



Kandidaatintutkielma

Prioniproteiini & sporadinen Creutzfeldt-Jakobin tauti

Susanna Harju

Sisällysluettelo

Käytetyt lyhenteet

Sisällys

| | |
|---|----|
| 1. Johdanto prionitauteihin | 1 |
| 2. Keskushermosto, hermosolut ja sähkökemiallinen viestintä | 2 |
| 2.1. Neuronit | 3 |
| 2.2. Gliasolut | 4 |
| 3. Prionit | 5 |
| 3.1. Prionin määritelmä | 5 |
| 3.2. PrP ^C | 5 |
| 3.2.1. Rakenne ja synteesi | 6 |
| 3.2.2. Rooli solun normaalissa toiminnassa | 7 |
| 3.3. PrP ^{Sc} | 8 |
| 3.3.1. Rakenne | 8 |
| 3.3.2. Synteesi | 10 |
| 3.3.3. Neurotoksisuus | 11 |
| 4. Creutzfeldt-Jakobin tauti ja sen sporadinen muoto | 13 |
| 4.1. Taudin löytö | 13 |
| 4.2. Creutzfeldt-Jakobin taudin eri tautimuodot | 13 |
| 4.2.1. Geneettinen/familiaalinen | 14 |
| 4.2.2. Hankittu | 14 |
| 4.2.3. Variantti | 15 |
| 4.2.4. Sporadinen | 15 |
| 4.3. Taudinkuva | 17 |
| 4.3.1. Epidemiologia | 17 |
| 4.4. Diagnostiikka | 17 |
| 4.4.1. Histopatologia | 18 |
| 4.5. Taudin hoito | 18 |
| 5. Prionitautien hoidon tulevaisuuden näkymät | 18 |
| 6. Kirjallisuusviitteet | 20 |

Käytetyt lyhenteet

| | |
|----------------------|--|
| 4RβS | neliportainen β-solenoidi (4 rung β-solenoid) |
| AD | Alzheimerin tauti (Alzheimer's disease) |
| Aβ | β-amyloidi (β-amyloid) |
| ALS | Amyotrofinen lateraaliskleroosi (Amyotrophic lateral sclerosis) |
| AMPA-reseptori | AMPA-molekyylin reseptori (α-amino-3-hydroksi-5-metyyli-4-isoksatsolipropionihappo) |
| CJD | Creutzfeldt-Jakobin tauti (Creutzfeldt-Jacob's disease) |
| EEG | Elektroenkelfalografia (Electroencephalography) |
| F-aktiini | Polymerisoitunut aktiini (filamentous actin) |
| FTD | Frontotemporaalinen dementia (Frontotemporal dementia) |
| GlcNAc | N-asetyyli-glukosamiini (N-Acetylglucosamine) |
| GluR1 | Ionotropinen glutamaatti reseptori (ionotropic glutamate receptor) |
| GPI | Glycosyyli-fosfatidyli-inositoli (glycosylphosphatidylinositol) |
| mEPSC | miniatyyrinen eksitatorinen postsynaptinen potentiaali (miniature excitatory postsynaptic potential) |
| MRI | Magneettikuvaus (magnetic resonance imaging) |
| Neu5Ac | N-asetyylineuramiinihappo (N-Acetylneuraminic acid) |
| Neu5Gc | N-glykolylineuramiinihappo (N-Glycolylneuraminic acid) |
| NMDA-reseptori | NMDA-molekyylin reseptori (N-methyl-D-aspartate) |
| OHT | 4-hydroksitamoxifeeni (4-hydroxytamoxifen) |
| PD | Parkinsonin tauti (Parkinson's Disease) |
| <i>Prnp</i> | Prioniproteiinia koodaava geeni |
| PrP ²⁷⁻³⁰ | PrP-molekyyli ilman GPI-ankkuria |
| PrP ^C | Prioniproteiinin oikein laskostunut muoto (Prion-related protein cellular) |
| PrP ^{Sc} | Prioniproteiinin väärin laskostunut muoto, prioni (Prion-related protein scrapie) |
| PSWC | Periodical Sharp Wave Complex |
| RT-QuIC | Real-Time quaking-induced conversion |

SiR-aktiini

Silikoonirodamiini-aktiini (Silicon-Rhodamine-actin)

TAM

Tamoxifeeni (Tamoxifen)

TSE

Tarttuva spongiforminen enkefalopatia, prionitauti (transmissible spongiform encephalopathy)

1. Johdanto prionitauteihin

Proteiinien oikein laskostuminen on solujen normaalin toiminnan kannalta välttämätöntä. Proteiinit palvelevat useita eri tarkoituksia solujen sisäisessä ja keskinäisessä koneistossa. Näihin tarkoituksiin lukeutuvat mm. entsyymaattisten reaktioiden katalysointi, molekyylien kuljetuksen säätely solun kalvostojen läpi sekä solusignaalointiin osallistuminen. Proteiinin kolmiulotteinen muoto on erittäin tärkeä sen toiminnalle ja virheet peptidiketjun aminohappojärjestyksessä tai ketjun laskostumisessa voivat aiheuttaa ongelmia. Solut ovatkin kehittäneet tarkan koneiston valvomaan sekä solun koko proteomin toimintaa, että yksittäisten proteiinien translaatiota ja niiden muokkaamista toimiviksi proteiineiksi välttääkseen virheellisten proteiinien aiheuttamia ongelmia.

Solujen proteostaasin säätelyn tehokkuus kuitenkin laskee iän myötä ja esimerkiksi aivojen vanhimpien neuronien kyky hillitä väärin laskostuneiden proteiinien aiheuttamia ongelmia heikkenee (Sprunger & Jackrel 2021). Näin väärin laskostuneiden proteiinien oligomeerit voivat kertyä tarkoin järjestäytyneiksi aggregaateiksi aivoihin muodostaen esimerkiksi amyloidiplakkeja (Verma 2016, Sprunger & Jacker 2021). Tästä syystä monet neurodegeneratiiviset sairaudet kuten Alzheimerin tauti, amyotrofinen lateraaliskleroosi (ALS), Parkinsonin tauti (PD) ja frontotemporaalinen dementia (FTD) ovat yleisempiä vanhemman populaation kuin nuorempien keskuudessa (Verma 2016, Sprunger & Jacker 2021).

Prionitaudit tai toiselta nimeltään tarttuvat spongiformiset enkelfalopatit (TSE) ovat ryhmä neurodegeneratiivisia tauteja, jotka esiintyvät sekä sporadisessa, periytyvässä että hankitussa muodossa (Ma & Wang 2014). Kaikkia näitä muotoja karakterisoi keskushermoston terveissäkin soluissa esiintyvän PrP^C-proteiinin virheellisesti laskostuneen amyloidogeenisen isoformin, PrP^{Sc}-proteiinin, kertyminen aivoihin. PrP^{Sc}-proteiinilla, tai niin kutsutulla prionilla (”proteinaceous infectious particle”), on kyky indusoida terveen PrP^C-proteiinin konversio virheellisesti laskostuneeseen muotoonsa. Tämä piirre tekeekin tautiryhmästä poikkeuksellisen, sillä ryhmän taudit tarttuvat yksinomaan proteiinin, eli prionin, välityksellä poiketen muista tarttuvista taudeista, jotka usein vaativat esimerkiksi viruksen pääsyn organismiin (Matthews et al. 2013, Ma & Wang 2014).

Neurodegeneratiivisina tauteina prionitaudit jakavat taudinkuvansa puolesta monia samanlaisuuksia esimerkiksi Alzheimerin taudin kanssa. Prionitautien taudinkuvaan kuuluvatkin mm. amyloidiplakkien kertyminen aivoihin sekä neurologiset oireet kuten muistiongelmät (Li et al. 2021, Sitammagari & Masood 2021).

