

O PAPEL DA α -SINUCLEÍNA NO DESENVOLVIMENTO DA DOENÇA DE PARKINSON

Amanda Araujo Dourado

Farmacêutica – FITL/AEMS

Anderson Lúcio Ferreira do Carmo

Biomédico e Tecnólogo em Radiologia – FITL/AEMS;

Espec. em Diagnóstico por Imagem – UNOESTE;

Docente das Faculdades Integradas de Três Lagoas – FITL/AEMS

Catarina Akiko Miyamoto

Doutora em Ciências Biológicas (Bioquímica) – USP;

Pós-Doutorado – Weill Medical College of Cornell University;

Docente das Faculdades Integradas de Três Lagoas – AEMS

RESUMO

A doença de Parkinson (DP) é uma doença neurodegenerativa, crônica e progressiva, relacionada à disfunção na motricidade e à idade. A característica neurológica desta patologia é a perda específica de neurônios dopaminérgicos na substância negra (SN) e pela presença de corpúsculos de Lewy (CL), agregados compostos majoritariamente da proteína α -sinucleína (α -syn). A etiologia da DP é multifatorial que envolve a combinação da predisposição genética e de fatores ambientais. Tem sido demonstrado que mutações em seis genes (*SNCA*, *Parkin*, *DJ-1*, *PINK1*, *LRKK2* e *ATP13A2*) estão envolvidos no desenvolvimento da DP familiar, sendo que um dos de maior risco é o *SNCA*, codificante da proteína α -syn. Evidências crescentes de estudos genéticos, patológicos e bioquímicos sugerem que a agregação anormal da α -syn está envolvida nos mecanismos patogênicos do desenvolvimento da DP. Dentre as causas ambientais incluem-se as toxinas químicas (manganês, mercúrio, solventes, pesticidas e herbicidas) que podem ocasionar estresse oxidativo. A DP ligada ao gene *SNCA* tem padrão de herança autossômica dominante com início precoce e normalmente, com progressão rápida. O gene *SNCA* localiza-se no cromossomo 4q22.1, tem seis exons e codifica a proteína α -syn, de 140 resíduos de aminoácidos. Esta pode ser dividida em três domínios, N-terminal (aa 1-60), de interação com as membranas; central (aa 61-95), de fibrilização e C-terminal (aa 96-140), de inibição da agregação. Até o momento tem sido descrito três mutações pontuais no domínio N-terminal (A30P, E46K, A53T).

PALAVRAS-CHAVES: corpúsculo de Lewy; neurodegeneração; gene *SNCA*.

1 INTRODUÇÃO

A doença de Parkinson (DP) é a segunda doença neurodegenerativa mais comum observada nos seres humanos, sendo que a incidência mundial média é de 15-20 casos em 100 mil habitantes por ano, com maior incidência em indivíduos do sexo masculino (BRASIL, 2012). Aproximadamente 1-2% da população mundial acima de 65 anos de idade apresentam sinais clinicamente evidentes (MEIRELES; MASSANO, 2012; PERFEITO; REGO, 2012; GALHARDO; AMARAL; VIEIRA, 2009).

No Brasil, a prevalência em pessoas com 60-69 anos é de 700/100.000, 70-79 anos é de 1.500/100.000 e idades inferiores a 50 anos (10%) e 40 anos (5%) (PEREIRA; GARRETT, 2010).

A DP é uma doença neurodegenerativa, crônica e progressiva, relacionada à disfunção na motricidade e à idade, caracterizada principalmente por sintomas motores, tais como tremor de repouso, rigidez, bradicinesia, mas também acompanhada por vários sintomas não motores, como déficits de aprendizagem e memória, além de transtornos do humor, depressão e ansiedade (DICKSON et al., 2009; WOLTERS, 2009).

A característica neurológica da DP é a perda específica de neurônios dopaminérgicos na substância negra (SN) e pela presença de corpúsculos de Lewy (CL), agregados compostos majoritariamente da proteína α -sinucleína (α -syn). O aumento na concentração citoplasmática desta proteína tem sido associado com a DP nas formas familiares e esporádicas (ANJOS, 2013; GALHARDO; AMARAL; VIEIRA, 2009).

