

Az α -szinuklein szerepe Parkinson-kórban

MIKLYA ILDIKÓ, PENCZ NOÉMI, HAFENSCHER FLORENCIA ÉS GÖTL PATRÍCIA

Semmelweis Egyetem, Farmakológiai és Farmakoterápiás Intézet, Budapest

A humán szinuklein protein család legismertebb izoformája a 140 aminosavat tartalmazó α -szinuklein. Fiziológiai szerepe még nem teljesen tisztázott, de az már jól ismert, hogy az úgynevezett konformációs-neurodegeneratív betegségek egyik okozója. A natív oldékony protein szerkezetében történő konformációváltozás oldhatatlan aggregátumok kialakulásához vezet, melyek zárványokká stabilizálódva Lewy-testeket, neuriteket képeznek, és toxinként károsítják a neuronokat. A neurodegeneráció először a szaglórendszert, a perifériás autonóm idegrendszert és a vagus dorsalis motoneuronjait; a betegség középszakaszában pedig a substantia nigra dopaminerg neuronjait; és egy jóval későbbi stádiumban már a kortext is érinti. Ez a precíz sorrendje a neurodegenerációnak nem minden esetben érvényes, de növeli annak a valószínűségét, hogy a Lewy-elváltozás és a neurodegeneráció prionszerű módon terjed az érintett területekről az ép területekre. A prionok fertőző proteinek, amelyeknek nincs nukleinsavuk, kizárólag proteinek tartalmazzák. Azáltal okoznak betegséget, hogy β -redőben gazdag konformációba tekerednek fel, toxikus filamentumokat és aggregátumokat képezve. A feltekeredett protein úgy viselkedik, mintha templát lenne, és a vad típusú proteinekben konformációváltozást indukál keresztreakciót okozva, amely neurodegenerációhoz vezet. Később a hibás proteinek a már érintett idegsejtekből az egészségesekbe jutnak át, ahol a szekvencia ismétlődik, és kiterjed a neurodegeneráció. Számos kutatás foglalkozott már az α -szinuklein intercelluláris transzferének alapjául szolgáló mechanizmussal, melyek megerősítik a prion-életet, miszerint az α -szinuklein monomerek és aggregátumok exocitózissal szekretálódhatnak a károsodott idegsejtekből, és a még nem érintett idegsejtek felveszik azokat endocitózissal, rámutatva arra, hogy az α -szinukleinnek milyen fontos szerepe van a prionszerű folyamatban.

(Neuropsychopharmacol Hung 2014; 16(2): 77–84)

Kulcsszavak: α -szinuklein, konformációs betegség, neurodegeneratív betegség, Parkinson-kór, prion

SZINUKLEIN PROTEINEK

A szinukleinek az oldékony proteinek egyik családját alkotják, melyek közül a három legismertebb izoforma az α -, β - és γ -szinuklein. Az első szinukleint Maroteaux és munkatársai identifikálták 1988-ban. A szinuklein elnevezés abból adódik, hogy főleg a preszinaptikus idegvégződésben és a nukleáris membránban lokalizálódik. 1993-ban Ueda és kutatócsoportja közölte, hogy egy kis nem-amiloid peptidet (non-amyloid component, NAC) izoláltak Alzheimer-kórban szenvedő betegből származó, tisztított amiloid plakkból található nagyobb protein prekursorból, melyről már bebizonyosodott, hogy az α -szinuklein volt. Mindhárom izoforma elsősorban a központi idegrendszerben (kortex, hippokampusz, thalamusz,

amygdala) expresszálódik, de kisebb mennyiségben kimutatható perifériásan az enterális idegrendszerben, a szívben, vázizomban, tüdőben és a vesében is (Jakes et al., 1994; Lavendan, 1998; Ueda et al., 1993, 1994). Az α -szinuklein akkor került a figyelem középpontjába, amikor felfedeztek egy pontmutációt az α -szinuklein génjében, ami dominánsan öröklődő parkinsonizmust okozott egy görög családban (Polymeropoulos et al., 1997; Kruger et al., 1998).

α -SZINUKLEIN

A humán α -szinuklein 140 aminosavból álló (14 kDa), jól oldódó, hőstabil protein, melyet az SNCA [synuclein, alpha (non A4 component of amyloid precursor), synonyms: PARK1, NACP] gén kódol.

Ezideig 3 Parkinson-asszociált mutánsa ismert (A30P, A53T, E46K). Három fő alegységből épül fel: egy N-terminalis amfipatikus, egy centrális hidrofób részből, mely tartalmazza a nem-amiloid- β komponenst (NAC), és egy prolinban gazdag C-terminálisból.

A dominánsan a neuronális szinapszisokban expresszálódó α -szinuklein fiziológias szerepe még nem teljesen tisztázott, de feltehetően befolyásolja a neuronális plaszticitást és a neuronális differenciációt. Facilitálja a szinaptikus transzmissziót, feltehetően a foszfolipáz D gátlásán keresztül (George, 2002), és befolyásolja a neurotransmitter-felszabadulást, a SNARE [SNAP (soluble NSF attachment protein) REceptor]-függő vezikula dokkolást, és a vezikula-ürülést (Burré, et al., 2010; Nemani, et al., 2010). Patológiai szerepe igazolt néhány tumoros kórképben és a konformációs neurodegeneratív betegségekben.

