

**Νόσος Πάρκινσον:
από την γενετική στην παθογένεια
και την θεραπεία**

**Λεωνίδας Στεφανής
Ιατρική Σχολή ΕΚΠΑ
ΙΙΒΕΑΑ**

Περίγραμμα ομιλίας

- Βασικά στοιχεία για τη νόσο του Πάρκινσον
- Γενετική βάση και παθογένεια νόσου Πάρκινσον
- Γενετική νόσου Πάρκινσον στον Ελληνικό χώρο
- Εστίαση στα λυσοσώματα και την αυτοφαγία

Περίγραμμα ομιλίας

- **Βασικά στοιχεία για τη νόσο του Πάρκινσον**
- Ανατομία βασικών γαγγλίων
- Βασικές αρχές οργάνωσης βασικών γαγγλίων-νευροχημεία
- Λειτουργική ανατομική συγκεκριμένων παράλληλων κυκλωμάτων βασικών γαγγλίων

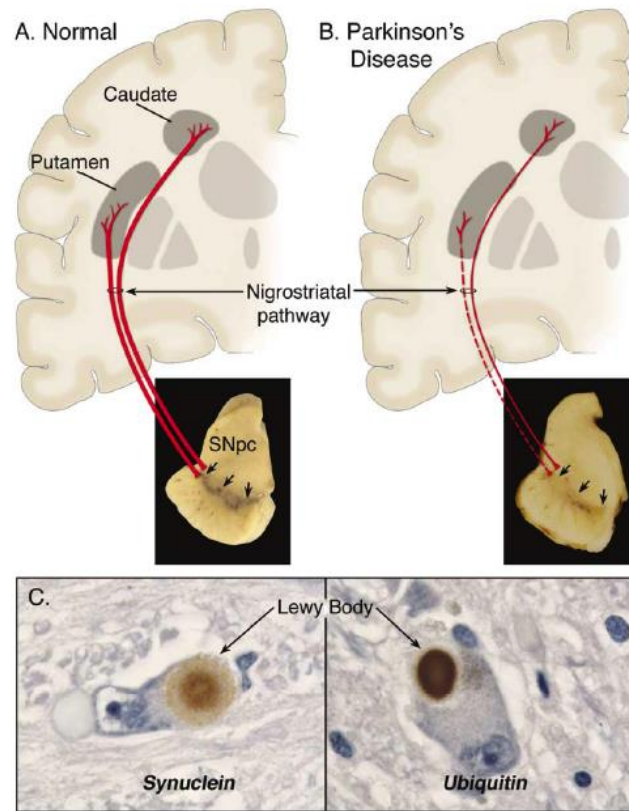
Ιδιοπαθής Νόσος Πάρκινσον

- Συχνότητα 0.3% στον γενικό πληθυσμό
- Συχνότητα αυξάνεται με την ηλικία
- Σε 10-20% των περιπτώσεων υπάρχει σαφές οικογενειακό ιστορικό
- Το κάπνισμα και η κατανάλωση καφέ είναι αρνητικοί παράγοντες κινδύνου
- Ενοχοποιούνται περιβαλλοντολογικοί παράγοντες, όπως η έκθεση σε φυτοφάρμακα

Νόσος Πάρκινσον: Βασική Κλινική Συμπτωματολογία/Σημειολογία

- Βραδυκινησία
- Τρόμος Ηρεμίας
- Δυσκαμψία
- Αστάθεια στάσης και βάδισης

Οι διαταραχές αυτές της κινητικότητας είναι αναγκαίες για την διάγνωση της νόσου, αλλά δεν συνιστούν την όλη κλινική εικόνα της νόσου



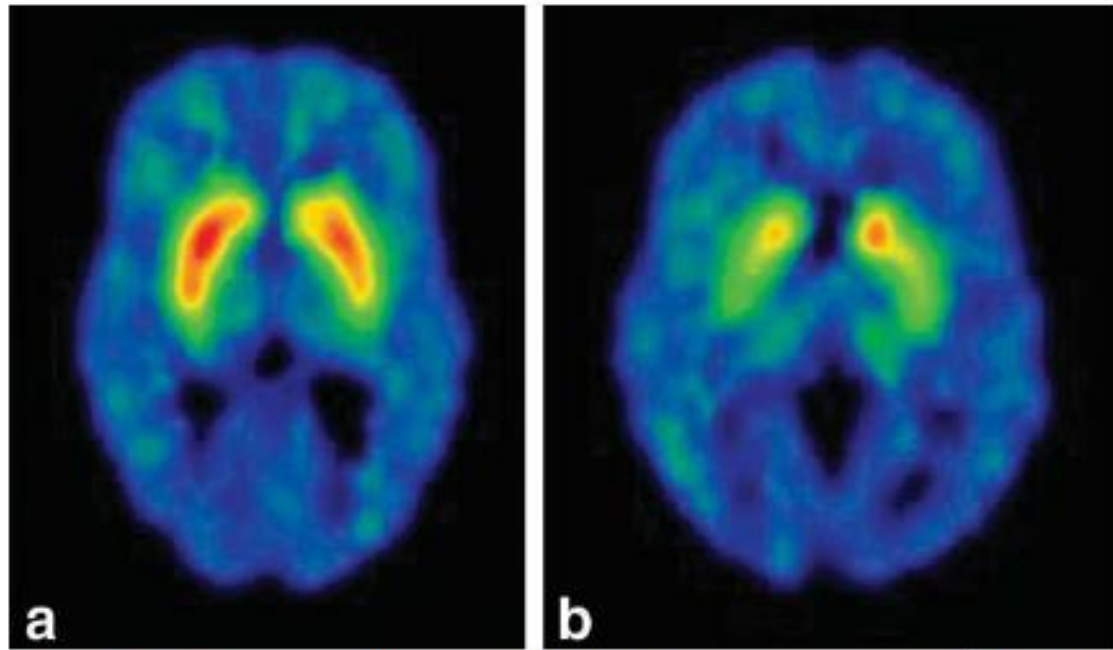
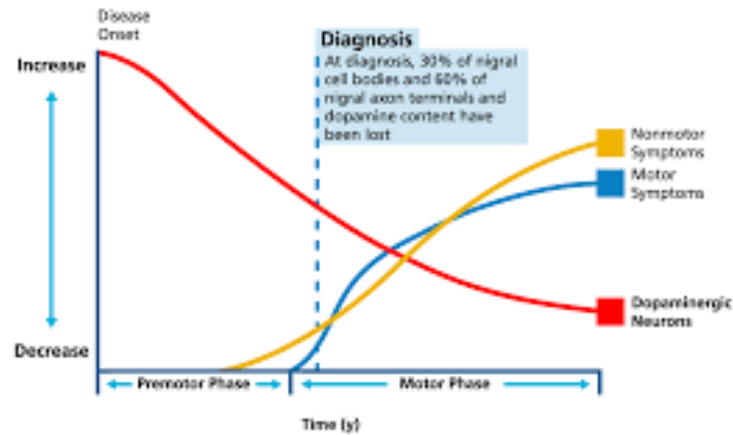


FIG. 1. Dopamine transporter binding assessed with [^{11}C]d-*threo*-methylphenidate in a healthy age-matched control subject (**a**) and an asymptomatic carrier of a mutation in LRRK2 (**b**). Courtesy of UBC-TRIUMF PET group.

Περιορίζεται η νόσος Πάρκινσον στον Παρκινσονισμό?

- Στην πραγματικότητα, υπάρχει ένα ολόκληρο πλέγμα από μη κινητικά συμπτώματα που συνιστούν, μαζί με τα κινητικά, το πλαίσιο της νόσου
- Έχει προταθεί ο όρος “Parkinson’s Complex” για αν περιγράψει αυτό το πιο σύνθετο μείγμα σημείων και συμπτωμάτων
- Αυτά τα μη κινητικά συμπτώματα είναι σημαντικά, επειδή:
- Επηρεάζουν σημαντικά την ποιότητα ζωής
- Βοηθούν στην διάγνωση και διαφορική διάγνωση
- Μπορεί και να προηγούνται των κινητικών συμπτωμάτων

Evolution of non-motor and motor symptoms in parallel to neurodegeneration in Parkinson's Disease



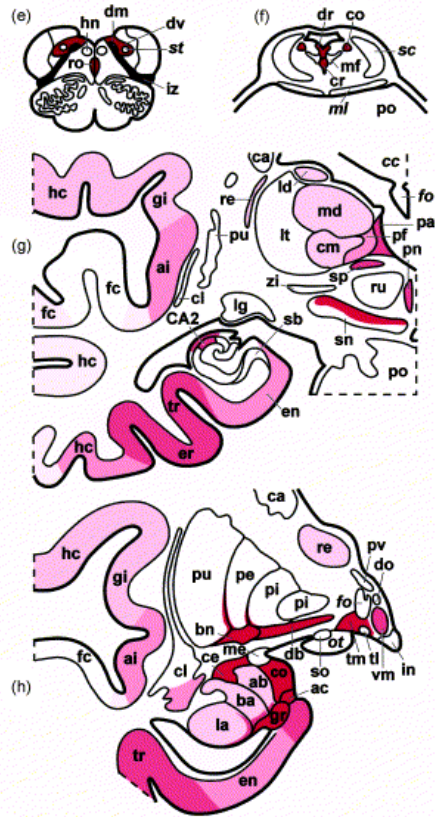
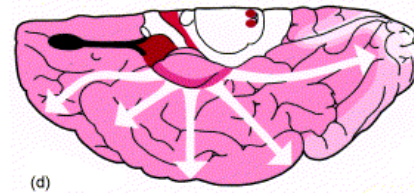
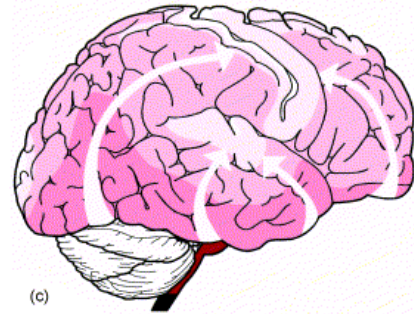
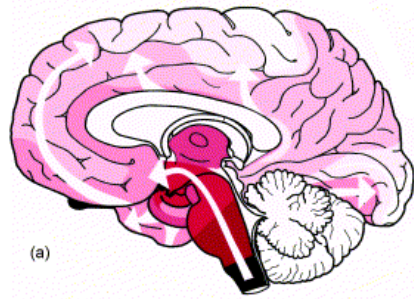
Ποια είναι αυτά τα μη κινητικά συμπτώματα?

- Επιμερίζονται σε:
- Αυτά που είναι μπορεί να προηγούνται των κινητικών συμπτωμάτων
- Αυτά που αποτελούν παρενέργειες αντι-Παρκινσονικών φαρμάκων
- Αυτά που είναι παρόντα στην προχωρημένη ΝΠ
- Αυτά που σχετίζονται και αυτά που δεν σχετίζονται με το ντοπαμινεργικό σύστημα

The tip of the iceberg



Progression of PD-related intraneuronal pathology



(i)

	dm	co	sn	mc	hc	fc
1	1					
2	2	2				
3	3	3	3			
4	4	4	4	4		
5	5	5	5	5	5	
6	6	6	6	6	6	6

Braak et al., 2003

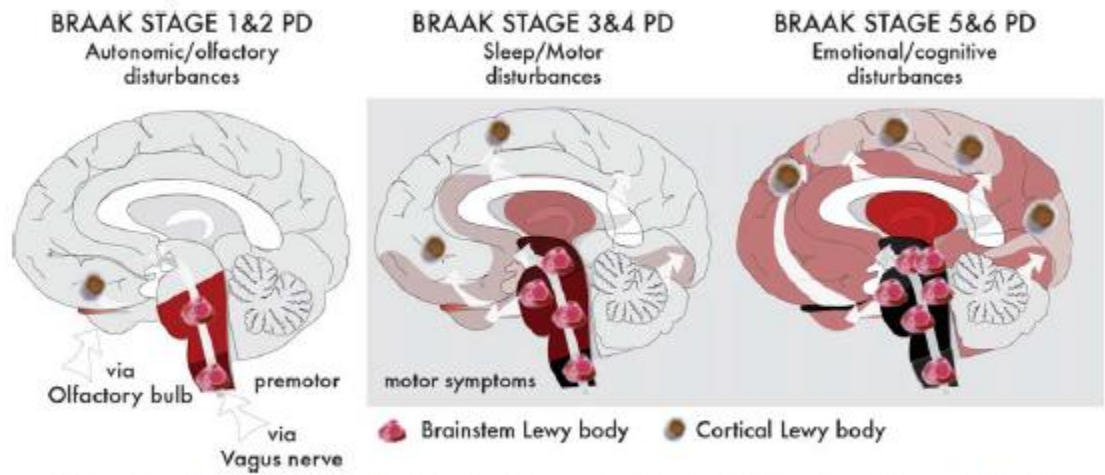


FIG. 1. Stylized representation of the Braak staging for Parkinson's disease showing the initiation sites in the medulla oblongata and olfactory bulb through to the later infiltration of Lewy pathology into the cortical regions.

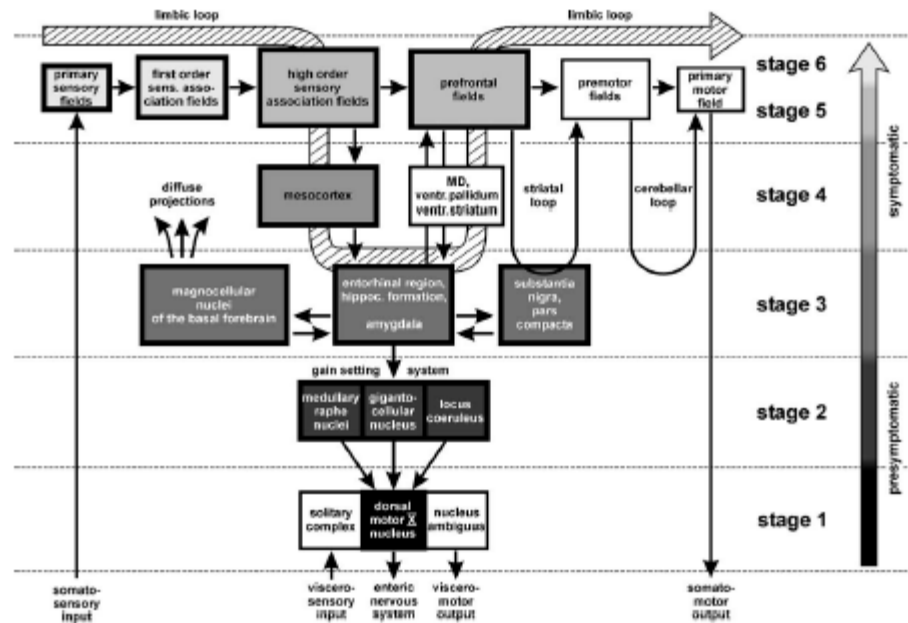


Fig. 2. Brain structures involved in PD that may contribute to the development of cognitive decline fall into three groups: (1) all of the nuclear groups that generate diffuse projections to the cortex and various subcortical targets: i.e., the noradrenergic locus coeruleus (involvement from stage 2 onwards), the dopaminergic projection neurons of the ventral tegmentum, as well as the cholinergic magnocellular nuclei of the basal forebrain (involvement from stage 3 onwards); (2) limbic sites that are crucial for learning and memory (involvement from stage 4 onwards): the temporal mesocortex, the entorhinal region, and hippocampal formation. These components of the so-called "limbic loop" (cross-hatching) are essential to the transfer of information from the high order sensory association neocortex to the prefrontal neocortex via the ventral striatum/pallidum and mediodorsal thalamus; (3) the neocortex itself, which becomes involved in the final phase of the disease process (stages 5 and 6). Increasing degrees of shading indicate the growing severity of the pathology during the course of the disease. Abbreviations: hippoc—hippocampal, MD—mediodorsal thalamus, sens—sensory, ventr—ventral.

Non-motor Parkinson's: integral to motor Parkinson's, yet often neglected

Table 2 Non-motor symptoms in the premotor PD

Commonly associated—with reasonable evidence base

Hyposmia (usually of late onset and idiopathic)	10 times increase in risk of developing PD;+abnormal DATScan—43% develop motor PD in 4 years ³³
Rapid eye movement sleep behaviour disorder	25–40% risk of developing a synucleinopathy at 5 years; 40–65% risk of developing a synucleinopathy at 10 years ³⁴
Constipation	2.7–4.5 times increased risk of PD ³⁵
Depression	2.4 times increased risk of developing PD ³⁶

Described associations

Excessive daytime sleepiness	3.3 times increased risk of PD ³⁷
Fatigue (a sense of exhaustion as opposed to sleepiness)	In 45%—a premotor symptom ³⁸
Pain (often unilateral and in affected limb)	34% increased risk of PD ³⁹
Erectile dysfunction	3.8 times increased risk of PD ⁴⁰

PD, Parkinson's disease.

To cite: Todorova A,
Jenner P, Ray Chaudhuri K.
Pract Neurol Published Online
First: [please include Day
Month Year] doi:10.1136/
practneurol-2013-000741

Μη κινητικά συμπτώματα που μπορεί να αποτελούν παρενέργειες αντι-Παρκινσονικών φαρμάκων

- Ορθοστατική Υπόταση
- Ημερήσια Υπνηλία
- Διαταραχή ελέγχου παρορμήσεων
- Ψευδαισθήσεις
- Οργανικό Ψυχοσύνδρομο
- Σύνδρομο απόσυρσης από αγωνιστές ντοπαμίνης
- Απομονωμένο παραλήρημα

Isolated delusional syndrome in Parkinson's Disease[☆]

Nikos Stefanis^{a,b,1}, Maria Bozi^{c,1}, Christos Christodoulou^d, Athanassios Douzenis^d,
Gerasimos Gasparinatos^c, Eleftherios Stamboulis^c, Costas Stefanis^b, Leonidas Stefanis^{c,*}

Parkinsonism and Related Disorders 16 (2010) 550–552

A B S T R A C T

Psychotic features in patients with Parkinson's Disease usually present as visual hallucinations against a background of cognitive deterioration and dopaminomimetic therapy. Isolated delusions are rare. We report here 4 patients with Parkinson's Disease who developed a delusional syndrome resembling schizophreniform psychosis in the absence of changes in alertness, visual hallucinations or dementia. We suggest that this syndrome may be more common than previously recognized, and that it may be related to the use of dopaminergic medications and environmental triggers on a background of a susceptible individual. This syndrome suggests interesting parallels with the pathophysiology of amphetamine-induced psychosis and schizophrenia.

© 2010 Elsevier Ltd. All rights reserved.

Πρώιμη και όψιμη Νόσος Πάρκινσον

- **Πρώιμη ΝΠ:** Τα συμπτώματα επηρεάζουν σε μικρό μόνο βαθμό την καθημερινή λειτουργικότητα, καλή ανταπόκριση στην φαρμακολογική θεραπεία
- **Όψιμη ΝΠ:** Τα συμπτώματα, και κινητικά και μη κινητικά, επηρεάζουν σημαντικά την ποιότητα ζωής. Η ανταπόκριση στην φαρμακευτική θεραπεία είναι μειωμένη, και μπορεί να είναι ασταθής

Συμπτώματα στην όψιμη Νόσο Πάρκινσον

- Σημαντικές κινητικές διακυμάνσεις και υπερκινησίες
- «Αξονικά» συμπτώματα, όπως πάγωμα, πτώσεις, δυσκαταποσία, δυσαρθρία, που δεν ανταποκρίνονται σε φαρμακευτικές θεραπείες
- Νοητική έκπτωση, που μπορεί αν είναι βαρεία, μέχρι του επιπέδου της άνοιας
- Νευροψυχιατρικές Διαταραχές, όπως παραλήρημα και ψευδαισθήσεις
- Διαταραχές ύπνου
- Δυσλειτουργία Αυτονόμου Νευρικού Συστήματος

Άνοια σε ΝΠ (PD Dementia, PDD) και Άνοια με σωμάτια Lewy (Dementia with Lewy Bodies, DLB)

- Η διαφοροποίηση αφορά την χρονική συσχέτιση άνοιας-Παρкинσονισμού
- PDD συνήθως εμφανίζεται σε κάποιον που έχει χρόνια ΝΠ
- Στην DLB ο κινητικός Παρκινσονισμός και η άνοια αρχίζουν σχεδόν ταυτόχρονα
- Σε μια τυχαία επίσκεψη στο ιατρείο, οι ασθενείς είναι αρκετά παρόμοιοι
- Οι περισσότεροι ειδικοί υποστηρίζουν την άποψη ότι οι ασθενείς αυτοί αποτελούν μέρος του φάσματος της ίδιας νοσολογικής οντότητας
- Στην DLB παθολογία Alzheimer-type είναι πιο εμφανής

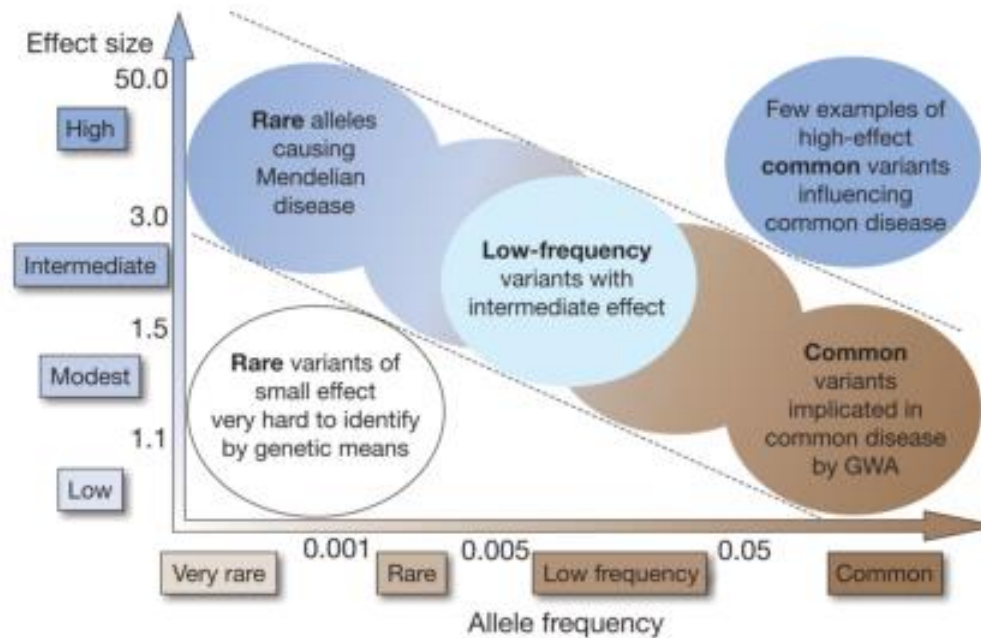
Περίγραμμα ομιλίας

- Βασικά στοιχεία για τη νόσο του Πάρκινσον
- Ανατομία βασικών γαγγλίων
- Βασικές αρχές οργάνωσης βασικών γαγγλίων-νευροχημεία
- **Γενετική βάση και παθογένεια νόσου Πάρκινσον**
- Γενετική νόσου Πάρκινσον στον Ελληνικό χώρο
- Μελέτη PPMI

Παθογένεια Νόσου Πάρκινσον

- Γενετική και περιβάλλον
- Μεγάλη έμφαση στην γενετική βάση τα τελευταία έτη

Πλαίσιο γενετικών διαταραχών που σχετίζονται με πολυπαραγοντικές νόσους



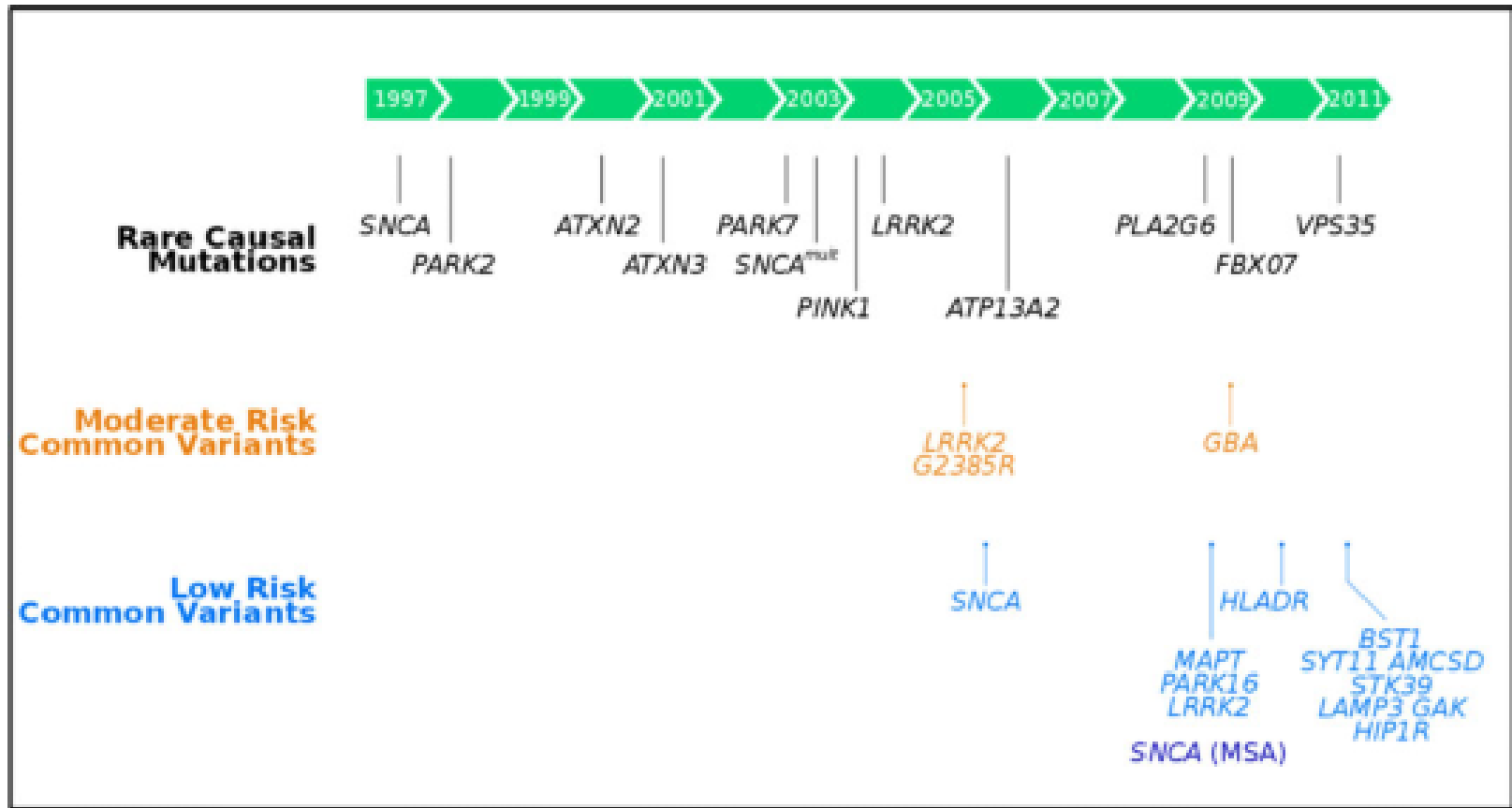
Published in final edited form as:

Nature. 2009 October 8; 461(7265): 747–753. doi:10.1038/nature08494.