A deficiência motora se torna evidente somente após perda de aproximadamente 80% da dopamina estriatal e 50% dos neurônios da substância negra (GASSER, 2010; 2009; WOLTERS, 2009).

Atualmente, considera-se a etiologia da DP como multifatorial que envolve a combinação da predisposição genética e de fatores ambientais, embora não se tenha descrito nenhum específico destes últimos (GASSER, 2010).

Tem sido descrito mutações em seis genes que estão envolvidos no desenvolvimento da DP, sendo que o *SNCA* que codifica a proteína α -sinucleína (α -syn), é um dos de maior risco (OZANSOY; BAŞAK, 2013). Evidências crescentes de estudos genéticos, patológicos e bioquímicos sugerem que a agregação anormal da α -syn está envolvida nos mecanismos patogênicos do desenvolvimento da DP (PERFEITO; REGO, 2012).

Dentre as causas ambientais incluem-se as toxinas químicas (manganês, mercúrio, solventes, pesticidas e herbicidas) que podem ocasionar estresse oxidativo. É comum observar a presença de anormalidades mitocondriais e/ou alterações do envelhecimento (perda neuronal progressiva), decorrentes de fatores tóxicos e/ou genéticos, que tendem a ativar a cascata de eventos que originam a morte celular programada (apoptose) (PEREIRA; GARRET, 2010; TEIVE, 2005).

2 OBJETIVOS

O objetivo deste trabalho é descrever o papel fisiológico da α -syn e sua relação com a doença de Parkinson.

3 MATERIAL E MÉTODOS

A metodologia foi baseada em pesquisa bibliográfica em livros e artigos científicos da literatura nacional e internacional. Artigos científicos que se encontram indexados em plataformas de pesquisas virtuais, tais como Scielo, Lilacs e Pubmed. Priorizaram-se publicações entre os anos de 2000 a 2019, porém não se descartou artigos de relevância publicados em anos anteriores. Para tanto, utilizou-se como palavras-chave doença de Parkinson, α -sinucleína, papel fisiopatológico α -sinucleína, fatores ambientais desenvolvimento doença de Parkinson, entre outras.

4 α -SINUCLÉINA (α -syn)

Inicialmente, acreditava-se que a DP ocorria de forma esporádica sem herança genética, porém atualmente, sabe-se que aproximadamente 20% dos afetados têm histórico familiar da doença. Tem sido demonstrado que mutações em seis genes (*SNCA*, *Parkin*, *DJ-1*, *PINK1*, *LRKK2* e *ATP13A2*) estão envolvidos no desenvolvimento da DP familiar, sendo que um dos de maior risco é o *SNCA*, codificante da proteína α -syn (BEKRIS; MATA; ZABETIAN, 2010; SPILLANTINI et al., 1997).

A DP ligada ao gene *SNCA* tem padrão de herança autossômica dominante com início precoce e normalmente, com progressão rápida (SPILLANTINI et al., 1997)

