



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:
Fratti Giulia

Docente Referente:
Maragliano Luca

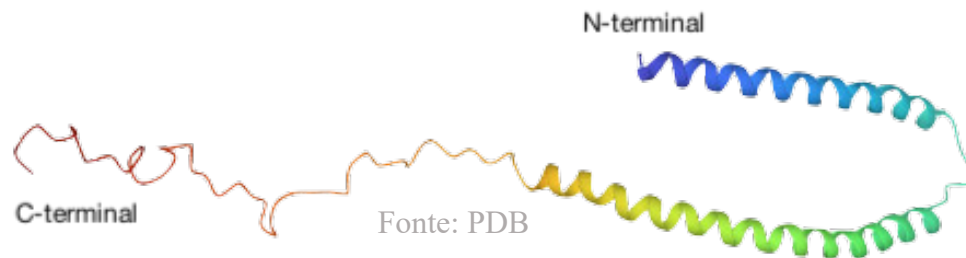
Sessione: Autunnale (17 Dicembre 2021)
Anno Accademico: 2020/2021

α – sinucleina fisiologica

- ❖ 140 amminoacidi, gene SNCA
- ❖ Localizzazione presinaptica
- ❖ Neocorteccia, talamo, ippocampo, substantia nigra e cervelletto

Equilibrio dinamico tra monomeri e oligomeri.

L'interazione tra C e N-terminale impedisce l'aggregazione della proteina.



FUNZIONI

- ❖ Enzimatiche
- ❖ Steriche
- ❖ Chaperone
- ❖ Regolative

Aggregazione ed implicazioni patologiche

Oligomeri

→ Protofibrille

→ Fibrille insolubili

→ Corpi di Lewy (LB) interni ai neuroni

→ Inclusioni citoplasmatiche gliali
interne alle cellule gliali

Trigger di accumulo:

- Sovrapproduzione
- Stress ossidativo
- Misfolding
- Mancata degradazione

Invecchiamento:

- ❖ Aumento della concentrazione di α -Syn
- ❖ Sistemi di controllo Ubiquitina-proteasoma (UP) e autofagia lisosomiale (LAS) meno efficienti

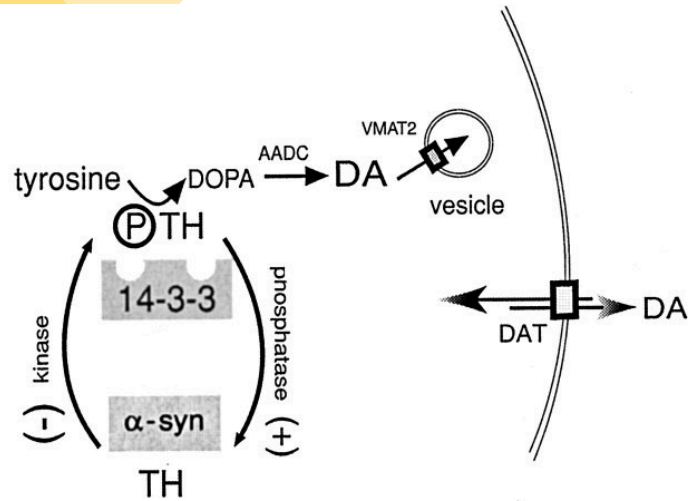
Modificazioni post-traduzionali:

- Nitrazione Try125
- Troncamento al C-terminale
- Fosforilazione Ser129
- Ossidazione

