UNIVERSITÀ POLITECNICA DELLE MARCHE

DIPARTIMENTO SCIENZE DELLA VITA E DELL'AMBIENTE

CORSO DI LAUREA

SCIENZE BIOLOGICHE

PRRT2: DAI DISTURBI PAROSSISTICI ALLA REGOLAZIONE DELLA FUNZIONE SINAPTICA

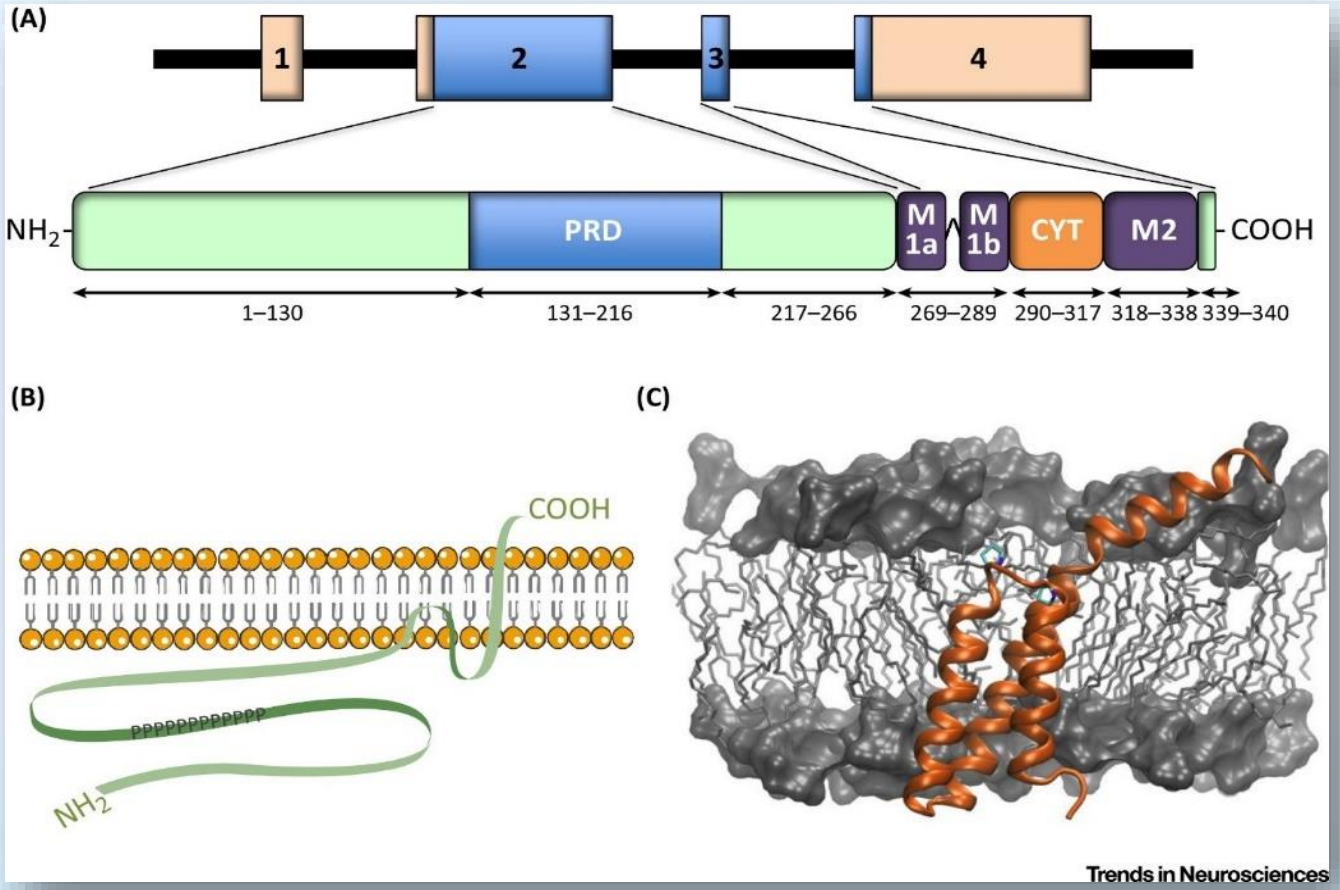
TESI DI LAUREA DI:
ALESSANDRA CONTI

DOCENTE REFERENTE:
LUCA MARAGLIANO

SESSIONE: ESTIVA (18 LUGLIO 2022)

