



UNIVERSITÀ POLITECNICA DELLE MARCHE

DIPARTIMENTO SCIENZE DELLA VITA E DELL'AMBIENTE

Corso di Laurea  
Scienze Biologiche

ALPHA- SINUCLEINA:DALLA DISFUNZIONE SINAPTICA PRECOCE ALLA NEURODEGENERAZIONE  
ALPHA-SYNUCLEIN: FROM EARLY SYNAPTIC DYSFUNCTION TO NEURODEGENERATION

Tesi di Laurea di:  
Gambino Elisabetta

Docente Referente:  
Chiar.mo Prof. Maragliano Luca

Sessione: Autunnale (16 ottobre)  
Anno Accademico 2022/2023

# ALFA-SINUCLLEINA

Alpha-sinucleina è una proteina costituita da 140 amminoacidi, codificata dal gene SNCA presente nel cromosoma 4 umano

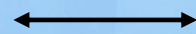


Funzioni:

- ❖ Chaperone molecolare
- ❖ Attività enzimatica
- ❖ Interagire con superfici lipidiche
- ❖ Organizzare l'attività di membrana
- ❖ Regolative associate alle sinapsi



La possiamo trovare nei globuli rossi e nei siti presinaptici del SNC (neocorteccia, talamo, ippocampo, substantia nigra, cervelletto)



# OLIGOMERI $\alpha$ -SINUCLLEINA E AGGREGATI FIBRILLARI

$\alpha$ -sinucleina si ritiene abbia un ruolo primario nella patogenesi del morbo di Parkinson



## Due scoperte

hanno fornito un possibile collegamento tra le mutazioni dell' $\alpha$ -sinucleina e PD.



Identificazione di una mutazione missense del gene SNCA

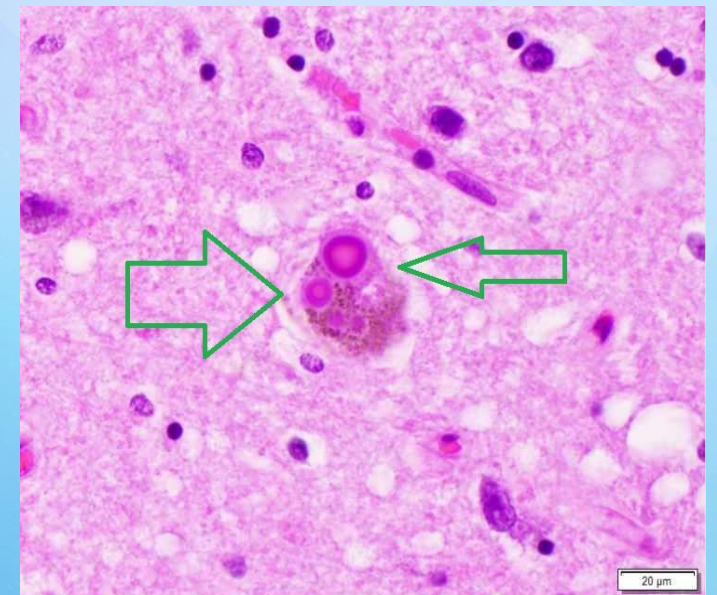
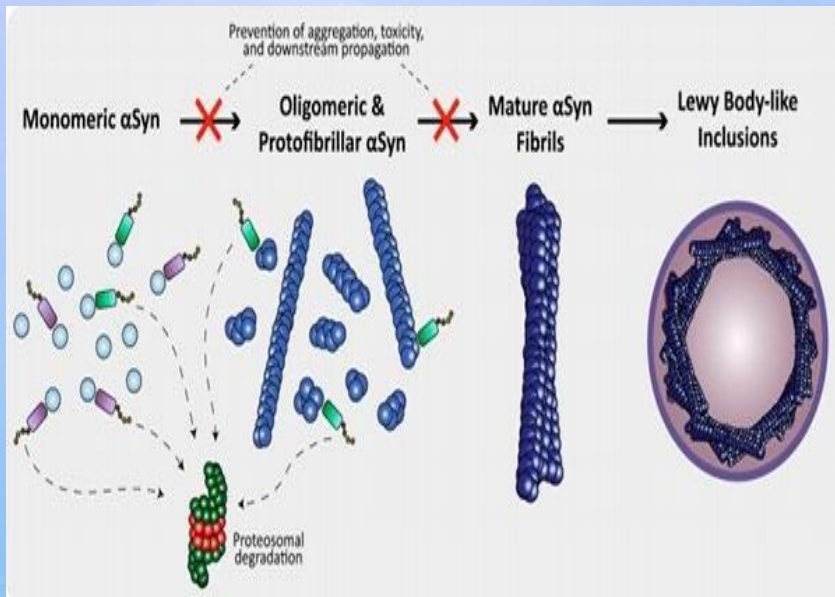


