



**TURUN
YLIOPISTO**

Spatiaaliset omiikat multippeliskleroosin tutkimuksessa

Biokemian
kandidaatintutkielma

Laatija:
Senni Ruuttunen

6.5.2025
Turku

Turun yliopiston laatujärjestelmän mukaisesti tämän julkaisun alkuperäisyys on tarkastettu
Turnitin OriginalityCheck -järjestelmällä.

Kandidaatintutkielma

Oppiaine: Biokemia

Tekijä: Senni Ruuttunen

Otsikko: Spatiaaliset omiikat multippeliskleroosin tutkimuksessa

Ohjaaja: LT Otto Kauko

Sivumäärä: 26 sivua

Päivämäärä: 6.5.2025

Tässä kandidaatintutkielmassa käsitellään multippeliskleroosia eli MS-tautia, sen oireita ja sen diagnosointia sekä siihen liittyviä haasteita. Tutkielmassa käsitellään myös spatiaalisia omiikkoja ja erityisesti spatiaalista transkriptomiikkaa ja niiden tuomia mahdollisia ratkaisuja MS-taudin ymmärtämiseen liittyviin ongelmiin. MS-tauti on keskushermoston tulehduksellinen, hermosoluja rappeuttava autoimmuunisairaus, joka vaikuttaa erityisesti näön ja muiden aistien sekä motorisiin taitoihin. MS-taudin oireet aiheutuvat aivojen hermosolujen demyelinaatiosta eli myeliinituppien tuhoutumisesta. Tarkkoja mekanismeja, jotka johtavat demyelinaatioon, ei kuitenkaan vielä tunneta tarkasti, vaikka tiedetään, että tautiprosessit ovat hyvin paikallisia. Tästä syystä MS-taudin tutkiminen spatiaalisten omiikkojen keinoin voisi antaa tietoa siitä, mitkä tekijät lopulta johtavat neurodegeneraatioon.

Avainsanat: multippeliskleroosi, MS-tauti, spatiaaliset omiikat, spatiaalinen transkriptomiikka, magneettikuvantaminen

Sisällysluettelo

1	Johdanto	4
2	Multippeliskleroosi	6
2.1	Multippeliskleroosin eri muodot	6
2.2	Patofysiologiset vaikutukset ja oireet	6
2.3	Diagnosointi	8
2.3.1	Magneettikuvantaminen	10
2.3.2	Biomerkkiaineet	11
2.4	Hoito ja ennuste	13
3	Spatiaaliset omiikat	15
3.1	Menetelmät	15
3.1.1	Histologinen analyysi	15
3.1.2	Immunohistokemia ja muut histologiset tutkimusmenetelmät	16
3.1.3	Massakuvantaminen	18
3.1.4	Spatiaalinen transkriptomiikka	19
3.2	Mahdolliset kliiniset sovellukset	21
4	Yhteenveto	23
	Lähteet	24

1 Johdanto

Multipeliskleroosi (MS-tauti) on maailman yleisin hermostoa rappeuttava sairaus nuorilla aikuisilla (Buzzard ja muut 2017). MS-tauti kehittyy, kun elimistössä tapahtuu autoimmuunireaktio, ja immuunipuolustusjärjestelmä alkaa tuhoamaan keskushermoston hermosolujen ympärille kuuluvaa myeliiniä. Demyelinoituneet solut muodostavat plakkeja eli kokonaisia alueita aivoissa ja selkäytimessä, missä hermosolujen myeliini on tuhoutunut, mutta plakit eivät tuntemattomasta syystä pysty leviämään kerralla kaikkialle keskushermostoon. MS-tauti on siis hyvin paikallisesti rajoittunut sairaus, mikä selittää oireiden vaihtelun potilaiden välillä.

MS-taudin riskitekijöihin kuuluvat niin geneettiset kuin ympäristötekijätkin, kuten esimerkiksi mononukleosin sairastaminen (Buzzard ja muut 2017). MS-taudin oireisiin lukeutuvat esimerkiksi näkö- ja muut aistihäiriöt, kävelyn vaikeutuminen sekä motoristen taitojen heikkeneminen. MS-taudin aiheuttamia plakkeja esiintyy yleisimmin näitä toimintoja vastaavilla aivoalueilla. MS-tauti voidaan jaotella neljään eri päätautimuotoon oireiden kehittymisen ja tautikuvan perusteella, ja tautimuoto vaikuttaa sairauden hoitoon.

Tällä hetkellä MS-tauti diagnosoidaan McDonaldin kriteeristön mukaisesti magneettikuvantamista hyödyntäen (Buzzard ja muut 2017). Mikäli on syytä epäillä MS-tautia, potilaan aivot magneettikuvataan mahdollisten plakkien varalta.

Magneettikuvantaminen ei kuitenkaan välttämättä anna tarpeeksi tietoa potilaan terveydentilasta esimerkiksi tautimuodon kannalta, eikä sillä myöskään pystytä havaitsemaan vasta aluillaan olevia plakkeja.

Spatiaaliset omiikat ovat joukko tutkimusmenetelmiä, joilla kerätään tietoa sekä näytteen sisältämistä molekyyleistä että niiden kolmiulotteisesta sijoittumisesta toisiinsa nähden (Bressan ja muut 2023). Spatiaalisten omiikkojen menetelmät ovat melko uusia, ja niiden käyttö rajoittuu toistaiseksi vain tutkimuksiin, mutta niihin liittyvä tutkimus kehittyy jatkuvasti. Tällä hetkellä tärkein ja kehittynein spatiaalisten omiikkojen kategoria on spatiaalinen transkriptomiikka, jonka avulla tutkitaan RNA:ta ja geeniekspressiota kudoksessa.

MS-taudin tutkimiseen voidaan käyttää spatiaalisia omiikkoja, joilla saadaan lisää tietoa taudin etenemisestä ja molekulaarisista mekanismeista. Kaufmann ja muut ovatkin tutkimuksessaan hyödyntäneet spatiaalisen transkriptomiikan menetelmiä ja selvittäneet geenien osuutta MS-taudin varhaisissa vaiheissa (Kaufmann ja muut 2022).

2 Multipeliskleroosi

Multipeliskleroosi eli MS-tauti on keskushermostoon vaikuttava, tulehduksellinen ja krooninen autoimmuunisairaus, jota sairastaa noin 2,3 miljoonaa ihmistä maailmassa (Buzzard ja muut 2017). Eniten sairastapauksia esiintyy Pohjois-Amerikassa sekä Euroopassa, ja se on maailman yleisin neurodegeneratiivinen eli hermosoluja rappeuttava sairaus nuorilla aikuisilla. Yleisimmin multipeliskleroosi diagnosoidaan 20–40-vuotiaille naisille. Taudin yleisimpiä tunnusmerkkejä ovat aivojen demyelinoituneet alueet eli plakit sekä hermosolujen aksoneiden vaurioituminen, mitkä johtavat etenevään vammautumiseen suurimmalla osalla MS-tautipotilaista. MS-taudin kehittymiseen vaikuttavat geenit, mutta sen lisäksi myös ympäristötekijät, kuten esimerkiksi D-vitamiinin puutos, Epstein-Barr-viruksen aiheuttama infektio eli mononukleosi, tupakointi sekä lapsuusajan ylipaino (Ascherio 2013). Myös vähäisen auringonvalon saannin on todettu vaikuttavan kiihdyttävästi MS-taudin kehittymiseen, minkä vuoksi sairastapausten määrä on vähäisempi päiväntasaajan läheisyydessä sijaitsevissa maissa kuin muualla (Kubick-Gidlewska ja muut 2017). Bansil ja muut (1999) ovat tutkimuksessaan todenneet, että myös joillakin sukupuolihormoneilla, erityisesti estradiolilla ja keltarauhashormonilla, on vaikutusta MS-taudin vakavuusasteeseen.