PARKINSON-KÓR ÉS AZ α -SZINUKLEIN

Már régóta ismert, hogy a Parkinson-kór (Parkinson's disease – PD) lefolyásában a hibásan feltekeredett proteinek kulcsszerepet játszanak, mivel a betegség jellemzője az aggregált protein felhalmozódása a perikarionban, a dendritekben és a substantia nigra pars compactájának dopaminerg neuronjaiban, az idegsejtek axonjában, valamint más területeken a centrális és perifériás idegrendszerben. Lewy azonosította elsőként a fehérjezárványokat a vagus dorsalis motorneuronok citoplazmájában és a PD betegek substantia innomitájában (Lewy, 1912). Róla Lewy-testeknek nevezték el őket. Hasonló protein aggregátumokat írtak le az érintett idegek axonjában, melyeket Lewy-neuriteknak hívnak. A Lewy-testek szemcsés magból állnak, amelyek nitrátot, foszforilált és ubikvitinált proteint tartalmaznak, ami egy neurofilamentumokból és α -szinukleinből álló burokkal van körülvéve. Nem ismert pontosan, hogy mitől alakulnak ki. Eleinte úgy gondolták, hogy ezek toxikusak és neurodegenerációhoz vezetnek. A legújabb ismeretek szerint a hibásan feltekeredett proteinek megemelkedett szintje aggreszóma képződéshez vezet, hogy elősegítsék a potenciálisan toxikus, hibásan tekeredett proteinek eltakarítását (Olanow et al., 2004). Ezen elmélet mellett szól egy legújabb post mortem vizsgálat, melynek során megfejtették, hogy nem ezek a testek felelősek elsődlegesen a neurodegenerációért (Milber et al., 2012). A kutatók Lewy-testeket találtak a szaglórendszer idegsejtjeiben és a kaudális agytörzsben, de nem találtak a substantia nigra pars compactában, annak ellenére, hogy a tirozin hidroxiláz immunoreaktív vizsgálata alapján a betegség már javában tartott.

A PD legjellegzetesebb neuropatológiai jegyei a Lewy-testek és a Lewy-neuritek, melyek legnagyobb részét az α -szinuklein alkotja. Továbbá az α -szinuklein foszforiláció a PD patogenezisének egyik kulcsfolyamata, mivel a Lewy-testekben található α -szinuklein 90%-a foszforilált a 129-szerinen, míg a normál agyban csak 4% van foszforilált állapotban. A PD patológia nem korlátozódik a központi idegrendszerre. Jól kimutatható kapcsolat van a perifériás enterikus idegrendszer és a központi idegrendszerben lezajló folyamatok között. A Lewy-elváltozások az enterális neuronális hálózatban is kimutathatóak, már a betegség korai szakaszában (Braak, et al., 2006; Beach, et al., 2009).

Az az elmélet, hogy az α -szinuklein is szerepet játszik a parkinsonos betegségek befolyásolásában azután vetődött fel, miután mutációkat fedeztek fel a kódoló génjében, amelyek a ritka öröklődő PD-ben játszanak szerepet (Polymenopoulos et al., 1997). Később azt is felfedezték, hogy a vad típusú α -szinuklein duplázódása vagy megtriplázódása familiáris PD-hez vezethet (Chartier-Harlin et al., 2004; Ibanez et al., 2004; Singleton et al., 2003). Ebből az következik, hogy a normális típusú α -szinuklein overexpresszió önmagában is PD kialakulásához vezethet. Soroza-tos klinikai és laboratóriumi megfigyelések alapján kezdtek rájönni, hogy az α -szinuklein szint fontos a PD patogenezisében. Azokban a betegekben, akikben triplázódott a gén, súlyosabb a kór lefolyása, mint azokban, akikben duplázódott. Az α -szinuklein citoplazmatikus szintje az emberi agy öregedésével nő és az öregedés a PD kialakulásának egyik fő rizikófaktor. Az α -szinukleinnel kapcsolatba hozható pontmutáció megnöveli a PD kialakulásának az esélyét. Laboratóriumban transzgenikus rágcsálkon végzett α -szinuklein overexpresszió a nigrális dopaminerg neuronok elvesztéséhez vezet és növeli az α -szinuklein aggregátumokat. A substantia nigra pars compactába történő α -szinuklein gén bejutattás következtében zárványtestek jelennek meg, amelyek a dopaminerg neuronok degenerációjához, és parkinsonszerű motoros zavarokhoz vezetnek mind patkányokban, mind majmokban.

Ezenkívül a PD patogenezisében játszott szerepét erősen támogatja az a felfedezés, hogy az SNCA gén vad típusának nem csak pontmutációja, hanem multiplikációja (duplázódás vagy triplázódás) is a parkinsonizmus familiáris formáját okozza. Az α -szinuklein akkumulációja (mely a hibás katabolikus útvonalak, SNCA gén patogén mutációi vagy a vad típusú izoforma túlexpressziójának következménye) a protein misfoldingját és a toxikus

oligomerek aggregációját indukálják, ezáltal segítve elő a PD degeneratív előrehaladását.

Az α -szinukleinnek a PD-n kívül még más konformációs betegségben is szerepe van, melyeket gyűjtő néven szinukleinopátiáknak nevezünk: kortikális Lewy-test demencia (LBD), incidental Lewy-body disease, amiotróp laterális szklerózis (ALS), multiple system atrophy (MSA), Hallervorden-Spatz szindróma (NBIA 1 – neurodegeneration with brain iron accumulation type 1), Alzheimer-kór (Bennet, 2005).

Ismert, hogy a Lewy-testek elváltozásai a locus coeruleus noradrenerg, a nucleus basalis Meinert kolinerg, és a medián raphe nucleus szerotonerg neuronjait is érintik. Braak és munkatársai (2003) felmérték az α -szinuklein zárványok eloszlását PD betegekben és megállapították, hogy a Lewy-testek úgy alakulnak ki, hogy először a szaglőrendszert, a perifériás autonóm idegrendszert és a vagus dorsalis motoneuronjait; a betegség középszakaszában pedig a substantia nigra dopaminerg neuronjait, és egy jóval későbbi stádiumában a agyféltekék neokortexét is érintik. Ez a precíz sorrendje a neurodegenerációnak nem minden esetben érvényes, és növeli annak a valószínűségét, hogy a neurodegeneráció és a Lewy elváltozás prionszerű módon áterjed az érintett területekről a nem érintett területekre (Olanow és Brundin, 2013).

