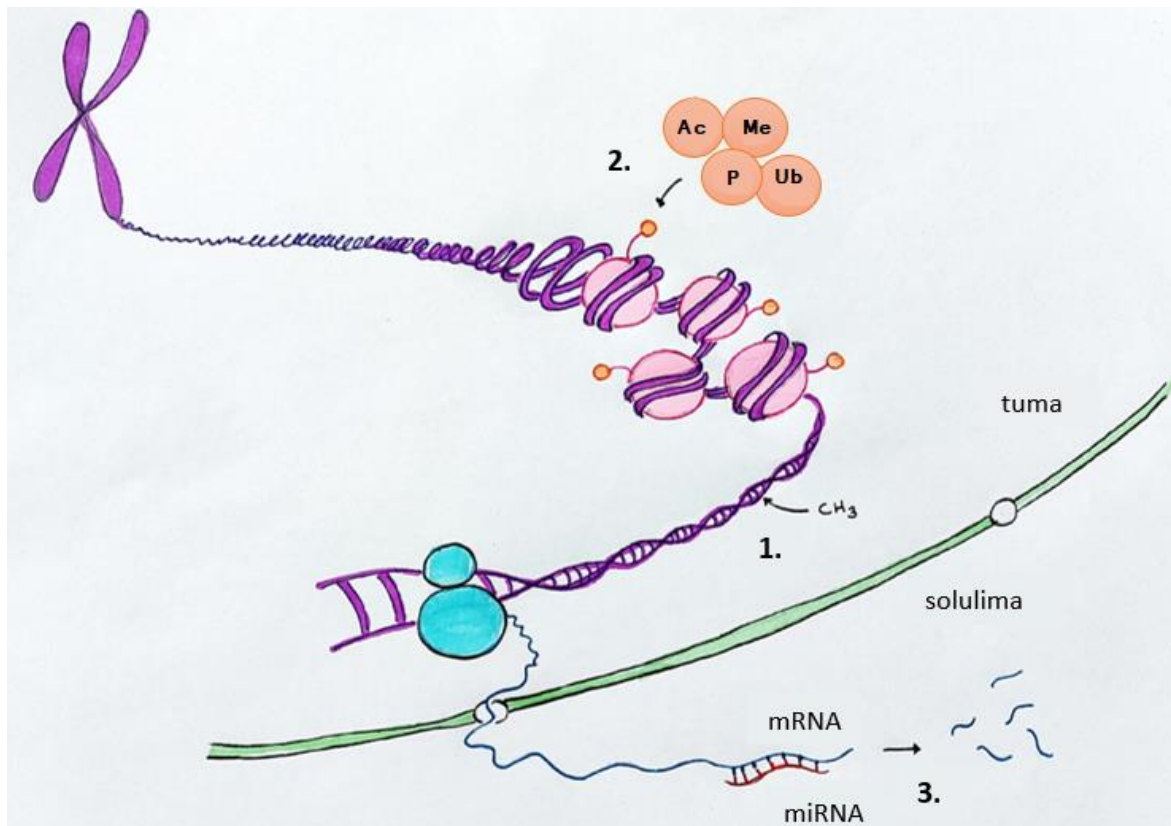
Vaikka NFT:itä voi esiintyä ohimolohkossa myös ilman A $\beta$ -plakkien läsnäoloa, niiden leviäminen ohimolohkon ulkopuolelle tapahtuu ainoastaan silloin, kun myös A $\beta$ :tä on päässyt kertymään aivoihin (Knopman et al., 2021).

### 3. Epigenomi

Kromatiini rakentuu DNA:sta ja histoni-proteiineista, joiden ympärille DNA on kiertynyt. Kromatiinin rakenne on joustava ja muokkautuu sen mukaan, mitä tarpeita solulla on. Kromatiinin rakennetta ja pakkautumisastetta muokkaamalla säädellään geenien ilmentymistä ja solun toimintaa. Epigenomista puhuttaessa puhutaan kromatiinin rakenteessa tapahtuvista kemiallisista muutoksista, joiden avulla genomia säädelään. Epigeneettiset muutokset ovat perinnöllisiä muutoksia, joihin vaikuttavat niin solulinja kuin ympäristökin (Bernstein et al., 2007).

#### 3.1. Epigeneettiset mekanismit

Epigeneettiset mekanismit voidaan jakaa kolmeen pääluokkaan; DNA:n metylaatioon, histonien muokkaukseen ja RNA-välitteisiin muutoksiin (kuva 1).



**Kuva 1.** Havainnollistava esitys epigeneettisten mekanismien kolmesta pääluokasta 1.) DNA:n metylaatio, 2.) histonien muokkaus ja 3.) RNA-välitteiset muutokset. Näiden epigeneettisten mekanismien avulla säädellään kromatiinin rakennetta ja geenien ilmentymistä.



DNA:n metylaatiolla tarkoitetaan metyyliryhmän liittämistä osaksi DNA:ta. DNA:n metylaatio voi tapahtua joko sytosiiniin tai adeniiniin. Näistä muokkauksista adeniinin metylaatio on vähemmän tunnettu, mutta nisäkkäissä sillä vaikuttaisi olevan rooli geeniekspression vähenemisessä (Wu et al., 2016). Tässä tutkielmassa DNA:n metylaatiosta puhuttaessa viitataan sytosiinin metylaatioon. Sytosiinin metylaatio tapahtuu DNA metyyli transferaasin (dNMT) katalysoimassa reaktiossa, jossa S-adenosyylimetioniinilta (SAM) saatu metyyliryhmä siirretään sytosiinirenkään viidenteen hiileen (5') CpG dinukleotidissa. DNA demetylaasien (TET) avulla metyyliryhmä on myös mahdollista poistaa ja vaikka DNA metylaatio on suhteellisen pysyvä modifikaatio, se voi myös muuttua elämän aikana (Moore et al., 2012). DNA metylaatio on yleisesti yhdistetty geeniekspression vähenemiseen, mutta sijainnistaan riippuen se voi myös lisätä transkriptiota (Schübeler, 2015). DNA:n metylaatio on yksi solun tavoista kontrolloida omaa geeniekspressiotaan, ja sillä on tärkeä rooli mm. alkion kehityksessä ja genomien stabiloinnissa (Jones, 2012). Aivoissa DNA metylaatiolla on korvaamaton rooli hermosolujen normaalissa toiminnassa (Delgado-Morales et al., 2017).

Histonien muokkaus vaikuttaa suoraan kromatiinin rakenteeseen säädellen, kuinka tiiviisti DNA on histonin ympärille kiertynyt ja kuinka luettavassa muodossa se on. Tiiviisti pakkautuneen kromatiinin transkriptio vähenee, kun taas löyhemmin pakkautuneen kromatiinin transkriptio lisääntyy. Histoneja voidaan muokata kovalenttisesti usealla eri tavalla. Näihin tapoihin kuuluu asetylaatio, metylaatio, fosforylaatio ja ubikinaatio. Nämä muokkaukset tapahtuvat histonien aminopäässä, spesifisesti määritetyissä paikoissa. Eräs eniten tutkituista histonien muokkauksista on histonihäntien asetylaatio ja deasetylaatio. Nämä muokkaukset tapahtuvat histoni asetyyli transferaasien (HAT) ja histoni deasetylaasien (HDAC) katalysoimana. HAT entsyymit siirtävät asetyyli ryhmän asetyyli koentsyymi A:lta histonihännän lysiini -aminohappotähteeseen. Lysiinin asetylaatio johtaa lähes aina kromatiinin luettavuuden paranemiseen ja näin ollen transkriptioon ja geenin ilmentämiseen. Tämä johtuu siitä, että asetyyli ryhmän lisääminen lysiiniin vähentää histonin aminohännän positiivista varausta ja sen sähköistä vetovoimaa negatiivisesti varautuneeseen DNA:han, saaden DNA:n histonin ympärillä löystymään ja tehden siitä helpommin luettavan. HDAC:t taas toimivat päinvastaisella tavalla, poistaen asetyyli ryhmän lysiinistä, johtaen kromatiinin tiiviimpään pakkautumiseen ja ekspression vähenemiseen. Lysiinin metylaatio voi puolestaan johtaa sekä geenin vaimentamiseen, että ilmentämiseen, riippuen muokatun lysiinin paikasta histonissa (Bannister & Kouzarides, 2011). Histonien metylaatio tapahtuu yleensä joko lysiini- tai arginiini-aminohappotähteiden sivuketjuihin entsyymaattisesti histonimetyyli transferaasien

