



Kandidaatintutkielma

Herpes simplex virus 1 ja sen yhteys Alzheimerin tautiin

Sofia Viitavaara

Oulun yliopisto
Biokemian ja molekyyli lääketieteen tiedekunta
2023

Sisällysluettelo

Käytetyt lyhenteet	4
1. Johdanto	6
2. Herpes simplex virus 1:n rakenne	7
2.1. Perimä	7
2.1.1. Rakenne	7
2.1.2. Geenien transkriptio	7
2.1.3. α -, β - ja γ -geenit	8
2.2. Kapsidi	8
2.2.1. Rakenne ja tehtävät	8
2.2.2. Kokoaminen	9
2.3. Tegumentti	10
2.3.1. Rakenne ja tehtävät	10
2.3.2. pUL36 ja pUL37	10
2.3.3. pUL46-pUL49	10
2.3.4. pUL11, pUL16 ja pUL21	11
2.4. Vaippa	11
2.4.1. Sekundaarisen vaipan muodostuminen ja koostumus	11
3. Herpes simplex virus 1:n elinkaari	12
3.1. Lyyttinen sykli	14
3.1.1. Tunkeutuminen isäntäsoluun ja tumaan	14
3.1.2. Perimän monistaminen	14
3.1.3. Tumasta ja isäntäsolusta poistuminen	15
3.2. Latentti sykli	16
3.3. Uudelleenaktivoituminen	16
4. Herpes simplex virus 1 -infektio	17
4.1. HSV-1 aivoissa	17
4.2. Hoito	18
4.3.1. Asikloviiri	18
4.3.2. Rokote	18
5. Alzheimerin tauti	19
5.1. Tautimekanismit	19
5.1.1. Kolinerginen hypoteesi	19

5.1.2. Amyloidiplakit	19
5.1.3. Tau-proteiini	20
5.1.4. ApoE-ε4-alleeli	20
5.2. Biomarkkerit	21
5.3. Hoito	22
5.3.1. Asetyylikoliiniesteraasi-inhibiittorit	22
5.3.2. NMDA-antagonistit	23
6. Herpes simplex virus 1:n yhteys Alzheimerin tautiin	23
6.1. HSV-1 ja ApoE-ε4-alleeli	23
6.2. HSV-1 ja Alzheimerin taudin muut riskitekijät	24
6.3. HSV-1:n vaikutus β-amyloidiin	25
6.3.1. HSV-1 ja APP	25
6.3.2. PKR-mekanismi	26
6.3.3. Autofagia	27
6.4. HSV-1:n vaikutus Tau-proteiiniin	28
6.5. Tutkimuksen hyödyt	28
7. Kirjallisuusviitteet	29

Käytetyt lyhenteet

A β	beeta-amyloidi
AChE	asetyylkoliiniesteraasi
ACV	asikloviiri
ACV-DP	asikloviiridifosfaatti
ACV-MP	asikloviirimonofosfaatti
ACV-TP	asikloviiritrifosfaatti
ApoE	apolipoproteiini E
APP	amyloidibeetaproteiinin esiaste
CSF	aivo-selkäydinneste
E	early gene, aikaisessa vaiheessa koodattava geeni
eIF-2 α	eukaryootin aloitustekijä 2 α
ESCRT	kuljetukseen tarvittava endosomaalinen lajittelukompleksi
GMP	guanosiini-5'-monofosfaatti
GSK3 β	glykogeenisyntaasi 3 β
gX	glykoproteiini X, jossa X on glykoproteiinin kirjainosa
HCF-1	host cell factor 1, isäntäsolun tekijä 1
HSE	herpes simplex enkefaliitti
HSV	herpes simplex virus
ICP	infektoituneen solun proteiini
IE	immediate early gene, ensimmäisenä koodattava geeni
IL-1 β	interleukiini 1 β
kb	kiloemäs
L	late gene, myöhäisessä vaiheessa koodattava geeni
LAT	latenssiin liittyvä transkripti

LDLR	alhaisen tiheyden lipoproteiinireseptori
LRP1	alhaisen tiheyden lipoproteiinireseptoriin liittyvä proteiini 1
MRI	magnetic resonance imaging, magneettikuvaus
NDP	nukleosidi-5'-difosfaatti
NEC	tumasta poistumiseen tarvittava kompleksi
NFT	hermosäiekimppu
NMDA	N-metyyli-D-aspartaatti
Oct-1	oktameeriin sitoutuva proteiini 1
pAPP	fosforyloitu amyloidibeetaproteiinin esiaste
PET	positroniemissiotomografia
PKA	proteiinikinaasi A
PKR	kaksijuosteisen RNA:n aktivoima proteiinikinaasi R
PPAR	peroksisomien proliferaatiossa aktivoituva reseptori
pTau	fosforyloitu Tau-proteiini
Ser	seriini
Thr	treoniini
TK	tymidiinikinaasi
TNF- α	tuumorinekroositekijä α
tTau	Tau-proteiinin kokonaismäärä
U _L	perimän pitkä uniikki jakso, unique long
U _S	perimän lyhyt uniikki jakso, unique short
VP	viruksen proteiini
VZV	varicella-zostervirus

1. Johdanto

Virukset ovat tartuttavia solunsisäisiä loisia. Niillä ei ole omaa koneistoa perimän monistamiseen ja uusien viruksen osien kokoamiseen, joten lisääntyminen ja aineenvaihdunta ovat riippuvaisia isäntäsolusta. Niiden perimä voi olla joko DNA:ta tai RNA:ta ja esiintyä joko yksi- tai kaksijuosteisena. Perimää suojaa proteiinista koostuva kapsidi. Viruksen pinnalla on molekyyliä, joiden avulla virus tunnistaa kohdesolun reseptorin. Sen avulla virus tunkeutuu solun sisään tai vapauttaa perimänsä isäntäsoluun reiän kautta. Solun sisällä viruksen perimä joko liittyy osaksi isäntäsolun perimää tai transkriptoidaan suoraan lähetti-RNA:ksi. Perimän monistamisen ja proteiinien tuottamisen jälkeen uudet virukset kootaan ja vapautetaan isäntäsolusta (Wagner & Krug, 2023).

Herpes simplex virus (HSV) 1 on DNA-virus, jonka perimä on suuri, lineaarinen ja kaksijuosteinen. On arvioitu, että yli puolet maailman väestöstä kantavat HSV-1 tartuntaa ja on yleistä, että tartunnan saa jo nuorena suun tai huulien limakalvojen kautta. Virus tartuttaa usein ensin ihon tai limakalvon epiteelisoluja ja säilyy sen jälkeen latenttina hermosolupäätteissä ja voi näin aktivoitua uudelleen aiheuttaen oireita. Latentti virus majoittuu usein ääreishermoston soluissa, mutta voi aiheuttaa infektion myös keskushermostossa, jolloin oireet ovat yleensä vakavammat. On myös huomattu, että HSV-1:n ja Alzheimerin taudin välillä näyttäisi olevan yhteys (Zhu & Viejo-Borbolla, 2021).

Alzheimerin tauti on yleinen neurodegeneratiivinen eli aivoja rappeuttava sairaus, joka aiheuttaa dementiaa eli esimerkiksi muistin, puhumisen ja käyttäytymisen muutoksia ja heikentymistä. Alzheimerin taudin esiintyvyyteen vaikuttaa suuresti ikä ja tautia esiintyykin lähinnä yli 65-vuotiailla (Ferrari & Sorbi, 2021). Taudin aiheuttajia ovat aivoihin kertyvät beeta-amyloidin (A β) muodostamat plakit sekä Tau-proteiinin väärin laskostuminen ja kertyminen hermosoluihin. Alzheimerin tautiin ei ole vielä löydetty parannuskeinoa (Breijyeh & Karaman, 2020).

Tässä tutkielmassa perehdytään HSV-1:n rakenteeseen, elinkaareen ja sen aiheuttamaan infektiin aivoissa. Alzheimerin taudin tautimekanismeja, biomarkkereita ja hoitokeinoja käydään läpi. Lopulta perehdytään HSV-1:n ja Alzheimerin taudin välisiin yhteyksiin ja hieman niiden hyödyntämiseen Alzheimerin taudin hoidossa.

2. Herpes simplex virus 1:n rakenne

HSV-1 on suuri ja rakenteeltaan monimutkainen DNA-virus. Perimä on yksittäisenä kopiona viruksen ytimessä ja sitä ympäröi halkaisijaltaan noin 125 nm:n kokoinen ikosaedrinen kapsidi. Kapsidia ympäröi vielä tegumentti ja isäntäsolun solukalvosta koostuva vaippa. Vaipan kanssa virus on halkaisijaltaan ainakin 200 nm (Ahmad & Wilson, 2020).

2.1. Perimä

2.1.1. Rakenne

HSV-1:n perimä (kuva 1) on lineaarinen, koostuu kaksijuosteisesta DNA:sta ja on kooltaan noin 152 kiloemästä (kb). Perimä on järjestäytynyt kahteen osioon, jotka ovat kiinnittyneet toisiinsa kovalenttisesti. Osiot ovat pitkä osio (U_L , engl. unique long), joka muodostaa 82 % perimästä ja lyhyt osio (U_S , engl. unique short), joka muodostaa loput 18 %. U_L -osio rajautuu käänteisiin b-toistojaksoihin ja U_S -osio käänteisiin c-toistojaksoihin. Kumpaakin osiota rajaa vielä käänteiset a-toistojaksot. HSV-1:n perimän monistumisen aikana voi tapahtua rekombinaatiota toistojaksojen kohdalla niin, että perimästä syntyy neljä eri isomeeriä: prototyyppi, U_L -jakson kääntyminen, U_S -jakson kääntyminen tai sekä U_L - että U_S -jaksojen kääntyminen. Viruksen perimä koodaa ainakin 79 geeniä, joista neljä sijaitsee toistojaksojen sisällä ja ovat siten diploideja (Bataille & Epstein, 1995).



Kuva 1: Yksinkertaistettu malli HSV-1:n perimästä. Perimä on jakautunut pitkään U_L -osioon ja lyhyeen U_S -osioon. U_L -osio rajautuu käänteisiin b-toistojaksoihin ja U_S -osio käänteisiin c-toistojaksoihin. Kumpaakin osiota rajaa vielä käänteiset a-toistojaksot.

2.1.2. Geenien transkriptio

Lyyttisen infektion aikana HSV-1:n geenit transkriptoidaan tietyssä, tarkkaan säädellyssä järjestyksessä solun RNA-polymeraasi II:n avulla (Packard & Dembowski, 2021). Geenit voidaan jakaa kolmeen luokkaan niiden ilmentämisyjärjestyksen mukaan: alfa (α , IE, engl. immediate early), beeta (β , E, engl. early) ja gamma (γ , L, engl. late) (Harkness et al., 2014). γ -geenit voidaan jakaa vielä kahteen osaan: γ_1 ja γ_2 (Heath & Dembowski, 2022). γ_1 -geenien ilmentämistä voi tapahtua jo samanaikaisesti β -geenien kanssa, mutta ilmentäminen lisääntyy

huomattavasti DNA:n monistamisen alettua. γ_2 -geenien ilmentäminen taas alkaa vasta DNA:n monistamisen alettua (Harkness et al., 2014).

