



Болезнь Паркинсона:

д.б.н. Шадрина Мария Игоревна





Болезнь Паркинсона - хроническое
нейродегенеративное заболевание, связанное с
нарушением деятельности базальных
ганглиев головного мозга

*Впервые описано в 1817 году английским
врачом Джеймсом Паркинсоном в статье «Эссе
о дрожательном параличе»*

*Но - описания аналогичного заболевания
есть в «Аюрведе» и в китайском
медицинском трактате «Nei Jing»*



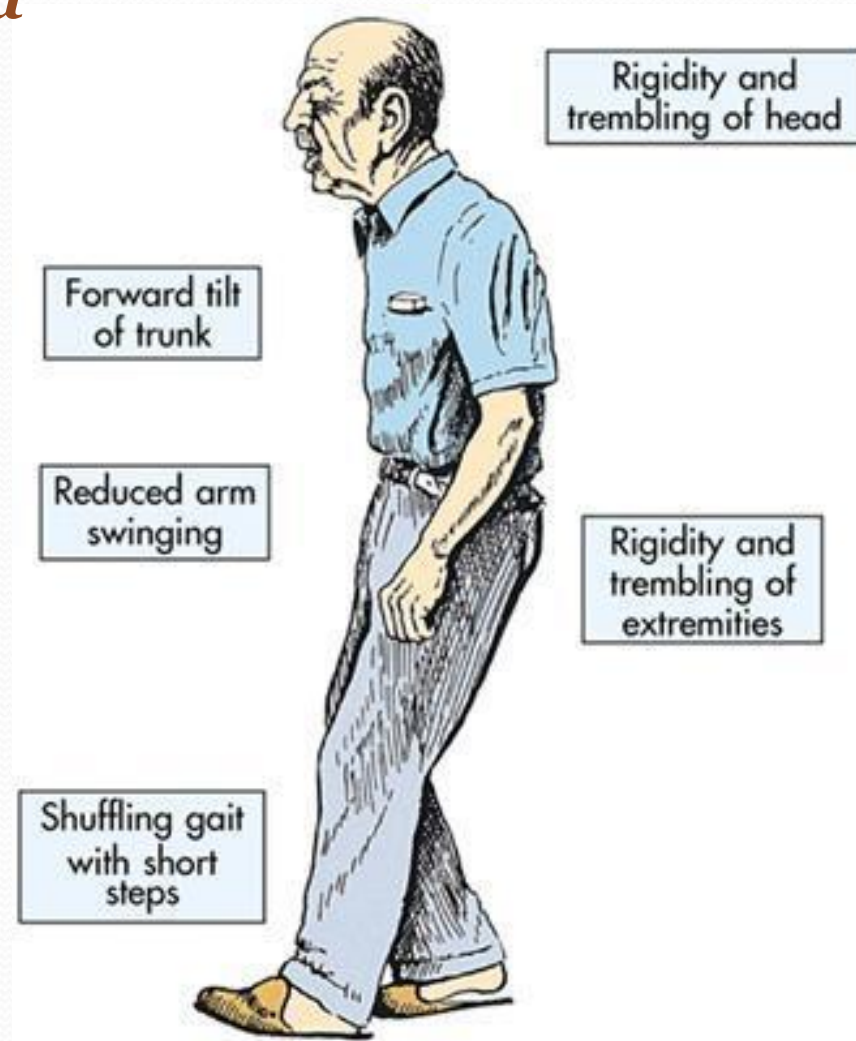
«ДОРОЖНАЯ КАРТА» ПРИ БОЛЕЗНИ ПАРКИНСОНА

Главные клинические проявления при болезни Паркинсона

Классическая тетрада моторных признаков

- **гипокинезия** (брадикинезия и олигокинезия);
- **мышечная ригидность** (повышение тонуса скелетных мышц по пластическому типу);
- **тремор покоя** (голова, губы, подбородок, конечности);
- **постуральная неустойчивость** (неспособность удерживать равновесие при изменении позы, шаркающая походка и поза просителя).

Немоторные симптомы
(когнитивные нарушения,
психотические явления, депрессия,
нарушения сна и др.)



Эпидемиология болезни Паркинсона

- В мире в целом насчитывается около 6 миллионов пациентов с болезнью Паркинсона
- В России, по разным (и, скорее всего, неполным) данным, насчитывается от 117000 до 338000 больных БП
- Второе по частоте встречаемости нейродегенеративное заболевание (после болезни Альцгеймера)
- Этнические отличия в частоте заболевания (от 15\100000 в Китае до 100-250\100000 в Европе и США до 600\100000 в Аргентине)
- В среднем в Европе идиопатическим паркинсонизмом страдает не менее 1% лиц в возрасте старше 50 лет и 2-4% лиц с возрасте старше 65 лет
- Мужчины и женщины болеют с одинаковой частотой
- Ожидается, что в следующие 50 лет число пациентов будет расти за счет повышения продолжительности жизни и «омоложения» заболевания
- Но старение само по себе - не причина болезни Паркинсона



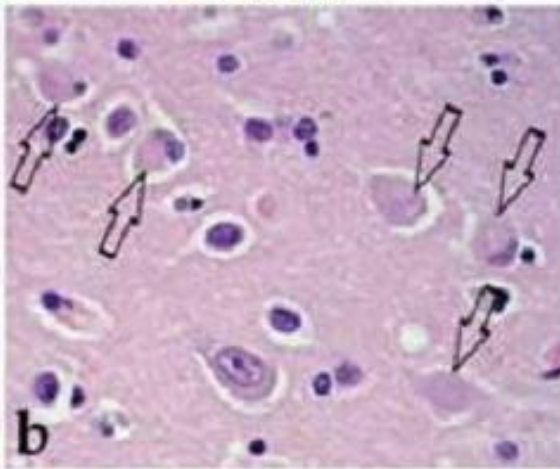
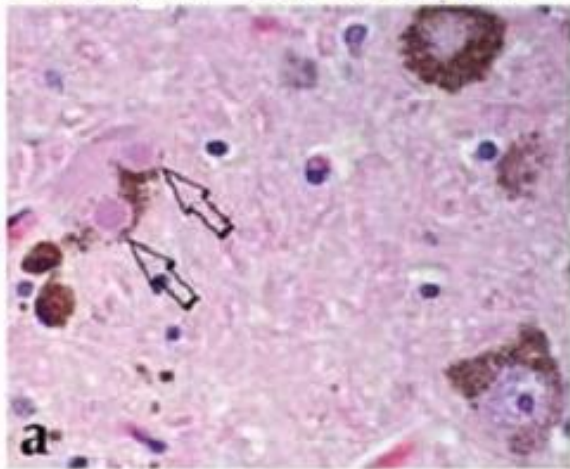
«ДОРОЖНАЯ КАРТА» ПРИ БОЛЕЗНИ ПАРКИНСОНА

ТЕЛЬЦА ЛЕВИ

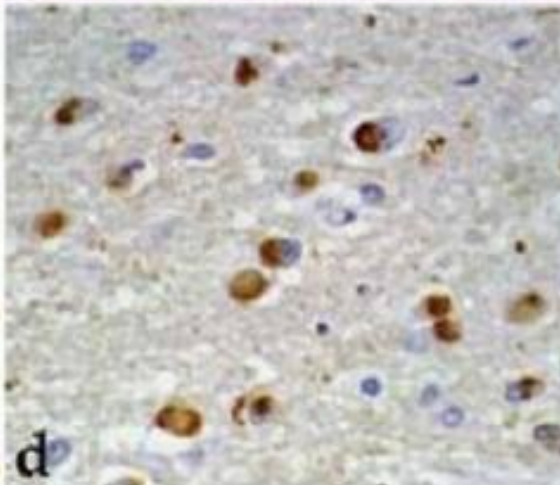
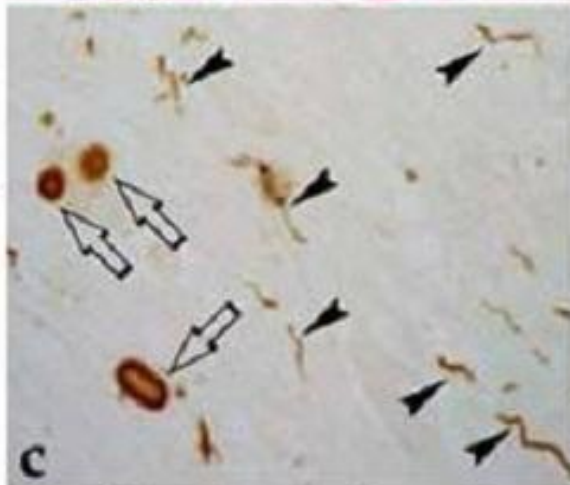
в стволе мозга при БП