$\alpha$ -Sinucleina componente strutturale dei corpi di Lewy



## FATTORI DI RISCHIO:

- ❖ Stress ossidativo
- ❖ Disfunzioni mitocondriali
- ❖ Neuroinfiammazione
- ❖ Mutazioni puntiformi
- ❖ Modificazioni e polimorfismi specifici





## Fattori scatenanti

- ❖ Sovrapproduzione della proteina
- ❖ Fallimento del sistema molecolare che scinde le forme misfolded
- ❖ Esposizione a variazioni di pH
- ❖ Stress ossidativo
- ❖ Sovraccarico mitocondriale

### Modifiche covalenti post-trascrizionali

- ❖ Nitrazione della tirosina (Try125)
  - ❖ Troncamento di  $\alpha$ -sinucleina al C-terminale
  - ❖ Fosforilazione serina (Ser129)
  - ❖ Ossidazione
- ❖ Declino dell'efficienza dei meccanismi proteolitici legati all'età
  - ❖ Alterazione del sistema ubiquitina-proteasoma
  - ❖ Alterazione del sistema di autofagia lisosomiale

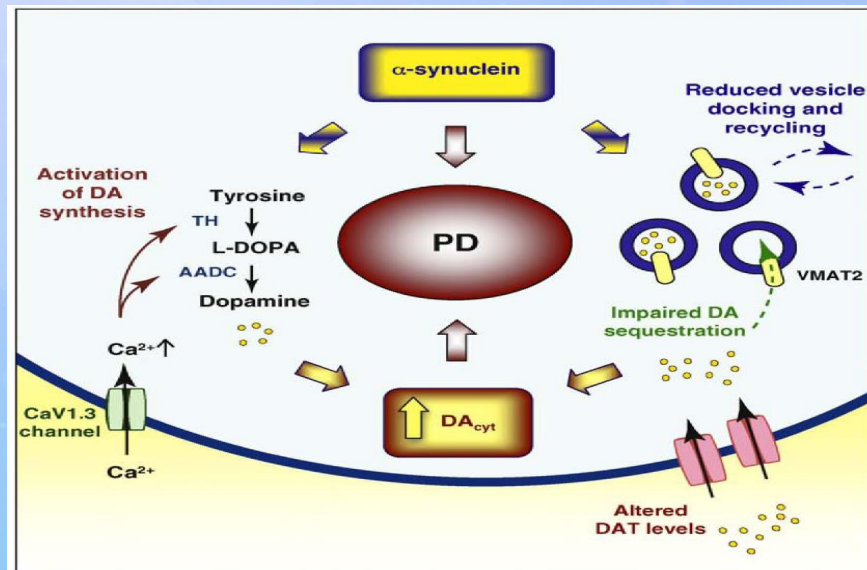
## VULNERABILITÀ DEI NEURONI DOPAMINERGICI NEI CONFRONTI DELL'ALFA-SINUCLINA

Nel morbo di Parkinson i **neuroni dopaminergici** della substantia nigra pars compacta mostrano una degenerazione dovuta al meccanismo  **$\alpha$ -sinucleina**

Caratteristiche:

- ❖ Ampia lunghezza di assoni ramificati
- ❖ Un elevato numero di siti di rilascio dei trasmettitori
- ❖ Elevato stress mitocondriale
- ❖ Agiscono da pacemaker autonomi

1. Modula l'omeostasi della dopamina.
2. Influenza l'attività della DAT
3. Modula il metabolismo della dopamina



Di conseguenza l'assenza di  $\alpha$ -syn causa:

- ❖ Diminuzione di livelli striali di dopamina
- ❖ Riduzione della funzione del DAT
- ❖ Ridotto numero di terminali TH-positivi e di cellule dopaminergiche nigrali

## ESPERIMENTO DI BARBULLA E I SUOI COLLABORATORI

Ha permesso di analizzare come l'effetto dannoso generato dall'aumento dei livelli di  $\alpha$ -syn in presenza dell'inattivazione funzionale di DJ-1 nei topi, possa portare alla disfunzione mitocondriale con l'insorgenza di Parkinson precoce.