katalysoimana. Metylaatio ei kuitenkaan muuta histonin varausta. Histonien metylaatio on myös palautuvaa ja demetylaatio tapahtuu entsyymaattisesti esimerkiksi histonilysiinidemetylaasien toimesta. Histonien fosforylaatio/defosforylaatio tapahtuu histonikinaasien ja -fosfataasien katalysoimana. Fosfaattiryhmän luovuttajana reaktiossa toimii ATP. Fosfaattiryhmän lisääminen histonihäntään saa aikaan histonin negatiivisen varauksen, joka puolestaan johtaa kromatiinin pakkautumisen löystymiseen (Bannister & Kouzarides, 2011; Rossetto et al., 2012). Histonien ubikinaatio tapahtuu pienen ubikitiini-proteiinin liittämisellä histoniproteiiniin. Ubikitiinejä voidaan liittää histoniin yksi tai useampia (Cao & Yan, 2012). Myös ubikitinaatio voi olla palautuva tapahtuma.

RNA-välitteiset muutokset vaikuttavat kromatiinin rakenteeseen ja näin ollen myös geenien ilmentämiseen. Näitä muutoksia välittävät ei-koodaavat RNA molekyylit, eli molekyylit, jotka eivät koodaa proteiineja. Näitä ovat mm. mikroRNA, siRNA, piRNA, circRNA, lncRNA sekä useita muita. Näiden molekyylien rakenne sekä vaikutusmekanismit vaihtelevat. Pienet miRNA-molekyylit pystyvät esimerkiksi vaikuttamaan lähettiRNA:n vakauteen ja sen translaatioon (Lovrei et al., 2013). Ei-koodaavien RNA:iden tehtäviin solussa kuuluu geeniekspression säätelyn lisäksi transposonisten elementtien hiljentäminen, X-kromosomin inaktivaatio, vaihtoehtoinen silmukointi sekä DNA imprinting (Jeon et al., 2012; Morrissy et al., 2011). Vaikka ei-koodavien RNA:iden tutkimus on vasta aluillaan, jo nyt näyttää siltä, että niillä on osansa monissa eri reaktioreiteissä ja mahdollisesti myös AT patologiassa (Morrissy et al., 2011).

### **3.2. Geeniekspression säätely**

Epigenomi muokkaa sekä perinnöllisiä että hankittuja ominaisuuksia muuttamatta DNA:n emäsjärjestystä. Tämä mahdollistaa suuren määrän eri fenotyyppisiä, ja soluissa ilmenevät toiminnalliset erot siitä huolimatta, että kaikki solut omaavat saman DNA:n. Epigeneettiset mekanismit muokkaavat useiden geenien transkriptioaktiivisuutta, vaikuttaen näin myös suoraan solujen aineenvaihduntaan. Näiden mekanismien osat vaikuttavat dynaamisesti myös toisiinsa ns. feedback-loopeissa, muodostaen monimutkaisen säätelyverkon (Yao et al., 2019).

## **4. Epigeneettiset muutokset Alzheimerin taudissa**

AT:a tutkittaessa on huomattu, että samankaltaisen geneettisen taustan omaavilla henkilöillä taudinkuva voi olla hyvin erilainen, näkyen myös huomattavina eroina aivoista löydetyissä patologisissa muutoksissa. Tämä on johtanut hypoteesiin epigeneettisten mekanismien osallisuudesta AT-patologiaan (Mastroeni et al., 2009).

Genominlaajuisissa assosiaatiotutkimuksissa (GWAS) AT:iin on onnistuttu yhdistämään useita geneettisiä tekijöitä, jotka lisäävät sairastumisen riskiä. Tästä huolimatta tautimekanismi on edelleen epäselvä eivätkä geneettiset muutokset yksin kykene selittämään taudin puhkeamista. Tämän vuoksi viime vuosina puuttuvaa palasta taudin taustalla on alettu etsimään aivojen epigenomista, jonka tiedetään vaikuttavan useisiin geeneihin samanaikaisesti. Nämä tutkimukset ovat tuoneet lisätietoa taudin molekulaarisen taustan monimutkaisuudesta ja paljastaneet merkittäviä epigeneettisiä muutoksia AT-potilaiden aivoissa (H.-U. Klein et al., 2019).

#### **4.1. DNA:n metylaatio**

Nisäkkäillä DNA metylaatio tapahtuu pääasiassa CpG-saarekkeissa reaktiossa, jossa dNMT katalysoi metyyliiryhmän siirtymisen SAM:lta sytosiinille. Tämä reaktiosarja on osa hiilimetaboliaa (one-carbon reaction cycle), jonka välituotteiden kohonneen pitoisuuden on todettu olevan yhteydessä kasvaneeseen riskiin sairastua dementiaan ja AT:iin (Yokoyama et al., 2017).

DNA:n metylaatiota AT:ssa on tutkittu runsaasti erilaisia tutkimusmenetelmiä ja näytemääriä käyttäen. Mastroeni työtovereineen huomasi, että identtisillä kaksosilla, joista vain toinen sairasti AT:a, sairastuneen kaksosen globaali metylaatiotaso oli selkeästi vähentynyt ohimolohkon alueella (Mastroeni et al., 2009). Myös Mastroenin johtamassa toisessa tutkimuksessa, jossa näytemäärä oli isompi, todettiin yleisen metylaatiotason laskeneen AT-aivojen tietyillä alueilla. Metylaatiotason eroja ei havaittu niissä aivojen osissa, joissa AT-patologiaa ei muutenkaan ole näkyvissä (Mastroeni et al., 2008). Esimerkiksi pikkuaivoissa, jotka ovat hyvin AT-patologialta suojattu, merkittävää eroa AT:a sairastavien metylaatiotason ja kontrolliryhmän välillä ei havaittu. Näiden tutkimusten jälkeen on kuitenkin ilmaantunut useita tutkimuksia, joiden tulokset ovat keskenään ristiriitaisia. Lashleyn 2015 julkaistussa tutkimuksessa (Lashley et al., 2015) ei löydetty minkäänlaista eroa globaalissa metylaatiotasossa, kun taas Coppietersin ja Dragunowin 2011 julkaistussa tutkimuksessa (Coppieters & Dragunow, 2011) metylaatiotason todettiin jopa kohonneen AT-aivoissa. Nämä ristiriitaiset tutkimustulokset ovat todistaneet, että aivojen metylaatiotason tutkiminen ja näiden tulosten yksiselitteinen analysointi on oletettua monimutkaisempaa. Vuonna 2016 julkaistiin tutkimus (Phipps et al., 2016), jonka lopputuloksena oli, että metylaation taso vaihtelee solutyypin, ei kudostyyppin mukaan. Tämä on huomattu myös muissa tutkimuksissa, ja saattaa osaltaan selittää ristiriitaisia tutkimustuloksia. Mo huomasi jo vuonna 2015 julkaistussa tutkimuksessaan (Mo et al., 2015), että AT-aivojen ohimolohkon neuronien metylaation aleneminen ei näkynyt saman alueen mikroglia-soluissa.