в коре

ГЭ



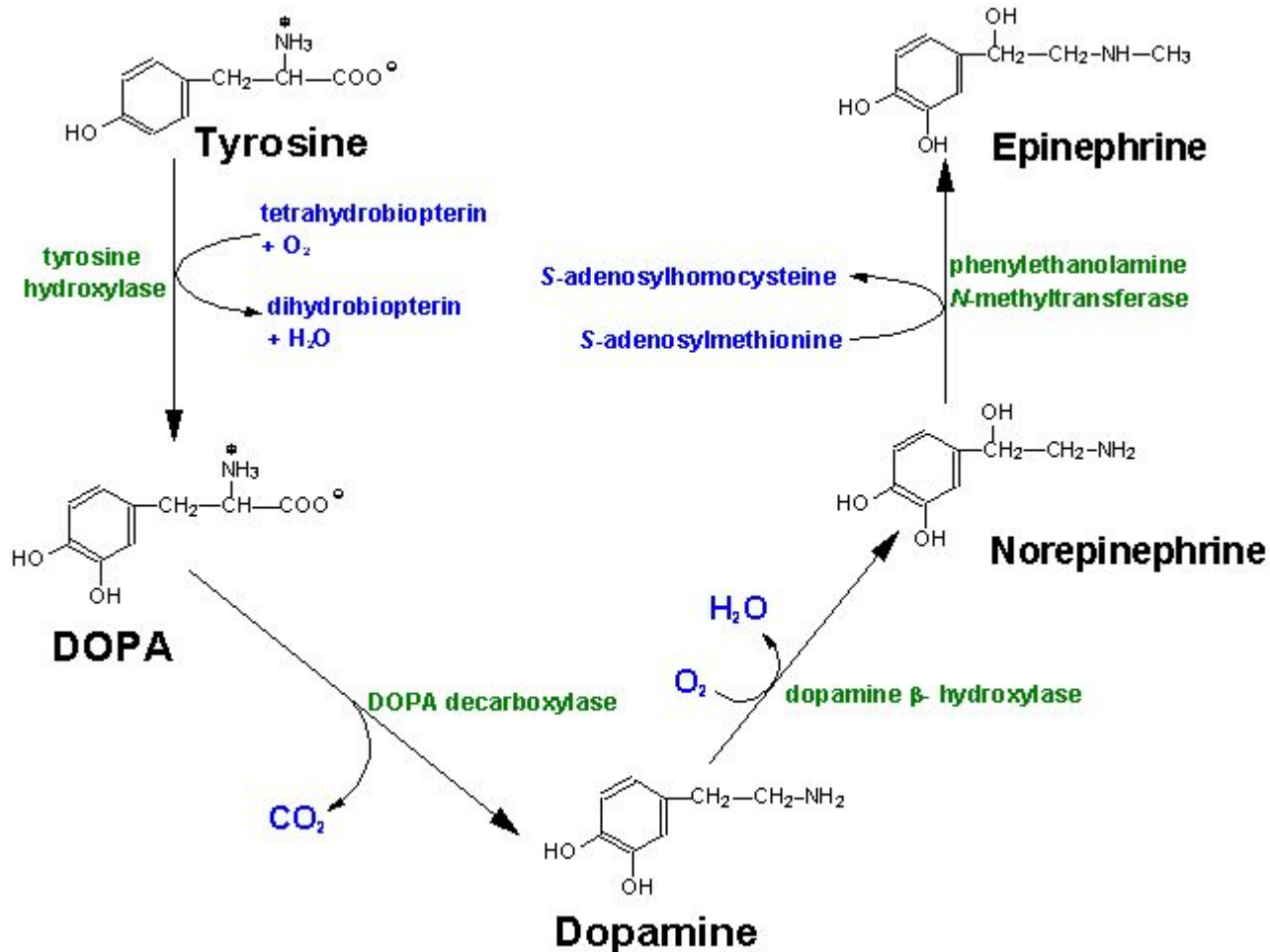
SNCA



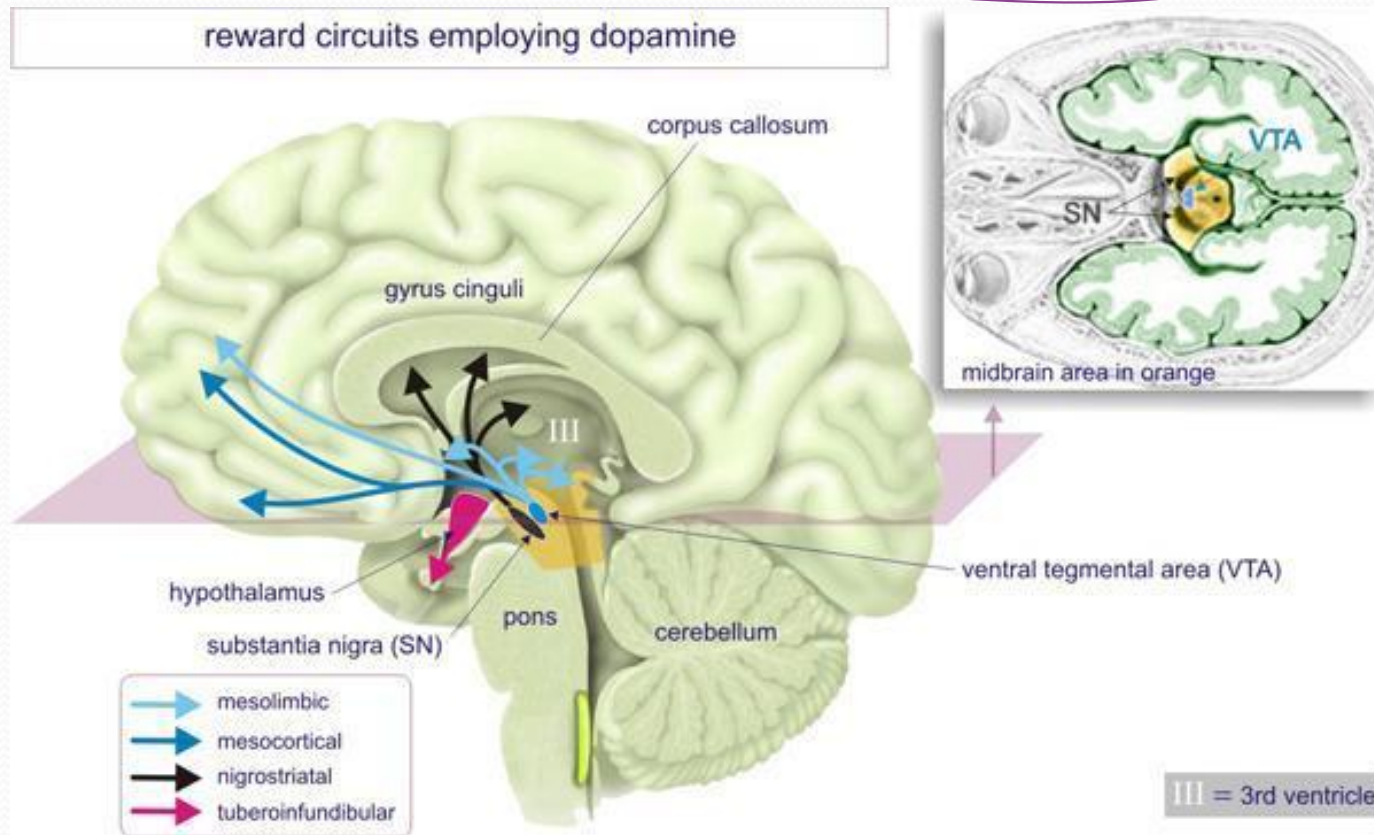
Тельца Леви - главная гистопатологическая характеристика БП. Главный компонент - альфа-синуклеин, кроме него в состав телец входит более 10 белков

НО:

Далеко не всегда у пациентов с БП при аутопсии находят тельца Леви; Тельца Леви находят не только при БП



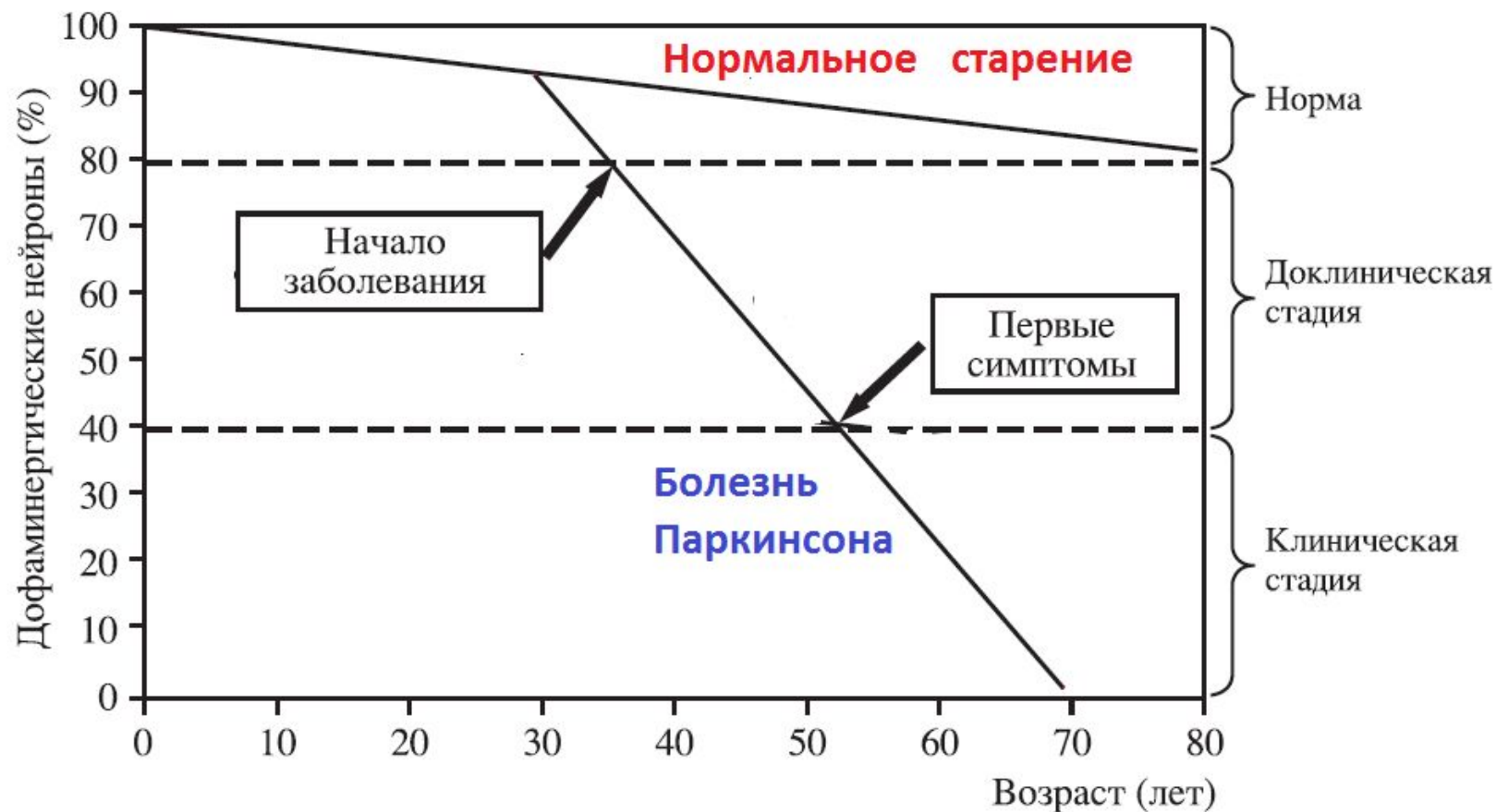
При БП из-за гибели ДА-ергических нейронов в SN происходит снижение уровня дофамина в черной субстанции и стриатуме



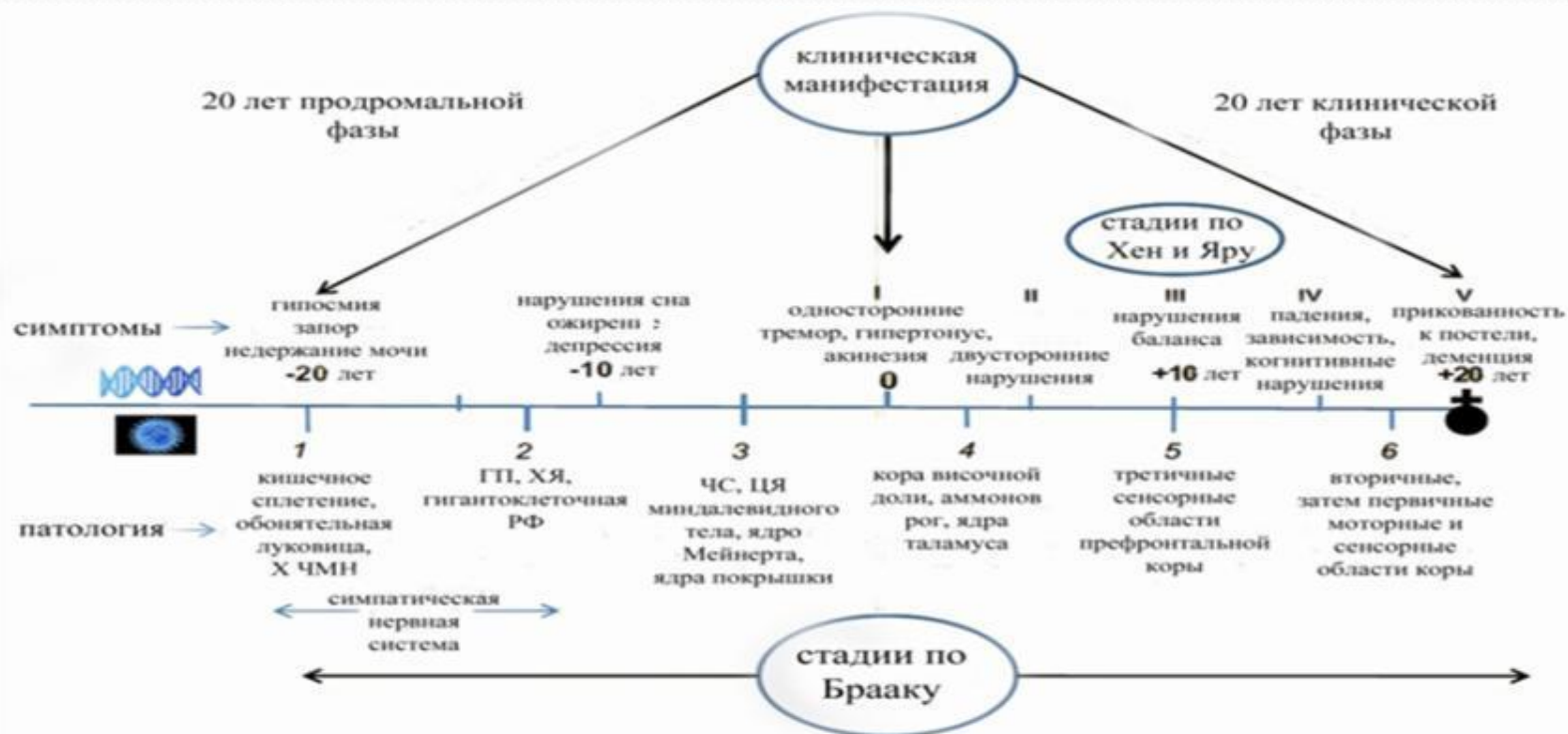
Нигростриатная ДА система контролирует активность ГАМК и глутаматергических синапсов неостриатума, которые в свою очередь активируют таламокортикальные сети и регулируют моторное поведение.