È stato riscontrato che l'aumento dell' $\alpha$ -syn comporta un aumento dei livelli di dopamina ossidata nei neuroni nigrali e una diminuzione dell'attività lisosomiale.

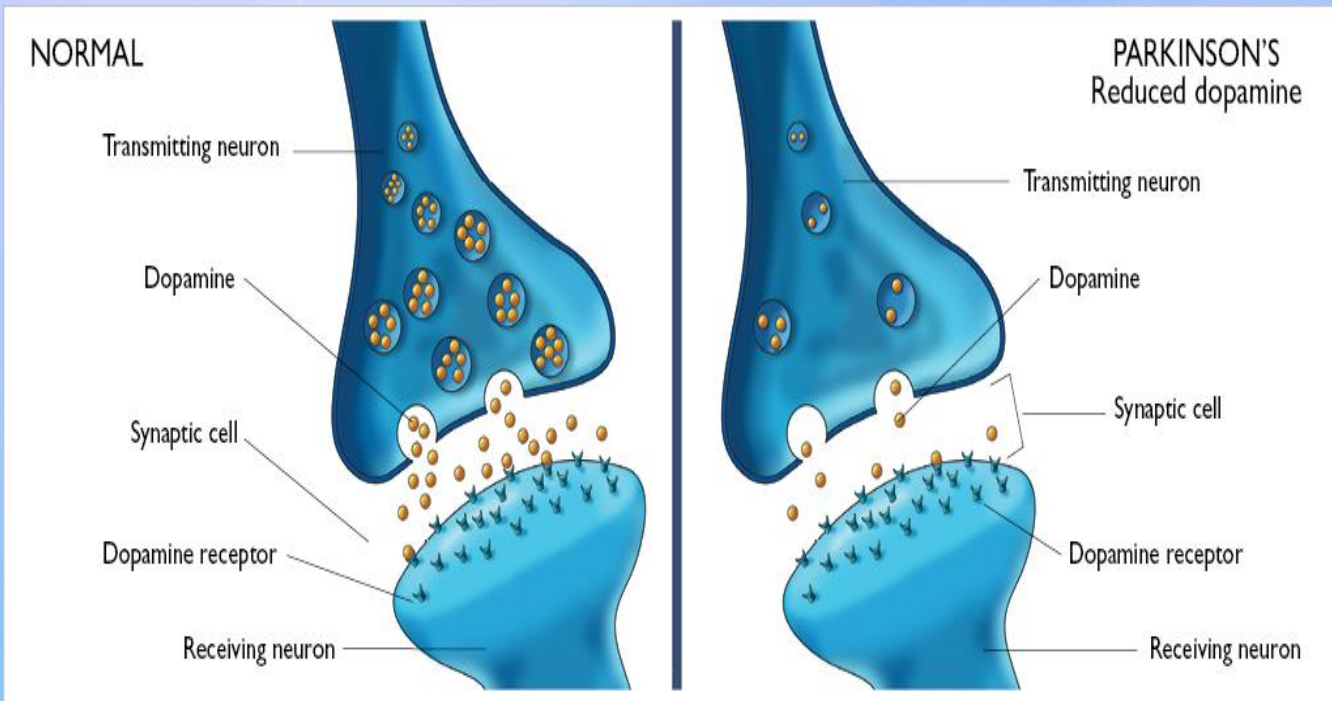
## ESPERIMENTO DI LUO E I SUOI COLLABORATORI



Hanno compreso i potenziali effetti dell'aumento dei livelli di  $\alpha$ -syn contribuendo a una nuova via calcio-dipendente nella perdita dei neuroni dopaminergici



Tale spiegazione risiede nella combinazione tra la proprietà degli oligomeri  $\alpha$ -syn di innescare l'afflusso di  $Ca^{2+}$  e le caratteristiche fisiologiche intrinseche dei neuroni DA.