PRIONOK

A prionok (*proteinaceous infectious particle* vagy *protein only*) fertőző protein „mikroorganizmusok”. Valamikor lassúvírusoknak tartották őket, a prionok azonban kizárólag proteinek tartalmazzák, és nukleinsav nélkül is replikálódnak (Prusiner, 1998). A fehérje jelen van egészséges szervezetben is, csak térszerkezete más. Azáltal okoznak betegséget, hogy a normális α -hélixből β -redőben gazdag konformációba tekerednek fel, toxikus filamentumokat és aggregátumokat képezve. A feltekeredett protein úgy viselkedik, mintha templát lenne, és a vad típusú proteinben konformációváltozást indukál, keresztreakciót okozva, amely neurodegenerációhoz vezet. Később a hibás proteinek a már érintett idegsejtekből az egészségesekbe jutnak át, ahol a szekvencia ismétlődik, és így kiterjeszti a neurodegenerációt. Emlősökben a legjobban ismert prionfehérje a PrP^{Sc} (scrapie prion protein), mely egy kevésbé ismert folyamat során a prekursorfehérjéből (PrP^C) keletkezik. A PrP^{Sc} felhalmozódása fokozza a PrP^C további átalakulását, ami aztán toxikus oligoméereket, patogén prion proteinek (PrP^P) hoz létre, majd polimeri-

zálódik, hogy amiloid plakkokat képezzen és végül neurodegenerációhoz vezessen. A patogén formák hőstabilak, és a fehérjebontó mechanizmusoknak ellenállnak.

AZ α -SZINUKLEIN VAJON PRIONSZERŰ FEHÉRJE?

A gondolat, hogy az α -szinuklein prionszerű fehérje olyan post mortem vizsgálatok után merült fel, amelyek során PD betegekbe embrionális mezeencefalikus agyszövetet ültettek be. Azon transzplantált betegek boncolási eredménye szerint, akik 18 hónappal később meghaltak, az átültetett neuronok normálisak voltak és a dopamin markerek (tirozin-hidroxiláz, dopamin transzporter) nem változtak. Ezzel szemben azon betegeknek, akik a transzplantáció utáni 11-16. évben haltak meg, az átültetett neuronokban kóros protein zárványok voltak. Ezekben a zárványokban α -szinuklein, ubikvitin és poszttranszlációban módosult 129-es szerin foszforilált α -szinuklein volt. Az α -szinuklein ezen változata csak a Lewy-testekben, neuritekben található meg. Továbbá az aggregációk β -redőben gazdag struktúrát mutattak. Ez azt bizonyította, hogy az átültetett idegsejtek idővel károsodtak, működésképtelenné váltak. A nem aggregálódott, szolubilis α -szinuklein szintek is megváltoztak. Mivel a Lewy-testek és neuritek olyan embrionális idegsejtekből voltak megtalálhatók, amelyek genetikailag különböző donoroktól származtak, egyértelműnek látszik, hogy ezeknek a Lewy-testeknek a felhalmozódása direkt összefüggést mutatott azzal, hogy az a környezet, ahova kerültek, egy PD betegben volt. Ennek a legvalószínűbb magyarázata, hogy az α -szinuklein prionszerű fehérje. Figyelembe vették azokat a lehetőségeket, hogy más folyamat is szerepet játszhat, de valószínűsítik, hogy a prion hipotézis a legelfogadhatóbb magyarázat (Kordower et al., 1995, Lindvall et al., 1994; Olanow et al., 2003).

Számos laboratóriumi kutatás megerősíti a prion-elméletet. In vitro kutatásokból ismert, hogy α -szinuklein monomerek és aggregátumok szekretálódhatnak a megtámadott idegsejtekből exocitózissal, és a még nem érintett idegsejtek felveszik azokat endocitózissal. Transzgenikusan módosított egerekben, melyek mutáns humán α -szinukleint expresszáltak, kimutatták az α -szinuklein neuronból neuronba történő transzferét (Desplats, et al., 2009; Hansen, et al., 2011). Hasonló eredményeket kaptak patkányokon, amelyek humán α -szinukleint overexpresszáltak adenovirális génterápia után (Kordower, et al., 2011).

Az előző tanulmányok az α -szinuklein transzferét bizonyítják transzgenikus állatokban, amelyek humán α -szinukleint overexpresszáltak. Luk és munkatársai bizonyították, hogy finomított, rekombináns vad típusú humán α -szinukleinből készült preformált rostok szintén aggregátumok és Lewy-testek képzését indukálták olyan sejt kultúrákban, amelyekkel vad típusú α -szinukleint expresszáltattak. Kimutatták, hogy az α -szinuklein rostok indukálták az endogén α -szinuklein patológiássá, azaz oldhatatlanná, hiperfoszforilálttá és ubikvitinálttá válását, amelyek a Lewy-testek fő tulajdonságai PD-ben. Ugyanezen kutatócsoport azt is kimutatta, hogy a preformált α -szinuklein rostok exogén adagolása azt eredményezi, hogy a tenyésztett hippocampális neuronok felveszik őket, és a sejttestbe juttatják, ahol Lewy-test képződést és neurodegenerációt indukálnak. Ezekben a kísérletekben az α -szinuklein neurodegenerációt indukált a neuronokban, anélkül hogy overexpresszálták volna akár a vad típusú, akár a mutáns változatát a fehérjének (Luk, et al., 2009). Egy másik kutatócsoport egér kérgi neuronokat tenyésztett olyan mikrofluid készülékben, ami lehetővé tette, hogy elválasszák az idegsejteket, és kimutassák, hogy a táptalajhoz adott, fluoreszcensen jelzett fibrilláris α -szinukleint az axonok felveszik, és azt transzportálják a többi neuronhoz, melynek következtében az endogén vad típusú α -szinuklein zárványokat alakít ki, és az egyébként normális neuronokban sejthalált indukál (Freundt, et al., (2012).

