

Alfasynukleiini Parkinsonin taudissa

LuK -tutkielma
Turun yliopisto
Bioteknologian laitos
Biokemia
Melissa Ahonen
13.2.2024
Turku

TURUN YLIOPISTO
Bioteknologian laitos
AHONEN MELISSA: Alfasynukleiini Parkinsonin taudissa
LuK-tutkielma, 21 sivua
Biokemia
13.2.2024

Turun yliopiston laatujärjestelmän mukaisesti tämän julkaisun alkuperäisyys on tarkastettu Turnitin OriginalityCheck -järjestelmällä.

Parkinsonin tauti on yleisin hermorappeumaa aiheuttava liikehäiriösairaus, jonka puhkeamiselle ei tunneta syytä. Alfasynukleiinin on havaittu olevan yhteydessä sairauden muodostumiseen, vaikka sen toimintamekanismeja ei tunneta täysin. Parkinsonin taudille ei ole olemassa parantavaa lääkitystä, minkä vuoksi tutkimus taudin ja alfasynukleiinin ymmärtämiseksi on edellytys toimiville hoitoratkaisuille.

Alfasynukleiinin tiedetään olevan järjestäytymätön proteiini, jota esiintyy solussa liukoisessa ja kalvoon sitoutuneessa muodossa. Alfasynukleiini on presynaptinen hermosoluproteiini, jonka uskotaan vaikuttavan synapseissa välittäjäaineiden vapautumiseen. Toksisuutta proteiinin on havaittu aiheuttavan aggregoituneessa ja oligomeerisessa muodossaan. Tiedetyt toksiset muodot pystyvät myös leviämään solusta toiseen ja kulkeutumaan esimerkiksi suolistosta aivoihin vagushermaa pitkin. Soluissa alfasynukleiini aiheuttaa sytotoksisuutta eri mekanismein, joihin kuuluvat solun tukirangan muutokset, mitokondrion toimintahäiriöt, solulimakalvoston stressi, proteostaasin häiriöt, synaptiset häiriöt ja apoptoosi. Lisää tutkimusta tarvitaan yhä, että alfasynukleiinin normaalitoimintaa ja toksisuutta aiheuttavia mekanismeja voitaisiin ymmärtää paremmin ja niiden pohjalta saataisiin uutta tietoa Parkinsonin taudista.

Avainsanat: Parkinsonin tauti, alfasynukleiini, aggregaatio, amyloidit, oligomeerit.

Sisällys

1	Johdanto	2
2	Parkinsonin tauti	3
2.1	Yleistä	3
2.2	Diagnosointi	3
2.3	Alfasynukleiinin merkitys taudinkuvassa	3
3	Alfasynukleini	5
3.1	Rakenne	5
3.2	Normaalitoiminta	6
3.3	Toksisuus	8
3.3.1	Alfasynukleiinin aggregaatio	8
3.3.2	SNCA-geenin mutaatiot	9
3.3.3	Alfasynukleinioligomeerit	9
3.3.4	Prionin kaltainen leviäminen	12
4	Alfasynukleiinin toksisuus solutasolla	14
4.1	Solun tukirangan muutokset	14
4.2	Mitokondrion toimintahäiriöt	15
4.3	Solulimakalvoston stressi	15
4.4	Proteostaasin häiriöt	16
4.5	Synaptiset häiriöt	17
4.6	Apoptoosi	18
5	Yhteenveto	19
	Lähteet	21

1 Johdanto

Parkinsonin tauti on yleisin hermorappeumaa aiheuttava liikehäiriösairaus. Sairauden puhkeamissyitä ei vielä tunneta, mutta periytyvään muotoon liittyviä mutaatioita on havaittu. Parkinsonin tautiin kuuluu monia motorisia ja ei-motorisia oireita, mutta sille tyypillisimmät piirteet ovat lepovapina, liikkeiden hidastuminen ja lihasjäykkyys. (Balestrino ja Schapira 2020.)