Fonte: PDB

Vulnerabilità dei neuroni dopaminergici

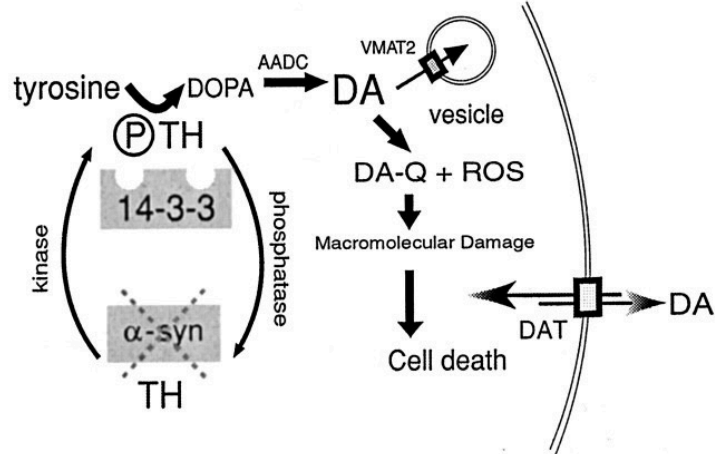
a



- α -Syn modula l'omeostasi della dopamina.
- L'assenza di α -Syn aumenta la concentrazione citosolica di dopamina.

5 mutazioni del gene SNCA alterano DAT e SNARE

b



Nei neuroni dopaminergici:

- ❖ La lunghezza degli assoni e l'attività pacemaker aumentano la vulnerabilità all'invecchiamento ed ai ROS.

Perez RG et al. A role for alpha-synuclein in the regulation of dopamine biosynthesis. J Neurosci (2002).

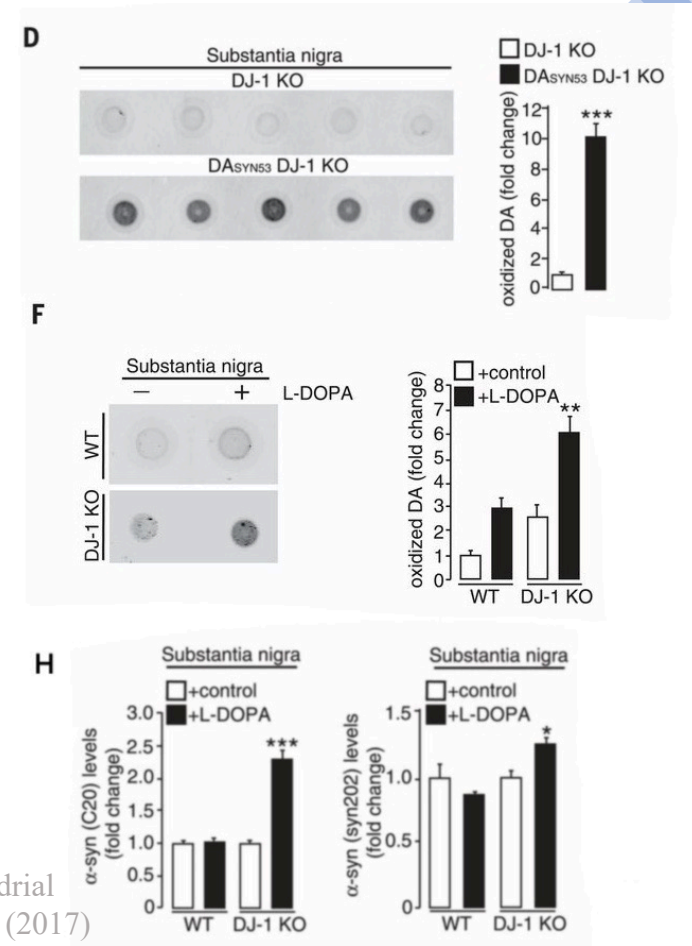
Vulnerabilità dei neuroni dopaminergici

Esperimento di Burbulla: Contributo di una via calcio-dipendente

- L'inattivazione di DJ-1 causa una forma genetica precoce di PD.
- Se contemporaneamente c'è un aumento di α -Syn vi è diminuzione della funzionalità mitocondriale con conseguente aumento dei livelli di dopamina ossidata.

Relazione tra α -Syn e calcio

- ❖ Gli oligomeri formano pori non selettivi nella membrana plasmatica provocando l'afflusso di calcio.
- ❖ La dissipazione del potenziale di membrana nei neuroni dopaminergici innesca il processo neurodegenerativo.