Ihmisten prionitauteihin lukeutuvat mm. Gerstmann-Sträussler-Scheinker-syndrooma, Papua New Guineasta löydetty kuru, fataali familiaalinen insomni ja Creutzfeldt-Jacobin tauti (CJD) (Verma 2016). Ihmisillä ylivoimaisesti yleisin tavattava prionitauti on Creutzfeldt-Jacobin taudin sporadinen muoto, mutta sekin on itsessään hyvin harvinainen ja vain 1-2 henkilöä per miljoona sairastuu tautiin vuosittain (Sitammagari & Masood 2021).

Prionitauteja esiintyy myös esimerkiksi nautakarjan keskuudessa niin kutsuttuna hullun lehmän tautina (BSE) sekä lampaissa että vuohissa esiintyvänä skrapina (Verma 2016, Li et al. 2021). Prionitauteja esiintyy myös peurojen ja hirvien keskuudessa kroonisena uupumussairautena (chronic wasting disease), kissoilla feline spongiformisena enkelopatia ja minkeillä tarttuvana minkki enkelopatia. Hullun lehmän taudilla esiintyy myös zoonoottista potentiaalia (Verma 2016, Krance et al. 2020).

Prionitauteihin ei ole parannuskeinoa ja tauti johtaa aina lopulta kuolemaan. Esimerkiksi Creutzfeldt-Jacobin tautiin sairastuvista 70% kuolee vuoden sisään sairastumisesta (Sitammagari & Masood 2021).

2. Keskushermosto, hermosolut ja sähkökemiallinen viestintä

Kehon kaikkea toimintaa säädellään hermoston avulla. Selkärankaisilla se voidaan jakaa kahteen eri osaan: keskushermostoon ja ääreishermostoon. Jako on karkea, sillä keskushermosto kattaa aivojen ja selkäytimen hermosolut eli neuronit ja gliasolut kun taas ääreishermostoon lukeutuvat aivojen ja selkäytimen ulkopuoliset neuronit ja gliasolut (Lodish et al. 2000).

Keskushermosto on mahdollista jakaa yhä vielä neljään osaan, joista jokainen palvelee omaa tärkeää tarkoitustaan. Nämä osat ovat selkäydin, aivorunko, pikkuaivot ja aivot. Selkäytimen päätehtävänä on toimia viestinvälityksen kanavana kehon ja aivojen sensorisille ja motorisille viesteille. Aivorunko sen sijaan toimii tärkeänä tekijänä hengityksen ja verenpaineen säätelyssä. Pikkuaivot huolehtivat motoristen liikkeiden säätelystä ja aivojen tärkeisiin tehtäviin lukeutuvat mm. välitettyjen viestien tulkinta, kielen ymmärtäminen ja oppiminen (Lodish et al. 2000).

Keskushermoston solutyyppeihin kuuluvat sekä neuronit että gliasolut. Kumpikin solutyyppeistä kykenee omaksumaan ja erilaistumaan riippuen sijainnistaan keskushermostossa hoitaakseen osa-alueensa tärkeitä tehtäviä. Tästä huolimatta suurin eroavaisuus keskushermoston eri osa-alueiden välillä ei löydy erilaistuneista soluista vaan yhteyksistä niiden välillä (Lodish et al. 2000).

2.2. Neuronit

Hermosolujen eli neuronien tärkein tehtävä on välittää ja vastaanottaa muiden neuronien lähettämää informaatiota sähkökemiallisten signaalien muodossa (Lodish et al. 2000).

Neuronit ovat erikoistuneet sijainnistaan riippuen välittämään informaatiota erilaisten ärsykkeiden pohjalta. Esimerkiksi sensoriset neuronit ovat erikoistuneet vastaanottamaan ulkoisten ärsykkeiden, kuten valon tai hajujen, aiheuttamia vasteita ja lähettämään niitä sähköisen impulssin eli aktiopotentiaalin muodossa eteenpäin aivoille. Aktiopotentiaali on nopea, hetkellinen muutos solukalvon lepopotentiaalissa. Muutos aiheutuu solukalvon Na^+ - ja K^+ -ionikanavien aukeamisesta. Ionikanavat voivat avautua esimerkiksi, kun kemiallinen signaali eli välittäjäaine stimuloi postsynaptista solua ja sitoutuu reseptoriin aiheuttaen solukalvolla paikallisen depolarisaation. Neuronin sisällä viesti kulkee dendriitistä aksonin solukalvoa pitkin kohti synapsia, jossa sähköinen impulssi muutetaan kemialliseksi signaaliksi (Lodish et al. 2000).

Neuronien lepopotentiaali vaihtelee noin -60 mV:sta noin -90 mV:iin. Solukalvon depolarisaation eli aktiopotentiaalin aikana lukema saattaa nousta jopa +50 mV:iin (Lodish et al. 2000).

Kemiallinen signaali välitetään synapsissa, joka on neuronien dendriittien ja aksonien välinen tila. Välittäjäaine pakataan aksoneissa synaptisiin vesikkeleihin, jotka diffuusioituvat synapsin lävitse ja lopulta sitoutuvat neuronien dendriittien reseptoreihin aikaansaaden välittäjäaineen vapautumisen ja neuronien ionikanavien aukeamisen. Näin kemiallinen signaali muutetaan takaisin aktiopotentialiksi ja viestin välitys voi jatkua (Lodish et al. 2000).

Erilaistumisestaan huolimatta kaikki neuronityypit jakavat keskenään yhteneväisiä tekijöitä. Neuronit ovat pitkiä, asymmetrisiä soluja, jotka omaavat tarkkaan erikoistuneita organelleja ja tarkkaan sijoitettuja proteiineja. Erityisimmät näistä proteiineista kontrolloivat ionien virtausta plasmamembraanin lävitse. Neuronien tuma sijoittuu niin kutsuttuun soomaan eli neuronin runkosaan. Neuronien tuojahaarakkeita kutsutaan dendriiteiksi ja ne ovat vastuussa vasteen vastaanottamisesta. Aksonit eli viejähaarakkeet sen sijaan välittävät vasteen eteenpäin. Neuronit ovat kiinnittyneitä joko toisiinsa tai lihaksiin tuojahaarakkeiden päätteiden kautta (Lodish et al. 2000).

Neuronit muodostavat yhdessä gliasolujen kanssa monimutkaisia verkostoja: yksittäinen neuroni voi olla yhteyksissä jopa 10 000 muun neuronin kanssa. Yhteyksien tarvetta selittää mm. tarve kontrolloida viestien välitystä ja neuroni välittääkin viestin eteenpäin vain, jos se saa yhtenäisen vasteen useammalta eri neuronilta (Lodish et al. 2000).

2.3. Gliasolut

Toinen tärkeä hermoston solutyypit ovat gliasolut, jotka neuroneista poiketen eivät välitä sähköisiä impulsseja. Gliasolut voidaan jakaa neljään eri päätyyppiin: oligodendrosyytteihin, jotka muodostavat keskushermoston neuronien aksoneja ympäröivät myeliinitupet; Schwannin soluihin, jotka hoitavat samaa tehtävää ääreishermostossa; astrosyytteihin, jotka tuottavat kasvutekijöitä neuroneille; ja keskushermoston immuunisoluihin lukeutuviin mikrogliaihin (Lodish et al. 2000).

3. Prionit

3.1. Prionin määritelmä

Prionitaudit eli tarttuvat spongiformiset enkelfalopatiat (TSE) ovat fataaleja neurodegeneratiivisia sairauksia, joita karakterisoivat keskushermoston vauriot sekä PrP^C-proteiinin virheellisesti laskostuneen isoformin, PrP^{Sc}-proteiinin eli prionin, kertyminen aivoihin amyloidifibrillien muodossa (Bradford & Mabott 2012, Verma 2016). Prionit eli tarttuvat proteiinihiukkaset toimivat TSE-tautien taudinaiheuttajina. Prioneilla on kyky indusoida terveen PrP^C:n konversio virheellisesti laskostuneeksi isoformiksi eli prioniksi (Bradford & Mabott 2012, Matthews et al. 2013, Ma & Wang 2014). Konversion tarkka mekanismi oli pitkään tuntematon, mutta Spagnolli työtovereineen (2019) onnistuivat mallintamaan konversion mahdollisen mekanismin tietokonesimulaation avulla.