Parkinsonin taudille ei ole löydetty parantavaa tai taudin etenemistä estävää hoitoa. Potilaiden hoito keskittyy pääosin oireiden lievittämiseen ja toimintakyvyn ylläpitoon. (Käypä hoito 2022.) Sairauden hoitoon käytetään lääkkeitä, jotka vaikuttavat dopamiinivälitteisesti (Balestrino ja Schapira 2020). Tällä hetkellä tehokkaimpana pidetty lääkitys on levodopa yhdistettynä dopadekarboksylaasin estäjään. Yhdistelmän tehokkuudesta on tehty vain yksi nykyvaatimukset täyttävä lumekontrolloitu tutkimus. Levodopaa on käytetty kliinisesti yli 40 vuotta ja kontrolloiduissa vertailututkimuksissa se on ollut valtaosassa tehokkaampi kuin muut lääkkeet. (Käypä hoito 2022.) Levodopan sivuvaikutuksiin kuuluvat pahoinvointi, väsymys, sekavuus, hallusinaatiot ja impulssihallintahäiriöt kuten uhkapelaaminen (Balestrino ja Schapira 2020).

Lääkehoito pitää oireet hallinnassa sairauden alkuvaiheessa, mutta sairauden edetessä levodopalle vastustuskykyiset oireet, kuten kaatuilu ja dementia, lisääntyvät. Parantavan lääkityksen kehittämisessä ei olla vielä onnistuttu, vaikka useat yhdisteet ovat tutkinnan alla. (Balestrino ja Schapira 2020.) Parkinsonin taudin vakavuuden vuoksi olisi tärkeää löytää toimiva ratkaisu sairauden hoitoon. Lääkkeiden suunnittelua vaikeuttaa sairauden monimuotoisuus sekä Parkinsonin taudin syntymekanismien tuntemattomuus. Sairauden parempi ymmärtäminen on edellytyksenä toimivien täsmälääkkeiden valmistamiselle.

Parkinsonin taudille tyypillisen hermosolutuhon lisäksi alfasynukleiiniproteiinilla ja sen kertymillä aivoissa on havaittu yhteys sairauden syntyyn (Balestrino ja Schapira 2020). Parkinsonin taudin tutkimus on nykyään keskittynyt vahvasti alfasynukleinin toimintaan ja sen mahdollisiin toksisiin vaikutuksiin soluissa. Alfasynukleinin tutkimus on tärkeää, sillä proteiinin merkityksen ymmärtäminen taudissa voisi avata oven uusille hoitomenetelmille tulevaisuudessa. Tutkielmassani esittelen alfasynukleinin yhteyden Parkinsonin tautiin sekä sen normaalitoimintaa ja toksisuutta aiheuttavia mekanismeja.

2 Parkinsonin tauti

2.1 Yleistä

Parkinsonin tauti on hitaasti etenevä liikehäiriösairaus, jossa aivojen mustatumakkeen dopamiinihermosolut tuhoutuvat vähitellen. Syyt sairauden hermosolutuhoille ovat kuitenkin vielä pääosin tuntemattomat. Hermosolujen tuhoutumisen tiedetään johtavan tahdonalaisia liikeitä säätelevien hermoratojen vaurioitumiseen ja dopamiinin puutokseen. Puutos on merkittävä, sillä Parkinsonin tautia sairastavalla hermovälittäjäaineen pitoisuus tyvitumakkeissa on pienentynyt ainakin 80 %:iin normaalista vertailutasosta. Tyypillinen puhkeamisikä Parkinsonin taudille on 50–70 vuotta ja sitä sairastaa noin 1 % yli 60-vuotiaista. Tauti on hyvin harvoin periytyvä ja vain alle 5 % kaikista tapauksista johtuu yhden geenin mutaatiosta. (Käypä hoito 2022.)