Globaalin metylaatiotason lisäksi DNA metylaatiota AT:ssa on tutkittu myös yksittäisissä geeneissä. Geenitasolla metylaatiota on tutkittu erityisesti keskittyen geeneihin, jotka jo aikaisempien tutkimusten perusteella on pystytty yhdistämään taudin patologiaan. Näitä geenejä on useita, mukaan lukien *APP*, *MAPT*, *PSENI*, *APOE* ja *BINI*. Myös näissä tutkimuksissa esiintyy ristiriitaa, eivätkä tulokset ole yksiselitteisiä. Vaikka selkeää metylaatiotasoa AT:ssa ei ole pystytty selvittämään, useissa tutkimuksissa on käynyt ilmi, että monissa AT:iin yhdistetyissä geeneissä on havaittavissa metylaatiotason eroja verrattuna kontrolleihin (Yokoyama et al., 2017). Yksittäisten AT:iin yhdistettyjen geenien lisäksi useat GWAS ja epigenominlaajuiset assosiaatiotutkimukset (EWAS) ovat tunnistaneet mahdollisesti AT:iin yhdistettäviä geenivariantteja ja alueita. Näillä alueilla metylaatio eroaa AT:aa sairastavien aivoissa verrattuna kontrolleihin (Lambert et al., 2013). Lunnonin 2014 julkaistussa EWAS tutkimuksessa (Lunnon et al., 2014) löydettiin neuropatologiaan yhdistetty hypermetyloitunut ANK1 -geeni kahdella eri aivokuoren alueella, jossa AT:n patologisten muutosten tiedetään herkästi ilmenevän. Pikkuaivoissa, joissa AT patologiaa ei usein ilmene, hypermetylaatiota ei havaittu. Tämä kyseinen muutos löydettiin kolmen eri aivokohortin näytteistä (Lunnon et al., 2014). Myös toisessa laajassa EWAS tutkimuksessa löydettiin sama hypermetyloitunut ANK1 geeni (De Jager et al., 2014; Wood, 2014). Barrachinan ja Ferrerin 2009 julkaistussa tutkimuksessa (Barrachina & Ferrer, 2009) tutkittiin *MAPT*, *APP* ja *PSEN1* geenejä hippokampuksen ja otsalohkon alueella, mutta merkittäviä eroja näiden metylaatioissa ei löytynyt. Iwatan 2014 julkaistussa tutkimuksessa (Iwata et al., 2014) metylaatioerot *MAPT*, *APP* ja *GSK3B* -geeneissä sen sijaan olivat merkittäviä niin ohimo- ja päälaenlohkoista kuin pikkuaivoistakin. Tässäkään tutkimuksessa *PSENI* ei eronnut kontrolleista.

AT-neuropatologiaan yhdistettyä hypermetylaatiota on löydetty myös *HOXA* -geeneistä ihmisen aivokuoren näytteistä (Smith et al., 2018). *HOXA* -geenin hypermetylaatiota on aikaisemmin löydetty Downin syndroomaa sairastavilta potilailta (Bacalini et al., 2015). Koska Downin syndroomaa sairastavat potilaat omaavat yhden ylimääräisen *APP* -geenin, heillä on taipumusta sairastua myös AT:iin. Yhä useampi tutkimus on onnistunut tunnistamaan poikkeavasti metyloituneita geenejä ja yhdistämään ne AT:iin ja siinä esiintyviin patologisiin muutoksiin, tukien sitä, että DNA:n metylaatio liittyy patologiaan muutoksiin, joita AT:ssa on nähtävissä (Semick et al., 1966; Yu et al., 2015).

DNA:n metylaation tutkimuksissa on useita huomioon otettavia ongelmia, jotka saattavat olla ristiriitaisten tulosten taustalla. Monet tehdyistä tutkimuksista eivät kykene erottamaan eroa metyylysyntosiinin (mC) ja hydroksimetyyliisyntosiinin (hmC) väliltä, vaan laskevat nämä kummatkin metyloituneiksi emäksiksi. HmC:tä esiintyy erityisen paljon

keskushermostossa, eikä sen merkitys ole vielä tiedossa. Tiedetään kuitenkin, että hmC on muokattu metyloidusta sytosiinista ja on spekuloitu, että hmC voisi olla välimuoto aktiivisessa demetylaatioprosessissa (Globisch et al., 2010). Geenin sisällä hmC vaikuttaisi lisäävän geeniekspressiota ja olevan myös yhteydessä histonimerkkeihin H3K4me1 ja H3K27ac. Shun 2016 julkaistun tutkimuksen (Shu et al., 2016) AT-hiirimallissa huomattiin, että A $\beta$ -plakit vähensivät hydroksimetyloitujen emästen määrää hippokampuksessa. Tämän vuoksi on vaikea vetää johtopäätöksiä siitä, mitä metylaatiotason vaihtelu AT:ssa tarkoittaa transkriptioaktiivisuuden kannalta.

## 4.2. Histonien muokkaus

Histoniproteiineja on olemassa viittä erilaista (H1, H2A, H2B, H3 ja H4). Histonien konformaation muutokset johtavat niiden ympärille kiertyneen DNA:n lukemiseen ja transkriptioaktiivisuuteen, mikä tarkoittaa sitä, että histoneja muokkaamalla voidaan muokata myös geenien transkriptioaktiivisuutta. Nämä muokkaukset ovat palautuvia ja kohdistuvat histonien N-terminaaliseen häntään ja sen aminohappotähteisiin. Histonien muokkauksia on olemassa useita erilaisia ja yhdessä ne muodostavat ns. histonikoodin, joka voi yhdistelmästä riippuen johtaa joko geenin aktivaatioon tai hiljenemiseen (Lardenoije et al., 2015). Vaikka histonikoodi kokonaisuudessaan vaikuttaa kromatiinin rakenteeseen, on löydetty yksittäisiä histonimerkkejä, jotka on onnistuttu yhdistämään joko geenin aktivaatioon tai inaktivaatioon. Näitä ovat esimerkiksi H3:sen asetylaatiot H3K9ac ja H3K14ac, jotka on molemmat yhdistetty geenin aktivaatioon (Habibi et al., 2011).

Nativion työtovereineen huomasi, että normaali vanheneminen lisää H4K16 asetylaatiota, kun taas AT-aivoissa H4K16 asetylaatio laskee huomattavasti kontrolleihin verrattuna niiden geenien lähellä, jotka on yhdistetty vanhenemiseen ja AT:iin. Hiirien AT-tautimalleissa histonien asetylaatio on vähentynyt geneissä, jotka ovat yhteydessä muistiin ja hiirien hoitaminen HDAC-inhibiittoreilla on antanut lupaavia tuloksia synapsien toiminnan ja kognitiivisen plastisuuden palauttamisesta (Nativio et al., 2018). Tau-proteiinikertymän on todettu vaikuttavan histonien asetylaatioon, aiheuttaen laajaa kromatiinin uudelleenjärjestymistä AT-aivoissa (H. U. Klein et al., 2019). Eläinmalleilla on tutkittu laajemminkin HDAC inhibointia, jolla näyttäisi olevan positiivinen vaikutus muistiin ja oppimiseen, sekä hermosolujen toimintaan (Mastroeni et al., 2011). Transgeenisillä hiirillä HDAC inhibointi on johtanut A $\beta$ -kertymien vähenemiseen aivoissa sekä kognitiivisten taitojen palautumiseen neurodegeneroivissa hiiren aivoissa (Chen et al., 2021). Erityisesti histoni deasetylaasi 2:sen aiheuttamat epigeneettiset muutokset tuntuvat vaikuttavan AT:ssä esiintyvään neuropatologiaan (Atluri et al., 2019).

