

Nya insikter om sjukdomsprocessen hjälper oss förstå **Alzheimers** **komplexitet**

Att förstå vilka proteiner som är viktiga för Alzheimers sjukdom är avgörande eftersom det hjälper oss att förstå de mekanismer som driver sjukdomen och det kan också hjälpa oss att utveckla nya behandlingar. I sin avhandling fokuserar **Michael Axenus**, läkare och doktorand vid Karolinska Institutet, på proteiner som påverkar sjukdomsutvecklingen. Läs mer i denna artikel.

Alzheimers sjukdom är känd för sin komplexitet, och dess multifaktoriella ursprung gör det svårt att identifiera och karakterisera de proteiner som är involverade i dess reglering. Den breda acceptansen av betaamyloidhypotesen, som fokuserar på rollen av betaamyloidplack, har inspirerat till behandlingar som syftar till att minska betaamyloidnivåerna. Men den här ansatsen räcker inte på egen hand. Vi har under flera års tid koncentrerat oss på att identifiera proteiner som är avgörande i de presymtomatiska stadierna av Alzheimers sjukdom, vilket erbjuder en unik inblick i sjukdomsutvecklingen.

PROTEINFÖRÄNDRINGAR OCH NEUROLOGISKA PROCESSER

I en nylig avhandling från Karolinska Institutet beskriver vi betydande förändringar i specifika proteiner och nervprocesser i samband med Alzheimers sjukdom.

En av de mest anmärkningsvärda upptäckterna gäller proteinet huntingtin. Studierna visade att huntingtin var förhöjt i såväl hjärnor hos alzheimerspatienter som i musmodellen App^{NL-F/NL-F} innan bildandet av betaamyloidplack. Detta resultat tyder på att huntingtin kan spela en tidig reglerande roll i Alzheimers sjukdom. Proteinets var särskilt rikt i hjärnregioner som är avgörande för minnes- och kognitionsfunktioner.



En annan betydelsefull upptäckt involverade DEAD Box Helicase 24 (DDX24), som visade sig vara kraftigt förhöjt i hippocampus och cortex hos alzheimerspatienter. DDX24 fanns i överflöd i nervceller och tyder på dess potentiella påverkan på sjukdomsutvecklingen. Intressant nog visade studierna att det hade kopplingar till betaamyloid och metabolism av betaamyloids föregångare amyloid precursor-protein, vilket indikerar ett tidigare okänt samband mellan dessa viktiga faktorer i alzheimerspatologi.

HUNTINGTIN I HJÄRNAN HOS ALZHEIMERPATIENTER

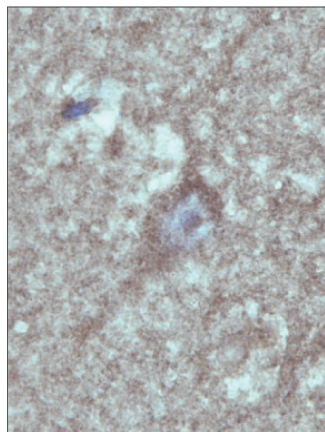
Vi använde oss av en multimodal metod där vi kombinerade proteinanalys, bioinformatik och mikroskopi för att identifiera intressanta proteiner som kan spela en reglerande roll i sjukdomsförloppet i en höggradigt relevant djurmodell för Alzheimers sjukdom som kallas $App^{NL-F/NL-F}$. $App^{NL-F/NL-F}$ producerar höga nivåer av betaamyloid-42 men orsakar inte artefakter på grund av överuttryck av amyloid precursor-protein, vilket är ett vanligt problem med andra mycket mer vanliga transgena musmodeller.