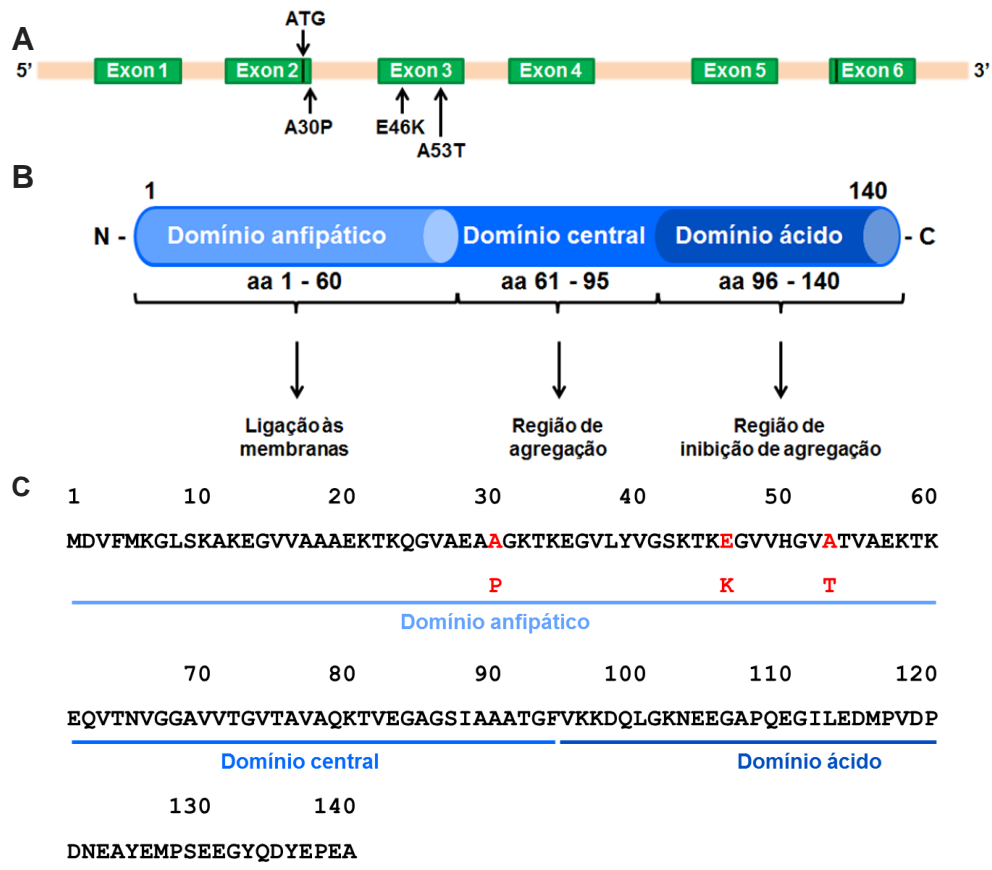
O gene *SNCA* localiza-se no cromossomo 4q22.1, tem seis exons (Figura 1A) e codifica a proteína α -syn, de 140 resíduos de aminoácidos (Figura 1B).

O códon de iniciação de tradução (ATG) do *SNCA* encontra-se no éxon 2 e o de terminação, no éxon 6 (Figura 1A) (OZANSOY; BAŞAK, 2013; BELLUCCI et al., 2012; BEKRIS; MATA; ZABETIAN, 2010).

Em humanos existem três isoformas de α -syn que são produzidas por *splicings* alternativos (BAYER et al., 1999). A completa e predominante é constituída

de 140 aminoácidos, e é produto da expressão de todos os 6 éxons (Figura 1). As outras duas isoformas são constituídas de 126 e 112 aminoácidos em comprimento, que são produtos da deleção seletiva dos éxons 3 e 5, respectivamente (TOFARIS; SPILLANTINI, 2007).

Figura 1. Estrutura do gene *SNCA* e da proteína α -syn e sua sequência primária.



A. Estrutura do gene *SNCA*. B. Domínios estruturais da α -syn. C. Sequência primária da α -syn. Os resíduos em vermelho correspondem às mutações observadas.

Fonte: Elaborado pelos autores.

A α -syn completa pode ser dividida em três domínios, N-terminal (aa 1-60), de interação com as membranas; central (aa 61-95), de fibrilização e C-terminal (aa 96-140), de inibição da agregação (Figura 1B) (OZANSOY; BAŞAK, 2013).

A porção N-terminal consiste de um domínio α -helicoidal anfipático que se associa com membranas tais como vesículas pré-sinápticas. Contém sete repetições imperfeitas com um motivo consenso KTKEGV (ZARBIV et al., 2014). Até o momento tem sido descrito três mutações pontuais nesse domínio (A30P, E46K, A53T) (Figura 1A e C) (ZARRANZ et al., 2004; KRÜGER et al., 1998;

POLYMEROPOULOS et al., 1997), duplicações e triplicações do gene *SNCA*. Estas últimas, embora raras, mostram que a superexpressão da α -syn tipo selvagem (TS) também é capaz de induzir a DP (CHARTIER-HARLIN et al., 2004; SINGLETON et al., 2003).

O domínio central contém uma região altamente hidrofóbica (aa 71-82), denominada componente não β -amiloide (NAC), que promove agregação (BELLUCCI et al., 2012).