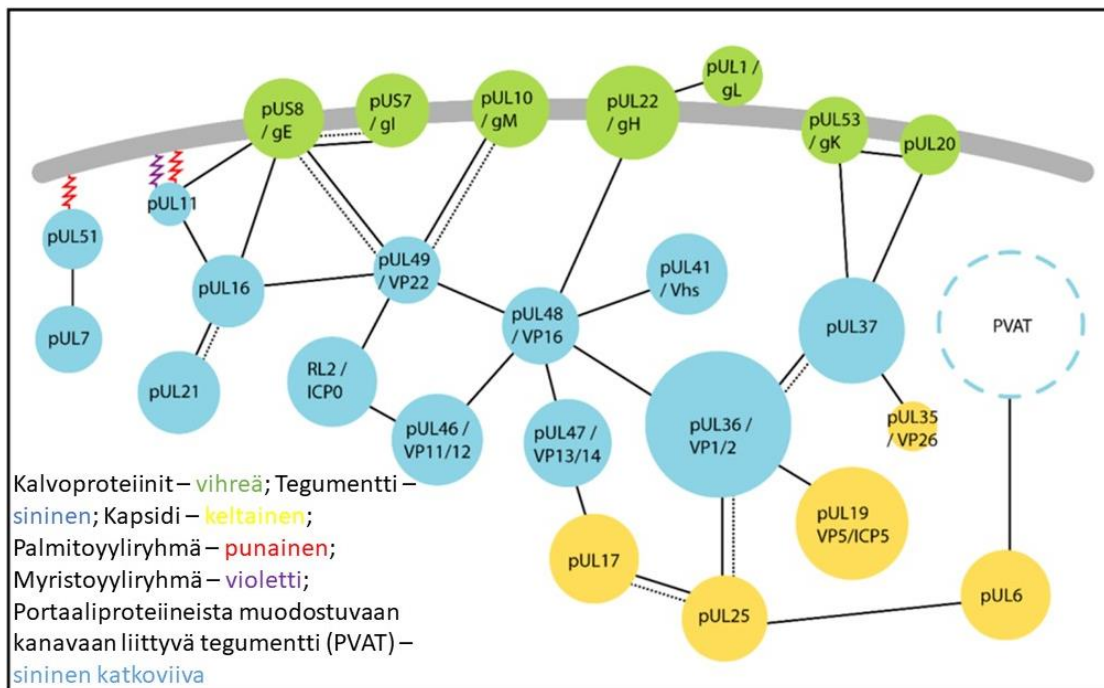
2.1.3. α -, β - ja γ -geenit

Ensimmäisenä ilmentyvät α -geenit, joiden luenta aktivoituu, kun tartuttavasta virionista peräisin oleva viruksen proteiini (VP) 16 tarttuu α -geenien promoottoriin ja aktivoi isäntäsolun tekijä 1:tä (HCF-1) ja oktameeriin sitoutuvaa proteiini 1:tä (Oct-1). α -geenit koodaavat esimerkiksi infektoituneen solun proteiineja (ICP) 0, 4 ja 22. ICP0 on E3 ubikitiiniligaasi, jonka avulla hajotetaan isäntäsolun proteiineja, jotka muuten hiljentäisivät viruksen genomien infektion alkuvaiheessa. ICP4 on transkriptiotekijä ja se sekä aktivoi että tukahduttaa viruksen ja isäntäsolun geenejä (Dunn et al., 2022) ja ICP22 hidastaa RNA polymeraasin toimintaa (Birkenheuer et al., 2022). α -geenien tuotteita tarvitaan β -geenien transkription aloittamiseen. β -geenit sisältävät ohjeet esimerkiksi tymidiinikinaasille (TK) sekä DNA:n replikaatioon tarvittaville ICP8:lle ja polymeraasille. β -geenien koodaamisen jälkeen DNA:n monistaminen voi alkaa, mikä lisää γ -geenien ilmentämistä. (Harkness et al., 2014). γ_1 -geenit koodaavat esimerkiksi kapsidin proteiineja VP5, VP23 ja VP26, tegumenttiproteiinia VP16 ja glykoproteiineja B, G, D ja E. γ_2 -geenit koodaavat esimerkiksi kapsidin proteiinia VP19c ja glykoproteiineja L, M, C, N ja J. γ -geenit koodaavat myös muita viruksen kokoamiseen ja solusta poistumiseen osallistuvia proteiineja (Heath & Dembowski, 2022).

2.2. Kapsidi

2.2.1. Rakenne ja tehtävät

Viruksen kapsidin tärkein tehtävä on suojata sen sisällä olevaa perimää ympäristöltä ja hajottavilta entsyymeiltä. Lisäksi kapsidi kuljettaa perimää solun sisällä mikrotubuluksia pitkin. HSV-1:n kapsidi on ikosaedri eli 20-tahokas ja se koostuu 162:sta kapsomeeristä: 12:sta pentonista, ja 150:stä heksonista. Pentonit sijoittuvat yhtä lukuun ottamatta kaikkiin kapsidin kärkiin. Jäljelle jääneeseen kärkeen muodostuu 12 portaaliproteiinista muodostuva kanava, jonka kautta viruksen perimä kulkeutuu kapsidin sisälle ja sieltä ulos. Heksonit taas muodostavat kapsidin tahkot. Muita kapsidin kokoamiseen liittyviä osia ovat pieni kapsidiproteiini, tripleksit, proteaasi sekä telineproteiini (engl. scaffold protein) (Draganova et al., 2021). Kapsidin rakennetta on havainnollistettu kuvassa 2.



Kuva 2: Alfaherpesvirusten tegumenttiproteiinit (sininen) yhdistävät kapsidin (keltainen) glykoproteiineihin (vihreä) ja muihin vaipan (harmaa) proteiineihin (vihreä). Kiinteät viivat havainnollistavat HSV:n proteiinien vuorovaikutuksia. Osa tegumenttiproteiineista ovat suoraan yhteydessä vaippaan post-translacionaalisten muokkausten, kuten palmitoyyli- (punainen) tai myristoyyliryhmän (violetti) kautta. Proteiineja, jotka osallistuvat PVAT:n rakenteeseen ei vielä tunneta (Owen et al., 2015). Kuvan käyttöön on julkaisijan lupa.

2.2.2. Kokoaminen

Kapsidin kokoaminen tapahtuu isäntäsolun tumassa ja sen kokoamisen aloituspiste on portaali proteiineista muodostuva kanava. VP5:stä koostuvat pentonit ja heksonit muodostavat pallomaisen esikapsidin kerääntyessään telineproteiinien ja proteaasien ympärille. Tripleksit VP19c ja VP23 sijoittuvat pentonien ja heksonien väleihin. Kolmesta proteiinista muodostuva terminaasikompleksi sitoutuu kanavaan, jolloin DNA pääsee kapsidin sisälle. Kapsidin sisällä proteaasi hajottaa telineproteiinit ja kapsidista tulee kulmikas. Tällöin myös pieni kapsidiproteiini VP26 sitoutuu kapsidiin. Valmiita, perimän sisältäviä kapsideita kutsutaan C-kapsideiksi. Sivutuotteena voi muodostua myös B-kapsideita, joissa telineproteiinia ei ole hajotettu, sekä A-kapsideita, joista puuttuu perimä (Draganova et al., 2021).

2.3. Tegumentti

2.3.1. Rakenne ja tehtävät

Tegumentilla tarkoitetaan viruksen kapsidin ja vaipan välissä olevaa rakenneproteiineista koostuvaa kerrosta. Se koostuu noin 23:sta eri viruksen proteiinista, jotka voidaan jakaa sisäisiin ja ulkoiisiin tegumenttiproteiineihin riippuen niiden läheisemmästä yhteydestä joko kapsidiin tai vaippaan. Rakenteesta löytyy myös isäntäsolun entsyymejä, saperoneja sekä rakenneproteiineja (Owen et al., 2015). Tegumenttiproteiinien tehtäviin kuuluu esimerkiksi virionin osien ohjaaminen tumaan ja pois tumasta, solun molekulaaristen moottoreiden värvääminen, viruksen ja isäntäsolun geenien ja proteiinien ilmentämisen säätely ja virionien kokoaminen isäntäsolusta poistuttaessa (Diefenbach, 2015). Tegumenttiproteiinit toimivat kuitenkin niin limittäin ja samanaikaisesti, että yksittäisten proteiinien tehtäviä ja toimintamekanismeja on vaikea määrittää tarkasti (Owen et al., 2015). Rakenteellisesti tegumenttiproteiinit muodostavat sillan kapsidin ja vaipan välille yhdistäen ne toisiinsa (Diefenbach, 2015). Havainnollistava malli tegumentista löytyy kuvasta 2.

2.3.2. pUL36 ja pUL37

Tegumentin muodostuminen kapsidin pinnalle tapahtuu pääasiassa solulimassa, kun kapsidi on poistunut tumasta. pUL36-tegumenttiproteiini on tegumenttiproteiineista suurin ja se muodostaa suoran yhteyden tegumentin ja kapsidin välille yhdistymällä kapsidin kärjissä oleviin VP5:stä muodostuviin pentoneihin. Se on siten keskeinen osa tegumentin muodostumisessa ja sen puuttuminen johtaakin siihen, että tegumentti ei muodostu. pUL36 muodostaa yhteyden toiseksi suurimpaan pUL37-tegumenttiproteiiniin, joka on tärkeä tekijä HSV-1:n monistumisessa. Glykoproteiini K (gK) ja vaipan proteiini pUL20 yhdistävät pUL36-pUL37-kompleksin viruksen vaippaan (Owen et al., 2015).

2.3.3. pUL46-pUL49

Tegumenttiproteiinit pUL46, pUL47, pUL48 (VP16) ja pUL49 (VP22) muodostavat yhteyksiä sisäisen ja ulkoisen tegumentin sekä viruksen glykoproteiinien välille. Näitä tegumenttiproteiineja on kypsässä virionissa määrällisesti eniten. Vielä ei tarkkaan tiedetä, mikä rooli pUL46:lla ja pUL47:llä on viruksen kokoamisessa. pUL48 eli VP16 reagoi pUL36:n, pUL41:n, pUL46:n, pUL49:n sekä joidenkin glykoproteiinien kanssa ja sen puuttuminen johtaa siihen, että kapsidit eivät saa ympärilleen sekundaarista vaippaa. VP16:lla on myös keskeinen tehtävä HSV-1:n α -geenien ilmentämisen aloittamisessa. pUL49:llä arvioidaan myös olevan rooli sekundaarisen vaipan muodostumisessa. Se muodostaa

tegumentti-glykoproteiinikompleksin, johon kuuluu pUL49, gE-I, gM ja ICP0 (Owen et al., 2015).

2.3.4. pUL11, pUL16 ja pUL21

pUL11, pUL16 ja pUL21 muodostavat kolmiosaisen kompleksin, joka on suoraan yhteydessä viruksen vaippaan. pUL11 yhdistyy vaippaan myristoyyli- ja palmitoyyliankkureiden välityksellä. pUL16 yhdistyy pUL11:een, gE:en ja pUL21:een. Kompleksin tarkkaa tehtävää virionin kokoamisessa ei vielä tiedetä, mutta yksi hypoteesi on, että pUL11:n ja pUL16:n välinen yhteys loisi fyysisen yhteyden kapsidin ja tegumentin välille ja sitä kautta tukisi sekundaarisen vaipan muodostumista. Myös tegumenttiproteiini pUL51 yhdistyy vaippaan palmitoyyliankkurin välityksellä. pUL51:een liittyy vielä tegumenttiproteiini pUL7 ja yhdessä niillä on rooli sekundaarisen vaipan muodostumisessa, mutta tarkkaa mekanismia ei vielä tunneta (Owen et al., 2015).

2.4. Vaippa

HSV-1:n uloimpana kerroksena on vaippa, jonka tehtäviä ovat esimerkiksi viruksen perimän suojeleminen sekä isäntäsolun tunnistaminen ja tartuttaminen. HSV-1:n elinkaareen liittyy primäärinen ja sekundaarinen vaippa. Virus kääriytyy primääriseen, tuman kalvosta koostuvaan vaippaan tumasta lähtiessään. Heti tumakalvojen sisältä poistuttaessa primäärinen vaippa poistetaan ja nukleokapsidi vapautuu solulimaan. Virus saa sekundaarisen eli lopullisen vaippansa solulimassa trans-Golgista tai siitä peräisin olevista vesikkeleistä (Owen et al., 2015). Vaipan rakennetta ja yhteyttä tegumenttiin havainnollistetaan kuvassa 2.