При болезни Паркинсона тельца Леви в первую очередь наблюдаются в области черной субстанции - где они связаны с дегенерацией дофаминергических нейронов

Но процесс дегенерации не ограничивается ДА-ергическими нейронами в SN и других отделах мозга и распространяется со временем на НА-ергические нейроны в голубом пятне ствола мозга и НТ-ергические нейроны ядра шва, а также на нейроны периферической нервной системы в сердце, ЖКТ и других внутренних органах



Считается, что характерные для БП клинические признаки проявляются при гибели приблизительно 60% дофаминергических нейронов компактной части черной субстанции и 80%-ном снижении уровня дофамина в полосатом теле.



X ЧМН – моторный компонент 10-го черепно-мозгового нерва, ГП – голубое пятно, ХЯ – хвостатое ядро, РФ – ретикулярная формация, ЧС – чёрная субстанция, ЦЯ – центральное ядро.

Стадии развития болезни Паркинсона по Хену и Яру (сверху) и по Брааку (снизу)



«ДОРОЖНАЯ КАРТА» ПРИ БОЛЕЗНИ ПАРКИНСОНА

В большинстве случаев болезнь Паркинсона носит спорадический характер и обусловлена взаимодействием генетической конституции организма и факторов внешней среды

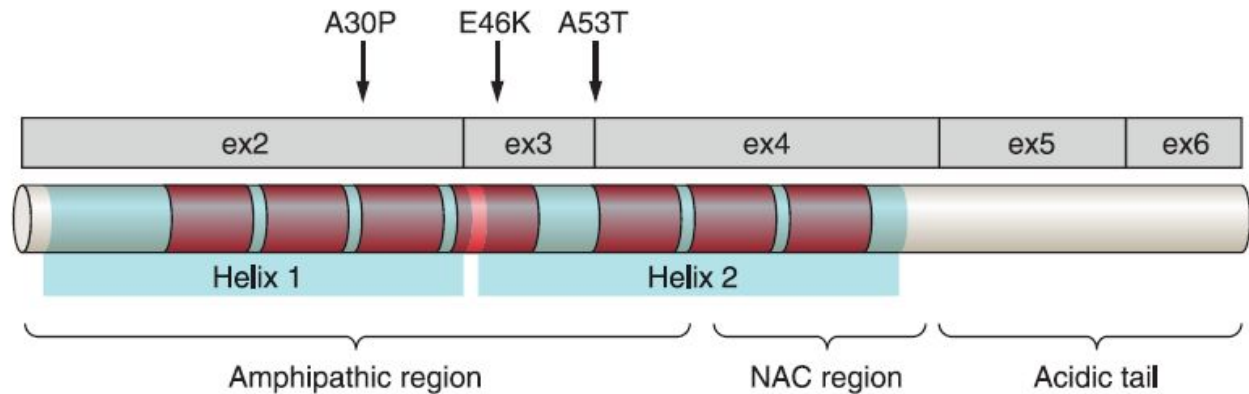
Семейные моногенные формы составляют не более 10-15% всех случаев заболевания - но именно они стали ключом к пониманию этиопатогенеза болезни Паркинсона

Факторы среды в патогенезе болезни Паркинсона

- Риск развития заболевания повышен при:
проживании в сельской местности;
употреблении сырой воды;
работе в сельском хозяйстве;
Скорее всего это эффект пестицидов и гербицидов
- Риск развития заболевания снижен у
 - курильщиков
 - кофеманов и чаеманов

Первый ген болезни Паркинсона - ген **SNCA** (*Polymeropoulos et al, 1967*)

Точковые мутации



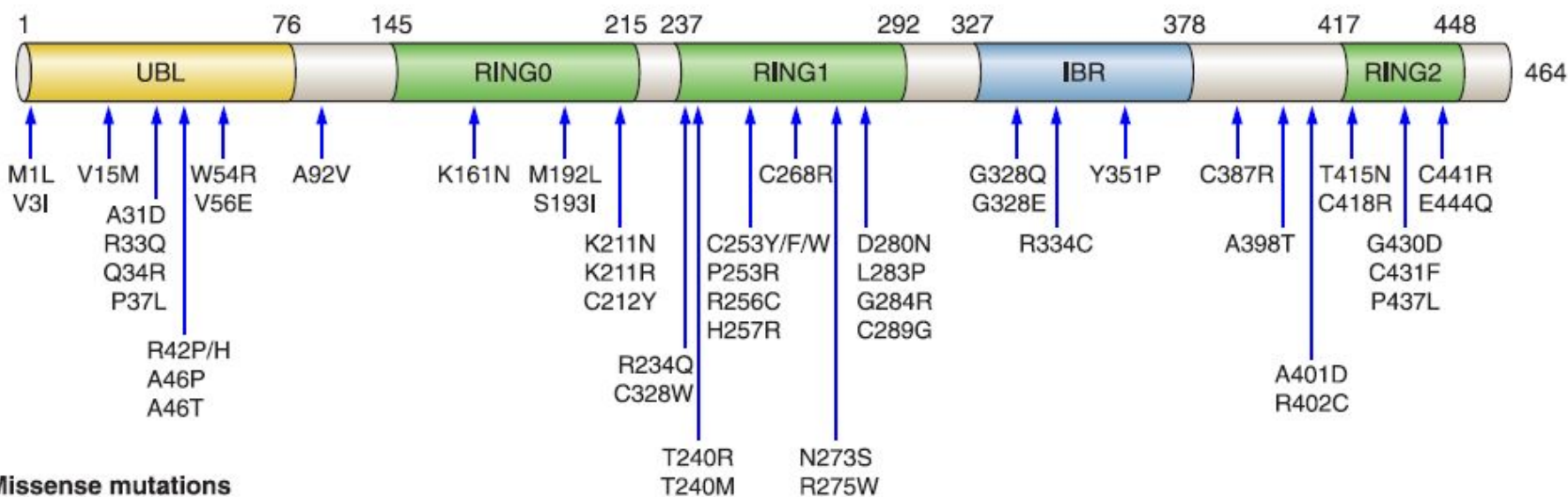
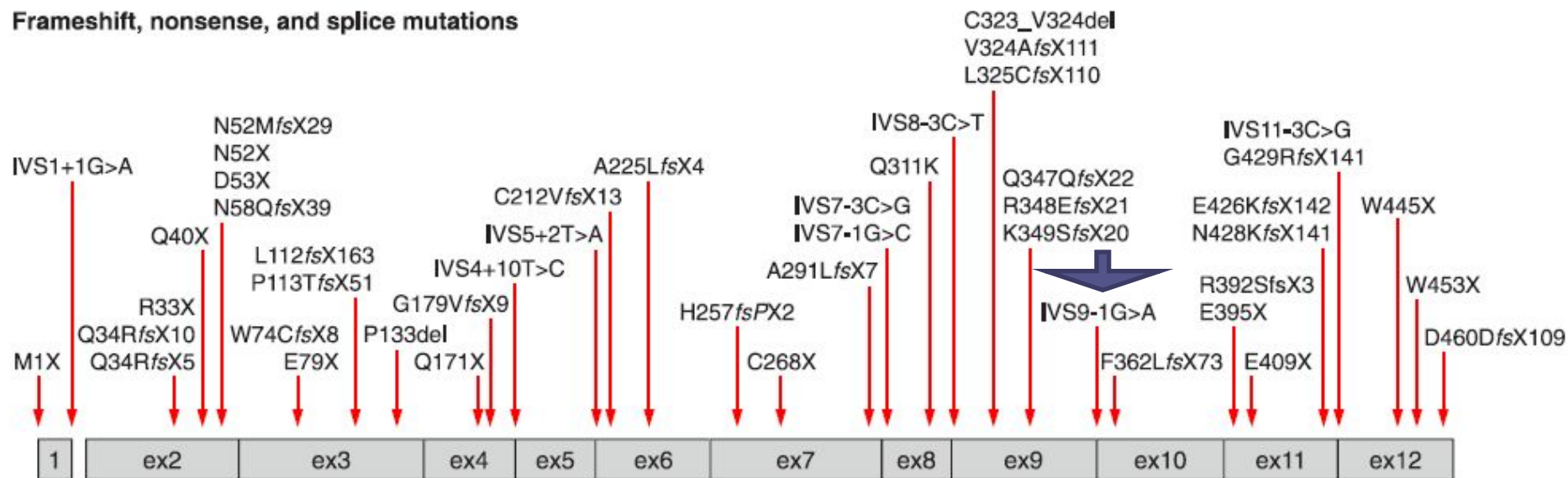
Геномные дупликации и трипликации



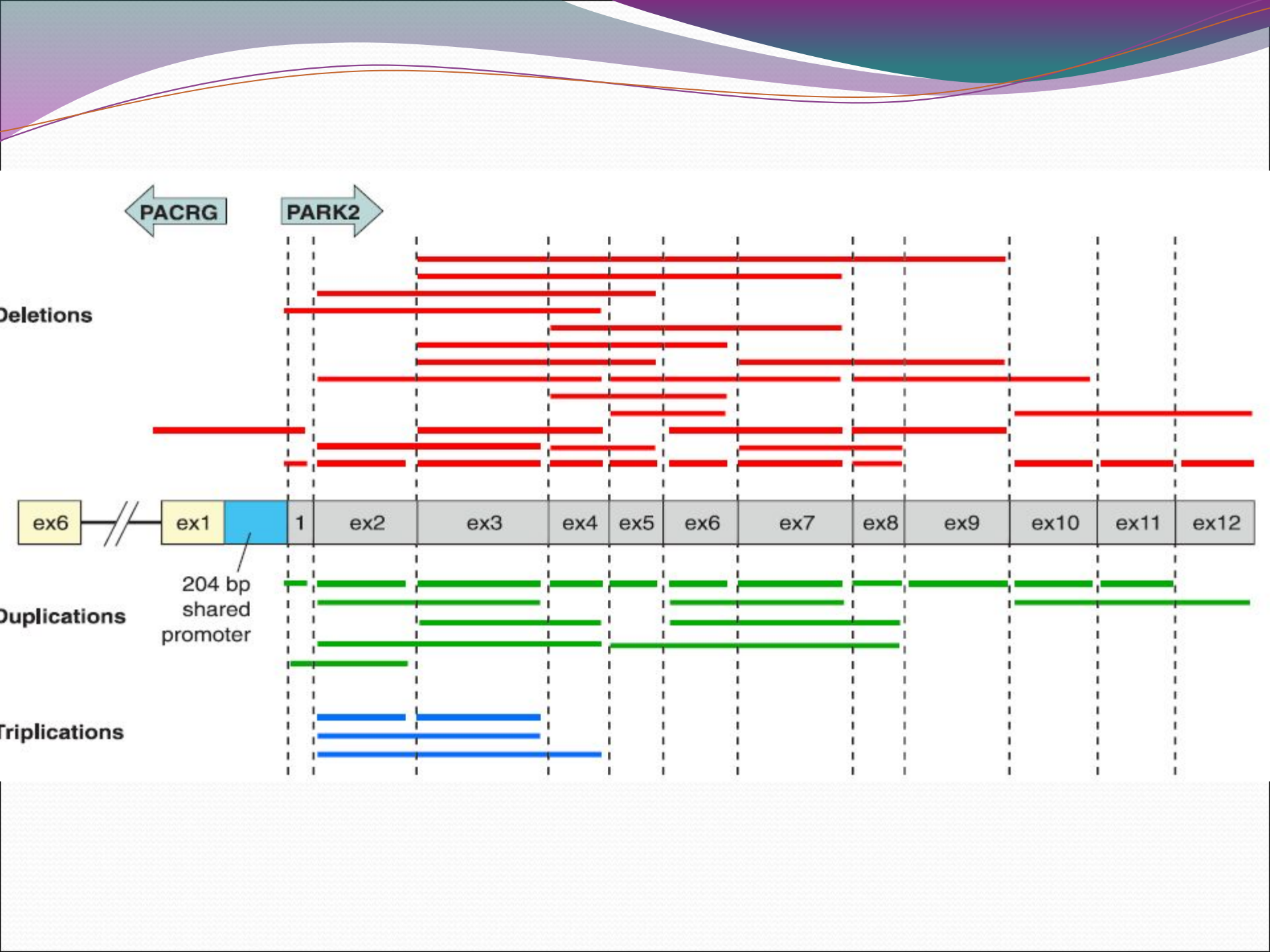
Только мутация A53T найдена более чем в одной семье
Дупликации и трипликации - примерно 2% всех
семейных случаев БП