Mougenot és munkatársai (2012) olyan oldhatatlan α -szinuklein aggregátummal oltottak be transzgenikus egereket intracerebrálisan, amelyet öregebb humán A53T mutáns α -szinukleint overexpresszáló transzgenikus egerekből vettek ki. Ily módon a viselkedési abnormálisok és az α -szinuklein aggregátumok a fiatal transzgenikus egerekben korábban jelentkeztek, mint azokban, akik nem kaptak oltást. Az olyan oltott egerek, amelyek nem expresszáltak α -szinukleint, de beteg TgM83 egér agy-homogenizátummal lettek beoltva, nem mutatták a tüneteket, jelezve annak a fontosságát, hogy a gazda-vad típusú α -szinukleinnek milyen fontos szerepe van ebben a prionszerű folyamatban.

Továbbá, ugyancsak Luk és munkatársai kimutatták, hogy Lewy-szerű α -szinuklein aggregátumok keletkeztek már egyetlen preformált α -szinuklein rostot tartalmazó injekció után, amelyet a vad típusú egerek striátumába vagy kortexébe adtak. Eltérően az előző tanulmányokkal, ezek az egerek nem overexpresszáltak mutáns vagy vad típusú α -szinukleint, jelezve, hogy ezek a prionszerű ese-

mények normál élőlényekben is bekövetkezhetnek. Sőt, a tanulmány kimutatta, hogy az intrastriatális preformált α -szinuklein injekció után a nigrostriatális dopaminerg neuronok egy csoportja α -szinuklein zárványokat tartalmazott. Ezekben az állatokban a striatális dopaminszintek lecsökkentek és motoros deficitek fejlődtek ki. Viszont nem voltak jelei az aggregátumok képződésének vagy a nigrostriatális diszfunkcióknak, amikor hasonló, preformált rekombináns α -szinuklein rostokat fecskendeztek α -szinuklein negatív mutáns egerekbe, ismét jelezve hogy a gazdasejtbeli α -szinuklein esszenciális a kór kifejlődéséhez. Azok az agyi régiók, amik nem voltak kapcsolatban a striátummal α -szinuklein aggregáció mentesek maradtak (Luk, et al., 2012).

Számos kutatás foglalkozott már az α -szinuklein intercelluláris transzferének alapjául szolgáló mechanizmussal, de az első in vivo direkt bizonyítékot az a kutatócsoport szolgáltatta, mely patkány intrastriatális graft mintát használt, és kimutatták a humán α -szinuklein virális vektor-mediált transzportját, mivel azokban a sejtekben, ahol a humán α -szinukleint felvették a transzplantált neuronok, a sejt felszínen korai endoszóma antigén 1 jelent meg, valószínűsítve, hogy akutan történt az endocitózis. A graft neuronokban voltak olyan kicsi aggregátumok, amelyek a humán α -szinukleint felismerő antitestek számára immunoreaktívnak bizonyultak, és ezek körbe voltak véve egy nagyobb, aggregátumokat tartalmazó résszel, melyek viszont patkány α -szinukleint felismerő antitestekkel reagáltak. Ez arra utal, hogy a bejuttatott α -szinuklein a további aggregáció „magjával” szolgált (Angot, et al., 2012).

Majd a kutatások arra irányultak, hogy szerepet játszanak-e az exoszómák az α -szinuklein sejtek közötti transzportjában. Az exoszómák kicsi vezikulák, melyek a sejtekből szabadulnak fel a multivezikuláris testek külső membránján történő fúziójakor. Ezáltal fontos szerepet játszanak a sejtek közötti kommunikációban, mert nagy távolságokra szállíthatnak fehérjét, mRNS-t vagy mikroRNS-t. Friss tanulmányok rámutattak, hogy kalciummal történő stimuláció után α -szinukleint tartalmazó exoszómák szabadulnak fel, amik internalizálódhatnak és toxikussá válhatnak a tenyésztett neuronok számára. Ez a szállított α -szinuklein jellemzően oligomer, és a vezikula külső illetve belső oldalán is elhelyezkedhet. Az exoszómák kilépése a sejtekből az extracelluláris térbe serkenthető az autofágia és a lizoszómális rendszer gátlása által.

A fentebb ismertetett eredmények azt mutatják, hogy a neuronális axonok felvehetik az α -szinuklein aggregátumokat, amelyek axonális transzporttal

szállítódna és a gazdasajtban lévő α -szinuklein misfoldingját, illetve axonális és citoplazmikus zárványok kialakulását indukálják az substantia nigra dopaminerg neuronjaiban. Striatális dopaminerg és idegi diszfunkcióhoz vezetnek, motoros abnormalitásokkal járó neurodegenerációt okoznak és bizonyos körülmények között továbbadhatnak egészséges neuronokba, ezzel kiterjesztve a neurodegenerációs folyamatot. Ezek az eredmények összhangban állnak azzal a feltételezéssel, miszerint az α -szinuklein prionszerű fehérje, és alátámasztják a lehetőségét annak, hogy a PD prionszerű betegség, melyek lehetséges magyarázatot adnak arra, hogy a PD betegekbe transzplantált embrionális dopaminerg neuronokban miért fejlődnek Lewy-testek. Friss tanulmányban az oligomereket két csoportra, „A” és „B” típusra osztották. A „B” oligomerek proteináz K rezisztensek voltak, β -lánc konformációt alkottak. A szerzők feltételezték, hogy a misfolded α -szinukleinek először „A” típusú intermediereké alakulnak, és ebből alakul ki a toxikus „B” típus (Cremades, et al., 2012; Olanow és Brundin, 2013).