O domínio C-terminal é rico em prolina e aminoácidos ácidos que favorecem a não agregação (BELLUCCI et al., 2012). Logo, o truncamento C-terminal induz a agregação e sugere que modificações nesta região podem estar envolvidas na patologia da α -syn (VENDA et al., 2010).

4.1 Características Fisiológicas da α -Syn

A α -syn é predominantemente expressa no cérebro e enriquecida nos terminais pré-sinápticos (GEORGE, 2002). Em solução, é uma proteína intrinsecamente desordenada, sem uma única estrutura estável (UVERSKY, 2003). No entanto, pode assumir as estruturas α -helicoidal (monomérica e oligomérica), folha- β pregueada e agregados (desde amorfos até fibrilas tipo amiloides) (MAITI et al., 2004; UVERSKY, 2003). Estes últimos fazem parte do CL na DP familiar e esporádica (SPILLANTINI et al., 1997).

A α -syn está diretamente envolvida no recrutamento da dopamina e na compartimentalização pré-sináptica da mesma. Embora a função molecular exata do α -syn ainda não tenha sido totalmente elucidada, foi proposto interagir com membranas biológicas e proteínas da membrana e desempenhar papéis na plasticidade sináptica e na liberação dos neurotransmissores (BURRE, 2015; NAKATA et al., 2012; CHANDRA et al., 2004).

Ensaio *in vitro* com os mutantes A30P, A53T e E46K mostram propensão aumentada para auto agregação e oligomerização em pré-fibrilas quando comparados com a proteína TS (PANDEY; SCHMIDT; GALVIN, 2006; CONWAY; HARPER; LANSBURY, 1998). A30P rompe a interação entre a-syn e a membrana citoplasmática e possivelmente leva a proteína TS para longe da sinapse (FORTIN et al., 2004).

Alterações nos níveis da α -syn têm sido relatadas no líquido

cefalorraquidiano e no plasma de pacientes com DP em comparação com indivíduos controle. Portanto, esta proteína pode ser considerada um potencial biomarcador para DP (EL-AGNAF et al., 2006).

5 AGREGAÇÃO DA α -SYN

O mecanismo de formação das fibrilas de α -syn tem sido extensivamente estudado, uma vez que as mesmas são um componente importante dos CLs. As fibrilas de α -syn do tipo amiloide reproduzidas *in vitro* são morfologicamente semelhantes às encontradas em CLs de cérebros de pacientes (ROCHET et al., 2000 ; SERPELL et al., 2000).

A região N-terminal da α -syn é a região anfipática envolvida na sua interação com as membranas lipídicas e em sua estrutura desordenada da forma nativa (UVERSKY, 2003). Motivos semelhantes também são encontrados na apolipoproteína, que é conhecida por causar amiloidose sistêmica (GEORGE et al., 1995). Os sítios de mutação pontual das três DP familiares descritas (A30T, E46K e A53T) (ZARRANZ et al., 2004; KRÜGER et al., 1998; POLYMEROPOULOS et al., 1997).

A região NAC desempenha um papel central na formação e agregação de fibrilas por meio da formação de estruturas cruzadas de folhas β . De fato, vários estudos mostram que o NAC é necessário e suficiente para a agregação e toxicidade de α -syn (RODRIGUEZ et al., 2015; PERIQUET et al., 2007; GIASSON et al., 2001).

As cargas negativas na região C-terminal desempenham um papel importante na inibição da formação de fibrilas, pois se interage com NAC e a mascara (HONG et al., 2011). Este domínio também interage transitoriamente com o N-terminal e resulta em múltiplas estruturas monoméricas compactas, resistentes à agregação (BERTONCINI et al., 2005). Além disso, as formas truncadas, sem o domínio C-terminal, se agregam mais rapidamente do que a proteína completa (HOYER et al., 2004 ; LI et al., 2005; ANDERSON et al., 2006).

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A doença de Parkinson é um distúrbio neurodegenerativo que é

diagnosticado clinicamente com base em suas características motoras.