Monet neurodegeneratiiviset sairaudet kuten esimerkiksi AD, PD, ALS ja FTD omaavat prionitaudeille ominaisia piirteitä. Näitä sairauksia aiheuttavia plakkiutuvia proteiineja voidaankin kutsua myös prionin kaltaisiksi proteiineiksi ("prion-like protein"). Erona näiden sairauksien ja prionitautien välillä on kuitenkin se, että niiden ei ole toistaiseksi havaittu tarttuvan yksilöstä toiseen proteiinivälitteisesti (Verma 2016).

3.2. PrP^C

PrP^C on 22.92 kDa kokoinen glykosyylifosfatidyyl-inositoli-ankkuroitu ("GPI-anchored") solupinnan glykoproteiini, jota ekspressoidaan laajasti eri kudoksissa. Eniten sitä esiintyy keskushermoston neuroneissa jo kehityksen varhaisesta vaiheesta alkaen, mutta sitä tavataan myös pienemmissä konsentraatioissa lymforetikulaarisessa kudoksessa, luustolihaksissa, sydämessä, munuaisissa, ruoansulatuskanavan soluissa, maitorauhasissa sekä endoteelikudoksessa (Verma 2016). Sekä *in vivo* että *in vitro* -tutkimukset ovat osoittaneet, että sekä PrP^C että PrP^{Sc} omaavat korkean affiniteetin kolesterolirikkailla membraanidomeeneille (Marzo et al. 2013).

PrP^C:tä koodaa *Prnp*-geeni, joka sijaitsee kromosomi 20:ssä p13-positiossa (HGNC Database 2022). PrP^C on hyvin konservoitunut nisäkkäiden keskuudessa ja sitä tavataan eri nisäkkäslajeilla ihmisten lisäksi kuten esimerkiksi lehmillä, kissoilla ja lampaila (Verma 2016).

Huolimatta PrP^C:n laajasta ekspressiosta, on sen tarkka merkitys solujen toiminnalle vielä osittain tuntematon. PrP^C:n merkitystä on yritetty selvittää mm. knock-out-tutkimusten avulla, mutta tutkimusten koe-eläimillä ei ole havaittu selkeää fenotyyppiä, mikä on tehnyt tarkan roolin määrittämisestä hankalaa. Tuoreiden tutkimusten mukaan PrP^C saattaa kuitenkin osallistua mm. transmembraaniseen signaalointiin, vaikuttaa hematopoieettisten kantasolujen replikoitumiseen ja neuronien erilaistumiseen. PrP^C on havaittu myös kykenevän sitomaan Cu²⁺-ioneja ja osallistuvan aivojen kuparimetaboliaan (Verma 2016, Onodera et al. 2020).

PrP^C:n on havaittu olevan välttämätön TSE-tautien synnylle. Useiden knock-out-tutkimusten mukaan on ilmeistä, että *Prnp*-geenin puuttuessa tai ollessa hiljennetty, ei yksilö sairastu TSE-tauteihin altistuessaan virheellisesti laskostuneelle PrP^{Sc}-proteiinille (Verma 2016).

3.2.1. Rakenne ja synteesi

PrP^C-proteiinia koodaava geeni, *Prnp*, on 16 kb pitkä geeni, joka sijaitsee kromosomi 20:n positiossa p13. Geeni koostuu kahdesta eksonista, joista eksoni 2 sisältää PrP^C-proteiinin avoimen lukukehyksen. Eksoni 1 sen sijaan on geenin ei-koodaavaa aluetta ja toimii mahdollisesti transkription aloituspaikkana (Puckett et al. 1991, Bagyinszky et al. 2018, HGNC Database 2022).

PrP^C on 22.92 kDa kokoinen proteiini, joka ennen translaation jälkeistä käsittelyä koostuu 253:sta aminohappotähteestä. Translaation jälkeisessä käsittelyssä, PrP^C:stä poistetaan ensin ensimmäiset 22 aminohappoa kattava signaaliptidi, joka merkitsee proteiinin lopulliseksi määränpääksi solupinnan membraanin. Toiminnallisesta proteiinista poistetaan sen lisäksi vielä propeptidi, joka kattaa PrP^C:n peptidiketjusta aminohappotähteet 231-253. Näin ollen toiminnalliseen proteiiniin jäävät enää jäljelle aminohappotähteet 23-230 (UniProtKB Database 2022).

Proteiinia muokataan vielä sen aminohappojen osalta seuraavista positioista: aminohappotähteiden Cys-179 ja Cys-214 välille muodostetaan disulfididisidos, tähteet Asn-181 ja Asn-197 kokevat N-sidosteisen glykosylaation ja tähte Ser-230 kokee lipiditaation. Näistä muokkauksista erityisesti N-glykaanit vaikuttavat olevan merkittäviä proteiinin toiminnalle ja patogeneesille: tutkimusten mukaan

PrP^C: ja PrP^{Sc}:n N-glykaanirakenteet poikkeavat toisistaan (Rudd et al. 1999, Capellari et al. 2000, Zahn et al. 2003, Wollscheid et al. 2009, UniProtKB Database 2022).

Eroavaisuuksia proteiinien N-glykaanirakenteissa selittää niiden suuri monimuotoisuus: PrP^C:n N-glykaaneissa on tavattu yli 400 erilaista siaaloglykoformia (Rudd et al. 1999, Nakic et al. 2021, Makarava & Baskakov 2022). Kumpikin PrP^C:n N-glykaaneista kykenee vuorovaikuttamaan ja sitoutumaan useisiin erilaisiin mono-, bi-, tetra-, tai penta-antennirakenteisiin. Nämä antennirakenteet voivat sitoa enimmillään jopa viisi negatiivisesti varautunutta terminaalista siaalihappomolekyyliä. Tämän ominaisuuden ansiosta PrP^C:n pI-arvo voi vaihdella hyvinkin paljon eri pH-arvoissa. Monista muista nisäkkäistä poiketen, ihminen kykenee syntetisoimaan vain ja ainoastaan Neu5Ac-sialihappoa, mutta ihmisen elimistö kykenee kuitenkin hyödyntämään esimerkiksi ravinnosta saatavaa Neu5Gc-sialihappoa (Makarava & Baskakov 2022).

PrP^C:n N-glykaanit ovat myös pitkälti fukosyloituja GlcNAc-tähteistään, jonka kautta glykaanit ovat sitoutuneena PrP^C:n asparagiinitähteisiin. N-glykaanien sialylaatio ja fukosylointi ovat tyypillisiä piirteitä aivojen glykaaneille (Richie et al. 2002, Makarava & Baskakov 2022).

PrP^C:n tertiäärirakenteen voi jakaa karkeasti kahteen osaan: globulaariseen domeeniin sekä vapaaseen N-terminaaliseen häntään. Globulaarinen domeeni kattaa proteiinin aminohapooista tähteet 125-228. Globulaarisesta domeenista on tunnistettavissa kolme erillistä α -heliksiä, jotka muodostuvat tähteistä 144-154, 173-194 ja 200-228. Domeeni sisältää myös anti-parallelisen β -levyn, johon lukeutuvat tähteet 128-131 ja 161-164. Globulaarisessa domeenissa on myös havaittavissa rakenteellisia poikkeamia, joihin kuuluvat tähteiden 167-171 muodostama silmukka, toisen α -heliksin tähteet 187-194 ja kolmannen α -heliksin C-terminaalisen osan tähteet 219-228. PrP^C:n vapaan N-terminaalisen hännän pituuden on huomattu vaikuttavan merkittävästi kahden edellä mainittujen α -heliksien tähteiden konformaatioon (Zahn et al. 2000).

3.2.2. Rooli solun normaalissa toiminnassa

Vaikka PrP^C:n tarkka merkitys solujen normaalin toiminnan kannalta on vielä osittain tuntematon, useat tutkimukset ovat määrittäneet sille useita mahdollisia tehtäviä. Näihin tehtäviin lukeutuvat mm.

hematopoeettisten kantasolujen replikaatiossa ja neuronien erikoistumisessa avustaminen (Onodera et al. 2020).