Histonien asetylaation lisäksi myös histonien metylaatio aiheuttaa muutoksia kromatiinin rakenteessa. Trimetyloitu histoni H3 lysiini 9 (H3K9me3) on yksi tärkeimmistä heterokromatiinin kondensaatioon ja transkriptioaktiivisuuden vähenemiseen liitetystä histonien muokkauksista (Wu, Terry, Singh, & Gilbert, 2005). H3K9me3 aiheuttama heterokromatiinin kondensaation on todettu kohonneen AT:ssä. AT:ssä nähtiin selkeä kasvu H3K9me3-markkereissa, joka oli käänteisesti verrannollinen mRNA tasoihin. Data-analyysin mukaan tämän poikkeavan kromatiinin muokkauksen seurauksena synaptiseen toimintaan liittyvien geenien transkriptioaktiivisuus väheni, viitaten siihen, että H3K9me3-markkerin aiheuttama epigeneettinen modifikaatio johtaa AT:iin yhdistettyyn epänormaaliin synapsien toimintaan ja niiden patologiaan (Lee et al., 2020). Jo yksi muokkaus H3K9:ssä on pystytty yhdistämään muuttuneeseen kromatiinirakenteeseen neurodegeneratiivisissa tiloissa (Lee et al., 2013; Ryu, Barrup, Kowall, & McKee, 2008). H3K4 metylaatio taas näyttäisi johtavan transkription lisääntymiseen. Tämä histonimodifikaatio on yhdistetty synapsien toimintaan ja hermojen kehitykseen (Cheung et al. 2010). Tämän saman lysiinin trimetylaatio (H4K4me3) saattaa olla yhteydessä myös muistiin vaikuttavien geenien ekspressoointiin (Gupta et al., 2010).

Histonien fosforylaatio ja ubikinaatio ovat vielä huonosti tunnettuja modifikaatioita. Histonien H4 ja H3 fosforylaation on kuitenkin todettu kohonneen AT-potilaiden aivoissa kahdessa eri tutkimuksessa (Chaput et al. 2016; Ogawa et al. 2003). Anderson ja Turko puolestaan osoittivat tutkimuksessaan, että histoni H2:n ubikinaatio (H2BK120) oli AT:ssa huomattavasti korkeampi kuin kontrollinäytteissä (Anderson and Turko, 2015).

#### **4.3. RNA-välitteiset muutokset**

Ei-koodaavat RNA:t (ncRNA, engl. non-coding RNA) vaikuttavat kolmeen eri patogeeniseen reaktiotiehen AT:ssa; A $\beta$ -plakkien muodostumiseen, tau-proteiinin fosforylointiin ja keskushermoston tulehdusreaktioon. Muutokset ncRNA ekspressiossa voidaan nähdä niin selkäydinnesteessä kuin aivoissa, minkä vuoksi ne vaikuttavat myös lupaavilta diagnostisilta biomarkkereilta AT:n toteamisessa ja hoidossa. Tällä hetkellä tutkimuksen alla on useita eri ncRNA:ita, kuten miRNA, circRNA, piRNA ja lncRNA. Näiden molekyylien epigeneettiset mekanismit perustuvat niiden kykyyn vuorovaikuttaa keskenään sekä DNA:n ja proteiinien kanssa, johtaen geeniekspression säätelyyn. Patologiset tilat muuttavat näiden molekyylien ekspressiota ja neurodegeneratiivisissa sairauksissa ncRNA:t voivat mahdollisesti toimia tehokkaina biomarkkereina (Pierouli et al., 2023).

MiRNA:t ovat osa RISC-kompleksia (RNA-induced silencing complex), joka vaikuttaa kohde mRNA:han vähentäen sen vakautta ja translaatiota (Tang, 2005). AT:ssa miRNA:iden on todettu olevan kytköksissä A $\beta$ -patologiaan vaikuttamalla *APP* ekspressioon ja muihin entsyymeihin, jotka ovat vastuussa APP:n käsittelystä. Ihmisillä miRNA-106a ja miRNA-520c yliekspression on todettu johtavan APP:n translaation inhibointiin ja mRNA:n vähenemiseen, laskien APP tasoja. miRNA-29 perheen molekyylien ekspressio AT-aivoissa on madaltunut, mikä johtaa BACE1 geenin dysregulaatioon ja näin ollen APP:n pilkkoutumisen muuttumisen kautta A $\beta$ -plakkien muodostukseen (Boissonneault et al., 2009). MiRNA-9 puolestaan lieventää A $\beta$ -keräytymien aiheuttamaa synaptista toksisuutta miRNA-144:n ja miRNA-451:n suojellessa aivoja A $\beta$ -peptidien muodostumiselta (Idda et al., 2018).

CircRNA:t kertyvät keskushermoston kudoksiin aivojen normaalin vanhenemisen seurauksena, ollen herkkiä AT:n kaltaisille neurodegeneratiivisille sairauksille. CiRS-7, joka sitoutuu runsaasti aivoissa esiintyvään miRNA-7:aan on pystytty yhdistämään AT:iin. Sitoutumalla miRNA-7 tämä molekyyli inhiboi sen toimintaa. AT-aivojen hippokampuksessa ciRS-7:n ekspressio laskee, minkä seurauksena miRNA-7:n tasot AT-hippokampuksessa kasvavat. Tämän seurauksena autofaginen amyloidipeptidien puhdistus aivoissa vähenee (Lukiw, 2013). Myös circHOMER1 ja circCORO1C, jotka sitoutuvat miR-651 ja miR-105, johtavat AT:iin yhdistettyihin patologistiin muutoksiin vaikuttamalla *APP* ja *SNCA42* -geeneihin (Pierouli et al. 2023).

PiRNA:t ovat osallisena keskushermoston stressitiloissa ja fyysisen vaurion vasteessa. Nämä molekyylit vaikuttavat epäsuorasti translaatioon ja transkriptioon, mm. mRNA:n, histonien ja DNA metylaation kautta. Neurodegeneratiivisissa sairauksissa piRNA tasot ovat usein kohonneet. 149 piRNA:nekspressio erosi huomattavasti AT:ssa verrattuna kontrolleihin. Viisi näistä omasi yli kymmenkertaisen ekspression AT:ssa (piR-61646, piR-31038, piR-33880, piR-34443 ja piR-37213). Näiden ekspressiotasoltaan eroavien piRNA:iden kohdegeenien todettiin omaavan rooleja niin apoptoosissa kuin neurodegeneraation sekä A $\beta$ -peptiditasojen säätelyssä (Roy et al., 2017).

AT-aivoista on löytynyt useita lncRNA molekyyliä, joiden ekspressio on erilainen verrattuna kontrollinäytteisiin. Monet näistä molekyyleistä ovat ainoastaan aivoissa esiintyviä. Toisessa tutkimuksessa suurin osa AT:iin liitetystä lncRNA:ista olivat intergeenisia. Hiirimallilla muuttunut lncRNA ekspressio vaikuttaisi olevan yhteydessä ainakin tulehdusreaktioon sekä vanhenemiseen (Lee et al., 2015; Lan et al., 2022). Yksittäisiä lncRNA:ita on onnistuttu liittämään AT:iin, kuten BACE1-AS (Kang et al., 2014), 51A (Ciarlo et al., 2013) ja BDNF-AS (Modarresi et al., 2012).

## 5. Tulevaisuuden näkymät

AT:n taudinkuva on moninainen, vaihtuen niin yksilöstä kuin taudin etenemisestä riippuen. Taudin tutkimisessa on useita haasteita, joihin kuuluvat heterogeeninen taudinkuva, kudoksen huono saatavuus, epigeneettisten muutosten pysyvyys, epigeneettisten muutosten kudosis- ja soluspesifisyys ja tarkkan tautimekanismin epäselvyys. Haastavuutta lisää myös se, että aivot ovat monimutkainen elin, joiden toiminta vaihtelee suuresti sekä eri aivoalueiden että solutyypin välillä. Näistä haasteista huolimatta AT:ssa havaittujen epigeneettisten muutosten määrä ja myös näiden merkitys taudin patologiaan kasvaa jatkuvasti uusien tutkimusten myötä. Vaikka lisätutkimuksia vielä tarvitaan, toistaiseksi epigeneettiset mekanismit vaikuttavat sekä lupaavilta biomarkkereilta AT:n diagnosoimiseen että sen hoitoon. Viime vuosikymmeninä kehittyneet analyysitekniikat ovat mahdollistaneet tautimekanismien uudenlaisen tutkimuksen. Näiden tutkimusten avulla on onnistuttu tunnistamaan useita aikaisemmin tuntemattomia AT-patologiaan yhteydessä olevia geenejä sekä niihin vaikuttavia epigeneettisiä muutoksia.