ANNO ACCADEMICO: 2021/2022

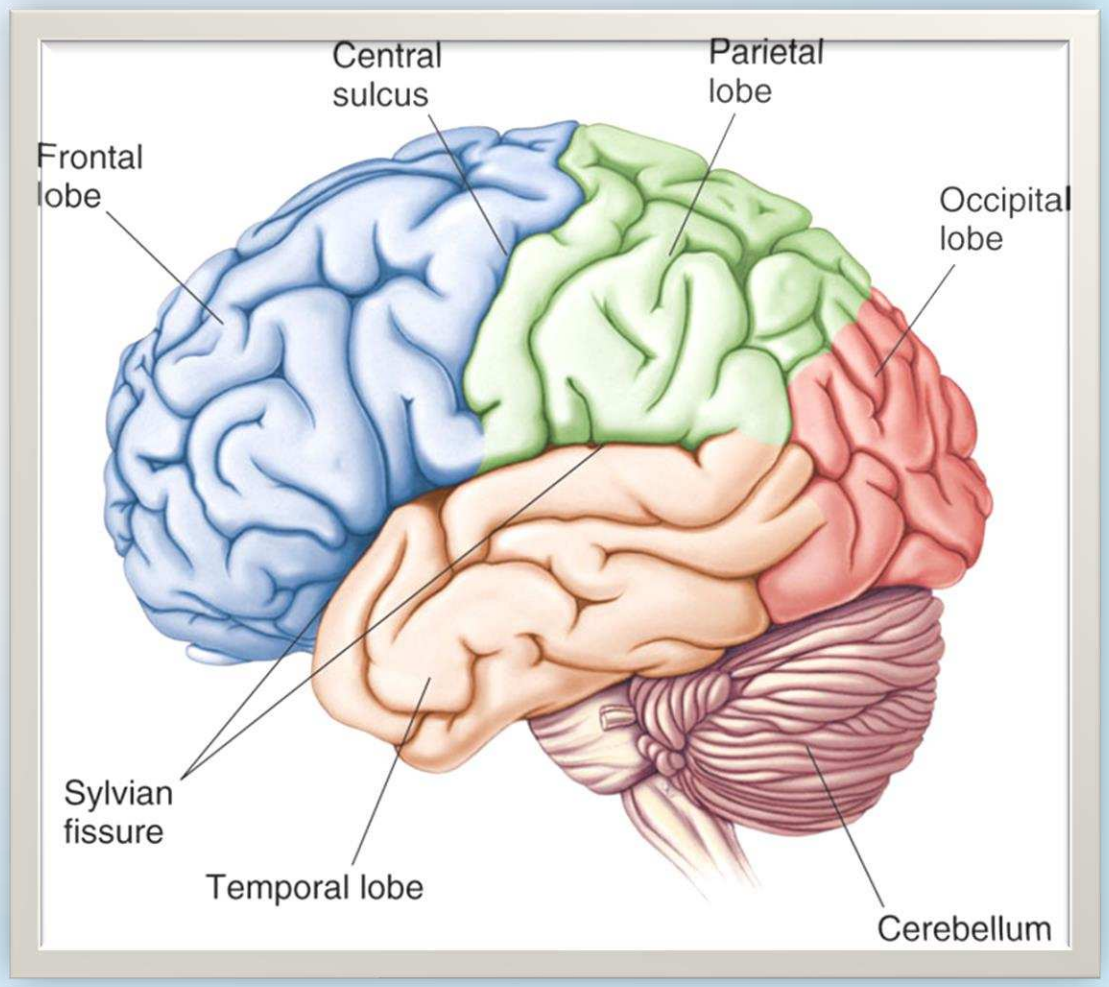
PRRT2: GENE CAUSALE DI DIVERSI DISTURBI NEUROLOGICI PAROSSISTICI



- situato sul cromosoma 16 umano contenente quattro esoni, il primo dei quali non è codificante.

