



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



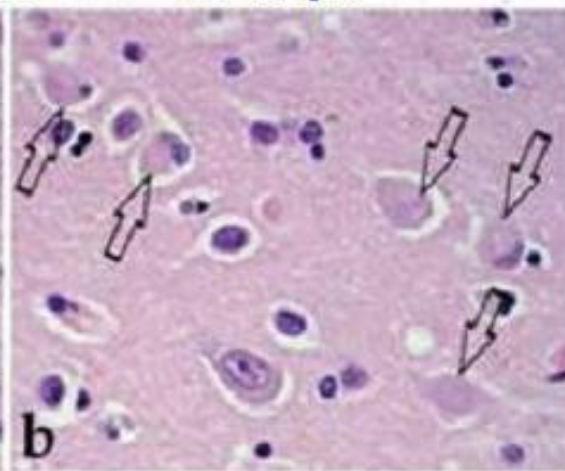
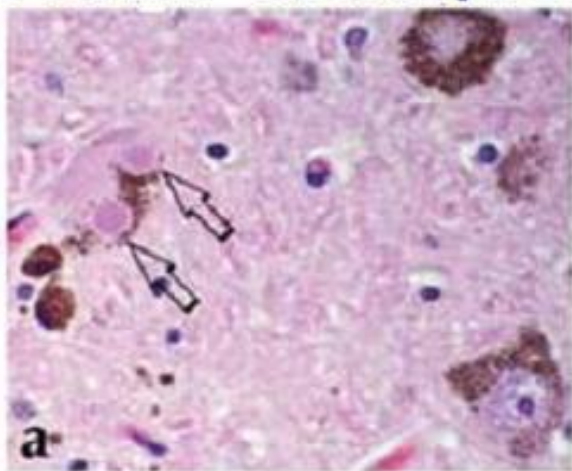
«ДОРОЖНАЯ КАРТА» ПРИ БОЛЕЗНИ ПАРКИНСОНА

ТЕЛЬЦА ЛЕВИ

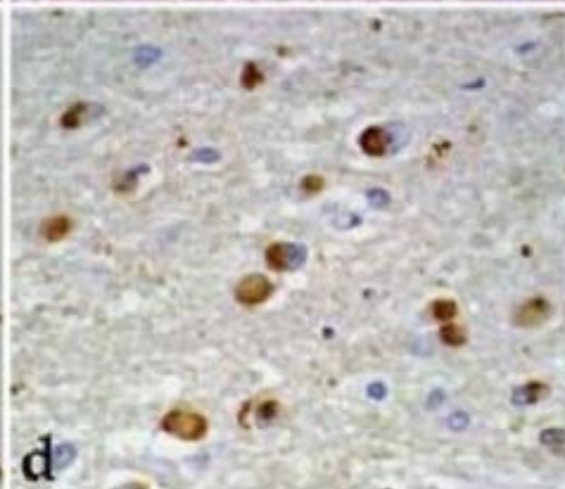
в стволе мозга при БП

в коре

ГЭ



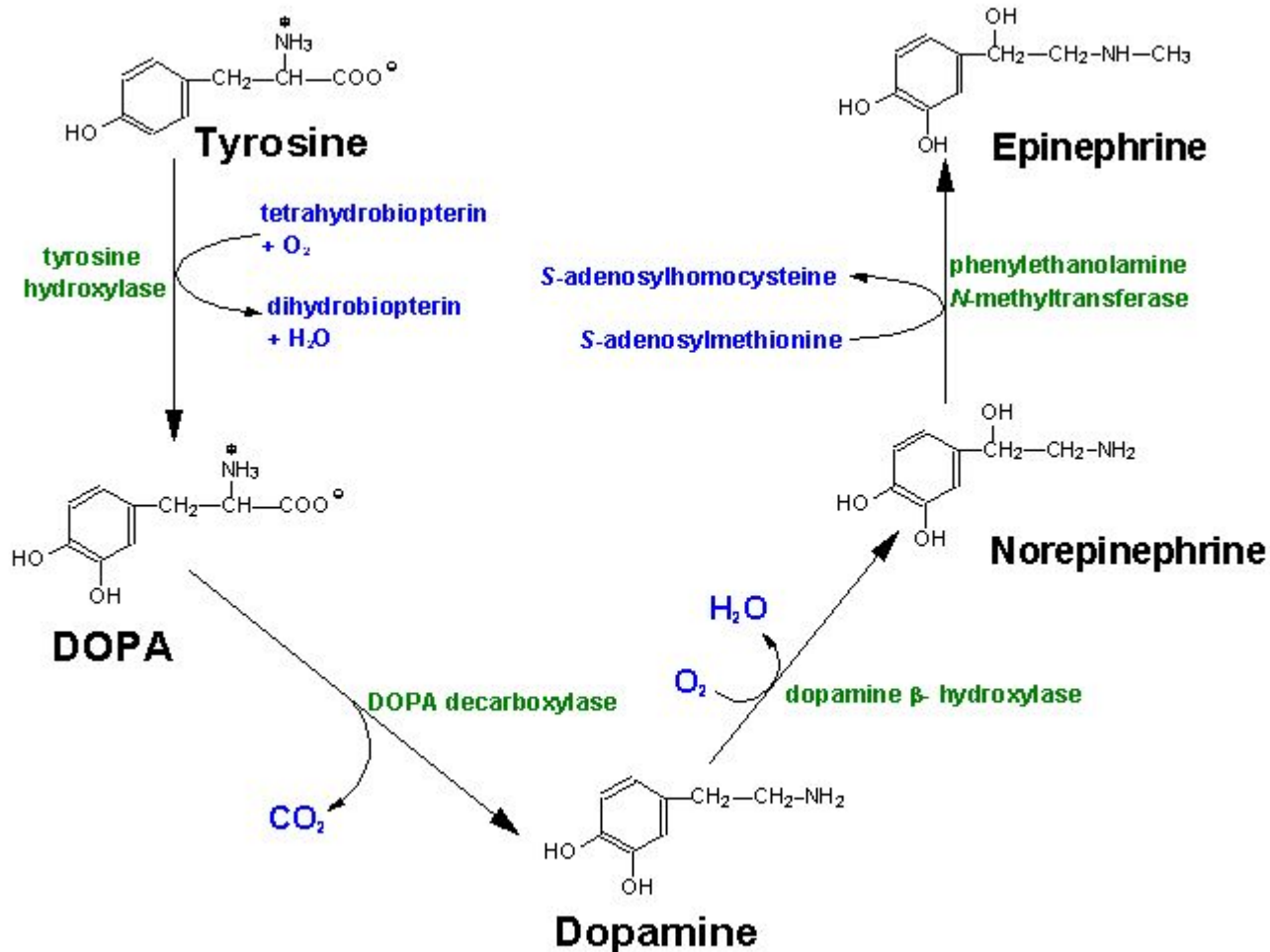
SNCA



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

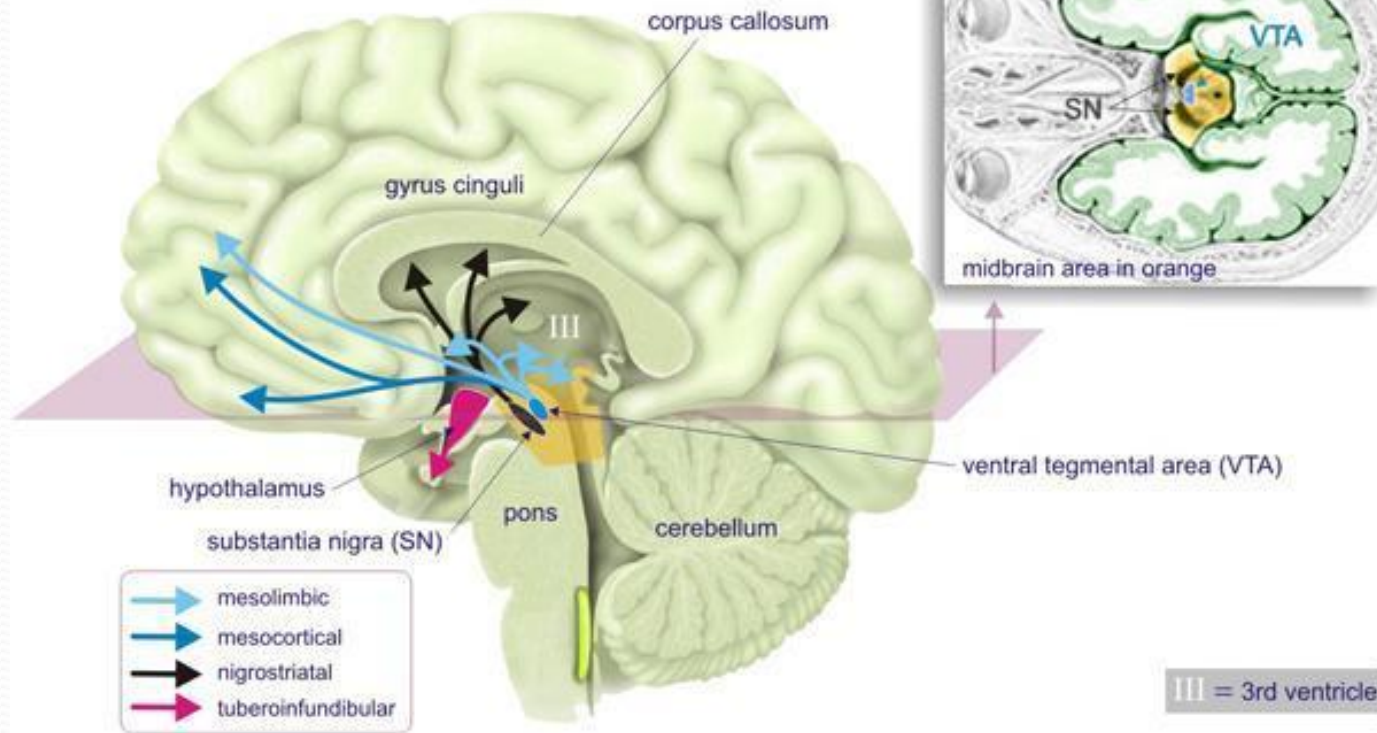
НО:

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

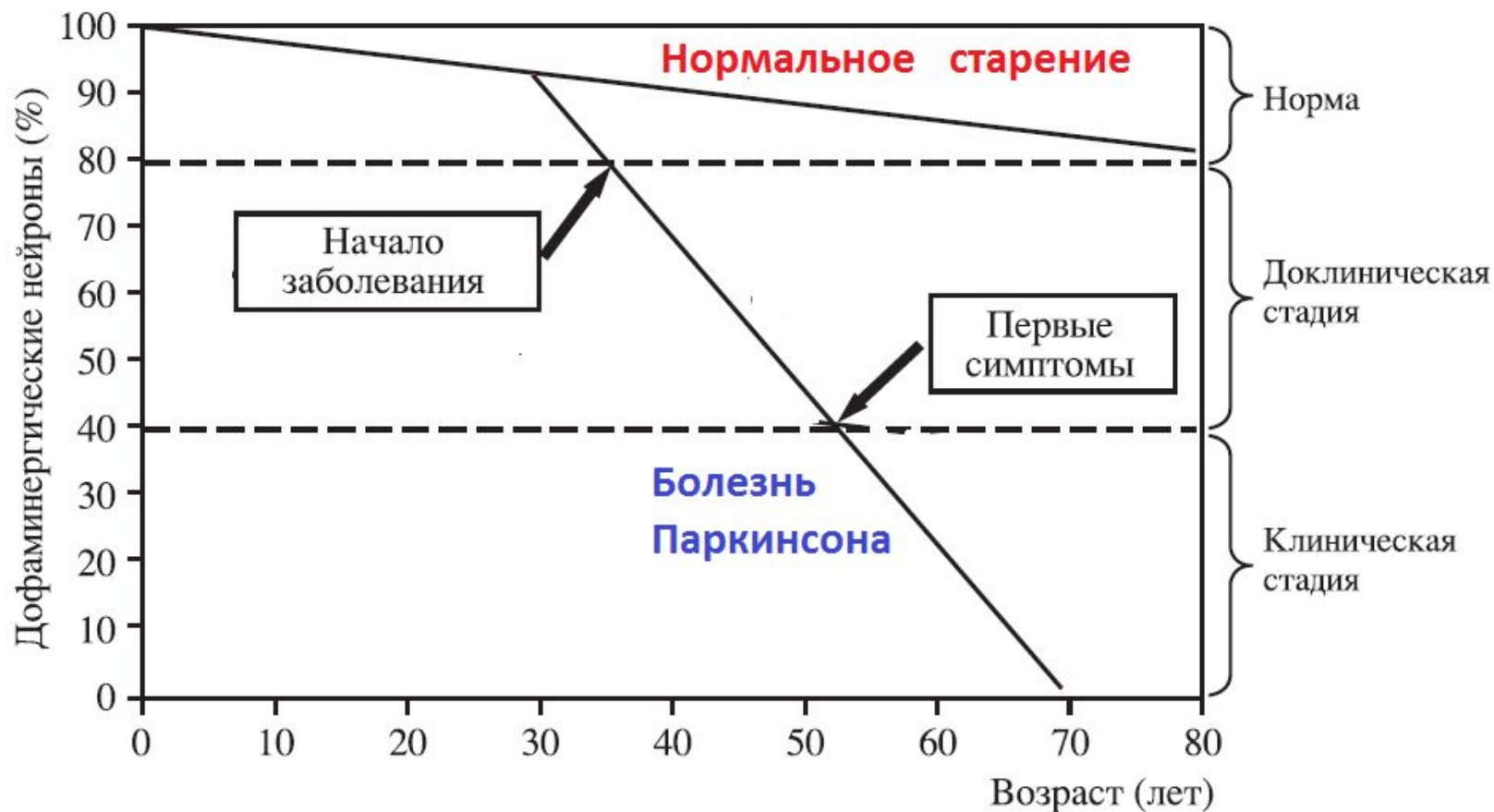
reward circuits employing dopamine



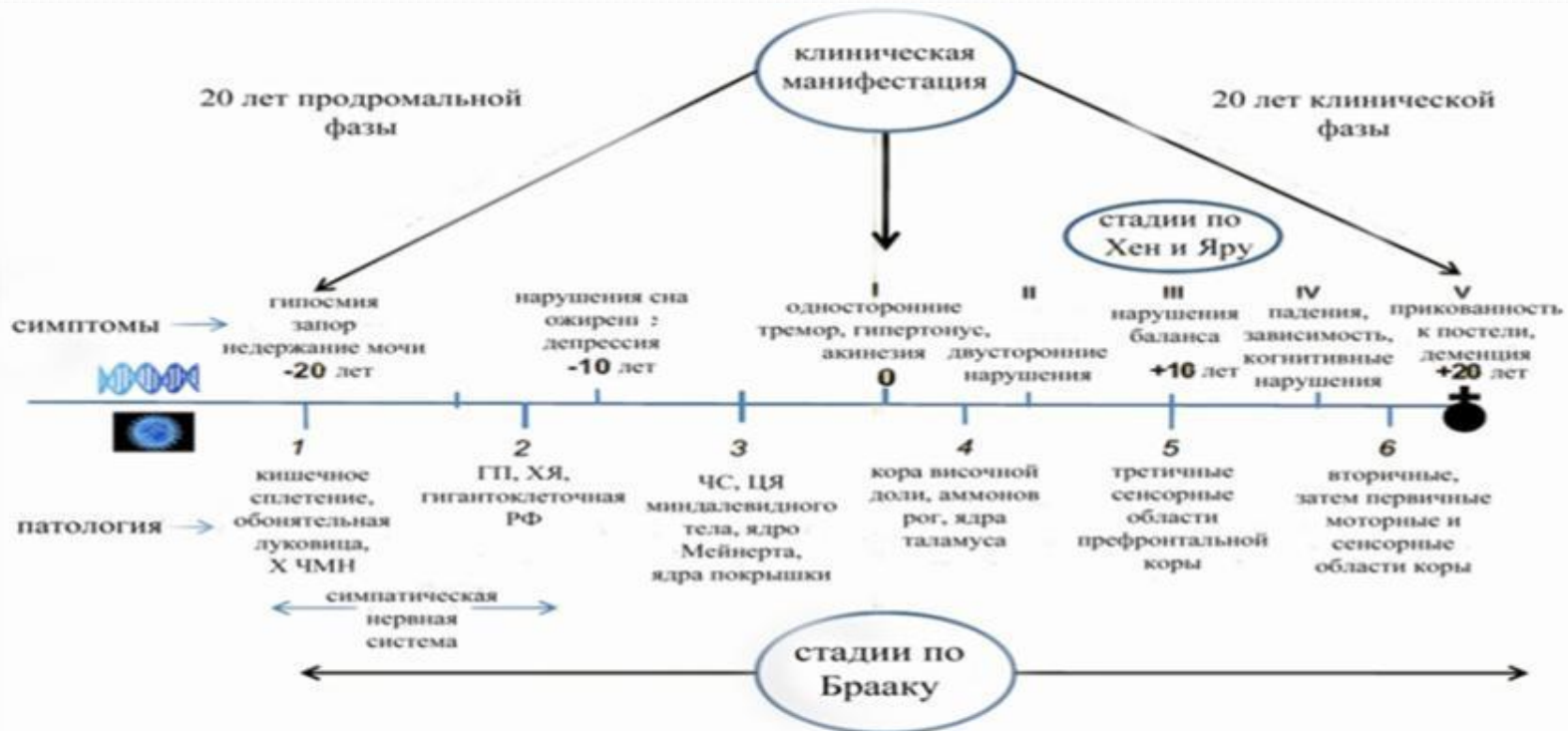
Нигростриатная ДА система контролирует активность ГАМК и глутаматергических синапсов неостриатума, которые в свою очередь активизируют таламокортикальные сети и регулируют моторное поведение.