Kolmas hyvin tunnettu tehtävä PrP^C:llä liittyy sen ligandiin, Cu²⁺-ioniin. PrP^C:lla ajatellaan olevan funktionaalinen rooli aivojen normaalissa kupariaineenvaihdunnassa. Tutkimusten mukaan PrP^C:n yliekspressointi johtaakin lisääntyneeseen Cu²⁺-sisäänottoon. Tällä voi olla myös merkitystä TSE-tautien patogeneesiin, sillä hoito kuparikelaattori kuprisonilla on todettu johtavan prionitaudeille tyypilliseen spongiformiseen neurodegeneraatioon (Onodera et al. 2020).

Toiminnallinen PrP^C omaa korkean affiniteetin lipidirikkaille membraaneille, joilla on tärkeä rooli solusignaloinnissa (Marzo et al. 2013). Näin ollen PrP^C:llä voidaan olettaa olevan rooli myös solusignaloinnin parissa. PrP^C saattaa toimia anti-apoptoottisena tekijänä estämällä apoptoosin johtavaa signalointia (Onodera et al. 2020).

3.3. PrP^{Sc}

3.3.1. Rakenne

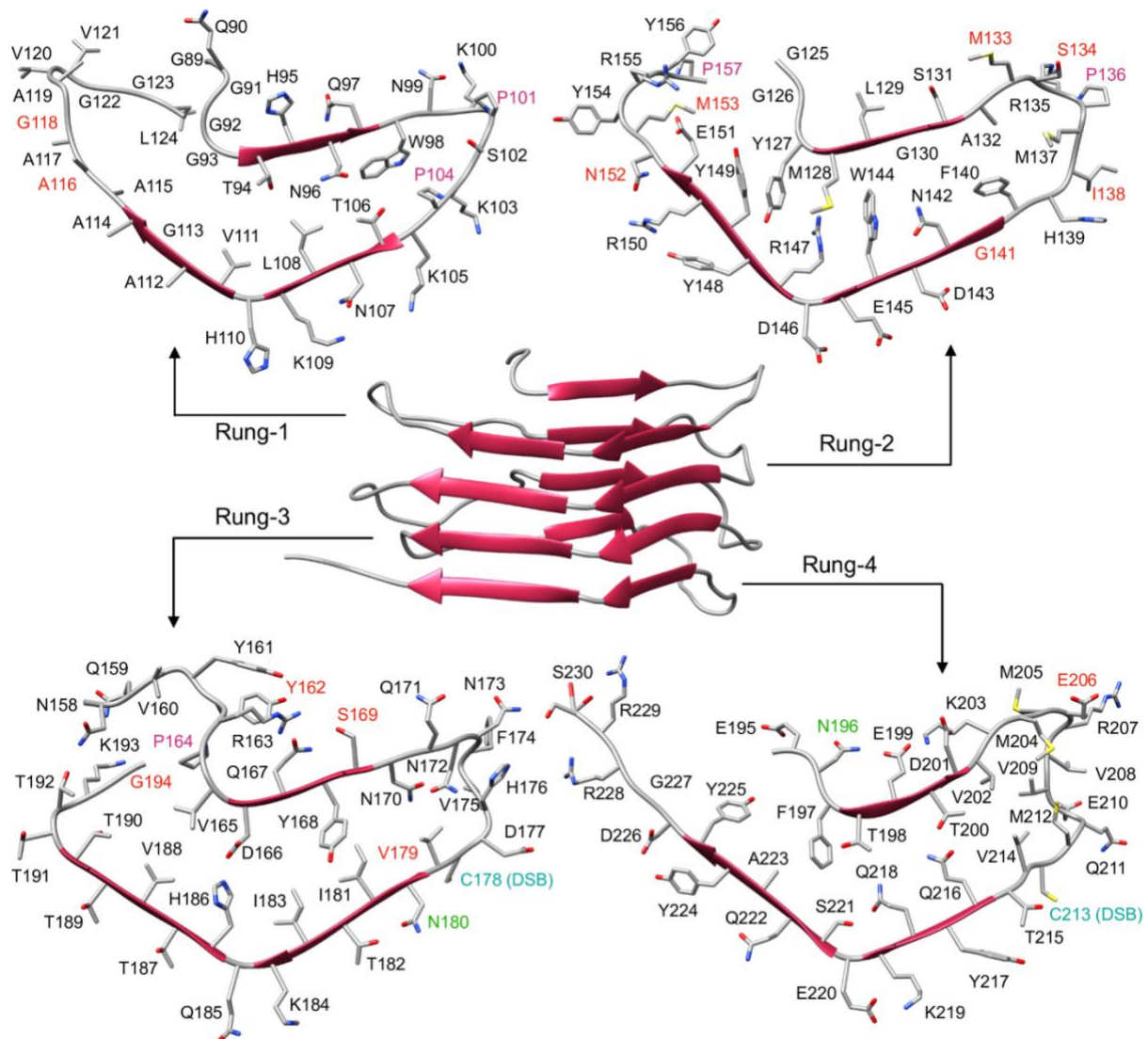
Prioniproteiinin aminohappojärjestys on identtinen PrP^C:n kanssa, sillä kumpaakin isoformia koodaa *Prnp*-geeni. Eroavaisuudet prioniproteiinin tertiäärirakenteeseen aiheutuvatkin hypoteesin mukaan translaation jälkeisestä käsittelystä (Manix et al. 2015).

PrP^C:n virheellisesti laskostuneen isoformin, PrP^{Sc}:n, korkea resoluutioisen rakenteen selvittäminen on osoittautunut haastavaksi. Vaikeaa siitä on tehnyt mm. prioniproteiinin heikko liukoisuus ja tapa aggregoitua ja muodostaa amyloidifibrillejä. Prioniproteiinin isoformin rakenteessa esiintyy myös variaatioita eri prionitautien kohdalla ja eri konformaatioiden on huomattu korreloivan eri prionitautien fenotyypin kanssa. Variaatio prioniproteiinin rakenteessa selittääkin eri prionitautien olemassaolon (Verma 2016, Wille & Requena 2018).

Kryoelektronimikroskopian ja 3D-mallinnusten avulla on onnistuttu selvittämään, että prioniproteiinin rakenne ilman GPI-ankkuria eli PrP²⁷⁻³⁰ on mitä todennäköisimmin neliportainen β -solenoidi, 4R β S. Prioniproteiinit tyypillisesti aggregoituvat ja muodostavat amyloidifibrillejä. Näiden amyloidifibrillien uskotaan muodostuvan kahdesta protofilamentista, joiden yksittäisen proteiinosan korkeuden on määritetty olevan noin 19.2 Å (Vazquez-Fernandez et al. 2016, Spagnolli et al. 2019).

Amyloidifibrillirakenteen mallinnuksia on käytetty hyväksi selvittäessä prioniproteiinin tarkkaa atomistista mallia molekyyldynamiikan avulla. Spagnolli työtovereineen (2019) on tutkimuksessaan mallintanut 4R β S-rakenteen ja tunnistanut proteiinin mahdolliset proteinaasi K:n leikkauskohdat. PrP^{Sc}:n rakenne on esitetty kuvassa 1. Samassa tutkimuksessa on myös yritetty havainnollistaa mekanismia, jolla prioniproteiini voisi konvertoida terveen PrP^C-proteiinin virheellisesti laskostuneeseen muotoonsa (Spagnolli et al. 2019).

Amyloidogeenisenä proteiinina PrP^{Sc} on hyvin stabiili proteiini. Se omaa mm. heikon liukoisuuden useimpiin detergentteihin ja verrattain korkean lämmönsietokyvyn. Lisäksi useimmat proteaasit eivät kykene pilkkomaan sitä (Sprunger & Jackrel 2021). PrP^{Sc}:n on tästä huolimatta todettu sisältävän joitain leikkauskohtia proteinaasi K:lle (Spagnolli et al. 2019).



Kuva 1. PrP^{Sc}-proteiinin 4R β S-rakenne.