PRRT2: UNA PROTEINA PRESINAPTICA ESPRESSA DURANTE LA SINAPTOGENESI

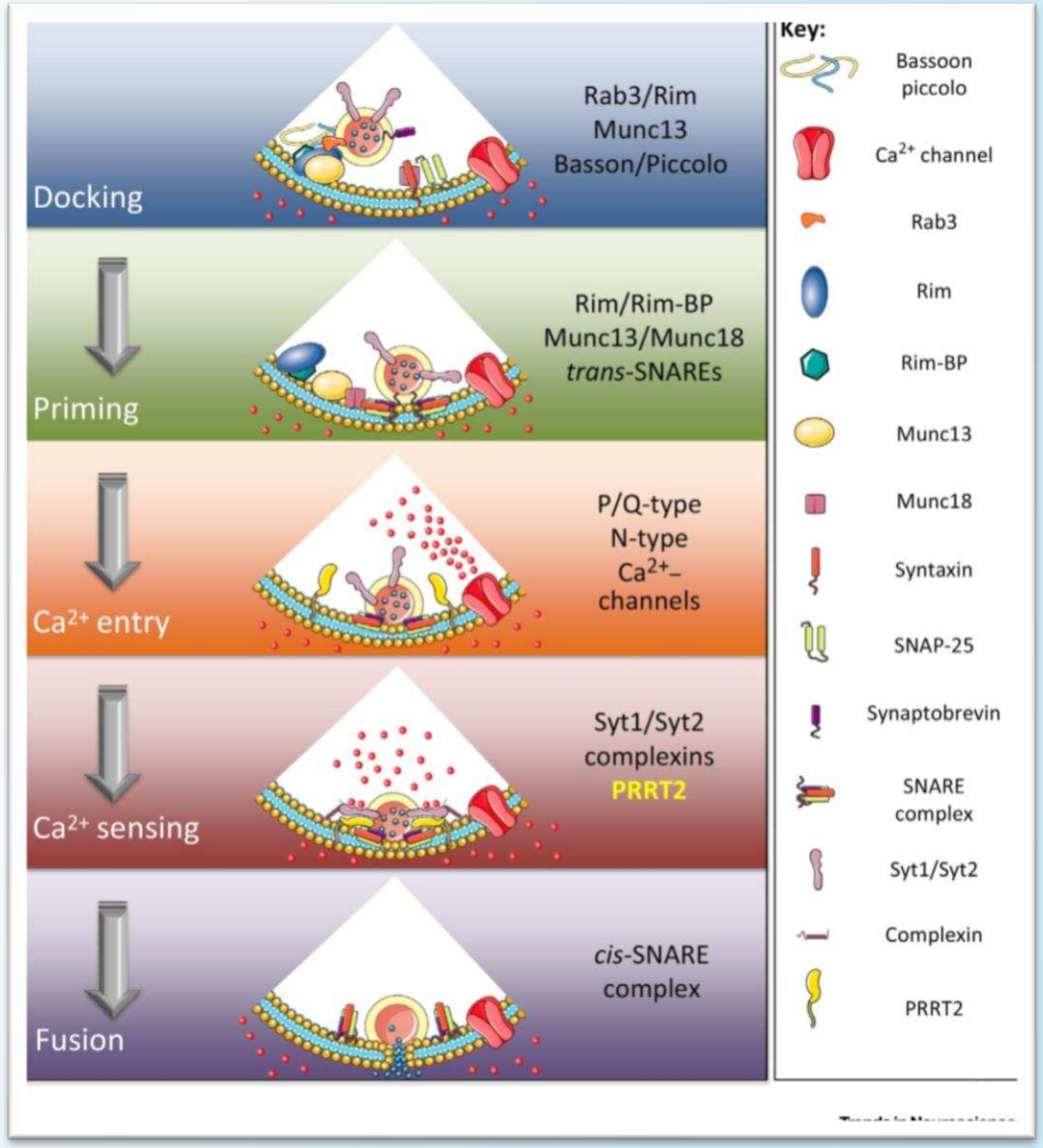
- l'espressione di PRRT2 è prominente in tutto il cervello adulto, con i livelli più alti nel cervelletto, nei gangli della base e nella neocorteccia.