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

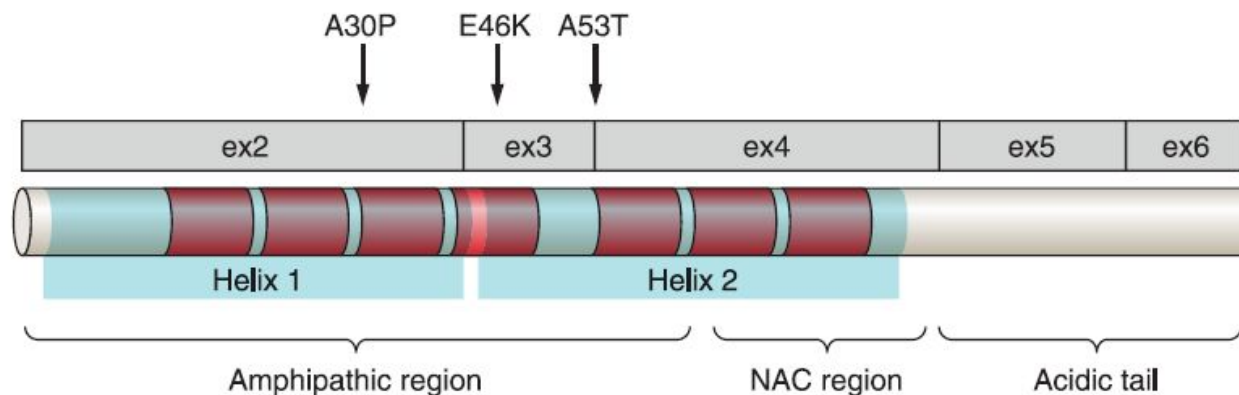
Семейные моногенные формы составляют не более 10-15% всех случаев заболевания - но именно они стали ключом к пониманию этиопатогенеза болезни Паркинсона

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



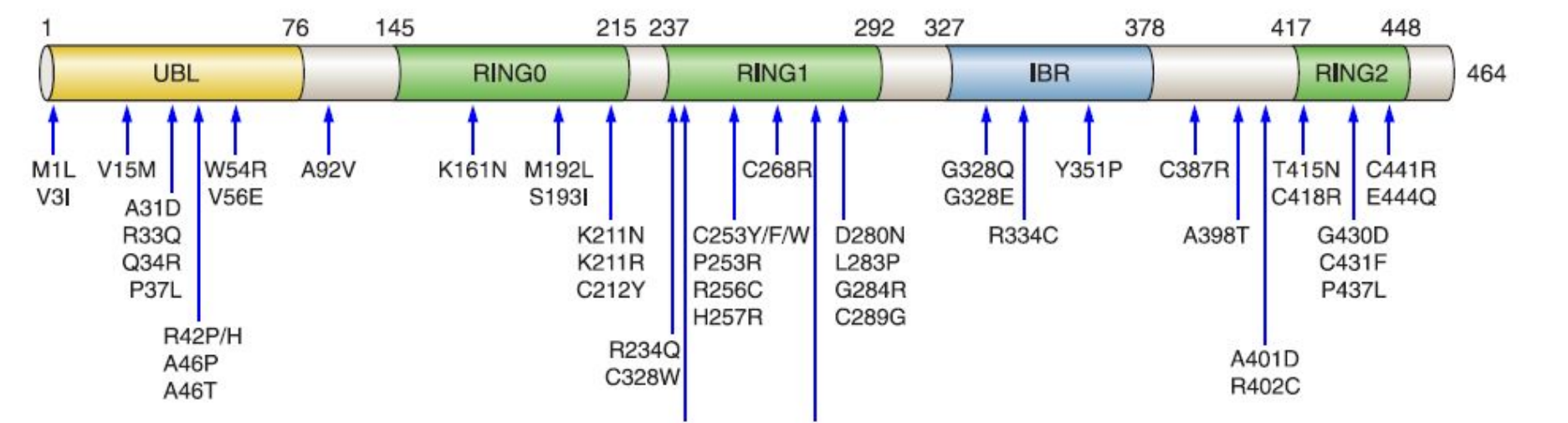
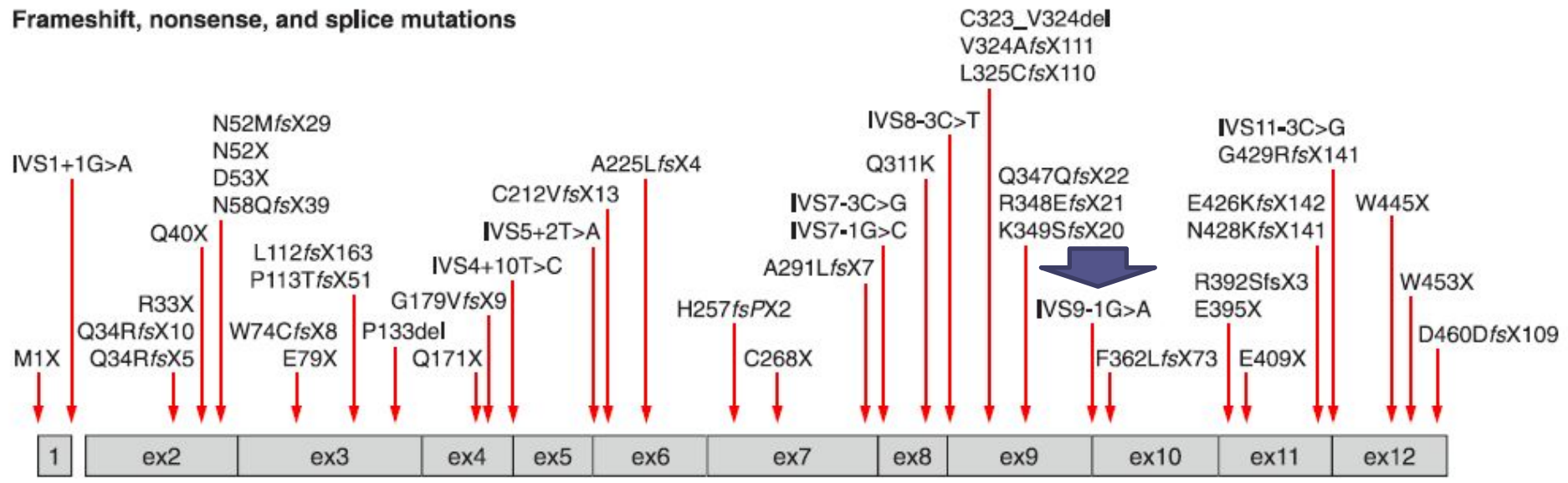
KTKEGV repeats

Геномные
дупликации
и трипликации

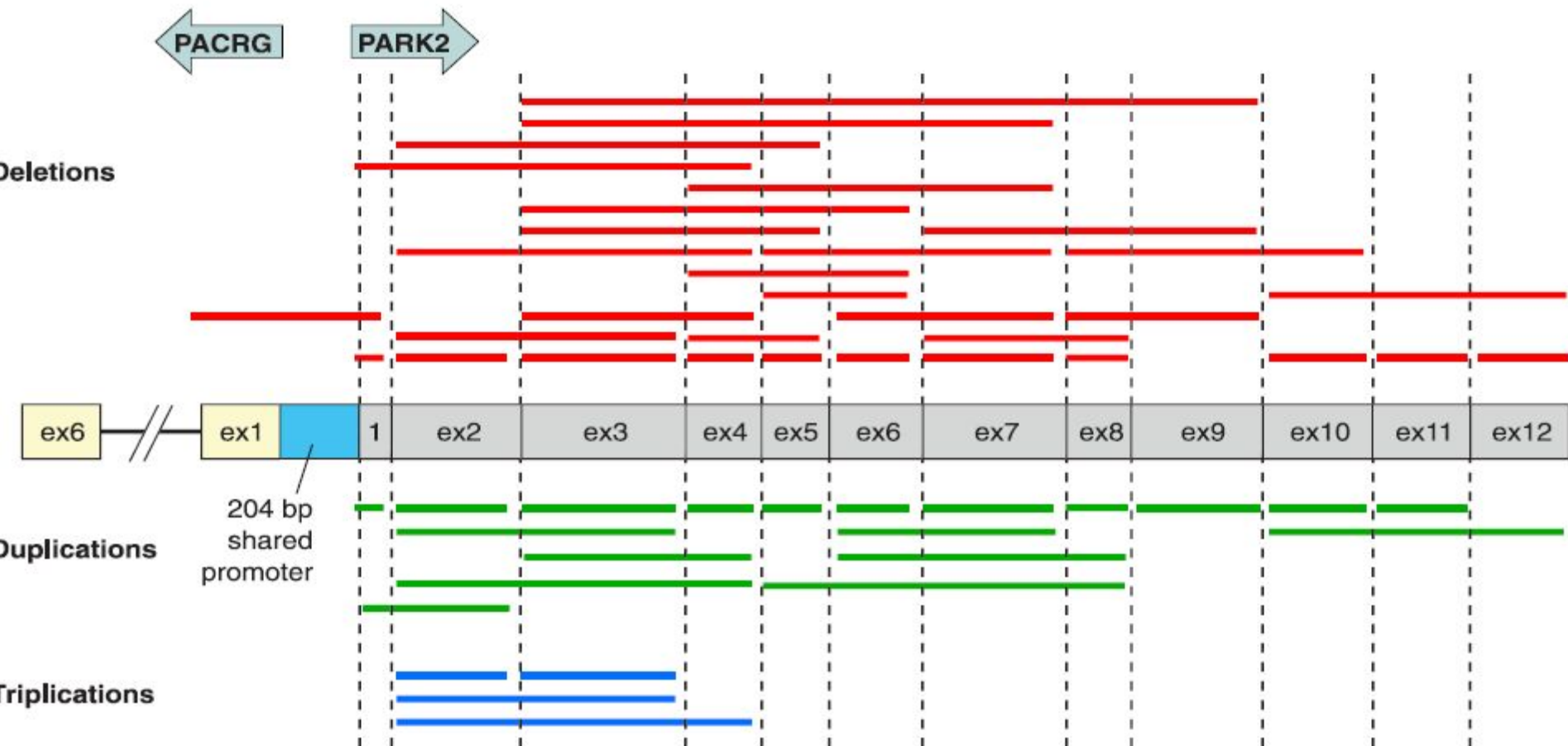
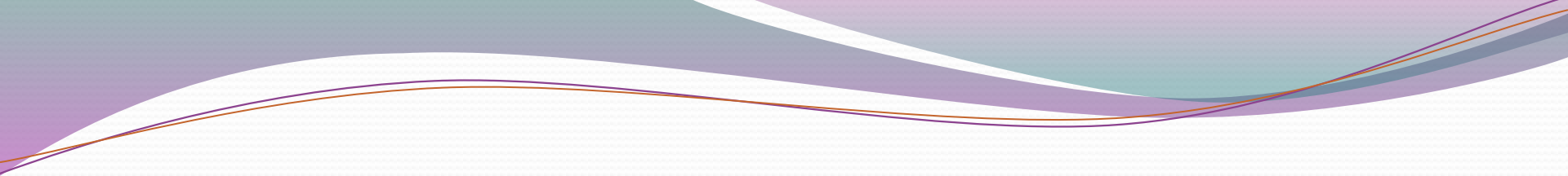
Только мутация A53T найдена более чем в одной семье
Дупликации и трипликации - примерно 2% всех
семейных случаев БП