Finding the missing heritability of complex diseases

Teri A. Manolio¹, Francis S. Collins², Nancy J. Cox³, David B. Goldstein⁴, Lucia A.

Scheme of genetic defects linked to Parkinson's Disease



Mendelian forms of Parkinson's Disease

Table 1 Monogenic loci for Parkinson's disease

Locus	Gene symbol	Gene product	Mode of inheritance	Age at onset	References
<i>PARK1/PARK4</i>	<i>SNCA</i>	α -synuclein	AD	Missense mutations: 30 to 60 years 30s triplication, 40/50s duplication	[102, 117]
<i>PARK2</i>	<i>PARK2</i>	Parkin	AR	Wide range from the first decade to the fifth	[59]
<i>PARK6</i>	<i>PINK1</i>	Pten-induced kinase 1	AR	30–50 years	[127]
<i>PARK7</i>	<i>PARK7</i>	DJ1	AR	20–40 years	[6]
<i>PARK8</i>	<i>LRRK2</i>	Leucine-rich repeat kinase 2	AD	Wide range from 30–50	[95, 139]
<i>PARK9</i>	<i>ATP13A2</i>	ATPase type 13A2	AR	10–22 years	[104]
<i>PARK14</i>	<i>PLA2G6</i>	Phospholipase A2, group VI	AR	Classical type first decade Dystonia-parkinsonism type 20s	[92]
<i>PARK15</i>	<i>FBXO7</i>	F-box protein 7	AR	Late teens	[17]
<i>PARK17</i>	<i>VPS35</i>	Vacuolar protein sorting 35 homolog	AD	40–50 years	[129, 138]
	<i>PANK2</i>	Pantothenate kinase 2	AR	Classical type first decade. Parkinsonian type 20s	[126, 137]

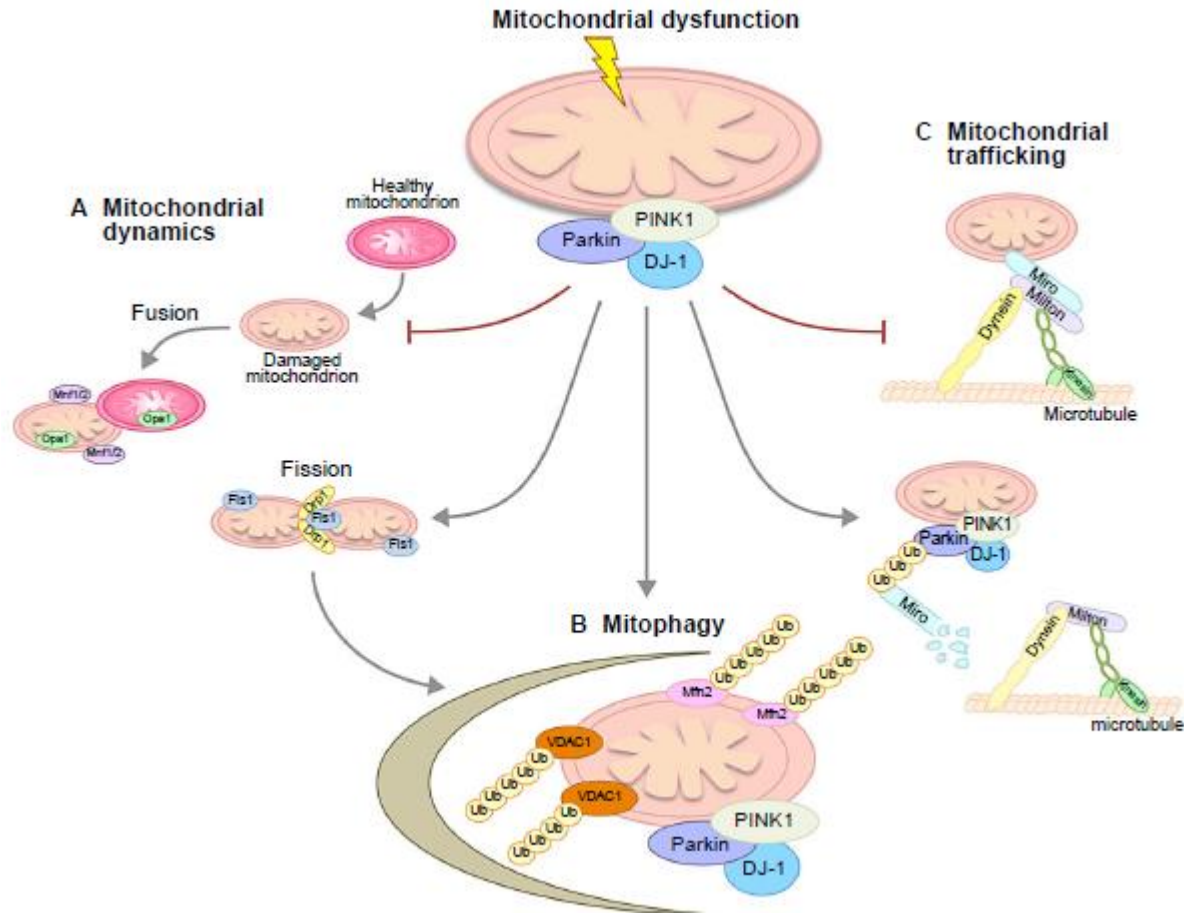
AD autosomal dominant, *AR* autosomal recessive

Clinical, biochemical and pathological features of monogenic forms of PD

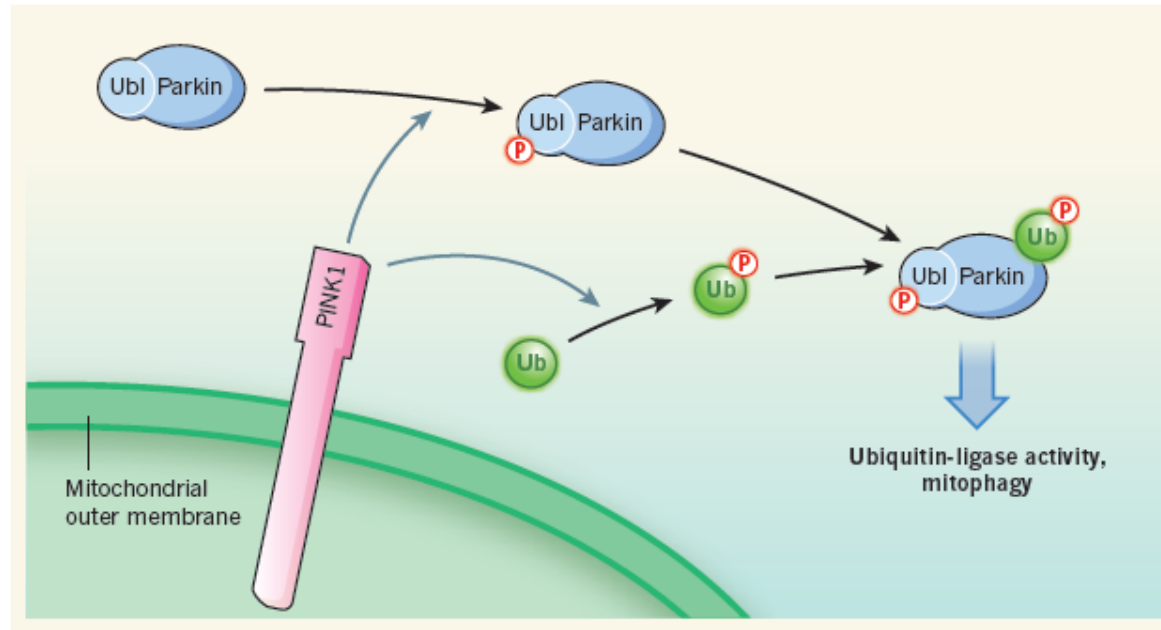
TABLE 1. Main genes implicated in PD

Gene	Inheritance	Dementia	L-dopa Response	Lysosomal Trafficking	Mitochondrial Regulation	α -Syn Pathology
<i>DJ-1</i>	AR	–	+++	–	+++	?
<i>PARKIN</i>	AR	–	+++	–	+++	+/-
<i>PINK1</i>	AR	–	+++	–	+++	+/-
<i>LRRK2</i>	AD	+/-	++	+	–	++
<i>SNCA</i>	AD	++	++	+	–	+++
<i>GBA</i>	–	++	++	+++	–	+++
<i>ATP13A2</i>	AR	+++	+/-	+++	–	?
<i>VPS35</i>	AD	+/-	++	++	–	?

Link of PINK1, Parkin to mitochondrial dynamics, mitophagy and motility



Molecular link between PINK1 and parkin in mitophagy revealed



LETTER

doi:10.1038/nature13392

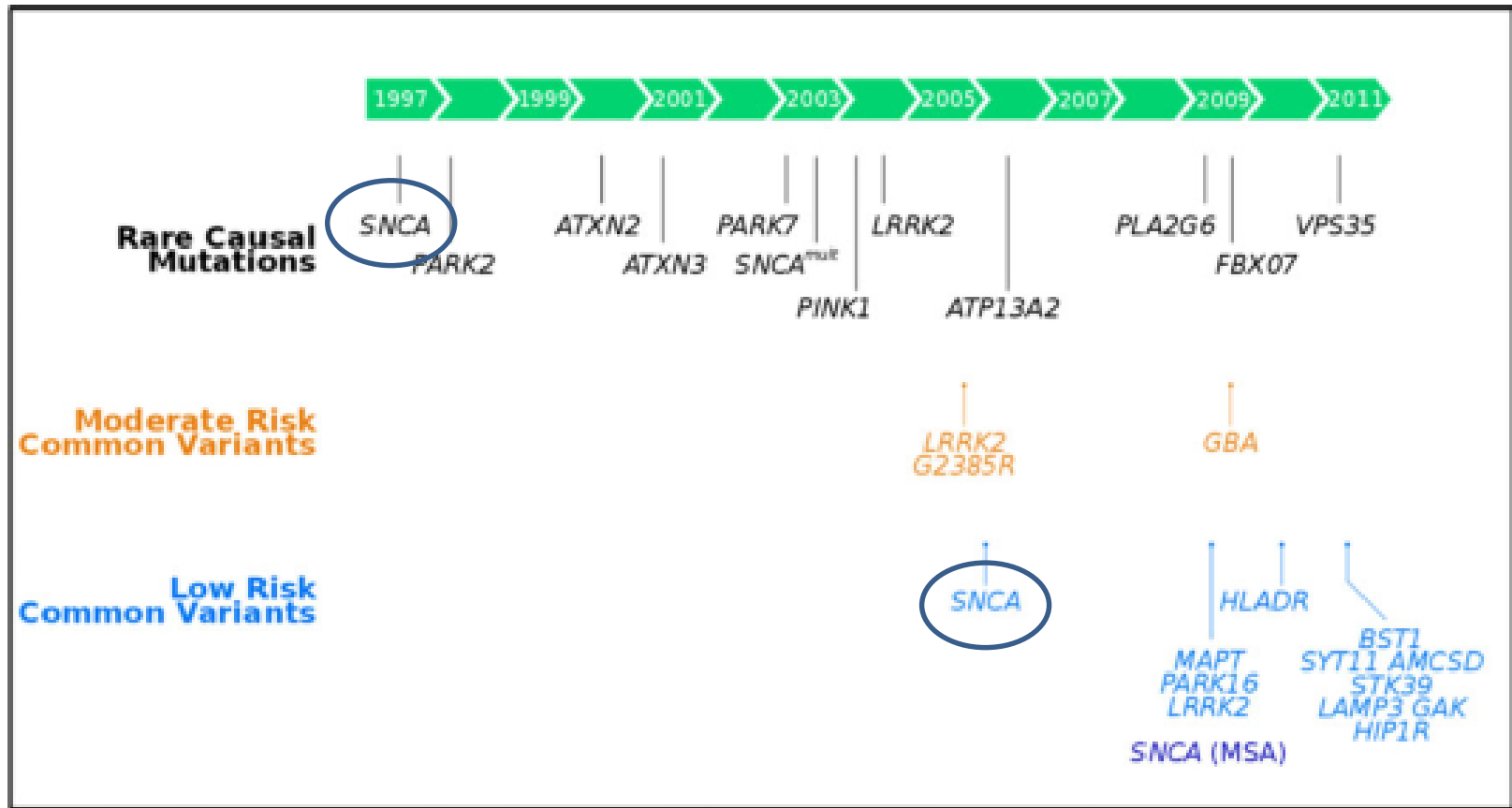
Ubiquitin is phosphorylated by PINK1 to activate parkin

Fumika Koyano^{1,2}, Kei Okatsu^{1,2}, Hidetaka Kosako³, Yasushi Tamura⁴, Etsu Go¹, Mayumi Kimura¹, Yoko Kimura^{1,5}, Hikaru Tsuchiya¹, Hidehito Yoshihara¹, Takatsugu Hirokawa⁶, Toshiya Endo^{7,8}, Edward A. Fon⁹, Jean-François Trempe¹⁰, Yasushi Saeki¹, Keiji Tanaka¹ & Noriyuki Matsuda^{1,11}

NEWS & VIEWS RESEARCH

A modified ubiquitin protein has been identified by three independent studies as the missing link in a cellular quality-control pathway that is implicated in Parkinson's disease. SEE LETTER P.162

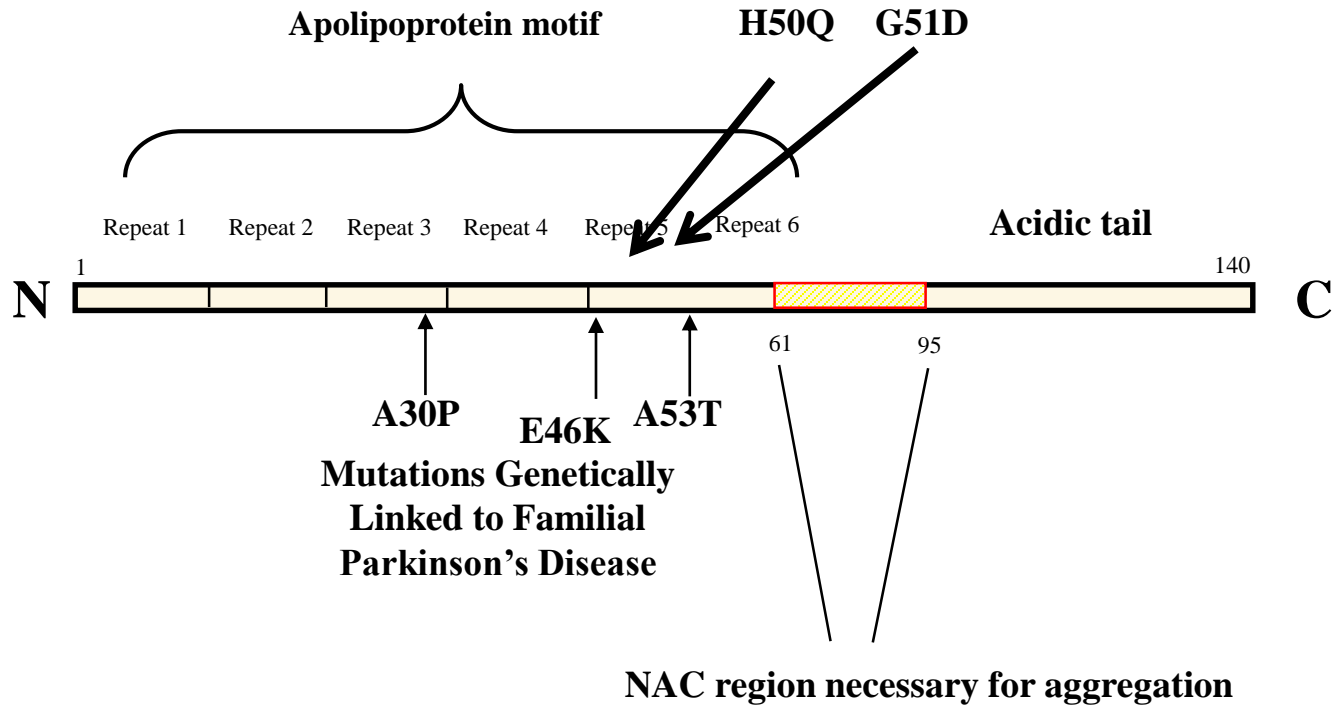
Scheme of genetic defects linked to Parkinson's Disease



Η α-συνουκλείνη παίζει καθοριστικό ρόλο στη νόσο Πάρκινσον

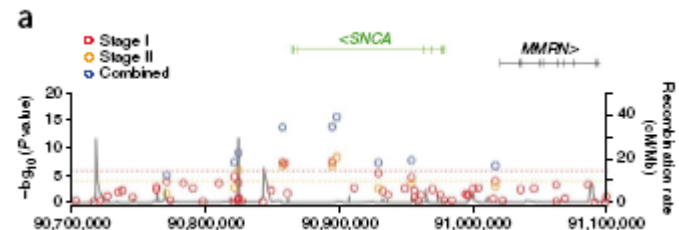
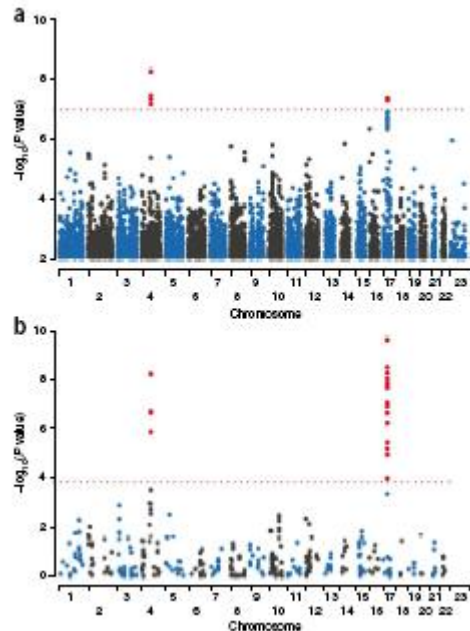
- Σημειακές μεταλλάξεις στην α-συνουκλείνη (A30P, A53T, E46K) οδηγούν σε νόσο Πάρκινσον ή DLBD (PARK1 locus)
- Υπερέκφραση της φυσιολογικής α-συνουκλείνης μπορεί να οδηγήσει σε νόσο Πάρκινσον (PARK4 locus)
- Πολυμορφισμοί του SNCA οδηγούν σε αυξημένη πιθανότητα ανάπτυξης της νόσου ακόμη και σε σποραδικά περιστατικά
- Είναι βασικό συστατικό των LBs
- Έχει την ιδιότητα να αναδιπλώνεται με ανώμαλο τρόπο, και να δημιουργεί ολιγομερή και συσσωματώσεις που προσομοιάζουν με αμυλοειδές

Schematic representation of alpha-synuclein structure

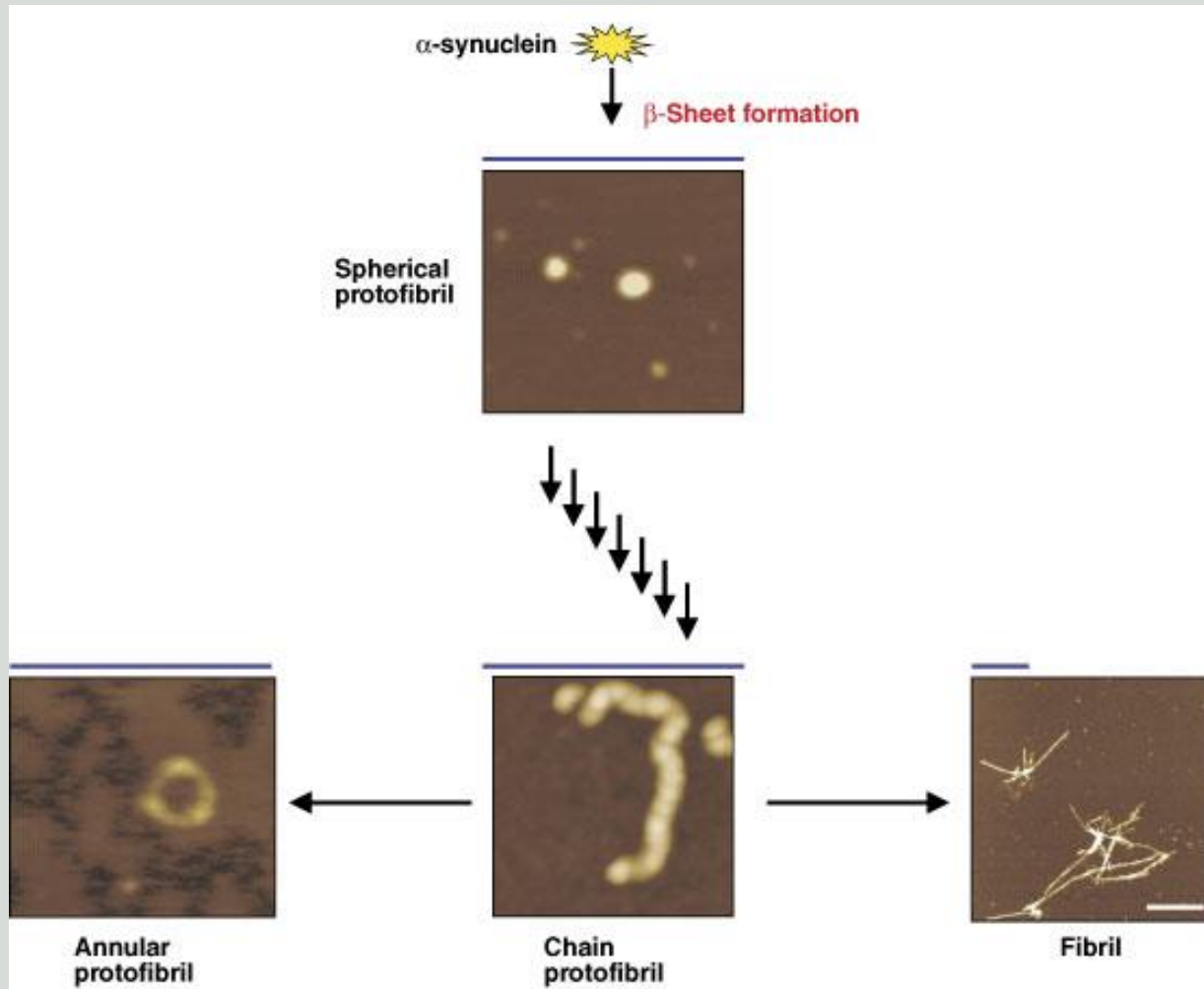


Genome-wide association study reveals genetic risk underlying Parkinson's disease