Epigeneettisten merkkien aikainen ilmaantuminen sekä niiden muokattavuus antavat toivoa nykyistä tehokkaampien diagnostisten menetelmien ja hoitomuotojen kehittämiseen. Esimerkiksi DNA:n metylaatiotasoon vaikuttaminen metyyliiryhmän luovuttajan, SAM:in kautta, histonien asetylaation säilyttäminen HDAC-inhibiittoreilla tai miRNA, circRNA ja piRNA tasoihin vaikuttaminen saattaisivat olla tulevaisuudessa käytettäviä hoitomuotoja. Kompleksisuutensa vuoksi yhden ainoan toimivan hoitomuodon löytäminen vaikuttaa epätodennäköiseltä, mutta useita patologisia mekanismeja targetoimalla taudin varhaisempi toteaminen ja tautiin paremmin tehoavat hoidot saattavat olla tulevaisuudessa mahdollisia. Tiedetyt lncRNA- ja miRNA-molekyylit voisivat tulevaisuudessa toimia verinäytteistä analysoitavina biomarkkereina, joiden avulla AT:n tarkempi ja aikaisempi diagnosointi olisi mahdollista.

## 6. Yhteenveto

AT on monitekijäinen sairaus, johon liittyy etenevä aivojen rappeutuminen ja kognitiivisten taitojen sekä muistin heikentyminen. Taudin monimutkaisen molekulaarisen taustan vuoksi sen aiheuttaja ja tautimekanismi ovat vielä epäselviä. AT:iin sairastuvien määrän koko ajan kasvaessa sen diagnosoiminen ja hoidon kehittäminen on entistä tärkeämpää. Sairauden heterogeeninen taudinkuva ja vaikea hoidettavuus ovat johtaneet sen epigeneettisen taustan tutkimiseen. Useat eri tutkimukset ovat onnistuneet löytämään AT:iin yhdistettäviä



epigeneettisiä muutoksia, mutta lisätutkimuksia tarvitaan, ennen kuin voidaan sanoa ovatko nämä muutokset seurausta AT patologiasta vai onko niillä osansa patologian synnyssä.

AT:ssa havaittavat epigeneettiset muutokset voidaan jakaa kolmeen pääluokkaan; DNA:n metylaatioon, histonien muokkauksiin ja RNA-välitteisiin muutoksiin. DNA:n metylaation tutkiminen on osoittautunut haastavaksi ja tutkimustulokset ovat ristiriitaisia. Globaalin metylaatiotason tutkimuksissa AT-potilailla on todettu niin alentunutta metylaatiotasoa (Mastroeni et al., 2008), kohonnutta metylaatiotasoa (Coppieter & Dragunow, 2011) että normaalia metylaatiotasoa (Lashley et al., 2015) verrattuna kontrollinäytteisiin. Tämä saattaa olla seurausta heterogeenisestä taudinkuvasta, metylaatiotason vaihtelusta eri solutyypeissä sekä eri aivoalueilla, tai liittyä käytettyihin analyysimenetelmiin. On myös tärkeää huomata, että DNA:n metylaatio muuttuu iän myötä myös terveiden ihmisten aivoissa. Useiden geenien metylaatio lisääntyy ikääntyessä, johtaen näin geeniekspression hiljenemiseen ilman, että taustalta löytyy merkkejä patologiasta (Siegmond et al., 2007). Myös eroja yksittäisten geenien metylaatioissa on pystytty yhdistämään AT:iin. AT-aivoissa hypermetyloitunut ANK1 -geeni on löydetty useassa tutkimuksessa (Lunnon et al., 2014; De Jager et al., 2014). Nämäkin tutkimukset eivät kuitenkaan ole täysin yksiselitteisiä, sillä kaikki eivät ole havainneet eroa metylaatioissa (Barrachina & Ferrer, 2009). Muista geneistä merkittäviä AT:iin yhdistettyjä metylaatioeroja on löytynyt MAPT, APP ja GSK3B -geneistä (Iwata et al., 2014), sekä hypermetylaatiota HOXA -geneistä (Smith et al., 2018). Näihin tutkimuksiin liittyvät samat ongelmat kuin globaalin metylaatiotason tutkimuksiin. Yksi käytettyjen analyysimenetelmien puutteista on, että ne eivät kykene erottamaan sytosiinin metylaatiota (mC) ja hydroksimetylaatiota (hmC) toisistaan. Koska hydroksimetylaation merkitys transkriptioon on vielä epäselvä ja metylaation vaikutus riippuu siitä, millä alueella geeniä se tapahtuu, näiden tutkimusten perusteella on vaikeaa tehdä johtopäätöksiä AT:ssa havaittujen metylaatiomuutosten vaikutuksesta geeniekspressioon. Useat tutkimukset kuitenkin antavat viitteitä siitä, että ainakin tiettyjen geenien sisällä DNA metylaatio on yhteydessä AT patologiaan (Roubroeks et al., 2017).

Histonimerkeistä on myös löydetty AT:iin yhdistettyjä muokkauksia. H4K16 asetylaatio (H4K16ac) on AT:ssa häiriintynyt. Normaalisti H4K16ac lisääntyy ikääntyessä, mutta AT:ssa se sen sijaan laskee. Myös hiirien AT tautimalleissa histonien asetylaatio on vähentynyt (Nativio et al., 2018). Useissa eri tutkimuksissa on saatu lupaavia tuloksia muistin, hermosolujen toiminnan ja kognitiivisten taitojen palautumisesta HDAC-inhibiittorihoitoa käyttäen (Nativio et al., 2018; Mastroeni et al., 2008; Chen et al., 2021; Atluri et al., 2019). H3K4me3, joka on yhdistetty kromatiinin kondensaatioon ja geeniekspression alenemiseen on

todettu kohonneen AT:ssa (Lee et al., 2020). H3 ja H4 fosforylaation on myös todettu kohonneen AT:ssä (Chaput et al., 2016; Ogawa et al., 2003), niin kuin myös H2 ubikinaation (Anderson & Turko, 2015).

RNA välitteisistä muutoksista miRNA29 perheen ekspressio on AT:ssa alentunut, johtaen A $\beta$ -plakkien muodostumiseen (Boissonneault et al., 2008). Myös ciRS-7:n taso on AT:ssä laskenut, aiheuttaen A $\beta$ :v autofagisen puhdistuksen vähenemiseen (Lukiw, 2013). PiRNA:ita, joiden ekspressio AT-potilaiden näytteissä erosi kontrollinäytteistä on löydetty yli 100 (Roy et al., 2017). Myös yksittäisiä lncRNA-molekyylejä on onnistuttu yhdistämään AT:iin.

Vaikka AT:n taustalla vaikuttavat epigeneettiset mekanismit ja taudissa havaittujen epigeneettisten muutosten yhteys patologiaan vaativat vielä lisätutkimuksia, useat tautiin yhdistetyt muutokset osoittavat, että epigeneettisillä mekanismeilla on osansa AT:ssa. AT:iin yhdistettävien epigeneettisten merkkien löytyminen ja niiden muokattavuus antavat toivoa nykyistä tehokkaampien diagnostisten menetelmien ja hoitomuotojen kehittämiseen.