2.1 Multipeliskleroosin eri muodot

MS-tauti jaotellaan eri sairausmuotoihin. Yleisin MS-taudin muoto on aaltomainen multipeliskleroosi (engl. *relapsing-remitting multiple sclerosis*, RRMS), jonka tunnusmerkki on taudin akuutti paheneminen, mitä seuraa täysi tai lähes täysi palautuminen normaaliin olotilaan (Katz Sand 2015). Toinen MS-taudin muoto on ensisijaisesti etenevä muoto (engl. *primary-progressive multiple sclerosis*, PPMS), jossa oireiden paheneminen ja hermostollisen toiminnan heikkeneminen on jatkuvaa ja suoraviivaista. Kolmas MS-tautimuoto on toissijaisesti etenevä muoto (engl. *secondary-progressive multiple sclerosis*, SPMS). Tälle tautimuodolle yleistä on alussa tapahtuva aaltomaista tautimuotoa muistuttava paheneminen, mitä seuraa sairauden asteittainen eteneminen vuosien aikana. Toissijaisesti etenevä MS-taudin muoto onkin muihin tautimuotoihin verrattuna vaikeampi diagnosoida, sillä oireiden kehittyminen vie aikaa.

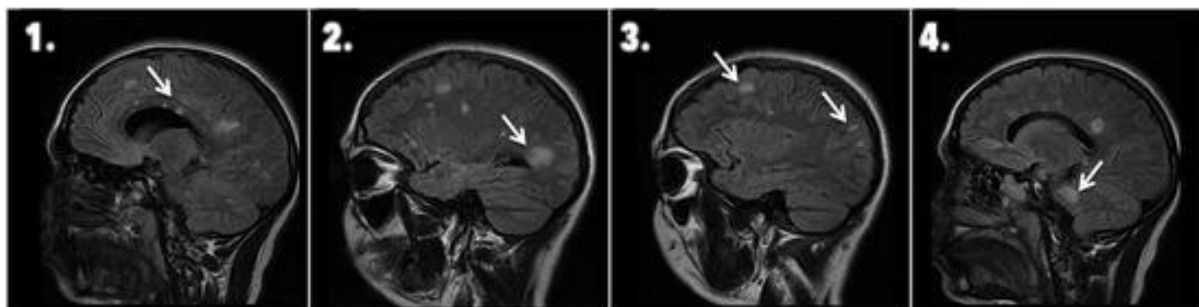
2.2 Patofysiologiset vaikutukset ja oireet

MS-tauti alkaa, kun autoreaktiiviset T-solut reagoivat keskushermoston omiin antigeeneihin tuntemattomasta syystä. Yleisesti hyväksytty ja käytössä oleva teoria on, että aktivoituneet ja

autoreaktiiviset solut, erityisesti T-auttajasolu 17, siirtyvät veriaivoesteen läpi keskushermostoon (Buzzard ja muut 2017). Aktivoituneet T-solut lisääntyvät keskushermostossa ja alkavat erittää tulehdussytokiineja sekä stimuloida hermotukikudosta. Ne myös aktivoivat muita immuunipuolustuksen soluja tuntemattomaan reaktiokaskadiin, jonka myötä rasvapitoiset myeliinitupit tuhoutuvat aivosolujen ympäriltä. Multippeliskleroosin eteneminen voi kuitenkin olla hajanaista, ja kudoksen korjautuminen ja myeliinituppien uusiutuminen eli remyelinaatio on mahdollista jo muodostuneilla plakkialueilla (Buzzard ja muut 2017).

Plakit ovat hyvin erilaisia riippuen niiden iästä ja aktiivisuudesta (Buzzard ja muut 2017). Akuutit ja krooniset plakit eroavat toisistaan merkittävästi. Akuuttien plakkien reunat ovat melko häilyviä ja demyelinaatiota esiintyy koko plakin alueella. Kroonisissa plakeissa taas reunat ovat selkeämpiä ja niiden keskustassa solumassa on harventunutta. Plakkeja esiintyy sekä aivojen valkealla että harmaalla alueella.

Aivoalueet, joihin multippeliskleroosin aiheuttamat plakit vaikuttavat eniten, ovat aivokuori (erityisesti takaraivolohko, pihtipoimu sekä otsa- ja ohimolohkojen alaosat (Lassmann ja muut 2007)), pikkuaivot, näköhermo sekä aivorunko (Travers ja muut 2022). Aivojen lisäksi plakkeja esiintyy myös selkäytimen alueella. Multippeliskleroosin tyypillisiä oireita ovatkin näkö- ja aistihäiriöt, motoristen taitojen heikkeneminen, kävelyn vaikeutuminen, lihasten yhteistoimintahäiriö sekä virtsarakon vajaatoiminta (Buzzard ja muut 2017). Näiden oireiden lisäksi MS-tautipotilailla on suurempi taipumus masennukseen, uupumukseen sekä uniongelmiin kuin terveellä väestöllä (Solaro ja muut 2018). Plakkien esiintyminen eri aivoalueilla selittää vaihtelevaa oirekuvaa eri potilailla (Buzzard ja muut 2017). Kuvassa 1 MS-tautipotilaiden aivoja kuvannettuna niin, että MS-taudin aiheuttamat plakit näkyvät nuolien osoittamissa kohdissa.



Kuva 1. MS-taudin aiheuttamia plakkeja, jotka havaittu magneettikuvantamisella. Muokattu lähteestä (Buzzard ja muut 2017). Numerointi: 1. Plakkeja aivokurkiaisien alueella. 2. Plakkeja kammioita ympäröivällä alueella. 3. Plakkeja aivokuoren viereisellä alueella. 4. Plakkeja aivoteltan alaisella alueella.

2.3 Diagnostiikka

MS-tauti diagnosoidaan yleisesti McDonaldin kriteerien perusteella, missä diagnosointi perustuu magneettikuvaukseen eli MRI:hin (engl. *magnetic resonance imaging*) (Katz Sand 2015). McDonaldin kriteerit kuvattu taulukossa 1. Kriteereissä otetaan huomioon kuvantamisen lisäksi myös potilaan aiempi kliininen historia, laboratoriotutkimusten tulokset sekä muut mahdolliset selitykset oireille.

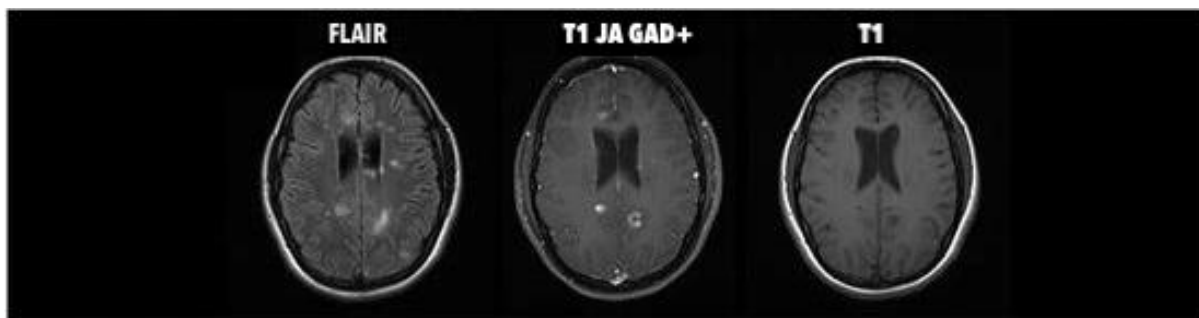
Taulukko 1. McDonaldin kriteerit, muotoiltu lähteestä (Thompson ja muut 2018).