Parkinsonin taudille tyypillisiä pääoireita ovat lepopapina, liikkeiden hidastuminen ja lihasjäykkyys. Muita oireita voivat olla myös univaikeudet, muistihäiriöt, ajatustoiminnan hidastuminen ja masennus. Motoriset oireet alkavat yleensä hitaasti, kuukausien ja vuosien kuluessa, ja ovat alkuun vain toispuoleisia. Pidemmälle edetessä oireet alkavat olla molemminpuolisia ja tasapaino-ongelmia alkaa ilmetä. Ei-motoriset oireet, esimerkiksi hajuaistin heikentyminen ja ummetus, voivat alkaa jo vuosia ennen motoristen oireiden ilmenemistä. (Balestrino ja Schapira 2020.)

2.2 Diagnoosi

Diagnoosi perustuu yleensä kliiniseen neurologiseen tutkimukseen, jossa tutkittavalla on esiinnyttävä pääoireista liikkeiden hidastumista ja toinen tai molemmat: lihasjäykkyys ja lepopapina. Tutkimuksissa ei käytetä verikokeita, sillä sairaudella ei ole tyypillisiä merkkiaineita, jotka esiintyisivät veressä. Jos oireissa on epätyypillisiä piirteitä, voidaan lisätutkimuksissa käyttää aivojen isotooppikuvausta. Menetelmällä pystytään havaitsemaan tautia sairastavalla dopamiinin toispuoleisesti painottunut vähentyminen tyvitumakkeissa. (Käypä hoito 2022)

2.3 Alfasynukleiinien merkitys taudinkuvassa

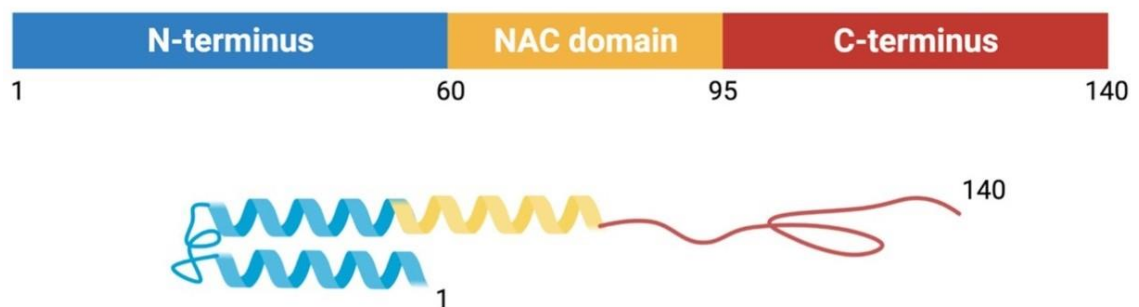
Mustatumakkeen hermosolujen tuhoutumisen lisäksi Parkinsonin taudille tyypillinen tunnusmerkki on aivoihin kertyvät väärin laskostuneet alfasynukleiiniproteiinit, jotka muodostavat Lewyn kappaleita (Villar-Piqué ja muut 2016). Vielä on epäselvää mikä

merkitys Lewyn kappaleilla on Parkinsonin taudissa. Ovatko ne syy vai seuraus sairauden aiheuttamassa hermostotuhossa vai jopa pelkkä neutraali sivutuote? Alfasynukleiinien oligomeereista on kuitenkin paljon tutkimuksia, jotka osoittavat tiettyjen muotojen olevan neurotoksisia ja vaurioittavan hermosoluja esimerkiksi vahingoittamalla synapseja, häiritsemällä proteiinien homeostaasia ja indusoimalla tulehdusta. Osa alfasynukleinioligomeereihin kohdistetuista uusista hoitomenetelmistä on osoittautunut aiheuttavan hermostoa suojaavia vaikutuksia soluissa. Oligomeereja on kuitenkin suuri määrä ja ne vaihtelevat kooltaan ja rakenteeltaan. Tämän vuoksi tarvitaan vielä lisää tutkimusta aiheesta. (Du ja muut 2020.) Alfasynukleiinien, sen oligomeerien ja Lewyn kappaleiden tutkimus voi mahdollistaa uusien hoitomenetelmien kehittämisen ja aikaisemman diagnosoinnin tulevaisuudessa. (Balestrino ja Schapira 2020).