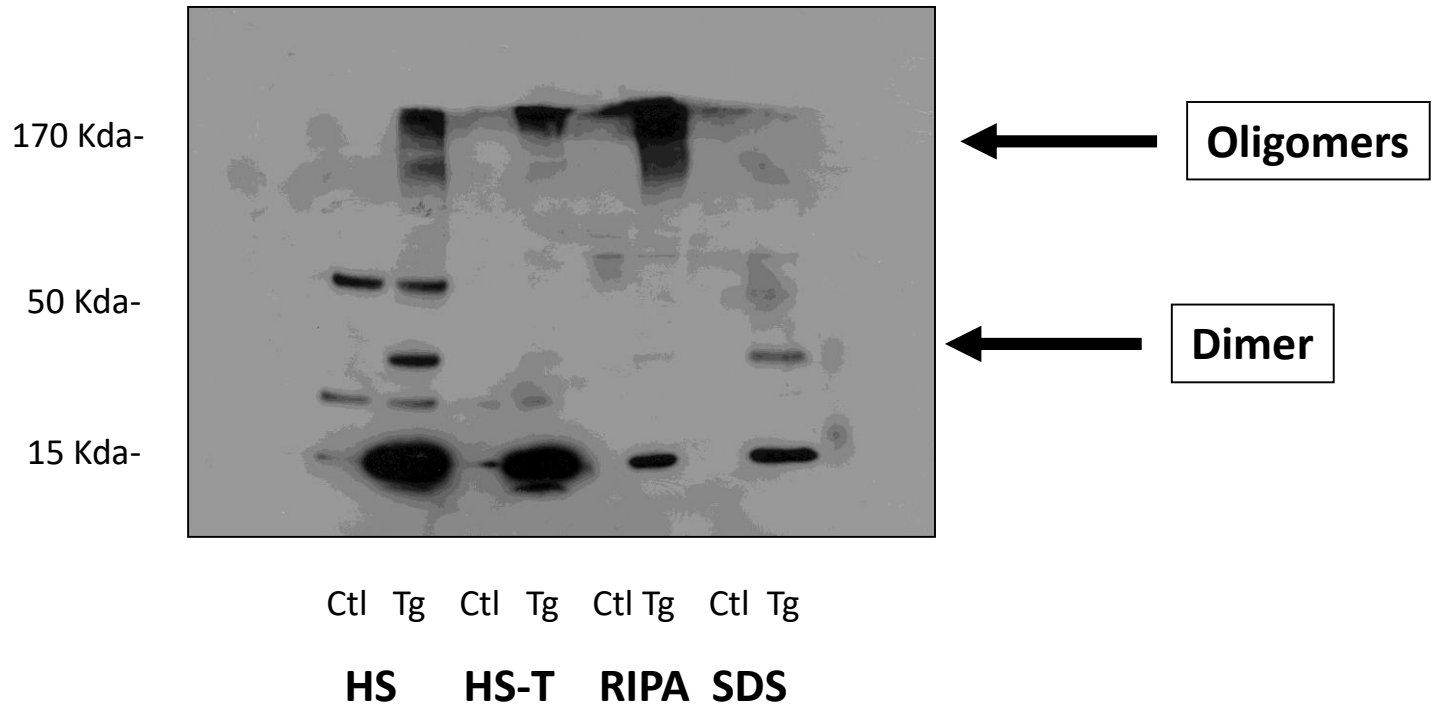
Javier Simón-Sánchez^{1,2,22}, Claudia Schulte^{3,22}, Jose M Bras^{1,4,22}, Manu Sharma^{3,22}, J Raphael Gibbs^{1,5}, Daniela Berg³, Coro Paisan-Ruiz⁵, Peter Lichtner⁶, Sonja W Scholz^{1,5}, Dena G Hernandez^{1,5}, Rejko Krüger³, Monica Federoff¹, Christine Klein⁷, Alison Goate⁸, Joel Perlmutter⁸, Michael Bonin⁹, Michael A Nalls¹, Thomas Illig¹⁰, Christian Gieger¹⁰, Henry Houlden⁵, Michael Steffens¹¹, Michael S Okun¹², Brad A Racette⁸, Mark R Cookson¹, Kelly D Foote¹², Hubert H Fernandez¹², Bryan J Traynor¹, Stefan Schreiber¹³, Sampath Arepalli¹, Ryan Zonozzi¹, Katrina Gwinn¹⁴, Marcel van der Brug^{1,15}, Grisel Lopez¹⁶, Stephen J Chanock¹⁷, Arthur Schatzkin¹⁷, Yikyung Park¹⁷, Albert Hollenbeck¹⁸, Jianjun Gao¹⁹, Xuemei Huang²⁰, Nick W Wood⁵, Delia Lorenz²¹, Günther Deuschl²¹, Honglei Chen¹⁹, Olaf Riess⁹, John A Hardy⁵, Andrew B Singleton¹ & Thomas Gasser³



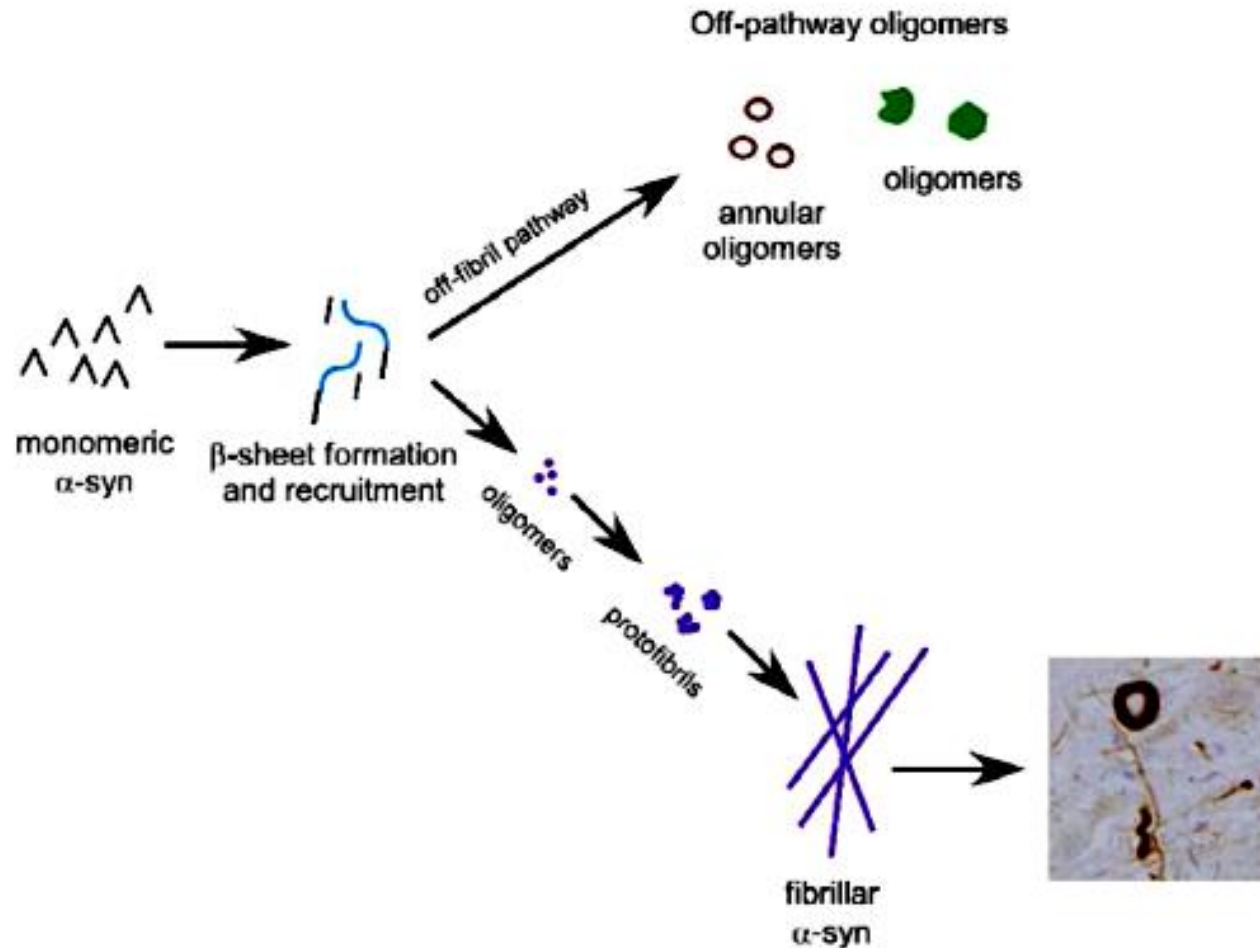
α -synuclein oligomeric species



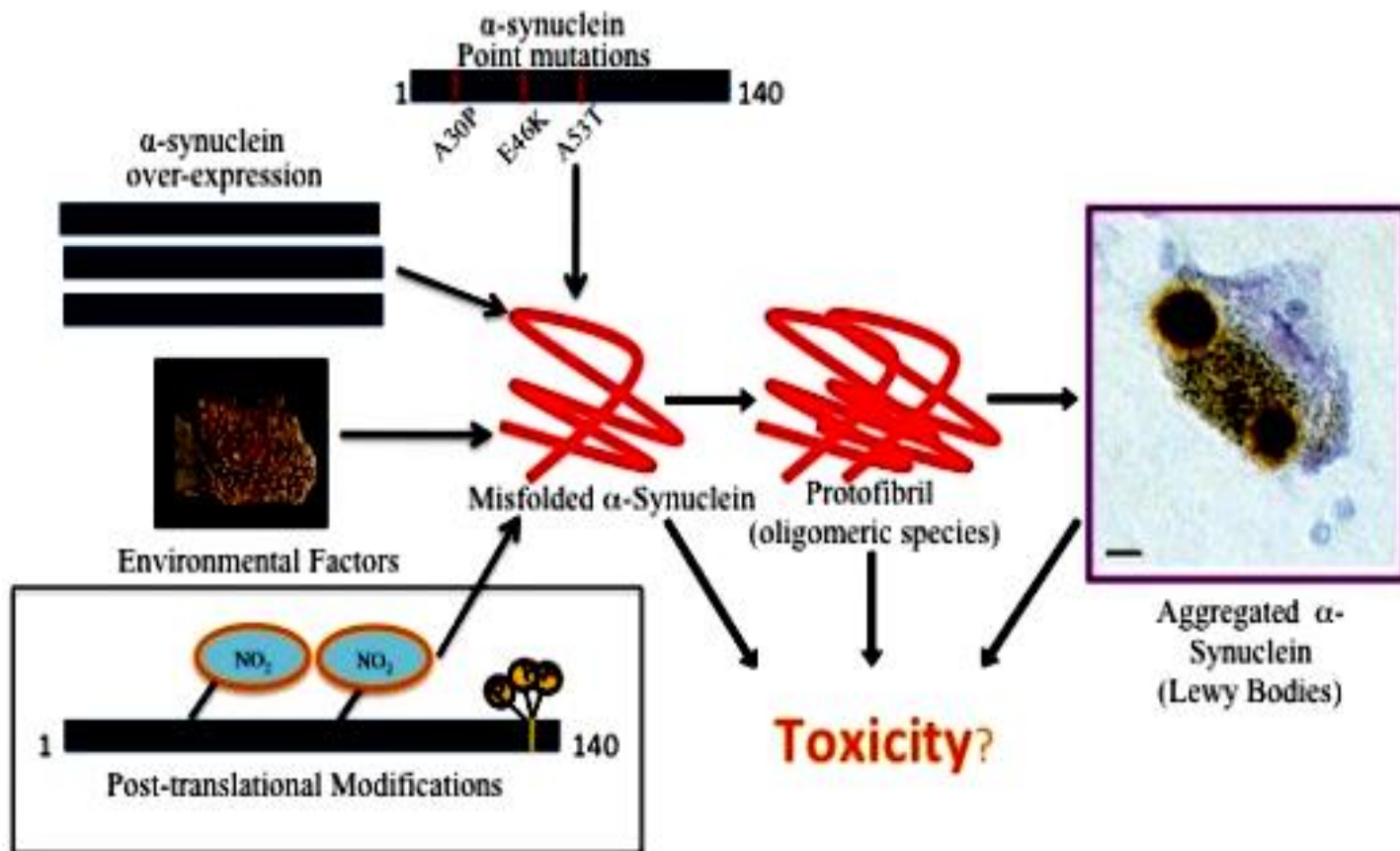
Various oligomeric species of ASYN in extracts of VM of Tg mice expressing A53T ASYN



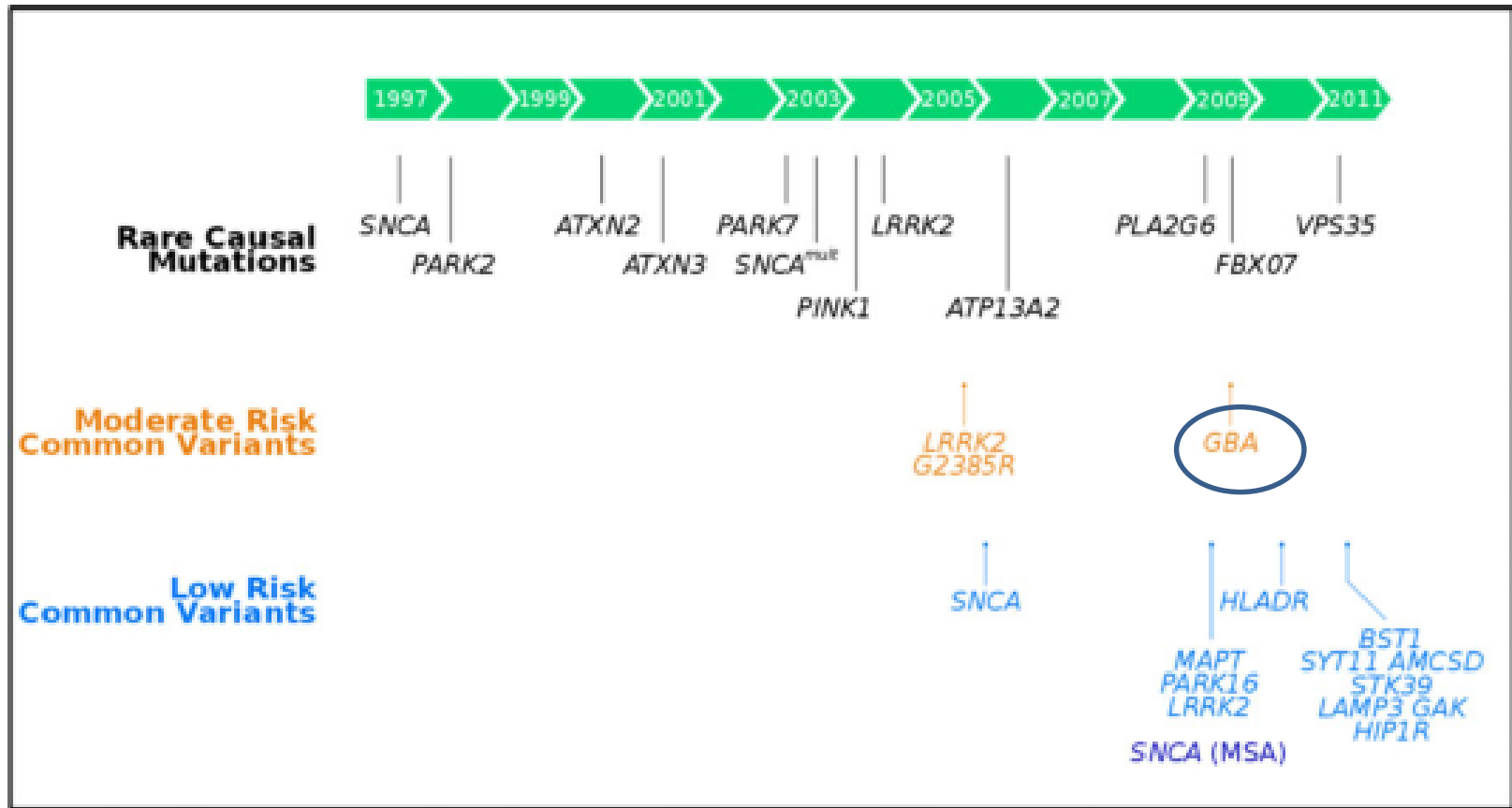
Pathogenic alpha-synuclein variants



Pathogenic alpha-synuclein variants



Scheme of genetic defects linked to Parkinson's Disease



The genetics and neuropathology of Parkinson's disease

Acta Neuropathol (2012) 124:325–338

Ellen Sidransky

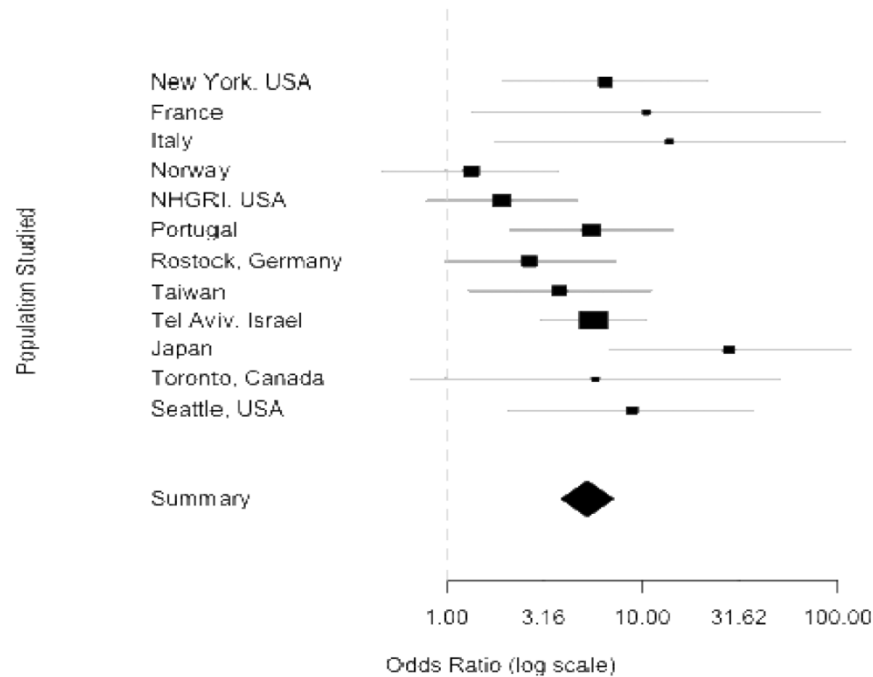


**Sidransky et al.:
Multi-center analysis of glucocerebrosidase
mutations in
Parkinson disease**

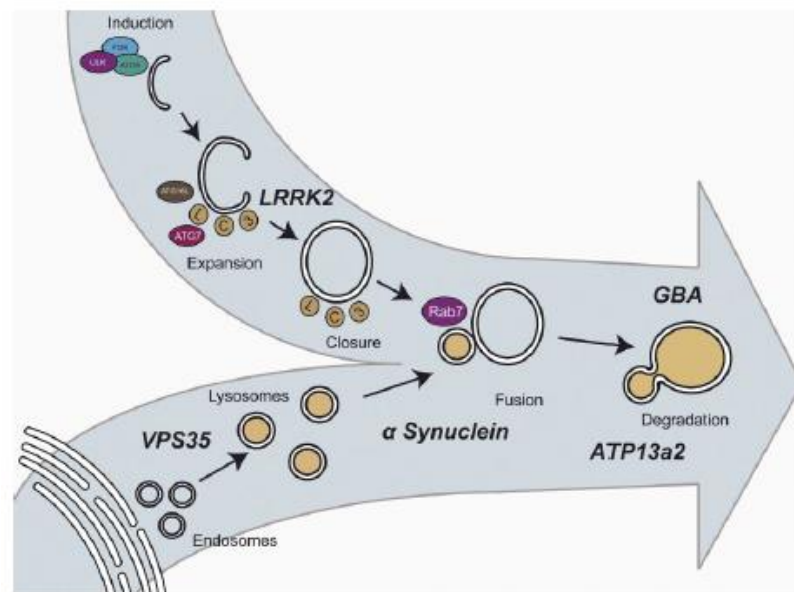
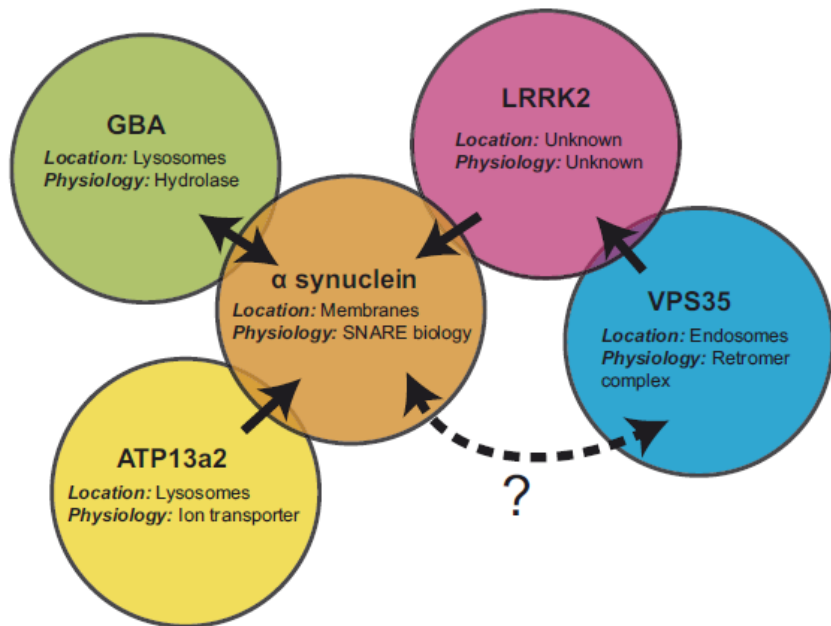
**N Engl J Med. 2009 October 22; 361(17):
1651–1661**

Multi-center analysis of glucocerebrosidase mutations in Parkinson disease

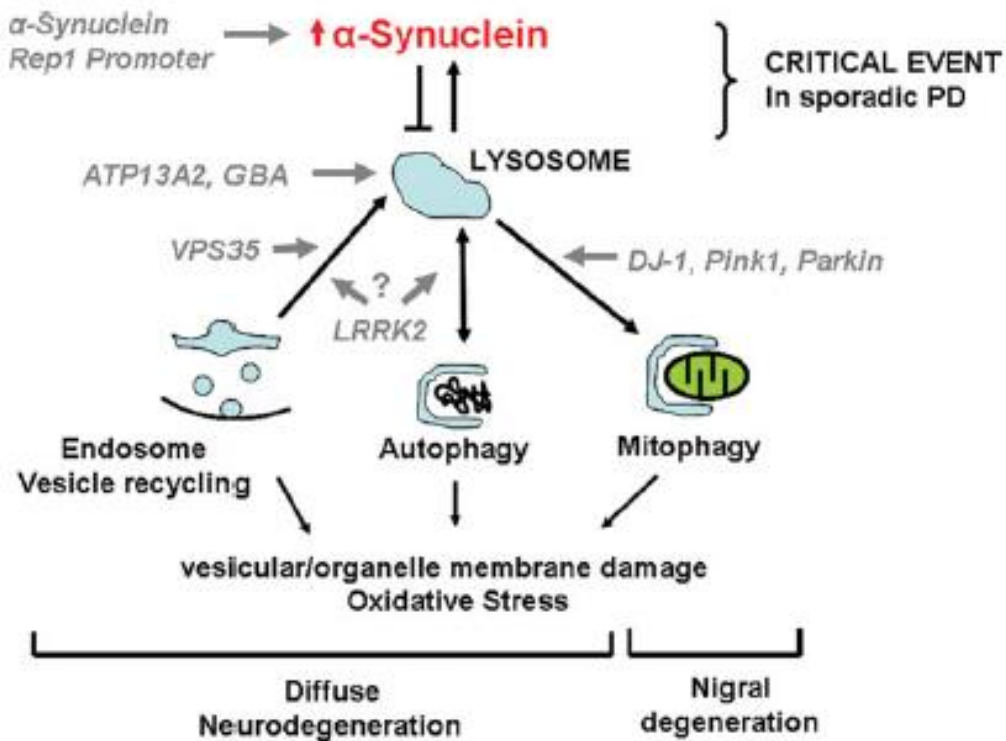
Figure 1A



Dysfunction of the autophagy/lysosomal degradation pathway is a shared feature of the genetic synucleinopathies

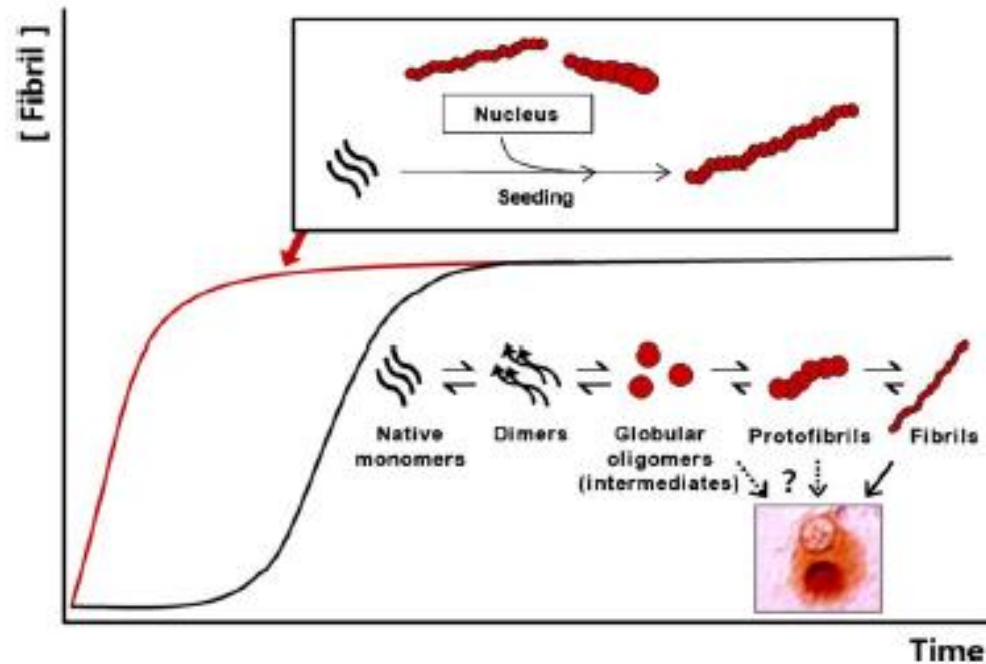


Link of PD genes to lysosomes/endosomes



Central role of abnormal folding of alpha-synuclein

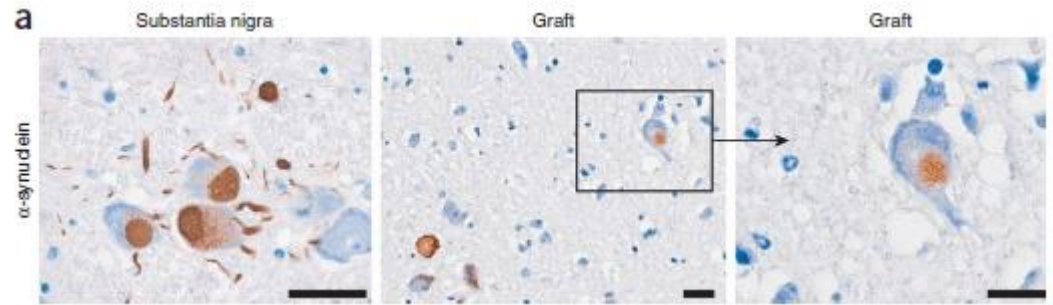
S.-J. Lee et al. / Neuroscience Research 70 (2011) 339–348