Ген паркина PARK2 - главный ген АР формы болезни Паркинсона

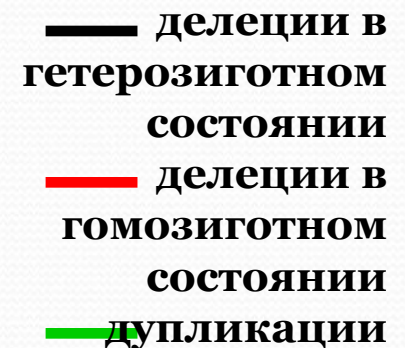
Frameshift, nonsense, and splice mutations



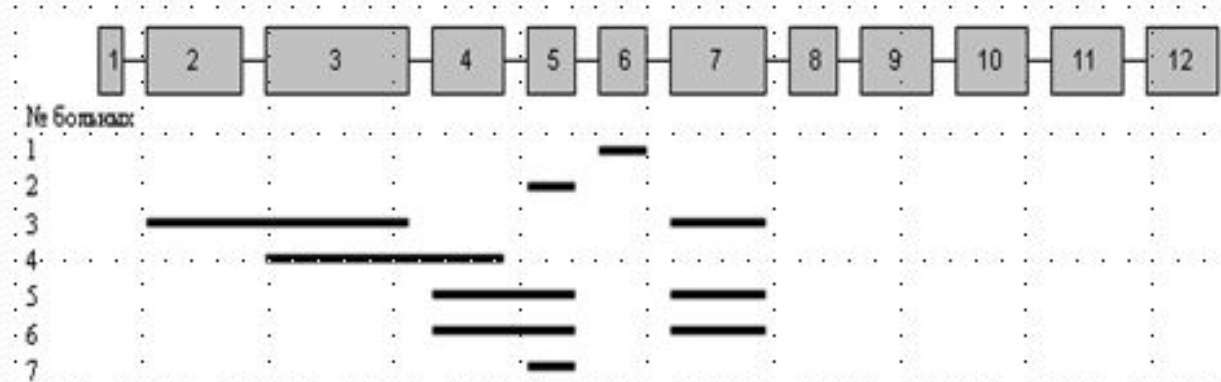
Missense mutations



A



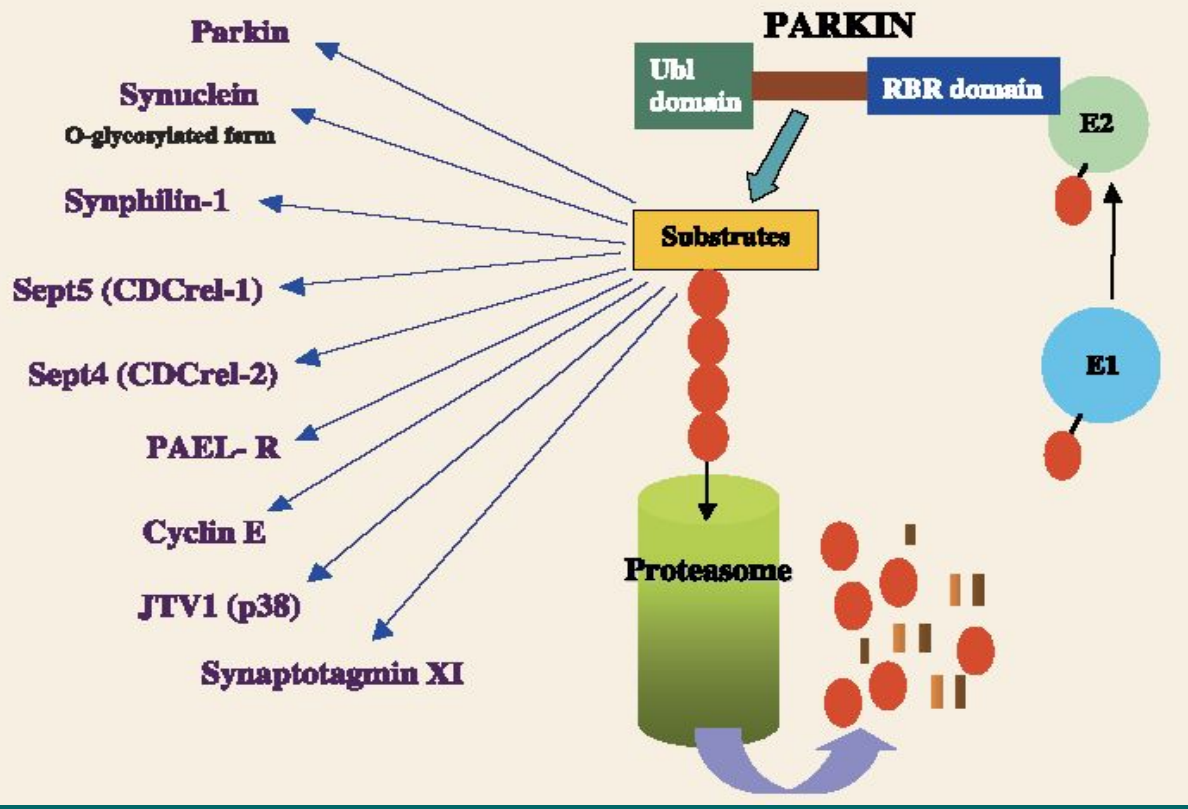
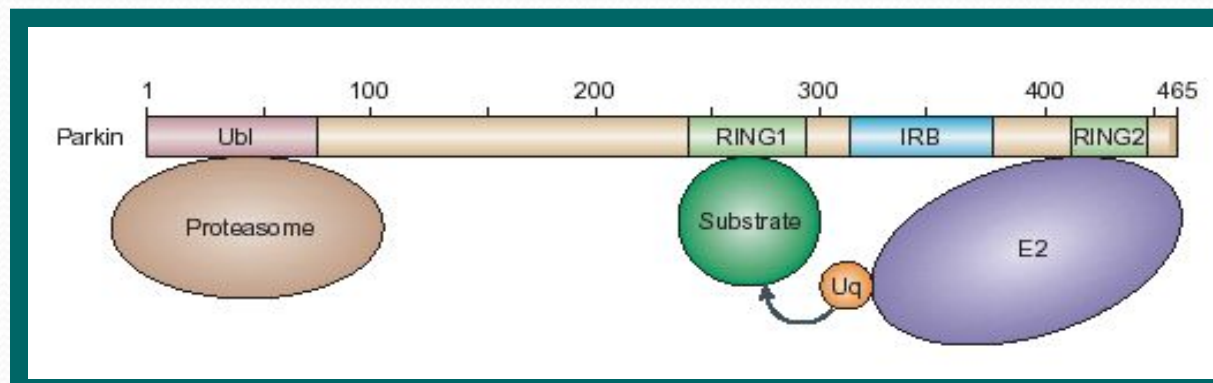
Б



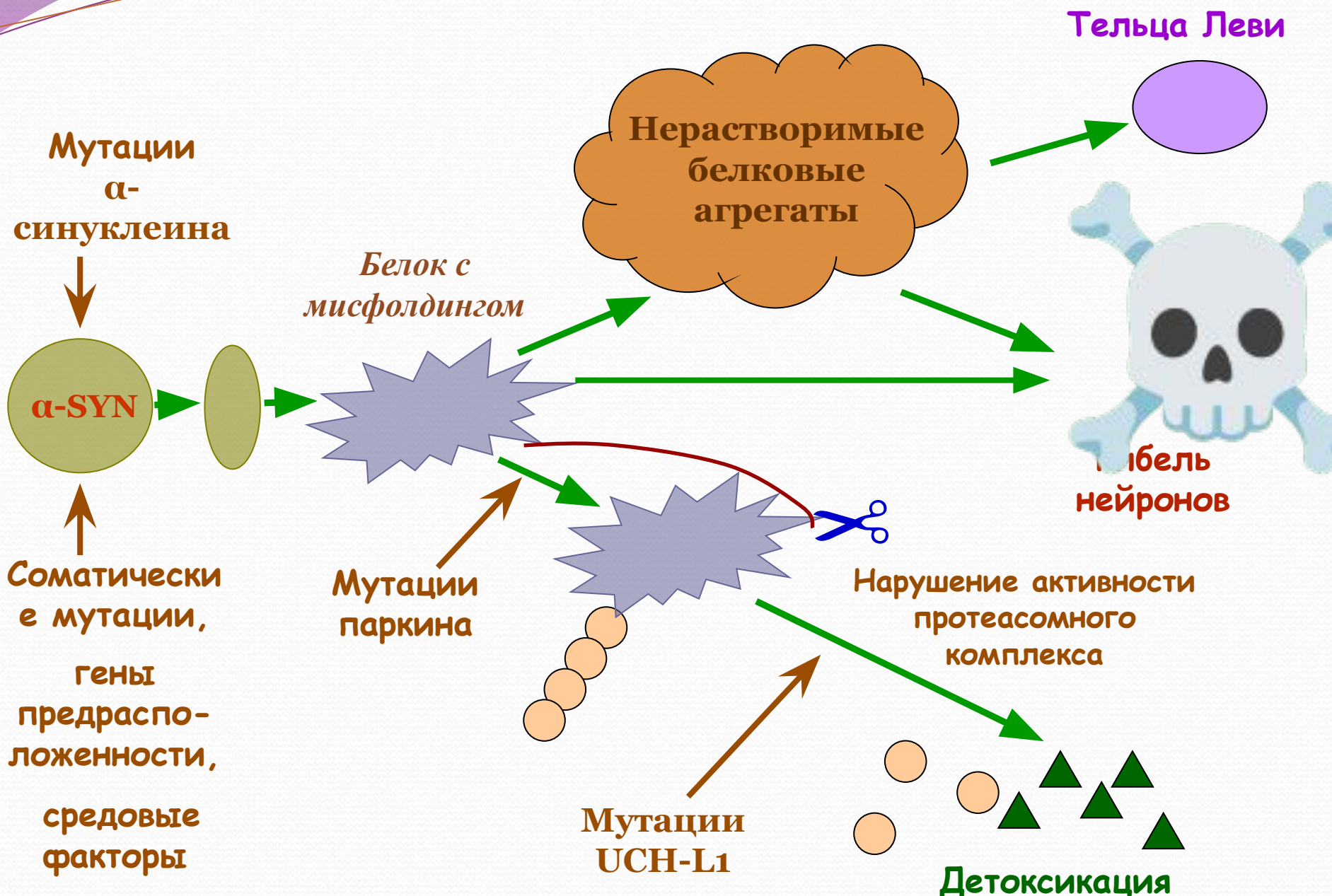
Относительный шанс развития болезни Паркинсона у носителей делеций и дупликаций экзонов гена *PARK2* из России.

	Наличие делеций и дупликаций (N(%))	Отсутствие делеций и дупликаций (N(%))	Отношение шансов (95% ДИ)	P value
Общая выборка спорадических больных	28 (7,9%)	325 (92,1%)	8,53 (1,14-63,52)	0,0095
Группа больных с ранним началом развития	21 (12,4%)	149 (87,6%)	13,95 (1,85-105,96)	0,0004
Группа больных с поздним началом развития	7 (3,8%)	176 (96,2%)	3,94 (0,48-32,48)	0,27
Популяционная выборка	1 (1%)	99 (99%)	-	-

- Идентифицирован в 1997 г. (Tohru, et. al., *Nature*)
- 12 экзонов, 465 АА
- Е3 убиквитин лигаза



Непосредственной функцией паркина является перенос убиквитина с убиквитин-конъюгирующего фермента (E2) на специфичные субстраты.