PrP^{Sc}:n neliportainen β -solenoidirakenne, jossa β -levyt on kuvattu punaisina nuolina. Proteinaasi K:n leikkauskohdat on merkitty punaisella. Kuvan lähde: Spagnolli G, Rigoli M, Orioli S, Sevillano AM, Faccioli P, Wille H et al. (2019) Full atomistic model of prion structure and conversion. PLoS Pathog. 15(7):e1007864.

3.3.2. Synteesi

Mekanismi, jolla PrP^{Sc} konvertoi PrP^C:n virheellisesti laskostuneeksi prioniproteiiniksi, oli pitkään tuntematon. Kun prionitautien ymmärrettiin tarttuvan prioniproteiinin välityksellä, vedettiin johtopäätös, että prioniproteiinin täytyi itsessään omata kyky konvertoida PrP^C PrP^{Sc}:ksi joko yksin

tai muiden tekijöiden avustamana. PrP^{Sc}:n ajateltiin toimivan vähintäänkin templaattina PrP^C:n konversiolle. PrP^C:n ja PrP^{Sc}:n välillä ajateltiin olevan myös niin sanotusti välikonformaatio, jonka kautta PrP^C:n konformaatio lopulta saisi PrP^{Sc}:n konformaation (Nicholson et al. 2002, Spagnolli et al. 2019).

Mekanismin selvittämisestä teki hankalaa mm. PrP^{Sc}:n täyden atomisen rakenteen selvittämisen hankaluus esimerkiksi prioniproteiinin aggregoitumistaipumuksen johdosta (Wille & Requena 2018). Sitten Spagnolli työtovereineen (2019) onnistuivat molekyyldynamiikan avulla selvittämään PrP^{Sc}:n täydellisen atomirakenteen ja hyödyntämään tätä tietoa myös konversion mekanismin selvityksessä.

Tutkimuksessa mekanismi mallinnettiin tietokonesimulaatiolla. Simulaation mukaan on mahdollista, että PrP^{Sc}:n amyloidifibrillien protofilamenttien β -solenoidien C-terminaali toimii PrP^C:n ensisijaisena kosketuspintana PrP^C:n vapaalle N-terminaalille. PrP^C:n hännän vuorovaikutus β -solenoidin C-terminaalisen portaan kanssa aikaansaa vaiheittaisen konformaation muutoksen PrP^C:ssa, missä viimeisin β -solenoidi toimii templaattina purkautuvalle PrP^C:lle. Vuorovaikutuksen lopputuloksena PrP^C konvertoidaan uudeksi amyloidifibrillin protofilamentin 4R β S-rakenteeksi. Simulaatio vahvistaa myös teorian, että PrP^C:n konversio tapahtuu välikonformaation kautta eikä suoraan (Nicholson et al. 2002, Spagnolli et al. 2019).

3.3.3. Neurotoksisuus

Prioniproteiinien neurotoksisista vaikutusmekanismeista tiedetään vielä verrattain vähän. Ilmeistä kuitenkin on, että PrP^C-proteiini ei toimi ainoastaan PrP^{Sc}:n prekursorina, vaan myös sillä on omia neurotoksisia vaikutuksia. PrP^C voi mahdollisesti toimia solupinnan reseptorina ja PrP^{Sc}:n sitoutuessa siihen, se voi lähettää oman normaalin toimintansa vastaisia, neurotoksisia signaaleja eteenpäin. (Le et al. 2019).

Lisäksi prioniproteiinit jakavat samankaltaisuuksia AD:n kehityksen kannalta merkityksellisen proteiinin, A β :n, kanssa. Nämä samankaltaisuudet voivat kieliä siitä, että prioniproteiinin oligomeeriset, ei-tarttuvat isoformit saattavat omata voimakkaampia neurotoksisia vaikutuksia

verrattuna sen itse lisääntyviin isoformeihin. Hermosolujen väliset synapsit ovat myös mitä ilmeisemmin prionitautien varhaisen vaiheen kohteita ja niiden rappeutuminen ja toimintakyvyn menetys johtavat prionitautien oireiden ilmentymiseen (Le et al. 2019).

Prioniproteiinien neurotoksisuuden mekanismien tutkimista vaikeuttavat esimerkiksi sopivien *in vitro* -mallien puute, sillä vain harvat solulinjat kykenevät ylläpitämään PrP^C:n konversiota PrP^{Sc}:ksi kulttuurissa. Yksikään näistä solulinjoista ei valitettavasti kuitenkaan osoita sytotoksisuuden merkkejä prioni-infektion jälkeen. Lisäksi nämä solulinjat lukeutuvat kaikki transformoitujen eli niin sanotusti ikuistettujen solulinjojen joukkoon ja kirjallisuus on niiden puolesta vajavaista prioni-infektioiden kohdalla. Sopivien *in vitro* -mallien kehittäminen on kuitenkin tärkeää niin uusien terapeuttisten yhdisteiden testaamiseksi kuin prionien toiminnan ymmärtämisen kannalta (Le et al. 2019).

Toinen prioniproteiinien neurotoksisuuden tutkimista rajoittava tekijä on jo aiemmin mainittu PrP^C:n osittain tuntematon merkitys solujen normaalille toiminnalle. Uudet tutkimustulokset puoltavat PrP^C:n roolia prionitautien neurotoksisuudessa: esimerkiksi mutaatiot proteiinin N-terminaaliosassa hännässä tai vasta-aineiden sitoutuminen proteiinin globulaariseen domeeniin voivat aikaansaada voimakkaita neurotoksisia vaikutuksia. On kuitenkin vielä epäselvää, miten nämä ilmenevät prionitautien patofysiologiassa ja ovatko ne PrP^C:n konversiomekanismin tuotosta (Le et al. 2019).

Prionitauteja karakterisoivat spongiformiset muutokset aivoissa, amyloidifibrillien kertyminen, astrogliaosi ja hermosolujen tuhoutuminen. Kaikkein varhaisimmat muutokset tapahtuvat kuitenkin hermosolujen synapseissa, missä morfologiset ja toiminnalliset epämuodostumat ilmenevät jo taudin varhaisessa vaiheessa ja lopulta johtavat synapsien tuhoutumiseen. Prionitautien kohdalla on myös havaittu dendriittien turvotusta, mikä on havaittavissa jo ennen kliinisten oireiden ilmentymistä. PrP^{Sc} myös indusoi dendriittien rankojen tuhoutumista (Le et al. 2019).

PrP^{Sc}:n synaptotoksiset vaikutukset keskittyvät erityisesti eksitatoristen synapsien postsynaptisiin alueisiin, missä prioniproteiinin vaikutus näkyy mEPSC:ien frekvenssien vähenemisenä ja sen amplitudin hienoisena kasvuna. PrP^{Sc}:n vaikutuksen eksitatorisiin synapseihin vaikuttaa olevan täysin

riippuvainen PrP^C:n läsnäolosta, sillä edellä mainittuja synaptotoksisia vaikutuksia ei ole havaittu knock-out -hiirillä (Le et al. 2019).

4. Creutzfeldt-Jakobin tauti ja sen sporadinen tautimuoto

4.1. Taudin löytö

Prionitaudit eivät itsessään ole tuore ilmiö, sillä lampaiden ja vuohien prionitauti, skrapie, on tunnettu endeemisenä tautina Euroopassa jo vuosisatoja. Tautien tartuttavuus havaittiin kuitenkin vasta 1930-luvulla, mutta itse taudinaiheuttaja, PrP^{Sc}, onnistuttiin tunnistamaan huomattavasti myöhemmin 1980-luvulla (Wille & Requena 2018).

Creutzfeldt-Jacobin tauti on ihmisten yleisin prionitauti. Tauti havaittiin ensimmäistä kertaa Hans Creutzfeldtin toimesta vuonna 1920 ja toistamiseen vuosina 1921 ja 1923 Alfons Jacobin toimesta. Tautia on olemassa neljää eri muotoa: varianttimuotoista, familiaalista, hankittua ja sporadista. Näistä jälkimmäinen on CJD:n yleisin muoto (Sitammagari & Masood 2021).