The idea of «nucleation»

Lewy bodies in grafted neurons in subjects with Parkinson's disease suggest host-to-graft disease propagation

Jia-Yi Li¹, Elisabet Englund², Janice L Holton³, Denis Soulet¹, Peter Hagell⁴, Andrew J Lees³, Tammarn Lashley³, Niall P Quinn⁵, Stig Rehncrona⁶, Anders Björklund⁷, Håkan Widner⁴, Tamas Revesz^{3,9}, Olle Lindvall^{4,8,9} & Patrik Brundin^{1,9}

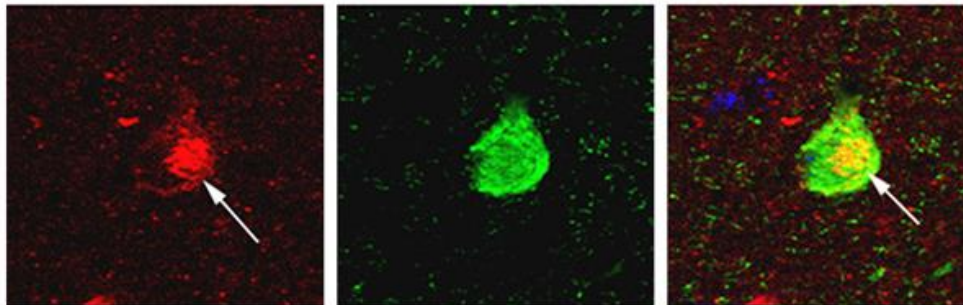


NATURE MEDICINE VOLUME 14 | NUMBER 5 | MAY 2008

Inclusion formation and neuronal cell death through neuron-to-neuron transmission of α -synuclein

Paula Desplats^{a,1}, He-Jin Lee^{b,c,1}, Eun-Jin Bae^b, Christina Patrick^a, Edward Rockenstein^a, Leslie Crews^a, Brian Spencer^a, Eliezer Masliah^{a,2}, and Seung-Jae Lee^{b,2}

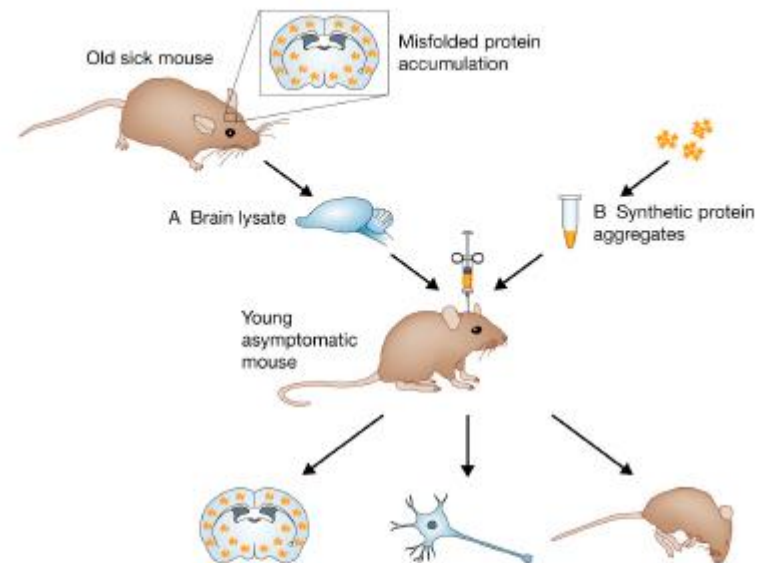
F



α -syn tg +
MCNSC-GFP
(4 weeks)

Prion-like spread of protein aggregates in neurodegeneration

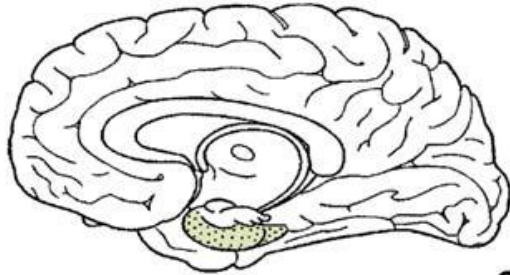
Magdalini Polymenidou and Don W. Cleveland



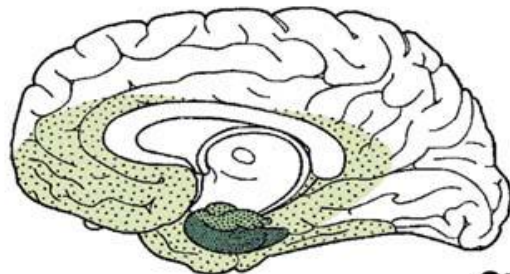
	Induction of aggregation		Neuronal loss		Fatal disease	
	Lysate	Synthetic	Lysate	Synthetic	Lysate	Synthetic
PrP ^{Sc}	Yes ¹	Yes ²	Yes ¹	Yes ²	Yes ¹	Yes ²
A β	Yes ³	No ³	Yes ³	No ³	No ³	No ³
α -synuclein	Yes ^{4,5}	Yes ⁵	Yes ^{4,5}	Yes ⁵	Yes ^{4,5}	Yes ⁵
Tau	Yes ⁶	n.d.	Yes ⁶	n.d.	No ⁶	n.d.

¹Initially by Chandler 1961 and replicated by many; ²Wang *et al.* 2010; ³Meyer-Luehmann *et al.* 2006; ⁴Mougenot *et al.* 2011; ⁵Ik *et al.* 2012; ⁶Clavaguera *et al.* 2009

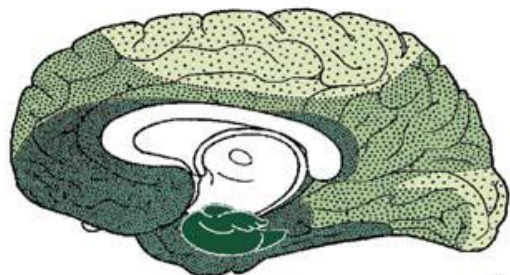
TAU



Stages I-II

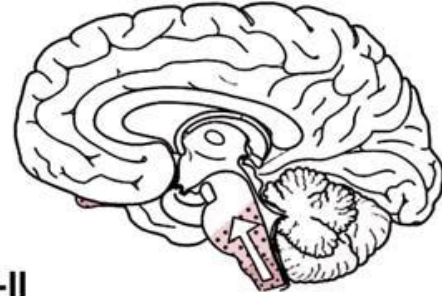


Stages III-IV

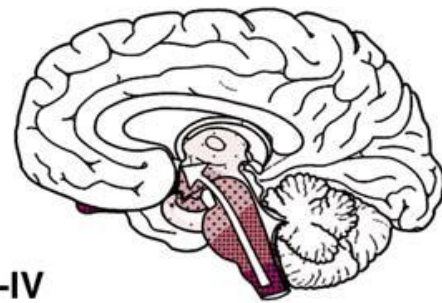


Stages V-VI

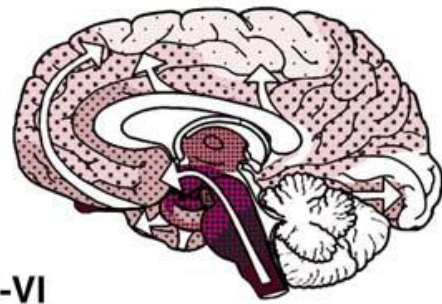
α -SYNUCLEIN



Stages I-II



Stages III-IV



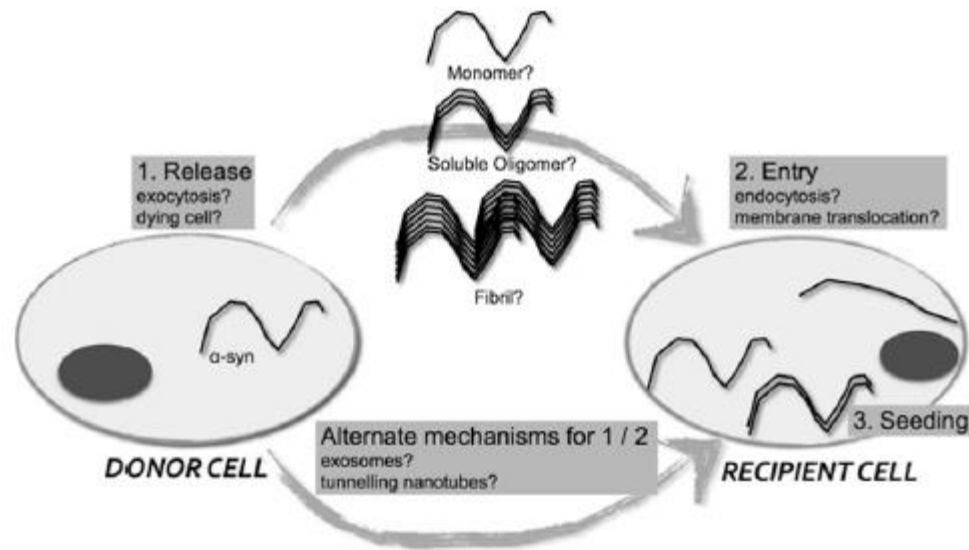
Μηχανισμοί διασποράς

- Μέσω ποιών μηχανισμών μπορεί να απελευθερώνονται από νευρώνες οι παθολογικές δομές πρωτεϊνών;
- Μέσω ποιών μηχανισμών μεταφέρονται σε άλλους νευρώνες;
- Μέσω ποιών μηχανισμών προσλαμβάνονται από άλλους νευρώνες και επηρεάζουν την ενδογενή αντίστοιχη πρωτεΐνη;



Dissecting the potential molecular mechanisms underlying α -synuclein cell-to-cell transfer in Parkinson's disease

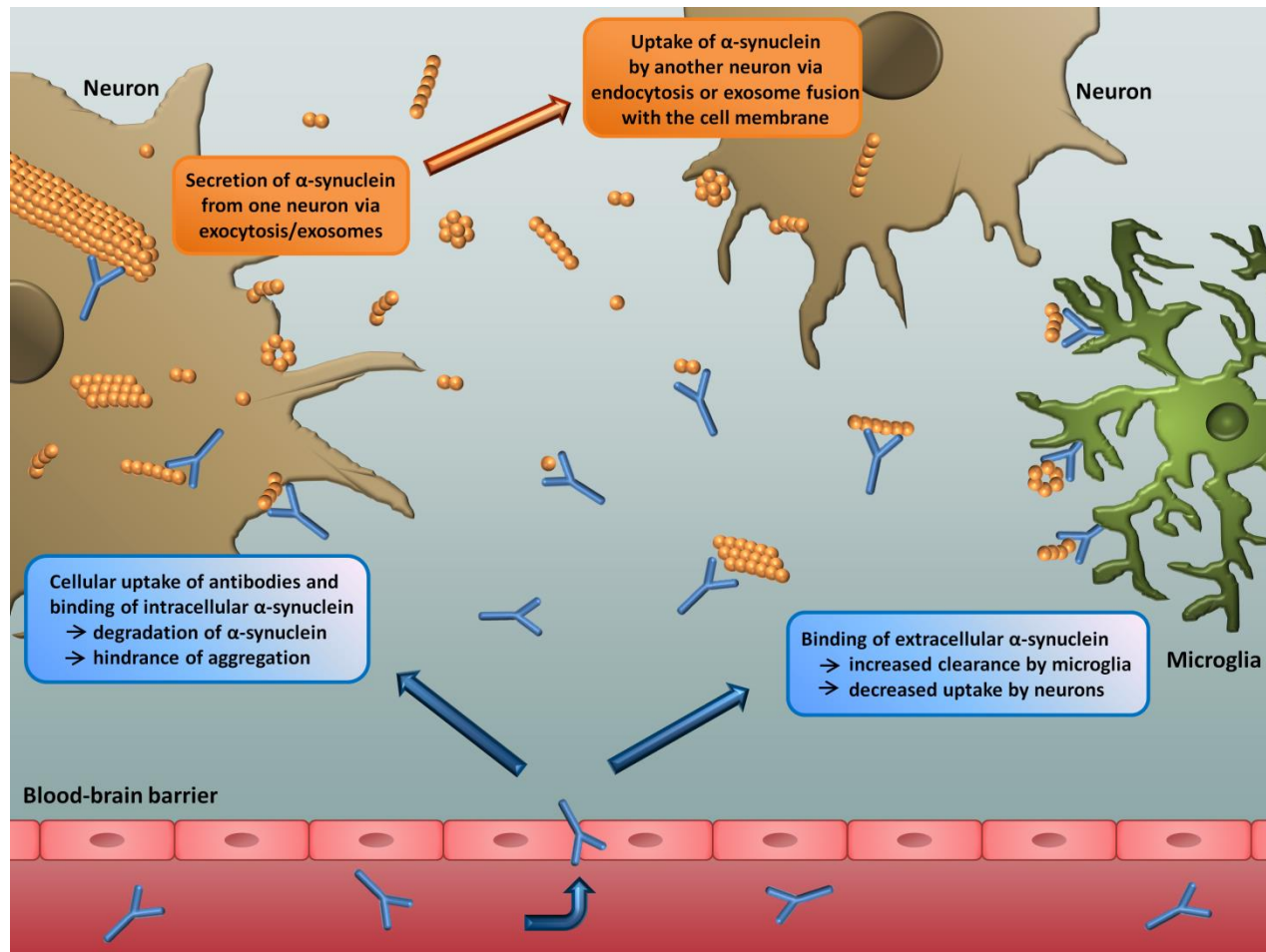
Elodie Angot and Patrik Brundin*



Θεωρία παθογένειας ΝΠ μέσω διασποράς τύπου prion

- Εξωκυττάρια α-συνουκλείνη, εκκρινόμενη από νευρωνικά κύτταρα, μπορεί να διασπείρει τη νόσο κατά μήκος του Νευρικού Συστήματος
- Μηχανισμός έκκρισης μπορεί να είναι μέσω εξωσωμάτων
- Ο μηχανισμός έκκρισης, οι εξωκυττάρια μορφές, και οι μηχανισμοί δια των οποίων προκαλούν τοξικότητα σε γειτονικά κύτταρα, ή εισέρχονται μέσα σε αυτά, είναι πιθανοί θεραπευτικοί στόχοι
- Ένας πιθανός θεραπευτικός τρόπος αντιμετώπισης είναι ο εμβολιασμός

Mechanisms of action of antibodies against alpha-synuclein



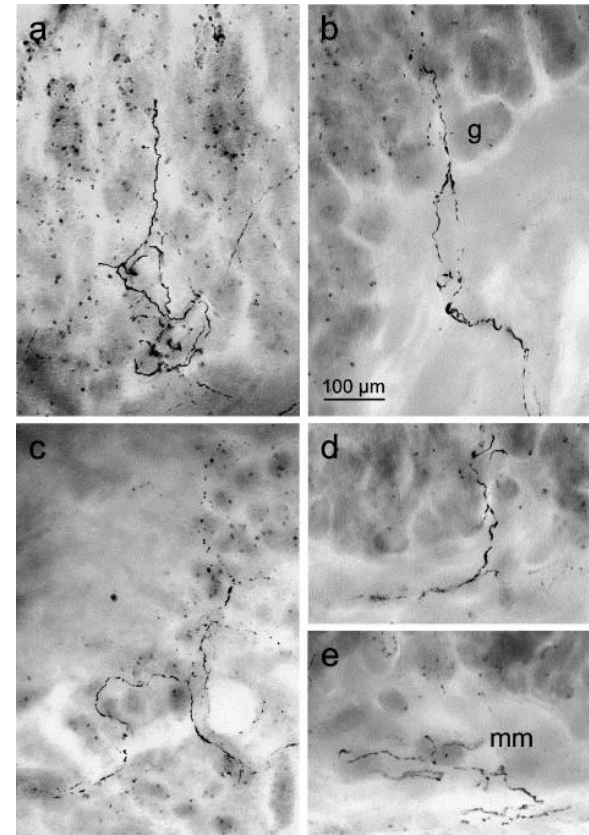
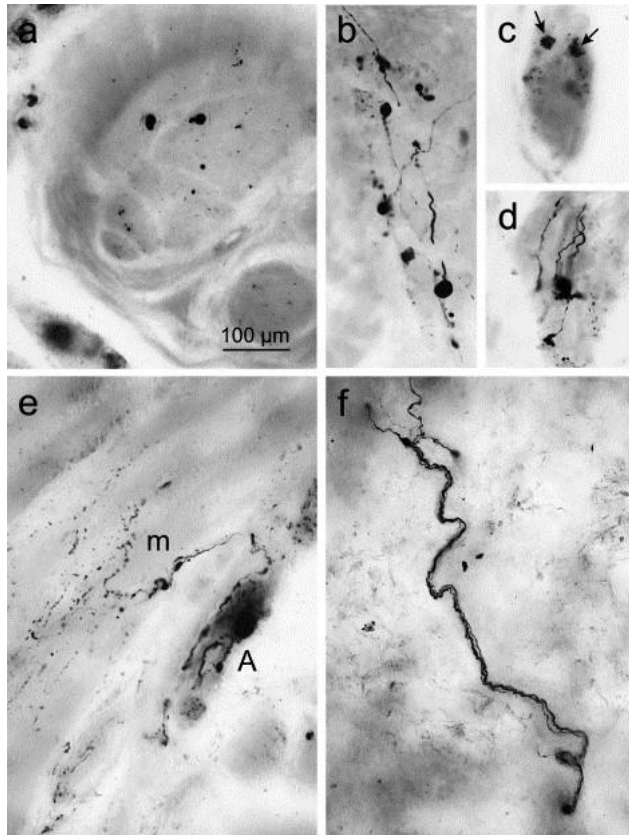
Εμβολιασμός ως θεραπευτική προσέγγιση στη νόσο Πάρκινσον

- Ενεργητικός και παθητικός εμβολιασμός φαίνεται να είναι αποτελεσματικός στην μείωση επιπέδων ολιγομερών μορφών της α-συνουκλείνης και στην μείωση προσυναπτικής δυσλειτουργίας και διαταραχών κινητικότητας που προκύπτουν από την υπερέκφραση της α-συνουκλείνης σε διαγονιδιακά μοντέλα ποντικού
- Τα λυσοσώματα φαίνεται να ενέχονται στην αποδόμηση της α-συνουκλείνης κατόπιν εμβολιασμού
- Στόχος εμβολιασμού μπορεί να είναι και η εξωκυττάρια α-συνουκλείνη
- Κλινικές μελέτες είναι εν εξελίξει σε ασθενείς με νόσο Πάρκινσον στην Ευρώπη και στις ΗΠΑ, με αυτές τις προσεγγίσεις

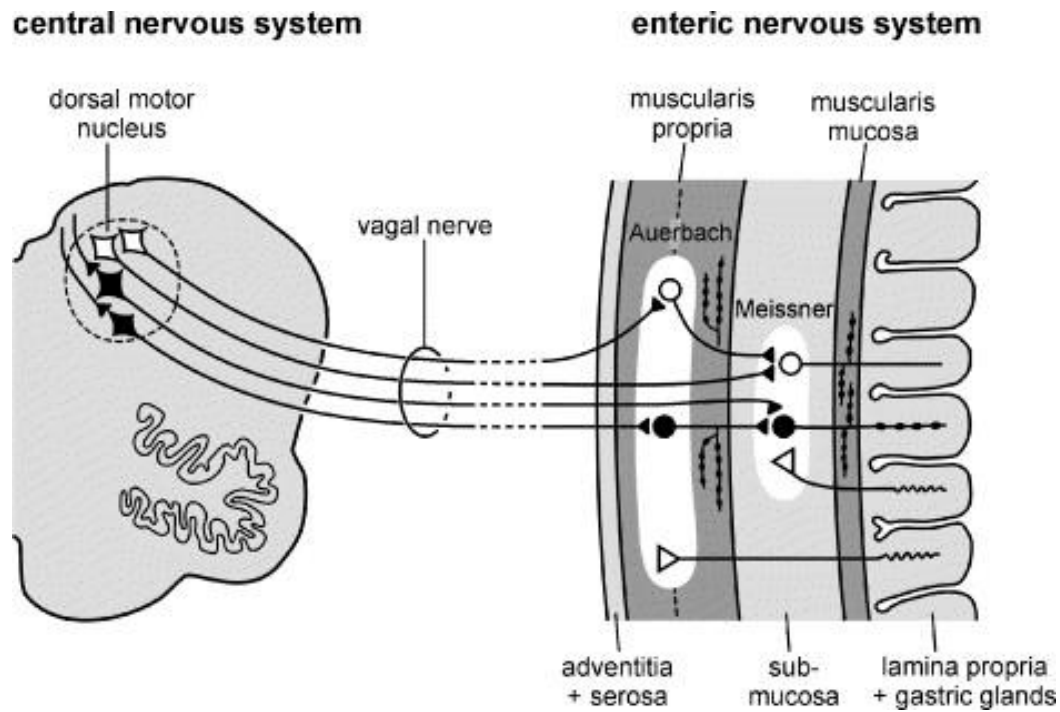
Η θεωρία των prionoids

- Στην θεωρία υπεισέρχεται και η έννοια της τυχαιότητας
- Σε κάποιον νευρώνα τυχαία, ή από συσσώρευση παραγόντων, αναπτύσσεται ένα prionoid
- Αυτό μετά διασπείρεται στον εγκέφαλο
- Για να γίνει όμως η αρχή, και να εξαπλωθεί μετά η νόσος, πρέπει να υπάρχει επιρρέπεια σε συγκεκριμένες περιοχές έναρξης της παθολογίας
- Οι περιοχές αυτές μπορεί να είναι και εκτός του ΚΝΣ

Παθολογική εναπόθεση α-συνουκλείνης στο εντερικό σύστημα



Πιθανό παθολογικό υπόστρωμα γαστρεντερικών διαταραχών



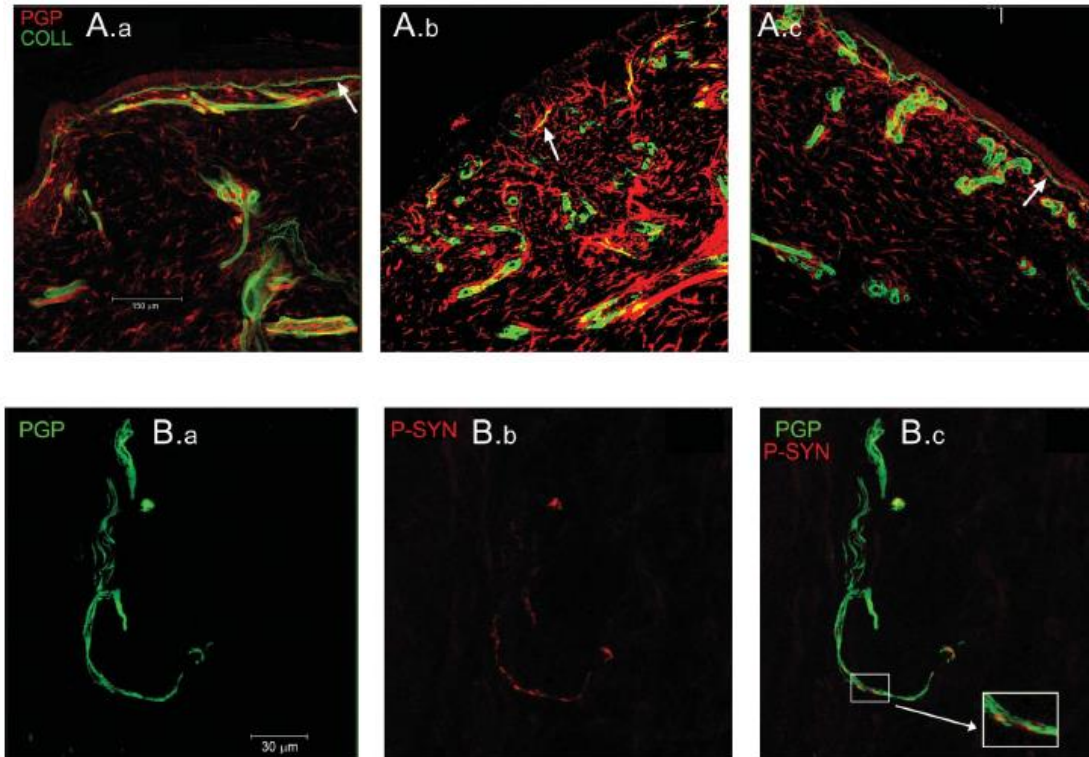
Παθολογική εναπόθεση α-συνουκλείνης και στο Περιφερικό Νευρικό Σύστημα

Skin nerve α -synuclein deposits

A biomarker for idiopathic Parkinson disease

Neurology® 2014;82:1362-1369

Vincenzo Donadio, MD,
PhD
Alex Incensi, BSc
Valentina Leta, MD
Maria Pia Giannoccaro,
MD
Cesa Scaglione, MD
Paolo Martinelli, MD
Sabina Capellari, MD
Patrizia Avoni, MD
Agostino Baruzzi, MD
Rocco Liguori, MD



Περίγραμμα ομιλίας

- Βασικά στοιχεία για τη νόσο του Πάρκινσον
- Ανατομία βασικών γαγγλίων
- Βασικές αρχές οργάνωσης βασικών γαγγλίων-νευροχημεία
- Γενετική βάση και παθογένεια νόσου Πάρκινσον
- **Γενετική νόσου Πάρκινσον στον Ελληνικό χώρο**
- Μελέτη PPMI

Genetic assessment of familial and early-onset Parkinson's disease in a Greek population

M. Bozi^{a,b}, D. Papadimitriou^c, R. Antonellou^a, M. Moraitou^d, M. Maniati^e, D. K. Vassilatis^e, S. G. Papageorgiou^a, A. Leonardos^a, G. Tagaris^f, G. Malamis^e, D. Theofilopoulos^g, S. Kamakar^g, E. Stamboulis^h, G. M. Hadjigeorgiouⁱ, A. Athanassiadou^j, H. Michelakakis^d, A. Papadimitriou^{c,j}, T. Gasser^k and L. Stefanis^{a,e}

Background and purpose: Although the first mutation associated with Parkinson's disease (PD) was identified several years ago in the alpha-synuclein (SNCA) gene in families of Greek and Italian ancestry, a more systematic study of this and other known PD mutations has not been performed in the Greek population.