Ген паркина PARK2 - главный ген AP формы болезни Паркинсона

Frameshift, nonsense, and splice mutations



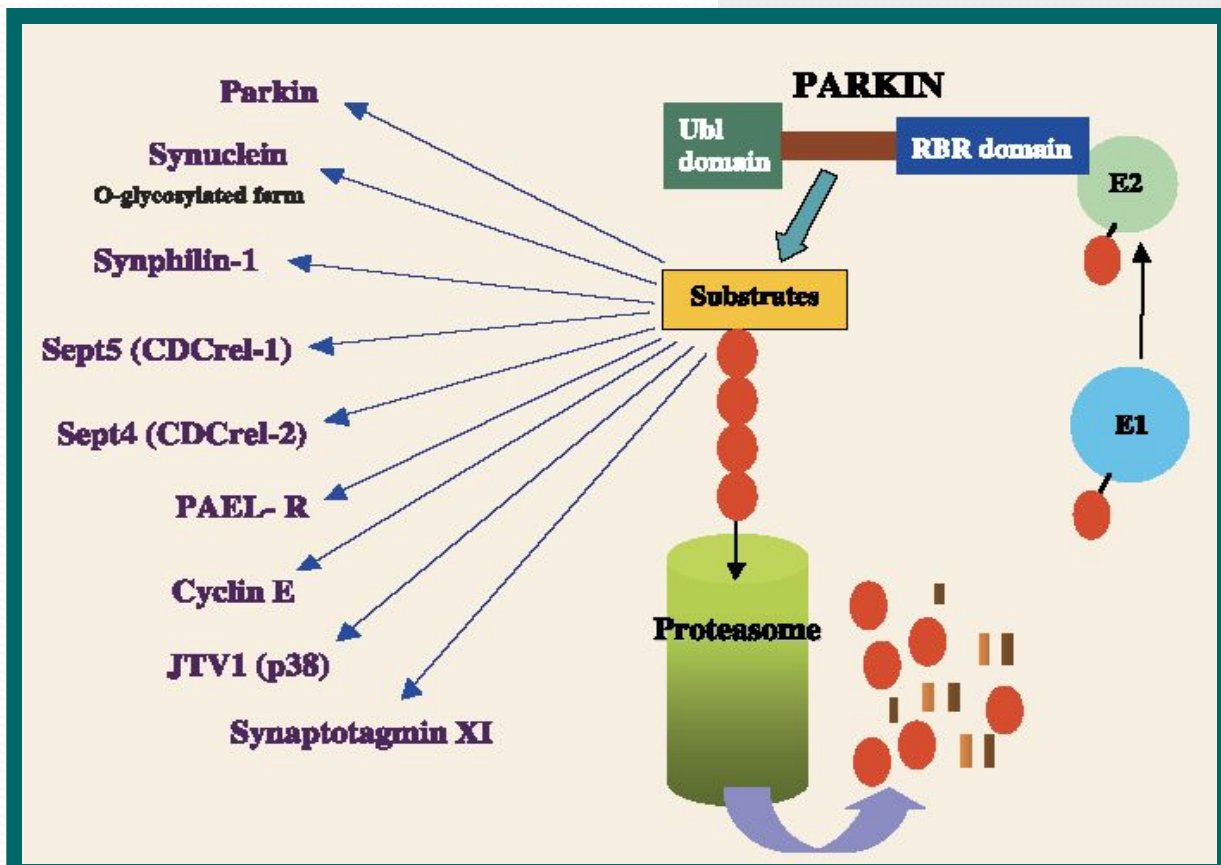
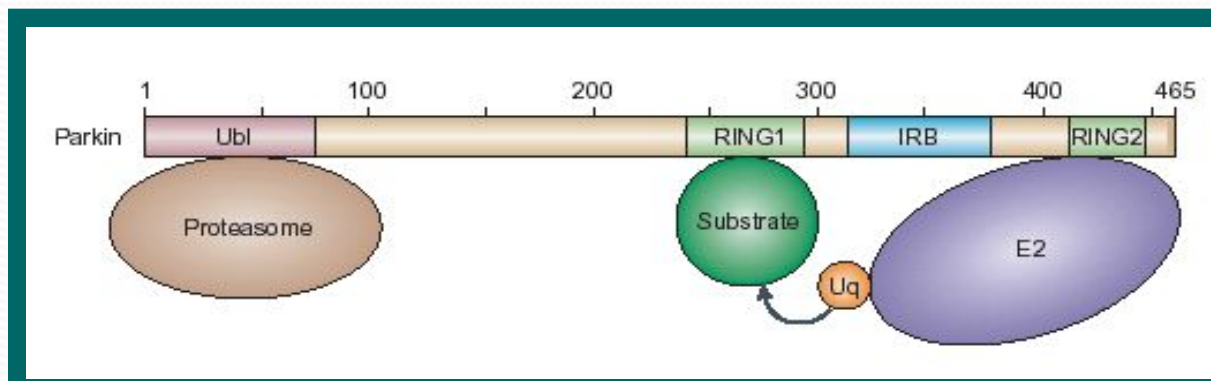
Missense mutations



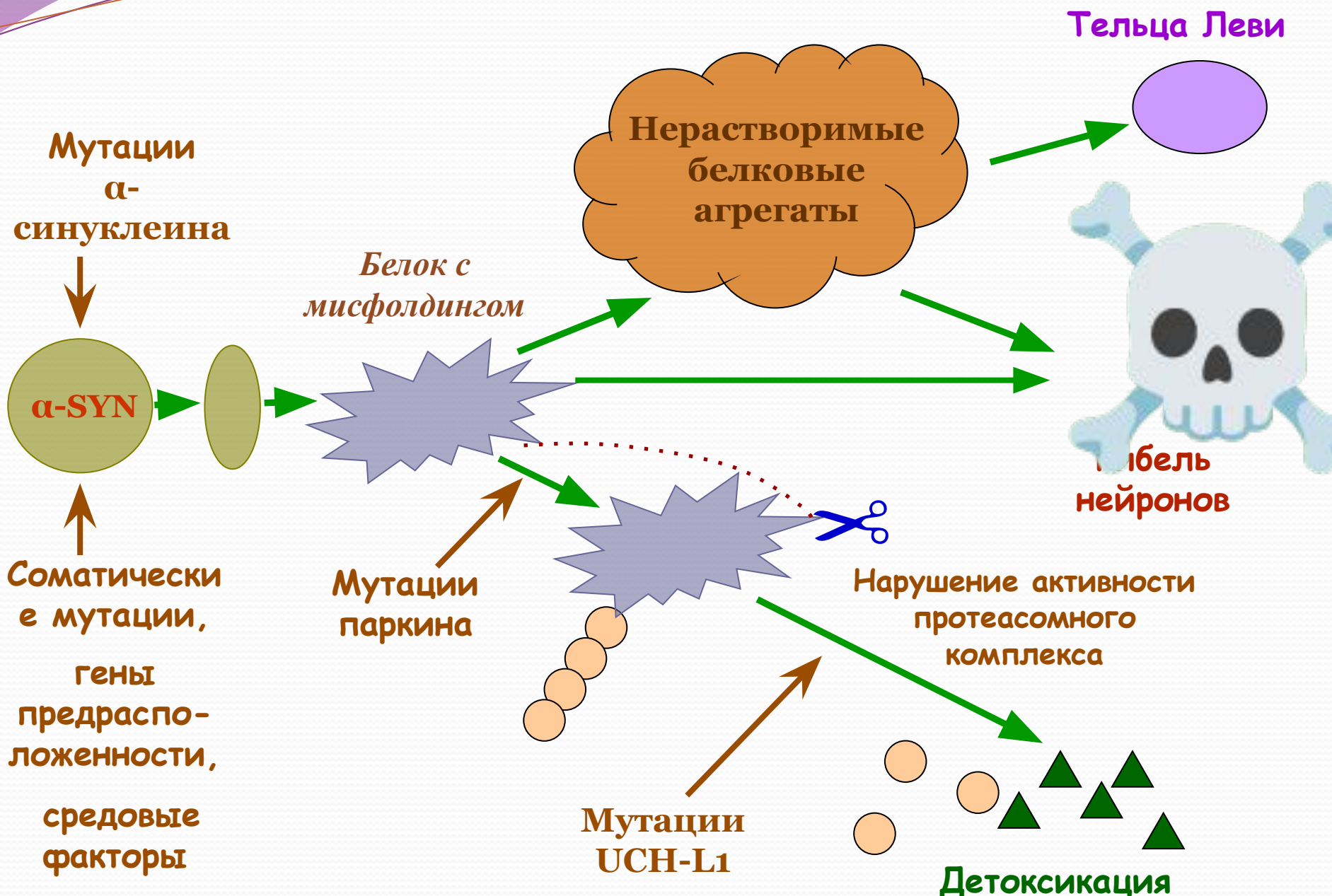
Относительный шанс развития болезни Паркинсона у носителей делеций и дупликаций экзонов гена *PARK2* из России.