4.2. Creutzfeldt-Jakobin taudin eri tautimuodot

Prionitautien taudinaiheuttajaa koodaava *Prnp*-geeni omaa luonnollista polymorfismia kodonissa 129. Kodoni 129 koodaa joko metioniinia (M) tai valiinia (V). Taudin synnylle tällä polymorfialla on tärkeä vaikutus, sillä genotyyppi vaikuttaa suoraan yksilön geneettiseen alttiuteen sairastua prionitautiin. Esimerkiksi CJD:n varianttimuodon saaneet yksilöt ovat tähän mennessä olleet kaikki homotsygootteja metioniinille (MM). CJD:n tautityypit ja niiden tyypilliset ominaisuudet ovat esitettyinä taulukossa 1 (Manix et al. 2015).

Taulukko 1. Creutzfeldt-Jakobin taudin tautimuodot ja niiden tyypilliset ominaisuudet.**CJD:n tautimuoto**

| Tautimuoto | sCJD | vCJD | fCJD |
|------------------------------------|---|---|---|
| Sairastumisen mediaani-ikä | 60-70-vuotta | 28-vuotta | 60-vuotta |
| Taudin kesto | 5 kk | 14 kk | 6 k |
| Vallitsevat kliiniset ominaisuudet | Nopea kognitiivinen heikentyminen & myoklonia | Aikaiset psykologiset oireet, jonka jälkeen kognitiivinen heikentyminen | Samankaltainen sCJD:n kanssa |
| MRI-löydökset | 60-70 %:lla hypertensiaa tyvitumakkeessa tai aivokuoressa | 90 %:lla pulvinaarisia merkkejä | Hypertensiaa tyvitumakkeessa ja kortikaalissa |
| EEG-löydökset | 60-70 %:lla PSWC:ää | Ei PSWC:ää | 75 %:lla PSWC:ää |
| 14-3-3-status | 90 %:ia positiivisia | 50 %:ia positiivisia | Samankaltainen sCJD:n kanssa |
| Genetiikka | 70 %:lla MM1 | 100 %:lla MM | <i>Prnp</i> -mutaatio |

Suomennettu ja muokattu lähteestä: Manix M, Kalakoti P, Henry M, Thakur J, Menger R, Guthikonda B & Nanda A (2015) Creutzfeldt-Jacob disease: updated diagnostic criteria, treatment algorithm, and the utility of brain biopsy. *Neurosurgical Focus FOC*. 39(5) doi:10.3171/2015.8.FOCUS15328.

4.2.1. Geneettinen/familiaalinen

CJD:n familiaalinen muoto on taudin toiseksi yleisin muoto ja noin 10-15 % kaikista tautitapauksista on familiaalista muotoa. Taudin taustalla ovat autosomaattiset mutaatiot PrP^C:tä koodaavassa *Prnp*-geenissä. Tautimuodon diagnosointi edellyttää positiivista geenitestistä ja usein potilaan suvun sairaushistoriasta on löydettävissä muitakin tautitapauksia (Sitammagari & Masood 2021).

4.2.2. Hankittu

Hankittua CJD:tä esiintyy noin 1 % kaikista tautitapauksista. Se on yleensä seurausta kontaktista saastuneeseen kudokseen tai suuteitse tartunnan saannista joko eläimeltä tai toiselta ihmiseltä. Poiketen sporadisesta tautimuodosta, hankitun CJD:n diagnosoinnin keski-ikä on noin 29-vuotta. Tauti voidaan havaita MRI-skannauksen aikana pulvinaarisen signaalin muodossa (Sitammagari & Masood 2021).

4.2.3. Variantti

CJD:n varianttimuoto on peräisin hullun lehmän taudin tarttumisesta ihmiseen. Varianttimuodon voi saada esimerkiksi syömällä hullun lehmän tautia sairastavan nautakarjan lihaa. Suurin osa tautitapauksista havaittiin 1980-luvulla Yhdistyneessä kuningaskunnassa ja Ranskassa. Taudin diagnosoinnin jälkeen potilaan eliniänodote on noin 13-14 kuukautta (Sitammagari & Masood 2021).

4.2.4. Sporadinen

CJD:n ylivoimaisesti yleisin muoto on sen sporadinen tyyppi ja se kattaakin noin 85 % kaikista CJD-tapauksista. Sporadinen CJD kehittyy spontaanisti ilman yleisesti tunnettua syytä. Taudin sporadisen muodon uskotaan aiheutuvan joko sattumanvaraisesta PrP^C-proteiinin rakenteen muutoksesta tai somaattisesta mutaatiosta *Prnp*-geenissä. Sporadinen CJD voidaan jakaa kuuteen eri alatyypin taudin genotyyppiin ja biokemiallisten ominaisuuksien perusteella. Nämä alatyypit ovat MM1, MM2, MV1, MV2, VV1 ja VV2 *Prnp*-geenin polymorfian mukaan. Alatyypin voidaan selvittää proteinaasi K:n avulla: tietyissä olosuhteissa PrP^{Sc} leikkautuu joko 21 kD:n tai 19 kD:n kokoiseksi palaksi. Taudin alatyypillä on merkitystä taudin patologiselle fenotyypille. Alatyypien fenotyypit on koottu taulukkoon 2 (Manix et al. 2015).

Tautiin sairastumisen mediaani-ikänä on noin 68 vuotta. Sporadinen CJD, kuten kaikki muutkin prionitaudit ja CJD:n tautimuodot, johtavat eittämättä kuolemaan. Sporadisen tautimuodon kohdalla eliniänodote on yleensä noin 4-8 kuukautta ja 90 % potilaista kuolee ensimmäisen vuoden aikana (Sitammagari & Masood 2021).

Taulukko 2. Sporadisen CJD:n geneettiset alatyypit niiden tyypillisten ominaisuuksien kanssa.

Sporadisen CJD:n alatyypit

| Alatyypit | MM1/MV1 | VV2 | MV2 | MM2 | VV1 |
|------------------------------------|---|---|--|--|---|
| Sairastumisen mediaani-ikä | 70-vuotta | 65-vuotta | 60-vuotta | 67-vuotta | 44-vuotta |
| Taudin kesto | 4 kk | 6 kk | 18 kk | 14 kk | 21 kk |
| Vallitsevat kliiniset ominaisuudet | Nopea kognitiivinen heikkeneminen w/ myoklonialla | Etenevät ataxia ilman myokloniaa | Selkeä ataxia & kognitiivisten kykyjen heikkeneminen | Nopeasti etenevä dementia w/ myoklonialla | psykologiset muutokset & hitaasti etenevä dementia |
| MRI-löydökset | 70 %:lla hypertensiaa tyvitumakkeessa ja aivokuoressa | 70 %:lla hypertensiaa tyvitumakkeessa, 45 %:ll talamuksella | 79 %:lla hypertensiaa tyvitumakkeessa & pulvinaarisia merkkejä | Kortikaalisia muutoksia 25 %:lla, tyvitumakkeen osallisuus harvinaista | Yleistä kortikaalinen hypertensio, tyvitumakkeen osallisuus harvinaista |
| EEG-löydökset | 80 %:lla PSWC:ää | 10 %:lla PSWC:ää | Samankaltainen VV2:n kanssa | 42 %:lla PSWC:ää | Ei PSWC:ää |
| 14-3-3-status | 95 %:ia positiivisia | 80 %:ia positiivisia | Samankaltainen VV2:n kanssa | 91 %:ia positiivisia | Lähes kaikki tapaukset positiivisia |
| %-osuus kaikista sCJD-tapauksista | 60-70 % | Noin 15 % | Noin 10 % | Noin 5 % | Noin 1 % |

Suomennettu ja muokattu lähteestä: Manix M, Kalakoti P, Henry M, Thakur J, Menger R, Guthikonda B & Nanda A (2015) Creutzfeldt-Jacob disease: updated diagnostic criteria, treatment algorithm, and the utility of brain biopsy. *Neurosurgical Focus FOC.* 39(5) doi:10.3171/2015.8.FOCUS15328.