Pahenemisvaiheiden määrä	Objektiiviseen kliiniseen näyttöön perustuva plakkien määrä	Lisäksi tarvittavat perusteet, joiden nojalla diagnoosi voidaan tehdä
≥2	≥2	Ei mitään
≥2	1, jonka lisäksi selviä todisteita aiemmasta pahenemisvaiheesta liittyen selkeästi tietyille anatomiselle alueelle rajattavissa olevaan plakkiin.	Ei mitään
≥2	1	Plakkien levinneisyys voidaan todistaa joko ylimääräisellä pahenemisvaiheella (kertoo plakkien levinneisyydestä muualle keskushermostoon) tai magneettikuvauksella.
1	≥2	Plakkien levinneisyys voidaan todistaa ylimääräisellä pahenemisvaiheella, magneettikuvauksella tai aivoselkäydinnesteestä havaituilla oligoklonalisilla immunoglobuliinifragmenteilla.
1	1	Plakkien levinneisyys voidaan todistaa joko ylimääräisellä pahenemisvaiheella (kertoo plakkien levinneisyydestä muualle keskushermostoon) tai magneettikuvauksella JA plakkien levinneisyys voidaan todistaa ylimääräisellä pahenemisvaiheella, magneettikuvauksella tai aivoselkäydinnesteestä havaituilla oligoklonalisilla immunoglobuliinifragmenteilla.

2.3.1 Magneettikuvantaminen

Magneettikuvantaminen perustuu magneettikenttään, jonka vaikutuksesta tiettyjen atomien (erityisesti vedyn) ytimet asettuvat magneettikentän suuntaisesti (Pilcher 2004). Tämän jälkeen magneettikentän läpi laitetaan kulkemaan radioaaltoja, jotka magneettikentän suuntaisesti asettuneet atomiytimet absorboivat. Atomytimet relaksoituvat eli emittoivat radioaallot takaisin, jolloin aaltojen avulla voidaan mitata signaali, jonka avulla puolestaan saadaan tietoa tutkittavista kudoksista. Signaali mitataan niin, että se voidaan paikallistaa tiettyyn osaan näytteessä ajallisten erojen avulla. Erityisesti magneettikuvantamisella saadaan tietoa vetyatomien, ja sitä kautta vesimolekyylien, asettumisesta kudoksissa.

Eri kemiallisilla sidoksilla on erilaiset relaksaatioajat; rasvakudos sisältää paljon hiilen ja vedyn välisiä sidoksia, kun taas vesipitoiset kudokset sisältävät hapen ja vedyn välisiä sidoksia (Vaara ja muut 2021). T1-relaksaatioaika tarkoittaa pitkittäistä signaalia suhteessa ulkoiseen magneettikenttään. T2-relaksaatioaika taas tarkoittaa poikittaista signaalia suhteessa ulkoiseen magneettikenttään. Jos kudoksella on pitkä T2-relaksaatioaika, se erottuu signaalin perusteella muodostetussa kuvassa kirkkaana, ja jos taas lyhyt T2-relaksaatioaika, näyttää se kuvassa tummalta. Radiotaajuuspulssien sekä virityksen ja signaalinkeräyksen välisen ajan parametrejä vaihtelemalla voidaan luoda kontrasteja erilaisten kudosten välille niin, että esimerkiksi rasvapitoiset ja vesipitoiset kudokset erottuvat kuvassa toisistaan selkeästi T2-relaksaatioaikojensa avulla. Tällä menetelmällä yleisimmin kuvannetaan aivoja, kun kyseessä epäillään olevan MS-tauti (Hemond ja Bakshi 2018). Tämän lisäksi aivojen kuvantamisen yhteydessä käytetään usein FLAIR-inversiotekniikkaa (engl. *fluid-attenuated inversion recovery*), jolla saadaan aivoselkäydinnesteen emittoima signaali nollattua (Vaara ja muut 2021). Tässä inversiotekniikassa hyödynnetään nesteelle tyypillistä relaksaatioaikaa, joka eroaa ympäröivän kudoksen relaksaatioajasta ja täten luo kontrastin kuvaan eri kudosten välille (Sati ja muut 2012). Myös gadoliniumia voidaan käyttää suonensisäisesti kuvantamisen aikana, jolloin kudoksen T1-relaksaatioaika lyhenee ja verisuonisto erottuu muodostuvasta kuvasta selkeästi (Hemond ja Bakshi 2018).



Kuva 2. Plakkien erottuminen magneettikuvissa eri menetelmien ollessa käytössä. Vasemmalla aivot kuvannettu FLAIR-inversiotekniikalla, keskellä T1-signaali ja gadoliniumilla sekä oikealla pelkällä T1-signaali. Muokattu lähteestä (Buzzard ja muut 2017).

Perinteiseen magneettikuvantamiseen liittyy kuitenkin haasteita: Tarkan diagnoosin sekä prognoosin tekeminen magneettikuvantamisen keinoin on hankalaa taudin patofysiologian ja paikallisen luonteen takia (Hemond ja Bakshi 2018). Erityisesti sopivan tautimuotodiagnoosin tekeminen on tuottanut haasteita, joilla on taudin hoitoon vaikuttavia seurauksia (Oh ja Sicotte 2020). Tämän takia uusia tutkimusmenetelmiä ja mahdollisia tulevaisuuden diagnosointimenetelmiä kehitetään jatkuvasti. Näistä yhtä tutkimusmenetelmäjoukkoa, spatiaalisia omiikkoja, käsitellään kappaleessa 3. Tämän lisäksi tutkimukseen voidaan käyttää biomerkkiaineita, joita käsitellään alaluvussa 2.3.2.

2.3.2 Biomerkkiaineet

Magneettikuvauksen lisäksi diagnosointiin saatetaan käyttää aivoselkäydinnesteitä, joista voidaan tutkia erilaisia merkkiaineita (Magliozzi ja Cross 2020). Aivoselkäydinnesteen sisältämät mahdolliset MS-taudin biomerkkiaineet voidaan jakaa kahteen kategoriaan: immuunipuolustusjärjestelmään liittyviin ja keskushermostoon liittyviin biomerkkiaineisiin.

Toisin kuin veri, aivoselkäydinneste ei normaaliolosuhteissa sisällä paljoa immunoglobuliineja, mutta MS-tautiin sairastuneella potilaalla immunoglobuliinipitoisuus, erityisesti IgA ja IgM, aivoselkäydinnesteessä on suuri verrattuna veren immunoglobuliinipitoisuuteen (Magliozzi ja Cross 2020). Tyypillisin tapa aivoselkäydinnesteen immunoglobuliinipitoisuuden mittaamiseen on isoelektrinen fokusointi, jota seuraa immunoblottaus. Isoelektrinen fokusointi tarkoittaa proteiinien tutkimusmenetelmää, jolla proteiinit voidaan erottaa toisistaan sen perusteella, missä pH:ssa ne saavuttavat isoelektrisen pisteensä, jossa niiden varaus on 0 (Farmerie ja muut 2021). Aivoselkäydinnesteen suuren immunoglobuliinipitoisuuden on todettu olevan yhteydessä

aivokuorella esiintyviin plakkeihin sekä neuronivaurioiden merkkiaineisiin, kuten neurofilamenttien kevytketjuihin.

Muita immuunipuolustusjärjestelmään liittyviä MS-taudin biomerkkiaineita aivoselkäydinnesteessä ovat esimerkiksi κ -kevytketju ja CXCL13 (kemokiiniligandi 13, engl. *chemokine ligand 13*) (Magliozzi ja Cross 2020). κ -kevytketju on osa immunoglobuliini G -molekyyliä, ja sen on myös todettu toimivan MS-taudin biomerkkiaineena aivoselkäydinnesteessä. CXCL13 puolestaan on tulehdussellinen kemokiini. Muun muassa Khademi ja muut (2011) toteavat tutkimuksessaan, että CXCL13:sta suuret pitoisuudet aivoselkäydinnesteessä kertovat MS-taudin nopeasta etenemisestä. CXCL13 ei kuitenkaan ole spesifinen biomerkkiaine MS-taudille, vaan sen pitoisuudet saattavat kasvaa myös muiden sairauksien myötä, kuten muutkin tässä luetellut biomerkkiaineet.