HASONLÓSÁGOK AZ α -SZINUKLEIN ÉS A CELLULÁRIS PRION FEHÉRJÉK KÖZÖTT

Az eddigi in vitro és in vivo tanulmányok során összegyűlt adatokból nyilvánvaló, hogy a PrP^{Sc} képződés és neurodegeneráció az α -szinukleinnel és PD-vel van összefüggésben. A PrP-re és α -szinukleinre az α -hélixben gazdag konformáció jellemző, de hibásan β -redőben gazdag fehérje képződhet, különösen, amikor magas koncentrációban van jelen, vagy pedig a mutáns forma esetében. Mindkét esetben a natív fehérje ellenáll az aggregációnak, de a misfolded protein hajlamos aggregálódni, amelyek kapcsolatban állnak a neurodegenerációval. Továbbá, ahogyan a PrP, az α -szinuklein is szállítható a megtámadott sejtektől az egészségesekhez, ahol kialakíthatja a neurodegeneratív folyamatot. Ahogyan a PrP-nek, az α -szinukleinnel sem ismerjük a normál funkcióját. Az α -szinuklein főleg a szinaptikus régió közelében található és valószínűleg a vezikuláris transzportban és a dopaminfelszabadulás serkentésében játszik szerepet, bár, ahogyan a PrP-nél láttuk, az α -szinuklein kiütése sem jár semmilyen szembetűnő viselkedési változással az egereknél (Olanow és Brundin, 2013).

α -SZINUKLEIN MINT BIOMARKER

Az α -szinuklein dominánsan neuronális szinapszissokban expresszálódik, a Lewy-testek legnagyobb

részét alkotja, és diagnosztikus értékű a PD-ben és demenciában. Továbbá a PD patogenezisében játszott szerepét erősen támogatja az a felfedezés, hogy az SNCA gén vad típusának nem csak a pontmutációja, hanem a multiplikációja (duplázódás vagy triplázódás) is a parkinsonizmus familiáris formáját okozza. Az α -szinuklein fiziológiás szekréción keresztül felszabadul a sejtekből, bekerül a szervezet folyadékterébe [CSF-cerebrospinal fluid, plazma, nyál, PBMC – peripheral blood mononuclear cell (vérben található mononukleáris sejtek)], tehát az extracelluláris α -szinuklein mérése a szinukleinopátiák egy lehetséges biomarkere. Míg az α -szinuklein monomerek mérése a plazmában következtetlen és ellentmondásos eredményeket produkál, addig a friss tanulmányok azt mutatják, hogy a megemelkedett α -szinuklein oligomer szint a plazmában 85%-os valószínűséggel detektálja a PD-s pácienseket kontrollokhoz képest (Devic, et al., 2011; El-Agnaf, et al., 2003, 2006). Az α -szinuklein foszforiláció a PD patogenezisének egyik kulcsfolyamata, mivel a Lewy-testekben a foszforilált α -szinuklein szintet mintegy hússzor magasabbnak találták. Ezen kívül a teljes foszforilált α -szinuklein mennyisége is emelkedett volt a PD-s páciensek plazmaszintjében a kontrollokéhoz képest (Foulds, et al., 2011). Ugyanakkor a PD páciensekben a nitrozilált- α -szinuklein mennyisége is kifejezetten emelkedett volt a PBMC sejtekben. Habár a PD patológiája nem korlátozódik a központi idegrendszerre és jól kimutatható kapcsolat van a központi patológia és a perifériás immunrendszer között, vitatott marad, hogy vajon a perifériás minták megváltozása mutatja-e a központi idegrendszeri változásokat. Mivel a CSF patológiai vizsgálata lehetséges, és mutatja az agy metabolikus állapotát különböző körülmények között, sok kutatás fókuszál a CSF analízisére, hogy megbízható PD biomarkert találjanak. A CSF α -szinuklein szintjének mérése meglehetősen új, és különböző tényezők (CSF összegyűjtésének hosszú ideje, kontamináció intakt vagy lizált vvt-ekkel, minta tárolása) drámain befolyásolhatják az eredményt, a mérések standardizációja esszenciális lenne annak érdekében, hogy a különböző csoportok által kapott eredmények összehasonlíthatók legyenek. Annak ellenére, hogy a legtöbb szerző csökkenést talált a CSF totál α -szinuklein szintjében a különböző szinukleinopátiákban (PD, LBD, MSA), érdekes módon az oligomerek mérése a totál szinthez képest a CSF-ban magas szenzitivitást és specificitást mutat PD-re. A CSF csökkent α -szinuklein szintjének oka még ismeretlen, és olyan különböző folyamatoknak lehet az eredménye, mint az oligomer aggregáció depozit, nem megfelelő protein aggregáció

a progresszív dopaminerg sejtpusztulás miatt, vagy hibás transzláció vagy proteinexpresszió. Továbbá nem fedeztek fel tiszta korrelációt a CSF α -szinuklein szintje és a PD súlyossági állapota között, és a farmakoterápiás szabályozás lehetőségei még mindig vizsgálat alatt állnak. Az α -szinukleinről és a tauról köz tudott, hogy kölcsönös aggregációt indukálnak, így elképzelhető a két fehérje együttes meghatározása, és a foszforilált vagy teljes tau/ α -szinuklein arány specifikus mintázatot mutathat a PD-s betegekben, hozzájárulva a diagnózis kritériumainak felállításához ezen kombinált megközelítésen keresztül (Saracchi, et al., 2014).