Burbulla LF et al. Dopamine oxidation mediates mitochondrial and lysosomal dysfunction in Parkinson's disease. Science (2017)

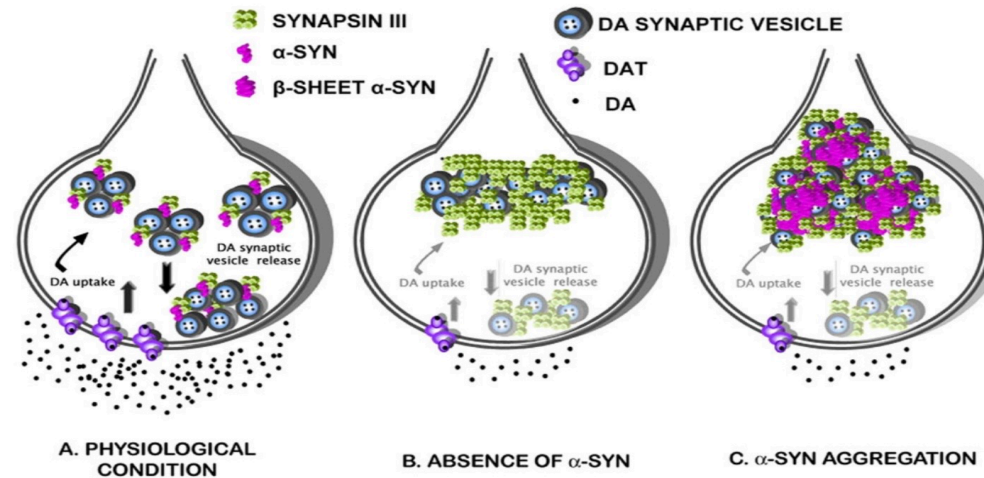
Alterazioni sinaptiche precoci

Pre-sinaptiche

- Interferenza con l'assemblaggio di SNARE: riduzione esocitosi DA.
- Interferenza con Sinapsina 3: malfunzionamento della neurotrasmissione.
- Riduzione del DAT.

Post-sinaptiche

- LTP ippocampale alterata.
- Compromissione selettiva in ChIs.
- Interazioni tra α -syn e recettori NMDA ne modificano la composizione in subunità.



Zaltieri M et al. Alpha-synuclein and synapsin III cooperatively regulate synaptic function in dopamine neurons. J Cell Sci (2015).