Methods: A genetic analysis in 111 familial or sporadic with early-onset (≤ 50 years, EO) PD patients was performed for the presence of the A53T SNCA mutation. In separate subgroups of these patients, further mutations in the SNCA, LRRK2, Parkin, PINK1 and DJ-1 genes were searched for. Additionally, a subgroup of familial cases was analysed for mutations in the glucocerebrosidase (GBA) gene.

Results: In total, five patients (4.5% of our whole population) were identified with the A53T SNCA mutation, two with a heterozygote dosage mutation and one with a heterozygote point mutation in the Parkin gene, and seven patients (10.3% of our familial cohort) with GBA gene mutations.

Conclusions: The A53T mutation in the SNCA gene, although uncommon, does represent a cause of PD in the Greek population, especially of familial EOPD with autosomal dominant inheritance. GBA mutations in the familial cohort tested here were as common as in a cohort of sporadic cases previously examined from the same centres. For the remainder of the genes, genetic defects that could definitively account for the disease were not identified. These results suggest that further Mendelian traits that lead to PD in the Greek population remain to be identified.

Γενετική βάση της ΝΠ στην Ελλάδα

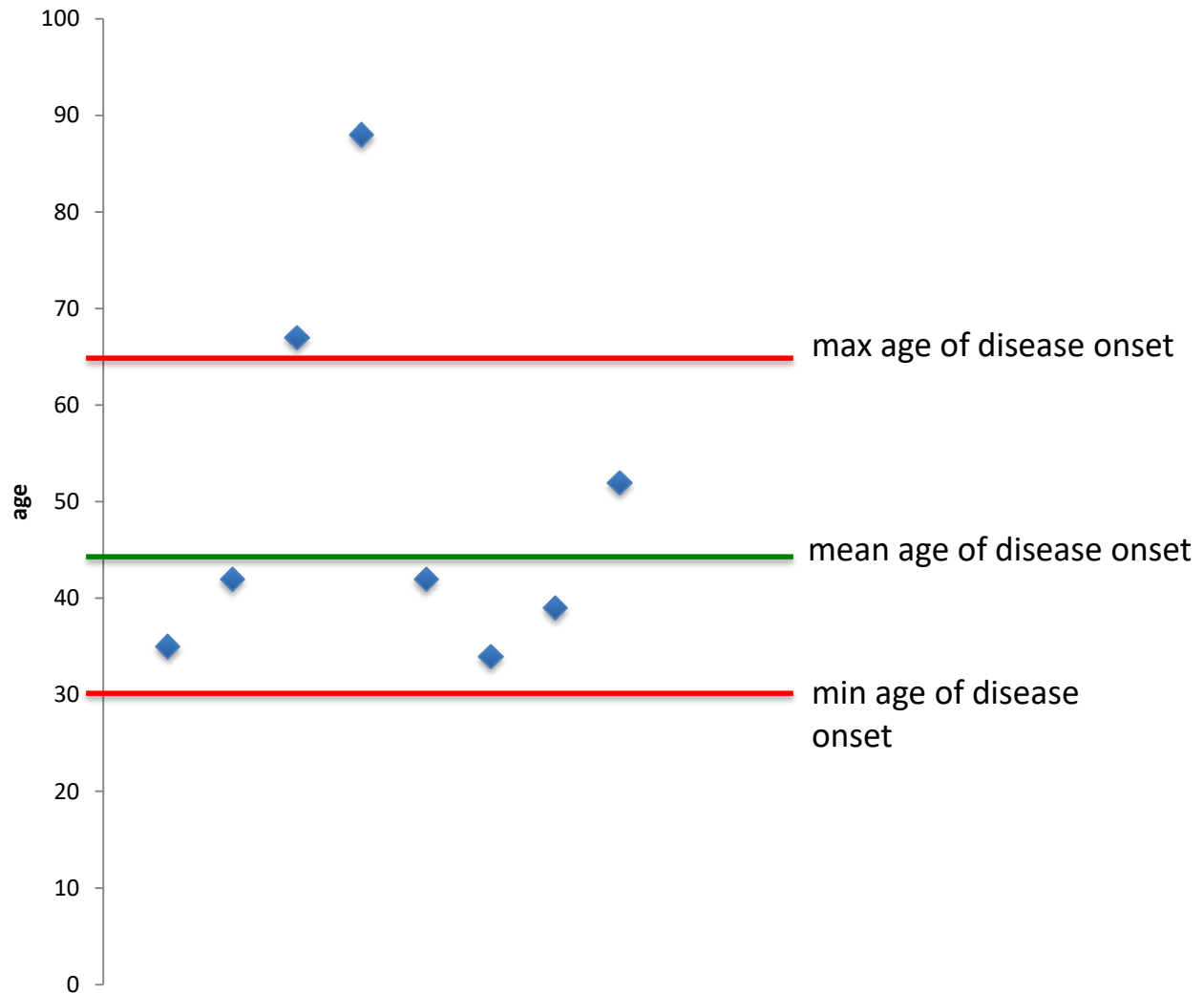
- Μεταλλάξεις στο LRRK2 είναι σπάνιες
- Μόνον ετερόζυγες μεταλλάξεις βρέθηκαν στην Parkin
- Μεταλλάξεις σε PINK1, DJ-1, VPS35 δεν έχουν βρεθεί
- Η μετάλλαξη G209A στο SNCA γονίδιο είναι σπάνια (4% σε πληθυσμό ασθενών με αυξημένη πιθανότητα γενετικού φορτίου), αλλά πρέπει να αναζητείται σε περιστατικά με πρώιμη ηλικία έναρξης και σαφές οικογενειακό ιστορικό
- Μεταλλάξεις στο GBA είναι συχνές (γύρω στο 10%, έναντι 3% σε πληθυσμό ελέγχου) και σε οικογενείς και σποραδικές περιπτώσεις, και πρέπει να αναζητώνται, ιδίως σε περιστατικά με πρώιμη ηλικία έναρξης, ανεξαρτήτως οικογενειακού ιστορικού

Ελληνική Ομάδα του ΜΕΦΟΡΑ με φορείς της G209A μετάλλαξης στο SNCA

Demographics	Patients
N	22
Age (yrs) mean±SD median (min-max)	52.46±10.74 53 (33-69)
AAO	44.78±10.33 45 (30-65)
Gender (M/F)	45.45/54.54%
Male AAO	42.2±9.55 42.5 (30-61)
Female AAO	46.91±10.8 45.5 (32-65)
Years of Disease Duration	7.68±4.5 6.5 (1-18)

Demographics	Asymptomatic carriers
N	8
Age (yrs) mean±SD median (min-max)	49.88±18.77 42 (34-88)
Gender (M/F)	12.5/87.5%

Age of Asymptomatic Carriers



Reported clinical characteristics of symptomatic carriers

Patients' Clinical Characteristics at Baseline		Mean Interval of Symptoms Appearance from Disease onset years: mean±SD (min, max)
Motor Complications (%)	27.27	6.6±4.98 (2, 15)
Postural instability (%)	50	4±3.27 (1, 11)
Autonomic dysfunction (%)	36.36	5.71±2.75 (2, 8)
Olfactory dysfunction (%)	54.54	-5.45±7.9 (-20, 5)
RBD (%)	45.45	-1.77±6.14 (-11, 6)
Sleep disturbances (%)	31.81	2.16±4.91 (-6, 8)
Depression (%)	59.1	0.75±5.46 (-12, 11)
Dementia (%)	27.27	7.4±3.56 (0, 13)
Psychosis (%)	27.27	6.6±2.51 (3, 9)

Scales of motor function at baseline and at follow-up

Disease Progression	Baseline N=15	Follow up N=15	P-value
Motor Symptoms			
H&Y avg±sd (min-max)	2±0.93 (1, 5)	2.47±1.06 (2, 5)	0.034*
UPDRS II avg±sd (min-max)	13.53±15.6 (1, 62)	17.53±11.84 (2, 47)	0.073
UPDRS III avg±sd (min-max)	19.87±20.52 (4, 91)	27.13±24.31 (1, 91)	0.14
UPDRS IV avg±sd (min-max)	2.2±3.19 (0, 10)	2.87±3.62 (0, 12)	0.28

Non-motor function at baseline and at follow-up

Disease Progression	Baseline N=15	Follow up N=15	P-value
Non Motor Symptoms			
UPDRS I avg±sd (min-max)	8.86±7.46 (0, 25)	12.6±8.98 (2, 32)	0.071
MOCA N=13 avg±sd (min-max) N of patients beyond cut off	25,92±3,1 4	21,84±6,47 8	0.025*
Dementia Patients N, (%) UPDRS 1.1 avg±sd (min-max)	2 (13.3) 0.67±1.23 (0, 4)	6 (40) 1.47±1.64 (0, 4)	0.016*
Psychosis Patients N, (%) UPDRS 1.2 avg±sd (min-max)	3 (20) 0.6±1.24 (0, 4)	6 (40) 1.13±1.46 (0, 4)	0.07
Autonomic Dysfunction Patients N, (%) UPDRS 1.10+1.11+1.12 avg±sd (min-max)	5 (33.3) 0.7±1.14 (0, 4)	9 (60) 1.36±1.32 (0, 4)	0.006*
Depression Patients N, (%) BDI n=13 avg±sd (min-max) N of patients beyond cut off	10 (66.6) 10.23±7.8 (0, 26) 6	9 (60) 11.23±9.49 (0,34) 5	0.7
Sleep disturbances Patients N, (%)	5 (33.3)	7 (46.6)	
Olfactory dysfunction Patients N, (%) ST n=9 avg±sd (min-max) N of patients beyond cut off	10 (66.6) 6.6±1.73 (4, 9) 8	10 (66.6) 4.9±2.7 (1, 10) 8	0.087
L-Dopa equivalent (mg)	746.43±387.68	943.57±338.65	
Composite Score avg±sd (min-max)	1.13±1.24 (0, 4)	2.13±1.6 (0, 5)	0.32

Examples of phenotypic variability

Patients	Disease Duration	Age at disease onset	Age of dementia onset	H&Y	Motor Complications
a	3	30	30	3	-
b	12	44	57	3	+
c	14	50	61	5	+
d	10	45	50	2	+
e	18	32	-	2	+
f	6	59	-	1	-
g	10	35	-	2	+

Motor and Nonmotor Features of Carriers of the p.A53T Alpha-Synuclein Mutation: A Longitudinal Study

Dimitra Papadimitriou, MD, PhD,^{1,2*}
Roubina Antonelou, MD, PhD,³ Michael Miligkos, MD, MSc,⁴
Matina Maniati, MSc, PhD,² Nikolaos Papagiannakis, MD,^{2,3}
Sevasti Bostantjopoulou, MD, PhD,⁵
Athannassios Leonardos, MD,³ Christos Koros, MD, PhD,³
Athina Simitsi, MD,³ Sokratis G. Papageorgiou, MD, PhD,³
Elisabeth Kapaki, MD, PhD,⁶ Roy N. Alcalay, MD, MSc,⁷
Alexandros Papadimitriou, MD, PhD,¹
Aglaia Athanassiadou, PhD,⁸
Maria Stamelou, MD, PhD,^{3,9,10} and
Leonidas Stefanis, MD, PhD^{2,3*}

ABSTRACT

Background: G209A SNCA mutation carriers represent an important group of genetic PD. We describe motor and nonmotor features of G209A SNCA mutation carriers.

Methods: Longitudinal clinical assessments over 2 years were collected in 22 symptomatic and 8 asymptomatic G209A SNCA mutation carriers. Motor and nonmotor rating scales were administered. Correlations were performed between clinical variables and disease duration or age. Penetrance was calculated using Kaplan-Meier survival curves.

Results: Asymptomatic carriers did not manifest clear premotor symptoms, but symptomatic carriers often reported that olfactory dysfunction and rapid eye movement sleep behavior disorder preceded motor symptoms. Prominent motor decline and deterioration of autonomic and cognitive function occurred at follow-up; such nonmotor features correlated with disease duration, but not age. Disease penetrance was estimated at around 90%.

Conclusions: This study may help to inform clinical trials and provide the basis for studies of disease modifiers in genetic synucleinopathy cohorts. © 2016 International Parkinson and Movement Disorder Society

Key Words: Parkinson's disease; alpha-synuclein; penetrance; asymptomatic; A53T

J_ID: **MDS** Customer A_ID: **MDS26615** Cadmus Art: **MDS26615** Ed. Ref. No.: Date: **16-March-16**



β -Glucocerebrosidase gene mutations in two cohorts of Greek patients with sporadic Parkinson's disease

Marina Moraitou ^a, Georgios Hadjigeorgiou ^b, Ioannis Monopolis ^a, Efthimios Dardiotis ^b, Maria Bozi ^c, Demitris Vassilatis ^d, Lluisa Vilageliu ^e, Daniel Grinberg ^e, Georgia Xiromerisiou ^b, Leonidas Stefanis ^{f,g}, Helen Michelakakis ^{a,*}

Table 3

Characteristics of the carriers of GBA mutations and the mutations identified, in the cohorts studied. Age of the patients refers to the age of onset of symptoms.

		Gender	Age	GBA mutations
Patients	Cohort A n = 10	M	58	H255Q
		F	40	N370S
		M	53	N370S
		F	60	N370S
		F	59	N370S
		F	57	N370S
		M	49	D409H
		M	63	L444P
		F	60	L444P
		M	67	D409H;H255Q
	Cohort B n = 10	M	68	D409H;H255Q
		M	39	D409H;H255Q
		F	53	N531S-1G→A
		F	46	L444P
		M	74	L444P
		M	75	L444P
		M	69	N370S
Controls	Cohort A n = 3	F	58	N370S
		F	67	Y100C
		M	52	H255Q1 + T369M ^a
	Cohort B n = 4	F	68	N370S
		F	64	N370S
		F	64	N370S
		M	72	L444P

^a Phase unknown.

GBA μεταλλάξεις σε δύο πληθυσμούς Ελλήνων ασθενών με σποραδική νόσο Πάρκινσον

- 21/205 ασθενείς με νόσο Πάρκινσον είχαν GBA μεταλλάξεις
- 7/206 άτομα ελέγχου είχαν μεταλλάξεις
- OR: 3.24 (95% CI: 1.35-7.81, $p=0.006$)
- OR για ασθενείς με πρώιμη έναρξη (EOPD) έναντι ατόμων ελέγχου ήταν 11.37 (95% CI: 3.73-34.6, $p<0.0001$)

Greek GBA-PD cohort

- Μειωμένη ηλικία έναρξης
- Μεγαλύτερη νοητική επιβάρυνση
- Πιο συχνά αμφοτερόπλευρη έναρξη
- Σύγκριση με ασθενείς χωρίς γνωστή γενετική παραλλαγή/μετάλλαξη

Η πρώτη φαρμακογενωμική μελέτη στη Νόσο Πάρκινσον

- Πρόκειται για αναστολέα της σύνθεσης του γλυκοκεραμιδίου, υποστρώματος για την γλυκοσερεβροσιδάση
- Αφορά μόνον ασθενείς με νόσο Πάρκινσον που έχουν μεταλλάξεις στο *GBA1*

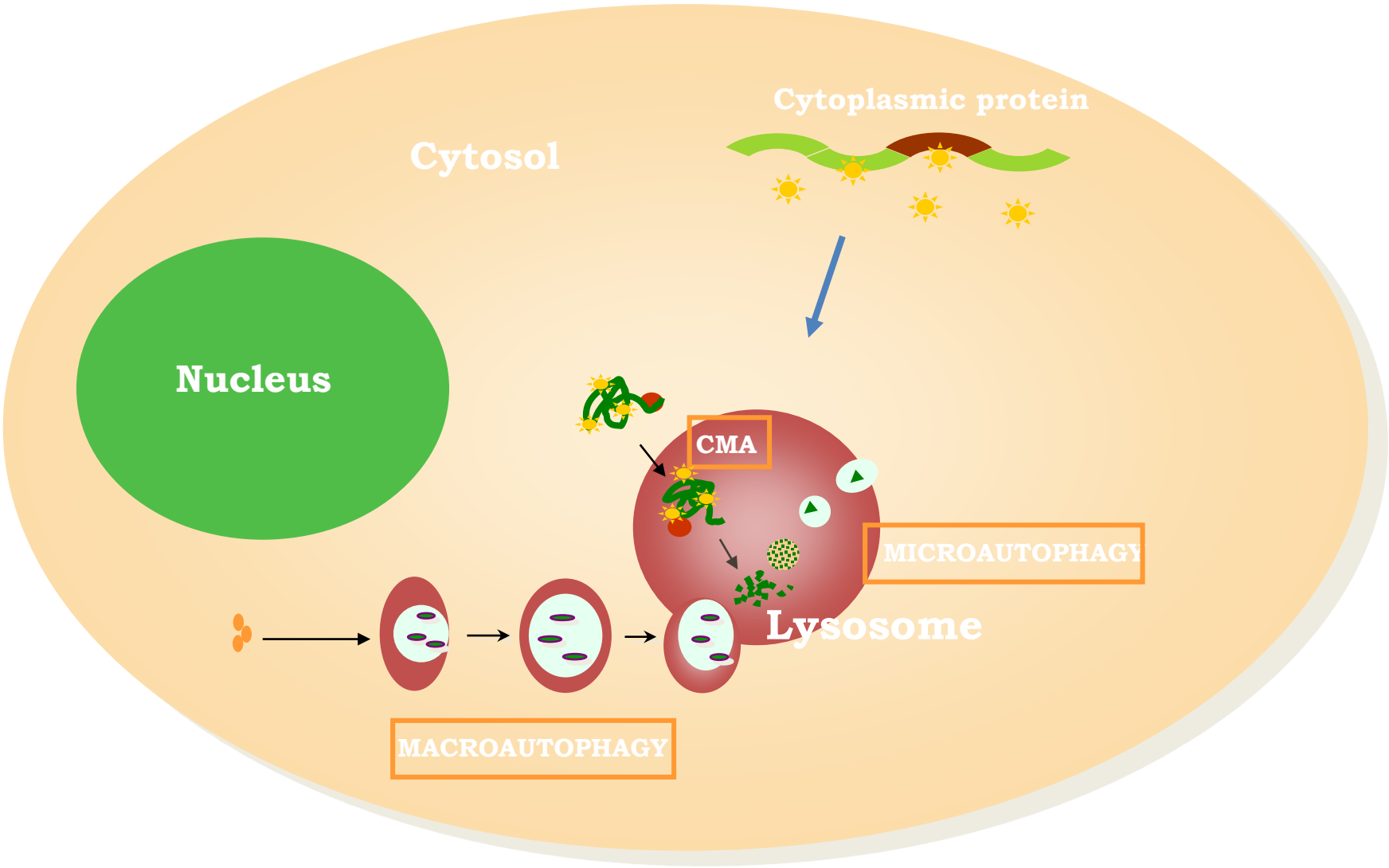
Φαρμακογενωμική στη νόσο Πάρκινσον

- **Ανάλογα με το γενετικό υπόβαθρο (και πιθανώς άλλους βιολογικούς δείκτες) μπορεί να υπάρχει στο μέλλον ειδική αιτιολογική θεραπεία**
- **Η θεραπεία αυτή θα είναι νευροπροστατευτική, και όχι συμπτωματική, και θα μπορεί να εφαρμόζεται και στα προσυμπτωματικά στάδια της νόσου**
- **Προϋποθέτει την κατανόηση των βασικών βιολογικών μηχανισμών που οδηγούν στη νόσο**
- **Προϋποθέτει την ανάπτυξη, πρώτα σε κυτταρικά και ζωικά μοντέλα, αιτιολογικών θεραπειών**

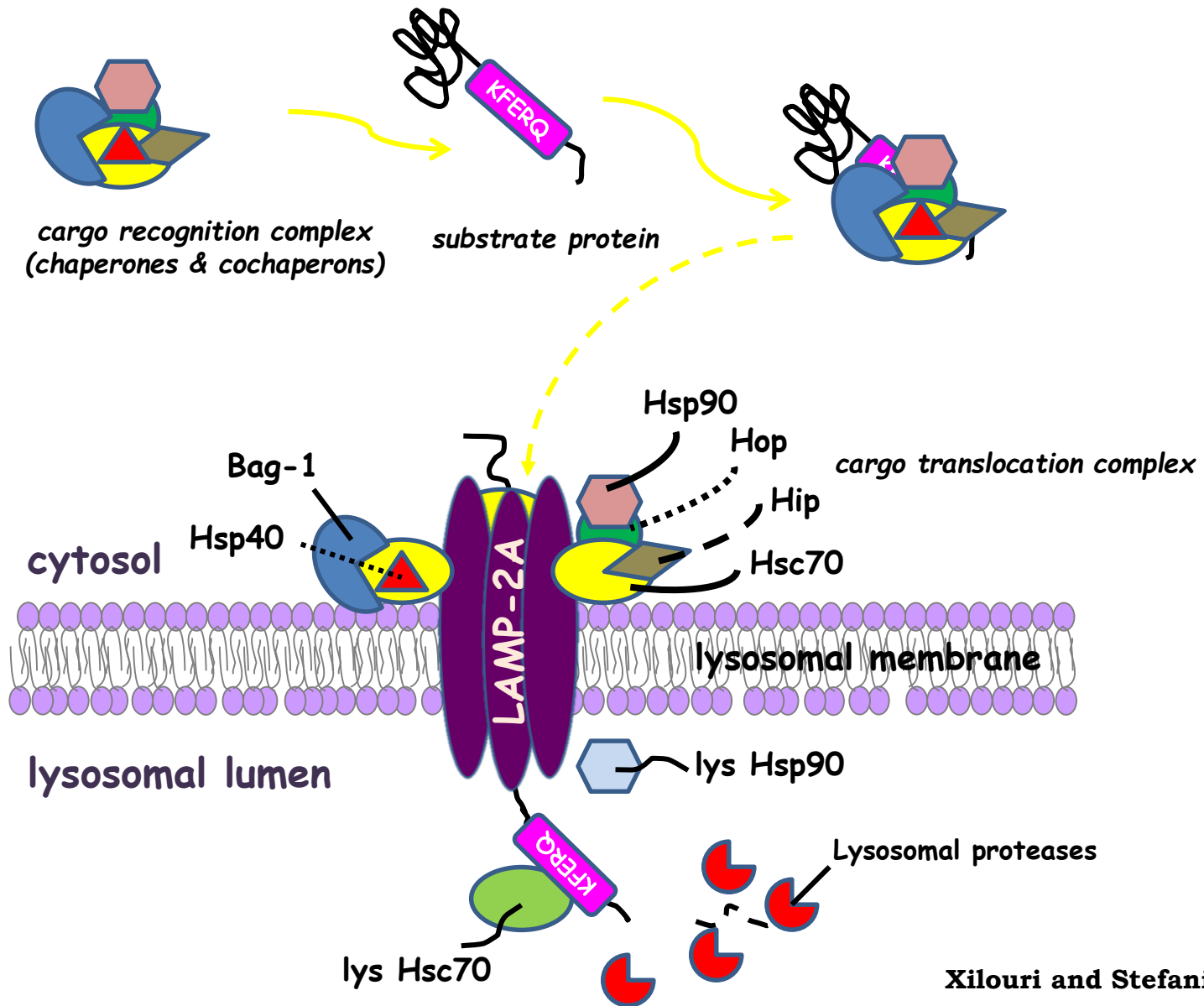
Περίγραμμα ομιλίας

- Βασικά στοιχεία για τη νόσο του Πάρκινσον
- Γενετική βάση και παθογένεια νόσου Πάρκινσον
- Γενετική νόσου Πάρκινσον στον Ελληνικό χώρο
- **Εστίαση στα λυσοσώματα και την αυτοφαγία**

Autophagic pathways inside the cell



Chaperone Mediated Autophagy (CMA)