2.4.1. Sekundaarisen vaipan muodostuminen ja koostumus

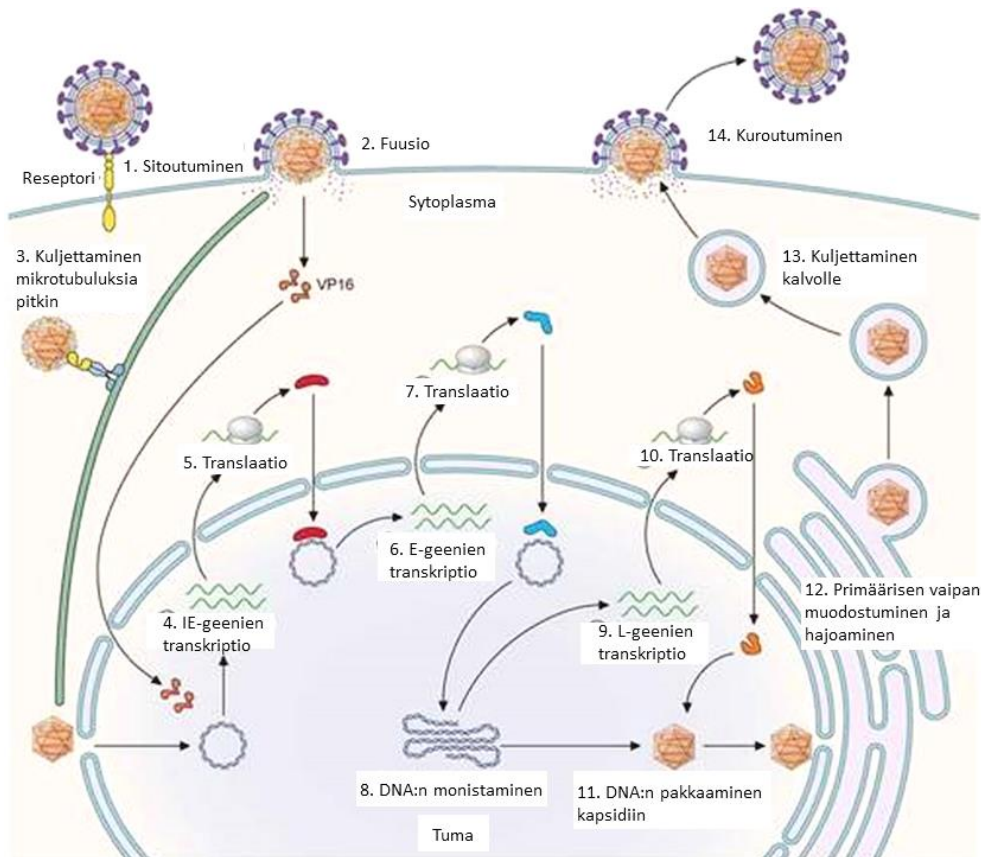
Sekundaarisen vaipan muodostuminen alkaa sillä, että viruksen kalvoproteiinit (gB, gC, gD, gE, gG, gH, gI, gJ, gK, gM, gN, pUL20, pUL43, pUL45, pUL56 ja pUS9) kuljetetaan kalvolle, mistä vaippa muodostuu. gK/pUL20-heterodimeeri ja gM ohjaavat joitakin proteiineja oikeaan paikkaan. Kapsidit kulkeutuvat paikalle mikrotubuluksia pitkin käyttäen apunaan kinesini-moottoriproteiineja. Tegumenttiproteiinit pUL36 ja pUL37 mahdollistavat kapsidin sitoutumisen kinesiniin. Kapsidin sitoutuminen kalvoon tapahtuu mahdollisesti pUL37:n sitoutuessa kalvolle kuljetettuun gK/pUL20-heterodimeeriin. Kapsidit kuroutuvat kalvon sisälle kalvo- ja tegumenttiproteiinien tarkan yhteistyön avulla. Proteiinien tarkkoja tehtäviä tässäkin ei tiedetä ja on huomattu, että yhden proteiinin puuttuminen ei suuresti vaikuta vaipan

muodostumiseen. Se viittaa siihen, että useiden proteiinien tehtävät ovat päällekkäisiä (Ahmad & Wilson, 2020).

Kuroutumisen jälkeen vaipan täytyy vielä irrota ympäröivästä kalvosta ja sulkeutua kypsäksi, tartuttavaksi virioniksi. HSV-1 käyttää tähän apunaan kuljettamiseen tarvittavaa solun endosomaalista lajittelukompleksia (ESCRT). HSV-1 värvää ESCRT:n tegumentti- ja kalvoproteiinien avulla ja ESCRT:n avulla vaippa kuroutuu soluelimen luumeniin. Valmiit, soluelimen luumenissa olevat virionit kuljetetaan lopulta mikrotubuluksia pitkin solukalvolle, jossa ne vapautetaan isäntäsolusta. Kypsän virionin sekundaarinen vaippa koostuu useista viruksen koodaamista glykoproteiineista ja muista viruksen proteiineista. Lipidivaippa on peräisin isäntäsolulta ja se sisältää esimerkiksi sfingomyeliiniä ja fosfatidyyliiseriiniä (Ahmad & Wilson, 2020).

3. Herpes simplex virus 1:n elinkaari

HSV-1 kuuluu alfaherpesvirusten alaheimoon yhdessä HSV-2:n ja varicella-zosterviruksen (VZV) kanssa. Nämä virukset ovat ihmisten patogeneja, jotka monistuvat perifeeraalisissa kudoksissa ja tunkeutuvat tartuntakohtaa hermottaviin tuntohermopäätteisiin muodostaen latenssin (Ahmad & Wilson, 2020). Tämän takia viruksen elinkaareen kuuluu sekä lyyttinen että latentti sykli. Hermosoluissa tapahtuvan latentin syklin aikana viruksen geenien ilmentäminen on vähäistä ja tartuttavia viruspartikkeleita ei tuoteta. Virus voi aktivoitua uudelleen ja aloittaa lyyttisen syklin, jonka aikana HSV-1:n geenien ilmentäminen on aktiivisempaa ja tartuttavia viruspartikkeleita voidaan tuottaa. Lyyttinen sykli tapahtuu pääasiassa muualla kuin hermosoluissa, esimerkiksi epiteelisoluissa (Zhu & Viejo-Borbolla, 2021). HSV-1:n solusykli on näytetty kuvassa 3.



Kuva 3: HSV-1 solusykli. (1) HSV:n glykoproteiini D tai B vuorovaikuttaa spesifisten solun reseptoreiden kanssa, mikä johtaa fuusioon solukalvolla (2) ja tapahtuu endosytoosi (ei näytetty kuvassa). Fuusion aikana kapsidi vapautetaan solulimaan yhdessä joidenkin siihen liittyneiden tegumenttiproteiinien kanssa. Samaan aikaan toiset tegumenttiproteiinit, kuten VP16, irtoavat kapsidista. (3) Kapsidi kulkeutuu solun tumaan mikrotubuluksia pitkin, kun UL36 vuorovaikuttaa moottoriproteiinien kanssa. Lineaarinen DNA menee tumaan. (4) Tegumenttiproteiini VP16 menee tumaan yhdessä HCF-1:n ja Oct-1:n kanssa ja aloittaa IE-geenien transkription. (5) IE geenit transloidaan ja ne osallistuvat E-geenien transkriptioon (6), jotka taas osallistuvat viruksen perimän monistamiseen (8). Kun perimän kopioita on tarpeeksi, L-geenien tuotteet johtavat DNA:n pakkaamista kapsideihin (11). Kypsät, DNA:n sisältävät kapsidit (C-kapsidit) poistuvat tumasta niin, että ne kääriytyvät sisemmällä tumakalvolla vaippaan, joka poistuu ulommalla kalvolla, minkä jälkeen ne saavat tegumentin ja sekundaarisen vaipan (ei näytetty kuvassa). Lopulta ne poistuvat isäntäsolusta (14) (Zhu & Viejo-Borbolla, 2021). Kuvan käyttöön on julkaisijan lupa.

3.1. Lyyttinen sykli

3.1.1. *Tunkeutuminen isäntäsoluun ja tumaan*

HSV-1:n solusykli alkaa isäntäsoluun tunkeutumisella. Isäntäsolun kalvoon tarttuminen ja kalvojen fuusio tapahtuu isäntäsolun reseptoreiden ja viruksen glykoproteiinien B, D, H ja L avulla. Näistä gH ja gL esiintyvät heterodimeerinä (Madavaraju et al., 2021) ja gB homotrimeerinä (Vollmer & Grünewald, 2020). Kalvojen fuusio alkaa sillä, että gD sitoutuu reseptoriinsa ja lähettää signaalin gH/gL-dimeerille, joka aktivoituu. Tämän seurauksena myös fusogeeni gB aktivoituu. Erään mallin mukaan tapahtumien kulku voisi olla seuraavanlainen: gD/reseptorikompleksi sekä gH/gL-dimeerin reseptorina toimiva integriini lähettävät signaalin gH/gL:lle, jolloin gL irtoaa gH:sta. Sen seurauksena gH sitoutuu reseptoriinsa, aktivoituu ja lähettää signaaleja gB:lle, jonka konformaatio muuttuu. Kalvojen fuusio tapahtuu gB:n johdolla (Madavaraju et al., 2021).

Kalvojen fuusion seurauksena virus pääsee vapauttamaan nukleokapsidin isäntäsolun solulimaan. Osa viruksen tegumenttiproteiineista irtoaa kapsidista, mutta osa jää paikalleen. Esimerkiksi geenien transkription aloittamiseen tarvittava VP16 irtoaa ja matkustaa tumaan itsenäisesti. pUL36 taas jää kapsidin pinnalle ja auttaa sitä kulkemaan solulimassa tarttumalla moottoriproteiini dyneiiniin. Dyneiini kuljettaa kapsidia mikrotubuluksia pitkin ja näin kapsidi saadaan vietyä tuman lähetyville. Viruksen lineaarisessa muodossa oleva perimä vapautetaan tumahuokosen kautta tumaan, jossa siitä tulee sirkulaarinen. VP16 saapuu tumaan yhdessä HCF-1 ja Oct-1 transkriptiotekijöiden kanssa ja ne muodostavat kompleksin, joka tarttuu α -geenien promoottoriin, jolloin niiden transkriptio alkaa. α -geenien koodaamista seuraa β - ja γ -geenien koodaus (Zhu & Viejo-Borbolla, 2021).

3.1.2. *Perimän monistaminen*

HSV-1:n genomissa on kolme monistamisen aloituskohtaa. Näistä yksi, OriL, sijaitsee U_L -alueella. OriS taas sijaitsee diploidisena U_S -jaksoa rajaavilla toistojaksoilla. OriL on kooltaan suurempi kuin OriS, mutta molemmat aloituskohdat sisältävät samoja komponentteja. Molemmat aloituskohdat pystyvät toimimaan myös yksin, kun toinen aloituskohta puuttuu (Bataille & Epstein, 1995). Perimän monistaminen tapahtuu viruksen monistamiskoneiston avulla. Siihen kuuluu seitsemän eri viruksen proteiinia: aloituskohtaan sitoutuva UL9, yksijuosteiseen DNA:han sitoutuva ICP8, helikaasi-primaasi-kompleksin muodostavat UL5, UL8 ja UL52, DNA-polymeraasi UL30 ja prosessiivisuustekijä UL42. Monistamiseen osallistuu myös joitakin isäntäsolun proteiineja (Packard & Dembowski, 2021).

Perimän monistaminen alkaa UL9:n sitoutumisella monistamisen aloituskohtaan. UL9:llä on helikaasiaktiivisuutta, eli se voi avata kaksoisjuostetta. Tällöin UL9:n ja ICP8:n muodostama kompleksi pääsee sitoutumaan juosteeseen. ICP8 aktivoi polymeeraasia ja helikaasi-primaasi-kompleksia. Helikaasi-primaasi-kompleksi koostuu helikaasista (UL5), primaasista (UL52) ja avustajaproteiinista (UL8). UL5 avaa kaksoisjuostetta lisää, jolloin UL52 pääsee lisäämään RNA-alukkeita DNA-juosteeseen. UL8 auttaa esimerkiksi ohjaamalla kompleksin oikealle paikalle. DNA-polymeeraasi UL30:lla on polymeeraasiaktiivisuuden lisäksi 3'-5' eksonukleasiaktiivisuutta, joten se voi poistaa väärin pariutuneita nukleotideja. Polymeeraasi toimii keskimäärin nopeudella 30 nukleotidia/sekunti. UL42 lisää polymeeraasin affiniteettia viruksen DNA:han, jolloin DNA-synteesi on tehokkaampaa. Isäntäsolun proteiineista esimerkiksi topoisomeraasit, korjausproteiinit (MMR, engl. mismatch repair) ja jotkin transkriptiotekijät osallistuvat viruksen perimän monistamiseen (Packard & Dembowski, 2021).

Perimän monistamisen templaattina toimii sirkulaarinen DNA (Strang & Stow, 2005). Monistaminen tapahtuu niin kutsutulla ”rolling circle”-mekanismilla. Sirkulaarista perimää monistetaan niin, että syntyvät perimät muodostavat yhden suuren konkatemeerin liittyessään yhteen peräkkäin. Konkatemeeri pilkotaan tumassa vielä yksiköiksi silloin, kun uudet perimät pakataan kapsideihin (Bataille & Epstein, 1995).

