

V. Bonifati

Eziopatogenesi della malattia di Parkinson: il contributo delle forme monogeniche

Riassunto La eziopatogenesi della malattia di Parkinson rimane in gran parte sconosciuta. La recente identificazione di rare varianti della malattia su base monogenica ha delineato una notevole eterogeneità eziologica. Il gene difettoso è stato clonato in tre forme a trasmissione autosomica dominante (PARK1/ α -synuclein; PARK5/ubiquitina-idrolasi-C-terminale-L1; NR4A2) ed in due forme recessive (PARK2/parkin; PARK7/DJ-1). Altri loci sono stati mappati in forme mendeliane e non-mendeliane, ma i geni responsabili restano sconosciuti. Le forme rare mendeliane costituiscono dei modelli naturali “semplificati” della malattia, che si stanno rivelando cruciali per la comprensione della patogenesi nelle forme più comuni, in cui molti fattori genetici ed ambientali giocano probabilmente un ruolo.

Parole chiave Parkinson • Eziopatogenesi • Genetica • Synucleina • Parkina • DJ-1

V. Bonifati (✉)
Department of Clinical Genetics
Erasmus Medical Center Rotterdam
Molewaterplein 50, GE-3015 Rotterdam, The Netherlands

V. Bonifati
Dipartimento di Scienze Neurologiche
Università “La Sapienza”, Roma, Italia

Le forme autosomico-dominanti

Gli studi di linkage in forme familiari di malattia di Parkinson (MP) hanno condotto alla identificazione di ben dieci forme rare monogeniche (Tabella 1), ed altre forme sono attese nel prossimo futuro. Il quadro che ne deriva è caratterizzato pertanto da una notevole eterogeneità eziologica [1, 2].

Mutazioni puntiformi nel gene α -synuclein causano una forma molto rara di malattia di Parkinson autosomica dominante ad elevata penetranza (PARK1), esordio precoce, decorso aggressivo, e presenza massiccia di corpi di Lewy sul piano istopatologico [3]. Questa scoperta è stata fondamentale per l'intero campo della neurodegenerazione, in quanto ha condotto alla identificazione della proteina α -synucleina come uno dei principali costituenti dei corpi di Lewy nella MP classica e nella demenza con corpi di Lewy [4], ma anche delle inclusioni gliali citoplasmatiche nella atrofia multisistemica, un gruppo di malattie oggi indicate collettivamente come “ α -synucleinopatie”. Studi recenti su animali transgenici (roditori e drosophila) hanno fornito ulteriore supporto alla tesi che anomalie nelle vie metaboliche della α -synucleina siano un fattore primario nella patogenesi della MP classica.

Una mutazione nel gene dell'ubiquitina idrolasi carbossi-terminale-L1 (UCH-L1, PARK5) è stata descritta in una singola famiglia con MP [5]. Nessuna altra mutazione patogena è stata finora identificata in altre famiglie, e la variante descritta potrebbe quindi essere un raro neutrale polimorfismo. Recenti studi funzionali sembrano tuttavia confermare un coinvolgimento della proteina UCH-L1 nella patogenesi della MP.

Recentemente due mutazioni nel promoter del gene NR4A2 (NURR1) sono state identificate in famiglie con MP e trasmissione di tipo dominante [6]. Tale gene codifica un fattore di trascrizione importante per la genesi ed il mantenimento dei neuroni dopaminergici e pertanto rap-

Tabella 1 Loci e geni associati alla malattia di Parkinson

Locus	Posizione	Gene	Pattern di trasmissione	Corpi di Lewy
PARK1	4q21-q23	<i>α-synuclein</i>	dominante - elevata penetranza	+
PARK3	2p13	sconosciuto	dominante - ridotta penetranza	+
PARK4	4p15	sconosciuto	dominante - elevata penetranza	+
PARK5	4p14	<i>UCH-L1</i>	dominante	?
PARK8	12p11-q13	sconosciuto	dominante - ridotta penetranza	-
.....	2q22-q23	<i>NR4A2</i>	dominante	?
PARK2	6q25-q27	<i>parkin</i>	recessivo	- (+)
PARK6	1p35-p36	sconosciuto	recessivo	?
PARK7	1p36	<i>DJ-1</i>	recessivo	?
PARK9	1p36	sconosciuto	recessivo	?
PARK10	1p32	sconosciuto	non-mendeliano	?
PARK11	2q36-q37	sconosciuto	non-mendeliano	?

presenta un candidato ideale per la MP. Le mutazioni identificate nella MP inducono una drastica riduzione nella espressione del gene. Ulteriori studi sono in corso per stabilire la frequenza di tali mutazioni nella MP e valutare le possibili interazioni con le altre proteine implicate nella patogenesi.