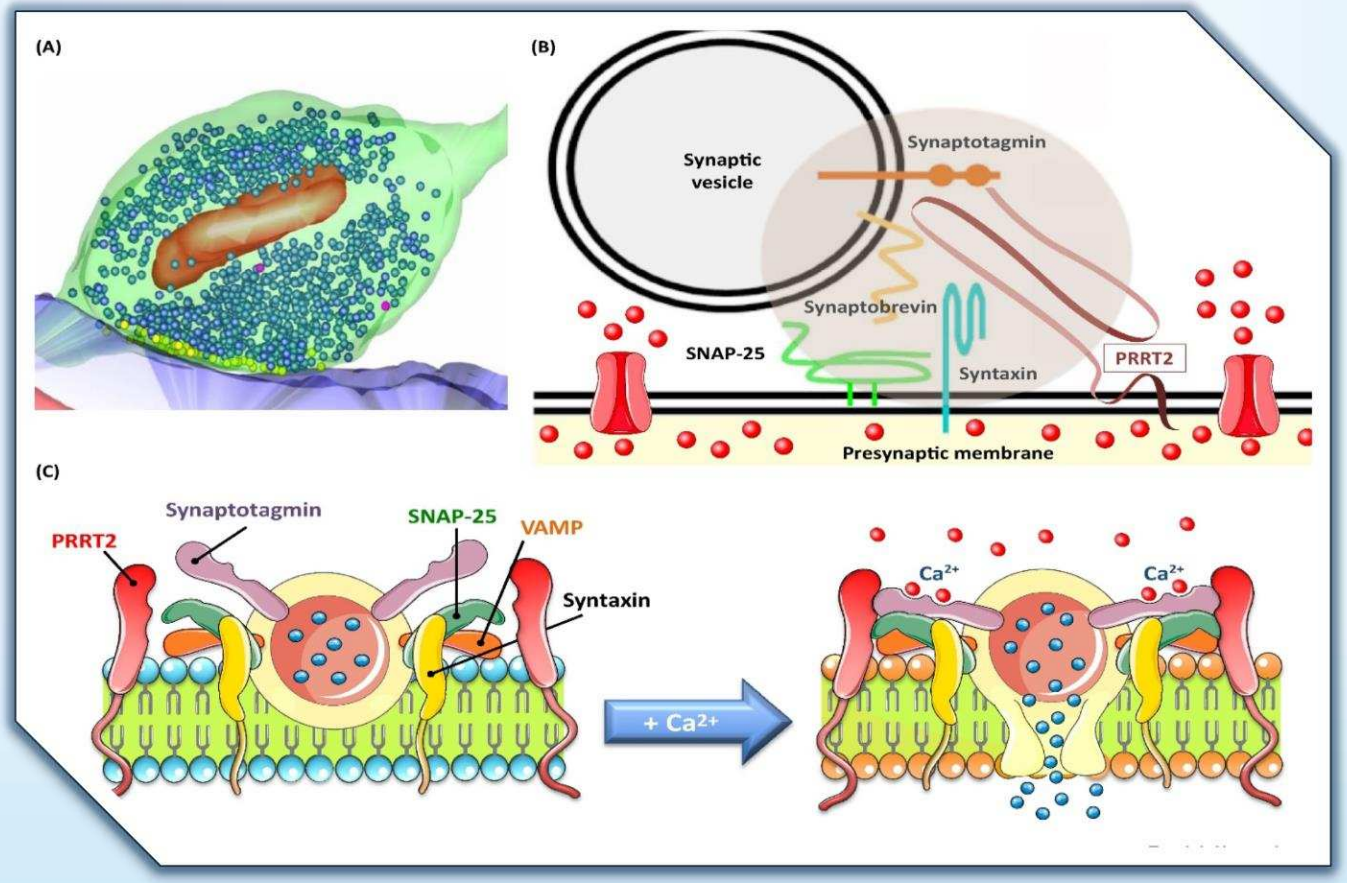
PRRT2 E' UN COMPONENTE CHIAVE DEL MACCHINARIO DI RILASCIO DEL NEUROTRASMETTITORE