3 Alfasy nukleii

3.1 Rakenne

Alfasy nukleii on presynaptinen hermosoluproteiini, joka esiintyy hermosoluissa kahdessa eri muodossa: liukoisena- ja kalvoproteiinina. Liukoisella alfasy nukleiinilla ei ole järjestäytyntä rakennetta, mutta sitoutuessaan membraaniin se laskostuu α -heliksille. Alfasy nukleii on 140 aminohapon pituinen proteiini, joka koostuu kolmesta domeenista (kuva 1). Proteiinin N-terminaalinen alue on aminohappojärjestykseltään erittäin konservoitunut ja se muodostaa amfipaattisen α -heliksin, jonka avulla se pystyy sitoutumaan solun membraaneihin. (Mehra ja muut 2019.) N-terminaalisen alueen sekvenssiä on havaittu vain synukleiiniperheen sisällä ja ainoastaan selkärankaisilla (Bendor ja muut 2013). C-terminaalinen alue proteiinissa on hyvin polaarin ja koostuu useasta varauksellisesta aminohaposta. Tämä alue sisältääkin eniten translaation jälkeistä muokkausta ja vuorovaikuttaa muiden proteiinien, ligandien ja metalli-ionien kanssa (Mehra ja muut 2019). C-terminaalinen alue on myös kaikista vähiten konservoitunut ja sen biologinen tehtävä on yhä tuntematon (Bendor ja muut 2013). On myös huomattu, että C-terminaalisen osan poisto aiheuttaa alfasy nukleiinin aggregoitumista ja estää sen kaperonityyppisen toiminnan. C- ja N-terminaalisten alueiden väliin jää hydrofobinen ja amyloidogeeninen alue, NAC (*engl. non-amyloid component*), joka on altis aggregoitumiselle ja voi aiheuttaa liukenemattomien proteiinikertymien, amyloidien, kasaantumisen kudoksiin. (Mehra ja muut 2019.)



Kuva 1. Alfasy nukleiinimonomeerin rakenne. Alfasy nukleii on 140 aminohapon pituinen proteiini, joka voidaan jakaa kolmeen domeeniin. Kuvassa sinisellä on esitetty N-terminaalinen alue, keltaisella NAC-domeeni ja punaisella C-terminaalinen alue. (Fan ja muut 2021)

Useat tutkimukset ovat kuvailleet alfasy nukleiinia rakenteeltaan järjestäytymättömänä monomeerinä, niin liukoisessa kuin kalvoon kiinnittyneessä muodossa. Vaikka suurin osa

alfasynukleiinista esiintyy tässä muodossa keskushermostossa, on myös havaittu, että sillä on muitakin vaihtoehtoisia muotoja. Alfasynukleini on hyvin plastinen konformaatioiltaan ja voikin pienten lämpötilasta johtuvien muutosten lisäksi muodostaa sekundäärisiä rakenne-elementtejä ja molekyyllipainoltaan suuria komplekseja. (Villar-Piqué ja muut 2016.) Vapaan liukoisen muodon ja kalvoon sitoutuneen muodon lisäksi on esitetty, että alfasynukleiniinimonomeerit voisivat muodostaa tetrameereja, jotka suojaisivat proteiineja aggregoitumiselta (Du ja muut 2020). Alfasynukleinin rakenne solussa on kuitenkin yhä hyvin kiistelty aihe ja on hyvä muistaa, että laajoista in vitro tutkimuksista huolimatta, sen rakenne on vielä hyvin heikosti ymmärretty (Bendor ja muut 2013).

3.2 Normaalitoiminta

Alfasynukleiinia esiintyy pääosin vain hermosolujen hermopäätteissä. Sitä esiintyy myös muissa soluissa, kuten punasoluissa, mutta yleisesti proteiini on hermosoluille spesifinen ja sitä ilmenee laajasti niin keskus- kuin ääreishermoston hermosoluissa. Alfasynukleini on viimeisimpiä kehittyvään synapsiin lokalisoituvia proteiineja ja sitä esiintyy vain selkärankaisilla. Näistä havainnoista voidaan olettaa, että alfasynukleiinilla ei ole ratkaisevaa merkitystä synapsin muodostumisessa tai sen toiminnassa. (Bendor ja muut 2013.)