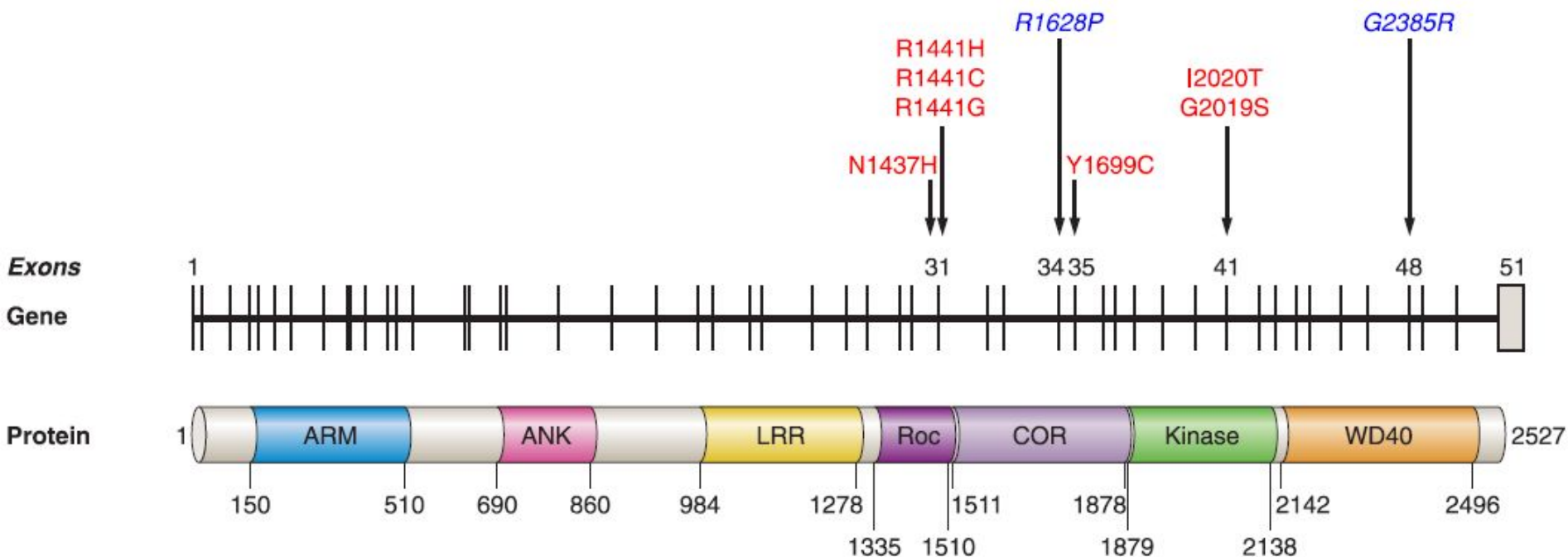


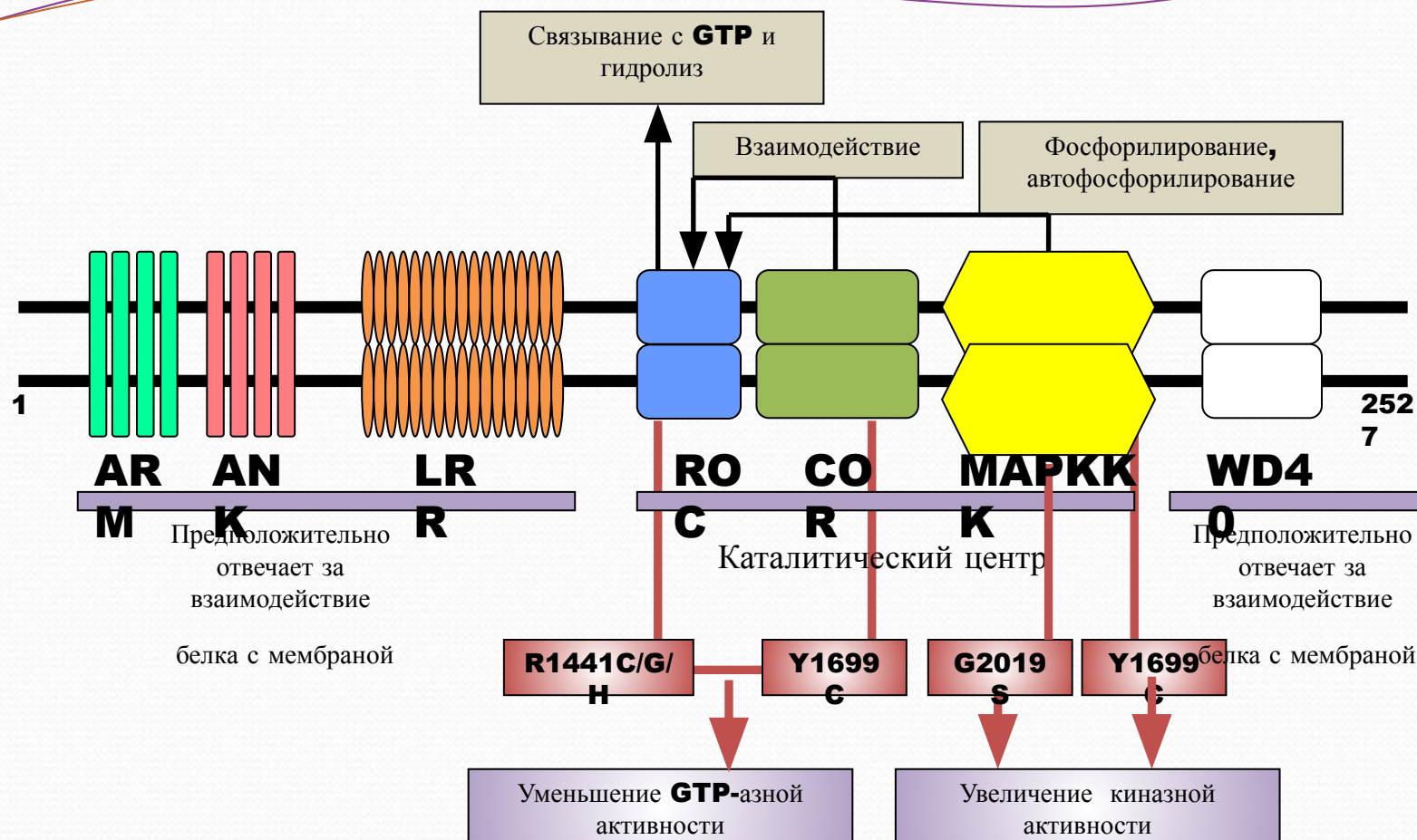
«ДОРОЖНАЯ КАРТА» ПРИ БОЛЕЗНИ ПАРКИНСОНА

Генетические причины развития БП

Локус	Хромосома	Ген/белок	Характер наследования	Возможная функция
PARK1, PARK4	4q21	SNCA/α-синуклеин	АД	Пресинаптический белок, компонент телец Леви
PARK2	6q25-q27	PARK2/паркин	АР	Убиквитин Е3 лигаза
PARK5	4p14	UCH-L1	АД	Убиквитин карбоксигидролаза 1
PARK6	1p35-p36	PINK1	АР	PTEN-индуцируемая протеин киназа
PARK7	1p36	DJ-1	АР	Шаперон, антиоксидант
PARK8	12q12	LRRK2/дардарин	АД	Киназа, смешанного происхождения или дардарин
PARK9	1p36	ATP13A2	АР	Лизосомная АТФаза
PARK3	2p13	SPR	АД	Катализирует НАДФ-зависимое восстановление
PARK10	1p32	UPS24	Не известен	Участвует в убиквитин зависимой протеосомной деградации
PARK11	2q36-q37	GIGYF2/PERQ	АД	Участвует в передаче сигнала рецептора тирозин киназы
PARK12	Xq21-q25	не известен	Не известен	Не известна
PARK13	2p12	HTRA2/Omi	Не известен	Митохондриальная сериновая протеаза
PARK14	22q13.1	PLA2G6	АР	Катализирует отщепление жирных кислот от фосфолипидов
PARK15	22q12-q13	FBX07	АР	Участвует в убиквитин зависимой протеосомной деградации
Не присвоен	2q22-q23	NR4A2/Nurr 1	Не известен	Транскрипционный фактор
Не присвоен	5q23.1-q23.3	SNCAIP/Синфилин- 1	Не известен	Взаимодействует с α-синуклеином, является компонентом телец Леви
Не присвоен	15q.25	POCG	АД, АР	ДНК полимеразы γ , кодируемая ядерным геном

Ген киназы с лейцин богатыми повторами *LRRK2* - основной ген АД формы болезни Паркинсона





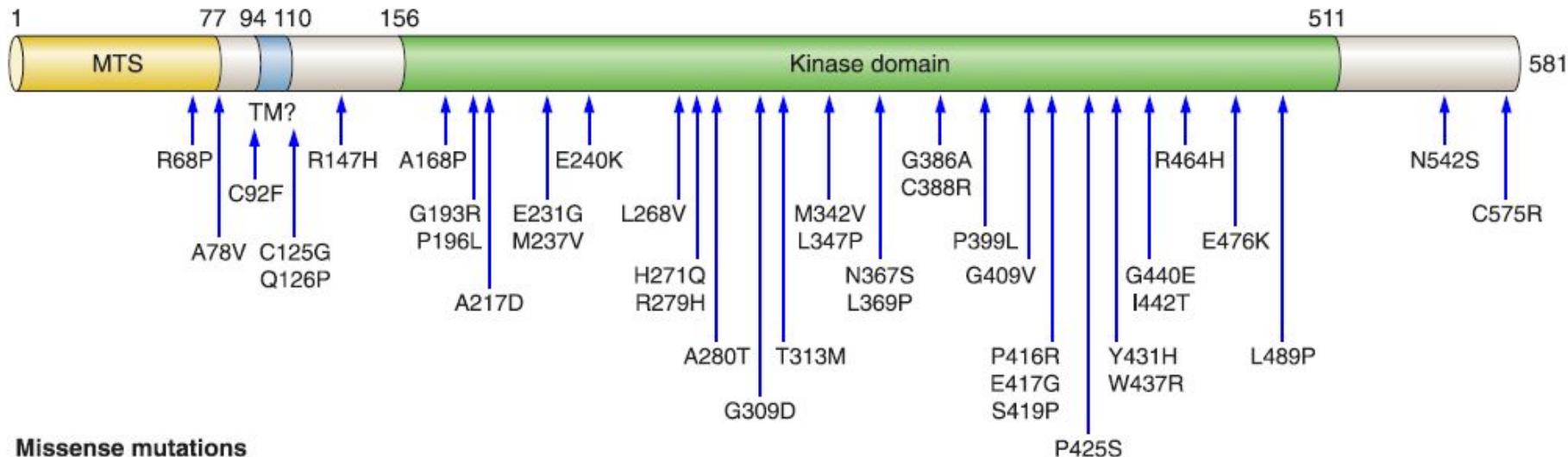
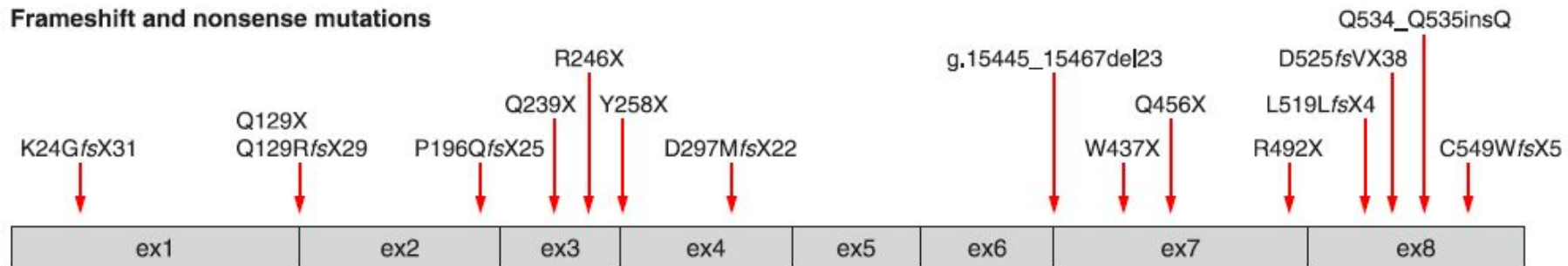
Мультфункциональная серин-треонин киназа, может принимать участие в контроле за обменом синаптических везикул, росте и ветвлении аксонов и функционировании аппарата Гольджи, лизосом и митохондрий