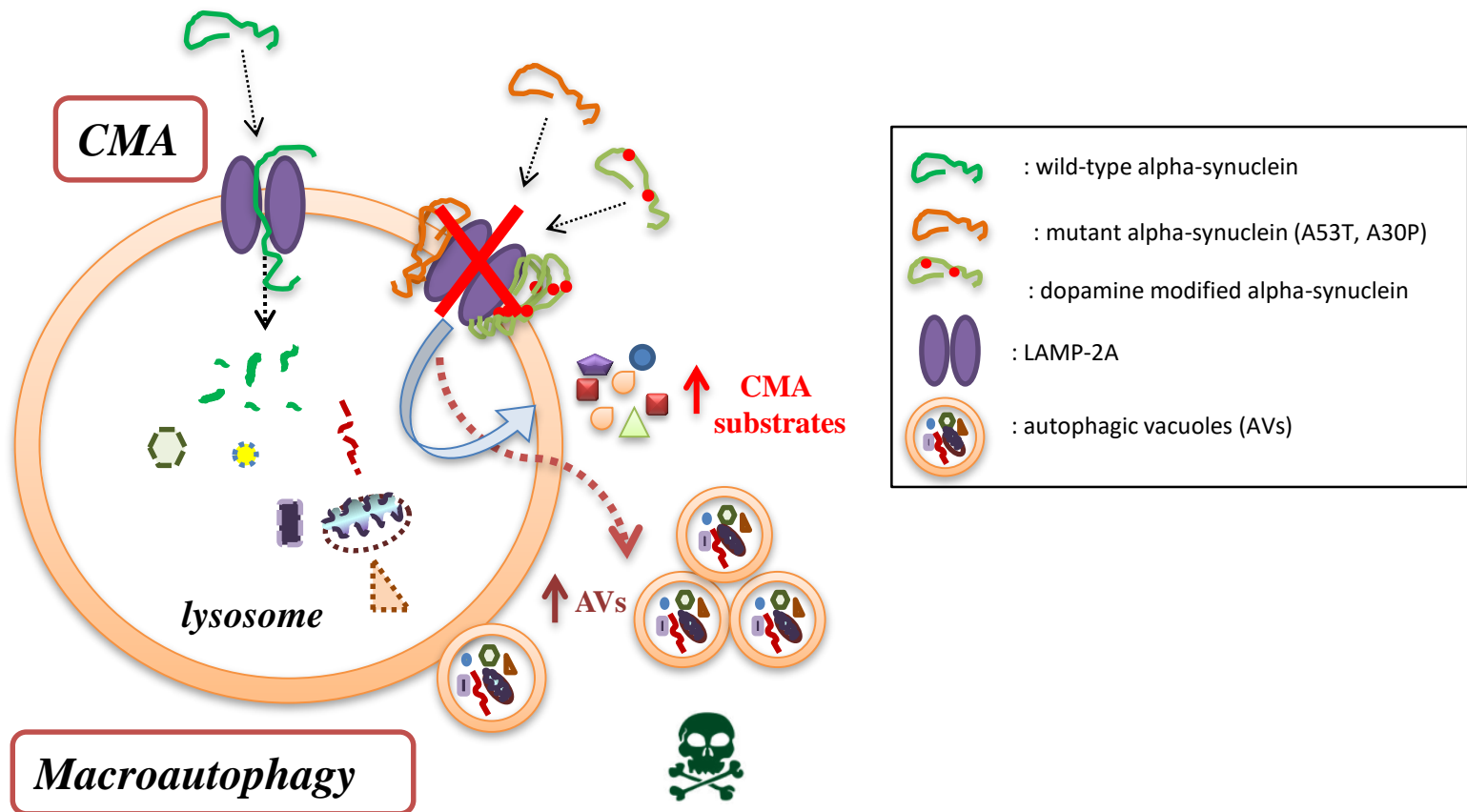
Two interrelated themes

**ASYN
degradation**



**ASYN
Impact on protein
degradation**

Proposed model for the detrimental effects of AS on lysosomal function



Vekrellis et al., *Lancet Neurol.*, 2011

Xilouri et al., *PLoS ONE*, 2009

Martinez-Vicente et al., 2008

Cuervo et al., 2004

Interplay of LRRK2 with chaperone-mediated autophagy

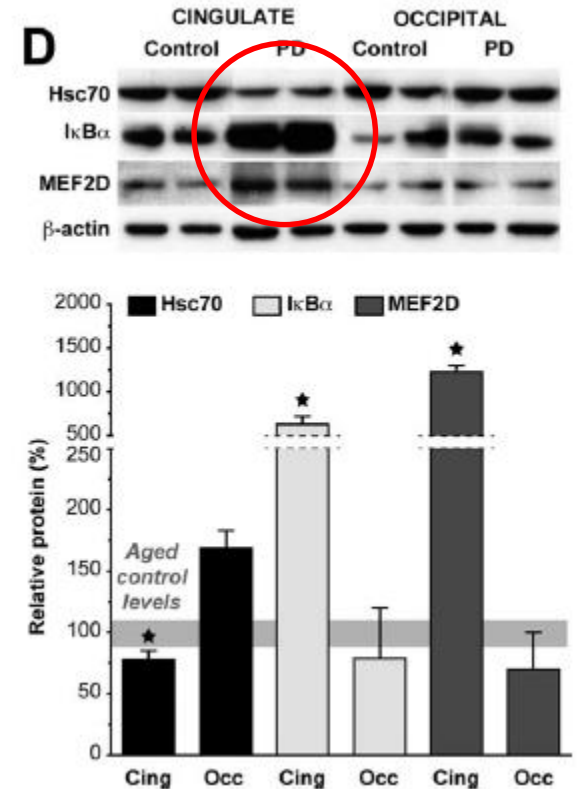
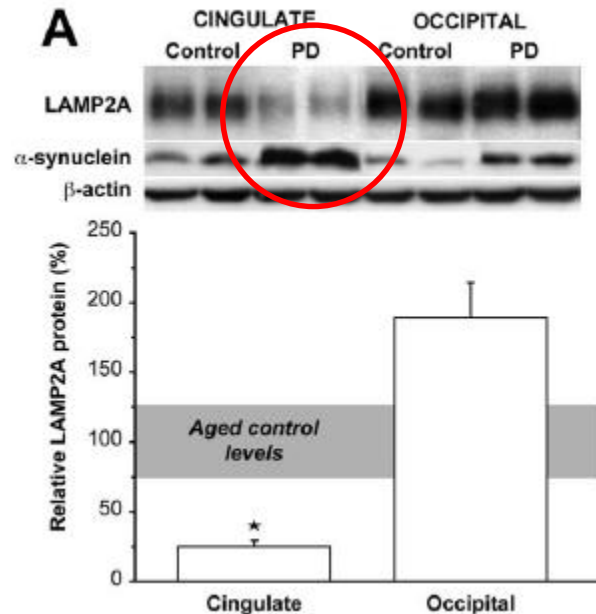
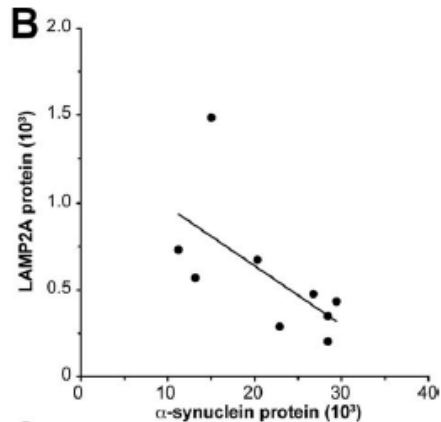
Samantha J Orenstein^{1,2}, Sheng-Hang Kuo^{3,13}, Inmaculada Tasset^{1,2,13}, Esperanza Arias^{1,2}, Hiroshi Koga^{1,2}, Irene Fernandez-Carasa⁴, Ety Cortes^{3,5}, Lawrence S Honig^{3,5}, William Dauer⁶, Antonella Consiglio^{4,7}, Angel Raya⁸⁻¹⁰, David Sulzer^{3,11,12} & Ana Maria Cuervo^{1,2}

nature
neuroscience

Mutations in leucine-rich repeat kinase 2 (LRRK2) are the most common cause of familial Parkinson's disease. We found LRRK2 to be degraded in lysosomes by chaperone-mediated autophagy (CMA), whereas the most common pathogenic mutant form of LRRK2, G2019S, was poorly degraded by this pathway. In contrast to the behavior of typical CMA substrates, lysosomal binding of both wild-type and several pathogenic mutant LRRK2 proteins was enhanced in the presence of other CMA substrates, which interfered with the organization of the CMA translocation complex, resulting in defective CMA. Cells responded to such LRRK2-mediated CMA compromise by increasing levels of the CMA lysosomal receptor, as seen in neuronal cultures and brains of LRRK2 transgenic mice, induced pluripotent stem cell-derived dopaminergic neurons and brains of Parkinson's disease patients with LRRK2 mutations. This newly described LRRK2 self-perpetuating inhibitory effect on CMA could underlie toxicity in Parkinson's disease by compromising the degradation of α -synuclein, another Parkinson's disease-related protein degraded by this pathway.

Lysosomal-Associated Membrane Protein 2 Protein Isoforms Are Differentially Affected in Early Parkinson's Disease

Karen E. Murphy,^{1,2} Amanda M. Gysbers,¹ Sarah K. Abbott,^{3,4} Adena S. Spiro,^{3,4} Akiko Furuta,^{5†} Antony Cooper,^{6,7} Brett Garner,^{3,4} Tomohiro Kabuta,⁵ and Glenda M. Halliday^{1,2*}

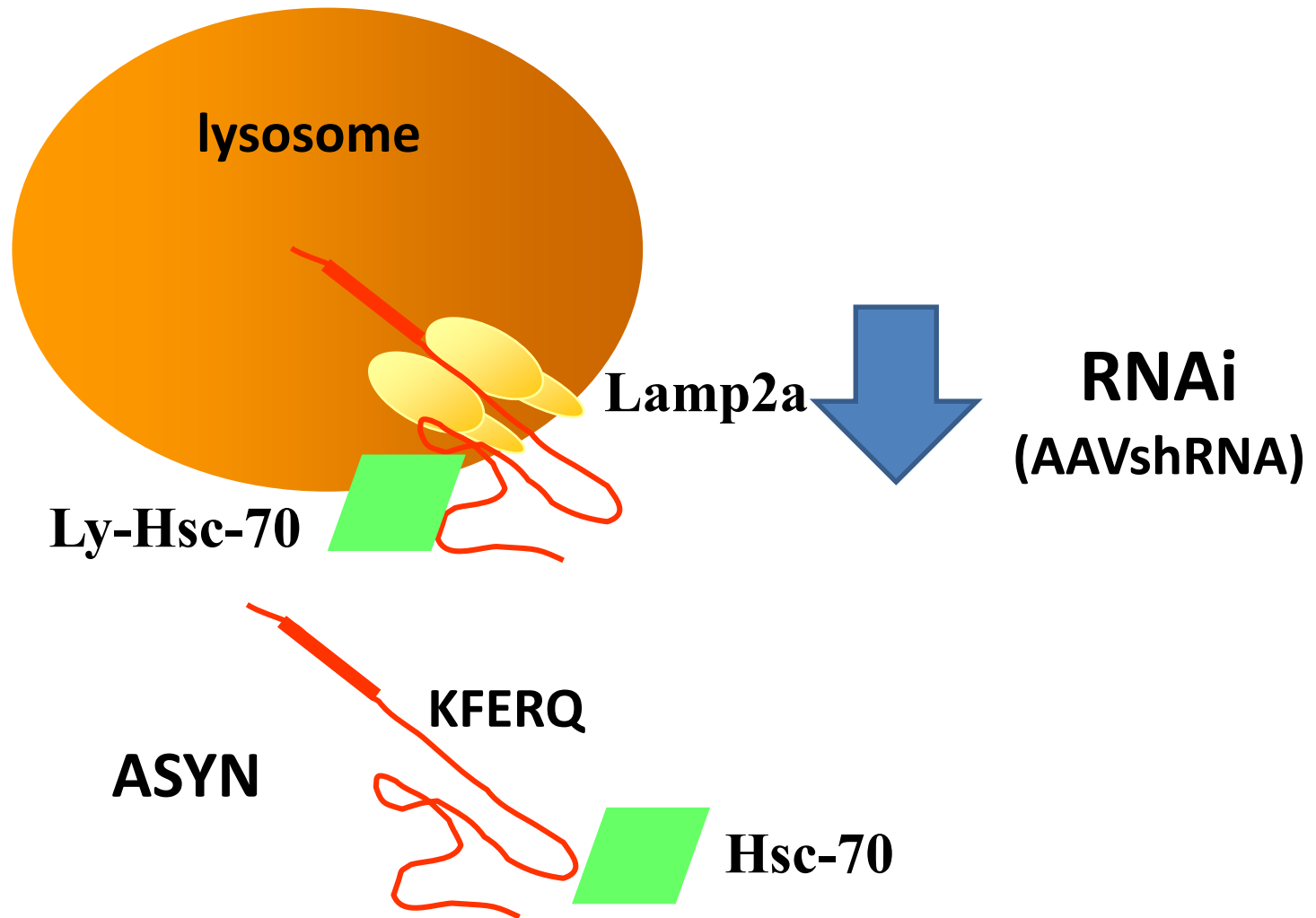


Lysosomal Alterations in
Peripheral Blood Mononuclear
Cells of Parkinson's Disease
Patients

Nikolaos Papagiannakis,^{1,2} Maria Xilouri,¹ Christos Koros,²
Maria Stamelou,² Roubina Antonelou,² Matina Maniati,¹
Dimitra Papadimitriou,³ Marina Moraitou,⁴
Helen Michelakakis,⁴ and Leonidas Stefanis^{1,2*}

- **Study in PBMCs derived from 3 groups of PD patients (GU-PD, GBA-PD and A53T-PD) and controls**
- **Decrease of Hsc70 protein levels in all PD groups compared to controls**
- **Decrease in Hsc70 mRNA levels only in GU-PD**
- **No change in Lamp2a protein or mRNA levels**
- **No change in LC3-II, p62 levels**

Chaperone-Mediated Autophagy (CMA)

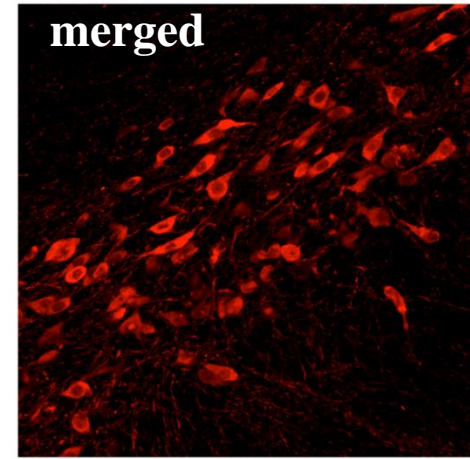
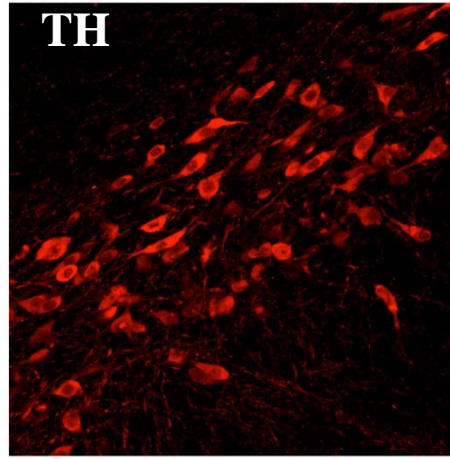
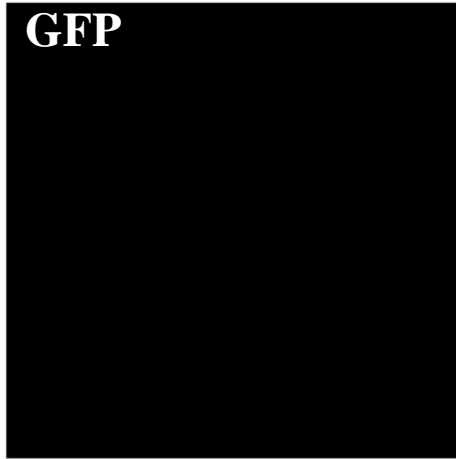


CMA inhibition in vivo in the CNS

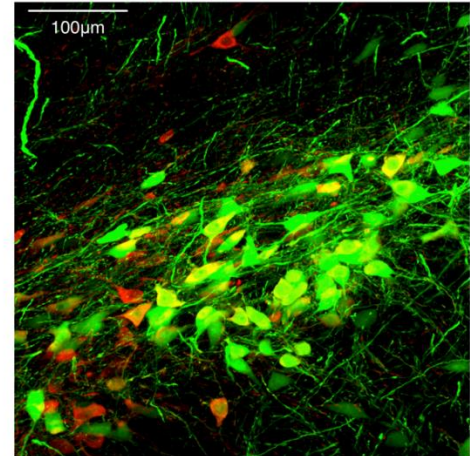
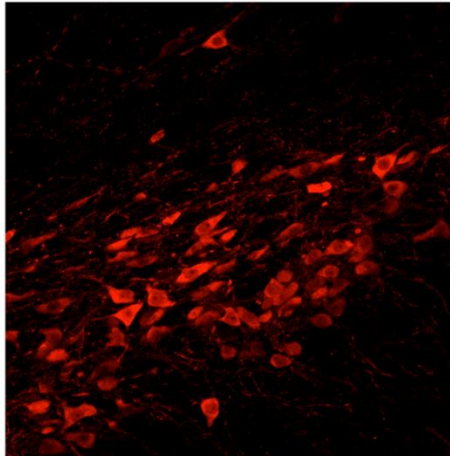
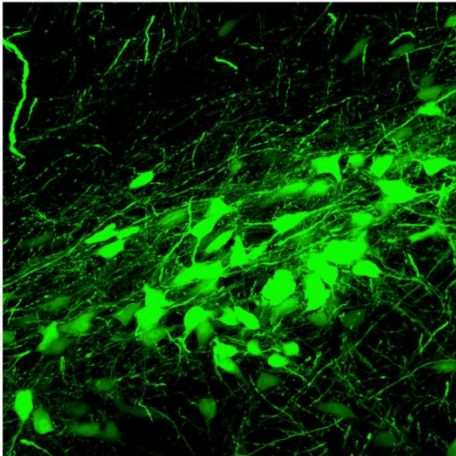
- **Can we model in vivo the presumed CMA dysfunction that occurs in PD?**
- **Strategy of using AAV to deliver shRNA against Lamp2a to the substantia nigra**

Efficient transduction of dopaminergic neurons of rat SN with GFP-tagged LAMP2a or scrambled shRNA rAAVs

Contralateral side

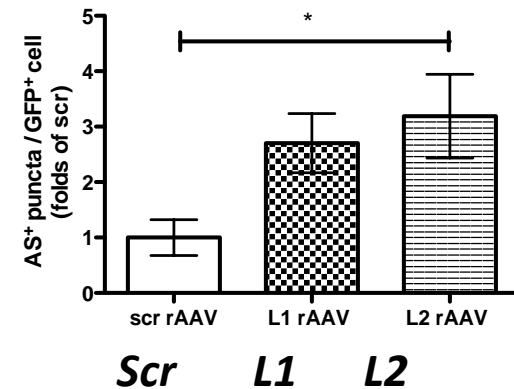
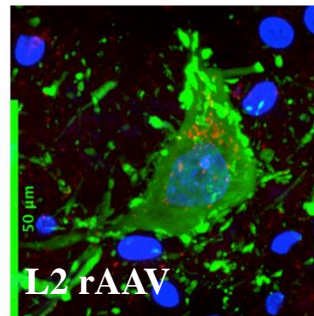
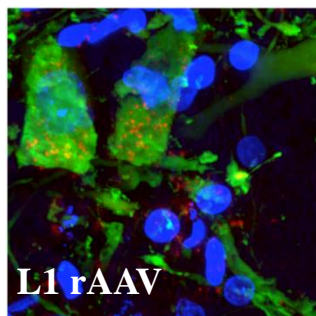
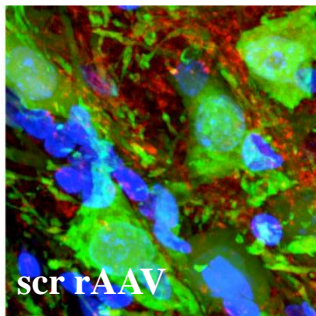
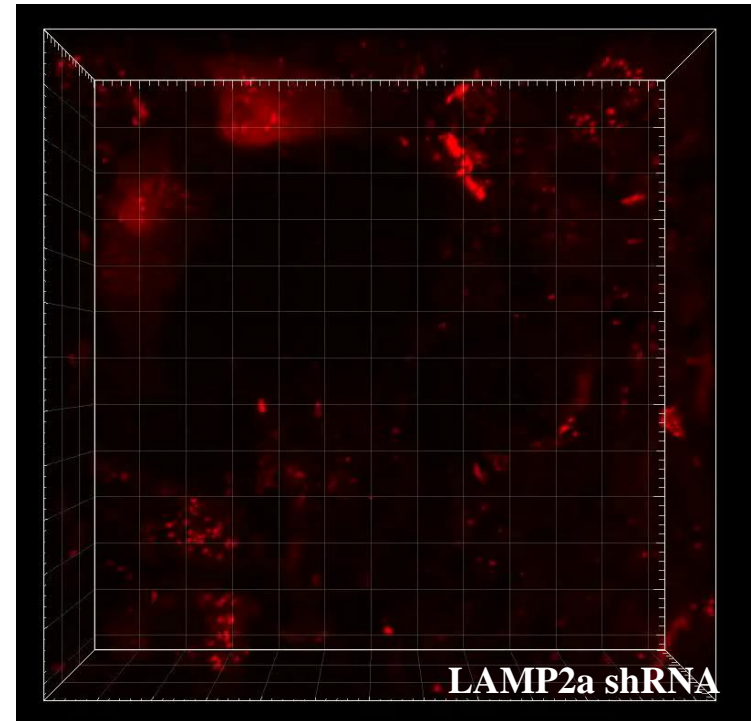
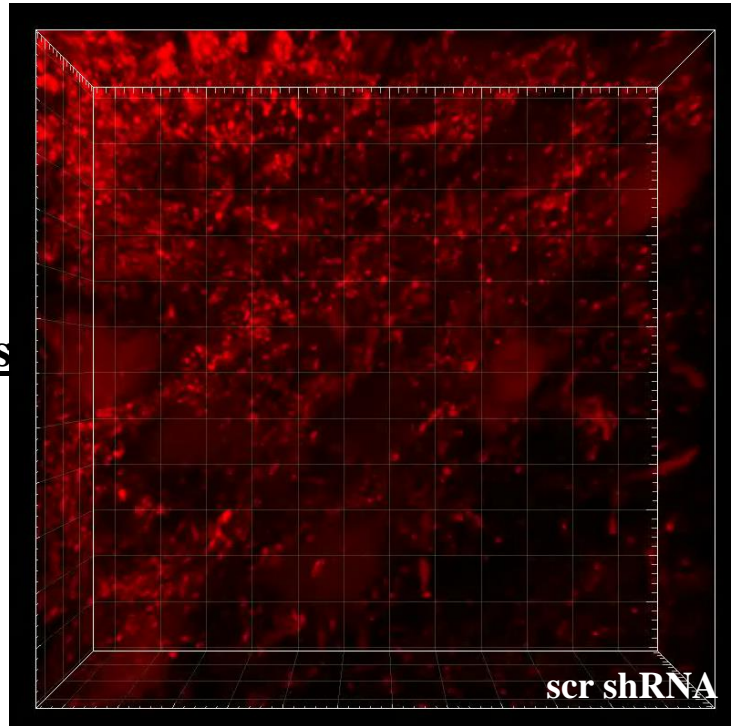


Ipsilateral side



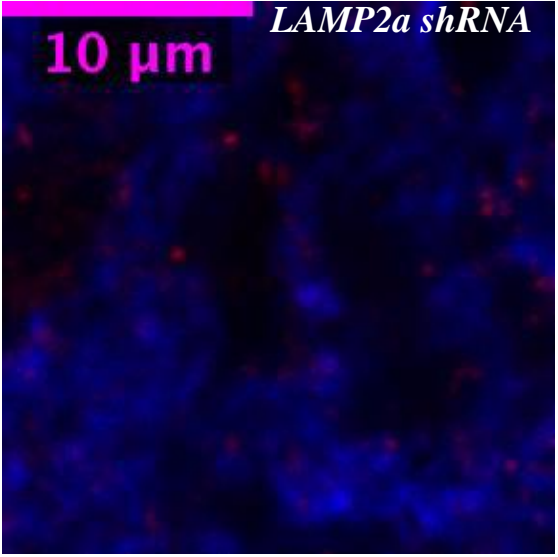
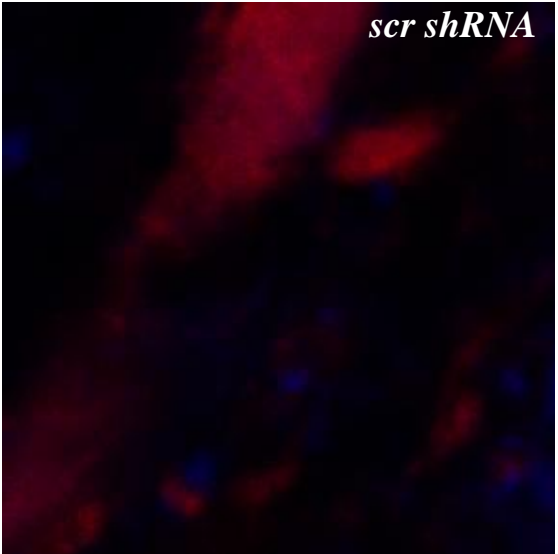
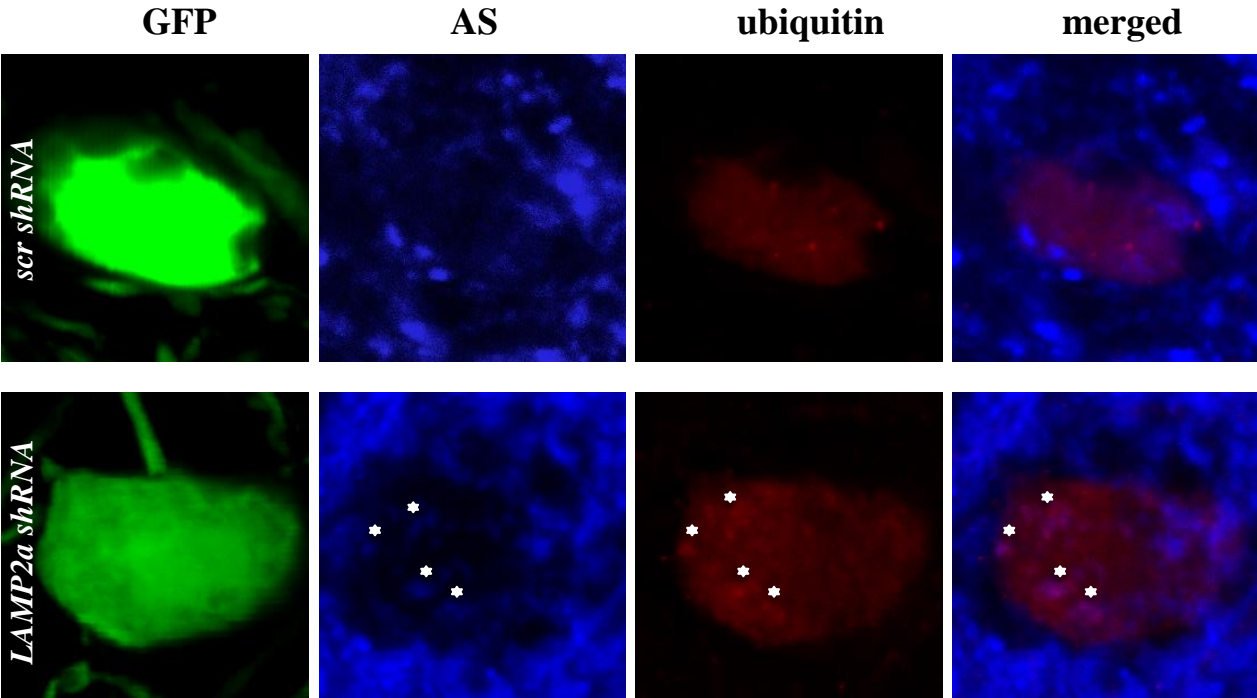
Intracellular accumulation of alpha-synuclein (AS) puncta within the nigral GFP+ neurons transduced with rAAVs expressing shRNAs against LAMP2a receptor