SZELEGILIN/(-)-DEPRENIL HATÁSA AZ α -SZINUKLEINRE

Ismeretes a (-)-deprenil fontos szerepe a PD kezelésében (Knoll, 2012, Chapter IV; Miklya, 2011, 2014). Rinne és munkatársai (1991) kimutatták, hogy a Lewy-testek száma szignifikánsan kisebb a mediális nigrális neuronokban (-)-deprenillel és levodopával kezelt PD betegekben. Mivel a Lewy-testek főleg α -szinukleinből állnak, figyelemre méltó Braga és munkatársainak (2011) tanulmánya, amelyben egy α -szinuklein típus in vitro aggregációját vizsgálták és azt találták, hogy a (-)-deprenil időben késlelteti a fibrillációs forma kialakulását, mivel a lag-fázis aggregációját megnyújtja. Ők azt bizonyították, hogy primer dopaminerg neuronkultúrán végzett elektronmikroszkópos vizsgálatok szerint (-)-deprenil jelenlétében a nem toxikus amorf heterogén aggregátumok szignifikánsan nagyobb mennyiségben vannak jelen, mint a hasonló korú kezeletlen kultúrában. Továbbá azt is kimutatták, hogy a (-)-deprenil gátolja a kisebb toxikus aggregátumok képződését azáltal, hogy megzavarja a dopamin-dependens fibrilláris diszaggregációt. Tehát a (-)-deprenil lassítja a fibrillációt és ezáltal elősegíti a nem toxikus aggregátumok képződését. A szerző konklúziója: „A dopaminerg neuronokra toxikus protofibrillumok fibrillummá történő átalakulás, illetve a fibrillumok disszociációjának gátlása, kedvező hatású lehet parkinsonos betegek számára. A szelegilin lassíthatja a fibrillumok kialakulását és elősegítheti nem toxikus aggregátumok képződését.” (Braga et al., 2011).

KONKLÚZIÓ

Az α -szinuklein szerepének ismerete a konformációs neurodegeneratív betegségek patomechanizmusában nagyon ígéretes előrelépésnek tűnik, például a

Parkinson-kór keletkezésének molekuláris szinten történő értelmezésére. Nagy jelentőségű lehet a jövő szempontjából az a felismerés, hogy az α -szinuklein monomerek és aggregátumok exocitózissal szekretálódhatnak a károsodott idegsejtekből, és a még nem érintett idegsejtek ezeket endocitózissal felveszik, ami alátámasztja, hogy az α -szinukleinnek prionszerű hatása van. Terápiás szempontból figyelemre méltó az α -szinuklein expresszió gátlásának, valamint az α -szinukleinből képződő neurotoxikus formációk gyógyszeres gátlásának lehetősége. Ez utóbbinak első bizonyított példája, hogy a (-)-deprenil lassítja toxikus formációk, és elősegíti nem toxikus aggregátumok képződését.

Levezető szerző: Miklya Ildikó, Semmelweis Egyetem, ÁOK, Farmakológiai és Farmakoterápiás Intézet, 1089 Budapest, Nagyvárad tér 4.
E-mail: miklya.ildiko@med.semmelweis-univ.hu

IRODALOM

1. Angot, E., Steiner, J.A., Lema Tome, C.M., Ekstrom, P., Mattsson, B., Bjorklund, A., Brundin, P. (2012) Alpha-synuclein cell-to-cell transfer and seeding in grafted dopaminergic neuron sin vivo (serial online). Plos One, 7: e39465.
2. Beach, T.G., Adler, C.H., Sue, L.I., Vedders, L., Lue, L., White Lii, C.L., Akiyama, H., Caviness, J.N., Shill, H.A., Sabbagh, M.N., Walker, D.G. Arizona Parkinson's Disease Consortium. (2009) Multi-organ distribution of phosphorylated alpha-synuclein histopathology in subjects with Lewy body disorders. Acta Neuropathol, 119: 689-702.
3. Bennet, M.C. (2005) The role of α -synuclein in neurodegenerative diseases. Pharmacol Therapeutics 105:311-331.
4. Braak, H., Del Tredici, K., Rub, U., de Vos, R.A., Jansen Steur, E.N., Braak E. (2003) Staging of brain pathology related to sporadic Parkinson's disease. Neurobiol Aging, 24: 197-211.
5. Braak, H., de Vos, R.A., Bohl, J., Del Tredici, K. (2006) Gastric alpha-synuclein immunoreactive inclusions in Meissner's and Auerbach's plexus in cases staged for Parkinson's disease-related brain pathology. Neurosci Lett, 396: 67-72.
6. Braga, C.A., Follmer, C., Pallhano, F.L., Khattar, E., Freitas, M.S., Romao, L., Di Giovanni, S., Lashuel, H.A., Silva, J.L., Foguel, D. (2011) The anti-Parkinsonian drug selegiline delays the nucleation phase of a α -synuclein aggregation leading to the formation of nontoxic species. J Mol Biol, 405: 254-253.
7. Burré, J., Sharma, M., Tssetsenis, T., Buchman, V., Etherton, M.R., Südhof, T.C. (2010) Alpha-synuclein promotes SNARE-complex assembly in vivo and in vitro. Science, 329: 1663-1667.
8. Chartier-Harlin, M.C., Kachergus, J., Roumier, C., Mouroux V., Douay, X., Lincoln, S., Levecque, C., Larvor, L., Andrieux, J., Hulihan, M., Waucquier, N., Defebvre, L., Amouyel, P., Farrer, M., Destée, A. (2004) Alpha-synuclein locus duplicating as a cause of familial Parkinson's disease. Lancet, 364: 1167-1169.
9. Cremades, N., Cohen, S.I., Deas, E., Abramov, A.Y., Chen, A.Y., Orte, A., Sandal, M., Clarke, R.W., Dunne, P., Aprile, F.A., Bertoncini, C.W., Wood, N.W., Knowle, T.P., Dobson, C.M., Klenerman, D. (2012) Direct observation of the interconver-