## Kirjallisuusviitteet

- Anderson, K. W., & Turko, I. V. (2015). Histone post-translational modifications in frontal cortex from human donors with Alzheimer's disease. *Clinical Proteomics*, 12(1). <https://doi.org/10.1186/S12014-015-9098-1>
- Atluri, V. S. R., Tiwari, S., Rodriguez, M., Kaushik, A., Yndart, A., Kolishetti, N., Yatham, M., & Nair, M. (2019). Inhibition of Amyloid-Beta Production, Associated Neuroinflammation, and Histone Deacetylase 2-Mediated Epigenetic Modifications Prevent Neuropathology in Alzheimer's Disease in vitro Model. *Frontiers in Aging Neuroscience*, 11. <https://doi.org/10.3389/FNAGI.2019.00342>
- Al About NM, Tupper C, Jialal I. Genetics, Epigenetic Mechanism. [Updated 2022 Aug 8]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2023 Jan. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK532999/>
- Bacalini, M. G., Gentilini, D., Boattini, A., Giampieri, E., Pirazzini, C., Giuliani, C., Fontanesi, E., Scurti, M., Remondini, D., Capri, M., Cocchi, G., Ghezzi, A., Rio, A. Del, Luiselli, D., Vitale, G., Mari, D., Castellani, G., Fraga, M., Di Blasio, A. M., ... Garagnani, P. (2015). Identification of a DNA methylation signature in blood cells from persons with Down Syndrome. *Aging*, 7(2), 82–96. <https://doi.org/10.18632/AGING.100715>
- Bannister, A. J., & Kouzarides, T. (2011). Regulation of chromatin by histone modifications. *Cell Research*, 21(3), 381. <https://doi.org/10.1038/CR.2011.22>
- Barrachina, M., & Ferrer, I. (2009). DNA methylation of Alzheimer disease and tauopathy-related genes in postmortem brain. *Journal of Neuropathology and Experimental Neurology*, 68(8), 880–891. <https://doi.org/10.1097/NEN.0B013E3181AF2E46>
- Bernstein, B. E., Meissner, A., & Lander, E. S. (2007). The Mammalian Epigenome. *Cell*, 128(4), 669–681. <https://doi.org/10.1016/J.CELL.2007.01.033>
- Boissonneault V, Plante I, Rivest S, Provost P. MicroRNA-298 and microRNA-328 regulate expression of mouse beta-amyloid precursor protein-converting enzyme 1. *J Biol Chem*. 2009 Jan 23;284(4):1971-81. doi: 10.1074/jbc.M807530200. Epub 2008 Nov 5. PMID: 18986979; PMCID: PMC2908704. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18986979/>
- Cao, J., & Yan, Q. (2012). Histone Ubiquitination and Deubiquitination in Transcription, DNA Damage Response, and Cancer. *Frontiers in Oncology*, 2(MAR). <https://doi.org/10.3389/FONC.2012.00026>
- Chaput, D., Kirouac, L., Stevens, S. M., & Padmanabhan, J. (2016). Potential role of PCTAIRE-2, PCTAIRE-3 and P-Histone H4 in amyloid precursor protein-dependent Alzheimer pathology. *Oncotarget*, 7(8), 8481–8497. <https://doi.org/10.18632/ONCOTARGET.7380>

- Chen, Y. A., Lu, C. H., Ke, C. C., Chiu, S. J., Chang, C. W., Yang, B. H., Gelovani, J. G., & Liu, R. S. (2021). Evaluation of Class IIa Histone Deacetylases Expression and In Vivo Epigenetic Imaging in a Transgenic Mouse Model of Alzheimer's Disease. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(16). <https://doi.org/10.3390/IJMS22168633>
- Ciarlo, E., Massone, S., Penna, I., Nizzari, M., Gigoni, A., Dieci, G., Russo, C., Florio, T., Cancedda, R., & Pagano, A. (2013). An intronic ncRNA-dependent regulation of SORL1 expression affecting A $\beta$  formation is upregulated in post-mortem Alzheimer's disease brain samples. *Disease Models & Mechanisms*, 6(2), 424–433. <https://doi.org/10.1242/DMM.009761>
- Coppieters N, Dragunow M. Epigenetics in Alzheimer's disease: a focus on DNA modifications. *Curr Pharm Des.* 2011;17(31):3398-412. doi: 10.2174/138161211798072544. PMID: 21902668. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21902668/>
- Coronel, R., Bernabeu-Zornoza, A., Palmer, C., Muñiz-Moreno, M., Zambrano, A., Cano, E., & Liste, I. (2018). Role of Amyloid Precursor Protein (APP) and Its Derivatives in the Biology and Cell Fate Specification of Neural Stem Cells. *Molecular Neurobiology* 2018 55:9, 55(9), 7107–7117. <https://doi.org/10.1007/S12035-018-0914-2>
- De Jager, P. L., Srivastava, G., Lunnon, K., Burgess, J., Schalkwyk, L. C., Yu, L., Eaton, M. L., Keenan, B. T., Ernst, J., McCabe, C., Tang, A., Raj, T., Replogle, J., Brodeur, W., Gabriel, S., Chai, H. S., Younkin, C., Younkin, S. G., Zou, F., ... Bennett, D. A. (2014). Alzheimer's disease: early alterations in brain DNA methylation at ANK1, BIN1, RHBDF2 and other loci. *Nature Publishing Group*, 17(9). <https://doi.org/10.1038/nm.3786>
- Delgado-Morales, R., Agís-Balboa, R. C., Esteller, M., & Berdasco, M. (2017). Epigenetic mechanisms during ageing and neurogenesis as novel therapeutic avenues in human brain disorders. *Clinical Epigenetics*, 9(1). <https://doi.org/10.1186/S13148-017-0365-Z>
- Dunckley, T., Beach, T. G., Ramsey, K. E., Grover, A., Mastroeni, D., Walker, D. G., LaFleur, B. J., Coon, K. D., Brown, K. M., Caselli, R., Kukull, W., Higdon, R., McKeel, D., Morris, J. C., Hulette, C., Schmechel, D., Reiman, E. M., Rogers, J., & Stephan, D. A. (2006). Gene expression correlates of neurofibrillary tangles in Alzheimer's disease. *Neurobiology of Aging*, 27(10), 1359–1371. <https://doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2005.08.013>
- Frías-Lasserre, D., & Villagra, C. A. (2017). The Importance of ncRNAs as Epigenetic Mechanisms in Phenotypic Variation and Organic Evolution. *Frontiers in Microbiology*, 8(DEC). <https://doi.org/10.3389/FMICB.2017.02483>

- Gao, X., Chen, Q., Yao, H., Tan, J., Liu, Z., Zhou, Y., & Zou, Z. (2022). Epigenetics in Alzheimer's Disease. *Frontiers in Aging Neuroscience*, *14*, 911635. <https://doi.org/10.3389/fnagi.2022.911635>
- Globisch, D., Münzel, M., Müller, M., Michalakakis, S., Wagner, M., Koch, S., Brückl, T., Biel, M., & Carell, T. (2010). Tissue distribution of 5-hydroxymethylcytosine and search for active demethylation intermediates. *PloS One*, *5*(12). <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0015367>
- Gupta, S., Kim, S. Y., Artis, S., Molfese, D. L., Schumacher, A., Sweatt, J. D., Paylor, R. E., & Lubin, F. D. (2010). *Histone Methylation Regulates Memory Formation*. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3732-09.2010>
- Habibi, E., Masoudi-Nejad, A., Abdolmaleky, H. M., & Haggarty, S. J. (2011). Emerging roles of epigenetic mechanisms in Parkinson's disease. *Functional & Integrative Genomics*, *11*(4), 523–537. <https://doi.org/10.1007/S10142-011-0246-Z>
- Hajjo, R., Sabbah, D. A., Abusara, O. H., & Al Bawab, A. Q. (2022). A Review of the Recent Advances in Alzheimer's Disease Research and the Utilization of Network Biology Approaches for Prioritizing Diagnostics and Therapeutics. *Diagnostics (Basel, Switzerland)*, *12*(12). <https://doi.org/10.3390/diagnostics12122975>
- Hanseeuw BJ, Betensky RA, Jacobs HIL, et al. Association of Amyloid and Tau With Cognition in Preclinical Alzheimer Disease: A Longitudinal Study. *JAMA Neurol*. 2019;76(8):915–924. <https://doi:10.1001/jamaneurol.2019.1424>
- Idda, M. L., Munk, R., Abdelmohsen, K., & Gorospe, M. (2018). Noncoding RNAs in Alzheimer's Disease. *Wiley Interdisciplinary Reviews. RNA*, *9*(2). <https://doi.org/10.1002/WRNA.1463>
- Iwata, A., Nagata, K., Hatsuta, H., Takuma, H., Bundo, M., Iwamoto, K., Tamaoka, A., Murayama, S., Saido, T., & Tsuji, S. (2014). Altered CpG methylation in sporadic alzheimer's disease is associated with APP and MAPT dysregulation. *Human Molecular Genetics*, *23*(3), 648–656. <https://doi.org/10.1093/hmg/ddt451>
- Jeon Y, Sarma K, Lee JT. New and Xisting regulatory mechanisms of X chromosome inactivation. *Curr Opin Genet Dev*. 2012 Apr;22(2):62-71. doi: 10.1016/j.gde.2012.02.007. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22424802/>
- Jones, P. A. (2012). Functions of DNA methylation: islands, start sites, gene bodies and beyond. *Nature Reviews. Genetics*, *13*(7), 484–492. <https://doi.org/10.1038/NRG3230>
- Juva, K. (10.8.2021). Alzheimerin tauti. Lääkärikirja Duodecim. <https://www.terveyskirjasto.fi/dlk00699/alzheimerin-tauti?q=alzheimer>