8 weeks



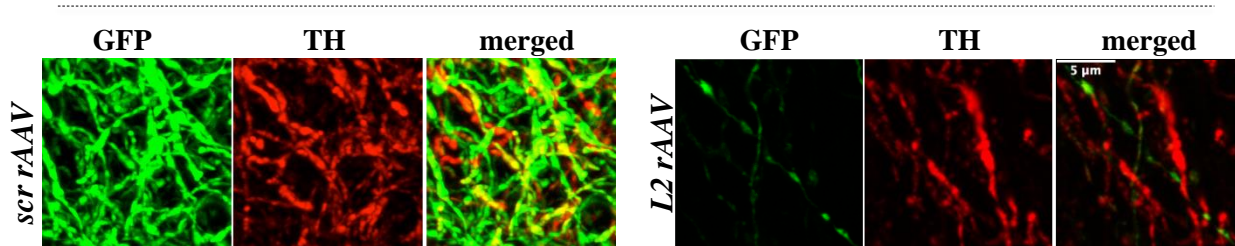
Intracellular accumulation of AS puncta positive for ubiquitin within the nigral GFP+ neurons transduced with rAAVs expressing shRNAs against LAMP2a receptor

8 weeks



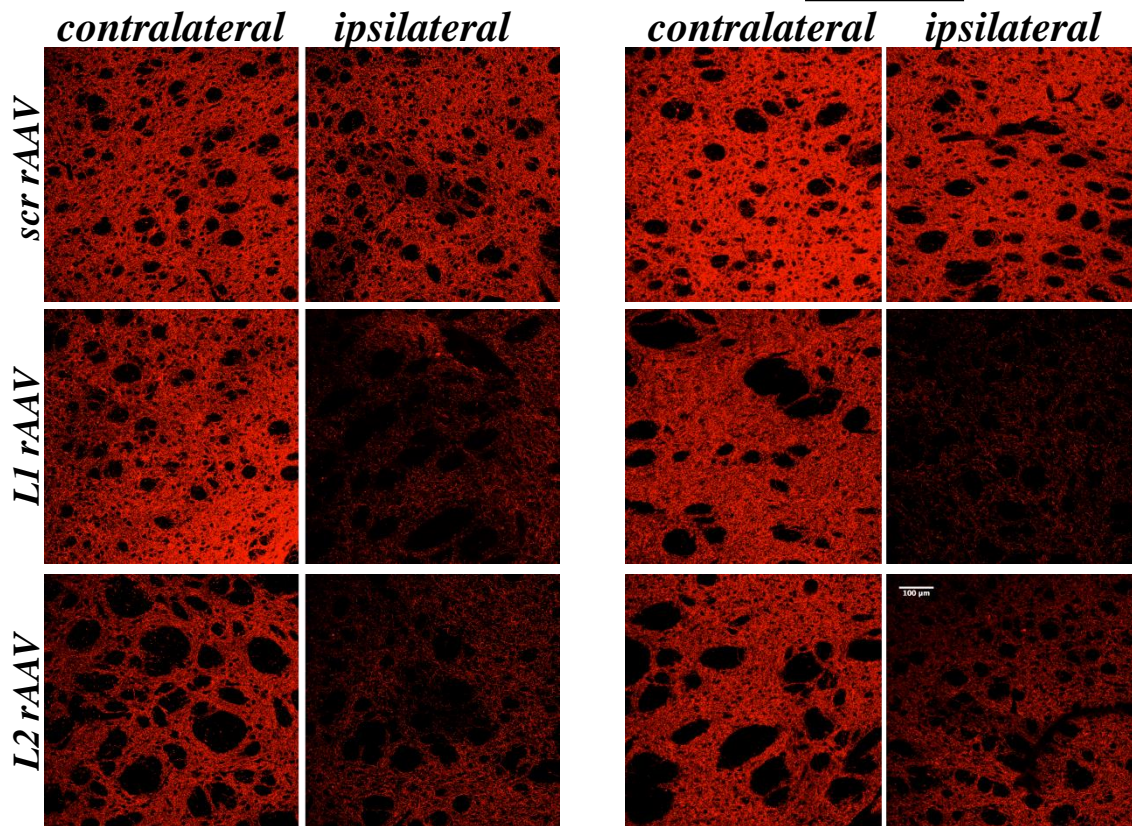
LAMP2a down-regulation in the rat SN results in a severe loss of the nigrostriatal terminals

Ipsilateral (4 weeks)



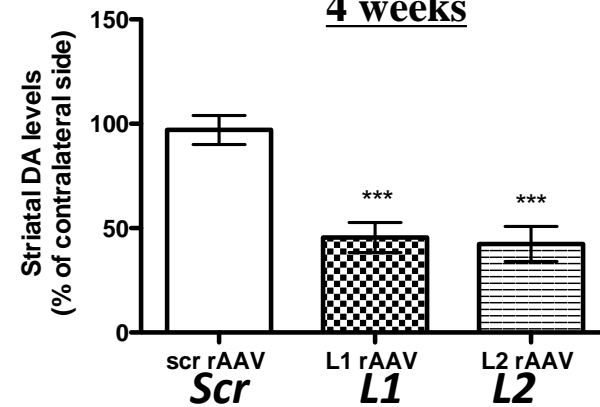
4 weeks

8 weeks

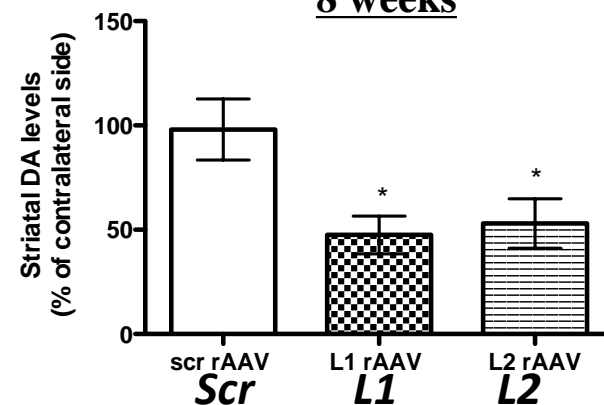


HPLC

4 weeks



8 weeks



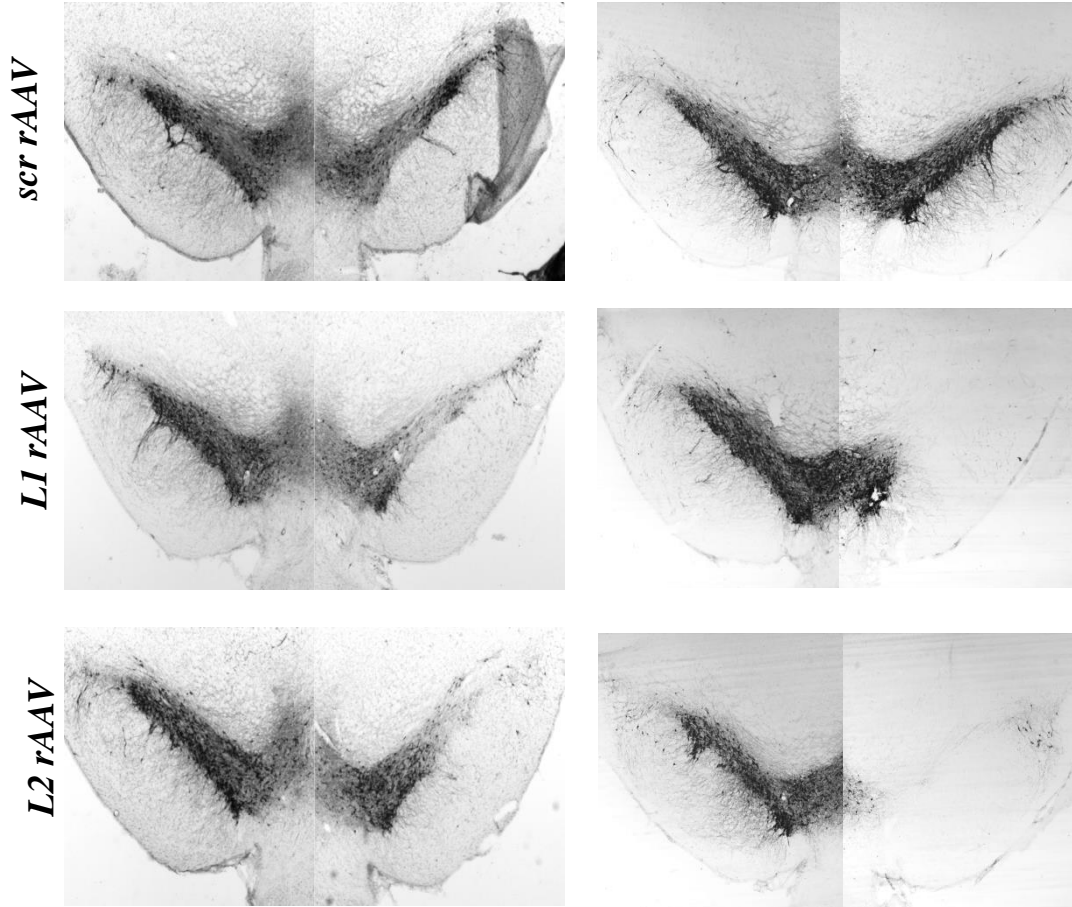
LAMP2a down-regulation in the rat SN results in a progressive loss of the nigral dopaminergic neurons

4 weeks

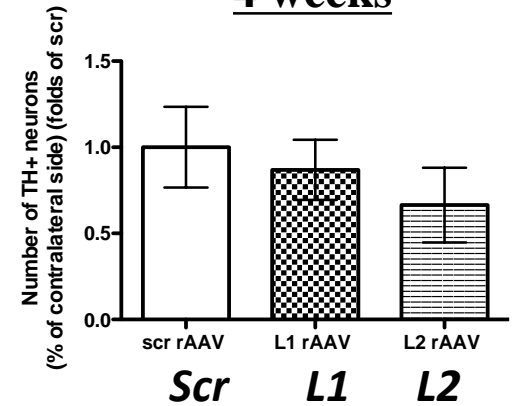
8 weeks

contralateral ipsilateral

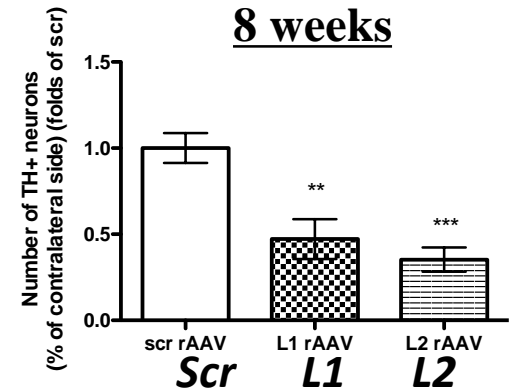
contralateral ipsilateral



4 weeks



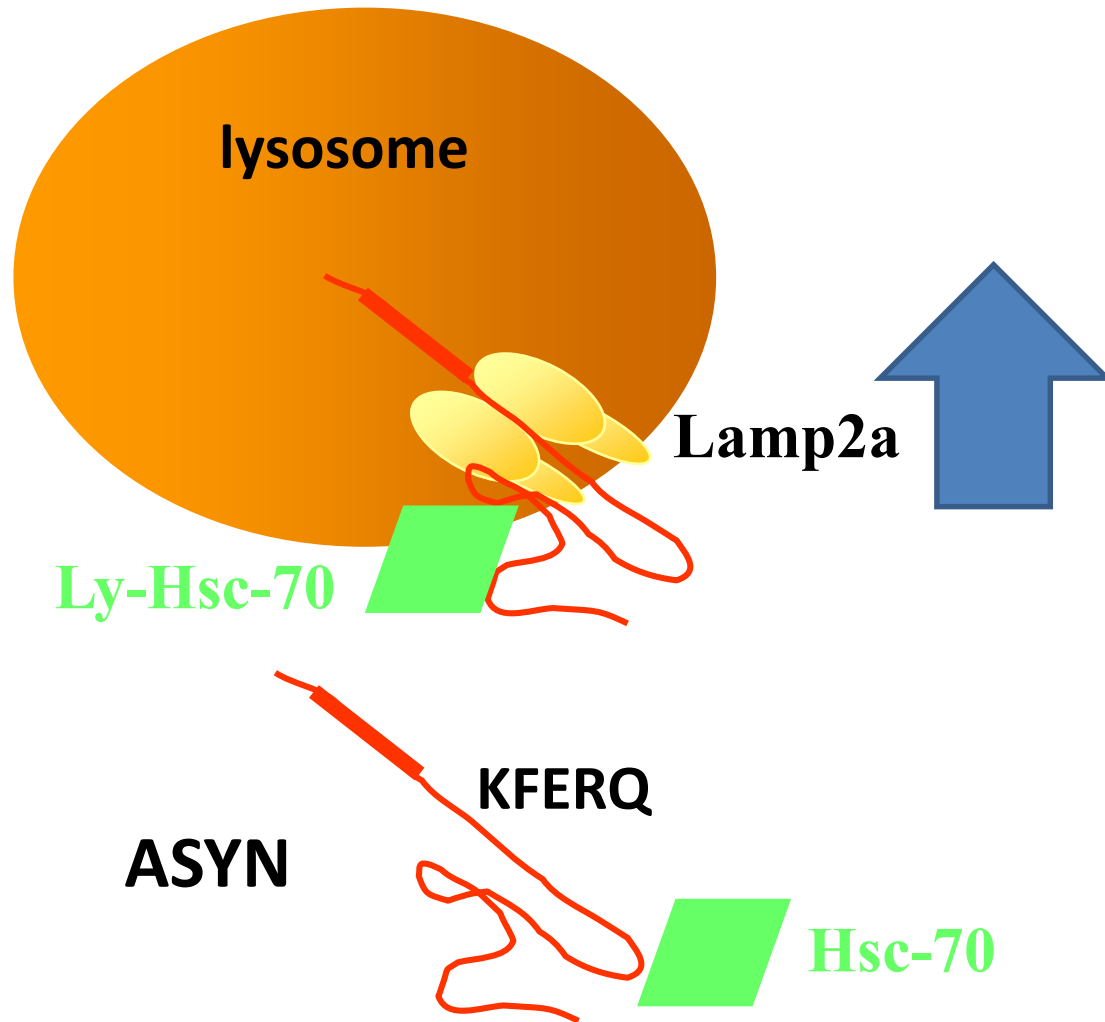
8 weeks



Lamp-2a downregulation in vivo in the SN

- There is profound degeneration of the nigrostriatal axis, of the dying-back type, accompanied by neuroinflammation
- Alpha-synuclein accumulation in intracellular foci, colocalized with ubiquitin
- Accumulation of autophagic vacuoles, possible increase of autophagic flux
- This could represent a new model of PD, in which pharmacological/ molecular strategies of enhancement of CMA activity could be validated
- Mechanism of neurodegeneration unknown: Does AS contribute? Is there selective vulnerability of Daergic neurons? What is the role of neuroinflammation/oxidative stress/macrautophagy?
- This strategy could be used in combination with modest overexpression of alpha-synuclein to model aspects of sporadic PD

Chaperone-Mediated Autophagy (CMA)



In vivo model: Overexpress Lamp2a concurrently with human WTAS in the rat SNpc and assess the effects on over-expressed WTAS levels and toxicity

Working protocol

➤ rAAV injections

Group A: GFP+Lamp2a

Group B: GFP+WTAS

Group C: Lamp2a+WTAS

ratio 1:1, total viral load $2E14$ ➤ Behavioral analysis

➤ Collect striata for HPLC/WB,
SNpc WB

➤ Perfusion/
Immunohistochemistry

0-5 days

6 weeks

8 weeks

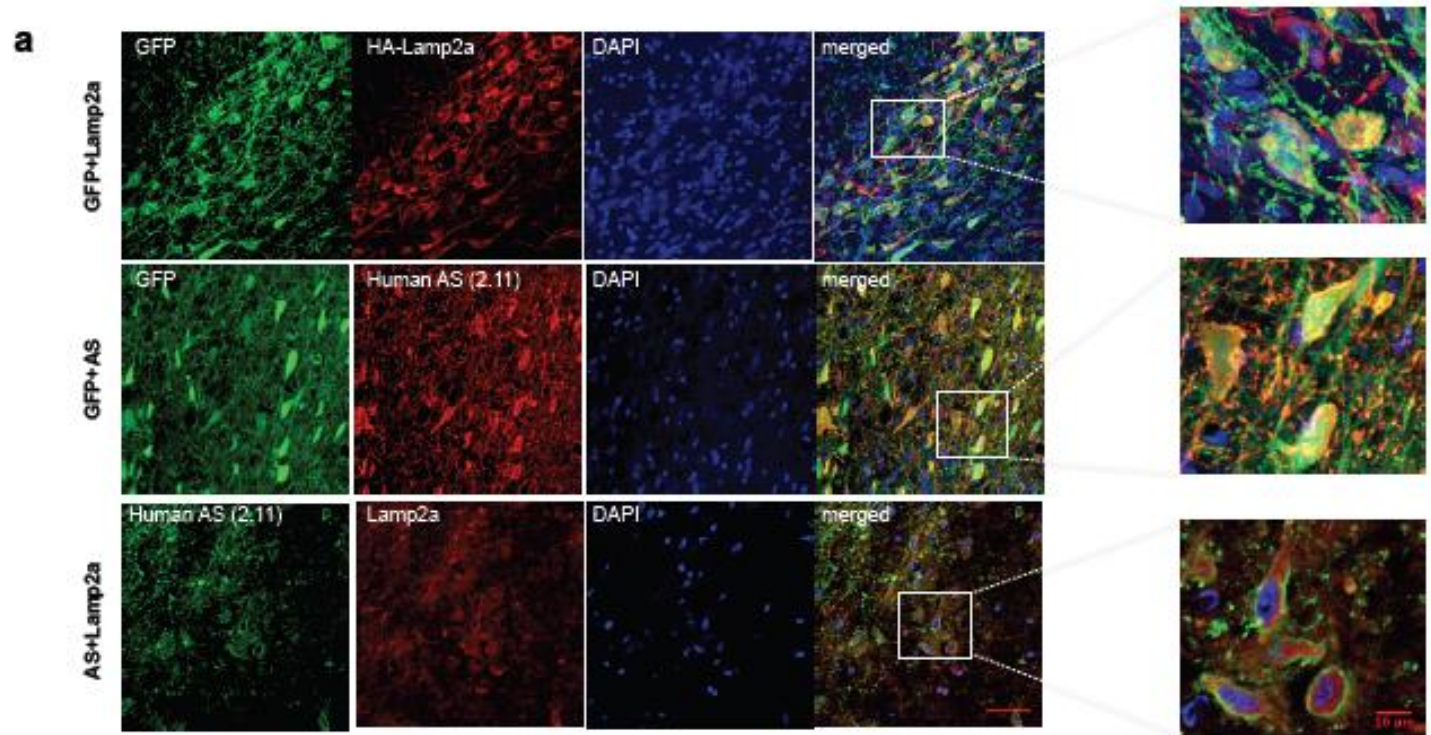
rAAV 2/6 vectors :

rAAV6 ITR2 - synapsin1 - eGFP - WPRE - SV40 pA - ITR2 (Viral titer $3.4E14$)

rAAV6 ITR2 - synapsin1 - HA-Lamp2a - WPRE - SV40 pA - ITR2 (Viral titer $8E14$)

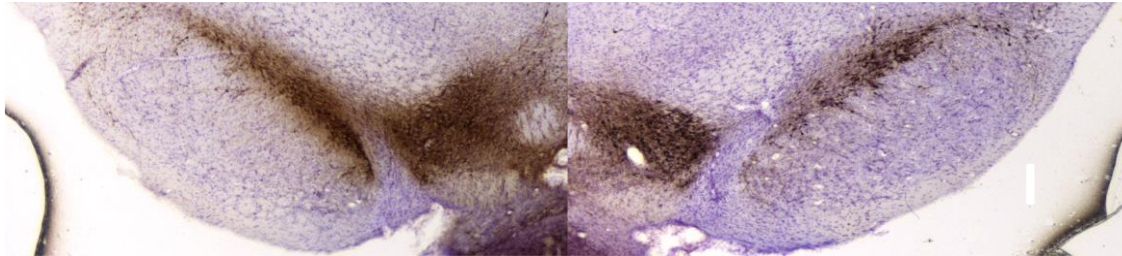
rAAV6 ITR2 - synapsin1 - WT alpha-synuclein - WPRE - SV40 pA - ITR2 (Viral titer $9.4E14$)

Efficient transduction of SNpc DAergic neurons with Lamp2a+WT ASYN rAAVs

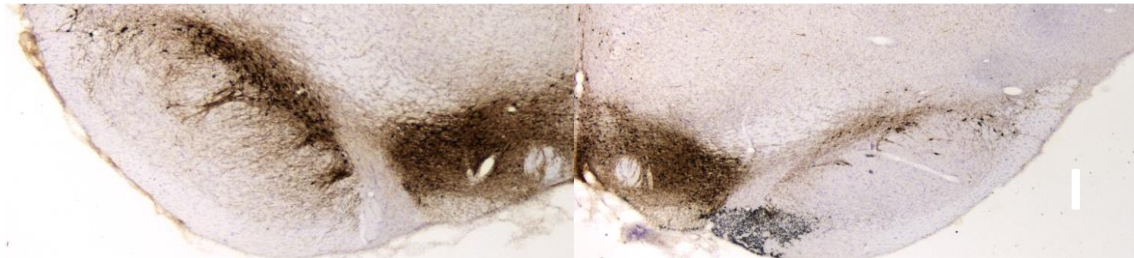


Lamp2a overexpression reverses the alpha-synuclein-mediated loss of TH-positive nigral neurons

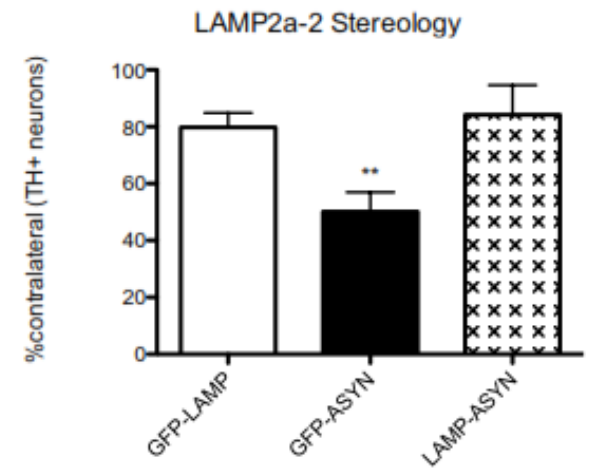
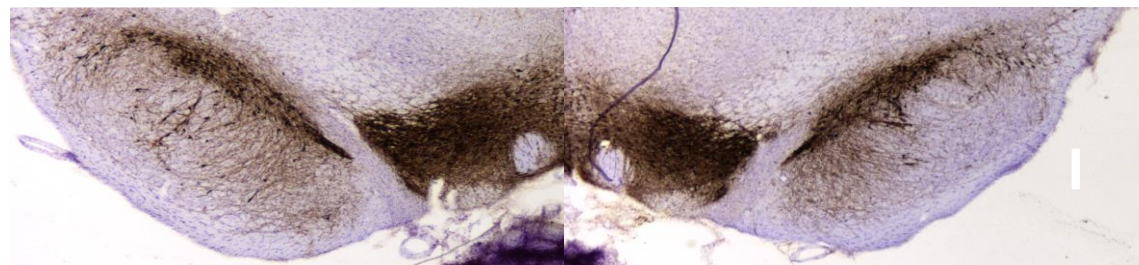
GFP-Lamp-2a