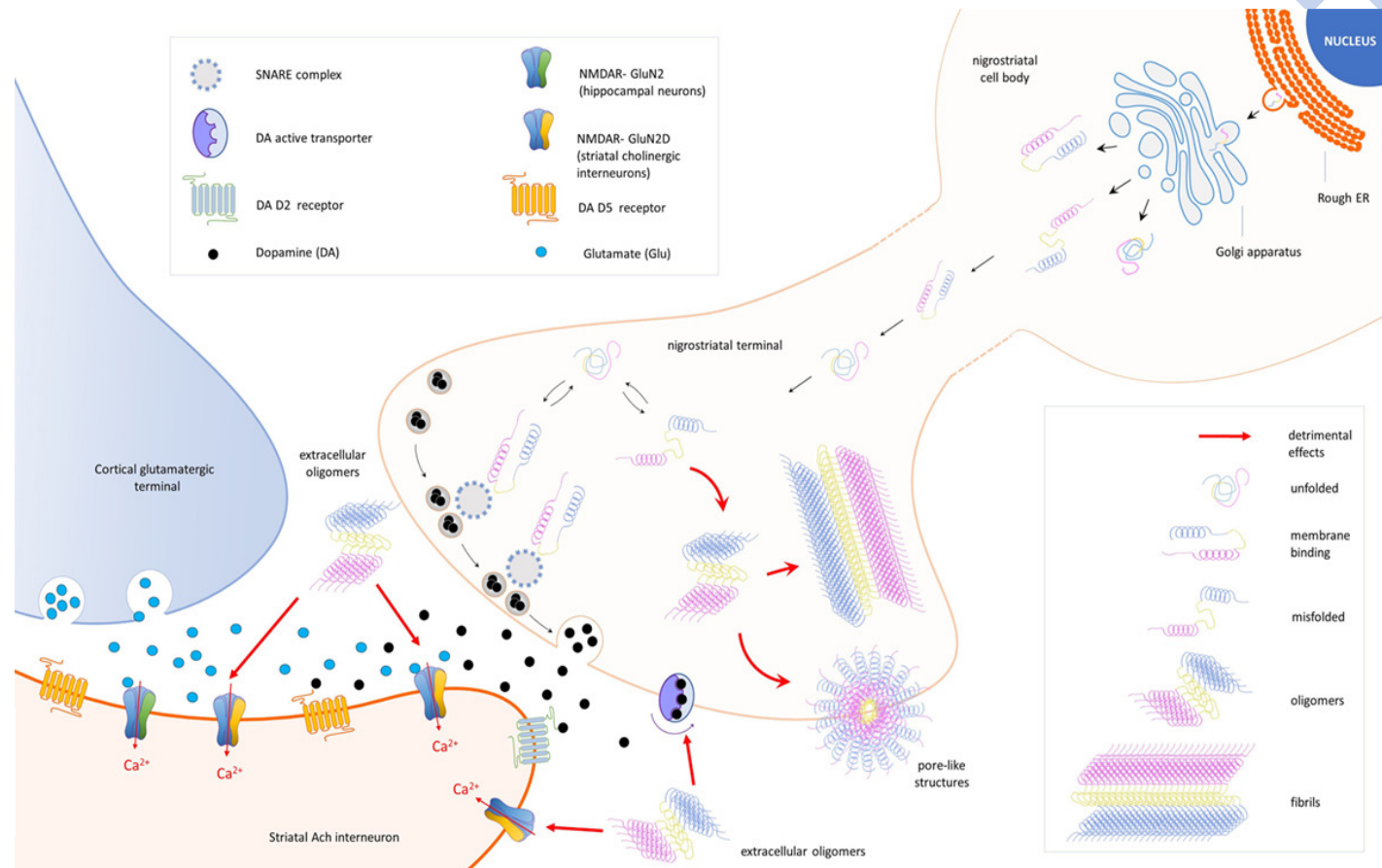
Alterazioni sinaptiche precoci

La disfunzione colinergica è osservabile già a concentrazioni nanomolari della proteina

Giordano e collaboratori:

- ❖ Un passaggio da LTD a LTP è necessario per acquisire un'abilità motoria.
- ❖ I soggetti malati presentano una **depressione a lungo termine (LTD)** permanente
- ❖ *Le alterazioni della trasmissione dopaminergica sono un effetto primario dalla sovraespressione di α -syn*

Ghiglieri V, et al. Alpha-Synuclein: From Early Synaptic Dysfunction to Neurodegeneration. *Front. Neurol.* (2018)



Insorgenza del PD

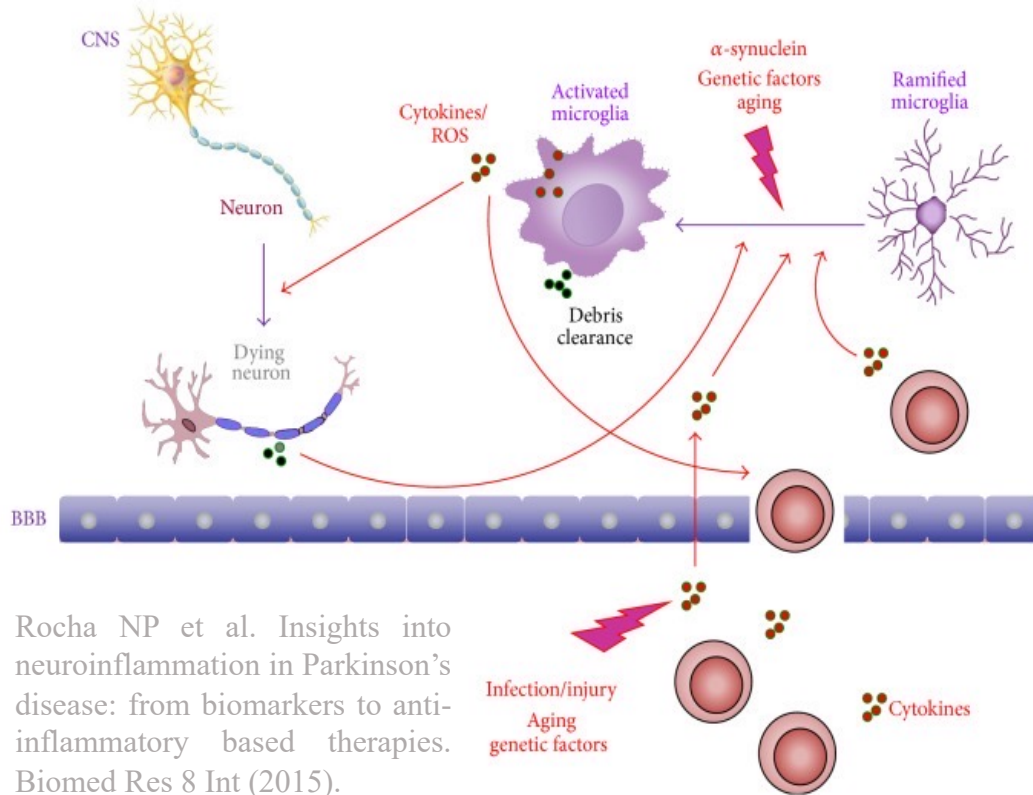
Ipotesi di Braak: Modello prionico ascendente