4.3. Taudinkuva

CJD:n taudinkuva muistuttaa paljon dementiaa, mutta sen eteneminen on verrattain todella nopeaa. Taudin varhaisessa vaiheessa potilailla saattaa esiintyä huimausta, päänsärkyä, uupumusta ja univaikeuksia. Tautiin voi myös lukeutua seuraavat oireet: muistiongelmia, sensoriset muutokset kuten koordinaatiokyvynpuute, muutokset käytöksessä, jotka ilmenevät esimerkiksi ärtyisyytenä, kiihtyisyytenä, masennuksena, apatiaa ja mielialan vaihteluina, sekä näkökyvyn menetyksenä (Sitammagari & Masood 2021).

Taudin edetessä nämä oireet pahenevat ja potilas saattaa kokea myös hämmennystä ja harkintakyvyn puutetta. CJD-potilaille on myös tyypillistä myoklonia eli äkkinäiset nykivät liikkeet, lihasjäykkyys sekä -nykiminen. Bradykinesia, dystonia, ja sokeutuminen ovat myös mahdollisia oireita (Sitammagari & Masood 2021).

Taudin edetessä on tyypillistä, että potilas menettää hiljalleen kyvyn liikkua ja puhua, ja vaipuu lopulta tiedottomaan tilaan. Potilaat ovat myös alttiita infektioille ja esimerkiksi keuhkoputkentulehdus voi johtaa kuolemaan (Sitammagari & Masood 2021).

4.3.1. Epidemiologia

CJD:n esiintymisfrekvenssi populaatiossa ei ole kovin suuri: vain noin 1-2 henkilö per miljoona sairastuu tautiin vuosittain, mikä tekee taudista harvinaisen. Kuitenkin pelkästään jo Yhdysvalloissa tautia diagnosoidaan noin 350 tapausta vuosittain (Sitammagari & Masood 2021).

4.4. Diagnostiikka

CJD:n diagnosointi voi olla hankalaa, sillä sen taudinkuva jakaa samankaltaisuuksia monien muiden neurodegeneratiivisten sairauksien kuten esimerkiksi FTD:n kanssa. Taudin kliinisessä diagnostiikassa hyödynnetään niin neuropsykiatristen oireiden kartoittamista kuin mittauksia esimerkiksi aivo-selkäydinnesteen proteiinien 14-3-3-pitoisuuksien mittaamista, MRI-skannausta ja EEG:tä (Sitammagari & Masood 2021). Aivo-selkäydinnesteen 14-3-3-proteiineja vapautetaan

selkäydinnesteeseen akuuttien hermovaurioiden yhteydessä (Geschwind et al. 2003). Myös Tau-proteiinin korkea pitoisuus aivo-selkäydinnesteessä voi toimia taudin indikaattorina (Sitammagari & Masood 2021).

Tauti voidaan kaikkein varmimmin todeta ruumiin avauksen yhteydessä ja esimerkiksi RT-QuIC-tekniikan on todettu olevan taudin diagnosoinnissa hyvinkin tehokas (Sitammagari & Masood 2021).

4.4.1. Histopatologia

Huolimatta kehitetyistä diagnosointimenetelmistä, histopatologiaa hyödynnetään yhä tutkimuksessa prionitautien diagnosointiin ja karakterisointiin (Spiropoulos & Simmons 2017).

Prionitaudit eli tarttuvat spongiformiset enkefalopatiat ovat saaneet nimensä niiden aivoissa aiheuttamien ”pesusienimäisten” muutosten mukaan. Pesusienimäisen eli spongiformisen ulkonäön aikaansaavat aivoihin kertyvät vakuolit. Nämä vakuolit voidaan havaita histopatologisissa tutkimuksissa sekä aivojen harmaassa aineessa että selkäytimen läpileikkauksissa, kun ne värjätään hematoksyliinillä tai eosiinilla. Näiden muutosten havaitseminen olikin prionitautien kaikkein ensimmäinen diagnosointikriteeri. Prionitauti voi myös muodostaa aivoihin amyloidiplakkeja, mutta niiden havaitseminen tai läsnäolo eivät ole ehdoton diagnosointikriteeri, sillä niitä ei aina muodostu (Spiropoulos & Simmons 2017).

4.5. Taudin hoito

Tällä hetkellä kaikki prionitaudit, CJD:n kaikki eri muodot mukaan lukien, johtavat aina lopulta kuolemaan. Siksi tärkein lähestymistapa taudin hoitoon on oireiden lievitykseen pyrkivä ja elämänlaatua tukeva hoito (Sitammagari & Masood 2021).

5. Prionitautien hoidon tulevaisuuden näkymät

Prionitautien hoitoon ei tällä hetkellä ole toimivaa hoitomuotoa tai terapeutista lääkitystä. Siitä huolimatta uudet tutkimukset tuovat hieman valoa prionitautien hoidon tulevaisuuteen. Terapeutteja

hoitokeinoja on etsitty mm. selvittämällä prioniproteiinien neurotoksisia vaikutuksia, sillä näitä vaikutuksia kumoamalla on mahdollista vähintäänkin hidastaa taudin etenemistä.

Esimerkiksi Spagnolli työtovereineen (2019) havaitsivat tutkimuksessaan, että PrP^{Sc}-proteiinin aiheuttamia tuhoja neuronien dendriittien rangoille olisi mahdollista estää SiR-aktiinin avulla. SiR-aktiini on fluorogeeninen, solun läpäisevä peptidi, joka sekä stabiloi että leimaa F-aktiinin (Le et al. 2019). Ehjällä aktiini-sytoskeletonilla arvioidaan olevan PrP^C:n konversiota PrP^{Sc}:ksi estävä vaikutus (Hackl et al. 2021) SiR-aktiinin havaittiin myös estävän AMPA-reseptorin alayksikön, GluR1, menetystä sekä kumoamaan PrP^{Sc}:n vaikutuksia mEPSC:hen (Le et al. 2019).

Spagnolli työtovereineen (2019) huomasi tutkimuksessaan, että NMDA-reseptorien, sekä AMPA-reseptorien, inhibiittorit vaikuttivat suojaavan neuroneita synaptotoksisilta vaikutuksilta. PrP^{Sc}:n synaptotoksisen signaalikaskadin ensimmäinen vaihe on mitä ilmeisemmin NMDA- ja AMPA-tyyppien glutamaattireseptorien aktivointi, mikä on ilmeistä PrP^{Sc}:n läsnäolon tuomasta solunsisäisen Ca²⁺-konsentraation kasvusta. Näin ollen esimerkiksi NMDA-reseptorin antagonistin, memantinen, huomattiin estävän Ca²⁺-konsentraation kasvun solun sisällä (Le et al. 2019, Spagnolli et al. 2019).

Kolesterolilla ja sfingolipideillä on todettu olevan suuri merkitys PrP^{Sc}:n sijoittumiseen neuronien plasmamembraaneille ja PrP^{Sc}-proteiinit omaavatkin suuren affiniteetin niitä kohtaan. Tamoxifeenin (TAM) ja sen aktiivisen metaboliitin, 4-hydroksytamoxifeenin (OHT) on huomattu häiritsevän kolesterolin kuljetusta ja homeostaasia eri syöpäsolutyypeillä (Suarez et al. 2004) . TAM:in on havaittu erityisesti estävän kolesterolin poistumista lysosomeista. Marzo työtovereineen (2013) huomasivat tutkimuksessaan, että TAM- ja OHT-hoito lisäsivät sekä PrP^C:n että PrP^{Sc}:n sijoittumista lysosyymeihin, mikä johtaa prioniproteiinin lysosomaaliseen hajoitukseen.