Tre processi riguardanti il rilascio di neurotrasmettitori:

- Rilascio spontaneo: si verifica a concentrazioni basali di [Ca2+]i;
- Rilascio sincrono: temporalmente legato al potenziale d'azione e al conseguente afflusso di [Ca2+]i nella zona stimolata;
- Rilascio asincrono ritardato: mantenuto dall'accumulo graduale di Ca2+ intraterminale che, dopo la stimolazione ad alta frequenza, persiste per un tempo che va da decine/centinaia di millisecondi fino a secondi.



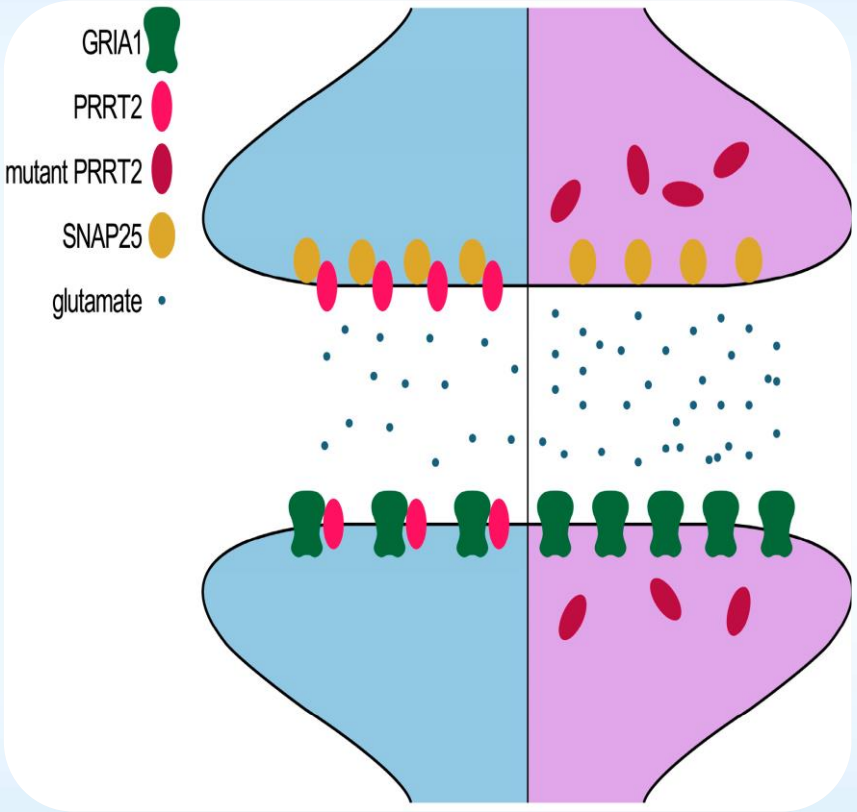
I dati fisiologici suggeriscono un modello in cui PRRT2, interagendo sia con i sensori Syt1/2 che con le proteine SNARE, aumenta l'affinità del complesso SNARE per i sensori rapidi del Ca^{2+}, necessari per innescare l'esocitosi sincrona delle vescicole sinaptiche e il conseguente rilascio di neurotrasmettitori.



Tecniche utilizzate:

- Interferenza dell'RNA;
- Schermo a due ibridi di lievito.