- Kang, M. J., Abdelmohsen, K., Hutchison, E. R., Mitchell, S. J., Grammatikakis, I., Guo, R., Noh, J. H., Martindale, J. L., Yang, X., Lee, E. K., Faghihi, M. A., Wahlestedt, C., Troncoso, J. C., Pletnikova, O., Perrone-Bizzozero, N., Resnick, S. M., deCabo, R., Mattson, M. P., & Gorospe, M. (2014). HuD regulates coding and noncoding RNA to induce APP→A $\beta$  processing. *Cell Reports*, 7(5), 1401–1409. <https://doi.org/10.1016/J.CELREP.2014.04.050>
- Klein, H. U., McCabe, C., Gjonneska, E., Sullivan, S. E., Kaskow, B. J., Tang, A., Smith, R. V., Xu, J., Pfenning, A. R., Bernstein, B. E., Meissner, A., Schneider, J. A., Mostafavi, S., Tsai, L. H., Young-Pearse, T. L., Bennett, D. A., & De Jager, P. L. (2019). Epigenome-wide study uncovers large-scale changes in histone acetylation driven by tau pathology in the aging and Alzheimer human brain. *Nature Neuroscience*, 22(1), 37. <https://doi.org/10.1038/S41593-018-0291-1>
- Knopman, D.S., Amieva, H., Petersen, R. C., Ch  telat, G., Holtzman, D. M., Hyman, B. T., Nixon, R. A., & Jones, D. T. (2021). Alzheimer disease. *Nat Rev Dis Primers* 7, 33. <https://doi.org/10.1038/s41572-021-00269-y>
- Lambert, J. C., Ibrahim-Verbaas, C. A., Harold, D., Naj, A. C., Sims, R., Bellenguez, C., Jun, G., DeStefano, A. L., Bis, J. C., Beecham, G. W., Grenier-Boley, B., Russo, G., Thornton-Wells, T. A., Jones, N., Smith, A. V., Chouraki, V., Thomas, C., Ikram, M. A., Zelenika, D., ... Seshadri, S. (2013). Meta-analysis of 74,046 individuals identifies 11 new susceptibility loci for Alzheimer’s disease. *Nature Genetics*, 45(12), 1452–1458. <https://doi.org/10.1038/NG.2802>
- Lan Z, Chen Y, Jin J, Xu Y, Zhu X. Long Non-coding RNA: Insight Into Mechanisms of Alzheimer's Disease. *Front Mol Neurosci*. 2022 Jan 14;14:821002. doi: 10.3389/fnmol.2021.821002. PMID: 35095418; PMCID: PMC8795976. [https://www-ncbi-nlm-nih-gov.p124152.oulu.fi:9443/pmc/articles/PMC8795976/](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8795976/)
- Lardenoije, R., Iatrou, A., Kenis, G., Kompotis, K., Steinbusch, H. W. M., Mastroeni, D., Coleman, P., Lemere, C. A., Hof, P. R., van den Hove, D. L. A., & Rutten, B. P. F. (2015). The epigenetics of aging and neurodegeneration. *Progress in Neurobiology*, 131, 21. <https://doi.org/10.1016/J.PNEUROBIO.2015.05.002>
- Lashley, T., Gami, P., Valizadeh, N., Li, A., Revesz, T., & Balazs, R. (2015). Alterations in global DNA methylation and hydroxymethylation are not detected in Alzheimer’s disease. *Neuropathology and Applied Neurobiology*, 41(4), 497–506. <https://doi.org/10.1111/NAN.12183>
- Lee DY, Moon J, Lee ST, Jung KH, Park DK, Yoo JS, Sunwoo JS, Byun JI, Shin JW, Jeon D, Jung KY, Kim M, Lee SK, Chu K. Distinct Expression of Long Non-Coding RNAs in an Alzheimer's Disease Model. *J Alzheimers Dis*. 2015;45(3):837-49. doi: 10.3233/JAD-142919. PMID: 25624420. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25624420/>

- Lee, M. Y., Lee, | Junghee, Seung, |, Hyeon, J., Cho, H., Yu, |, Hwang, J., Shin, J.-Y., Mckee, A. C., Kowall, N. W., Kim, J.-I., Stein, T. D., Hwang, D., & Ryu, H. (2020). ORIGINAL PAPER Epigenome signatures landscaped by histone H3K9me3 are associated with the synaptic dysfunction in Alzheimer's disease. *Aging Cell*, 19. <https://doi.org/10.1111/accel.13153>
- Lovrei, L., Maver, A., Zadel, M., & Peterli, B. (2013). The role of epigenetics in neurodegenerative diseases. *Neurodegener Dis*. <https://doi.org/10.5772/54744>
- Lukiw WJ. Circular RNA (circRNA) in Alzheimer's disease (AD). *Front Genet*. 2013 Dec 31;4:307. doi: 10.3389/fgene.2013.00307. PMID: 24427167; PMCID: PMC3875874.
- Lunnon, K., Smith, R., Hannon, E., De Jager, P. L., Srivastava, G., Volta, M., Troakes, C., Al-Sarraj, S., Burrage, J., Macdonald, R., Condliffe, D., Harries, L. W., Katsel, P., Haroutunian, V., Kaminsky, Z., Joachim, C., Powell, J., Lovestone, S., Bennett, D. A., ... Mill, J. (2014). Methylomic profiling implicates cortical deregulation of ANK1 in Alzheimer's disease. *Nature Publishing Group*, 17(9). <https://doi.org/10.1038/nn.3782>
- Mastroeni, D., Grover, A., Delvaux, E., Whiteside, C., Coleman, P. D., & Rogers, J. (2011). *Epigenetics Mechanisms in Alzheimer's disease*. <https://doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2010.08.017>
- Mastroeni, D., Grover, A., Delvaux, E., Whiteside, C., Coleman, P. D., Rogers, J., & Roberts, L. J. (2008). *Epigenetic changes in Alzheimer's disease: decrements in DNA methylation*. <https://doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2008.12.005>
- Mastroeni, D., McKee, A., Grover, A., Rogers, J., & Coleman, P. D. (2009). Epigenetic differences in cortical neurons from a pair of monozygotic twins discordant for Alzheimer's disease. *PloS One*, 4(8). <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0006617>
- Mo, A., Mukamel, E. A., Davis, F. P., Luo, C., Henry, G. L., Picard, S., Urich, M. A., Nery, J. R., Sejnowski, T. J., Lister, R., Eddy, S. R., Ecker, J. R., & Nathans, J. (2015). Epigenomic Signatures of Neuronal Diversity in the Mammalian Brain. *Neuron*, 86(6), 1369–1384. <https://doi.org/10.1016/J.NEURON.2015.05.018>
- Modarresi, F., Faghihi, M. A., Lopez-Toledano, M. A., Fatemi, R. P., Magistri, M., Brothers, S. P., Van Der Brug, M. P., & Wahlestedt, C. (2012). Inhibition of natural antisense transcripts in vivo results in gene-specific transcriptional upregulation. *Nature Biotechnology*, 30(5), 453–459. <https://doi.org/10.1038/NBT.2158>
- Moore, L. D., Le, T., & Fan, G. (2012). DNA Methylation and Its Basic Function. *Neuropsychopharmacology* 2013 38:1, 38(1), 23–38. <https://doi.org/10.1038/npp.2012.112>