Hermopäätteiden synapseissa alfasynukleiinia esiintyy runsaasti, mutta sen toiminnassa on vielä paljon epäselvyyttä (Du ja muut 2020). Alfasynukleinin presynaptinen sijainti hermosolussa ja sen vuorovaikutukset membraanien kanssa viittaavat vahvasti siihen, että proteiini säätelisi hermovälittäjäaineiden vapauttamista vesikkeleistä synapsiin. (Bendor ja muut 2013.) Tutkimuksissa on huomattu, että transgeenisten hiirten, jotka yli-ilmentävät ihmistyyppin alfasynukleiinia, motorinen aktiivisuus ja ruuansulatuskanavan liikehdintä on monella tavalla epänormaalia. Muutokset viittaisivat siihen, että yli-ilmeneminen voisi käynnistää Parkinsonin taudin esivaiheen, mutta huomattavaa hermorapheetumista ei ole kuitenkaan havaittu tutkituissa hiirissä. (Bendor ja muut 2013.)

Dopamiinivälitteisissä hermosoluviljelmissä, joissa alfasynukleinin yli-ilmeneminen on säädetty sellaiselle tasolle, joka ei tuota proteiinikertymiä tai suoraa toksisuutta, proteiinin on huomattu inhiboivan vesikkeleiden eksosytoosia synapseissa. Inhibointi vähensi vesikkeleiden vapautumista synapsiin, mutta ei kuitenkaan vaikuttanut yksittäisten

tapahtumien kinetiikkaan. Tarkkaa toimintaa vesikkeleiden eksosytoosihäiriöiden takana ei tunneta, mutta huomiota herättävää kuitenkin on, että tutkituilla siirtogeenisillä hiirillä tapahtuu synapsiini- ja kompleksiini-proteiinien vähenemistä. Näiden proteiinien väheneminen on suoraan yhteydessä eksosytoosin muutoksen kanssa synapseissa, sillä kompleksiinit säätelevät synapsien vesikkeliliikennettä ja synapsiinit hermovälittäjäaineiden vapautumista synapsiin. (Bendor ja muut 2013.)

Presynaptisen kaperonikysteiniiniketjuproteiinin (*engl. CSP α , chaperone cysteine string protein*) häviämisen aiheuttaman rappeutumisen ja alfasynukleiinien välillä on havaittu vahva geneettinen vuorovaikutus. CSP α knock-out -malleilla, kyseisen proteiinin puute ei vaikuta synaptiseen vuorovaikutukseen heti syntymän jälkeen, mutta johtaa nopeasti etenevään synapsien rappeutumiseen ja lopulta kuolemaan kahden kuukauden sisällä. Tämä osoittaa, että CSP α :aa ei varsinaisesti tarvita välittäjäaineiden vapauttamiseen, vaan synapsin toiminnan ylläpitämiseen pidemmällä aikavälillä. Onkin ehdotettu, että alfasynukleiinilla voisi olla samankaltainen toimintaa ylläpitävä tehtävä synapsissa. Ehdotusta tukee se, että alfasynukleiinien yli-ilmeneminen viivästyttää huomattavasti CSP α :n häviämisestä johtuvaa rappeutumista ja toisaalta alfasynukleiinien katoaminen pahentaa CSP α knock-out -fenotyyppiä. Havaittu ilmiö osoittaa, että alfasynukleiinien tehtävä synapsissa voisi olla mahdollisesti samankaltainen kuin CSP α :n. (Bendor ja muut 2013.)