PRRT2 NEL COMPARTIMENTO POST-SINAPTICO

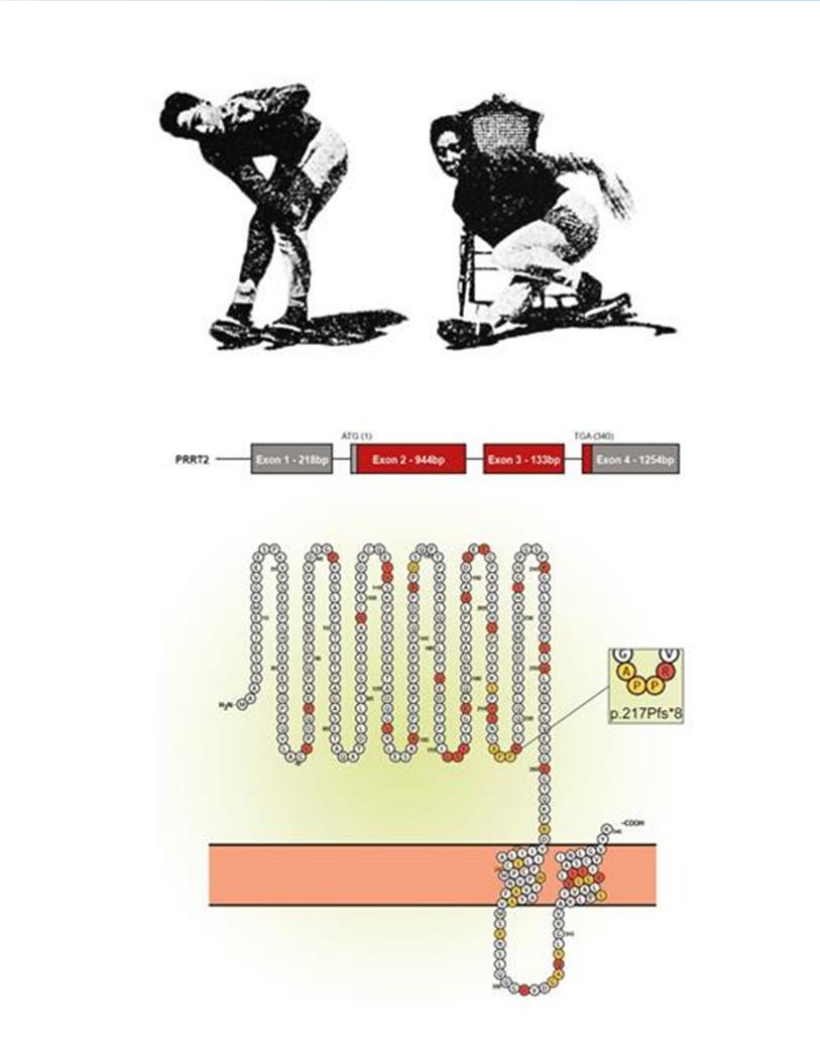


PRRT2 è stata associata a una riduzione della distribuzione di GRIA nella membrana postsinaptica. Pertanto, la PRRT2 mutante, influenza la segnalazione del glutammato e l'attività del recettore AMPA, con conseguente aumento del rilascio di glutammato e successiva ipereccitabilità neuronale.

RUOLO DI GENI SINAPTICI NELLE PATOLOGIE

La discinesia chinesigenica parossistica (PKD) è il tipo più comune di disturbo del movimento parossistico caratterizzata da ricorrenti e brevi attacchi di movimenti involontari anormali indotti da improvvisi movimenti volontari.

In cinque diverse famiglie di PKD autosomica dominante, hanno identificato tre mutazioni troncanti all'interno di PRRT2.