In altre forme rare autosomico dominanti della MP, i loci sono stati mappati (PARK3, PARK4), ma tali risultati di linkage non sono stati confermati in altre famiglie, ed i geni responsabili restano sconosciuti.

Un ultimo locus (PARK8) associato ad una forma autosomica dominante di MP è stato recentemente mappato in una famiglia giapponese con fenotipo simile al Parkinson classico (età media di esordio 51 anni), ma assenza di corpi di Lewy [7].

Le forme autosomico-recessive

Una prima forma autosomica recessiva della malattia di Parkinson (PARK2) è causata da mutazioni nel gene *parkin* [8]. Sul piano neuropatologico la malattia appare caratterizzata da perdita di neuroni e gliosi a livello della sostanza nera e del locus coeruleus, in genere con assenza di corpi di Lewy.

La "malattia della parkina" è caratterizzata da un parkinsonismo con esordio precoce (in media 30-35 anni), ottima risposta alla L-dopa, decorso lento, sviluppo di fluttuazioni motorie e discinesie da L-dopa [9]. Il quadro clinico diviene molto simile al classico Parkinson idiopatico nei casi con età di esordio dopo i 40 anni. Il gene *parkin* codifica per una proteina di 465 aminoacidi chiamata parkina, per la quale è stata dimostrata una attività enzimati-

ca di ubiquitina-ligasi [10]. Diversi interattori e substrati per l'attività ubiquitino-ligasica della parkina sono oggi conosciuti, tra cui un recettore del reticolo endoplasmatico (PAEL), la proteina synphilina-1 (che interagisce specificamente con la α -synucleina), una forma glicosilata della stessa α -synucleina (a-Sp22) specifica dell'encefalo, e la proteina cyclin-E (capace di attivare le vie apoptotiche). L'accumulo di questi (ed altri non ancora noti) substrati non-ubiquitilati nell'encefalo dei pazienti con mutazioni nel gene *parkin* è probabilmente alla base del processo neurodegenerativo in queste forme [11].

La presenza di α -synucleina, synphilina-1, e parkina nei corpi di Lewy ha fatto ipotizzare che l'ubiquitilazione della α -synucleina e/o synphilina-1 ad opera della parkina sia necessaria per la formazione dei corpi di Lewy stessi nelle forme classiche di Parkinson. Un difetto in questa via metabolica potrebbe spiegare pertanto l'assenza di corpi di Lewy nei pazienti con mutazioni della parkina.

Un'ampia serie di mutazioni distribuite lungo l'intero gene *parkin* è stata descritta. Per la loro frequenza (stimata intorno al 50% dei casi con familiarità di tipo recessivo ed esordio prima dei 45 anni) le mutazioni del gene *parkin* rappresentano una causa rilevante di parkinsonismo recessivo e la loro ricerca è ormai considerata nell'iter diagnostico dei casi con esordio giovanile.

Tre nuovi loci (PARK6, PARK7, PARK9) associati a forme autosomiche recessive della malattia di Parkinson sono stati mappati sul braccio corto del cromosoma 1.

Recentemente il gene responsabile del PARK7, *DJ-1*, è stato clonato e due diverse mutazioni sono state identificate: una delezione di 14 kb che rimuove gran parte del gene in una famiglia olandese, ed una mutazione *missense* (L166P) in una famiglia italiana [12]. Studi sono in corso per valutare la frequenza delle mutazioni del *DJ-1* nella

MP. La funzione della proteina codificata dal gene *DJ-1* è sconosciuta, ma studi sul gene omologo del *DJ-1* in organismi unicellulari e studi *in vitro* fanno ipotizzare un ruolo del DJ-1 nella risposta allo stress ossidativo e/o come chaperon molecolare. Ulteriori studi sono ora necessari per chiarire la esatta funzione del DJ-1 e per esplorare le sue possibili interazioni con le altre proteine implicate nella patogenesi della MP (come α -synucleina e parkina).

Per le nuove forme recessive non sono ancora disponibili dati autoptici.

Il gene responsabile nel locus PARK6 rimane sconosciuto, ma recenti studi hanno confermato il linkage in altre famiglie europee, suggerendo che il PARK6 sia implicato in un numero rilevante di forme recessive [13].