- ❖ Fasi prodromiche causate dalla distribuzione **periferica** di aggregati. Iniziale compromissione del tronco encefalico e dei neuroni enterici.
- ❖ Oligomeri diffondono con il trasporto assonale e l'esocitosi, **endocitati** da neuroni vicini innescano la formazione di ulteriori aggregati endogeni.
- ❖ Diverse forme di aggregati rappresentano **ceppi proteici** distinti, spiegando le varie forme di sinucleopatia.

Teoria della soglia: Malattia sistemica globale

- ❖ I neuroni del tronco encefalico e periferici possiedono una maggiore **resistenza** agli insulti e sono capaci di rigenerazione.
- ❖ I neuroni centrali costituiscono reti interconnesse diffuse che **compensano** la compromissione funzionale.

Inflammation and immune response



Rocha NP et al. Insights into neuroinflammation in Parkinson's disease: from biomarkers to anti-inflammatory based therapies. Biomed Res 8 Int (2015).

In condizioni fisiologiche:

1. Gli astrociti intervengono nel metabolismo di DA.
2. La microglia produce mediatori dell'inflammation e attiva la risposta immunitaria.
3. L' α -syn attiva gli astrociti che creano una barriera per prevenire la diffusione di segnali citotossici.

Durante la neuroinflammation:

- Mutazioni geniche alterano la funzionalità degli astrociti.
- Risposta immunitaria contro epitopi di α -syn: regioni Y39 e S129.
- L'alterata regolazione del Ca^{2+} attiva la via della calcineurina portando alla morte cellulare.

Il Calcio è il collegamento tra inflammation, neuroni DA e α -syn.

Proposte terapeutiche

- ❖ Stimolare l'autofagia.
- ❖ Intervenire sulle modificazioni post-traduzionali.
- ❖ Impedire l'aggregazione usando inibitori.
- ❖ Indurre un'immunizzazione contro le specie patogene.
- ❖ Inibire la calcineurina.
- ❖ La stimolazione magnetica transcranica (TMS).

Buoni risultati nei modelli murini transgenici.

Incompleta conoscenza dei ruoli cellulari degli oligomeri.



Riassunto esteso

L'alpha-sinucleina è una proteina di 120 amminoacidi trascritta dal gene SNCA che, in condizioni patologiche, forma aggregati fibrillari che si accumulano all'interno delle cellule nervose. L'invecchiamento aumenta l'aggregazione delle forme patogene della proteina e rende meno efficienti i sistemi di controllo compensativi.


La capacità dell' α -Syn di modulare l'omeostasi della dopamina rende i neuroni dopaminergici più suscettibili all'accumulo degli aggregati. Questa vulnerabilità selettiva dipende anche dalla lunghezza degli assoni ramificati e dall'attività di pacemaker autonomo. Infatti, lo stretto controllo della concentrazione intracellulare di calcio mediata dai mitocondri, genera elevato stress mitocondriale rendendo i neuroni dopaminergici maggiormente suscettibili all'invecchiamento. La relazione tra α -Syn e calcio dipende dalla capacità degli oligomeri di formare pori non selettivi nella membrana plasmatica che dissipano il potenziale elettrico di membrana e attivano la neurodegenerazione.