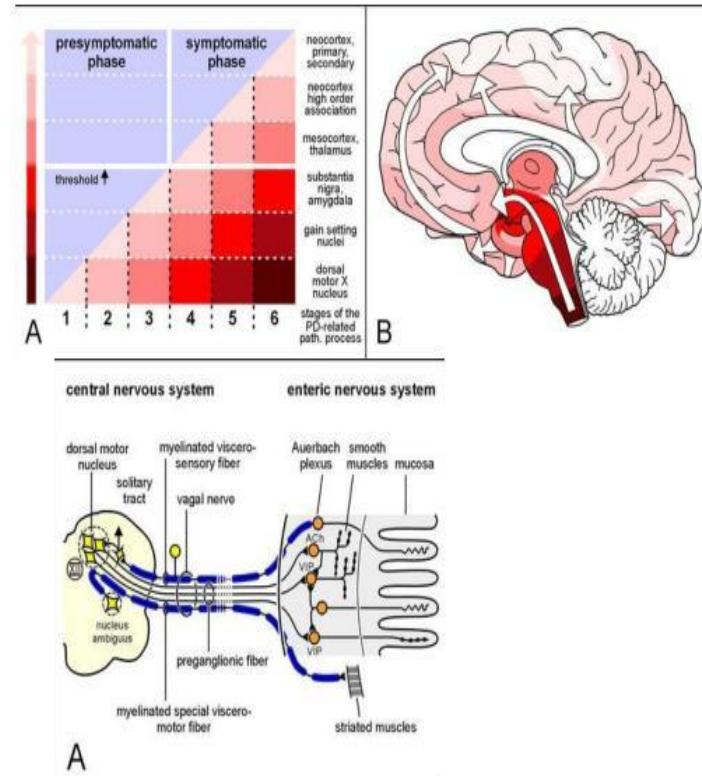




## TEORIA ASCENDENTE

Ipotizza che i sintomi prodromici del Parkinson possano essere dovuti dalla semina periferica di aggregati  $\alpha$ -sinucleina

### L'ipotesi di Braak (2004)



## TEORIA DELLA SOGLIA

- ❖ Considerazione del Parkinson come malattia sistemica globale
- ❖ Evidenza che i neuroni del tronco encefalico o periferici sono più resistenti agli insulti e meno inclini alla neurodegenerazione rispetto ai neuroni dopaminergici e capaci di rigenerarsi

## INFIAMMAZIONE E RISPOSTA IMMUNITARIA NEL PARKINSON

Le cellule gliali svolgono una vasta gamma di funzioni a sostegno dello sviluppo, del mantenimento, della sopravvivenza dei neuroni e sono coinvolte nella diffusione neurodegenerativa della patologia