Nelle famiglie legate al PARK6 ed in quelle con mutazioni del *DJ-1* il fenotipo clinico è simile alla malattia della parkina per l'esordio precoce (in genere prima dei 40 anni), la buona risposta alla terapia con L-dopa, e la lenta progressione. Il locus PARK9 è stato mappato in una singola famiglia giordana con una forma neurodegenerativa caratterizzata da esordio molto giovanile, parkinsonismo L-dopa-sensibile, segni piramidali, oftalmoparesi e disturbi cognitivi (sindrome di Kufor-Rakeb) [14]. Sebbene clinicamente distante dalla MP e simile alle sindromi pallido-piramidali, a questo locus è stato assegnato il nome PARK9. Il gene responsabile resta sconosciuto.

Verso uno scenario patogenetico unitario?

In che modo le alterazioni nel metabolismo della α -synucleina possano indurre neurodegenerazione rimane da chiarire, ma diverse ipotesi sono state proposte nei recenti studi di biologia molecolare [1, 2]. È noto che la α -synucleina ha una naturale tendenza a formare oligomeri solubili (chiamati anche protofibrille). Gli oligomeri possono inoltre formare aggregati di maggior peso molecolare che divengono insolubili, subiscono ulteriori modificazioni chimico-fisiche, e si ritrovano infine come filamenti nei corpi di Lewy.

L'idea oggi prevalente è che gli oligomeri solubili di α -synucleina siano la vera specie neurotossica, in quanto una proprietà comune ad entrambe le mutazioni (A53T, A30P) trovate nel gene α -synucleina in rare famiglie con PARK1 è proprio l'incremento della formazione di oligomeri. È inoltre noto che i metalli pesanti, o lo stress ossidativo sono anche in grado di incrementare la formazione di oligomeri. I meccanismi con cui gli oligomeri potrebbero indurre neurotossicità sono molteplici, ed includono: un effetto tossico diretto sui mitocondri; un'inibizione del proteasoma; la formazione di strutture simili a pori in grado di danneggiare le vescicole sinaptiche. Nel caso del neurone dopaminergico, la liberazione di dopamina nel citosol presinaptico risulta tossica in quanto incre-

menta lo stress ossidativo. Inoltre la dopamina citosolica può formare addotti con la stessa α -synucleina, e tali addotti sono in grado di stabilizzare gli oligomeri di α -synucleina, inibendo la formazione di aggregati superiori, e creando in tal modo un circolo vizioso che conduce ad ulteriore stress ossidativo, accumulo di proteine "misfolded", danno mitocondriale ed infine morte cellulare. Questa specifica interazione tra α -synucleina e dopamina potrebbe spiegare almeno in parte la relativa selettività per i neuroni dopaminergici del processo neurodegenerativo che caratterizza la MP.

In questo scenario risulta molto dibattuto il ruolo degli aggregati insolubili di α -synucleina, contenuti nei corpi di Lewy. Se infatti gli oligomeri di α -synucleina sono la vera specie neurotossica, la formazione dei corpi di Lewy potrebbe rappresentare una reazione difensiva cellulare nel tentativo di sequestrare le specie tossiche in forme inerti insolubili. D'altra parte, i corpi di Lewy contengono molte proteine tra cui chaperons molecolari, ed il sequestro di tali proteine o di altri metaboliti essenziali potrebbe risultare dannoso per la cellula.

La disregolazione dei livelli e/o della conformazione di proteine "critiche" come α -synucleina od altre proteine tutt'ora sconosciute va delineandosi come tema centrale nella patogenesi della malattia.

In questo scenario, la parkina con la sua attività ubiquitino-ligasica potrebbe giocare un ruolo chiave attraverso due possibili vie cito-protettive: in primo luogo, ubiquitilando i substrati tossici (come α -synucleina o PAEL) ed indirizzandoli verso la degradazione proteasomica; inoltre, in condizioni di insufficienza del proteasoma, permettendo il sequestro dei substrati ubiquitilati sotto forma di strutture insolubili (corpi di Lewy).

Una diversa azione cito-protettiva contro l'accumulo di proteine tossiche e/o *misfolded*, è mediata dai cosiddetti *chaperons molecolari*, in grado di ripristinare la corretta conformazione di proteine *misfolded*, prima della loro ubiquitilazione/degradazione. Lo stress ossidativo causa a sua volta il *misfolding* delle proteine, attivando il sistema degli *chaperons*. I vari sistemi implicati nella patogenesi della MP appaiono quindi strettamente interconnessi ed è ancora difficile distinguere gli eventi primari da quelli secondari e dalle vie finali comuni.