3.1.3. Tumasta ja isäntäsolusta poistuminen

Nukleokapsidi poistuu tumasta fuusioitumalla ensin sisempään tumakalvoon, jolloin sisemmän ja uloimman tumakalvon väliin muodostuu nukleokapsidin sisältävä vesikkeli. Vesikkeli fuusioituu vielä uloimpaan tumakalvoon, jolloin nukleokapsidi vapautuu solulimaan. Näissä tapahtumissa apuna on viruksen proteiineista koostuva kompleksi NEC (engl. nuclear egress complex). Ensin NEC osallistuu sisemmän tumakalvon pinnalla olevien lamiinien purkamiseen siten, että nukleokapsidi pääsee fuusioitumaan. ESCRT-III-kompleksi auttaa erottamaan sisemmän tumakalvon ja muodostuvan vesikkelin fuusioitumisen loppuvaiheessa. Sen jälkeen vesikkeli fuusioituu ulompaan tumakalvoon. Joillain viruksen glykoproteiineilla saattaa olla rooli tässä, mutta tarkat mekanismit eivät ole vielä tiedossa (Arii, 2021).

Kun nukleokapsidi on poistunut tumasta, sen ympärille muodostuu tegumentti ja sekundaarinen vaippa. Tämän jälkeen kypsä virioni kuljetetaan solukalvolle. Virionia ympäröivä vesikkeli

fuusioituu solukalvoon ja vapauttaa virionin solun ulkopuolelle, jolloin se pääsee tartuttamaan uusia soluja (Ahmad & Wilson, 2020).

3.2. Latentti sykli

Lyyttisen syklin jälkeen uudet virionit voivat tunkeutua hermosoluihin. Siellä nukleokapsidi kuljetetaan dyneiinin avulla aksonia pitkin tumaan, jossa latentti sykli tapahtuu. Viruksen perimä vapautetaan tumaan, jossa se muodostaa sirkulaarisen episomin yhdessä histoniproteiinien kanssa. Latentin syklin aikana lyyttiset geenit pakkautuvat heterokromatiiniksi, eli niiden luenta tukahdutetaan. Sen sijaan latenssiin liittyvien transkriptien (LAT) alue säilyy aktiivisena (Thellman & Triezenberg, 2017).

Latentin syklin alkamisen syyksi on arvioitu sitä, että viruksen geenien transkription aloituksessa tärkeää VP16-tegmenttiproteiinia ei saada kuljetettua tumaan tarpeeksi tehokkaasti. Myös transkription aloittamisessa tärkeiden HCF-1:n ja Oct-1:n kuljettamisen kohdalla on ongelmia (Thellman & Triezenberg, 2017). On huomattu, että hermosoluissa HCF-1:tä havaitaan pääasiassa solulimassa (Kolb & Kristie, 2008). Oct-1:tä taas hiljennetään hermosoluissa (Lakin et al., 1995).

Geenien luenta on hyvin vähäistä latentin syklin aikana ja silloin havaitaankin vain LAT RNA:ta. LAT:t transkriptoidaan genomin LAT-alueelta, joka sijaitsee U_L -aluetta rajaavalla toistojaksolla (Nicoll et al., 2012). Transkription tuloksena syntyy ensin 8,3 kb:n kokoinen LAT RNA, joka sitten pilkotaan pienempiin osiin. Pienemmät, kooltaan 2 kb ja 1,5 kb olevat osat kertyvät tumaan, jossa niillä on rooli latenssin ylläpitämisessä. Ne esimerkiksi vähentävät lyyttisten geenien luenta ja estävät infektoituneiden hermosolujen apoptoosia (De Mello et al., 2016). LAT:t eivät ole täysin välttämättömiä latenssin muodostumiseen, ylläpitoon ja uudelleenaktivointiin. Kuitenkin ilman LAT:ta latenssin muodostumista ei tapahdu yhtä useassa hermosolussa ja uudelleenaktivoituminen ei ole yhtä tehokasta kuin silloin, kun LAT:t toimivat normaalisti (Nicoll et al., 2012).

3.3. Uudelleenaktivoituminen

HSV-1:n uudelleenaktivoitumista edesauttavat monet tekijät, kuten stressi, kuume, UV-säteily ja kudosaauriot. Näiden tekijöiden aiheuttama signaali hermosoluille saa aikaan Oct-1:n

ilmentämisen lisääntymisen ja HCF-1:n kuljettamisen tumaan. Jotta geenien transkriptio ja siten lyyttinen sykli voi alkaa, täytyy vielä tuottaa VP16-proteiinia. α -geenien transkriptio aloittaa lyyttisen syklin (De Mello et al., 2016). On kuitenkin huomattu, että vain hyvin pienessä osassa latentisti infektoiduista hermosoluista tapahtuu uudelleenaktivoitumista (Nicoll et al., 2012).

4. Herpes simplex virus 1 -infektio

HSV-1 on hyvin yleinen virus ja arviolta 67 % alle 50-vuotiaista kantaa sitä elimistössään. Oireiden vakavuus vaihtelee yksilöiden välillä. Osalla oireita ei ole lainkaan, jolloin virusta saattaa levittää tietämättään. HSV-1:n aiheuttamiin oireisiin kuuluu kivuliaat rakkulat ja haavaumat. Infektioalueella voi tuntua kutinaa tai polttelua juuri ennen oireiden puhkeamista. Oireita voi esiintyä esimerkiksi suun ja huulien alueella, silmässä, keskushermostossa ja genitaalialueella. Virus leviää pääasiassa ihokosketuksessa ja aiheuttaa elinikäisen infektion, jota ei voi parantaa, mutta on hoidettavissa (WHO, 2023).

4.1. HSV-1 aivoissa

HSV-1 voi siirtyä muista kudoksista aivoihin ja säilyä siellä latenttina tai jossain vaiheessa aktivoitua ja aiheuttaa pahimmassa tapauksessa herpes simplex enkefaliitin (HSE) eli aivotulehduksen. Se on vakava tauti, jota voidaan hoitaa asikloviirillä, mutta se jättää usein jälkeensä neurologisia seurauksia. Onkin huomattu, että sekä oireeton että oireileva HSE voi johtaa hermoston vaurioihin ja lopulta aivoja rappeuttaviin sairauksiin (Duarte et al., 2019).

HSV-1 voi kulkeutua aivoihin sekä primäärisen infektion seurauksena että uudelleenaktivoitumisten yhteydessä. Primäärisen infektion seurauksena virus kulkeutuu aivoihin usein hajuepiteelin tai veren kautta. Hajuepiteelin kautta tarttuminen voi tapahtua lapsen syntymän yhteydessä, kun hajuepiteeli on kosketuksissa synnytyskanavassa olevien virionien kanssa. Hajuepiteeli on hajuermon kautta yhteydessä hajukäämiin, joka taas on yhteydessä limbiseen järjestelmään (Duarte et al., 2019). Erään tutkimuksen mukaan HSV-1 voi tarttua virusta kantavasta hiirestä sikiöön myös istukan kautta ja jälkeläisten havaittiin kantavan viruksen proteiineja ja DNA:ta etenkin hippokampuksen alueella (Burgos et al., 2006). Kun HSV-1 aktivoituu uudelleen perifeeraalisissa kudoksissa, se saattaa hermosoluja pitkin kulkeutua keskushermoston soluihin. Siellä virus aiheuttaa aivojen rappeutumista monin

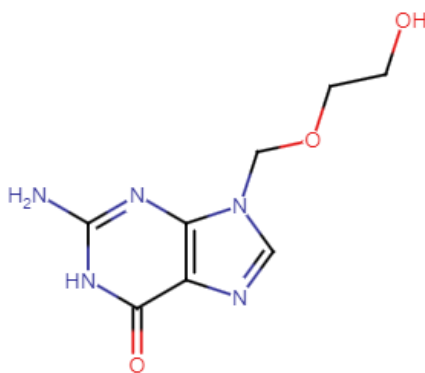
eri tavoin, kuten lisäämällä hermosolujen apoptoosia. Virus aiheuttaa myös mitokondrioiden toimintahäiriötä estämällä elektroninsiirtoketjun toimintaa (Duarte et al., 2019).

4.2. Hoito

HSV-1-infektiota hoidetaan antiviraaleilla, jotka ovat usein nukleosidianalogeja. Niiden toimintaperiaatteeseen kuuluu viruksen DNA-polymeraasin inhiboiminen, jolloin viruksen perimän monistaminen estyy. Nukleosidianalogeista eniten käytetään asikloviiria (kuva 3). Antiviraalien lisäksi on olemassa kokeellisia rokotteita herpes simplex viruksia vastaan, mutta niiden käyttäminen ei ole vielä ajankohtaista (Sadowski et al., 2021).

4.2.1. Asikloviiri

Asikloviiri (ACV) käyttää hyväkseen kahta viruksen entsyymiä, TK:a ja DNA-polymeraasia, inhiboidessaan viruksen toimintaa. Ensin viruksen TK fosforyloi ACV:n, jolloin syntyy ACV-monofosfaatti (ACV-MP). Seuraavaksi solun guanosini-5'-monofosfaatti (GMP) -kinaasi lisää toisen fosfaatin, jolloin syntyy ACV-difosfaatti (ACV-DP). Kolmannen fosfaatin liittämiseksi solun nukleosidi-5'-difosfaatti (NDP) -kinaasi, jolloin syntyy aktiivinen ACV-trifosfaatti (ACV-TP), joka voidaan liittää viruksen DNA-polymeraasin toimesta syntyvään DNA-juosteeseen (Protto et al., 2022). ACV-TP:n jälkeen juosteeseen voidaan vielä liittää uusia nukleotideja, mutta ACV-TP:ta ei voida korjata eksonukleaasiaktiivisuuden avulla (Sadowski et al., 2021). Asikloviiri toimii näin ns. itsemurhainhibiittorina (Furman et al., 1984).



Kuva 3: Asikloviirin rakenne. Fosforit liitetään OH-ryhmään.

4.2.2. Rokote

Useimmat HSV-rokotteet tehdään ensisijaisesti HSV-2:ta vastaan, mutta niistä voi samalla olla hyötyä myös HSV-1:tä vastaan. Kehitteillä on sekä ehkäiseviä että terapeuttisia rokotteita.

Eräitä yleisiä rokotteissa käytettyjä tuotteita ovat glykoproteiinien alayksiköt (Johnston et al., 2016). Esimerkiksi gD on hyvä kohde, koska sillä on tärkeä rooli viruksen tunkeutuessa isäntäsoluun. Glykoproteiinien lisäksi rokotteita on kehitelty todella laajalti erilaisia kohteita, kuten vaipan, kapsidin, tegumentin sekä perimän monistamiseen ja säätelyyn liittyviä proteiineja käyttäen (Krishnan & Stuart, 2021).

5. Alzheimerin tauti

Alzheimerin tauti on yleisin syy dementiaan, aiheuttaen 50–75 % tapauksista. Alois Alzheimer ilmoitti ensimmäisestä tapauksesta vuonna 1907, minkä jälkeen tieto sairaudesta on lisääntynyt valtavasti, mutta parannuskeinoa ei ole vielä löydetty (Lane et al., 2018). Hyväksytyjä hoitokeinoja ovat asetyylikoliiniesteraasin estäjät ja NMDA-antagonistit (Weller & Budson, 2018). Riskiin sairastua Alzheimerin tautiin vaikuttavat esimerkiksi ikä, geneettiset tekijät kuten ApoE- ϵ 4-alleeli, päävammat, infektiot ja ympäristötekijät (Breijyeh & Karaman, 2020).

5.1. Tautimekanismit

Alzheimerin taudin taustalla on huomattu olevan erilaisia muutoksia aivoissa ja aivojen hermosoluissa. Niitä ovat solujen ulkopuolella β -amyloidin muodostamat plakit sekä solujen sisällä hyperfosforyloituneen Tau-proteiinin muodostamat hermosäiekimput (Breijyeh & Karaman, 2020). Nämä tekijät johtavat synapsien, dendriittien ja lopulta hermosolujen kuolemaan (Hampel et al., 2018). Alzheimerin taudin syntyyn vaikuttaakin moni tekijä, mutta sille on olemassa kaksi hypoteesia: kolinerginen hypoteesi ja amyloidihypoteesi (Breijyeh & Karaman, 2020).

5.1.1. Kolinerginen hypoteesi

Kolinergisen hypoteesin mukaan kolinergisten hermosolujen rappeutuminen ja vähentyminen aiheuttaa muistin ja kognitiivisten toimintojen muutoksia. Kolinergisten hermosolujen vähentyminen vähentää tärkeän välittäjäaineen asetyylikoliinin synteesiä aivoissa. Tätä tilaa hoidetaan asetyylikoliiniestaraasi-inhibiittoreilla (Breijyeh & Karaman, 2020).