- sion of normal and toxic forms of α -synuclein. *Cell*, 149: 1048-1059.
10. Desplats, D.E., Lee, H.J., Bae, E.J., Patrick, C., Rockenstein, E., Crews, L., Spencer, B., Masliah, E., Lee, S.J. (2009) Inclusion formation and neuronal cell death through neuron-to-neuron transmission of alpha-synuclein. *Proc Nat Acad Sci USA*, 106: 13010-13015.
 11. Devic, I., Hwang, H., Edgar, J.S., Izutsu, K., Presland, R., Pan, C., Goodlett, D.R., Wang, Y., Armaly, J., Tuma, V., Zabetian, C.P., Leverenz, J.B., Shi, M., Zhang, J. (2011) Salivary α -synuclein and DJ-1: potential biomarkers for Parkinson's disease. *Brain*, 134: e178.
 12. El-Agnaf, O.M., Salem, S.A., Paleologou, K.E., Cooper, L.J., Fullwood, N.J., Gibson, M.J., Curran, M.D., Court, J.A., Mann, D.M., Ikeda, S., Cookson, M.R., Hardy, J., Allsop, D. (2003) Alpha-synuclein implicated in Parkinson's disease is present in extracellular biological fluids, including human plasma. *FASEB J*, 17: 1945-1947.
 13. El-Agnaf, O.M., Salem, S.A., Paleologou, K.E., Curran, M.D., Gibson, M.J., Court, J.A., Schlossmacher, M.G., Allsop, D. (2006) Detection of oligomeric form of alpha-synuclein protein in human plasma as a potential biomarker for Parkinson's disease. *FASEB J*, 20: 419-425.
 14. Foulds, P.G., Mitchell, J.D., Parker, A., Turner, R., Green, G., Diggle, P., Hasegawa, M., Taylor, M., Mann, D., Allsop, D. (2011) Phosphorylated α -synuclein can be detected in blood plasma and is potentially a useful biomarker for Parkinson's disease. *FASEB J*, 25: 4127-4137.
 15. Freundt, E.C., Maynard, N., Clancy, E.K., Roy, S., Bousset, L., Souriques, Y., Melki, R., Kirkegaard, K., Brahic, M. (2012) Neuron-to-neuron transmission of α -synuclein fibrils through axonal transport. *Ann Neurol*, 72: 517-524.
 16. George, J.M. (2002). The synucleins. *Genome Biol*, 3: Reviews 3002.
 17. Hansen, C., Angot, E., Bergstrom, A.L., Steiner, J.A., Pieri, L., Paul, G., Outeiro, T.F., Melki, R., Kallunki, P., Fog, K., Li, J.Y., Brundin, P. (2011) α -Synuclein propagates from mouse brain to grafted dopaminergic neurons and seeds aggregation in cultured human cells. *J Clin Invest*, 121: 715-725.
 18. Ibáñez, P., Bonnet, A.M., Debarges, B., Lohmann, E., Tison, F., Pollak, P., Agid, Y., Dürr, A., Brice, A. (2004) Casual relation between alpha-synuclein gene duplication and familial Parkinson's disease. *Lancet*, 364: 1169-1171.
 19. Jakes, R., Spillantini, M.G., Goedert, M. (1994) Identification of two distinct synucleins from human brain. *FEBS Lett*, 345: 27-32.
 20. Knoll J. How Selegiline/(-)-Deprenyl Slows Brain Aging. Bentham Science e-book, 2012 (inhn. Books, September 5, 2013).
 21. Kordower, J.H., Freeman, T.B., Snow, B.J., Vingerhoets F.J., Mufson, E.J., Sanberg, P.R., Hauser, R.A., Smith, D.A., Nauert, G.M., Perl, D.P., et al. (1995) Neuropathological evidence of graft survival and striatal reinnervation after the transplantation of fetal mesencephalic tissue in a patient with Parkinson's disease. *N Engl J Med*, 332: 1118-1124.
 22. Kordower, J.H., Dodiya, H.B., Kordower, A.M., Terpstra, B., Paumier, K., Madhavan, L., Sortwell, C., Steece-Collier, K., Collier, T.J. (2011) Transfer of host-derived α -synuclein to grafted dopaminergic neurons in rat. *Neurobiol Dis*, 43: 552-557.
 23. Kruger, R., Kuhn, W., Muller, T., Woitalla, D., Graeber, M., Kösel, S., Przuntek, H., Epplen, J.T., Schöls, L., Riess, O. (1998) Ala30Pro mutation in gene encoding alpha-synuclein in Parkinson's disease. *Nat Genet*, 18: 106-108.
 24. Lavendan, C. (1998) The synuclein family. *Genome Res*, 8: 871-880.
 25. Lewy, F.H. Paralysis agitans. I. Pathologische Anatomie. In: Lewandowsky, M. (Ed.), *Handbuch de Neurologie*. Springer, Berlin, 1912, pp. 920-933.
 26. Lindvall, O., Sawle, G., Winder, H., Rothwell, J.C., Björklund, A., Brooks, D., Brundin, P., Frackowiak, R., Marsden, C.D., Odin, P., et al. (1994) Evidence for long-term survival and function of dopaminergic grafts in progressive Parkinson's disease. *Ann Neurol*, 35:172-180.
 27. Luk, K.C., Song, C., O'Brien, P., Stieber, A., Branch, J.R., Brunden, K.R., Trojanowski, J.Q., Lee, W.M. (2009) Exogenous alpha-synuclein fibrils seed the formation of Lewy body-like intracellular inclusion in cultured cells. *Proc Nat Acad Sci USA*, 106 : 20051-20056.
 28. Luk, K.C., Kehm, V., Carroll, J., Zhang, B., O'Brien, P., Trojanowski, J.Q., Lee V.M. (2012) Pathological α -synuclein transmission initiates Parkinson-like neurodegeneration in nontransgenic mice. *Science*, 338: 949-953.
 29. Maroteaux, L., Campanelli, J.T., Scheller, R.H. (1988) Synuclein: a neuron-specific protein localized to the nucleus and presynaptic nerve terminal. *J Neurosci*, 8: 2804-2815.
 30. Miklya, I. The Knoll-Concept to Decrease the Prevalence of Parkinson's Disease. Chapter 5 In: Finkelstein, D.I. (Ed), *Towards new therapies for Parkinson's Disease*. InTech, 2011, pp. 77-100.
 31. Miklya, I. The history of selegiline/(-)-deprenyl, the first selective inhibitor of B-type monoamine oxidase (MAO) and the first catecholaminergic activity enhancer (CAE) substance. *inhn.org; Archives*, March 13, 2014.
 32. Milber, J.M., Noorigian, J.V., Morley, J.F., Perovich, H., White, L., Ross, G.W., Duda, J.E. (2012) Lewy pathology is not the first sign of degeneration in vulnerable neurons in Parkinson disease. *Neurology*, 79: 2307-2314.
 33. Mougenot, A.L., Nicot, S., Bencsik, A., Moriqlat, E., Verchere, J., Lakhdar, L., Legastelios, S., Baron, T. (2012) Prion-like acceleration of a synucleinopathy in a transgenic mouse model. *Neurobiol Aging*, 33: 2225-2228.
 34. Nemani, V.M., Lu, W., Berge, V., Nakamura, K., Onoa, B., Lee, M.K., Chaudhry, F.A., Nicoll, R.A., Edwards, R.H. (2010) Increased expression of alpha-synuclein reduces neurotransmitter release by inhibiting synaptic vesicle recluster after endocytosis. *Neuron*, 65: 66-79.
 35. Olanow, C.W., Goetz, C.G., Kordower, J.H., Stoessl, A.J., Sossi, V., Brin, M.F., Shannon, K.M., Nauert, G.M., Perl, D.P., Godbold, J., Freeman, T.B. (2003) A double-blind controlled trial of bilateral fetal nigral transplantation in Parkinson's disease. *Ann Neurol*, 54: 403-414.
 36. Olanow, C.W., Perl, D.P., DeMartino, G.N., McNaught, K.S. (2004) Lewy-body formation is an aggresome-related process: a hypothesis. *Lancet Neurol*, 3: 496-503.
 37. Olanow, C.W., Brudin P. (2013) Parkinson's disease and alpha synuclein: is Parkinson's disease a prion-like disorder? *Mov Dis*, 28: 31-40.
 38. Polymieropoulos, M.H., Lavedan, C., Leroy, E., Ide, S.E., Dehejia, A., Dutra, A., Pike, B., Rooth, H., Rubenstein, J., Boyer, R., Stenross E.S., Chandrasekharappa, S., Athanassiadou A., Papapetropoulos, T., Johnson, W.G., Lazzarini, A.M., Duvoisin, R.C., Dilorio, G., Golbe, L.I., Nussbaum, R.L. (1997) Mutation in the alpha-synuclein gene identified in families with Parkinson's disease. *Science*, 276: 2045-2047.
 39. Prusiner, S.B. (1998) Prions. *Proc Nat Acad Sci USA*, 95:13363-13383.
 40. Rinne, J.O., Røyttä, M., Paljärvi, L., Rummukainen, J., Rinne, U.K. (1991) Selegiline (deprenyl) treatment and death of nigral neurons in Parkinson's disease. *Neurology*, 41: 859-861.
 41. Saracchi, E., Fermi, S., Brighina, L. (2014) Emerging candi-