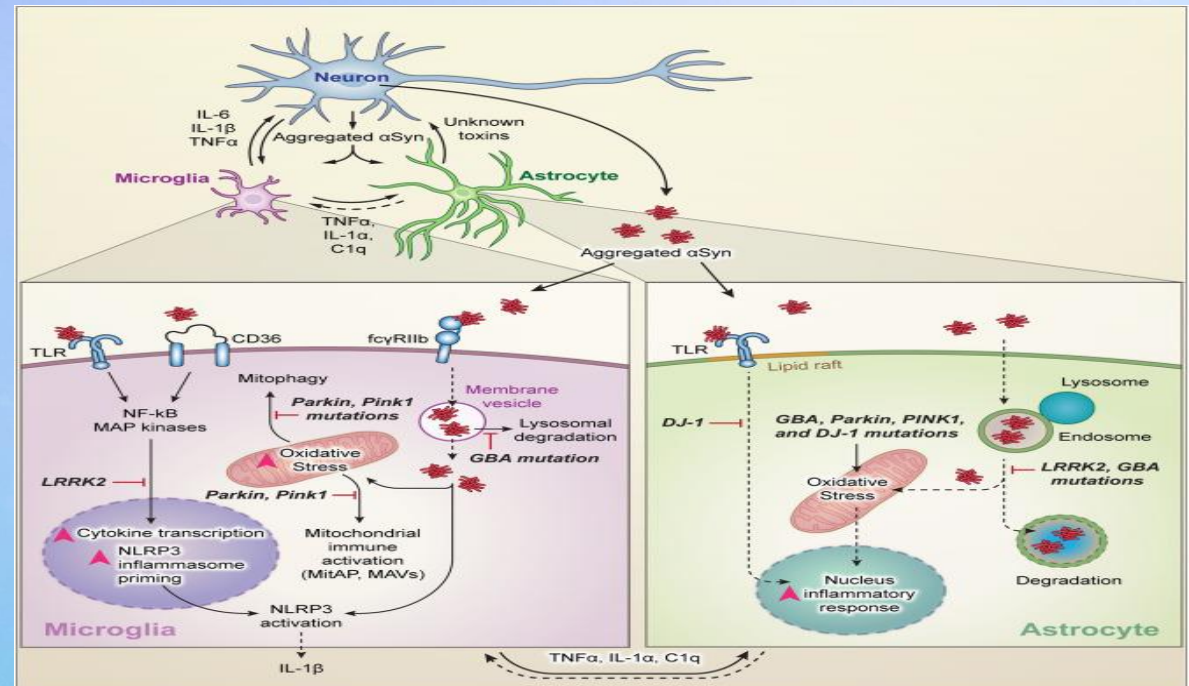


L'attivazione anormale della **MICROGLIA** e l'alterazione delle funzioni degli **ASTROCITI** sono fattori determinati dalla patogenesi del morbo di Parkinson



Sono una componente essenziale di una sorveglianza sinaptica operativa

È responsabile della sorveglianza immunitaria del cervello

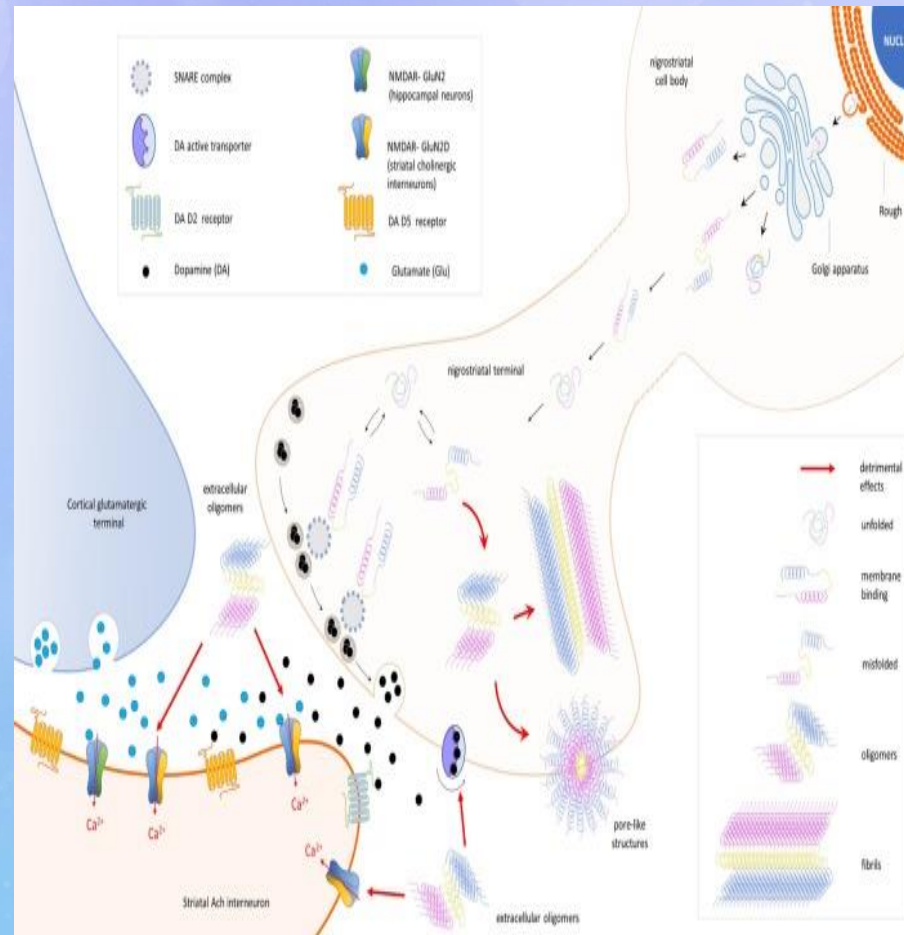




# ALTERAZIONI SINAPTICHE

## Alterazioni presinaptiche

- ❖ Dimostrano che un'alterazione dell'  $\alpha$ -sinucleina interferisce con l'assemblaggio della proteina SNARE
- ❖ L' $\alpha$ -sinucleina interagisce con alcune proteine sinaptiche come la sinapsina III che svolge ruoli essenziali nel rilascio dei neurotrasmettitori
- ❖ L'  $\alpha$ -sinucleina può permeabilizzare le membrane lipidiche (alterazione conduttanza)



## Alterazioni postsinaptiche

Gli effetti degli oligomeri di  $\alpha$ -sinucleina sono stati esplorati di recente, lo striato rappresenta il bersaglio più interessante per la terapia del Parkinson e il principale destinatario dei neuroni dopaminergici. L'interazione che troviamo tra i recettori NMDA e l' $\alpha$ -sinucleina comporta una perdita del potenziamento a lungo termine negli interneuroni colinergici striatali.