5.1.2. Amyloidiplakit

β -amyloidi on peptidi, joka syntyy amyloidibeetaproteiinin esiasteesta (APP) β - ja γ -sekretaasien avulla. Lopullinen β -amyloidi on pääasiallisesti kooltaan joko 40 tai 42

aminohappoa. β -amyloidia tuotetaan myös terveissä aivoissa ja sillä on rooli synaptisessa plastisuudessa ja muistissa. Myös β -amyloidin muodostamia plakkeja löytyy terveistä aivoista ja niiden määrä kasvaa iän myötä. Tämä viittaa siihen, että amyloidiplakit eivät yksin johda Alzheimerin taudin puhkeamiseen (Chen et al., 2017).

β -amyloidimonomeerit voivat muodostaa monenlaisia rakenteita: oligomeerejä, protofibrillejä ja amyloidifibrillejä. Näistä amyloidifibrillit ovat suuria ja liukenemattomia ja voivat siten muodostaa plakkeja. Kahden pääasiallisen β -amyloidi-isoformin, A β 40:n ja A β 42:n, konformaatioiden välillä on huomattu eroja NMR spektroskopian avulla. A β 42:n C-terminus on rakenteeltaan monimutkaisempi ja sen aminohapposekvenssin tähteet 31–34 ja 38–41 muodostavat β -lenkin, joka vähentää C-terminuksen joustavuutta. Nämä erot johtavat siihen, että A β 42 on vähemmän liukoinen ja siten suuremmassa roolissa amyloidiplakkien muodostumisessa (Chen et al., 2017).

On huomattu, että β -amyloidin liukenemattomien muotojen lisäksi myös liukoilla muodoilla on neurotoksisia ominaisuuksia. Liukoinen β -amyloidi voi sitoutua lukuisiin solun ulkopuolisiin molekyyliin, kuten metalleihin, solun pinnan reseptoreihin ja solukalvoihin. Oligomeerien sitoutuminen siirtymämetalleihin, kuten Cu, Zn ja Fe, aiheuttaa metallista riippuvaisten plakkien muodostumista. β -amyloidin oligomeerien on myös ehdotettu lisäävän mitokondrioiden toimintahäiriötä ja oksidatiivista stressiä, mikä aiheuttaa neurotoksisuutta (Chen et al., 2017).

5.1.3. Tau-proteiini

Tau on mikrotubuluksiin liittyvä proteiini, jota ilmennetään pääasiassa hermosoluissa. Taun tehtäviin on ehdotettu kuuluvan mikrotubuluksien kokoamisen ja stabiiliuden edistäminen. Taun väärin silmukointi ja erityisesti pidempien Tau-isoformien muodostuminen voi johtaa tauopatioihin eli sairauksiin, joihin liittyy taun epänormaali kertyminen hermosoluihin (Bakota & Brandt, 2016). β -amyloidin kertyminen muuttaa kinaasi/fosfataasiaktiivisuutta, mikä johtaa taun hyperfosforylaatioon (Chen et al., 2017). On huomattu, että fosforyloitunut Tau sitoutuu huonommin mikrotubuluksiin ja lisää sitoutumista toisiin Tau-proteiineihin muodostaen hermosäiekimppuja (NFT) (Naseri et al., 2019).

5.1.4. ApoE- ϵ 4-alleeli

Apolipoproteiini E (ApoE) on glykoproteiini, jonka tehtävä on kuljettaa lipidejä ympäri kehoa. Kromosomissa 19 sijaitsevia ApoE-alleeleja on olemassa kolme erilaista: ϵ 2, ϵ 3 ja ϵ 4. Näistä

$\epsilon 4$ on tunnettu Alzheimerin taudin riskitekijä. Eri alleelien tuottamat proteiinit eroavat toisistaan vain aminohapoissa 112 ja 158 niin, että E2:lla paikoilla on kaksi kystiiniä, E3:lla kysteiini ja arginiini ja E4:llä kaksi arginiinia. Nämä vaihtelut vaikuttavat suuresti ApoE:n toimintaan. Aivoissa ApoE:tä ilmentävät esimerkiksi astrozyytit ja aktivoituneet mikroglia-solut. Sillä on tärkeä tehtävä kolesterolin ja muiden lipidien kuljettamisessa hermosoluihin. ApoE:n on huomattu esiintyvän yhdessä β -amyloidin kanssa amyloidiplakeissa ja on arvioitu, että ApoE vaikuttaa β -amyloidifibrillien muodostumiseen ja amyloidin kerrostumiseen. Suurin vaikutus tähän on E4:llä ja se vaikuttaa myös laskevasti ikään, jolloin plakkien muodostuminen alkaa. ApoE:llä on rooli myös plakkien hajottamisessa. ApoE:n alhaisen tiheyden lipoproteiini-reseptoriin (LDLR) liittyvä proteiini 1 (LRP1) ohjaa β -amyloidin poistamista $A\beta$ /ApoE-kompleksin kautta. ApoE4 aiheuttaa kompleksissa epävakautta, mikä johtaa ongelmiin β -amyloidin poistamisessa (Raulin et al., 2022).

5.2. Biomarkkerit

Alzheimerin taudin luonteen takia taudin aikainen diagnosointi on tärkeää. Tällöin hoitokeinot toimivat tehokkaimmin. Erilaisten biomarkkereiden avulla pyritään siihen, että tauti voitaisiin diagnosoida jo ennen minkäänlaisten oireiden ilmaantumista. Niistä on hyötyä taudin diagnosoimisessa, hoitamisessa ja sen etenemisen seuraamisessa. Uusien biomarkkereiden löytyminen saattaisi johtaa uusien, tehokkaampien hoitokeinojen kehittämiseen. Biomarkkereita voidaan etsiä esimerkiksi aivo-selkäydinnesteestä (CSF), veren plasmasta ja aivoja kuvaamalla (Mahaman et al., 2022).

CSF on hyvä lähde biomarkkereille, koska se on hyvin läheisessä yhteydessä aivoihin ja sen proteiinisäilytys on vähemmän laimentunut kuin esimerkiksi veressä. On huomattu, että Alzheimerin tautia sairastavien CSF:ssä tauin kokonaismäärä (tTau) ja fosforyloituneen tauin (pTau) määrä ovat kasvaneet. tTau:n lisääntyminen on yhteydessä hermosolujen rappeutumiseen. Myös pTau, erityisesti pTau181 ja pTau231 ovat läheisessä yhteydessä aivojen Tau-patologiaan. Tautia sairastavien CSF:ssä on huomattu myös huomattavasti pienempi määrä $A\beta_{42}$:ta. On huomattu myös yhteys vähentyneeseen $A\beta_{42}$:n ja lisääntyneeseen plakkien muodostumisen välillä. Pelkän $A\beta_{42}$:n tai tauin määrän sijaan $A\beta_{42}/A\beta_{40}$ -suhteen ja muiden CSF-biomarkkereiden mittaaminen tuottaa parempia tuloksia Alzheimerin taudin diagnosoimisessa verrattuna vain yhden biomarkkerin käyttämiseen (Mahaman et al., 2022).

Verrattuna CSF:ään ja kuvausmenetelmiin, veri on helpommin ja nopeammin saatavilla. Lisäksi verinäytteiden ja niissä olevien biomarkkereiden tutkiminen suurissa määrin on kätevämpää. Näiden syiden takia verestä tutkittavien biomarkkereiden löytäminen olisi hyödyllistä (Mahaman et al., 2022). Erään tutkimuksen mukaan erityisesti pTau181 on lupaava plasman biomarkkeri. Huomattiin, että pTau181 ja joissain määrin A β 42/A β 40 korreloivat aivojen harmaan aineen vähenemiseen. Lupaavista tuloksista huolimatta CSF:n ja kuvausmenetelmien avulla saatavat tulokset ovat vielä tarkempia (Simrén et al., 2021).

Alzheimerin taudin tunnistamiseksi voidaan käyttää erilaisia kuvantamismenetelmiä, kuten positroniemissiotomografia eli PET-kuvaus ja magneetti- eli MRI-kuvaus. PET-kuvauksessa käytetään lyhytikäisiä säteileviä merkkiaineita, joiden avulla voidaan tutkia aivojen metaboliaa eri alueilla. Esimerkiksi PET-kuvauksen avulla havaittava metabolian väheneminen aivojen pihtipoimun taka-alueella sekä etukiilan alueella on yhdistetty Alzheimerin tautiin. PET-kuvausta kehitellään myös A β :n, taun ja mikroglia-solujen havaitsemiseen. MRI- eli magneettikuvausta käytetään aivojen rakenteen tutkimiseen ja toiminnan arviointiin. Aivojen eri osat, kuten harmaa aine, valkea aine ja CSF vapauttavat eri tavalla energiaa kuvauksessa käytettävässä magneettikentässä. Tämän ominaisuuden avulla voidaan tutkia potilaiden aivojen surkastumista (Mahaman et al., 2022).

5.3. Hoito

5.3.1. Asetylikoliiniesteraasi-inhibiittorit

Asetylikoliiniesteraasi-inhibiittorit inhiboivat nimensä mukaan entsyymi asetyylikoliiniesteraasia (AChE). AChE on seriinihydrolaasi, jonka tehtävä on hydrolysoida eli pilkkoa asetyylikoliinia asetaatiksi ja koliiniksi ja siten pysäyttää hermoimpulssin välittyminen kolinergisissä synapseissa. AChE-inhibiittorit inhiboivat AChE:a, jolloin se ei voi pilkkoa asetyylikoliinia. Tällöin asetyylikoliinin määrä ja vaikutusaika kasvavat, mikä helpottaa Alzheimerin taudin oireita. AChE-inhibiittorit voivat reagoida joko reversiibelisti tai irreversiibelisti. Alzheimerin taudin hoidossa käytettävät AChE-inhibiittorit ovat reversiibeileitä ja tällä hetkellä hyväksytyjä inhibiittoreita ovat donepetsiili, rivastigmiini ja galantamiini. AChE:n aktiivisesta kohdasta löytyy anioninen osa, johon galantamiini sitoutuu ja esterinen osa, johon rivastigmiini sitoutuu. Lisäksi lähettyviltä löytyy perifeeraalinen anioninen osa, johon donepetsiili sitoutuu (Colovic et al., 2013).

5.3.2. *NMDA-antagonistit*

NMDA-reseptorit ovat glutamaattireseptoreihin kuuluvia ionikanavia, jotka päästävät lävitseen kationeja, kuten Ca^{2+} . NMDA-reseptoreiden liiallinen aktivointi johtaa liian korkeaan kalsiumin määrään soluissa ja glutamaatin ylistimulaatioon. Tämä johtaa synapsien toimintahäiriöihin, hermosolujen kuolemaan ja kognitiivisten toimintojen heikkenemiseen. NMDA-antagonistit estävät NMDA-reseptoreiden yliaktivoitua ja siten siitä johtuvia haittavaikutuksia. NMDA-antagonisteista memantiinia käytetään Alzheimerin taudin hoidossa. Memantiinia voidaan käyttää Alzheimerin taudin hoidossa yksistään tai yhdessä AChE-inhibiittorin kanssa (Breijyeh & Karaman, 2020).

6. HSV-1:n yhteys Alzheimerin tautiin

Herpesvirusten yhteyttä Alzheimerin tautiin ehdotettiin jo 80-luvulla, kun Ball (1982, 1986) arvioi HSV-1:n voivan siirtyä perifeeraalisista hermoista keskushermostoon, samoille alueille kuin Alzheimerin taudin vaikutus sijoittuu (Ball, 1982, 1986). Näitä alueita ovat temporaali- ja frontaalialueet sekä hippokampus. On arvioitu, että erityisesti HSV-1:n toistuva uudelleenaktivoituminen ja sen aiheuttama infektio aivoissa aiheuttaa samankaltaisia hermosolujen vaurioita kuin Alzheimerin tauti. Yhteyden olemassaolosta on olemassa ristiriitaisiakin tutkimustuloksia, mutta uudet tutkimukset viittaavat yhä enemmän yhteyden olemassaolon suuntaan (Marcocci et al., 2020).

6.1. HSV-1 ja ApoE- ϵ 4-alleeli

Alzheimerin taudin esiintyvyys on erityisen suurta niillä, jotka kantavat sekä HSV-1:tä että ApoE- ϵ 4-alleelia. Ne siis mahdollisesti yhdessä lisäävät taudin riskiä (Itzhaki, 2004). Eräessä tutkimuksessa huomattiin, että sekä ApoE- ϵ 4:n että viruksen kantajilla oli kolminkertainen riski sairastua Alzheimerin tautiin verrattuna niihin, jotka kantoivat riskialleelia, mutta eivät virusta. Merkittävää yhteyttä HSV-1:n ja Alzheimerin taudin välillä ei huomattu silloin, kun kohdehenkilö ei kantanut riskialleelia. Alleeli on siis oleellinen osa HSV-1:n ja Alzheimerin taudin välisessä yhteydessä (Linard et al., 2020). Näitä tuloksia tukee myös vuonna 2019 tehty tutkimus (Lopatko Lindman et al., 2019).