- date biomarkers for Parkinson's disease: a Review. *Aging and Dis*, 5: 27-34.
42. Singleton, A.B., Farrer, M., Johnson, J., Singleton, A., Hague, S., Kachergus, J., Hulihan, M., Peuralinna, T., Dutra, A., Nussbaum, R., Lincoln, S., Crawley, A., Hanson, M., Maraganore, D., Adler, C., Cookson, M.R., Muentner, M., Baptista, M., Miller, D., Blancato, J., Hardy, J., Gwinn-Hardy, K. (2003) Alpha-synuclein locus triplication causes Parkinson's disease. *Science*, 302: 841.
 43. Ueda, K., Fukushima, H., Masliah, E., Xia, Y., Iwai, A., Yoshimoto, M., Otero, D.A., Kondo, J., Ihara, Y., Saitoh, T. (1993) Molecular cloning of cDNA encoding an unrecognized component of amyloid in Alzheimer disease. *Proc Nat Acad Sci USA*, 90: 11282-11286.
 44. Ueda, K., Saitoh, T., Mori, H. (1994) Tissue-dependent alternative splicing of messenger-RNA for NACP, the precursor of non-A- β component of Alzheimer's disease amyloid. *Biochem Biophys Res Commun*, 205: 1366-1372.

The role of alpha-synuclein in Parkinson's disease

α -synuclein, a small protein (140 amino acids) encoded by the SNCA gene is the best known isoform of the synuclein protein family. Though its physiological role is still not fully clarified, there is growing experimental evidence for a causal role of α -synuclein in the so-called conformational-neurodegenerative diseases. Conformational changes in the structure of the native soluble protein form insoluble neurotoxic aggregates and finally contribute to the formation of inclusion Lewy-bodies and Lewy-neurites. Neurodegeneration first hits the olfactory system, the peripheral autonomic nervous system, the enteric nervous system and the dorsal vagal motoneurons. The middle stage of the disease hits the dopaminergic neurons of the substantia nigra; and the neocortex is affected only in the late stage of the disease. This precise order of neurodegeneration is not always valid, but increases the likelihood that Lewy-bodies and neurodegeneration spread to intact areas in a prion-like way. Prions are infectious proteins which do not contain nucleic acids and cause diseases because they form toxic aggregates and filaments by misfolding in a β -sheet-rich conformation. The misfolded protein behaves like a template inducing conformational change in the wild type proteins causing cross-reaction and leading to neurodegeneration. Later, the defective proteins may infect healthy nerve cells, thus neurodegeneration is extended. Growing experimental evidence shows that monomers and aggregates of α -synuclein are secreted via exocytosis from damaged nerve cells and taken up via endocytosis by healthy nerve cells furnishing evidence for the prion-like role of α -synuclein.

Keywords: α -synuclein, conformational disease, neurodegenerative disease, Parkinson's disease, prion