A etiologia permanece desconhecida, mas inclui uma combinação de fatores de risco genéticos e ambientais, geralmente idade e sexo.

Embora ainda não haja tratamentos neuroprotetores disponíveis, existem muitas terapias médicas e cirúrgicas que podem ser usadas em diferentes estágios ao longo do curso da doença para o tratamento sintomático de características motoras e não motoras.

Grande parte dos estudos elucidam que a α -syn é uma proteína que possui um papel de extrema importância no desenvolvimento da DP. Logo, faz-se necessário dar prosseguimento aos estudos direcionados à função da α -syn, bem como da sua relação com os neurônios dopaminérgicos, como meio de comprovar a sua relevância na patogênese da DP, levando ao desenvolvimento de novas terapias que adiam ou impedem a sua progressão.

REFERÊNCIAS

ANJOS, V. R. Modelo genético da doença de Parkinson baseado na sobreexpressão estatal da alfa – sinucleína. 2013. 59 f. Dissertação (Mestrado em Medicina) – Faculdade de Medicina da Universidade de Coimbra, Coimbra.

BAYER, T. A.; JAKALA, P.; HARTMANN, T.; EGENSERGER, R.; BUSLEI, R.; FALKAI, P.; BEYREUTHER, K. Neural expression profile of alpha-synuclein in developing human cortex. *Neuroreport*. v. 10, p. 2799–2803, 1999.

BEKRIS, L. M.; MATA, I. F.; ZABETIAN, C. P. The genetics of Parkinson disease. *J Geriatr Psychiatry Neurol*, v. 23, p. 228-242, 2010.

BELLUCCI, A.; NAVARRIA, L.; ZALTIERIA, M.; MISSALEA, C.; SPANO, P. Alpha-synuclein synaptic pathology and its implications in the development of novel therapeutic approaches to cure Parkinson's disease. *Brain Res*. v. 1432, p. 95-113, 13 Jan., 2012

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. Alpha-synuclein locus duplication as a cause of familial parkinson's disease. *Lancet* v. 364, p. 1167–1169, 2004.

CONWAY, K. A.; HARPER, J. D.; LANSBURY, P. T. Accelerated in vitro fibril formation by a mutant alphasynuclein linked to early-onset Parkinson disease. *Nat*

Med, v. 4 n. 11, p. 1318-1320, 1998.

DICKSON, D. W.; FUJISHIRO, H.; ORR, C.; DELLEDONNE, A.; JOSEPHS, K. A.; FRIGERIO, R.; BURNETT, M.; PARISI, J. E.; KLOS, K. J.; AHLKOG, J. E. Neuropathology of non-motor features of parkinson disease. *Parkinsonism Relat Disord*, v. 15, (Suppl. 3), p. S1–S5, 2009.

EL-AGNAF et al. Detection of oligomeric forms of alpha-synuclein protein in human plasma as a potential biomarker for Parkinson's disease. *The FASEB Journal*, v. 20, p. 419 – 25, 2006.

FORTIN, D. L.; TROYER, M. D.; NAKAMURA, K.; KUBO, S.; ANTHONY, M. D.; EDWARDS, R. H. Lipid rafts mediate the synaptic localization of alpha-synuclein. *J Neurosci*, v. 24, n. 30, p. 6715-6723, 2004.

GALHARDO, M. M. A. M.; AMARAL, A. K. F. J.; VIEIRA, A. C. C. Caracterização dos distúrbios cognitivos na Doença de Parkinson. *Revista CEFAC*, São Paulo, v. 11, n. 2, p. 251-257, 2009.

GASSER, T. Molecular pathogenesis of Parkinson disease: insights from genetic studies. *Expert Rev Mol Med*, v. 11, p. E22, 2009.

GASSER, T. Identifying PD-causing genes and genetic susceptibility factors: current approaches and future prospects. *Prog Brain Res*, v. 183, p. 3-20, 2010.

GEORGE, J. M. The synucleins. *Genome Biol.* v. 3, n. 1, 2002.