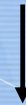
Tale studio ha fornito un'importante collegamento tra le azioni presinaptiche e postsinaptiche



Hanno utilizzato un modello animale di Parkinson in cui gli animali esprimono l' $\alpha$ -sinucleina WT umana nei neuroni del mesencefalo, dimostrando che le fasi precoci sono associate a una riduzione del DAT.



Durante il test di rotarod accelerato è stato riscontrato che gli animali sani mostrano un'interessante passaggio da LTD a LTP durante la fase di acquisizione motoria, al contrario invece i topi che sovra-esprimono l' $\alpha$ -sinucleina umana non mostrano questo passaggio di plasticità fondamentale per acquisire abitudini motorie e ottenere prestazioni corrette.



Questi risultati supportano l'idea che per l'acquisizione di un'abilità motoria sia necessaria una riorganizzazione della plasticità cellulare all'interno dello striato dorsale, che dipende da una trasmissione dopaminergica intatta, controllata dal DAT, che viene compromessa precocemente dalla sovra-espressione nigrale di  $\alpha$ -sinucleina umana.



# BIBLIOGRAFIA

- ❖ Jakes R, Spillantini MG, Goedert M. Identification of two distinct synucleins from human brain. *FEBS Lett* (1994) 345:27–32. doi:10.1016/0014-5793(94)00395-5
- ❖ Nakai M, Fujita M, Waragai M, Sugama S, Wei J, Akatsu H, et al. Expression of alpha-synuclein, a presynaptic protein implicated in Parkinson's disease, in erythropoietic lineage. *Biochem Biophys Res Commun* (2007) 358:104–10. doi:10.1016/j.bbrc.2007.04.108
- ❖ Garcia-Reitbock P, Anichtchik O, Bellucci A, Iovino M, Ballini C, Fineberg E, et al. SNARE protein redistribution and synaptic failure in a transgenic mouse model of Parkinson's disease. *Brain* (2010) 133:2032–44. doi:10.1093/brain/awq132
- ❖ Polymeropoulos MH, Lavedan C, Leroy E, Ide SE, Dehejia A, Dutra A, et al. Mutation in the alpha-synuclein gene identified in families with Parkinson's disease. *Science* (1997) 276:2045–7. doi:10.1126/science.276.5321.2045
- ❖ Spillantini MG, Schmidt ML, Lee VM, Trojanowski JQ, Jakes R, Goedert M. Alpha-synuclein in Lewy bodies. *Nature* (1997) 388:839–40. doi:10.1038/42166
- ❖ Gallegos S, Pacheco C, Peters C, Opazo CM, Aguayo LG. Features of alphasynuclein that could explain the progression and irreversibility of Parkinson's disease. *Front Neurosci* (2015) 9:59. doi:10.3389/fnins.2015.00059
- ❖ Oueslati A, Fournier M, Lashuel HA. Role of post-translational modifications in modulating the structure, function and toxicity of alpha-synuclein: implications for Parkinson's disease pathogenesis and therapies. *Prog Brain Res* (2010) 183:115–45. doi:10.1016/S0079-6123(10)83007-9
- ❖ Xilouri M, Brekk OR, Stefanis L. Alpha-synuclein and protein degradation systems: a reciprocal relationship. *Mol Neurobiol* (2013) 47:537–51. doi:10.1007/s12035-012-8341-2
- ❖ Swant J, Goodwin JS, North A, Ali AA, Gamble-George J, Chirwa S, et al. Alpha-synuclein stimulates a dopamine transporter-dependent chloride current and modulates the activity of the transporter. *J Biol Chem* (2011) 286:43933–43. doi:10.1074/jbc.M111.241232
- ❖ Butler B, Goodwin S, Saha K, Becker J, Sambo D, Davari P, et al. Dopamine transporter activity is modulated by alpha-synuclein. *J Biol Chem* (2015) 290(49):29542–54. doi:10.1074/jbc.A115.639880
- ❖ Garcia-Reitboeck P, Anichtchik O, Dalley JW, Ninkina N, Tofaris GK, Buchman VL, et al. Endogenous alpha-synuclein influences the number of dopaminergic neurons in mouse substantia nigra. *Exp Neurol* (2013) 248:541–5. doi:10.1016/j.expneurol.2013.07.015
- ❖ Burbulla LF, Song P, Mazzulli JR, Zampese E, Wong YC, Jeon S, et al. Dopamine oxidation mediates mitochondrial and lysosomal dysfunction in Parkinson's disease. *Science* (2017) 357:1255–61. doi:10.1126/science.aam9080
- ❖ Luo J, Sun L, Lin X, Liu G, Yu J, Parisiadou L, et al. A calcineurin- and NFAT-dependent pathway is involved in alpha-synuclein-induced degeneration of midbrain dopaminergic neurons. *Hum Mol Genet* (2014) 23:6567–74. doi:10.1093/hmg/ddu377.
- ❖ Laiwand R, Werman R, Yarom Y. Time course and distribution of motoneuronal loss in the dorsal motor vagal nucleus of guinea pig after cervical vagotomy. *J Comp Neurol* (1987) 256:527–37. doi:10.1002/cne.902560405
- ❖ Engel AK, Kreutzberg GW. Neuronal surface changes in the dorsal vagal motor nucleus of the guinea pig in response to axotomy. *J Comp Neurol* (1988) 275:181–200. doi:10.1002/cne.902750203
- ❖ Fernandez E, Pallini R, Lauretti L, Marchese E, Gangitano C, Del Fa A, et al. Levocarnitine acetyl prevents cell death following long-term section of the vagus nerve in rats. *Int J Clin Pharmacol Res* (1992) 12:289–97
- ❖ Tosatto L, Andrighetti AO, Plotegher N, Antonini V, Tessari I, Ricci L, et al. Alpha-synuclein pore forming activity upon membrane association. *Biochim Biophys Acta* (2012) 1818:2876–83. doi:10.1016/j.bbamem.2012.07.007
- ❖ Burre J. The synaptic function of alpha-synuclein. *J Parkinsons Dis* (2015) 5:699–713. doi:10.3233/JPD-150642.
- ❖ Giordano N, Iemolo A, Mancini M, Cacace F, De Risi M, Latagliata EC et al. Motor learning and metaplasticity in striatal neurons: relevance for Parkinson's disease. *Brain* (2017) 141(2):505–20. doi:10.1093/brain/awx351