	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.



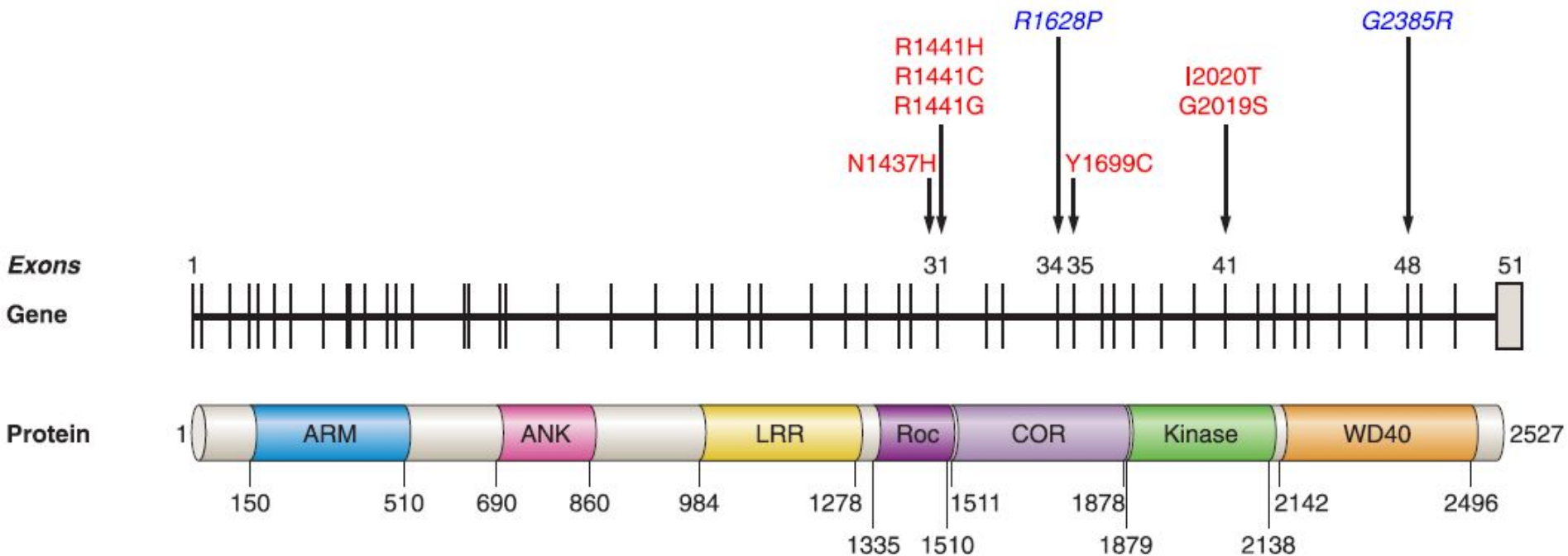


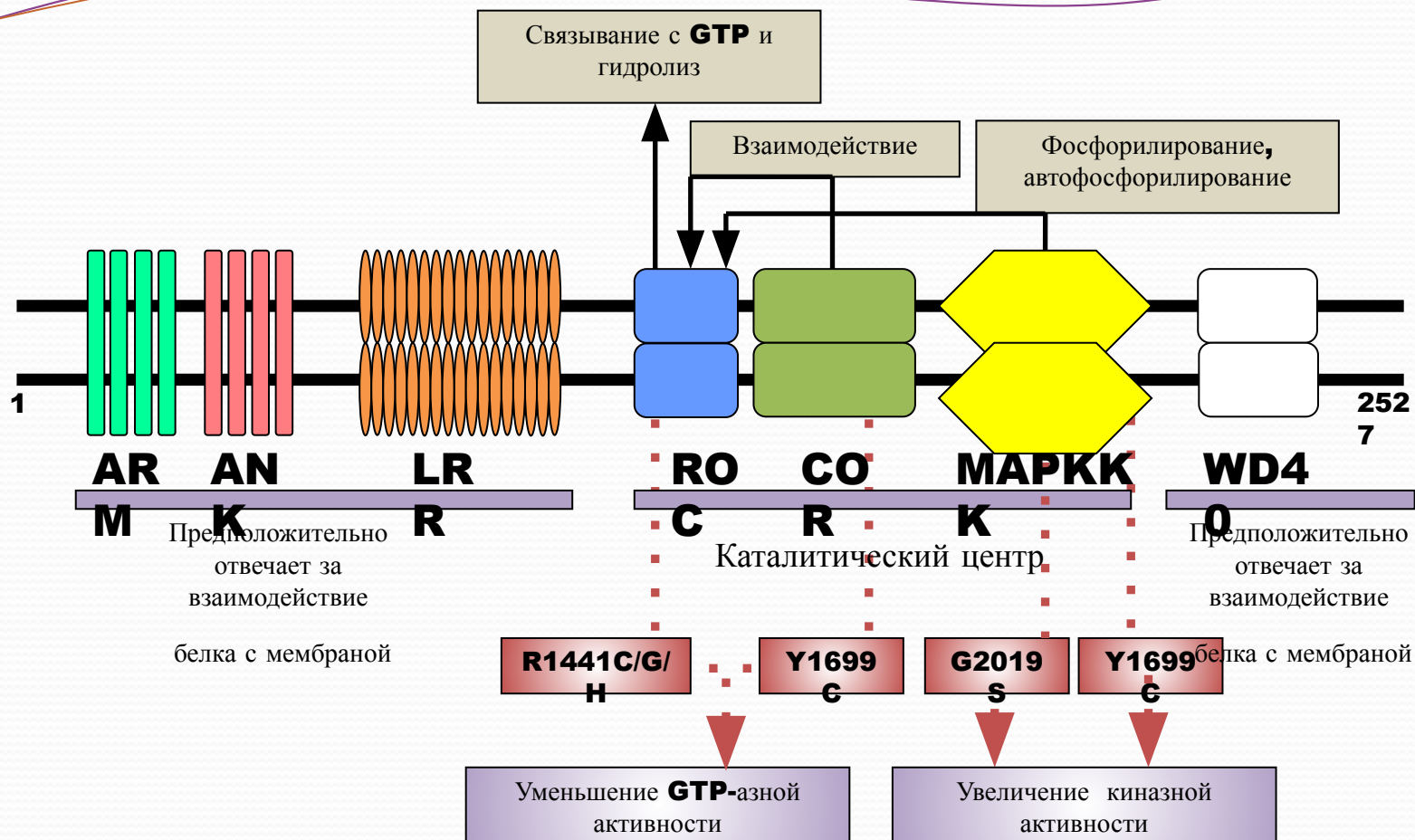
«ДОРОЖНАЯ КАРТА» ПРИ БОЛЕЗНИ ПАРКИНСОНА

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 θ , кодируемая ядерным геномом