Vi utförde proteomik på hjärnhomogenat från hippocampus och cortex hos $App^{NL-F/NL-F}$ -möss vid olika tidpunkter och analyserade sedan datan med bioinformatik och avancerad mikroskopi. Huntingtin identifierades som en sjukdomsregulator i hippocampus och cortex hos $App^{NL-F/NL-F}$ -möss. Skillnaderna i huntingtin är som störst i yngre möss medan det hos äldre möss inte fanns någon skillnad i huntingtinuttryck. Vi fann även förhöjda nivåer av huntingtin i cellkroppen samt en tydlig frånvaro av huntingtin i cellkärnan.¹

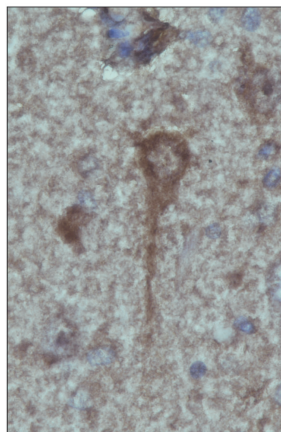
Vi utförde en kompletterande studie av huntingtin på hjärnmaterial från personer med Alzheimers sjukdom. Vi fann att huntingtin ackumuleras i viktiga områden som styr minnesfunktionen hos patienter med Alzheimers sjukdom, vilket inte observerades hos kontrollgruppen [Figur 1].²

Huntingtin, som är det patogena proteinet i Huntingtons sjukdom, reglerar många funktioner i nervceller, inklusive axonal transport, kärnimport och processer som styr celldöd. Ökade intracellulära nivåer av huntingtin har föreslagits agera som en nervskyddande faktor. Våra fynd av ansamlingar

Frisk



Alzheimers sjukdom



Figur 1. Huntingtin (brun) är ansamlat i neuronerna i hjärnan hos alzheimerspatienter.

av huntingtin tidigt i mössens livslängd kan därför vara bevis på en kompensatorisk mekanism som svar på cellulär stress även innan ansamlingen av betaamyloid.

Sedan vi publicerade våra resultat, har andra studier på musmodeller visat ökade nivåer av huntingtin i likhet med våra fynd. Det har även beskrivits genförändringar av huntingtin i hjärnorna hos alzheimerspatienter.^{3,5}

Sammanfattningsvis tyder våra fynd på att huntingtin kan spela en roll i den tidiga sjukdomsregleringen av Alzheimers sjukdom.

DDX24 I HJÄRNAN HOS ALZHEIMERPATIENTER

Genom att använda en liknande metod som beskriven tidigare, isolerade vi ett hundratal proteiner vars nivåer var påverkade i hjärnan hos alzheimerspatienter. Vi fann att DEAD Box Helicase 24 (DDX24) var det mest påverkade proteinet. Mikroskopi av alzheimers- och kontrollhjärnor visade DDX24-positiva neuron i stora delar av hjärnan hos alzheimerspatienter jämfört med friska kontroller [Figur 2], men inget eller mycket lite DDX24 i icke-nervceller, såsom astrocyter eller mikroglia. DDX24 var även ökat i unga $App^{NL-F/NL-F}$ -möss och efterliknade fynden i hjärnan hos alzheimerspatienter. Vi antar att DDX24-uttrycket är en följd av antingen den ökade betaamyloidbelastningen hos $App^{NL-F/NL-F}$ -mössen eller den ökade cellulära stress som inträffar hos dessa möss. Vi fann också tecken på att DDX24 reglerar betaamyloiduttrycket i neuron.

Vi tolkade dessa resultat som att DDX24 kan påverka sjukdomsprocessen vid Alzheimers sjukdom redan innan symtom framkommer, sannolikt via en negativ feedback-loop mellan betaamyloid och DDX24 som kan vara kliniskt relevant. Även om resultaten är otillräckliga, motiverar våra fynd ytterligare studier om de mekanistiska relationerna mellan DDX24 och betaamyloid.