TUTTI I DISTURBI ASSOCIATI A PRRT2 APPAIONO DI NATURA PAROSSISTICA

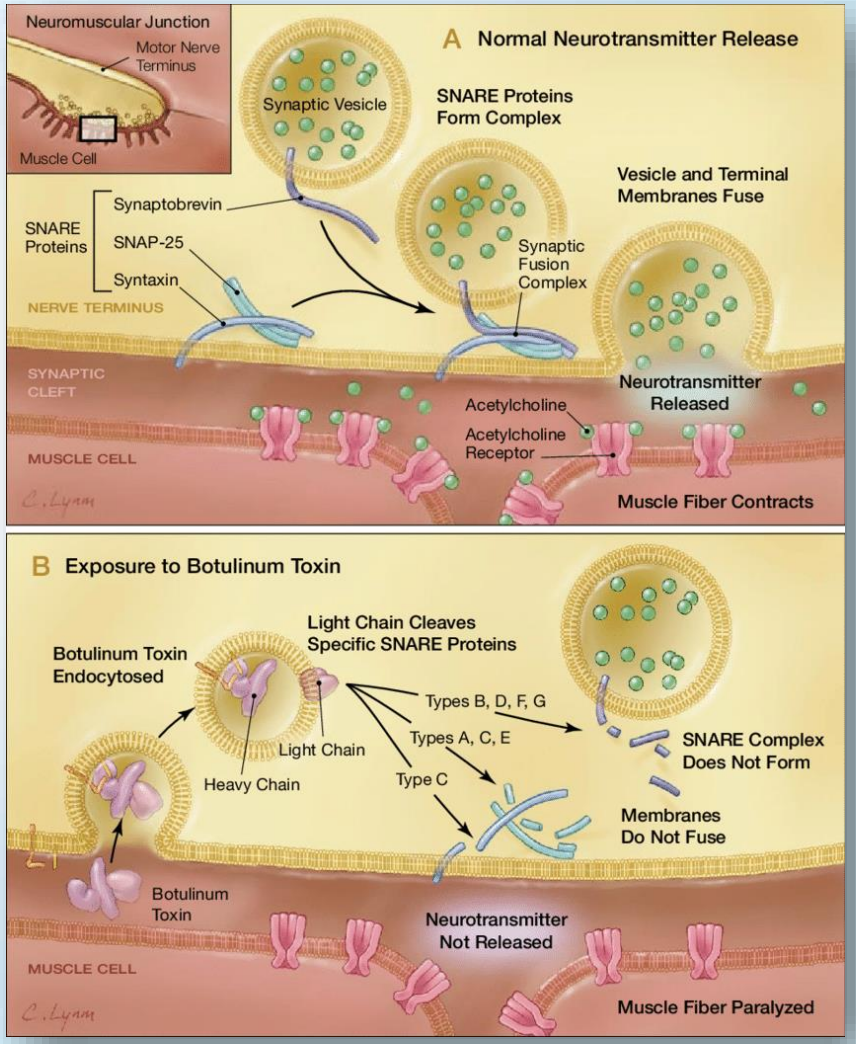
- Mutazioni di PRRT2 sono state descritte anche in una frazione minore di pazienti affetti da altri disturbi parossistici, come epilessie infantili, torcicollo parossistico, emicrania, emicrania emiplegica (HM) e atassia episodica (EA).

- Non sono emerse correlazioni specifiche genotipo-fenotipo → il fenotipo può variare anche con età diverse dello stesso individuo.

- Il buffering genetico in PRRT2 influenza l'espressione della malattia.

PROPOSTE TERAPEUTICHE

La tossina botulinica rappresenta il farmaco di prima scelta non solo per il trattamento delle distonie, ma anche per tutte le forme di discinesia. La tossina del botulino, grazie alla sua capacità di rilasciare la muscolatura, viene iniettata direttamente nel muscolo coinvolto dalla distonia e l'effetto è pressoché rapido nella maggior parte dei pazienti.



CONCLUSIONI

- Lo studio delle malattie cerebrali aiuta e dirige i progressi in neurobiologia e neurofisiologia. Nel caso di PRRT2, un gene che era rimasto di scarso interesse fino alla fine del 2011, l’osservazione del coinvolgimento delle mutazioni di PRRT2 in una pletora di disturbi parossistici ha spinto gli studi finalizzandoli alla delucidazione del suo ruolo fisiologico, permettendo l'affinamento del nostro attuale modello della rete di interazioni proteina-proteina coinvolte nel rilascio di neurotrasmettitori. Ulteriori studi lungo questa linea potrebbero aprire nuove strade nella comprensione di come è mantenuto l'equilibrio nel cervello e di come, invece, è squilibrato nei disturbi parossistici.

RIASSUNTO

PRRT2 è un piccolo gene situato sul cromosoma 16 umano contenente quattro esoni, il primo dei quali non è codificante. Gli esoni 2-4 codificano per una proteina multi-dominio di 340 amminoacidi formato da un lungo dominio N-terminale (1-268) contenente una regione ricca di prolina (PRD), due presunte eliche transmembrana, M1 (269-289) e M2 (318-338), separati da un segmento (ansa) intracellulare (CYT, 290-317) e un C-terminale formato da due soli amminoacidi (339-340).