Keskushermostoon liittyviä biomerkkiaineita taas ovat neurofilamenttien kevytketjut (engl. *neurofilament light chain*, NfL), happaman säikeiset gliaproteiinit (engl. *glial fibrillary acidic protein*, GFAP) ja kitinaasi-3-kaltainen proteiini 1 (engl. *chitinase 3-like 1*, CHI3L1) (Magliozzi ja Cross 2020). Neurofilamenttien kevytketjuja vapautuu aivoselkäydinnesteeseen vaurioituneista aksoneista, eli hermosolujen vioittuessa tai hajotessa neurofilamenttien kevytketjujen pitoisuus aivoselkäydinnesteessä kasvaa. Pitoisuuden kasvaminen ei siis ole spesifinen merkki MS-taudista, vaan se voi indikoida myös muista aivoissa tapahtuvista vaurioista tai sairauksista, mutta sillä voisi olla merkitystä myös MS-tautitutkimuksessa. Happaman säikeiset gliaproteiinit taas ovat astrosyyteissä esiintyviä proteiineja, joita on runsaasti MS-taudin aiheuttamien plakkien alueilla. Happaman säikeisiä gliaproteiineja ekspressoituu myös astrogliaosin yhteydessä. Kitinaasi-3-kaltainen proteiini 1 on glykoproteiini, jota aktivoituneet gliasolut ja makrofagit muiden muassa tuottavat. Modvigin ja muiden tekemän tutkimuksen (2015) mukaan CHI3L1 toimii merkkiaineena kliinisesti määritellylle MS-tautimuodolle.

Tällä hetkellä kliinisessä käytössä diagnostisena merkkiaineena käytetään ainoastaan immunoglobuliini G:tä (IgG) (Magliozzi ja Cross 2020). Aivoselkäydinnesteenäytteitä voidaan käyttää diagnostisena apuna epätyypillisissä sairastapauksissa tai sairastumisen alkuvaiheessa, jos plakit eivät ole tarpeeksi kehittyneitä sairauden toteamiseksi (Travers ja muut 2022). Biomerkkiaineita voitaisiin käyttää diagnosoinnin lisäksi avuksi myös tautimallinnukseen ja

sairauden oireiden vakavuuden ennustamiseen eli prognoosin tekemiseen (Magliozzi ja Cross 2020).

2.4 Hoito ja ennuste

MS-taudin hoitoon käytetään monia eri keinoja, jotka riippuvat tautivaiheesta, mahdollisesta vammautumisen vakavuudesta sekä hermoston terveydentilasta (Kubsik-Gidlewska ja muut 2017). Hoidon tehokkuutta ja toimivuutta tarkkaillaan sekä arvioidaan magneettikuvantamisen avulla (Travers ja muut 2022).

Multipeliskleroosin akuutteihin pahenemisvaiheisiin käytetään yleisenä hoitokeinona pitoisuudeltaan suuria kortikosteroideja, mutta hoito on tarpeellista ainoastaan, mikäli pahenemisvaiheen oireet vaikuttavat merkittävästi potilaan elämänlaatuun.

Pahenemisvaiheiden välillä potilasta voidaan kuntouttaa esimerkiksi fysioterapian, kylmähoidon ja sähköhoidon keinoin (Kubsik-Gidlewska ja muut 2017). Toinen hoitokeino pahenemisvaiheiden välillä ovat sairautta muokkaavat hoidot (engl. *disease-modifying therapies*, DMT), joita on monia erilaisia sekä biokemiallisten mekanismiansa että annostelunsa kannalta (Travers ja muut 2022). DMT:itä ei käsitellä yksityiskohtaisesti tässä tutkielmassa. MS-tauti ei nykypäivänä vaikuta potilaan elinikään lyhentävästi. Suurella osalla potilaista sairastuminen ei lääkityksen aloittamisen jälkeen vaikuta myöskään elämänlaatuun (Atula 2023)

Magneettikuvantamista käytetään taudin etenemisen seurannassa (Oh ja muut 2018).

Magneettikuvauksen yhteydessä saattaa kuitenkin olla haasteita esimerkiksi taudin etenemisen ennustamisessa ja tarkan tautitilanteen kuvauksessa. Akuuttien ja kroonisten plakkien erottaminen voi myös joissakin tapauksissa olla haasteellista pelkän perinteisen magneettikuvauksen avulla.

Kuten kappaleessa 2.3 kuvaillaan, MS-taudin prognoosin tekemiseen kliinisessä diagnostiikassa käytetäänkin usein apuna IgG:tä, jonka pitoisuuksia tutkitaan aivoselkäydinnesteenäytteistä (Magliozzi ja Cross 2020). Esimerkiksi Lehner-Scottin ja muiden tutkimuksen (2012) mukaan oligoklonaalisten immunoglobuliinifraktioiden löytyminen aivoselkäydinnesteestä kertoo huonosta tautiennusteesta. Tutkimuksissa on tunnistettu useita muitakin biomerkkiaineita, joiden kasvaneet pitoisuudet kertovat huonosta tautiennusteesta ja suurista aivovaurioista (Magliozzi ja Cross 2020). On mahdollista, että

tutkimusten myötä niiden käyttö MS-taudin diagnostiikassa yleistyy, mutta toistaiseksi muut biomerkkiaineet eivät ole vielä kliinisessä käytössä.

3 Spatiaaliset omiikat

Spatiaaliset omiikat ovat joukko menetelmiä, joilla voidaan selvittää kudoksen rakennetta sekä sen molekulaarista koostumusta samanaikaisesti (Bressan ja muut 2023). Spatiaaliset omiikat ovat melko uusia tutkimusmenetelmiä, joten sovelluksia esimerkiksi kliinisessä diagnostiikassa ei toistaiseksi vielä ole. Spatiaalisilla omiikoilla voidaan mitata keskenään hyvin erilaisia molekyyliä.

3.1 Menetelmät

Kuten kappaleessa 2.2 kuvailtiin, MS-tauti on hyvin paikallisesti rajoittunut sairaus, minkä takia spatiaaliset omiikat voisivat helpottaa diagnostiikkaan sekä prognostiikkaan liittyvää tutkimusta (Yoon ja muut 2022). Spatiaalisista omiikoista voisi olla hyötyä myös hoidon suunnittelussa, jos esimerkiksi tautimuodosta voidaan saada tietoa, jota ei magneettikuvantamisen avulla pystytä selvittämään. Monien molekulaaristen poikkeavuuksien samanaikainen tutkiminen ja havaitseminen antavat aivojen sairauksista tietoa, mitä ei voida yksittäisten komponenttien tai tiettyjen reaktioreittien tutkimisella saavuttaa.

3.1.1 Histologinen analyysi

Kudosten analysointi niiden solu- ja molekyylikoostumuksen selvittämiseksi on tutkimusmenetelmänä ollut olemassa noin 1800-luvun puolivälistä asti, sillä jo silloin on ymmärretty, että kudoksen rakenteen tutkimus auttaa hahmottamaan kudoksen biologista merkitystä ja sen toimintamekanismeja (Titford 2006). Viimeisten kolmenkymmenen vuoden aikana histologisen analyysin menetelmät ovat edistyneet, kun esimerkiksi *in situ* -hybridisaatio ja tietokoneiden kehittyminen ja käyttöönotto ovat tehneet tutkimuksesta nopeampaa ja tehokkaampaa kuin aiemmin.

Ensimmäisiä histologisia tutkimusmenetelmiä olivat erilaiset mikroskoopit, joiden avulla tutkittavia kudoksia tarkasteltiin. Myöhemmin kehiteltiin erilaisia värjästekniikoita ja väriaineita, joiden avulla eri kohtia ja eri soluja saatiin selkeämmin näkymään tutkittavissa kudoksissa (Titford 2006).