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

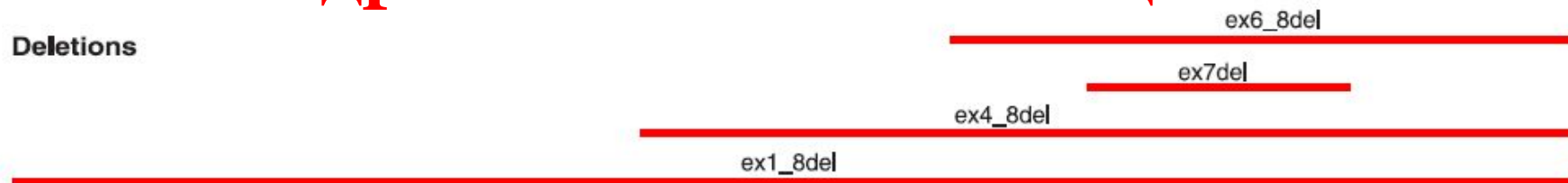




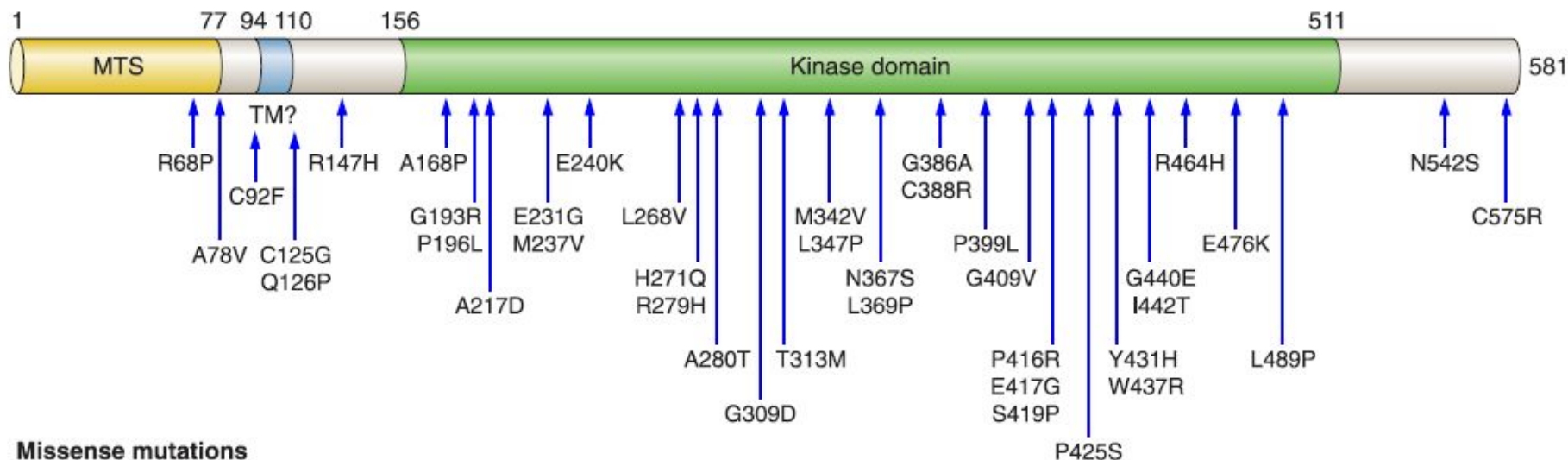
Мультфункциональная серин-треонин киназа, может принимать участие в контроле за обменом синаптических везикул, росте и ветвлении аксонов и функционировании аппарата Гольджи, лизосом и митохондрий

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

Deletions



Frameshift and nonsense mutations



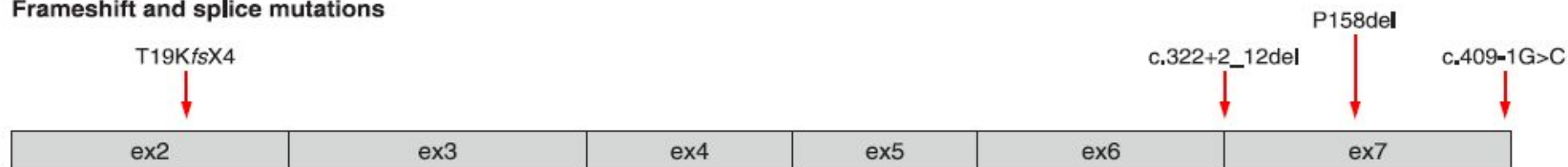
Ген DJ-1

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

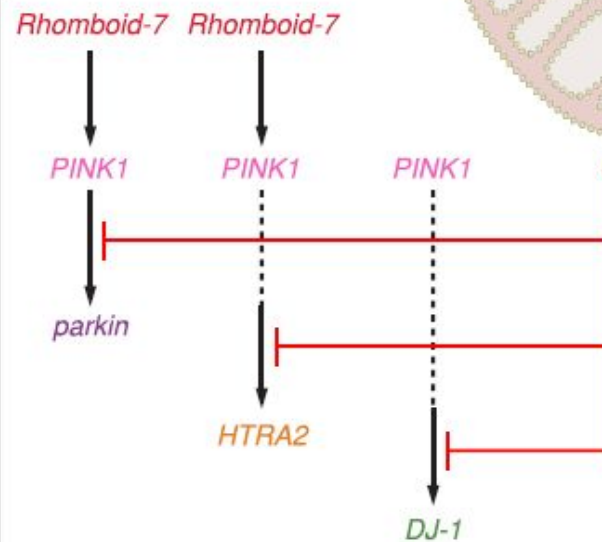
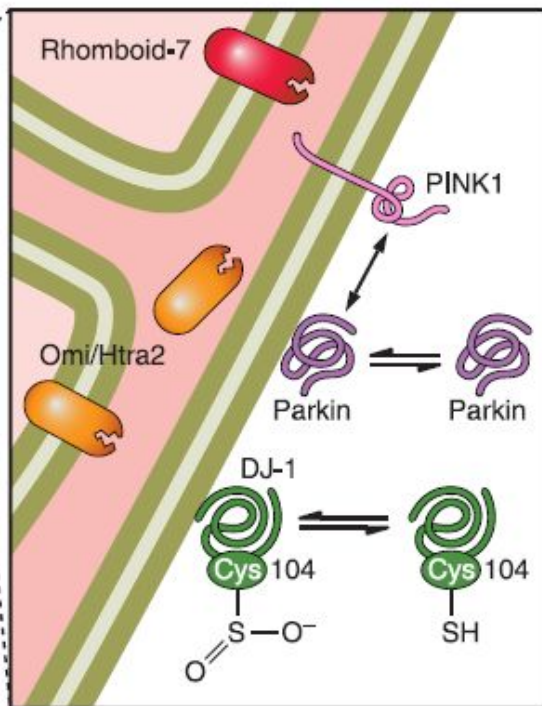
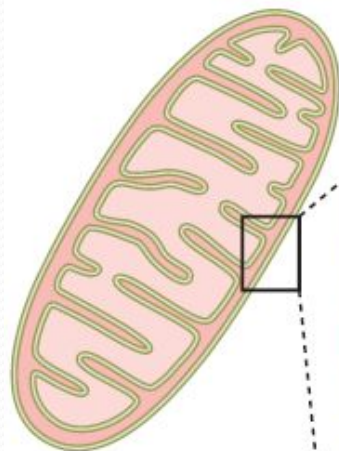
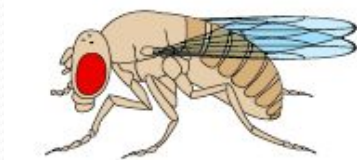


Missense mutations

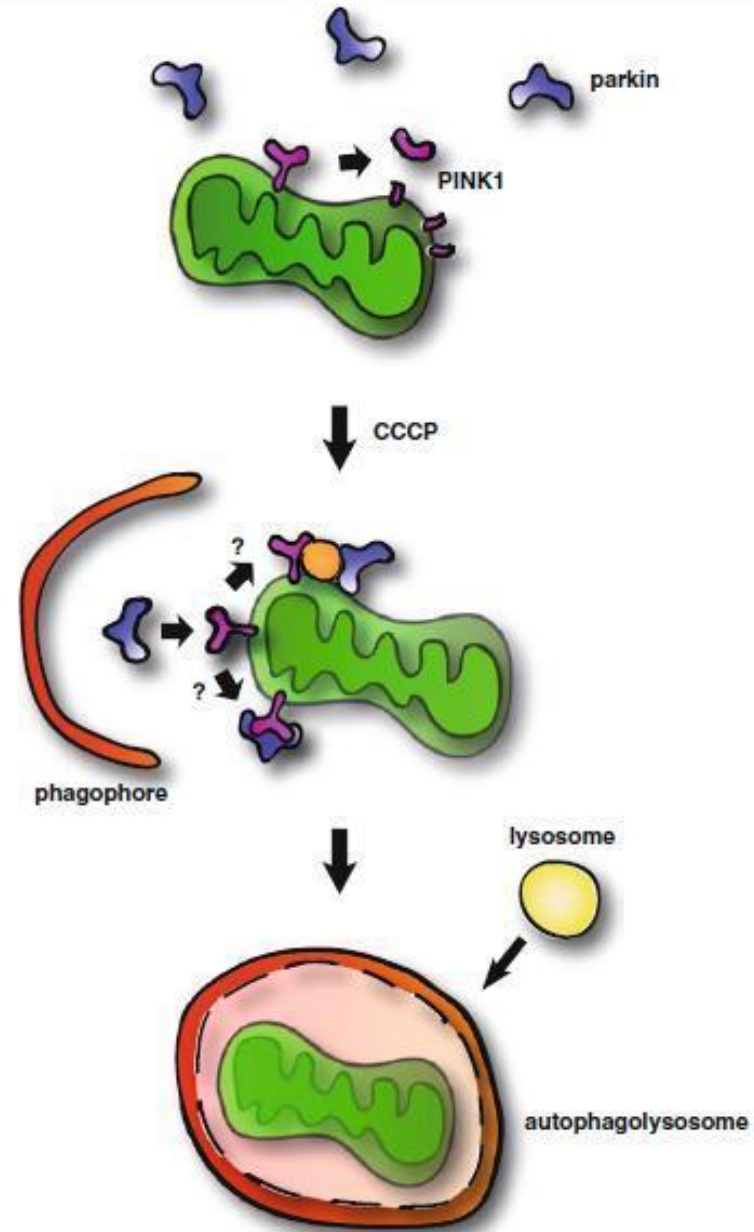
У дрозофилы белки паркин, PINK1 и DJ-1 необходимы для нормального функционирования митохондрий