NERVTILLVÄXT I HJÄRNAN HOS ALZHEIMERPATIENTER

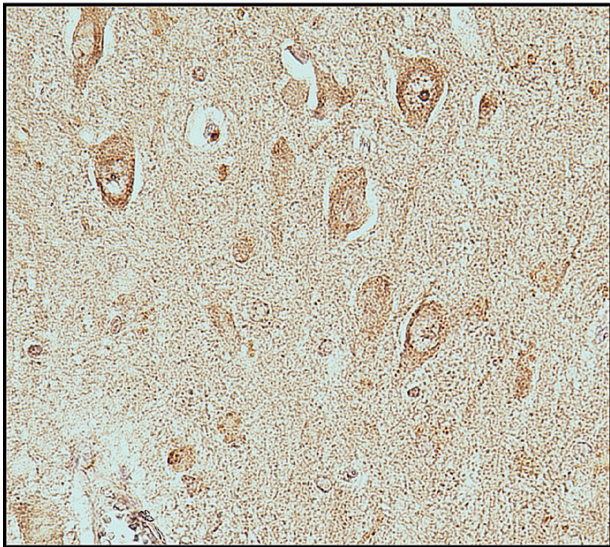
För att möjliggöra studier av nybildandet av nervutskott (neuritogenes) vid Alzheimers sjukdom använde vi Ankyrin-3 (ANK-3) som markör för neuritogenes. Genom immunohistokemi av alzheimershjärna upptäckte vi att ANK-3 är kraftigt förhöjt

Efter att ha funnit bevis för ökad neuritogenes vid Alzheimers sjukdom i form av ANK-3-positivitet ville vi se om dessa resultat kunde översättas till musmodellen, $App^{NL-F/NL-F}$. Vi fann att ANK-3 ökade i $App^{NL-F/NL-F}$ -mössen i ung ålder men inte hos äldre möss. Genom att studera delområden i mössens hjärnor fann vi att ANK-3 samlades upp på ett liknande sätt som vi fann i hjärnan hos alzheimerspatienter.

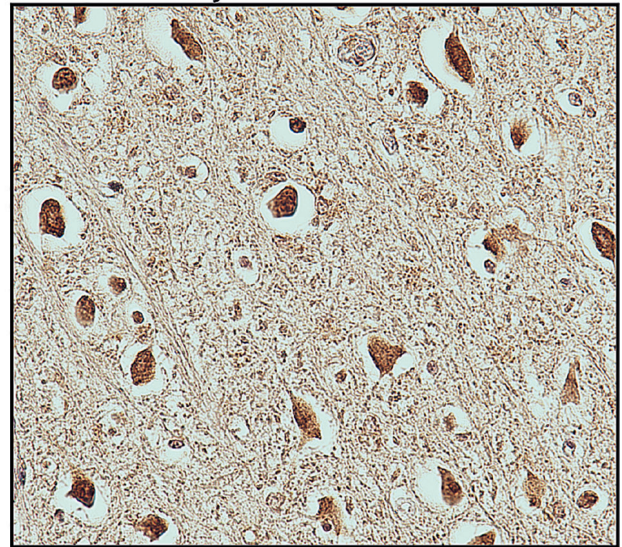
Eftersom våra resultat från $App^{NL-F/NL-F}$ -möss indikerar att neuritogenes äger rum vid en tidig fas av sjukdomsförloppet bestämde vi oss för att använda embryonala hjärnprover från $App^{NL-F/NL-F}$ -möss för att upptäcka neuritogenesrelaterade förändringar på embryonisk nivå. Vi fann att ANK-3 inte ökade på embryonisk nivå.

Våra resultat avseende neuritogenes visar att det finns bevis för ökad neuritogenes i avancerad alzheimershjärna, och musmodellen visade ökad ANK-3 på cellulär nivå även i ung ålder. Den mest troliga förklaringen till ökningen av en pro-

Frisk



Alzheimers sjukdom



Figur 2. DDX24 (brun) är ansamlad i hjärnan hos patienter med Alzheimers sjukdom.

cess som är avsedd att främja neuronal tillväxt och proliferation i musmodellen skulle vara en kompensatorisk mekanism som svar på neurodegeneration.