L'alpha-sinucleina è una proteina di 140 aminoacidi, codificata dal gene SNCA. In condizioni potenzialmente patologiche è in grado di generare aggregati fibrillari che avranno un ruolo essenziale nel morbo di Parkinson. I fattori che portano all'aggregazione sono molteplici, come la sovrapproduzione della proteina, il fallimento del sistema molecolare, le variazioni di pH, stress ossidativo e sovraccarico mitocondriale come anche modifiche covalenti post-trascrizionali, invecchiamento e malfunzionamento di alcuni sistemi (UP/LAS). L'alpha-sinucleina è in grado d'influenzare il metabolismo della dopamina portando i neuroni dopaminergici ad essere soggetti maggiormente alla sua tossicità. Sono state riscontrate in seguito all'insorgenza del morbo di Parkinson due ipotesi quali la teoria ascendente e di soglia; la teoria ascendente ipotizza che i sintomi prodromici del Parkinson possono essere dovuti dalla semina periferica di aggregati alpha-sinucleina, mentre nella teoria di soglia viene evidenziato che i neuroni del tronco encefalico o periferici sono più resistenti agli insulti e meno inclini alla neurodegenerazione rispetto ai neuroni dopaminergici e capaci di rigenerarsi. In molti disturbi del sistema nervoso centrale un aspetto chiave della neurodegenerazione è la neuroinfiammazione. Nel Parkinson le funzioni anomale degli astrociti e l'aumento delle citochine infiammatorie solubili provenienti dalla microglia e dalle cellule immunitarie, sono state preposte come fattore critico, diventando fattori determinanti per la fisiopatologia. Sono state riscontrate alcune interazioni sinaptiche generate dalla proteina sia a livello presinaptico che postsinaptico; a livello presinaptico l'interferenza con l'assemblaggio della proteina SNARE, interazione con alcune proteine sinaptiche come la sinapsina III e anche che possa permeabilizzare le membrane lipidiche (alterazione conduttanza). A livello postsinaptico invece essa può interagire con i recettori NMDA comportando una perdita del potenziamento a lungo termine negli interneuroni colinergici striatali.

GRAZIE PER L'ATTENZIONE