Nella corteccia cerebrale e nell'ippocampo, il gene PRRT2 è già espresso nelle prime fasi postnatali e la sua espressione aumenta fino a raggiungere un plateau ad un mese di vita, un periodo di intensa formazione e riarrangiamento delle sinapsi. Lo stesso pattern è stato riprodotto nei neuroni primari dell'ippocampo e corticali; al contrario, nelle colture astrogliali primarie l'espressione di PRRT2 non è quasi rilevabile.

Per studiare il ruolo di PRRT2 nella fisiologia presinaptica, alcuni scienziati hanno silenziato l'espressione di PRRT2 nei neuroni primari usando la tecnica dell'interferenza dell'RNA. Il knockdown di PRRT2 ha causato una marcata compromissione della trasmissione sinaptica a causa di una diminuzione della densità delle connessioni sinaptiche e di una forte riduzione della probabilità di rilascio. Entrambi gli effetti erano completamente reversibili dopo la riespressione di PRRT2 resistente allo shRNA. La delezione di Syt1 o 2 riduce notevolmente il rilascio sincrono di neurotrasmettitori e lascia inalterato il rilascio asincrono, generando quindi un fenotipo molto simile a quello indotto dal silenziamento di PRRT2.

Recentemente, PRRT2 è stata trovata anche tra le proteine associate ai recettori del glutammato da uno studio di proteomica ad alta risoluzione e, la sua mutazione è stata associata ad un aumento dei livelli di glutammato extracellulare.

La scoperta che PRRT2 è una proteina sinaptica che modula lo sviluppo e la funzione sottolinea ulteriormente il ruolo di geni sinaptici nelle patologie. Le mutazioni nel gene PRRT2 sono state identificate come causa di tre disordini: epilessia infantile familiare benigna (BFIE), convulsioni infantili con sindrome da coreoatetosi (ICCA) e discinesia chinesigenica parossistica (PKD).

Considerando che le probabilità di guarigione completa e definitiva delle discinesie sono pressoché nulle, le terapie ambiscono soprattutto alla correzione della sintomatologia spastica, alla riduzione del dolore, all'assunzione di posture meno scorrette e, soprattutto, al miglioramento della qualità di vita del paziente.

La scienza non dispone di una strumentazione adeguata in grado di fornire un'ipotetica prognosi; ad ogni modo, un intervento tempestivo è in grado sicuramente di ridurre i sintomi e di alleggerire il dolore, sia fisico che psicologico, indotto dalla distonia.

BIBLIOGRAFIA

Stelzi, U. et al (2005). A Human Protein-Protein Interaction Network: A Resource for Annotating the Proteome;

Chen, W.J. et al (2011) Exome sequencing identifies truncating mutations in PRRT2 that cause paroxysmal kinesigenic dyskinesia;

Wang J.L et al (2011) Identification of PRRT2 as the causative gene of paroxysmal kinesigenic dyskinesias;

Rossi P. et al (2016) A Novel Topology of Proline-rich Transmembrane Protein 2 (PRRT2): HINTS FOR AN INTRACELLULAR FUNCTION AT THE SYNAPSE;

Lee, H.Y. et al (2012) Mutations in PRRT2 responsible for paroxysmal kinesigenic dyskinesias also cause benign familial infantile convulsions;

Bruecker, F. et al (2014) Unusual variability of PRRT2 linked phenotypes within a family.

Sudhof, T.C and Rizo, J (2011) Synaptic Vesicle Exocytosis;

Luo, C. et al (2013) Altered intrinsic brain activity in patients with paroxysmal kinesigenic dyskinesia by PRRT2 mutation;

Trabzuni, D. et al (2011) Quality control parameters on a large dataset of regionally dissected human control brains for whole genome expression studies;

Geppert, M. et al (1994) Synaptotagmin I: A major Ca2+ sensor for transmitter release at a central synapse;

Kerr, A.M. et al (2008) Differential dependence of phasic transmitter release on synaptotagmin 1 at GABAergic and glutamatergic hippocampal synapses;

Condliffe, S.B. et al (2010) Endogenous SNAP-25 Regulates Native Voltage-gated Calcium Channels in Glutamatergic Neurons.

GRAZIE PER L’ATTENZIONE