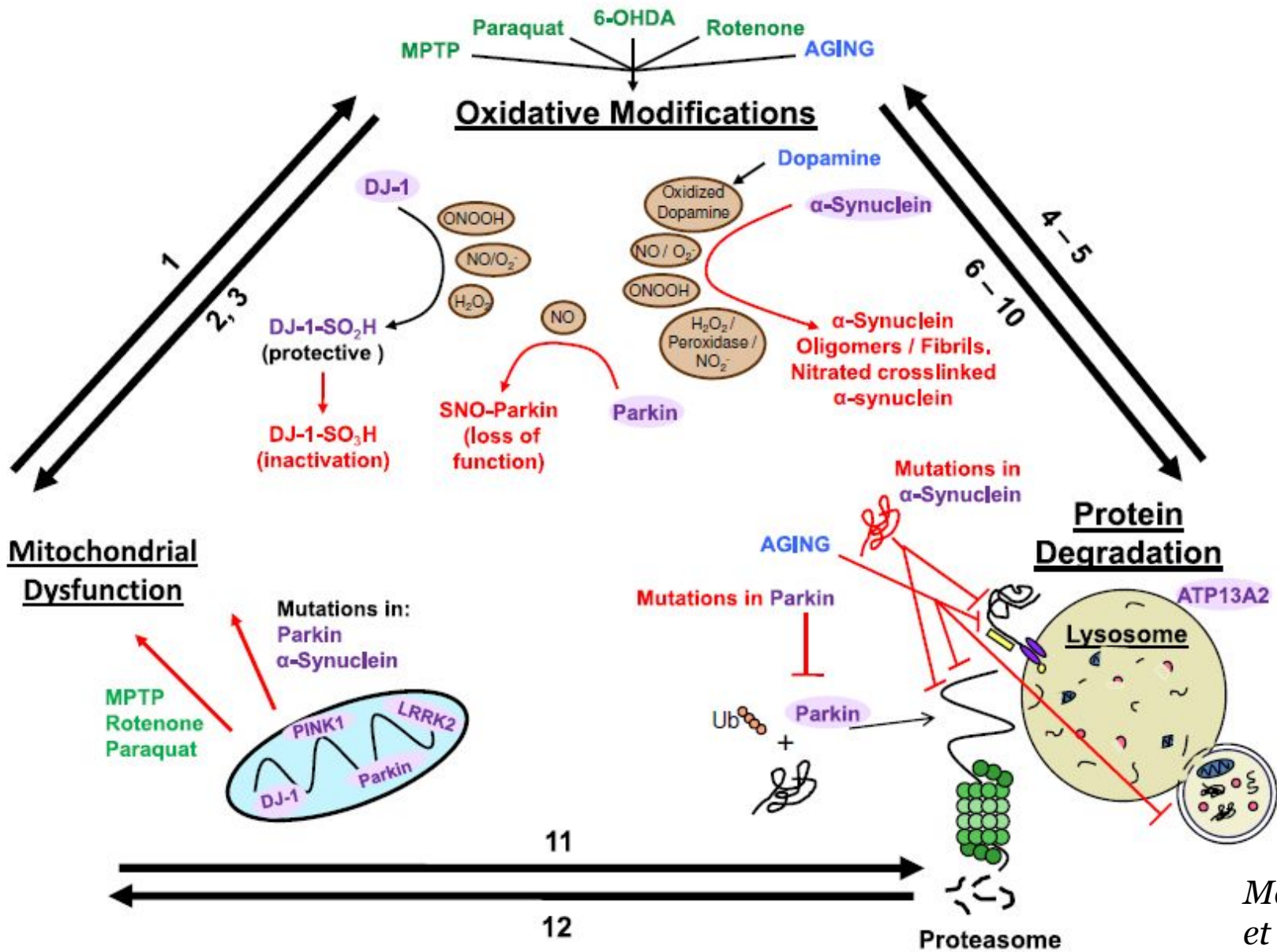
Physiological

Pathological



*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	GPNMB	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