3.1.2 Immunohistokemia ja muut histologiset tutkimusmenetelmät

Immunohistokemia on 1980-luvulla käyttöön otettu kudostentutkimusmenetelmä, jossa kudosten tutkimiseen hyödynnetään vasta-aineiden ja antigeenien välisiä spesifisiä reaktioita (Titford 2006). Vasta-aineet leimataan jollakin molekyyllillä, jonka avulla se voidaan erottaa sitoutumisreaktion jälkeen, ja leimamolekyylin avulla selvitetään kudoksen antigeenikoostumus (Magaki ja muut 2019).

Fluoresenssimikroskopia otettiin histologiseen tutkimuskäyttöön vuonna 1941 (Titford 2006). Fluoresenssimikroskopiassa fluoroforilla leimattu vasta-aine kiinnittyy sille spesifiseen, tutkittavassa kudoksessa olevaan antigeeniin. Kun kudosta tarkastellaan mikroskoopilla, fluoresenssin intensiteetistä nähdään, missä kohdissa kudosta antigeenit sijaitsevat.

Ensimmäinen vaihe immunohistokemiallisessa tutkimuksessa on tutkittavan kudoksen säilöminen formaliinin avulla (Magaki ja muut 2019). Formaliini muodostaa kudoksen sisältämiin proteiineihin ristsidoksia (engl. *crosslink*), jolloin jotkut vasta-aineiden epitoopit jäävät piiloon. Nämä verkkosidokset tulee poistaa, jotta antigeenien sitoutuvat kohdat tulevat esiin. Tätä prosessia kutsutaan antigeenien esille saanniksi (engl. *antigen retrieval*), ja se yleisimmin suoritetaan lämmittämällä näytettä puskuriliuoksessa (sitraatti tai EDTA). Formaliinifiksausta usein seuraa kudoksen upottaminen parafiiniin, jolloin kudoksesta kovettuu ja siitä voidaan helposti tehdä ohuita kudoksenleikkeitä (Im ja muut 2019). Parafiiniin upotettuja kudoksia voidaan säilyttää huoneenlämmössä ilman, että kudoksesta kärsii vaurioita.

Tämän jälkeen tutkittavaan kudokseen lisätään primäärinen vasta-aine sekä sen jälkeen mahdollisesti myös sekundäärinen vasta-aine (Magaki ja muut 2019). Primäärinen vasta-aine voi olla leimattu, jolloin toista vasta-ainetta ei tarvita. Jos kuitenkin primääristä vasta-ainetta ei ole leimattu, tarvitaan leimattu, sekundäärinen vasta-aine, joka sitoutuu primääriseen vasta-aineeseen. Vaikka sekundäärisen vasta-aineen käyttö lisää tutkimukseen yhden työvaiheen, siitä voi olla hyötyä, kun halutaan käyttää erilaisia primäärivasta-aineita.

Leimamolekyylinä voidaan käyttää esimerkiksi entsyymiä, kuten piparjuuren peroksidaasia tai alkalista fosfataasia, mitkä tuottavat tietyn substraatin kanssa reagoiessaan värillisen tuotteen, joka voidaan havaita (Magaki ja muut 2019). Entsyymireaktion tuottaman värin perusteella kudoksesta voidaan arvioida, missä kohtaa antigeenit siinä sijaitsevat.

Haasteena immunohistokemiallisessa tutkimuksessa on kuitenkin se, että kudoksen antigeenejä täytyy tuntea etukäteen sopivien vasta-aineiden valitsemiseksi, jolloin kudoksia voidaan tutkia kohdennetusti. Se myös soveltuu ainoastaan antigeenien ja vasta-aineiden välisten spesifisten sitoutumisreaktioiden tutkimiseen, eikä esimerkiksi pienmolekyylien, rasvojen tai nukleinihapposekvenssien havaitsemiseen. Toisaalta antigeenien ja vasta-aineiden välisessä sitoutumisreaktiossa voi olla spesifisyyden kannalta vaihtelua, jolloin vasta-aine voi sitoutua muuhunkin kuin sille spesifiseen antigeeniin (Magaki ja muut 2019).

Immunohistokemiallisessa tutkimuksessa leimana voidaan käyttää myös fluoresoivaa leimaa eli fluoroforia, jolloin on kyse immunofluoresenssimenetelmästä (Im ja muut 2019). Fluoresoidun vasta-aineen havaitsemiseen vaaditaan fluoresenssimikroskooppi, mutta muuten menetelmä on sama kuin edellä kuvattu immunohistokemiallisen tutkimuksen menetelmä. Immunofluoresenssin etu verrattuna immunohistokemiaan on esimerkiksi menetelmän herkkyys sekä signaalin vahvistaminen.

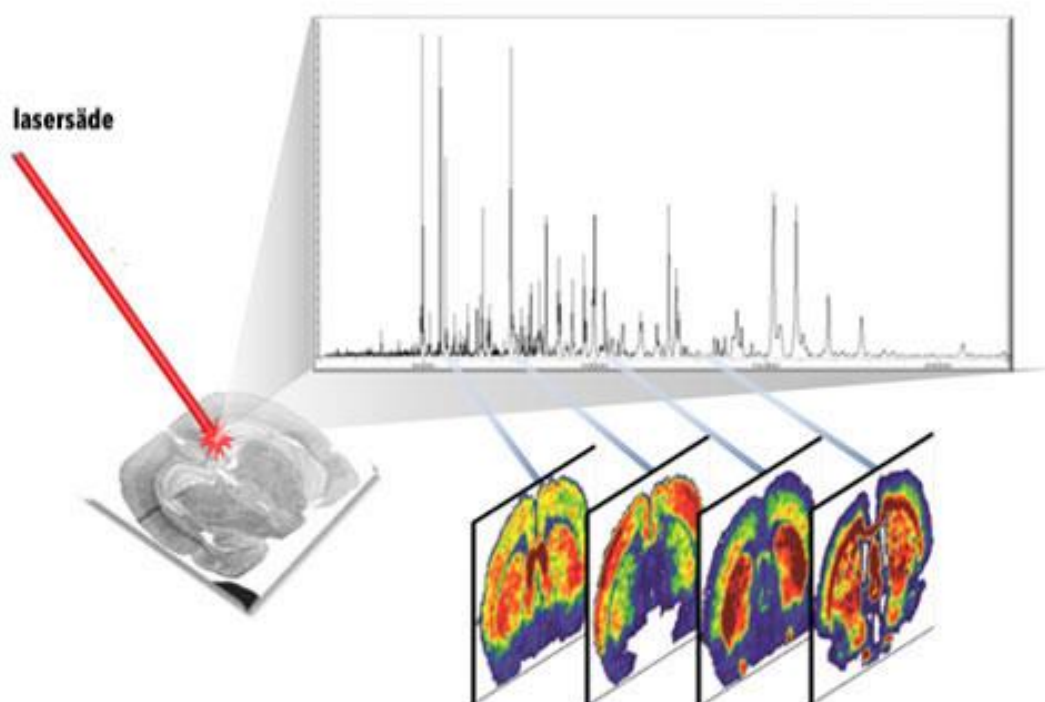
Fluoresenssi on siis tässä suhteessa parannus piparjuuren peroksidaasiin, vaikka vasta-aineita voidaan kuvata vain muutama kerrallaan. Useamman kuin yhden antigeenin samanaikaista tutkimista kutsutaan moninkertaistamiseksi (engl. *multiplexing*). Perinteisen immunofluoresenssikuvantamisen avulla erilaisia antigeenejä voidaan havaita noin 4–6 kappaletta kerrallaan (Lin ja muut 2016). Suurempien fluoroforimäärien käyttäminen johtaa siihen, että fluoroforit häiritsevät toistensa tuottamaa signaalia, eikä fluoresenssia voida luotettavasti mitata. Yksi tapa kiertää fluoroforien määrän yläraja on käyttää syklistä immunofluoresenssia, jossa kudosta värjätään sykleittäin uudelleen niin, että jokaisessa syklin jälkeen vasta-aineet pestään pois ja kudoksesta leimataan uusilla vasta-aineilla. Tässäkin menetelmässä on kuitenkin omat vaikeutensa, sillä tutkittava kudoksesta kärsii jokaisesta syklistä ja osa antigeeneistä menetetään kierros kierrokselta. Suurin mahdollinen antigeenien määrä, jota voidaan syklisen immunofluoresenssin avulla tutkia, on noin 30. Vasta-aineiden havaitsemiseen on kehitetty myös muita menetelmiä, kuten massatageja, joita käsitellään lisää alaluvussa 3.1.3.