6. Kirjallisuusviitteet

- Bagyinszky E, Giau VV, Youn YC, An SSA & Kim S (2018) Characterization of mutations in PRNP (prion) gene and their possible roles in neurodegenerative diseases. *Neuroshyiatr Dis Treat.* 2018;14:2067-2085. doi:10.2147/NDT.S165445
- Bradford BM & Mabott NA (2012) Prion disease and the innate immune system. *Viruses.* 2012;4(12):3389-3419. doi:10.3390/v4123389
- Capellari S, Zaidi SI, Long AC, Kwon EE & Petersen RB (2000) The Thr183Ala Mutation, Not the Loss of the First Glycosylation Site, Alters the Physical Properties of the Prion Protein. *J Alzheimers Dis.* 2000;2(1):27-35. doi:10.3233/jad-2000-2104.
- Geschwind MD, Martindale J, Miller D et al (2003) Challenging the Clinical Utility of the 14-3-3 Protein for the Diagnosis of Sporadic Creutzfeldt-Jakob Disease. *Arch Neurol.* 2003;60(6):813-816. doi:10.1001/archneur.60.6.813
- Hackl S, Ng XW, Lu D, Wohland T & Becker CFW (2021) Cytoskeleton-dependent clustering of membrane-bound prion protein on the cell surface. *J Biol Chem.* 2021;296:100359. doi:10.1016/j.jbc.2021.100359.
- HGNC Database, HUGO Gene Nomenclature Committee (HGNC), European Molecular Biology Laboratory, European Bioinformatics Institute (EMBL_EBI), Wellcome Genome Campus, Hinxton, Cambridge CB19 1SD, United Kingdom [Internet]. [Cited 30 April 2022]. Available from: https://www.genenames.org/data/gene-symbol-report/#!/hgnc_id/HGNC:9449
- Krance SH, Luke R, Shenouda M, Israwi AR, Colpitts SJ, Darwish L, Strauss M & Watts JC (2020); Cellular models for discovering prion disease therapeutics: Progress and challenges. *J.Neurochem.* 2020;153:150-172. doi:10.1111/jnc.14956
- Le NTT, Wu B & Harris DA (2019) Prion neurotoxicity. *Brain Pathol.* 2019;29(2):262-277. doi:10.1111/bpa.12694
- Li B, Chen M, Zhu C (2021) Neuroinflammation in Prion Disease. *Int J Mol Sci.* 2021;22(4):2196. doi:10.3390/ijms22042196
- Lodish H, Berk A, Zipursky SL, Matsudaira P, Baltimore D & Darnell J (2000) *Molecular cell biology* (4th ed.) New York: W.H.Freeman and Company. ISBN-13: 978-1-4641-9339-3 ISBN-10: 1-4641-8339-2

- Ma J & Wang F (2014) Prion disease and the 'protein-only hypothesis'. *Essays Biochem.* 2014;56:181-191 doi:10.1042/bse0560181
- Makarava N & Baskakov IV (2022) Role of sialylation of N-linked glycans in prion pathogenesis. *Cell and Tissue Research.* doi:10.1007/s00441-022-03584-2
- Manix M, Kalakoti P, Henry M, Thakur J, Menger R, Guthikonda B & Nanda A (2015) Creutzfeldt-Jacob disease: updated diagnostic criteria, treatment algorithm, and the utility of brain biopsy. *Neurosurgical Focus FOC.* 39(5) doi:10.3171/2015.8.FOCUS15328.
- Marzo L, Marijanovic Z, Browman D, Chamoun Z, Caputo A & Zurzolo C (2013) 4-hydroxytamoxifen leads to PrPSc clearance by conveying both PrPC and PrPSc to lysosomes independently of autophagy. *J Cell Sci* 2013;126(6):1345-1354. doi:10.1242/jcs.114801
- Mathews CK, Van Holde KE, Appling DR & Anthony-Cahill SJ (2013) *Biochemistry* (4th ed.) New Jersey: Pearson Education, Inc. ISBN 978-0-13-800464-4
- Nakic N, Trn TH, Novokmet M, Andreoletti O, Lauc G & Legname G (2021) Site-specific analysis of N-glycans from different sheep prion strains. *PLoS Pathog* 17(2):e1009232. doi:10.1371/journal.ppat.1009232
- Nicholson EM, Huaping M, Prusiner SB, Cohen FE & Marqusee S (2002) Differences between the prion protein and its homolog doppel: a partially structured state with implications for scrapie formation. *Journal of Molecular Biology.* 2002;316(3):807-815. doi:10.1006/jmbi.2001.5347.
- Onodera T, Nishimura T, Sugiura K & Sakudo A (2020) Function of Prion Protein and the Family Member, Shadoo. *Curr Issues Mol Biol.* 2020;36:67-88. doi:10.21775/cimb.036.067
- Puckett C, Concannon P, Casey C & Hood L (1991) Genomic structure of the human prion protein gene. *Am J Hum Genet.* 1991,49(2):320-329.
- Richie MA, Gill AC, Deery MJ & Lilley K (2002) Precursor ion scanning for detection and structural characterization of heterogeneous glycopeptide mixtures. *J Am Soc Mass Spectrom.* 13(9):1065-1077. doi:10.1016/s1044-0305(02)00421-x
- Rudd PM, Endo T, Colominas C, Groth D, Wheeler SF, Harvey, DJ, Wormald MR, Serban H, Prusiner SB, Kobata A & Dwek RA (1999) Glycosylation differences between the normal and pathogenic prion protein isoforms. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1999;96(23):13044-13049. doi:10.1073/pnas.96.23.13044

- Sitammagari KK & Masowood W (2021) Creutzfeldt Jacob Disease. [Updated 2021 Nov 26]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island [FL]: StatPearls Publishing; 2022 Jan- [cited 30 April 2022]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK507860/>
- Spagnolli G, Rigoli M, Orioli S, Sevillano AM, Faccioli P, Wille H et al. (2019) Full atomistic model of prion structure and conversion. *PLoS Pathog* 15(7):e1007864. doi:10.1371/journal.ppat.1007864
- Spiropoulos J & Simmons MM (2017) Pathology of Animal Transmissible Spongiform Encephalopathies (TSEs). *Food Saf. (Tokyo)* 2017;5(1):1-9. doi:10.14252/foodsafetyfscj.2016027
- Sprunger ML & Jackrel ME (2021) Prion-Like Proteins in Phase Separation and Their Link to Disease. *Biomolecules*. 2021;11(7):1014. doi:10.3390/biom11071014
- Suarez Y, Fernandez C, Gomez-Coronado D, Ferruelo AJ, Davalos A, Martinez-Botas J & Lasuncion MA (2004) Synergistic upregulation of low-density lipoprotein receptor activity by tamoxifen and lovastatin. *Cardiovascular Research*. 2004;64(2):346-355. doi:10.1016/j.cardiores.2004.06.024.
- UniProtKB Database, UniProt Consortium. P04156 (PRIO_HUMAN) [Internet]. [Cited 29 April 2022]. Available from: <https://www.uniprot.org/uniprot/P04156>
- Vazquez-Fernandez E, Vos MR, Afanasyev P, Cebey L, Sevillano AM, Vidal E, Rosa I, Renault L, Ramos A, Peters PJ, Fernandez JJ, van Heel M, Young HS, Requena JR & Wille Holger (2016) The Structural Architecture of an Infectious Mammalian Prion Using Electron Cryomicroscopy. *PLoS Pathog*. 2016;12(9):e1005835. doi:10.1371/journal.ppat.1005835
- Verma A (2016) Prions, prion-like prionoids, and neurodegenerative disorders. *Ann Indian Acad Neurol*. 2016;19(2):169-174. doi:10.4103/0972-2327.179979
- Wille H & Requena JR (2018) The Structure of PrP^{Sc} Prions. *Pathogens*. 2018;7(1):20. doi:10.3390/pathogens7010020
- Wollscheid B, Bausch-Fluck D, Henderson C, O'Brien R, Bibel M, Schiess R, Aebersold R & Watts JD (2009) Mass-spectrometric identification and relative quantification of N-linked cell surface glycoproteins. *Nat Biotechnol*. 2009;27(4):378-86. doi:10.1038/nbt.1532.
- Zahn R (2003) The octapeptide repeats in mammalian prion protein constitute a pH-dependent folding and aggregation site. *J Mol Biol*. 2003;334(3):477-88. doi:10.1016/j.jmb.2003.09.048.
- Zahn, R, Liu A, Luhrs T & Wuthrich K (2000) NMR Solution Structure of the Human Prion Protein. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2000;4;97(1):145-50. doi:10.2210/pdb1QLZ/pdb