KRÜGER, R.; KUHN, W.; MÜLLER, T.; WOITALLA, D.; GRAEBER, M.; KÖSEL, S.; PRZUNTEK, H.; EPPLER, J. T.; SCHÖLS, L.; RIESS, O. Ala30Pro mutation in the gene encoding alpha-synuclein in Parkinson's disease. *Nat Genet*, v. 18, p. 106-108, 1998.

MEIRELES, J.; MASSANO, J. Comprometimento cognitivo e demência na doença de Parkinson: características clínicas, diagnóstico e tratamento. *Frontiers Neurology*, v. 3, n. 88, 2012.

OZANSOY, M.; BAŞAK, A. N. The Central Theme of Parkinson's Disease: α -Synuclein. *Mol Neurobiol.*, v. 47, n. 2, p. 460-465, Apr. 2013.

PANDEY, N.; SCHMIDT, R. E.; GALVIN, J. E. The alpha-synuclein mutation E46K promotes aggregation in cultured cells. *Exp Neurol*, v. 197, n. 2, p. 515-520, 2006.

PERFEITO, R.; REGO, A. C. Papel da alfa-sinucleína e da disfunção mitocondrial associada à doença de Parkinson. *Revista Neurociência*, v. 20, n. 2, p. 273-284,

2012.

POLYMEROPOULOS, M. H.; LAVEDAN, C.; LEROY, E.; IDE, S. E.; DEHEJIA, A.; DUTRA, A.; PIKE, B.; ROOT, H.; RUBENSTEIN, J.; BOYER, R.; STENROOS, E. S.; CHANDRASEKHARAPPA, S.; ATHANASSIADOU, A.; PAPAPETROPOULOS, T.; JOHNSON, W. G.; LAZZARINIAM, D. R. C.; IORIOG, D. I.; GOLBE, L. I.; NUSSBAUM, R. L. Mutation in the alpha-synuclein gene identified in families with Parkinson's disease. *Science*, v. 276, p. 2045-2047, 1997.

SINGLETON, A. B.; FARRER, M.; JOHNSON, J.; SINGLETON, A.; HAGUE, S.; KACHERGUS, J.; HULIHANM, P. T, DUTRA, A.; NUSSBAUM, R.; LINCOLN, S.; CRAWLEY, A.; HANSON, M.; MARAGANORE, D.; ADLER, C.; COOKSON, M. R.; MUENTER, M.; BAPTISTA, M.; MILLER, D.; BLANCATO, J.; HARDY, J.; GWINN-HARDY, K. Alpha-synuclein locus triplication causes Parkinson's disease. *Science*, v. 302, p. 841, 2003.

SPILLANTINI, M. G.; SCHMIDT, M. L.; LEE, V.M.; TROJANOWSKI, J. Q.; JAKES, R.; GOEDERT, M. Alpha-synuclein in Lewy bodies. *Nature*, v. 388, p. 839-840, 1997.

TOFARIS, G. K.; SPILLANTINI, M. G. Physiological and pathological properties of alpha-synuclein. *Cell. Mol. Life Sci.* v. 64, p. 2194-2201, 2007.

UVERSKY, V. N. A protein-chameleon: conformational plasticity of alpha-synuclein, a disordered protein involved in neurodegenerative disorders. *J Biomol Struct Dyn*, v. 21, n. 2, p. 211-234, 2003.

VENDA, L. L. et al. α -synuclein and dopamine at the crossroads of Parkinson's disease. *Trends in Neuroscience*, v. 33, p. 559 -68, 2010.

WOLTERS E Non-motor extranigral signs and symptoms in Parkinson's disease. *Parkinsonism Relat Disord*, v. 15 (Suppl. 3), p. S6-S12, 2009.

ZARRANZ, J. J.; ALEGRE, J.; GÓMEZ-ESTEBAN, J. C.; LEZCANO, E.; ROS, R.; AMPUERO, I.; VIDAL, L.; HOENICKA, J.; RODRIGUEZ, O.; ATARÉS, B.; LLORENS, V.; GOMEZ-TORTOSA, E.; DEL SER, T.; MUÑOZ, D. G.; DE YEBENES, J. G. The new mutation, E46K, of alpha-synuclein causes Parkinson and Lewy body dementia. *Ann Neurol*, v. 55, p. 164-173, 2004.