Muita tutkimusmenetelmiä, joilla voidaan selvittää kudoksen solukoostumusta sekä solujen liikkumista ajassa ja paikassa, ovat esimerkiksi solujen viivakoodaaminen DNA-sekvensoinnin avulla (Serrano ja muut 2022). Viivakoodaaminen perustuu solujen

leimaamiseen ainutlaatuisella DNA-leimasekvenssillä (fluoresoivaa proteiinia tuottava geeni), joka liittyy osaksi solun genomia. Näin solun jakautuessa myös syntyvässä solussa on kyseiseen soluun yhdistettävissä oleva leimasekvenssi, ja DNA-sekvensoinnin avulla leimatut solut voidaan löytää muiden solujen joukosta. Tätä menetelmää voidaan käyttää erityisesti, kun halutaan tutkia, minkälaiset solut vaikuttavat sairauksien syntyyn. Viivakoodien käyttö on mahdollista myös *in vivo* -olosuhteissa (Krebschull ja Zador 2018). Menetelmä voidaan luokitella spatiaaliseksi, jos sen avulla selvitetään, missä solut sijaitsevat tai ovat sijainneet viivakoodien perusteella (Bressan ja muut 2023).

3.1.3 Massakuvantaminen

Kuten alaluvussa 3.1.2 mainitaan, antigeenejä voidaan havaita enemmän kuin 30 kerrallaan massatagien avulla. Massatagit ovat samankaltaisia leimoja kuin fluoresoivat tai entsyymileimat, mutta niiden erottelu ja tunnistaminen perustuu niiden massaan (Yagnik ja muut 2021). Massatagit voidaan tunnistaa massaspektrometrian tai MALDI MS - kuvantamisen avulla. Massaspektrometria perustuu molekyylien liikkeeseen sähkökentässä, mikä on riippuvaista niiden massan ja varauksen suhteesta. Liikkeen mittauksen perusteella voidaan päätellä, mitä atomeja molekyyli sisältää (Aliofkhazraei 2017). MALDI MS - kuvantaminen (engl. *matrix-assisted laser desorption/ionization mass spectrometry*) perustuu tutkittavien molekyylien ionisointiin matriisilla ennen niiden mittaamista massaspektrometrillä: Tutkittava kudokse peitetään matriisilla, joka absorboi lasersäteiden energiaa itseensä (Yagnik ja muut 2021). Tämän jälkeen kudosta ammutaan lasersäteellä, jolloin kudoksessa olevat molekyylit ionisoituvat (kuva 3). Sitten kudoksen sisältämät molekyylit (tai massatagit) analysoidaan massaspektrometrian keinoin, jolloin niiden massan perusteella voidaan arvioida, mitä molekyyliä kudokse sisältää. Kuva muodostetaan skannaamalla näytettä pikseli kerrallaan. Tätä menetelmää voidaan käyttää sekä massatageilla leimatuille makromolekyyleille että leimaamattomille, pienille molekyyyleille. Leimaamattomia molekyyliä analysoidaessa voidaan mitata suoraan lipidejä ja muita metaboliitteja, mikä ei ole mahdollista immunohistokemian keinoin.



Kuva 3. MALDI-kuvantamisen peruseriaate. Näytettä, jonka päälle on levitetty matriksi, ionisoidaan lasersäteellä ja mitataan näytteen sisältämät molekyylit massaspektrometrian avulla, jolloin jokaiselle näytteen pikselille voidaan muodostaa massaspektri. Massaspektrien avulla voidaan mallintaa kokonaiskuva kudoksenäytteestä ja sen sisältämistä molekyyleistä. Muokattu lähteestä (*Bruker.com*; "MALDI Imaging").

Massaspektrometrian sovellus, massasytometria (engl. *mass cytometry*, MC), havaitsee vasta-aineita, jotka ovat konjugoituneet isotooppisesti puhtaisiin metalliatomeihin (Bressan ja muut 2023). Erityisesti tähän tarkoitukseen käytetään lantanidiatomeita. Jokainen vasta-aine on sitoutuneena eri metalliatomiin kelatoivan polymeerin avulla, ja kuvantamisen aikana lasersäde höyrystää tutkittavaa kudosta yksi pikseli kerrallaan. Lantanidiatomeita ei tyypillisissä olosuhteissa löydy biologisista kudoksista, joten metallileiman massaa mittaamalla saadaan tietoa siitä, minkälaisia biologisia molekyylejä kudoksessa esiintyy. Tämä tutkimusmenetelmä on perusta kuvantamismassasytometrialle (engl. *imaging mass cytometry*, IMC) sekä kerrannaisionisuihkukuvantamiselle (engl. *multiplexed ion beam imaging*, MIBI), ja pääosin sillä havaitaan proteiineja ja proteiiniuokkauksia, kuten esimerkiksi vasta-aineita, mutta myös RNA:ta on kyetty havaitsemaan hyödyntämällä metallikonjugoituneita hybridisaatioalukkeita.

3.1.4 Spatiaalinen transkriptomiikka

Spatiaalinen transkriptomiikka on yksi tärkeimmistä ja kehittyneimmistä spatiaalisten omiikkojen menetelmistä. Spatiaalisella transkriptomiikalla selvitetään geeniekspression

malleja, ensin selvittämällä sekvenssin sijainti kudoksessa ja sen jälkeen sekvensoimalla RNA (Cao ja muut 2024). Menetelmä voi antaa lisätietoa myös tiettyihin solutyyppeihin liittyvistä aktiivisista geeneistä ja mahdollisista geeneistä, jotka yksilöä altistavat eri sairauksille. Spatiaalinen transkriptomiikka antaa myös mahdollisuuden tutkia kudoksen sisältämää genomia niin, että kudosta ei tarvitse kokonaan hajottaa.

Tällä hetkellä käytössä olevia spatiaalisen transkriptomiikan menetelmiä ovat esimerkiksi in situ -hybridisaatio (Cao ja muut 2024). Tästä yleisimpänä käytetään FISH-menetelmää eli fluoresoivaa in situ -hybridisaatiota. Fluoresoiva in situ -hybridisaatio perustuu fluoresoiviin alukkeisiin, jotka kiinnittyvät niille komplementaarisiin RNA- tai DNA-juosteisiin (Rao ja muut 2021). Alukkeet ovat DNA-juosteita (Crosetto ja muut 2015). Kun näytettä tarkastellaan fluoresenssimikroskopian keinoin, fluoresoivat alukkeet ja niihin kiinnittyneet RNA-juosteet näyttäytyvät tutkittavassa näytekudoksessa emittoituna valona, ja tästä tiedetään kohdassa olevan RNA:ta. Samoin kuten immunofluoresenssissa, eri fluoresoivia värejä voidaan käyttää kuitenkin vain rajallinen määrä.