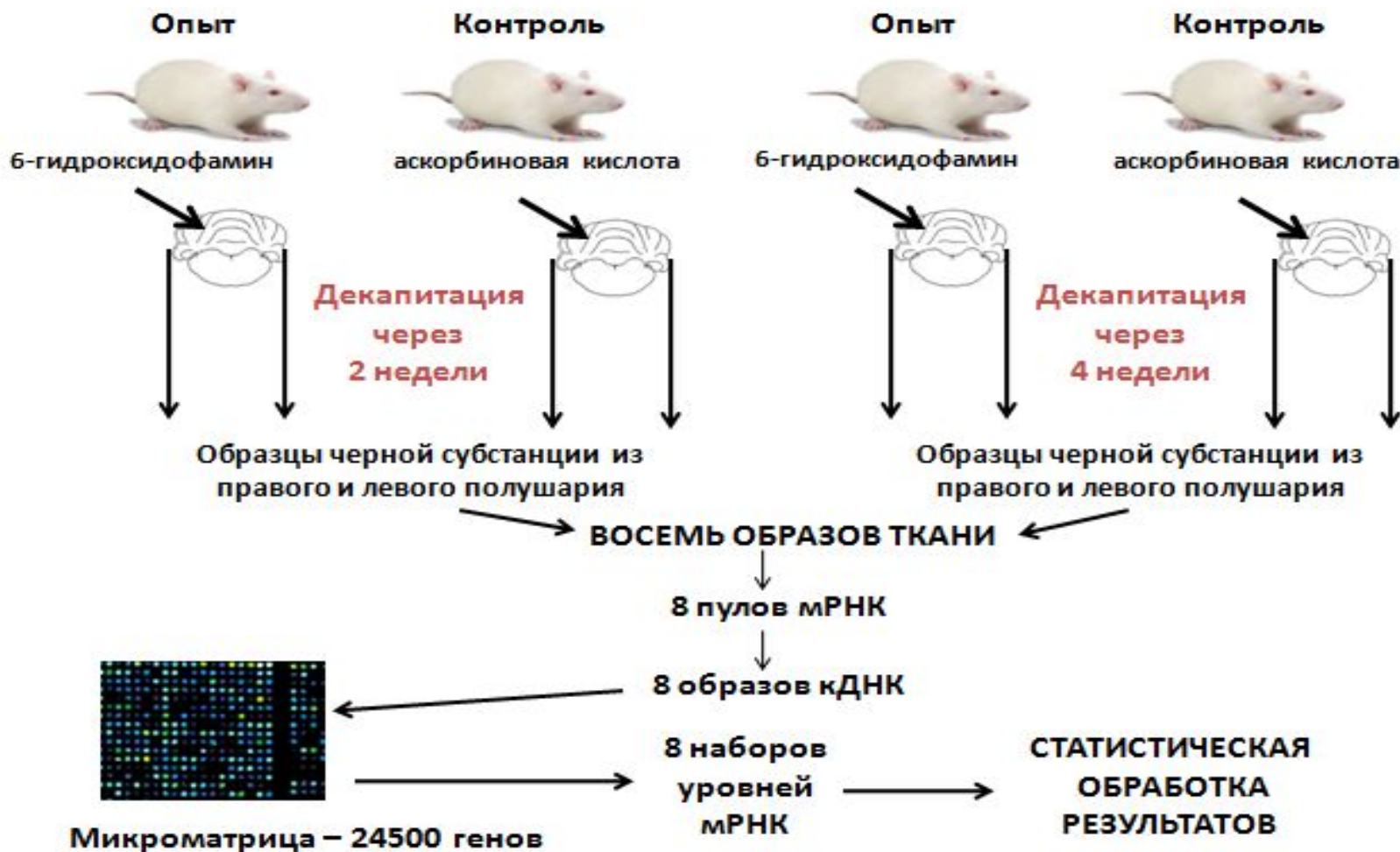
- ***Генетические модели***

**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.

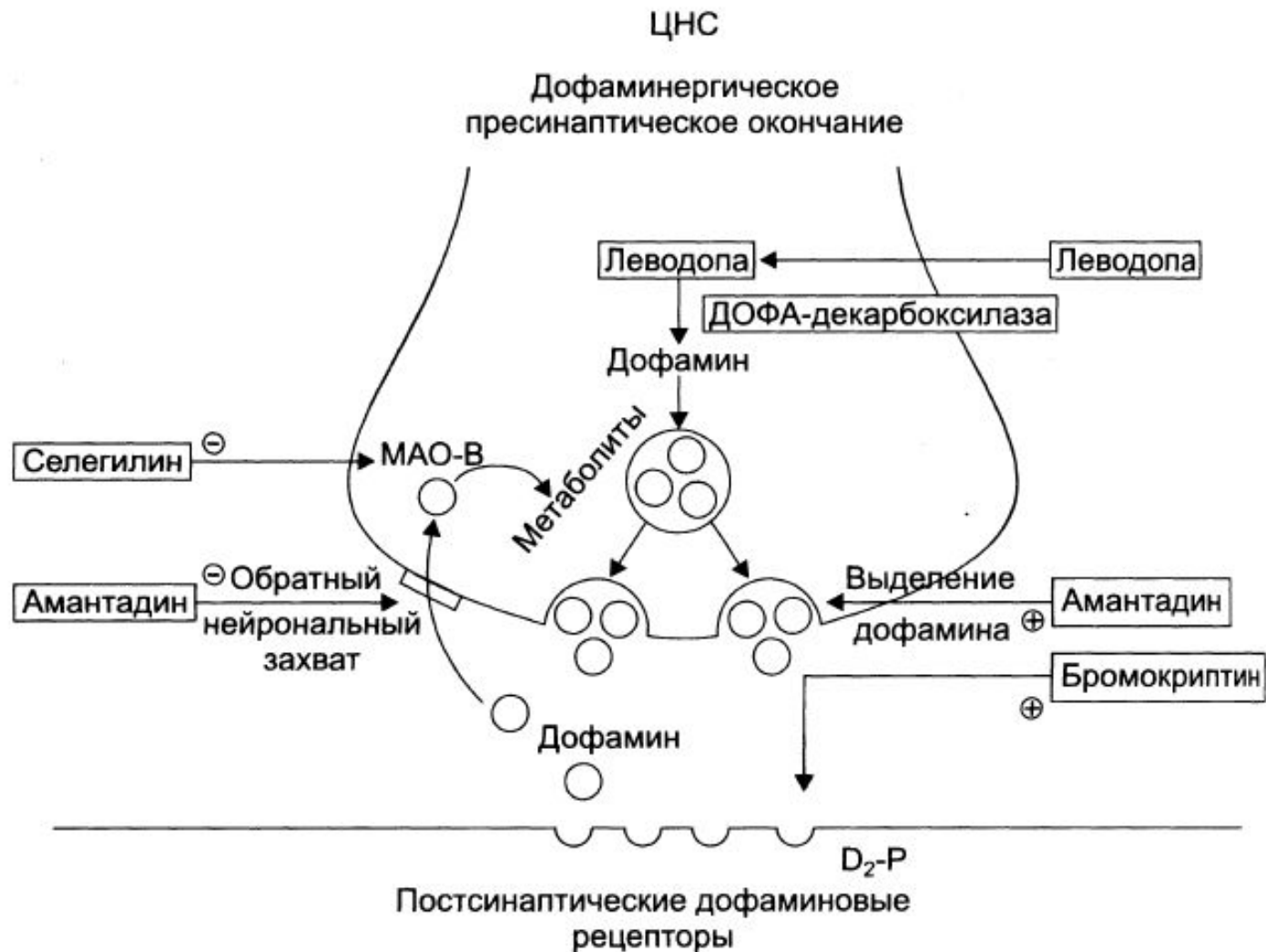
□ Для дальнейшего анализа панели дифференциально экспрессирующихся генов была использована база данных DAVID

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



**Современные лекарственные методы
лечения БП: мишени и препараты**

ПЕРСПЕКТИВЫ

Клеточная терапия

Эмбриональные стволовые клетки

Фетальная нервная ткань

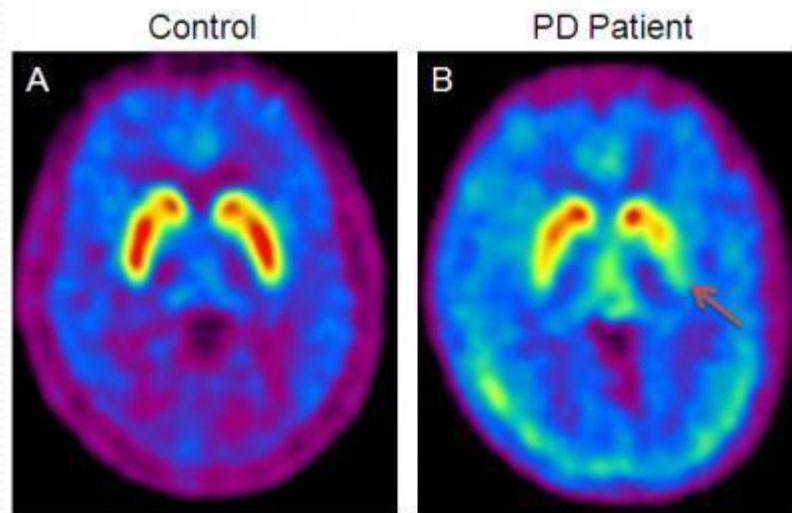
ДА-нейроны на основе iPS

*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-ДОРА



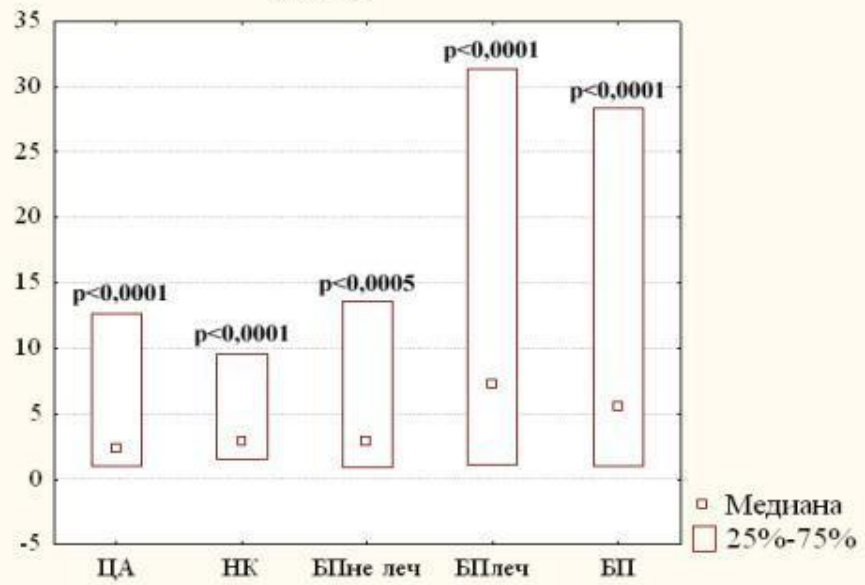
**НО ЭТОТ МЕТОД НЕ ПРИГОДЕН ДЛЯ
МАССОВОГО СКРИНИНГА**

Массовый скрининг:

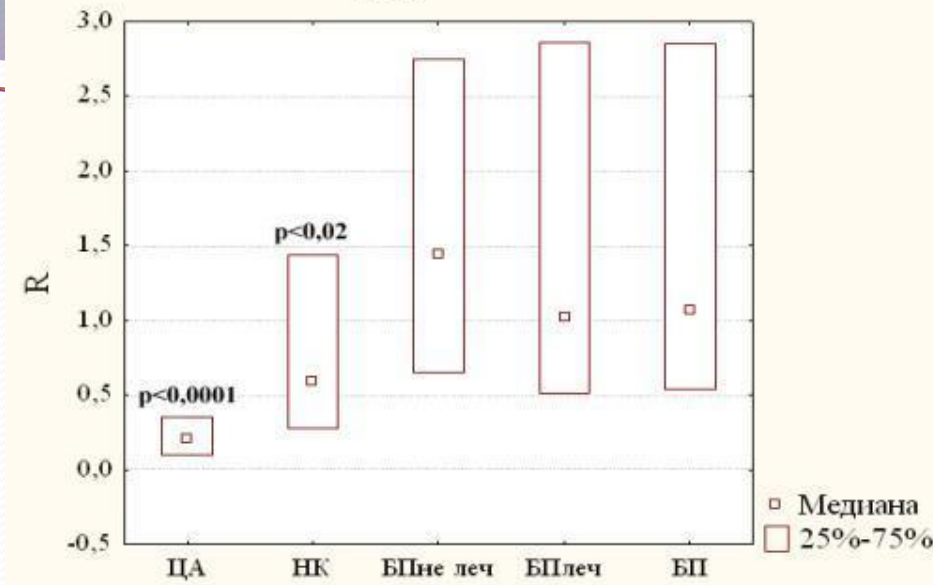
быстро - просто - относительно дешево

- 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.)

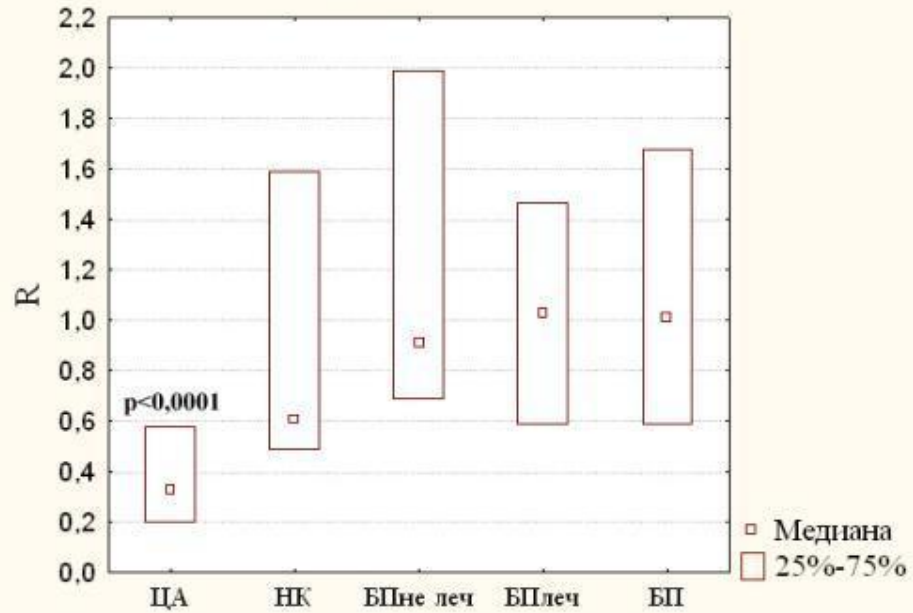
SNCA



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

НК - 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