A livello pre-sinaptico, la proteina interferisce con la trasmissione dopaminergica mentre, a livello post-sinaptico, l'interazione tra α -Syn e recettori NMDA causa la compromissione della plasticità sinaptica andando così a produrre i sintomi precoci tipici della malattia.

Le ipotesi sulle modalità di insorgenza del Parkinson sono due: il modello prionico ascendente vede la progressione del Parkinson dipendente dall'iniziale distribuzione periferica degli aggregati, mentre la teoria della soglia spiega l'insorgenza dei sintomi prodromici grazie alla compensazione funzionale delle reti neurali diffuse del SNC.

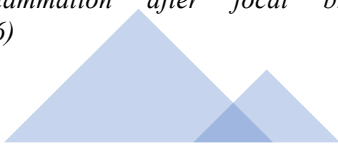
È inoltre stato osservato un collegamento tra l'iniziale infiammazione intestinale e la progressione della neuroinfiammazione, quest'ultima causata dalla compromissione della funzionalità astrocitaria e dalla risposta immunitaria contro epitopi dell' α -Syn.


Molte terapie sono state proposte nel corso degli anni ma a causa dell'incompleta conoscenza dei ruoli cellulari degli oligomeri non è possibile stabilire il miglior target terapeutico. Studi futuri saranno necessari per mettere a punto trattamenti terapeutici sempre più efficaci.





Bibliografia

- Burre J. *The synaptic function of alpha-synuclein. J Parkinsons Dis (2015)*
 - Spillantini MG, Schmidt ML, Lee VM, Trojanowski JQ, Jakes R, Goedert M. *Alpha-synuclein in Lewy bodies. Nature (1997)*
 - Perez RG, Waymire JC, Lin E, Liu JJ, Guo F, Zigmond MJ. *A role for alpha-synuclein in the regulation of dopamine biosynthesis. J Neurosci (2002)*
 - 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)*
 - 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)*
 - Feng LR, Federoff HJ, Vicini S, Maguire-Zeiss KA. *Alpha-synuclein mediates alterations in membrane conductance: a potential role for alpha-synuclein oligomers in cell vulnerability. Eur JNeurosci (2010)*
 - Tozzi A, De Iure A, Bagetta V, Tantucci M, Durante V, Quiroga-Varela A, et al. *Alpha-synuclein produces early behavioral alterations via striatal cholinergic synaptic dysfunction by interacting with GluN2D N-methyl-D-aspartate receptor subunit. Biol Psychiatry (2016)*
 - 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)*
 - Costa C, Sgobio C, Siliquini S, Tozzi A, Tantucci M, Ghiglieri V, et al. *Mechanisms underlying the impairment of hippocampal long-term potentiation and memory in experimental Parkinson's disease. Brain (2012)*
 - Braak H, Del Tredici K, Rub U, De Vos RA, Jansen Steur EN, Braak E. *Staging of brain pathology related to sporadic Parkinson's disease. Neurobiol Aging (2003)*
 - Shalash A, Salama M, Makar M, Roushdy T, Elrassas HH, Mohamed W, et al. *Elevated serum alpha-synuclein autoantibodies in patients with Parkinson's disease relative to Alzheimer's disease and controls. Front Neurol (2017)*
 - Anderson JP, Walker DE, Goldstein JM, De Laat R, Banducci K, Caccavello RJ, et al. *Phosphorylation of Ser-129 is the dominant pathological modification of alpha-synuclein in familial and sporadic Lewy body disease. J Biol Chem (2006)*
 - Sasso V, Bisicchia E, Latini L, Ghiglieri V, Cacace F, Carola V, et al. *Repetitive transcranial magnetic stimulation reduces remote apoptotic cell death and inflammation after focal brain injury. J Neuroinflammation (2016)*
- 



Grazie per l'attenzione