CSP α knock-out hiirillä SNARE-kompleksien (*engl. Soluble N-ethylmaleimide-sensitive factor activating protein receptor*) muodostuminen on heikentynyt ja johtaa yksilöllä hermorappeumaan ja aikaiseen kuolemaan (Villar-Piqué ja muut 2016). SNARE-proteiineilla on tärkeä asema synaptisten vesikkeleiden eksosytoosissa ja CSP α vaikuttaa suoraan SNARE-kompleksitasoihin (Bendor ja muut 2013). Alfasynukleiinien yli-ilmeneminen pelastaa CSP α knock-out fenotyypiltä ja pidentää samalla elinikää. Alfasynukleiinien siis vaikuttaa tehostavan SNARE-kompleksien muodostumista ohittaen CSP α :n tarpeen. Tutkimuksissa on myös havaittu että, knock-out-eläimille, jotka eivät ilmentäneet alfasynukleiinien tai CSP α :aa, muodostui kaikista vakavin fenotyyppi. Nämä tulokset ovat osoittaneet, että alfasynukleiinien ja CSP α pystyvät korvaamaan toisensa. CSP α :n toiminta voisikin selittää, miksi alfasynukleiinien knock-out-hiirille aiheutuu vain lievä fenotyyppi tutkimuksissa. (Villar-Piqué ja muut 2016.) Toisaalta aikaisemmin mainittujen tulosten lisäksi on huomattu, että alfasynukleiinien pystyy myös säätelemään vesikkeliliikennettä ilman vuorovaikutusta SNARE-kompleksin kanssa. Itse alfasynukleiinien toimintamekanismista ollaan siis yhä hyvin epävarmoja.

3.3 Toksisuus

3.3.1 Alfasy nukleiinin aggregaatio

Parkinsonin taudin ajateltiin pitkään olevan ikääntymiseen liittyvä sairaus, jonka muodostumiseen johtava syy oli tuntematon. Tämä käsitys kuitenkin muuttui 1990-luvun loppupuolella, kun alfasy nukleiinia koodaavasta SNCA-geenistä (*engl. synuclein alpha*) löydettiin mutaatioita, jotka olivat suoraan yhteydessä Parkinsonin taudin perinnölliseen muotoon. Vaikka perinnöllinen muoto on vain hyvin pieni osuus kaikista Parkinsonin tautitapauksista, osoitti löydös alfasy nukleiinin yhteyden taudin synnyssä. (Mehra ja muut 2019.)

Mutaatioiden löytymisen jälkeen taudin tunnusmerkkinä on pidetty Lewyn kappaleita, jotka vaikuttavat koostuvan ainakin pääosin, jollei kokonaan, aggregoituneista alfasy nukleineista. Toisin kuin normaalisti toimiva alfasy nukleini, joka laskostuu α -heliksille sitoutuessaan membraaniin, aggregoitunut alfasy nukleini on laskostunut β -laskokselle. (Bendor ja muut 2013.) Aggregoitumista vastaan järjestäytymättömillä proteiineilla on yleensä sekvenssejä, jotka sisältävät paljon varauksellisia aminohappoja ja proliineja sekä vain vähän hydrofobisia alueita. Alfasy nukleiinilla kaikkein herkimmin aggregoituva alue on NAC-domeeni, jota suojaavat N- ja C-domeenien positiiviset ja negatiiviset varaukset. Proteiinin eri alueet vuorovaikuttavat toistensa kanssa todennäköisesti hydrofobisilla ja elektrostaattisilla vuorovaikutuksilla. Näistä vuorovaikutuksista johtuen alfasy nukleiinilla vaikuttaisi olevan dynaamisia konformaatioita, jotka pitävät proteiinin tiiviissä rakenteessa estäen aggregoitumisen. Kuitenkin mutaatiot, ympäristön muutokset sekä translaation jälkeiset muokkaukset voivat vaikuttaa proteiinin rakenteen tiivyyteen ja indusoida väärin laskostumista ja aggregoitumista. (Villar-Piqué ja muut 2016.) Myös C-terminaalisen alueen poiston on osoitettu aiheuttavan aggregoitumista *in vitro* ja patologisia muutoksia *in vivo* (Bendor ja muut 2013). *In vitro* -tutkimuksissa aggregoituminen tapahtuu samalla tavalla kuin muilla amyloidogeenisillä järjestäytymättömillä proteiineilla. Aggregoituminen tapahtuu kolmessa vaiheessa. Ensin lag-vaiheessa alfasy nukleini monomeerit asettuvat yhteen muodostaen aggregaatioytimen. Ytimen muodostumisen jälkeen alkaa kasvuvaihe, jossa amyloidisäikeet kasvavat eksponentiaalisesti. Viimeisenä on stationäärivaihe, jossa monomeerien ehtyminen laskee kasvunopeutta. (Villar-Piqué ja muut 2016.)