HSV-1:n ja ApoE- ϵ 4-alleelin välinen yhteys ei ole vielä tarkasti tiedossa. Burgos työtovereineen (2007) selvittivät, että ApoE-genotyypillä on vaikutus siihen, kuinka tehokkaasti HSV-1 siirtyy äidiltä jälkeläisiin. Tutkimuksessa käytettiin hiiriä, joiden ApoE-alleelien määrät olivat erit: kaksi alleelia (+/+), yksi alleeli (+/-) tai nolla alleelia (-/-). Tutkimukseen osallistui myös hiiriä, joiden alleelikoostumukset olivat erit: kaksi ϵ 4-alleelia (ϵ 4/ ϵ 4), ϵ 4- ja ϵ 3-alleelit (ϵ 4/ ϵ 3) sekä kaksi ϵ 3-alleelia (ϵ 3/ ϵ 3). Suurempi määrä ApoE:tä johti suurempaan määrään HSV-1 DNA:ta. Eniten DNA:ta löytyi siis niiltä, joiden genotyyppi oli +/+ ja vähiten niiltä, joiden genotyyppi oli -/-. Tulokset olivat samankaltaiset eri alleelien välillä niin, että ϵ 4/ ϵ 4 johti suurimpaan DNA:n määrään ja ϵ 3/ ϵ 3 pienimpään. Myös jälkeläisten sukupuolella oli vaikutus tuloksiin niin, että naaraspuolisten jälkeläisten elimistöstä löytyi kaikissa tapauksissa enemmän HSV-1:n DNA:ta verrattuna uroshiiriin (Burgos et al., 2007).

6.2. HSV-1 ja Alzheimerin taudin muut riskitekijät

ApoE- ϵ 4-alleelin lisäksi on olemassa useita muitakin Alzheimerin taudin riskiä lisääviä genejä. Carter (2013) selvitti HSV-1:n ja useiden eri neurologisten sairauksien geneettisiä yhteyksiä. Hän keräsi ja listasi Alzheimerin taudille altistavat geenit sekä tiedot HSV-1:n ja isäntäsolujen välisistä vuorovaikutuksista ja vertaili niitä keskenään. Tutkimuksen tulokset viittaavat siihen, että HSV-1:n vuorovaikutus ja sitoutuminen altistavien geenien koodaamien proteiinien kanssa saattaa lisätä sairauden riskiä. Proteiineja ja mekanismeja, joihin HSV-1 vaikuttaa, ovat esimerkiksi peroksisomien proliferaatiossa aktivoituvat reseptorit (PPAR:t) ja Notch-signaalireitti. Näistä PPAR:t säätelevät esimerkiksi oksidatiivista stressiä ja APP:n prosessointia. Notch-signaali taas vaikuttaa esimerkiksi aivojen kehitykseen, plastisuuteen ja neurogeneesiin (Carter, 2013).

Ikääntyminen on Alzheimerin taudin suurin riskitekijä. Samaan aikaan riski sille, että kantaa HSV-1:n DNA:ta aivoissa kasvaa iän myötä. Vanhetessa myös immuunipuolustus heikkenee, mikä johtaa siihen, että HSV-1:n uudelleenaktivoituminen lisääntyy. Viruksen toistuva uudelleenaktivoituminen taas aiheuttaa vaurioita aivoissa (Hogestyn et al., 2018).

Eräs Alzheimerin taudin tunnusmerkki on keskushermoston krooninen tulehdus, jota johtavat hermoston makrofageina toimivat mikroglia-solut ja useat tulehdusvälittäjäaineet. Alzheimerin

taudissa mikroglia solut aktivoituvat β -amyloidin vaikutuksesta, mikä johtaa siihen, että mikroglia solut fagocytoivat β -amyloidia, kunnes laajenevat eivätkä enää pysty käsittelemään sitä. Mikroglia solujen jatkuva aktivointi ylläpitää tulehdusta, mikä johtaa hermosolujen vaurioihin (Ferrari & Sorbi, 2021). Tulehdus altistaa HSV-1:n uudelleenaktivoitumiselle, mikä edelleen aiheuttaa immuunipuolustuksen aktivaatiota (Hogestyn et al., 2018), jolloin mikroglia solut tuottavat huomattavia määriä tulehdusvälittäjäaineita, kuten TNF- α ja IL-1 β . Mikroglia solujen tuottamat sytokiinit ovat toksisia hermosoluille, mikä saattaa olla taustatekijä HSV-1:n aiheuttamaan vahinkoon aivoissa (Rock et al., 2004). IL-1 β on proinflammatorinen sytokiini, jota on huomattu suuremmissa määrin muistisairailta potilailta verrattuna terveisiin. Sen liiallinen tuottaminen on siis luultavasti yksi tekijä Alzheimerin taudin etenemisessä aiheuttaen synapsien toimintahäiriöitä (Li Puma et al., 2023).

6.3. HSV-1:n vaikutus β -amyloidiin

6.3.1. HSV-1 ja APP

Useissa tutkimuksissa on huomattu, että β -amyloidin tuottamiseen ja kertymiseen liittyy hermosolujen lisääntynyt herkkyys ja synapsien lisääntynyt aktiivisuus, mikä johtaa ongelmiin solunsisäisen kalsiumin signaloinnissa ja homeostaasissa. Eräässä tutkimuksessa tutkittiin, löytyisikö tämän mekanismin kautta yhteyttä HSV-1:n ja Alzheimerin taudin väliltä. *In vitro* -tutkimuksessa rotan kortikaalihermosoluja infektoidiin HSV-1:llä, minkä jälkeen niiden elektrofysiologisia ominaisuuksia sekä kalsiumin signalointia ja homeostaasia tutkittiin. Huomattiin, että HSV-1 lisää depolarisaatiota, luultavasti solukalvoon sitoutuessaan. HSV-1:n huomattiin myös laukaisevan solunsisäisiä kalsiumpulsseja ja nostavan solunsisäisen kalsiumin määrää, mikä voisi sitten vaikuttaa β -amyloidipatologiaan. Tutkimuksessa on myös yhdistetty treoniini 668:n (Thr668) fosforylaatio APP:n käsittelyyn ja metaboliaan. HSV-1:n läsnäolo lisäsi fosforyloidun APP:n (pAPP) määrää solukalvojen depolarisaation kautta. Infektoituneissa soluissa havaittiin myös suurempia määriä A β 42:ta erityisesti aksonikeossa ja perinukleaarisella alueella (Piacentini et al., 2011).

HSV-1 hyödyntää isäntäsolun moottoriproteiineja ja muuta kuljetuskoneistoa anterogradisessa kulkeutumisessa eli liikkeessaan kohti synapsia. Satpute-Krishnan työtovereineen (2003) tutki HSV-1:n nopeaa anterogradista kuljetusta ja he arvelivat, että HSV-1 hyödyntää moottoriproteiini kinesiiniä käyttämällä apunaan moottorireseptorina toimivaa APP:tä.

Tutkimalla liikkuvien viruspartikkeleiden molekulaarista koostumusta selvisi, että APP oli tärkeä osa anterogradisesti liikkuvissa viruspartikkeleissa. APP-molekyylejä löytyi keskimäärin 1000 tai enemmän yhtä viruspartikkelia kohti (Satpute-Krishnan et al., 2003).

Eräissä tutkimuksissa huomattiin, että HSV-1-infektio vaikuttaa suuresti APP:n jakautumiseen solussa. Infektoituja ja infektoimattomia soluja verrattiin, ja huomattiin, että infektoimattomassa solussa APP näytti sijoittuvan trans-Golgi-verkoston alueelle, kun taas infektoidussa solussa se oli jakautunut ympäri solua. Lisätutkimuksissa huomattiin, että APP ja HSV-1 sijoittuivat samoille alueille. Havainto varmistettiin uusilla kokeilla ja huomattiin, että HSV-1 ja APP liikkuvat yhdessä soluliman poikki. Huomattiin myös, että virus liikkuu suuremmalla todennäköisyydellä ollessaan vuorovaikutuksessa APP:n kanssa. APP taas liikkuu hitaammin infektoituneissa soluissa ja se kulkeutuu väärille alueille. Väärille alueille kulkeutuminen saattaa johtaa lisääntyneeseen APP:n proteolyysiin ja lopulta suurempaan β -amyloidin määrään ja solun vaurioihin (Cheng et al., 2011).

6.3.2. PKR-mekanismi

Kaksijuosteisen RNA:n aktivoima proteiinkinaasi R (PKR) aktivoituu virusinfektion aikana. Kun PKR tunnistaa N-terminuksellaan viruksen kaksijuosteista RNA:ta, tapahtuu autofosforylaatiota useissa kohdissa. Aktiivinen PKR fosforyloi eukaryootin aloitustekijä 2α :n (eIF- 2α), jonka tehtävä on katalysoida translaation aloittamista kiinnittämällä ensimmäisen Met-tRNA:n ribosomiin. Kun eIF- 2α fosforyloituu kohdassa seriini 51 (Ser51), se ei enää katalysoi translaation alkua. PKR siis puolustaa infektoitunutta solua estämällä proteiinisynteesiä. Tämän mekanismin sivuvaikutuksena tapahtuu kuitenkin β -amyloidin tuottoa, kun fosforyloitu eIF- 2α aktivoi β -sekretaasi 1:tä ja siten APP:n hajottamista β -amyloidiksi (ILL-Raga et al., 2011).

Eräissä tutkimuksissa selvisi, että HSV-1-infektio aktivoi PKR:ää ja sitä mukaa lisäsi fosforyloidun eIF- 2α :n ja β -sekretaasi 1:n määriä. Tutkimuksessa vertailtiin myös PKR:n aktivaatiota Alzheimerin tautia sairastaneen ja muistisairauksista terveen henkilön aivoissa. Kummankin näytteestä löytyi HSV-1-infektio, mutta PKR:n aktivoitumista havaittiin vain Alzheimerin tautia sairastaneen näytteestä. Terveissä aivoissa HSV-1 pystyy välttämään PKR:n aktivoitumista liittämällä kaksijuosteiset RNA:t viruksen proteiineihin, mutta Alzheimeria

sairastavilla tämä mekanismi saattaa toimia puutteellisesti. Erot PKR:n aktivoitumisessa Alzheimerin tautia sairastavan ja terveen aivoissa saattavat johtua myös geneettisistä tekijöistä. HSV-1 ei ole ainoa virus, joka aiheuttaa β -amyloidin tuottamista tällä tavalla. Sen merkitys on kuitenkin suuri johtuen sen yleisyydestä ikääntyneiden ihmisten keskushermostossa (ILL-Raga et al., 2011).

6.3.3. *Autofagia*

Autofagiolla tarkoitetaan solun omien rakenteiden ja osien hajottamista. Talloczy työtovereineen (2006) selvitti, hajotetaanko HSV-1-partikkeleita autofagian kaltaisella mekanismilla, xenofagiolla. Tutkimuksessa käytettiin autofagiaan kykeneviä ja kykenemättömiä soluja sekä villityypin HSV-1:tä ja HSV-1:tä, jolta puuttui autofagiaa inhiboiva neurovirulenssiproteiini ICP34.5. Tulokset osoittivat, että xenofagiolla on osuus HSV-1:n hajottamisessa ja että ICP34.5 inhiboi sitä (Tallóczy et al., 2006) sitoutumalla autofagiaproteiini bekliini 1:een (Orvedahl et al., 2007). Eräässä tutkimuksessa huomattiin, että PKR:n signaalireitti on tärkeässä roolissa viruksen aiheuttamassa autofagiassa ja että ICP34.5 inhiboi myös sen aiheuttamaa proteiinisynteesin estoa (Tallóczy et al., 2002). ICP34.5 muodostaa C-terminuksensa kautta kompleksin proteiini fosfataasi α :n kanssa ja ohjaa sitä defosforyloimaan eIF-2 α :n. Tällöin solun proteiinisynteesi voi jatkua normaalisti (He et al., 1997).