Spatiaalisen transkriptomiikan menetelmät voivat myös perustua seuraavan sukupolven sekvensointitekniikoihin (Rao ja muut 2021). Tutkittava kudoksenäyte asetetaan näytelevylle, jonka jokaista kohtaa vastaa etukäteen tunnettu molekulaarinen viivakoodi. Molekulaarinen viivakoodi tarkoittaa DNA-sekvenssiä, johon paikkatieto on koodattu, joka sitoutuessaan tutkittavan kudoksen nukleiinihappoihin, esimerkiksi tässä tapauksessa RNA:han, sisältää tiedon siitä, missä kohtaa näytelevyä kyseinen molekyyli sijaitsee. Molekulaarisen viivakoodin sitoutumisen jälkeen näytekudoksen sisältämä RNA voidaan sekvensoida (cDNA:ksi kääntämisen jälkeen), jolloin myös viivakoodi sekvensoituu ja sekä RNA:n sisältämä tieto että leimamolekyylin sisältämä spatiaalinen tieto saadaan kerättyä talteen. Tätä dataa käsittelemällä voidaan mallintaa, missä kohtaa tutkittavaa kudoksenäytettä sijaitsee tiettyjä RNA-juosteita.

Eräillä spatiaalisten omiikkojen menetelmillä voidaan selvittää myös genomista tietoa laajemmassa mittakaavassa kuin yksittäisiä RNA- tai DNA-juosteita sekvensoimalla. Yksi näistä menetelmistä on ATAC (engl. *assay for transposase-accessible chromatin using sequencing*) (Grandi ja muut 2022). ATAC:n avulla tutkitaan, miten genomia säädellään epigeneettisesti eli miten transkriptiotekijät vaikuttavat geenien ilmenemiseen. Yleisin menetelmä on transposaasientsyymien käyttäminen; transposaasi kykenee poistamaan DNA-

juosteita ja lisäämään tilalle uusia. ATAC:ssa transposaasi liittää DNA:han sekvensointia edistäviä alukkeita. DNA, joka ei ole pakkautunut tiiviisti kromatiiniksi, on transposaasientsyymille helpommin saavutettavaa. Mikäli jokin DNA-juosteen osa ilmenee sekvensoinnissa monta kertaa, kromatiini on avoinna, mikä viittaa siihen, että geeni on aktiivinen.

3.2 Mahdolliset kliiniset sovellukset

Kaufmann ja muut ovat tutkineet multipeliskleroosin aiheuttaman varhaisen neurodegeneraation reittejä spatiaalisen transkriptomiikan ja spatiaalisen proteomiikan avulla (Kaufmann ja muut 2022). Tutkimus suoritettiin käyttämällä jäädytettyjä, menehtyneiden MS-tautipotilaiden ruumiinavauksissa kerättyjä aivokuorinäytteitä. Kaikki potilaat olivat sairastaneet toissijaisesti etenevää MS-tautimuotoa. Eri MS-tautimuodot kuvailtu tarkasti luvussa 2.1.

Ensin tutkimuksessa tutkittiin MS-tautipotilaiden aivokudosnäytteitä, joissa ei ollut todettu MS-taudin aiheuttamia plakkeja, mutta näytteiden viereisillä aivoalueilla oli tapahtunut demyelinaatiota. Kudosnäytteitä tutkittiin seuraavan sukupolven sekvensointiin perustuvien menetelmin niin, että saatiin tietoa kudoksen sisältämästä RNA:sta. Tätä kerättyä dataa vertailtiin valmiiseen terveeseen aivokudoksen RNA-sekvensseihin, jolloin huomattiin, että MS-tautipotilaista kerätyssä kudoksessa hermosolujen geenien ilmentyminen on normaalista poikkeavaa. Häiriöt solujen toiminnassa kertovat mahdollisesta tulevasta neurodegeneraatiosta, vaikka rappeutuminen ei ollut vielä niin pitkälle edennyt, että se olisi voitu todeta magneettikuvantamisen perusteella demyelinoituneeksi plakiksi.

Tutkimuksessa tehdyn sekvensoinnin perusteella selvisi, minkälaisen geenien ilmentymiseen neurodegeneraatio vaikutti vertailemalla geeniekspressiota eri neurodegeneraation vaiheissa. Geenit, joiden ekspressioon hermosolujen rappeutuminen vaikutti, säätelivät esimerkiksi myelinaatiota, immuunipuolustusjärjestelmän solujen aktivointia sekä kudoksen uusiutumista. Tutkijat selvittivät, että näitä genejä ekspresoidaan ainoastaan yhdessä solutyypissä, mutta niiden säätelyyn osallistuvat monet eri solut. Tutkimuksen myötä selvisi myös, että geenien, jotka säätelevät synapsienvälistä kommunikaatiota, ekspressio vähenee huomattavasti neurodegeneraation myötä. Toisaalta tulehdusreaktioita säätelevien geenien ekspressio kiihtyi alueilla, joilla rappeutumista tapahtui, vaikka muilla aivoalueilla tulehdusta ei esiintynyt.

Kaufmann ja muut käyttivät proteomiikan tutkimiseen suuren herkkyuden massaspektrometriaa. Kudoksenäytteistä löydettiin yli 4500 ainutlaatuista proteiinia. Proteiinipitoisuuksia verrattiin geeniekspressioon, ja huomattiin näiden kahden tekijän olevan vahvasti yhteydessä toisiinsa.

Tutkimuksessa selvisi, että spatiaalisen transkriptomiikan ja proteomiikan avulla voidaan siis mallintaa, mille aivoalueille demyelinoituneita plakkeja on muodostumassa, vaikka neurodegeneraatio olisi vasta alkutekijöissään. Tätä tietoa hyödyntämällä voitaisiin kehittää MS-taudin diagnostiikkaa ja hoitomuotoja niin, että demyelinaatiota saataisiin hidastettua jo ennen oireiden puhkeamista. Dataa hyödyntämällä voidaan myös päätellä, minkälaiset geneettiset tekijät vaikuttavat MS-taudin aiheuttamaan demyelinaatioon ja minkälaisia mahdollisia biomerkkiaineita plakkien alueella esiintyy.

4 Yhteenveto

Tässä tutkielmassa on käsitelty multippeliskleroosia, sen oireita ja diagnosointia sekä spatiaalisia omiikkoja MS-taudin tutkimisen näkökulmasta. MS-taudin yleisyydestä huolimatta sen tautiprosesseista ja biokemiallisista reaktioreiteistä tiedetään melko vähän.

Tällä hetkellä MS-taudin diagnostiikassa on keskeisessä osassa magneettikuvantaminen. Vaikka magneettikuvantaminen on tehokas, ei-invasiivinen menetelmä tutkia ihmisaivoja, siihen liittyy myös ongelmia. Magneettikuvantamiseen liittyviä haasteita ovat esimerkiksi se, että tarkkaa tautimuotoa on vaikea päätellä. Jopa suurempi ongelma on se, että MS-tauti voidaan diagnosoida vasta plakkin muodostuttua, eikä varhaisia tautivaiheita voida havaita magneettikuvantamisella.

Spatiaaliset omiikat eivät ole tutkimusmenetelmiä, joilla voitaisiin korvata nykyisiä MS-taudin diagnosoinnissa käytettyjä työvälineitä, kuten esimerkiksi magneettikuvantamista. Kaufmannin ja muiden tutkimuksesta, joka on käsitelty kappaleessa 3.2, voidaan kuitenkin havaita, että spatiaalisilla omiikoilla voidaan saada selville paljon uutta tietoa MS-taudin reiteistä ja etenemisestä. Tulevaisuudessa spatiaalisilla omiikoilla voidaan mahdollisesti tutkia niin MS-taudin kuin muidenkin sairauksien prosesseja ja saada niistä lisää tietoa niin, että hoitomuotoja voidaan kehittää entistä tehokkaammiksi.