- Morrissy, A. S., Griffith, M., & Marra, M. A. (2011). Extensive relationship between antisense transcription and alternative splicing in the human genome. *Genome Research*, 21(8), 1203–1212. <https://doi.org/10.1101/GR.113431.110>
- National human genome research institute [NIH]. (16.8.2020). Epigenomics fact sheet. <https://www.genome.gov/about-genomics/fact-sheets/Epigenomics-Fact-Sheet>
- Nativio, R., Donahue, G., Berson, A., Lan, Y., Amlie-Wolf, A., Tuzer, F., Toledo, J. B., Gosai, S. J., Gregory, B. D., Torres, C., Trojanowski, J. Q., Wang, L. S., Johnson, F. B., Bonini, N. M., & Berger, S. L. (2018). Publisher Correction: Dysregulation of the epigenetic landscape of normal aging in Alzheimer's disease (Nature Neuroscience, (2018), 21, 4, (497-505), 10.1038/s41593-018-0101-9). *Nature Neuroscience*, 21(7), 1018. <https://doi.org/10.1038/s41593-018-0124-2>
- Ogawa, O., Zhu, X., Lee, H. G., Raina, A., Obrenovich, M. E., Bowser, R., Ghanbari, H. A., Castellani, R. J., Perry, G., & Smith, M. A. (2003). Ectopic localization of phosphorylated histone H3 in Alzheimer's disease: A mitotic catastrophe? *Acta Neuropathologica*, 105(5), 524–528. <https://doi.org/10.1007/S00401-003-0684-3>
- Phipps, A. J., Vickers, J. C., Taberlay, P. C., & Woodhouse, A. (2016). Neurofilament-labeled pyramidal neurons and astrocytes are deficient in DNA methylation marks in Alzheimer's disease. *Neurobiology of Aging*, 45, 30–42. <https://doi.org/10.1016/J.NEUROBIOLAGING.2016.05.003>
- Pierouli, K., Papakonstantinou, E., Papageorgiou, L., Diakou, I., Mitsis, T., Dragoumani, K., Spandidos, D. A., Bacopoulou, F., Chrousos, G. P., Goulielmos, G., Eliopoulos, E., & Vlachakis, D. (2023). Role of non-coding RNAs as biomarkers and the application of omics technologies in Alzheimer's disease (Review). *International Journal of Molecular Medicine*, 51(1). <https://doi.org/10.3892/ijmm.2022.5208>
- Research; I, S. A. C. (2010). *Developmental regulation and individual differences of neuronal H3K4me3 epigenomes in the prefrontal cortex*. 107(19). <https://doi.org/10.1073/pnas.1001702107>
- Roubroeks, J. A. Y., Smith, R. G., van den Hove, D. L. A., & Lunnon, K. (2017). Epigenetics and DNA methylomic profiling in Alzheimer's disease and other neurodegenerative diseases. *Journal of Neurochemistry*, 143(2), 158–170. <https://doi.org/10.1111/jnc.14148>
- Rossetto D, Avvakumov N, Côté J. Histone phosphorylation: a chromatin modification involved in diverse nuclear events. *Epigenetics*. 2012 Oct;7(10):1098-108. doi: 10.4161/epi.21975
- Roy J, Sarkar A, Parida S, Ghosh Z, Mallick B. Small RNA sequencing revealed dysregulated piRNAs in Alzheimer's disease and their probable role in pathogenesis. *Mol Biosyst*. 2017



Feb 28;13(3):565-576. doi: 10.1039/c6mb00699j. PMID: 28127595.  
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28127595/>

Schübeler, D. (2015). Function and information content of DNA methylation. *Nature*, 517(7534), 321–326. <https://doi.org/10.1038/NATURE14192>

Semick, S. A., Bharadwaj, R. A., Collado-Torres, L., Tao, R., Joo, ·, Shin, H., Deep-Soboslay, A., Weiss, J. R., Weinberger, D. R., Thomas, ·, Hyde, M., Kleinman, J. E., Jaffe, A. E., & Mattay, V. S. (1966). Integrated DNA methylation and gene expression profiling across multiple brain regions implicate novel genes in Alzheimer's disease. *Acta Neuropathologica*, 137, 557–569. <https://doi.org/10.1007/s00401-019-01966-5>

Shu, L., Sun, W., Li, L., Xu, Z., Lin, L., Xie, P., Shen, H., Huang, L., Xu, Q., Jin, P., & Li, X. (2016). Genome-wide alteration of 5-hydroxymethylcytosine in a mouse model of Alzheimer's disease. *BMC Genomics*, 17(1). <https://doi.org/10.1186/S12864-016-2731-1>

Siegmund, K. D., Connor, C. M., Campan, M., Long, T. L., Weisenberger, D. J., Biniszkiwicz, D., Jaenisch, R., Laird, P. W., & Akbarian, S. (2007). DNA methylation in the human cerebral cortex is dynamically regulated throughout the life span and involves differentiated neurons. *PloS One*, 2(9). <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0000895>

Smith RG, Hannon E, De Jager PL, Chibnik L, Lott SJ, Condliffe D, Smith AR, Haroutunian V, Troakes C, Al-Sarraj S, Bennett DA, Powell J, Lovestone S, Schalkwyk L, Mill J, Lunnon K. Elevated DNA methylation across a 48-kb region spanning the HOXA gene cluster is associated with Alzheimer's disease neuropathology. *Alzheimers Dement*. 2018 Dec;14(12):1580-1588. doi: 10.1016/j.jalz.2018.01.017. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6438205/>

Tang G. siRNA and miRNA: an insight into RISCs. *Trends Biochem Sci*. 2005 Feb;30(2):106-14. doi: 10.1016/j.tibs.2004.12.007. PMID: 15691656. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15691656/>

Vanninen, R., Mäntylä, R., Salonen, O., Valanne, L., Rinne, J., ja Erkinjuntti, T. (2011). Muistipotilaan aivojen kuvantaminen. Lääketieteen aikakauskirja Duodecim. <https://www.duodecimlehti.fi/duo99969>

Wood, H. (2014). AD-susceptible brain regions exhibit altered DNA methylation. *Nature Reviews Neurology*, 10(10), 548. <https://doi.org/10.1038/nrneurol.2014.164>

Wu, T., Wang, T., Seetin, M. et al. (2016). DNA methylation on N6-adenine in mammalian embryonic stem cells. *Nature* 532, 329–333. <https://doi.org/10.1038/nature17640>

- Yao, Q., Chen, Y., & Zhou, X. (2019). The roles of microRNAs in epigenetic regulation. *Current Opinion in Chemical Biology*, 51, 11–17. <https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2019.01.024>
- Yokoyama, A. S., Rutledge, J. C., & Medici, V. (2017). DNA methylation alterations in Alzheimer's disease. *Environmental Epigenetics*, 3(2). <https://doi.org/10.1093/EEP/DVX008>
- Yu, L., Chibnik, L. B., Srivastava, G. P., Pochet, N., Yang, J., Xu, J., Kozubek, J., Obholzer, N., Leurgans, S. E., Schneider, J. A., Meissner, A., De Jager, P. L., & Bennett, D. A. (2015). Association of Brain DNA Methylation in SORL1, ABCA7, HLA-DRB5, SLC24A4, and BIN1 With Pathological Diagnosis of Alzheimer Disease. *JAMA Neurology*, 72(1), 15–24. <https://doi.org/10.1001/jamaneurol.2014.3049>
- Zhao, J., & Huai, J. (2023). Role of primary aging hallmarks in Alzheimer's disease. *Theranostics*, 13(1), 197–230. <https://doi.org/10.7150/THNO.79535>