Santana työtovereineen (2012) selvitti, että β -amyloidia kertyy autofagosomeihin HSV-1:n infektoimissa neuroblastomasoluissa. Jotta saatiin varmistettua, että kertymisen aiheuttaa juuri HSV-1, käytettiin kahta HSV-1-infektion inhibiittoria. Tulokset osoittivat, että HSV-1 aiheuttaa kertymisen, ja että sitä voi tapahtua jo ennen viruksen monistamisen alkua. β -amyloidin sijainti autofagosomeissa varmistettiin tutkimalla β -amyloidin ja autofagiamarkkeri LC3:n sijaintia solussa. Tutkimuksessa selvisi myös, että β -amyloidin täyttämät autofagiset vesikkelit eivät koskaan päätyneet lysosomeihin, mikä viittaa ongelmiin autofagosomien ja lysosomien fuusiossa HSV-1:n infektoimissa soluissa. Se taas johtaa siihen, että β -amyloidin hajottaminen autofagian avulla ei toimi, mikä johtaa β -amyloidin kertymiseen ja Alzheimerin taudin patologiaan (Santana et al., 2012).

6.4. HSV-1:n vaikutus Tau-proteiiniin

Tau-proteiinin hyperfosforyloituminen ja NFT:iden muodostuminen on tunnettu Alzheimerin taudin mekanismi. Wozniak työtovereineen (2009) tutki HSV-1:n aiheuttamaa taun fosforylaatiota ihmisen neuroblastoomasoluissa. Tulokset osoittivat, että HSV-1 lisää fosforylaatiota Alzheimerin taudille tyypillisissä kohdissa, Thr212 ja Ser214. Fosforylaatiota todettiin myös kohdissa Ser202, Ser396 ja Ser404. Infektoituneissa soluissa havaittiin vasta-aineiden avulla myös kasvanut määrä väärin laskostunutta tautia ja tTautia. Samassa tutkimuksessa tutkittiin mekanismeja HSV-1:n aiheuttaman fosforylaation taustalla. Fosforylaatiot kohdissa Ser202, Thr212, Ser396 ja Ser404 tapahtuvat glykogeenisyntaasi 3 β :n (GSK3 β) katalysoimana ja kohdassa Ser214 proteiinikinaasi A:n (PKA) avulla. Tutkimuksessa tutkittiin siten näiden entsyymien aktiivisuuden muutoksia HSV-1-infektion seurauksena ja huomattiin, että molempien aktiivisuus kasvoi. Infektio aiheutti myös mahdollisesti PKA:n relokisaatiota (Wozniak et al., 2009).

Hyperfosforyloitunutta tautia voidaan havaita mikrotubulusten läheisyyden lisäksi muuallakin solussa. Álvarez työtovereineen (2012) osoitti, että HSV-1-infektio johtaa hyperfosforyloituneen taun kertymiseen tumassa ja erityisesti alueilla, joilla tapahtuu HSV-1:n DNA:n monistamista. Hyperfosforyloituneen taun roolia tumassa ei vielä tunneta, mutta sen sijoittuminen viruksen DNA:n monistamisen alueille viittaa jonkinlaisen roolin olemassaoloon (Álvarez et al., 2012).

6.5. Tutkimuksen hyödyt

HSV-1:n ja Alzheimerin taudin väliltä löytyneet yhteydet ovat johtaneet tutkimuksiin HSV-1:n hoidossa käytettävien antiviraalien käyttämisestä Alzheimerin taudin hoidossa ja ehkäisyssä. Hoitokeinot kohdistuisivat erityisesti potilaisiin, joilla HSV-1 uusiutuu toistuvasti. Kliinisiä tutkimuksia erityisesti valasikloviirin tehosta HSV-1:tä kantavilla Alzheimerin taudin potilailla on suoritettu. Valasikloviiri on asikloviirin johdannainen, joka syntyy asikloviirin ja valiinin esterifikaatiolla. Valasikloviiri imeytyy paremmin kuin asikloviiri, mikä tekee siitä tehokkaamman. Kehossa se kuitenkin muuttuu asikloviiriksi (Protto et al., 2022).

Eräessä tutkimuksessa (NCT02997982) 33 potilaalle annettiin 1,5–3,0 g valasikloviiriä päivässä neljän viikon ajan. Potilaiden kognitiivisia toimintoja, Alzheimerin taudin CSF biomarkkereita ja HSV-1:n aktiivisuutta PET-kuvauksen avulla tutkittiin sekä ennen hoitajaksoa että sen jälkeen. Tutkimuksen tuloksia ei ole vielä julkaistu ja pienen osallistujamäärän, lyhyen hoitajakson ja lume-kontrollien puuttumisen vuoksi laajempia tutkimuksia tulisi suorittaa. Valasikloviirin käyttöä Alzheimerin taudin potilailla on tutkittu myös Helsingin yliopistossa, mutta tutkimusta ei ole vielä julkaistu. Laajempi ja pidempikestoinen tutkimus (NCT03282916) aloitettiin vuonna 2018. Tutkimuksiin osallistui 130 potilaista, joilla oli lievän vaiheen Alzheimerin tauti. Tutkimuksessa käytettiin lume-kontrolleja ja valasikloviiriä annettiin potilaille päivittäin 78 viikon ajan. Vaikutuksia tutkittiin kognitiivisia toimintoja arvioimalla ja tutkimalla β -amyloidin kertymistä ja taun fosforylaatiota PET-kuvauksella. Useita muitakin kokeita tehtiin luotettavampien tulosten aikaansaamiseksi. Samat tutkijat aloittivat vuonna 2021 tutkimuksen myös valasikloviirin tehosta lievän kognitiivisen heikentymisen (MCI) hoidossa. Lisää tutkimusta tarvitaan HSV-1:n ja Alzheimerin taudin välisestä yhteydestä ja sen hyödyntämisestä taudin hoidossa ja ehkäisyssä (Protto et al., 2022).

7. Kirjallisuusviitteet

- Ahmad, I., & Wilson, D. W. (2020). HSV-1 Cytoplasmic Envelopment and Egress. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(17), 5969. <https://doi.org/10.3390/ijms21175969>
- Álvarez, G., Aldudo, J., Alonso, M., Santana, S., & Valdivieso, F. (2012). Herpes simplex virus type 1 induces nuclear accumulation of hyperphosphorylated tau in neuronal cells. *Journal of Neuroscience Research*, 90(5), 1020–1029. <https://doi.org/10.1002/jnr.23003>
- Arii, J. (2021). Host and Viral Factors Involved in Nuclear Egress of Herpes Simplex Virus 1. *Viruses*, 13(5), 754. <https://doi.org/10.3390/v13050754>
- Bakota, L., & Brandt, R. (2016). Tau Biology and Tau-Directed Therapies for Alzheimer's Disease. *Drugs*, 76(3), 301–313. <https://doi.org/10.1007/s40265-015-0529-0>
- Ball, M. J. (1982). "Limbic Predilection in Alzheimer Dementia: Is Reactivated Herpesvirus Involved?" *Canadian Journal of Neurological Sciences / Journal Canadien Des Sciences Neurologiques*, 9(3), 303–306. <https://doi.org/10.1017/S0317167100044115>

- Ball, M. J. (1986). Herpesvirus in the Hippocampus as a Cause of Alzheimer's Disease. *Archives of Neurology*, 43(4), 313–313. <https://doi.org/10.1001/archneur.1986.00520040003001>
- Bataille, D., & Epstein, A. L. (1995). Herpes simplex virus type 1 replication and recombination. *Biochimie*, 77(10), 787–795. [https://doi.org/10.1016/0300-9084\(96\)88197-1](https://doi.org/10.1016/0300-9084(96)88197-1)
- Birkenheuer, C. H., Dunn, L., Dufour, R., & Baines, J. D. (2022). ICP22 of Herpes Simplex Virus 1 Decreases RNA Polymerase Processivity. *Journal of Virology*, 96(5). <https://doi.org/10.1128/JVI.02191-21>
- Brejyeh, Z., & Karaman, R. (2020). Comprehensive Review on Alzheimer's Disease: Causes and Treatment. *Molecules*, 25(24), 5789. <https://doi.org/10.3390/molecules25245789>
- Burgos, J. S., Ramirez, C., Guzman-Sanchez, F., Alfaro, J. M., Sastre, I., & Valdivieso, F. (2006). Hematogenous Vertical Transmission of Herpes Simplex Virus Type 1 in Mice. *Journal of Virology*, 80(6), 2823–2831. <https://doi.org/10.1128/JVI.80.6.2823-2831.2006>
- Burgos, J. S., Ramirez, C., Sastre, I., & Valdivieso, F. (2007). Apolipoprotein E genotype influences vertical transmission of herpes simplex virus type 1 in a gender specific manner. *Aging Cell*, 6(6), 841–842. <https://doi.org/10.1111/j.1474-9726.2007.00332.x>
- Carter, C. J. (2013). Susceptibility genes are enriched in those of the herpes simplex virus 1/host interactome in psychiatric and neurological disorders. *Pathogens and Disease*, 69(3), 240–261. <https://doi.org/10.1111/2049-632X.12077>
- Chen, G., Xu, T., Yan, Y., Zhou, Y., Jiang, Y., Melcher, K., & Xu, H. E. (2017). Amyloid beta: structure, biology and structure-based therapeutic development. *Acta Pharmacologica Sinica*, 38(9), 1205–1235. <https://doi.org/10.1038/aps.2017.28>
- Cheng, S.-B., Ferland, P., Webster, P., & Bearer, E. L. (2011). Herpes Simplex Virus Dances with Amyloid Precursor Protein while Exiting the Cell. *PLoS ONE*, 6(3), e17966. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0017966>
- Colovic, M. B., Krstic, D. Z., Lazarevic-Pasti, T. D., Bondzic, A. M., & Vasic, V. M. (2013). Acetylcholinesterase Inhibitors: Pharmacology and Toxicology. *Current Neuropharmacology*, 11(3), 315–335. <https://doi.org/10.2174/1570159X11311030006>

- De Mello, C. P. P., Bloom, D. C., & Paixão, I. C. (2016). Herpes Simplex Virus Type-1: Replication, Latency, Reactivation and its Antiviral Targets. *Antiviral Therapy*, 21(4), 277–286. <https://doi.org/10.3851/IMP3018>
- Diefenbach, R. J. (2015). Conserved tegument protein complexes: Essential components in the assembly of herpesviruses. *Virus Research*, 210, 308–317. <https://doi.org/10.1016/J.VIRUSRES.2015.09.007>
- Draganova, E. B., Valentin, J., & Heldwein, E. E. (2021). The Ins and Outs of Herpesviral Capsids: Divergent Structures and Assembly Mechanisms across the Three Subfamilies. *Viruses*, 13(10), 1913. <https://doi.org/10.3390/v13101913>
- Duarte, L. F., Fariás, M. A., Álvarez, D. M., Bueno, S. M., Riedel, C. A., & González, P. A. (2019). Herpes Simplex Virus Type 1 Infection of the Central Nervous System: Insights Into Proposed Interrelationships With Neurodegenerative Disorders. *Frontiers in Cellular Neuroscience*, 13. <https://doi.org/10.3389/fncel.2019.00046>
- Dunn, L. E. M., Birkenheuer, C. H., Dufour, R., & Baines, J. D. (2022). Immediate Early Proteins of Herpes Simplex Virus Transiently Repress Viral Transcription before Subsequent Activation. *Journal of Virology*, 96(22). <https://doi.org/10.1128/jvi.01416-22>
- Ferrari, C., & Sorbi, S. (2021). The complexity of Alzheimer’s disease: an evolving puzzle. *Physiological Reviews*, 101(3), 1047–1081. <https://doi.org/10.1152/physrev.00015.2020>
- Furman, P. A., St Clair, M. H., & Spector, T. (1984). Acyclovir triphosphate is a suicide inactivator of the herpes simplex virus DNA polymerase. *Journal of Biological Chemistry*, 259(15), 9575–9579. [https://doi.org/10.1016/S0021-9258\(17\)42739-6](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(17)42739-6)
- Hampel, H., Mesulam, M.-M., Cuello, A. C., Farlow, M. R., Giacobini, E., Grossberg, G. T., Khachaturian, A. S., Vergallo, A., Cavado, E., Snyder, P. J., & Khachaturian, Z. S. (2018). The cholinergic system in the pathophysiology and treatment of Alzheimer’s disease. *Brain*, 141(7), 1917–1933. <https://doi.org/10.1093/brain/awy132>
- Harkness, J. M., Kader, M., & DeLuca, N. A. (2014). Transcription of the Herpes Simplex Virus 1 Genome during Productive and Quiescent Infection of Neuronal and Nonneuronal Cells. *Journal of Virology*, 88(12), 6847–6861. <https://doi.org/10.1128/jvi.00516-14>
- He, B., Gross, M., & Roizman, B. (1997). The γ_1 34.5 protein of herpes simplex virus 1 complexes with protein phosphatase 1 α to dephosphorylate the α subunit of the eukaryotic translation initiation factor 2 and preclude the shutoff of protein synthesis by double-