Еще одна серин-треонин киназа с митохондриальной локализацией - *PINK1*

Deletions



Frameshift and nonsense mutations



Missense mutations

Ген DJ-1

Индукцируемый оксидантным стрессом молекулярный шаперон ThiJ/Pfp1 семейства
Окисление остатка Cys-106 с образованием сульфоновой кислоты ведет к транслокации DJ-1 в митохондрии
Непрямым образом регулирует уровень глутатиона в клетке

Rearrangements

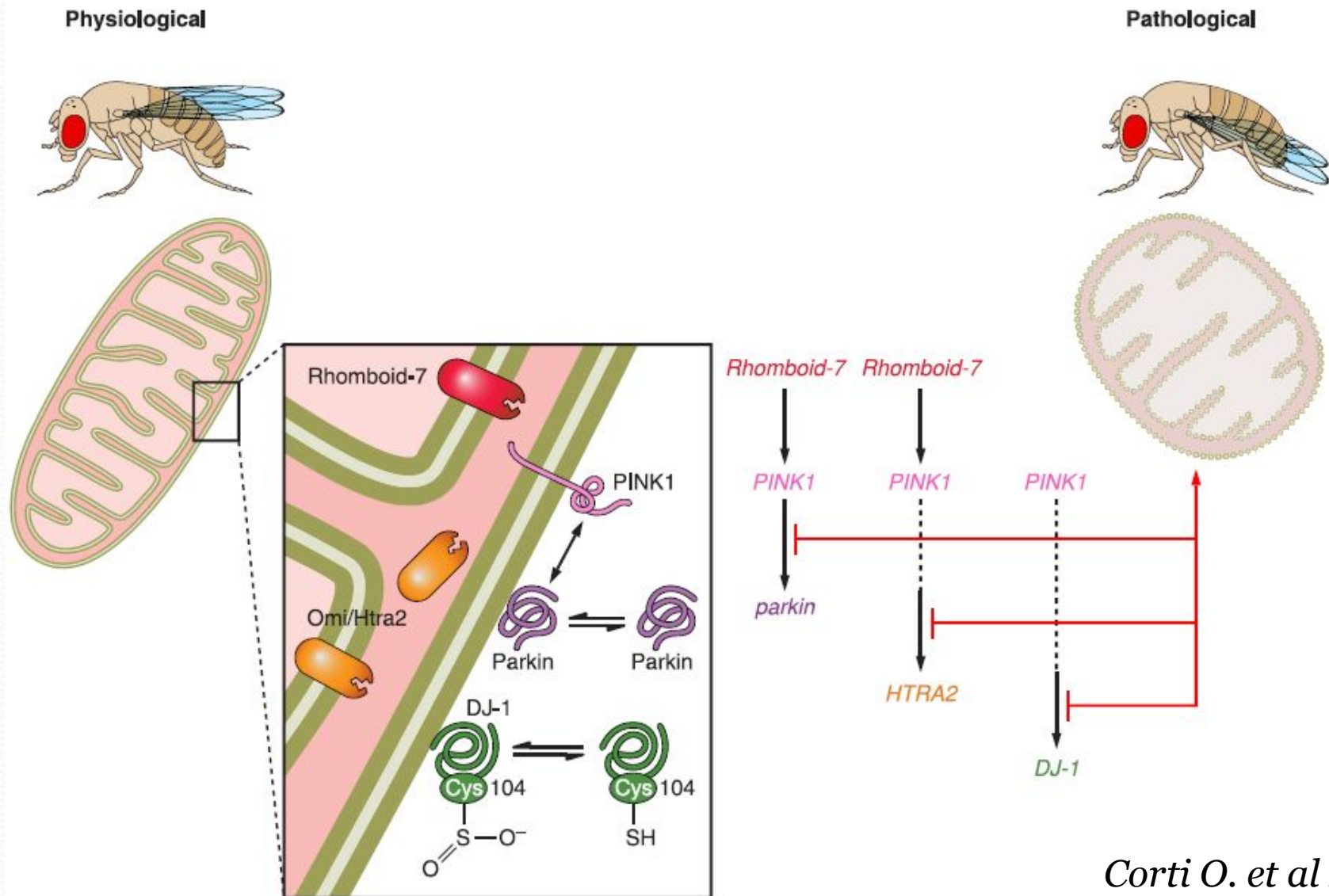


Frameshift and splice mutations

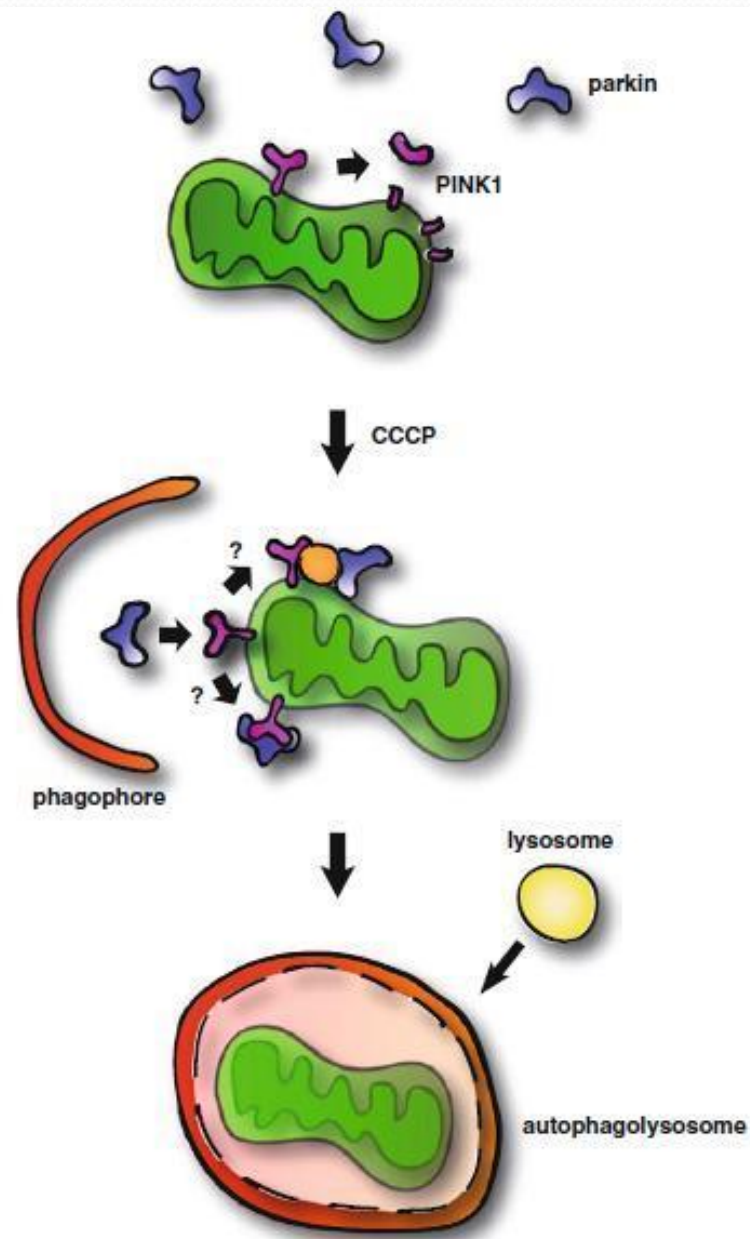


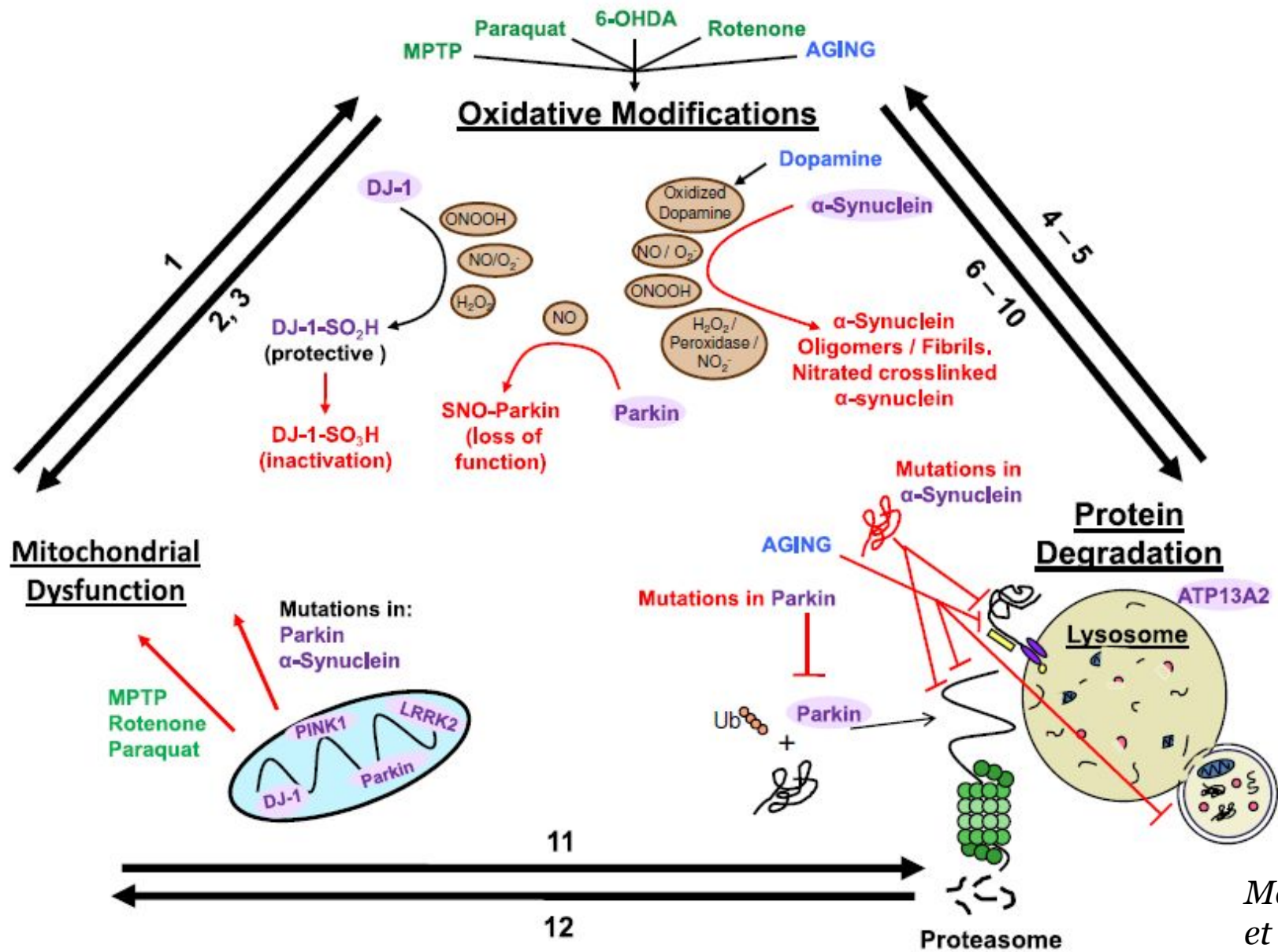
Missense mutations

У дрозофилы белки паркин, PINK1 и DJ-1 необходимы для нормального функционирования митохондрий



*Паркин и PINK1
участвуют в регуляции
процесса
митохондриальной
аутофагии*





*ВСЕ ЛИ ГЕНЫ БОЛЕЗНИ ПАРКИНСОНА
ВЫЯВЛЕНЫ ?*

ОСНОВНЫЕ - ДА

НО ПОИСК ПРОДОЛЖАЕТСЯ

*РЕДКИЕ
ГЕНЫ
СЕМЕЙНЫХ
ФОРМ*



*ПОЛНОГЕНОМНЫЙ
АССОЦИАТИВНЫЙ
АНАЛИЗ (GWAS) ПРИ
СПОРАДИЧЕСКОЙ БП*

A Two-Stage Meta-Analysis Identifies Several New Loci for Parkinson's Disease

*International Parkinson's Disease Genomics Consortium(IPDGC)
PLOS Genetics, 2011*