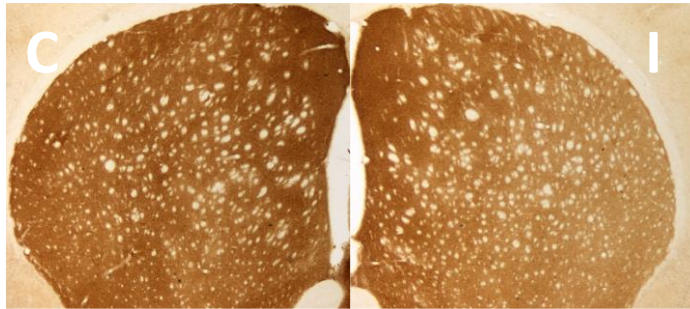
GFP-ASYN



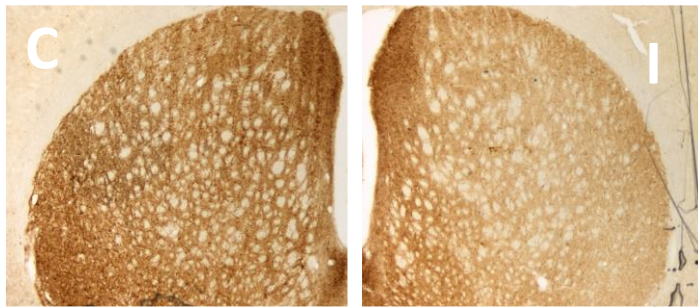
ASYN-Lamp-2a



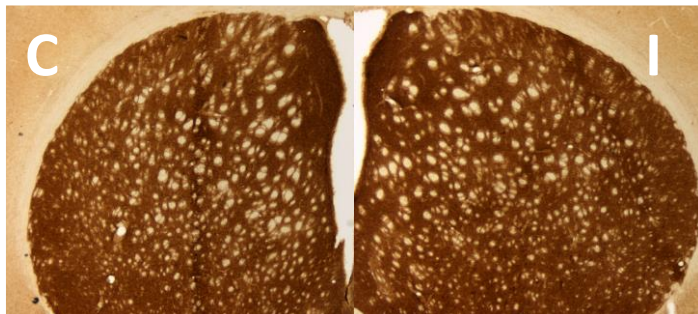
Lamp2a overexpression reverses the loss of alpha-synuclein-mediated striatal TH fiber density



GFP-Lamp-2a

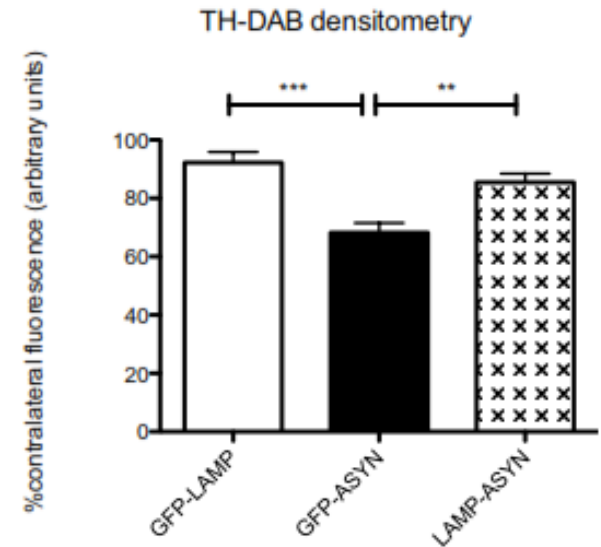


GFP-ASYN



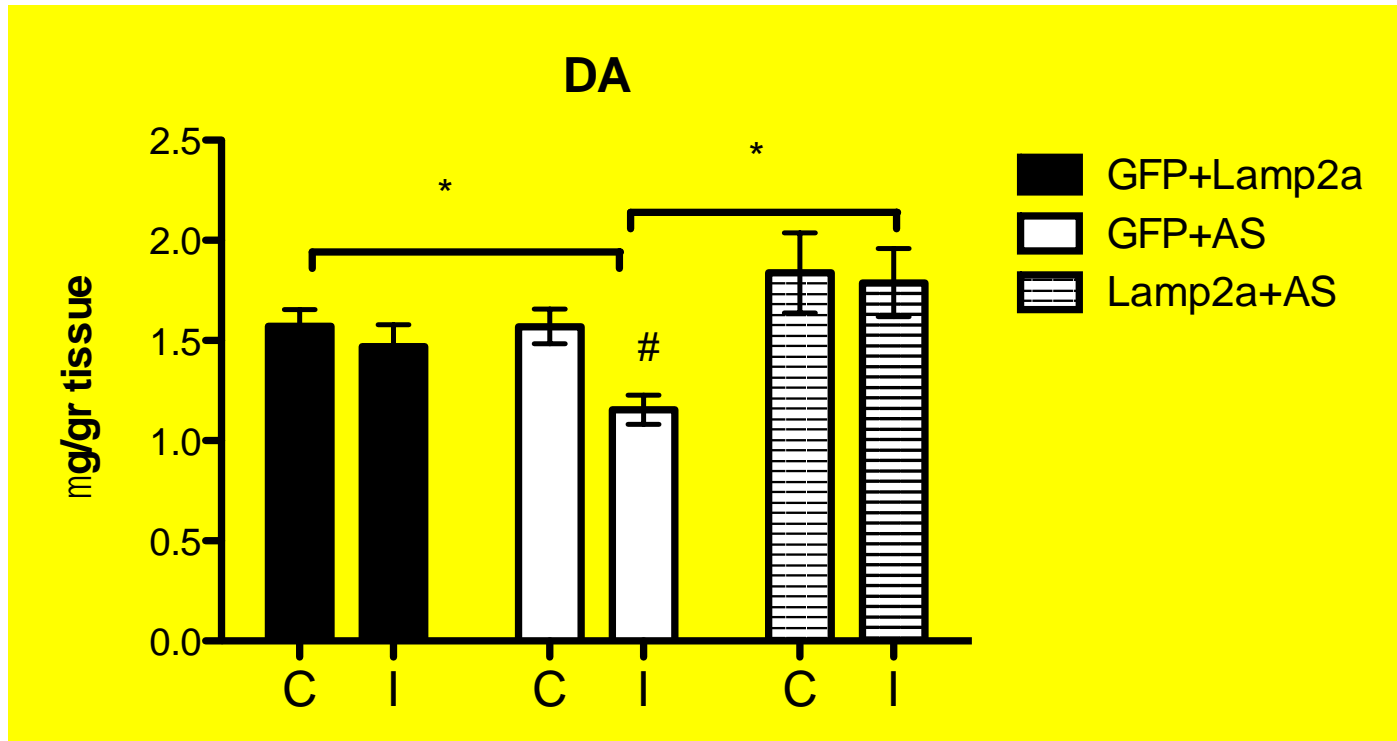
ASYN-Lamp-2a

** = $p < .01$



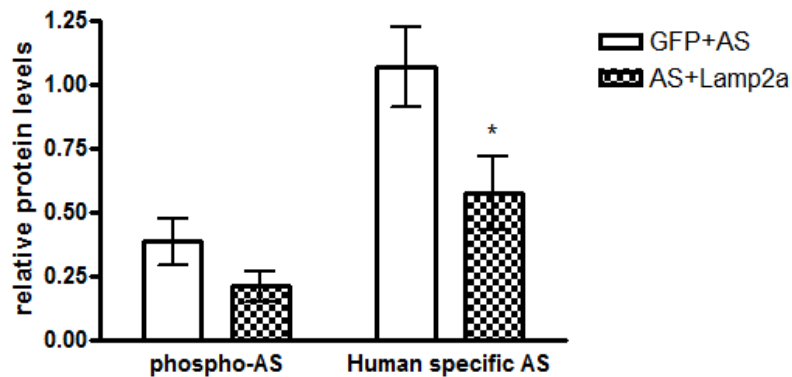
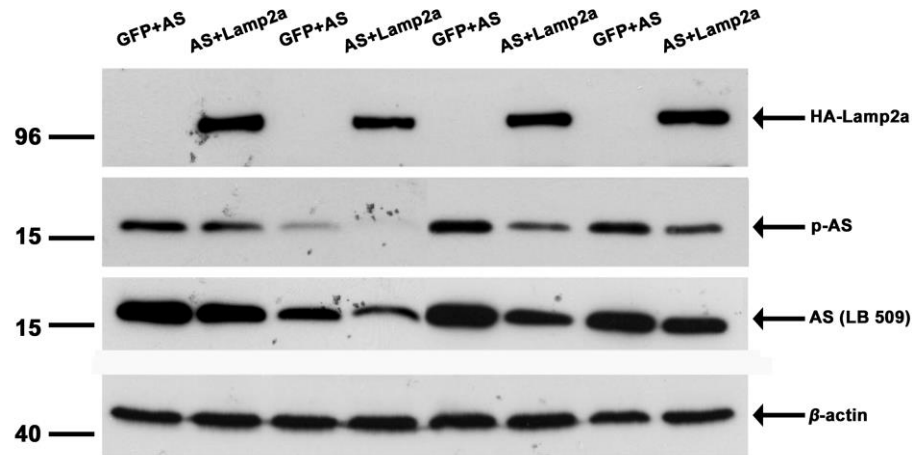
*** = $p < .0001$

Lamp2a overexpression mitigates the loss of DA induced by alpha-synuclein



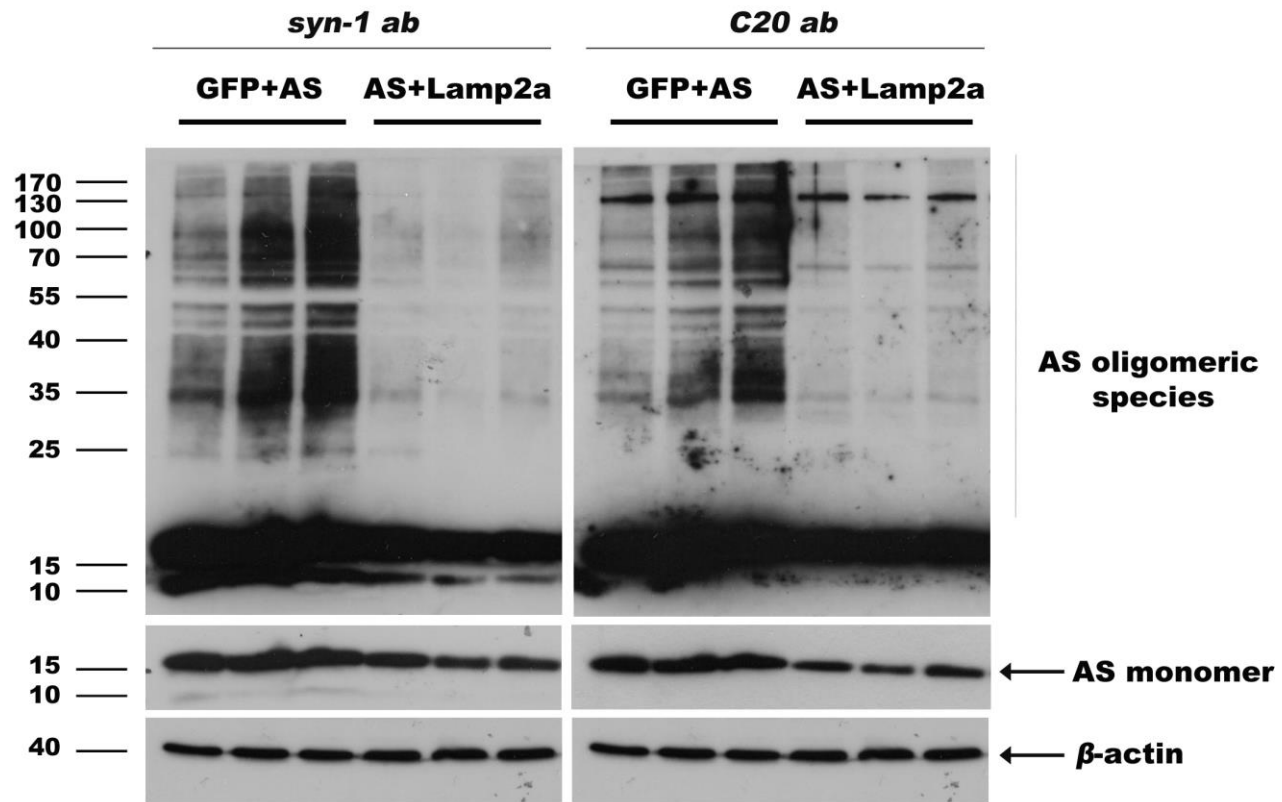
Lamp2a overexpression diminishes the levels of co-expressed human alpha-synuclein in the SNpc

Triton-soluble



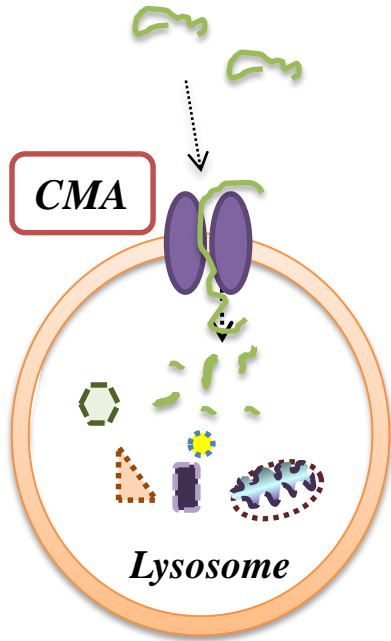
Lamp2a overexpression diminishes the levels of detergent-insoluble monomeric and oligomeric alpha-synuclein in the SNpc

SDS-soluble

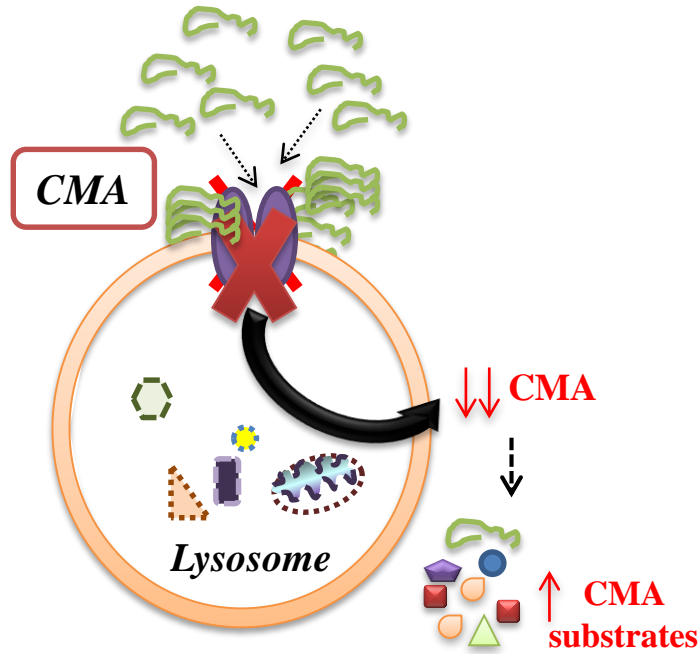


Proposed model

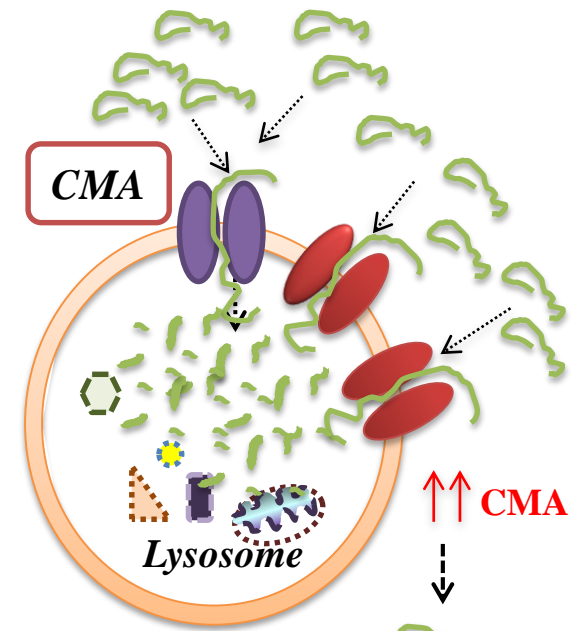
(A) Normal



(B) SNCA Overexpression (PD)



(C) SNCA and LAMP2A overexpression



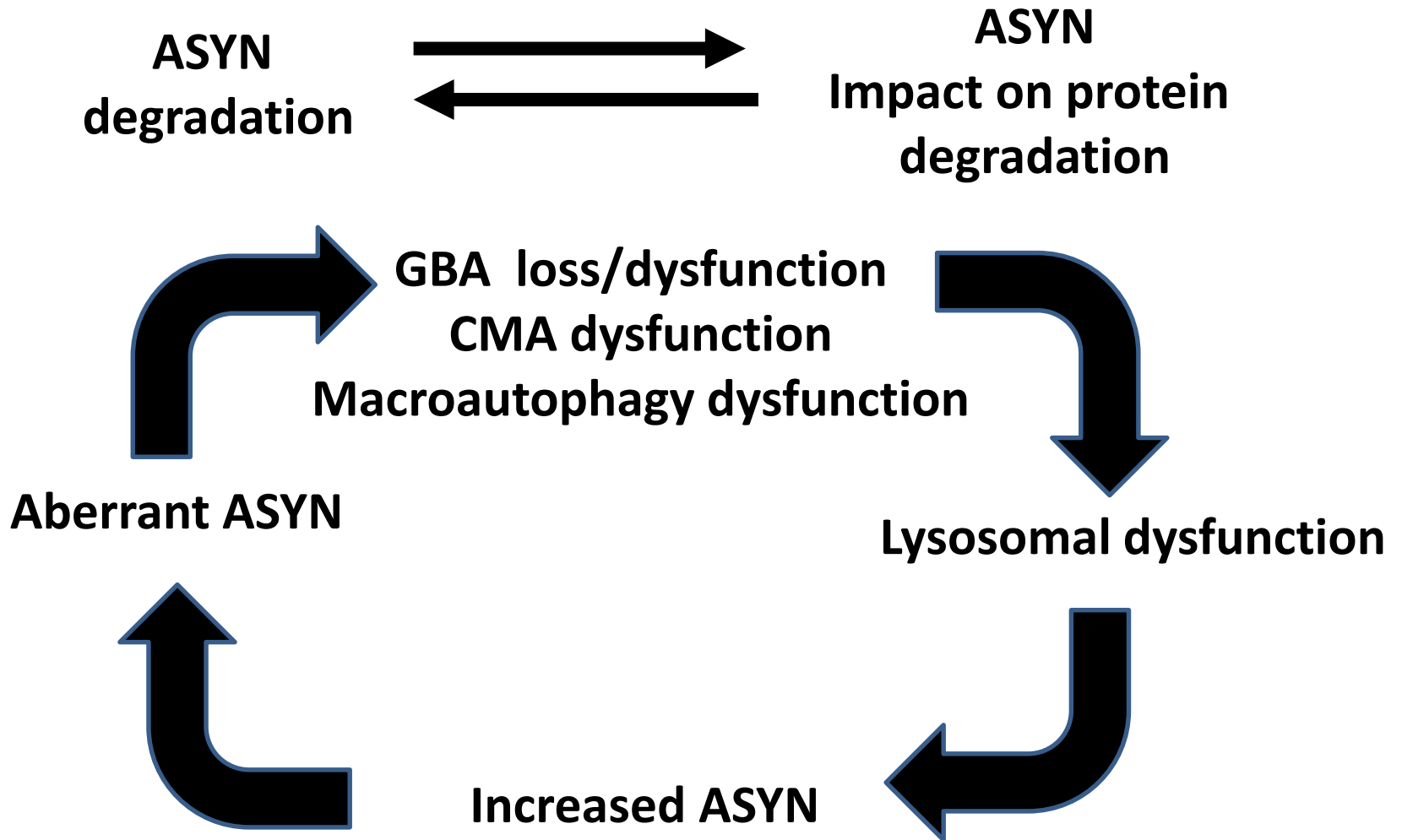
- : wild-type SNCA/alpha-synuclein
- : SNCA oligomers
- : phosphorylated SNCA
- : endogenous LAMP2A
- : overexpressed LAMP2A

Neuronal Death

Neuronal Survival

Xilouri et al., *Brain*, 2013
Xilouri et al., *Autophagy*, 2013

Interrelated themes



Acknowledgements

Maria Xilouri, PhD

Past and present members

Stefanis Lab

Teresa Vogiatzi, PhD

Øystein Rød Brekk, PhD

Alexia Polissidis, PhD,

Nikos Papagiannakis, MD, PhD candidate

Hardy J. Rideout, PhD

Georgia Dermentzaki, PhD

Maria Koronaiou, BSci

Vekrellis Lab

Evangelia Emmanouilidou, PhD

- ✧ NIH/NINDS
- ✧ FP7: NEURASYN, MEFOPA, MULTISYN
- ✧ Greek Ministry of Health, GSRT



Aristeia CMA IN NEURO 2012-2015
<http://cmaineuro.wordpress.com>

Collaborators

Dr Deniz Kirik, MD, PhD

Lund University

Dr. Olaf Riess, MD, PhD

Univ of Tübingen

Dr Panos Politis, PhD, BRFAA

Dr Antonia Vlahou, PhD, BRFAA

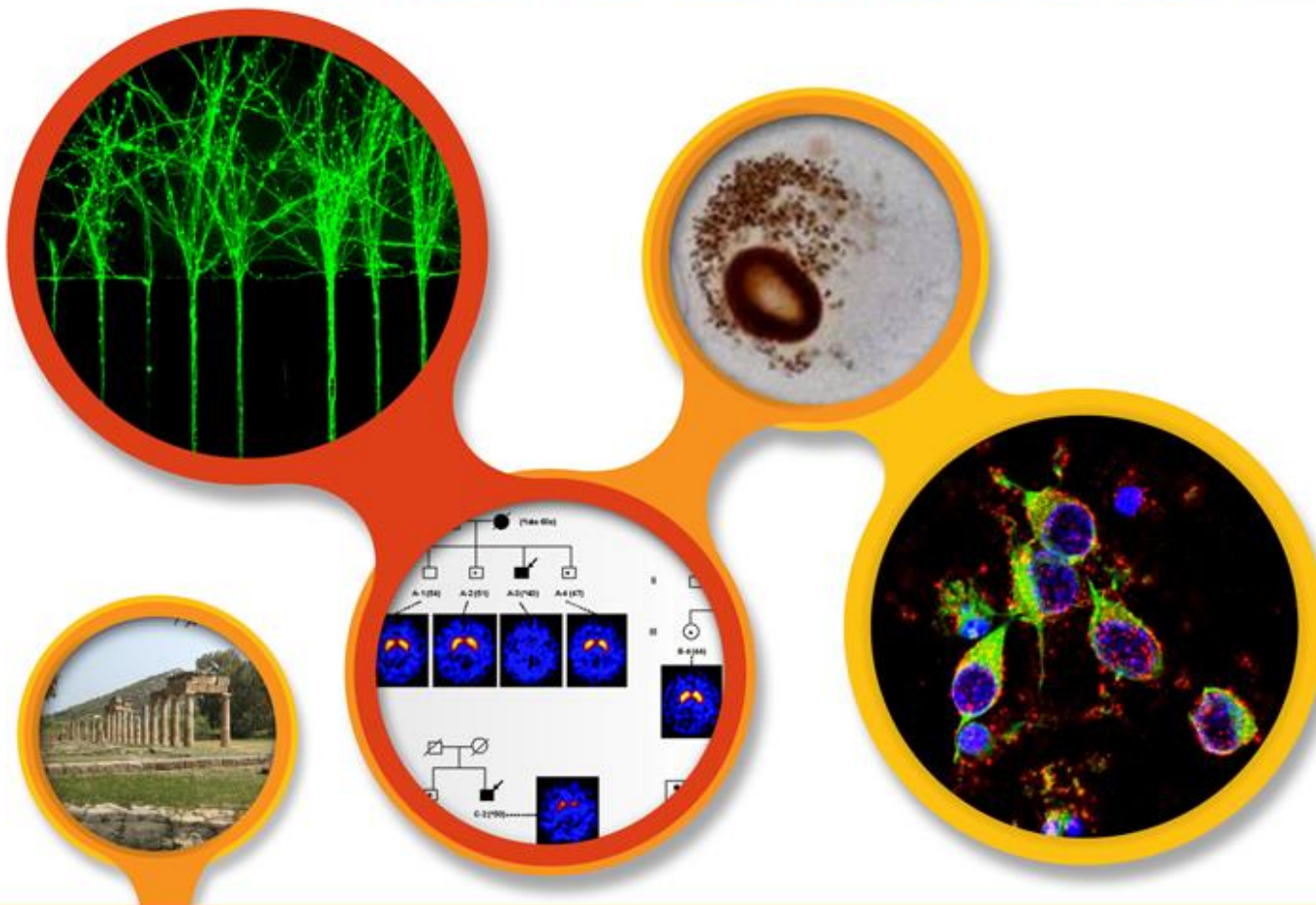
Dr. Eleni Michelakaki, PhD, IChH

Dr. Rebecca Matsas, PhD, Pasteur Inst



20
YEARS

**of alpha-synuclein in Parkinson's Disease
& related synucleinopathies:**
from the bedside to the bench and back to the patient



ATHENS, VRAVRONA 7-10 SEPTEMBER 2017 Hotel Mare Nostrum

www.synuclein2017.org