Lähteet

- Aliofkhazraei, M. (Toim.) (2017) *Mass Spectrometry*. InTech.
- Ascherio, A. (2013) Environmental factors in multiple sclerosis. *Expert Rev Neurother* **13**:3–9.
- Atula, S. (2023, tammikuuta 26) MS-tauti. <https://www.terveyskirjasto.fi/dlk00048> (Luettu 6.5.2025)
- Bansil, S., Lee, H. J., Jindal, S., Holtz, C. R. & Cook, S. O. (1999) Correlation between sex hormones and magnetic resonance imaging lesions in multiple sclerosis. *Acta Neurol Scand* **99**:91–94.
- Bressan, D., Battistoni, G. & Hannon, G. J. (2023) The dawn of spatial omics. *Science* **381**:eabq4964.
- Buzzard, K., Chan, W. H., Kilpatrick, T. & Murray, S. (2017) *Multiple Sclerosis: Basic and Clinical*. Teoksessa P. Beart, M. Robinson, M. Rattray, & N. J. Maragakis (Toim.), *Neurodegenerative Diseases: Pathology, Mechanisms, and Potential Therapeutic Targets* (ss. 211–252). Cham: Springer International Publishing.
- Cao, J., Li, C., Cui, Z., Deng, S., Lei, T., Liu, W., ... Chen, P. (2024) Spatial Transcriptomics: A Powerful Tool in Disease Understanding and Drug Discovery. *Theranostics* **14**:2946–2968.
- Crosetto, N., Bienko, M. & van Oudenaarden, A. (2015) Spatially resolved transcriptomics and beyond. *Nat Rev Genet* **16**:57–66.
- Farmerie, L., Rustandi, R. R., Loughney, J. W. & Dawod, M. (2021) Recent advances in isoelectric focusing of proteins and peptides. *J Chromatogr A* **1651**:462274.
- Grandi, F. C., Modi, H., Kampman, L. & Corces, M. R. (2022) Chromatin accessibility profiling by ATAC-seq. *Nat Protoc* **17**:1518–1552.
- Hemond, C. C. & Bakshi, R. (2018) Magnetic Resonance Imaging in Multiple Sclerosis. *Cold Spring Harb Perspect Med* **8**:a028969.
- Im, K., Mareninov, S., Diaz, M. F. P. & Yong, W. H. (2019) An introduction to Performing Immunofluorescence Staining. *Methods Mol Biol Clifton NJ* **1897**:299–311.
- Katz Sand, I. (2015) Classification, diagnosis, and differential diagnosis of multiple sclerosis. *Curr Opin Neurol* **2015**:193–205.

- Kaufmann, M., Schaupp, A.-L., Sun, R., Coscia, F., Dendrou, C. A., Cortes, A., ... Fugger, L. (2022) Identification of early neurodegenerative pathways in progressive multiple sclerosis. *Nat Neurosci* **25**:944–955.
- Kebschull, J. M. & Zador, A. M. (2018) Cellular barcoding: Lineage tracing, screening and beyond. *Nat Methods* **15**:871–879.
- Khademi, M., Kockum, I., Andersson, M. L., Jacobaeus, E., Brundin, L., Sellebjerg, F., ... Olsson, T. (2011) Cerebrospinal fluid CXCL13 in multiple sclerosis: A suggestive prognostic marker for the disease course. *Mult Scler Houndmills Basingstoke Engl* **17**:335–343.
- Kubsik-Gidlewska, A. M., Klimkiewicz, P., Klimkiewicz, R., Janczewska, K. & Woldańska-Okońska, M. (2017) Rehabilitation in multiple sclerosis. *Adv Clin Exp Med Off Organ Wroclaw Med Univ* **26**:709–715.
- Lassmann, H., Brück, W. & Lucchinetti, C. F. (2007) The Immunopathology of Multiple Sclerosis: An Overview. *Brain Pathol* **17**:210–218.
- Lechner-Scott, J., Spencer, B., de Malmanche, T., Attia, J., Fitzgerald, M., Trojano, M., ... MSBase study group (2012) The frequency of CSF oligoclonal banding in multiple sclerosis increases with latitude. *Mult Scler Houndmills Basingstoke Engl* **18**:974–982.
- Lin, J., Fallahi-Sichani, M., Chen, J. & Sorger, P. K. (2016) Cyclic Immunofluorescence (CycIF), A Highly Multiplexed Method for Single-cell Imaging. *Curr Protoc Chem Biol* **8**:251–264.
- Magaki, S., Hojat, S. A., Wei, B., So, A. & Yong, W. H. (2019) An Introduction to the Performance of Immunohistochemistry. *Methods Mol Biol Clifton NJ* **1897**:289–298.
- Magliozzi, R. & Cross, A. H. (2020) Can CSF biomarkers predict future MS disease activity and severity? *Mult Scler J* **26**:582–590.
- MALDI Imaging. <https://www.bruker.com/en/applications/academia-life-science/imaging/maldi-imaging.html> (Luettu 25.2.2025)
- Modvig, S., Degn, M., Roed, H., Sørensen, T., Larsson, H., Langkilde, A., ... Sellebjerg, F. (2015) Cerebrospinal fluid levels of chitinase 3-like 1 and neurofilament light chain predict multiple sclerosis development and disability after optic neuritis. *Mult Scler J* **21**:1761–1770.

- Oh, J. & Sicotte, N. L. (2020) New imaging approaches for precision diagnosis and disease staging of MS? *Mult Scler J* **26**:568–575.
- Oh, J., Vidal-Jordana, A. & Montalban, X. (2018) Multiple sclerosis: Clinical aspects. *Curr Opin Neurol* **31**:752.
- Pilcher, H. (2004) MRI machine tracks brain's metabolism. *Nature*.
- Rao, A., Barkley, D., França, G. S. & Yanai, I. (2021) Exploring tissue architecture using spatial transcriptomics. *Nature* **596**:211.
- Sati, P., George, I. C., Shea, C. D., Gaitán, M. I. & Reich, D. S. (2012) FLAIR*: A Combined MR Contrast Technique for Visualizing White Matter Lesions and Parenchymal Veins. *Radiology* **265**:926–932.
- Serrano, A., Berthelet, J., Naik, S. H. & Merino, D. (2022) Mastering the use of cellular barcoding to explore cancer heterogeneity. *Nat Rev Cancer* **22**:609–624.
- Solaro, C., Gamberini, G. & Masuccio, F. G. (2018) Depression in Multiple Sclerosis: Epidemiology, Aetiology, Diagnosis and Treatment. *CNS Drugs* **32**:117–133.
- Thompson, A. J., Banwell, B. L., Barkhof, F., Carroll, W. M., Coetzee, T., Comi, G., ... Cohen, J. A. (2018) Diagnosis of multiple sclerosis: 2017 revisions of the McDonald criteria. *Lancet Neurol* **17**:162–173.
- Titford, M. (2006) A Short History of Histopathology Technique. *J Histotechnol* **29**:99–110.
- Travers, B. S., Tsang, B. K.-T. & Barton, J. L. (2022) Multiple sclerosis: Diagnosis, disease-modifying therapy and prognosis. *Aust J Gen Pract* **2022**.
- Vaara, S., Syväranta, S. & Peltonen, J. (2021) Magneettikuvauksen ABC: T1, T2, fat sat, DWI ynnä muut. *Duodecim* **2021**. Noudettu osoitteesta <https://www.duodecimlehti.fi/duo16593>
- Yagnik, G., Liu, Z., Rothschild, K. J. & Lim, M. J. (2021) Highly Multiplexed Immunohistochemical MALDI-MS Imaging of Biomarkers in Tissues. *J Am Soc Mass Spectrom* **32**:977–988.
- Yoon, J. H., Seo, Y., Jo, Y. S., Lee, S., Cho, E., Cazenave-Gassiot, A., ... Suh, P.-G. (2022) Brain lipidomics: From functional landscape to clinical significance. *Sci Adv* **8**:eadc9317.