SNP	Chrom	Gene(s)	Alleles	MAF	Stage 1		Stage 2		Stage 1+2		Do et al		Combined
					OR (95%CI)	P	OR (95%CI)	P	P		OR (95%CI)	P	P
rs708723	1q32	RAB7L1/PARK16	T>C	0.439	0.905 (0.862–0.95)	6.68×10^{-5}	0.863 (0.824–0.905)	9.47×10^{-10}	1.00×10^{-12}		0.758 (0.65–0.88)	2.12×10^{-6}	8.82×10^{-15}
rs34016896	3q26	NMD3	C>T	0.305	1.14 (1.09–1.2)	3.00×10^{-7}	1.08 (1.02–1.14)	0.00399	1.81×10^{-8}		1.002 (0.95–1.06)	0.954	1.31×10^{-6}
rs6812193	4q21	STBD1	C>T	0.36	0.886 (0.843–0.932)	2.52×10^{-6}	0.906 (0.864–0.95)	5.29×10^{-5}	7.46×10^{-10}		0.839 (0.79–0.89)	7.55×10^{-10}	1.17×10^{-17}
rs156429	7p15	GPNNB	A>G	0.403	0.894 (0.849–0.942)	2.15×10^{-5}	0.893 (0.852–0.937)	3.86×10^{-6}	3.27×10^{-10}		0.901 (0.85–0.95)	0.000193	3.05×10^{-13}
rs591323	8p22	FGF20	G>A	0.271	0.884 (0.836–0.935)	1.59×10^{-5}	0.875 (0.83–0.923)	8.49×10^{-7}	7.45×10^{-11}		0.932 (0.88–0.99)	0.023	1.92×10^{-11}
chr8:89442157	8q21	MMP16	C>T	0.0247	1.38 (1.21–1.57)	1.10×10^{-6}	1.29 (1.12–1.49)	0.000451	2.26×10^{-9}		0.969 (0.86–1.09)	0.589	2.36×10^{-5}
rs4889603	16p11	STX1B	A>G	0.413	1.12 (1.06–1.18)	4.13×10^{-5}	1.15 (1.1–1.21)	8.21×10^{-9}	2.66×10^{-12}		1.070 (1.01–1.13)	0.014	6.98×10^{-13}

ПЕРЕХОД К КОМПЛЕКСНОМУ АНАЛИЗУ

- **данные GWAS**
- **дифференциальное метилирование ДНК**
- **транскриптом мозга**
- **транскриптом периферической крови**
- **протеом мозга**
- **протеом периферической крови**

ШИРОКОЕ ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МОДЕЛЕЙ БОЛЕЗНИ ПАРКИНСОНА

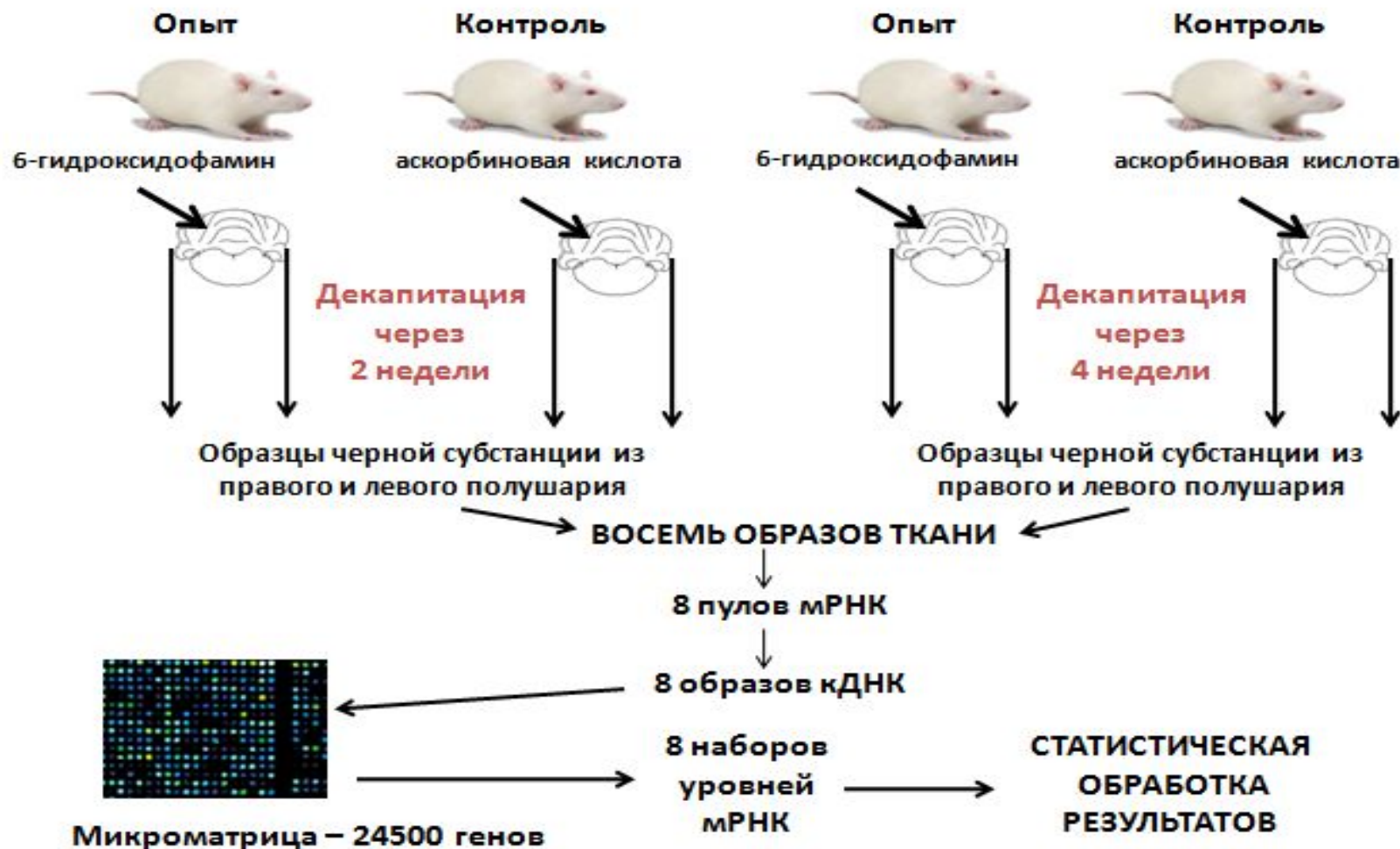
- **Генетические модели**

Получены трансгенные мыши,
дрозофилы, нематоды с различными
вариантами генов SNCA, PARK2, DJ-1,
LRRK-2

- **Токсические модели**

6-гидроксидофамин
Ротенон
МРТР

Схема эксперимента по моделированию паркинсонизма с использованием 6-ГДА и последующего анализа изменения транскриптома в черной субстанции у крыс паркинсон-подобным фенотипом.



□ Проанализировано 24500 генов крысы.

□ 131 ген, достоверно изменивший экспрессию в черной субстанции через 2 недели после введения токсина.

□ 698 генов, достоверно изменивших экспрессию в черной субстанции через 4 недели после введения токсина.

□ Для дальнейшего анализа панели дифференциально экспрессирующихся генов была использована база данных DAVID

somatostatin
 tubulin tyrosine ligase-like family, member 3; actin related protein 2/3 complex, subunit 4, 20kDa
 transient receptor potential cation channel, subfamily M, member 6
 growth arrest-specific 7
 dihydrolipoamide dehydrogenase
 pleckstrin
 dynein, axonemal, heavy chain 1
 lymphocyte cytosolic protein 1 (L-plastin)
 neural precursor cell expressed, developmentally down-regulated 9
 BAI1-associated protein 2
 allograft inflammatory factor 1
 centrin, EF-hand protein, 2
 inhibin, alpha
 ArfGAP with FG repeats 1
 reticulon 4
 gamma-aminobutyric acid (GABA) B receptor, 2
 brain abundant, membrane attached signal protein 1
 catenin (cadherin-associated protein), alpha 2
kaptin (actin binding protein)
 glutamic-oxaloacetic transaminase 1, soluble (aspartate aminotransferase 1)
 mitogen-activated protein kinase 8 interacting protein 1
 parvalbumin
 palmitoyl-protein thioesterase 1
 neuromedin U
 neuronal guanine nucleotide exchange factor
 glutamate decarboxylase 1 (brain, 67kDa)
 mitogen-activated protein kinase 8 interacting protein 3
 activity-regulated cytoskeleton-associated protein
 Wolfram syndrome 1 (wolframin)
 melanoma antigen family E, 1
 glutamate receptor, metabotropic 1
 glutamate receptor, ionotropic, N-methyl D-aspartate 1
 actinin, alpha 2
 ermin, ERM-like protein
 kalirin, RhoGEF kinase
 zinc finger protein 91 homolog (mouse); ZFP91-CNTF readthrough transcript; ciliary neurotrophic factor
 tachykinin, precursor 1
 sodium channel, voltage-gated, type I, alpha subunit
 microtubule-associated protein 2
 dendrin
 chloride channel 2
 dishevelled, dsh homolog 1 (Drosophila); dishevelled, dsh homolog 1 (Drosophila)-like 1
 nephroblastoma overexpressed gene
 cholinergic receptor, nicotinic, alpha 4
 cyclin-dependent kinase 5
 cholecystokinin
 microtubule-associated protein 15
 tuberous sclerosis 2
 cholinergic receptor, nicotinic, alpha 5

Функциональная
 кластеризация
 дифференциально
 экспрессирующихся генов в
 черной субстанции через 4
 недели после введения 6-ГДА

ИЗМЕНИЛИ ЭКСПРЕССИЮ
 ГЕНЫ, БЕЛКОВЫЕ
 ПРОДУКТЫ, КОТОРЫХ
 ПРИНИМАЮТ УЧАСТИЕ В :

□ процессах
 нейропротекции

□ процессах нормального
 функционирования сомы
 и дендритов нейронов.

Annotation Cluster 1	Enrichment Score: 5.61		Count	P Value	Benjamini
GOTERM_CC_FAT	neuron projection	RT	34	5.6E-8	2.4E-5
GOTERM_CC_FAT	cell soma	RT	20	4.0E-6	8.6E-4
GOTERM_CC_FAT	cell projection	RT	48	4.4E-6	6.4E-4
GOTERM_CC_FAT	dendrite	RT	18	3.7E-5	4.0E-3

ОТОБРАННЫЕ ГЕНЫ

- ❑ Ген нейромедина (*NMU*), который является нейропептидом. Точная функция белка не известна. Установлено, что он может играть важную роль в энергетическом обмене, будучи вовлечен в процессы регуляции аппетита.
- ❑ Ген *PPT1* кодирует тиоэстеразу 1 пальмитоилированных белков, которая принимает непосредственное участие лизосомальной деградации белков
- ❑ Ген *GRM1* кодирует метаботропный рецептор глутамата, который является одним из участников глутаматэргической системы.
- ❑ Ген *PVALB*, который кодирует парвальбумин, имеющий высокое сродство с кальций связывающими белками, такими как кальмодулин. Это сходство предполагает, его важную роль в гомеостазе кальция.
- ❑ Ген *WFS1* кодирует вольфрамин, который является мембранным гликопротеином эндоплазматического ретикулума и предположительно участвует в формировании синаптических везикул.