Sulla base di questo modello patogenetico, e delle evidenze dirette di stress ossidativo e *misfolding* proteico nella MP, risulta interessante il possibile ruolo del DJ-1 come antiossidante e/o come *chaperon* molecolare.

Genetica delle forme non-mendeliane

Parallelamente alla proliferazione delle forme monogeniche di parkinsonismo, si comincia a disporre di una notevole massa di dati da scansioni genomiche nelle forme comuni,

non-mendeliane della malattia. Tali studi utilizzano famiglie con coppie di casi di MP in germani o altri parenti, oppure pazienti sporadici ma appartenenti a popolazioni geneticamente isolate. Sei di tali studi sono stati recentemente pubblicati ed altri sono in fase finale di analisi. Questi studi hanno già condotto all'identificazione di due nuovi loci sul cromosoma 1p32 in famiglie islandesi con MP (PARK10), e recentemente sul cromosoma 2q36-q37 in coppie di fratelli statunitensi affetti da MP (PARK11) [15, 16].

Ulteriori studi sono ora necessari per confermare/rifinire tali risultati, al fine di individuare i fattori di rischio e/o "modifier" genetici per la MP classica.

I maggiori progressi sono venuti fin'ora dall'analisi delle forme mendeliane della MP, ma è prevedibile che nei prossimi anni gli studi genomici saranno sempre più incentrati sulle forme comuni, non-mendeliane della malattia. Proprio dall'integrazione dei risultati di diversi approcci genetici nelle forme mendeliane e non-mendeliane potrà venire un ulteriore progresso nella comprensione della complessa patogenesi della MP.

Bibliografia

1. Dawson TM, Dawson VL (2003) Rare genetic mutations shed light on the pathogenesis of Parkinson disease. *J Clin Invest* 111:145–151 [review]
2. Dekker MCJ, Bonifati V, van Duijn CM (2003) Parkinson's disease: piecing together a genetic jigsaw. *Brain (in press)* [review]
3. Polymeropoulos MH, Lavedan C, Leroy E et al (1997) Mutation in the α -synuclein gene identified in families with Parkinson's disease. *Science* 276:2045–2047
4. Spillantini MG, Schmidt ML, Lee VM et al (1997) Alpha-synuclein in Lewy bodies. *Nature* 388:839–840
5. Leroy E, Boyer R, Auburger G et al (1998) The ubiquitin pathway in Parkinson's disease. *Nature* 395:451–452
6. Le WD, Xu P, Jankovic J et al (2003) Mutations in NR4A2 associated with familial Parkinson disease. *Nat Genet* 33:85–89
7. Funayama M, Hasegawa K, Kowa H et al (2002) A new locus for Parkinson's disease (PARK8) maps to chromosome 12p11.2-q13.1. *Ann Neurol* 51:296–301
8. Kitada T, Asakawa S, Hattori N et al (1998) Mutations in the parkin gene cause autosomal recessive juvenile parkinsonism. *Nature* 392:605–608
9. Lucking CB, Durr A, Bonifati V et al (2000) Association between early-onset Parkinson's disease and mutations in the parkin gene. *N Engl J Med* 342:1560–1567
10. Shimura H, Hattori N, Kubo S et al (2000) Familial Parkinson disease gene product, parkin, is a ubiquitin-protein ligase. *Nat Genet* 25:302–305
11. Feany MB, Pallanck LJ (2003) Parkin - A multipurpose neuroprotective agent? *Neuron* 38:13–16 [review]
12. Bonifati V, Rizzu P, van Baren MJ et al (2003) Mutations in the DJ-1 gene associated with autosomal recessive early-onset parkinsonism. *Science* 299:256–259
13. Valente EM, Brancati F, Ferraris A et al (2002) PARK6-linked parkinsonism occurs in several European families. *Ann Neurol* 51:14–18
14. Hampshire DJ, Roberts E, Crow Y et al (2001) Kufor-Rakeb syndrome, pallido-pyramidal degeneration with supranuclear upgaze paresis and dementia, maps to 1p36. *J Med Genet* 38:680–682
15. Hicks AA, Petursson H, Jonsson T et al (2002) A susceptibility gene for late-onset idiopathic Parkinson's disease. *Ann Neurol* 52:549–555
16. Pankratz N, Nichols WC, Uniacke SK et al (2003) Significant Linkage of Parkinson Disease to Chromosome 2q36–37. *Am J Hum Genet* 72:1053–1057