- stranded RNA-activated protein kinase. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 94(3), 843–848. <https://doi.org/10.1073/pnas.94.3.843>
- Heath, J. R., & Dembowski, J. A. (2022). Fashionably late: Temporal regulation of HSV-1 late gene transcription. *PLoS Pathogens*, 18(6). <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PPAT.1010536>
- Hogestyn, J., Mock, D., & Mayer-Proschel, M. (2018). Contributions of neurotropic human herpesviruses herpes simplex virus 1 and human herpesvirus 6 to neurodegenerative disease pathology. *Neural Regeneration Research*, 13(2), 211. <https://doi.org/10.4103/1673-5374.226380>
- ILL-Raga, G., Palomer, E., Wozniak, M. A., Ramos-Fernández, E., Bosch-Morató, M., Tajés, M., Guix, F. X., Galán, J. J., Clarimón, J., Antúnez, C., Real, L. M., Boada, M., Itzhaki, R. F., Fandos, C., & Muñoz, F. J. (2011). Activation of PKR Causes Amyloid β -Peptide Accumulation via De-Repression of BACE1 Expression. *PLoS ONE*, 6(6), e21456. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0021456>
- Itzhaki, R. (2004). Herpes simplex virus type 1, apolipoprotein E and Alzheimer' disease. *Herpes : The Journal of the IHMF*, 11 Suppl 2, 77A-82A.
- Johnston, C., Gottlieb, S. L., & Wald, A. (2016). Status of vaccine research and development of vaccines for herpes simplex virus. *Vaccine*, 34(26), 2948–2952. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2015.12.076>
- Kolb, G., & Kristie, T. M. (2008). Association of the Cellular Coactivator HCF-1 with the Golgi Apparatus in Sensory Neurons. *Journal of Virology*, 82(19), 9555–9563. <https://doi.org/10.1128/JVI.01174-08>
- Krishnan, R., & Stuart, P. M. (2021). Developments in Vaccination for Herpes Simplex Virus. *Frontiers in Microbiology*, 12. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.798927>
- Lakin, N. D., Palmer, R., Lillycrop, K. A., Howard, M. K., Burke, L. C., Thomas, N. S. B., & Latchman, D. S. (1995). Down regulation of the octamer binding protein Oct-1 during growth arrest and differentiation of a neuronal cell line. *Molecular Brain Research*, 28(1), 47–54. [https://doi.org/10.1016/0169-328X\(94\)00183-F](https://doi.org/10.1016/0169-328X(94)00183-F)
- Lane, C. A., Hardy, J., & Schott, J. M. (2018). Alzheimer's disease. *European Journal of Neurology*, 25(1), 59–70. <https://doi.org/10.1111/ene.13439>

- Li Puma, D. D., Colussi, C., Bandiera, B., Puliatti, G., Rinaudo, M., Cocco, S., Paciello, F., Re, A., Ripoli, C., De Chiara, G., Bertozzi, A., Palamara, A. T., Piacentini, R., & Grassi, C. (2023). Interleukin 1 β triggers synaptic and memory deficits in Herpes simplex virus type-1-infected mice by downregulating the expression of synaptic plasticity-related genes via the epigenetic MeCP2/HDAC4 complex. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 80(6), 172. <https://doi.org/10.1007/s00018-023-04817-5>
- Linard, M., Letenneur, L., Garrigue, I., Doize, A., Dartigues, J.-F., & Helmer, C. (2020). Interaction between *APOE4* and herpes simplex virus type 1 in Alzheimer's disease. *Alzheimer's & Dementia*, 16(1), 200–208. <https://doi.org/10.1002/alz.12008>
- Littler, E., & Oberg, B. (2005). Achievements and Challenges in Antiviral Drug Discovery. *Antiviral Chemistry and Chemotherapy*, 16(3), 155–168. <https://doi.org/10.1177/095632020501600302>
- Lopatko Lindman, K., Weidung, B., Olsson, J., Josefsson, M., Kok, E., Johansson, A., Eriksson, S., Hallmans, G., Elgh, F., & Lövheim, H. (2019). A genetic signature including apolipoprotein E ϵ 4 potentiates the risk of herpes simplex–associated Alzheimer's disease. *Alzheimer's & Dementia: Translational Research & Clinical Interventions*, 5(1), 697–704. <https://doi.org/10.1016/j.trci.2019.09.014>
- Madavaraju, K., Koganti, R., Volety, I., Yadavalli, T., & Shukla, D. (2021). Herpes Simplex Virus Cell Entry Mechanisms: An Update. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 10. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2020.617578>
- Mahaman, Y. A. R., Embaye, K. S., Huang, F., Li, L., Zhu, F., Wang, J.-Z., Liu, R., Feng, J., & Wang, X. (2022). Biomarkers used in Alzheimer's disease diagnosis, treatment, and prevention. *Ageing Research Reviews*, 74, 101544. <https://doi.org/10.1016/j.arr.2021.101544>
- Marcocci, M. E., Napoletani, G., Protto, V., Kolesova, O., Piacentini, R., Li Puma, D. D., Lomonte, P., Grassi, C., Palamara, A. T., & De Chiara, G. (2020). Herpes Simplex Virus-1 in the Brain: The Dark Side of a Sneaky Infection. *Trends in Microbiology*, 28(10), 808–820. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2020.03.003>
- Naseri, N. N., Wang, H., Guo, J., Sharma, M., & Luo, W. (2019). The complexity of tau in Alzheimer's disease. *Neuroscience Letters*, 705, 183–194. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2019.04.022>

- Nicoll, M. P., Proença, J. T., & Efstathiou, S. (2012). The molecular basis of herpes simplex virus latency. *FEMS Microbiology Reviews*, 36(3), 684–705. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6976.2011.00320.x>
- Orvedahl, A., Alexander, D., Tallóczy, Z., Sun, Q., Wei, Y., Zhang, W., Burns, D., Leib, D. A., & Levine, B. (2007). HSV-1 ICP34.5 Confers Neurovirulence by Targeting the Beclin 1 Autophagy Protein. *Cell Host & Microbe*, 1(1), 23–35. <https://doi.org/10.1016/j.chom.2006.12.001>
- Owen, D. J., Crump, C. M., & Graham, S. C. (2015). Tegument Assembly and Secondary Envelopment of Alphaherpesviruses. *Viruses*, 7(9), 5084–5114. <https://doi.org/10.3390/V7092861>
- Packard, J. E., & Dembowski, J. A. (2021). HSV-1 DNA Replication—Coordinated Regulation by Viral and Cellular Factors. *Viruses*, 13(10), 2015. <https://doi.org/10.3390/v13102015>
- Piacentini, R., Civitelli, L., Ripoli, C., Marcocci, M. E., De Chiara, G., Garaci, E., Azzena, G. B., Palamara, A. T., & Grassi, C. (2011). HSV-1 promotes Ca²⁺-mediated APP phosphorylation and A β accumulation in rat cortical neurons. *Neurobiology of Aging*, 32(12), 2323.e13-2323.e26. <https://doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2010.06.009>
- Proto, V., Marcocci, M. E., Miteva, M. T., Piacentini, R., Li Puma, D. D., Grassi, C., Palamara, A. T., & De Chiara, G. (2022). Role of HSV-1 in Alzheimer’s disease pathogenesis: A challenge for novel preventive/therapeutic strategies. *Current Opinion in Pharmacology*, 63, 102200. <https://doi.org/10.1016/j.coph.2022.102200>
- Raulin, A.-C., Doss, S. V., Trottier, Z. A., Ikezu, T. C., Bu, G., & Liu, C.-C. (2022). ApoE in Alzheimer’s disease: pathophysiology and therapeutic strategies. *Molecular Neurodegeneration*, 17(1), 72. <https://doi.org/10.1186/s13024-022-00574-4>
- Rock, R. B., Gekker, G., Hu, S., Sheng, W. S., Cheeran, M., Lokensgard, J. R., & Peterson, P. K. (2004). Role of Microglia in Central Nervous System Infections. *Clinical Microbiology Reviews*, 17(4), 942–964. <https://doi.org/10.1128/CMR.17.4.942-964.2004>
- Sadowski, L. A., Upadhyay, R., Greeley, Z. W., & Margulies, B. J. (2021). Current Drugs to Treat Infections with Herpes Simplex Viruses-1 and -2. *Viruses*, 13(7), 1228. <https://doi.org/10.3390/v13071228>
- Santana, S., Recuero, M., Bullido, M. J., Valdivieso, F., & Aldudo, J. (2012). Herpes simplex virus type I induces the accumulation of intracellular β -amyloid in autophagic

- compartments and the inhibition of the non-amyloidogenic pathway in human neuroblastoma cells. *Neurobiology of Aging*, 33(2), 430.e19-430.e33. <https://doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2010.12.010>
- Satpute-Krishnan, P., DeGiorgis, J. A., & Bearer, E. L. (2003). Fast anterograde transport of Herpes Simplex Virus: Role for the amyloid precursor protein of Alzheimer's disease. *Aging Cell*, 2(6), 305–318. <https://doi.org/10.1046/j.1474-9728.2003.00069.x>
- Simrén, J., Leuzy, A., Karikari, T. K., Hye, A., Benedet, A. L., Lantero-Rodriguez, J., Mattsson-Carlgren, N., Schöll, M., Mecocci, P., Vellas, B., Tsolaki, M., Kloszewska, I., Soininen, H., Lovestone, S., Aarsland, D., Hansson, O., Rosa-Neto, P., Westman, E., Blennow, K., ... Ashton, N. J. (2021). The diagnostic and prognostic capabilities of plasma biomarkers in Alzheimer's disease. *Alzheimer's & Dementia*, 17(7), 1145–1156. <https://doi.org/10.1002/alz.12283>
- Strang, B. L., & Stow, N. D. (2005). Circularization of the Herpes Simplex Virus Type 1 Genome upon Lytic Infection. *Journal of Virology*, 79(19), 12487–12494. <https://doi.org/10.1128/JVI.79.19.12487-12494.2005>
- Tallóczy, Z., Jiang, W., Virgin, H. W., Leib, D. A., Scheuner, D., Kaufman, R. J., Eskelinen, E.-L., & Levine, B. (2002). Regulation of starvation- and virus-induced autophagy by the eIF2 α kinase signaling pathway. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 99(1), 190–195. <https://doi.org/10.1073/pnas.012485299>
- Tallóczy, Z., Virgin, I. H., & Levine, B. (2006). PKR-Dependent Xenophagic Degradation of Herpes Simplex Virus Type 1. *Autophagy*, 2(1), 24–29. <https://doi.org/10.4161/auto.2176>
- Thellman, N. M., & Triezenberg, S. J. (2017). Herpes Simplex Virus Establishment, Maintenance, and Reactivation: In Vitro Modeling of Latency. *Pathogens*, 6(3), 28. <https://doi.org/10.3390/pathogens6030028>
- Vollmer, B., & Grünewald, K. (2020). Herpesvirus membrane fusion – a team effort. *Current Opinion in Structural Biology*, 62, 112–120. <https://doi.org/10.1016/j.sbi.2019.12.004>
- Weller, J., & Budson, A. (2018). Current understanding of Alzheimer's disease diagnosis and treatment. *F1000Research*, 7, 1161. <https://doi.org/10.12688/f1000research.14506.1>
- Wozniak, M. A., Frost, A. L., & Itzhaki, R. F. (2009). Alzheimer's Disease-Specific Tau Phosphorylation is Induced by Herpes Simplex Virus Type 1. *Journal of Alzheimer's Disease*, 16(2), 341–350. <https://doi.org/10.3233/JAD-2009-0963>

Zhu, S., & Viejo-Borbolla, A. (2021). Pathogenesis and virulence of herpes simplex virus. *Virulence*, 12(1), 2670–2702. <https://doi.org/10.1080/21505594.2021.1982373>

Wagner, R. R. and Krug, . Robert M. (2023, May 18). *virus*. *Encyclopedia Britannica*. <https://www.britannica.com/science/virus>

WHO (2023). Herpes simplex virus. Viitattu: 11.7.2023 <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/herpes-simplex-virus>