«ДОРОЖНАЯ КАРТА» ПРИ БОЛЕЗНИ ПАРКИНСОНА

ПЕРСПЕКТИВЫ

Клеточная терапия

Эмбриональные стволовые клетки

Фетальная нервная ткань

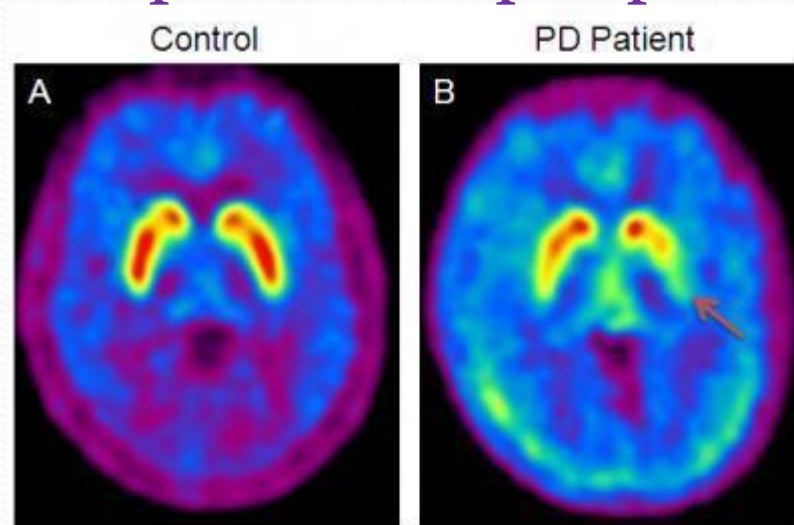
ДА-нейроны на основе iPS

*Трансгенные «кассеты» для синтеза ДА
и\или введения генов нейротрофинов*

Общая проблема - нет восстановления
архитектоники ДА-ергической системы
мозга

И в итоге самое главное – **РАННЯЯ ДИАГНОСТИКА**

- В принципе есть идеальный метод диагностики дисфункции ДА-нейронов - ПЭТ или ОФЭКТ сканирование с флюоро-DOPA



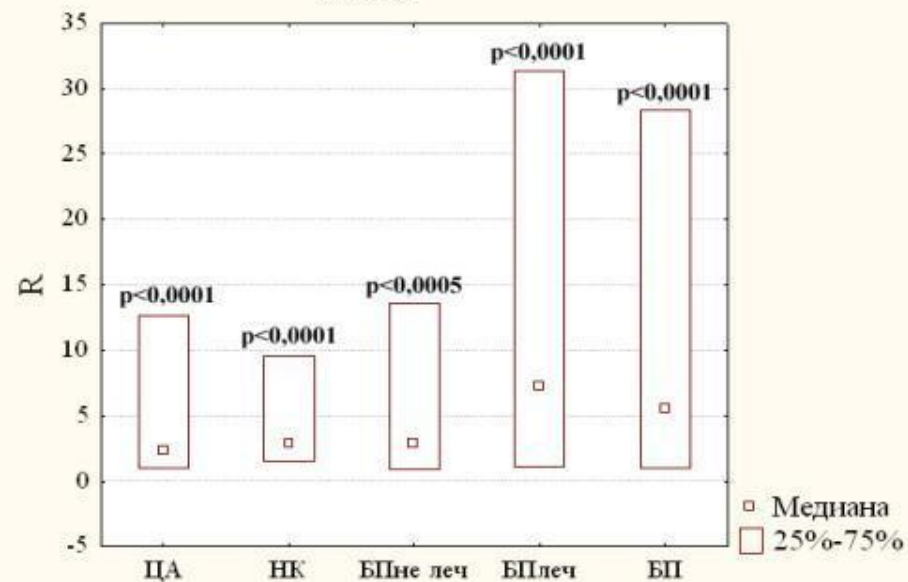
**НО ЭТОТ МЕТОД НЕ ПРИГОДЕН ДЛЯ
МАССОВОГО СКРИНИНГА**

Массовый скрининг:

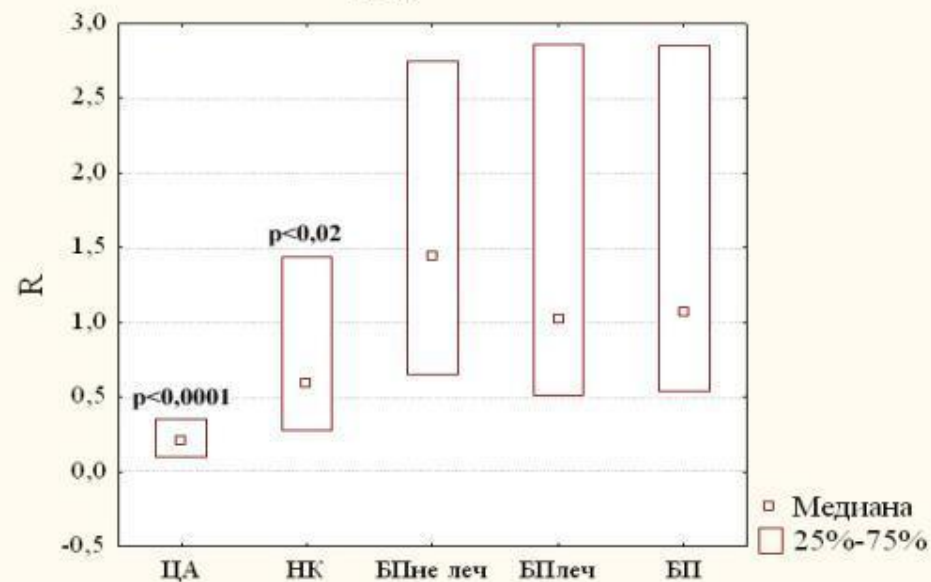
быстро - просто - относительно дешево

- Нарушение обоняния
- Обстипация (запоры)
- Нарушения сна (парадоксальный сон без мышечной атонии)
- Изменение ЭЭГ
- Биохимические маркеры периферической крови (метаболиты дофамина, гормоны гипофиза, специфические белки (альфа-синуклеин))
- Провокационные тесты (выявление латентного тремора, временное блокирование тирозин гидроксилазы и др.)

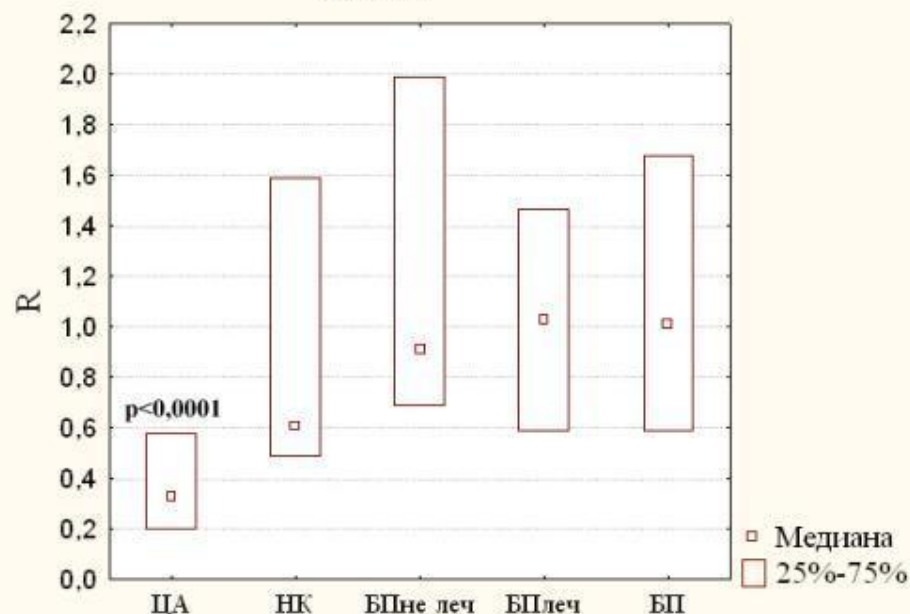
SNCA



ST13



GSK3b



$$R = 2^{-(\Delta\Delta Ct)}$$

где $(\Delta\Delta Ct) = (Ct(x) - Ct(r)) - (Ct(x_0) - Ct(r_0))$, где $Ct(x)$ и $Ct(x_0)$ - пороговый цикл амплификации для гена-кандидата в исследуемой группе и контрольной группе здоровых добровольцев соответственно, $Ct(r)$ и $Ct(r_0)$ - то же для гена сравнения

БП - больные БП

ЦА- больные с церебральным атеросклерозом

НЗ – больные с различными неврологическими болезнями

За единицу принят уровень экспрессии анализируемых генов в группе неврологически здоровых добровольцев.

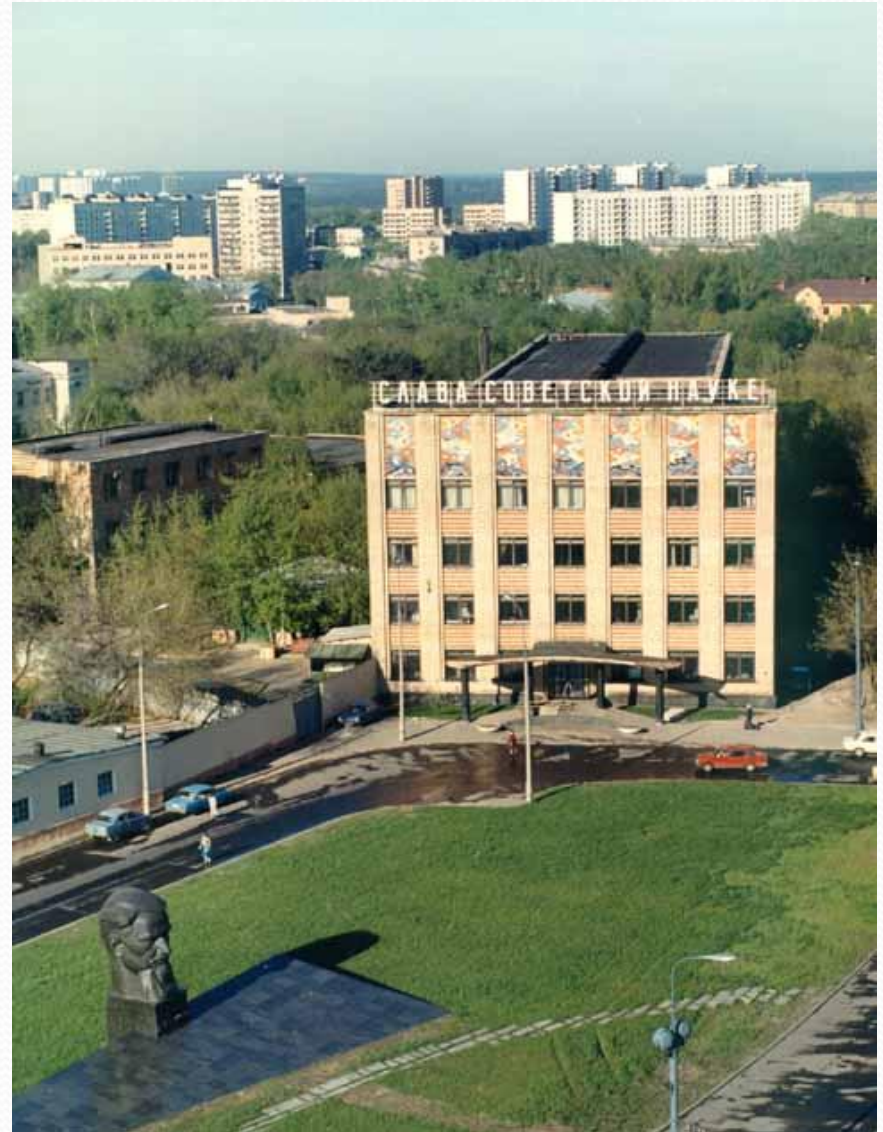
Заболевание	Изменение экспрессии гена		
	<i>GSK3B</i>	<i>SNCA</i>	<i>ST13</i>
Болезнь Паркинсона	—	↑↑	—
Церебральный атеросклероз	↓↓	↑	↓↓
Неврологические заболевания	~↓	↑	↓

*Отдел молекулярных основ
генетики человека
Института молекулярной
генетики РАН*

*Шадрина М.И. , Семенова Е.С.,
Филатова Е.В., Алиева А.Х.,
Сломинский П.А.*

*Отделение нейрогенетики
ГУ Центр Неврологии РАМН
Иллариошкин С.Н., Иванова-
Смоленская И.А.*

**СПАСИБО ЗА
ВНИМАНИЕ**



ПРИГЛАШАЕМ НА V ШКОЛУ ПО МОЛЕКУЛЯРНОЙ ГЕНЕТИКЕ «НЕПОСТОЯНСТВО ГЕНОМА»



Декабрь 2012 года, пансионат «Звенигородский» РАН

Все подробности - на сайте molgenschool.ru