SLUTSATS

I denna avhandling presenteras nya insikter i Alzheimers sjukdom, en sjukdom som kännetecknas av sin komplexitet och multifaktoriella ursprung. Genom noggrann forskning som kombinerar proteomik, bioinformatik och mikroskopi har vi identifierat avgörande proteinförändringar och neurologiska processer som är kopplade till sjukdomens tidiga stadier.

En central upptäckt i avhandlingen är den ökade närvaron av huntingtin i både hjärnorna hos alzheimerpatienter och i vår musmodell, $App^{NL-F/NL-F}$, före bildandet av betaamyloidplack. Denna observation pekar på huntingtin som en potentiell tidig reglerande faktor i Alzheimers sjukdom. Vidare har vi identifierat DDX24 som ett protein med kopplingar till betaamyloid och amyloid precursor-proteinmetabolismen.

I avhandlingen belyses även nervtillväxtprocesser, särskilt neuritogenes och neurogenes. Våra resultat visar ökad ANK-3-positivitet och neurogenes i hjärnan hos patienter med Alzheimers sjukdom och i ung ålder hos $App^{NL-F/NL-F}$ -mössen, vilket antyder att dessa processer kan vara kompensatoriska mekanismer som svar på neurodegeneration.

Dessa betydelsefulla resultat har potential för behandlingsutveckling inom alzheimerområde. Det är avgörande att förstå sjukdomens tidiga patogenes för att utveckla effektiva terapier. Genom att fördjupa sig i proteiner som huntingtin och DDX24 samt studera nervtillväxtprocesser kan möjligheter för terapeutiska interventioner öppnas upp.

Dessa resultat, präglade av rigorös forskning och djupgående analys, markerar en strimma av hopp för de miljontals människor som kämpar mot denna förödande sjukdom. Det är vår förhoppning att dessa rön ska leda till framtida ge-

nombrott och närma oss en framtid där vi har effektiva behandlingsalternativ för Alzheimers sjukdom.

Avhandlingen: "Characterization of proteins involved in disease progression in alzheimer disease"



MICHAEL AXENHUS

Leg. läkare, vid Karolinska Universitetssjukhuset och doktorand vid avdelningen för neurogeriatrik, Karolinska Institutet
michael.axenus.2@ki.se

Referenser:

1. Schedin-Weiss S, Nilsson P, Sandebring-Matton A, Axenus M, Sekiguchi M, Saito T, et al. Proteomics Time-Course Study of App Knock-In Mice Reveals Novel Presymptomatic Aβ42-Induced Pathways to Alzheimer's Disease Pathology. *J Alzheimers Dis* 2020; 75(1):321–335.
2. Axenus M, Winblad B, Tjernberg LO, Schedin-Weiss S. Huntingtin Levels are Elevated in Hippocampal Post-Mortem Samples of Alzheimer's Disease Brain. *Curr Alzheimer Res* 2020; 17(9):858–867.
3. Hartlage-Rübsamen M, Ratz V, Zeitschel U, Finzel L, Machner L, Köppen J, et al. Endogenous mouse huntingtin is highly abundant in cranial nerve nuclei, co-aggregates to Aβ plaques and is induced in reactive astrocytes in a transgenic mouse model of Alzheimer's disease. *Acta neuropathol commun* 2019; 7(1):79.
4. Mazzeo S, Emiliani F, Bagnoli S, Padiglioni S, Conti V, Ingannato A, et al. Huntingtin gene intermediate alleles influence the progression from subjective cognitive decline to mild cognitive impairment: A 14-year follow-up study. *Eur J Neurol* 2022; 29(6):1600–1609.
5. Menéndez-González M, Clarimón J, Rosas-Allende I, Blázquez M, San Martín ES, García-Fernández C, et al. HTT gene intermediate alleles in neurodegeneration: evidence for association with Alzheimer's disease. *Neurobiology of Aging* 2019; 76:215.e9–215.e14.
6. Axenus M, Nilsson PE, Winblad B, Tjernberg L, Schedin-Weiss S. DEAD box helicase 24 is increased in the brain of Alzheimer disease patients and in an Alzheimer disease mouse model where it appears to influence presymptomatic pathology.