3.3.2 SNCA-geenin mutaatiot

Alfasynukleiinista on havaittu kuusi eri pistemutaatiota, jotka ovat yhteydessä Parkinsonin taudin periytyvään muotoon: A30P, E46K, H50Q, G51D, A53E ja A53T. Kaikki kuusi mutaatiota aiheuttavat N-domeeniin muutoksia, mutta minkään niistä ei ole havaittu aiheuttavan merkittäviä muutoksia alfasynukleiin monomeerirakenteeseen. Vain mutaatio A30P vaikuttaa monomeeriin heikentäen sen laskostumista α -heliksille. Mutaatioiden sijainti N-domeenissa todennäköisesti vaikuttaa alfasynukleiin kykyyn sitoutua membraaneihin. Tutkimuksissa onkin havaittu, että A53T- ja H50Q-mutaatiot kasvattavat proteiinin todennäköisyyttä olla vuorovaikutuksessa membraanien kanssa ja mutaatiot A30P, G51D ja A53E pienentävät tätä todennäköisyyttä. Pistemutaatiot voivat myös häiritä alfasynukleiin domeenien vuorovaikutuksia ja sitä kautta muokata proteiinin konformaatiota. Konformaation muuttuessa rakenteen stabiilisuus voi laskea ja alfasynukleini saattaa altistua aggregoitumiselle helpommin. Mutaatioiden, E46K, H50Q ja A53T, on havaittu nostavan alfasynukleiin aggregoitumisherkkyttä, kun taas mutaatioiden G51D ja A52E on havaittu laskevan sitä. Muista eroten A30P vaikuttaisi olevan herkempi oligomerisaatiolle kuin aggregoitumiselle. Eri mutaatioiden on myös havaittu tuottavan toisistaan vähän eroavia proteiinisäikeitä. Mutaatioiden eroista huolimatta niiden patologista merkitystä Parkinsonin taudissa ei ole vielä pystytty selvittämään. (Villar-Piqué ja muut 2016.)

Spesifisten pistemutaatioiden lisäksi on myös havaittu, että useampi kopio SNCA-geenistä voi aiheuttaa Parkinsonin taudin periytyvän muodon. Tämä osoittaa, että jo pelkkä alfasynukleiin yli-ilmeneminen aiheuttaa häiriöitä sen normaalissa toiminnassa. Alfasynukleiin määrä vaikuttaisi myös olevan suoraan verrannollinen taudin vakavuuteen: kaksinkertaistunut tuotanto aiheuttaa tavallisen Parkinsonin taudin fenotyypin, mutta kolminkertaistunut aiheuttaa huomattavasti vakavamman muodon. Tämä havainto ja perinnöllisen tautimuodon harvinaisuus voisivat osoittaa, että Parkinsonin taudin syy ei välttämättä ole pelkästään geenin eri mutaatioissa vaan alfasynukleiin muodostamisessa oligomeereissa. (Bendor ja muut 2013.)

3.3.3 Alfasynukleinioligomeerit

Lewyn kappaleiden löydyttyä ajateltiin, että syy Parkinsonin taudille olisi proteiinikertymissä, joita havaittiin potilaiden aivoissa kuoleman jälkeisissä tutkimuksissa. Myöhemmin on kuitenkin huomattu, että nämä korreloivat huonosti

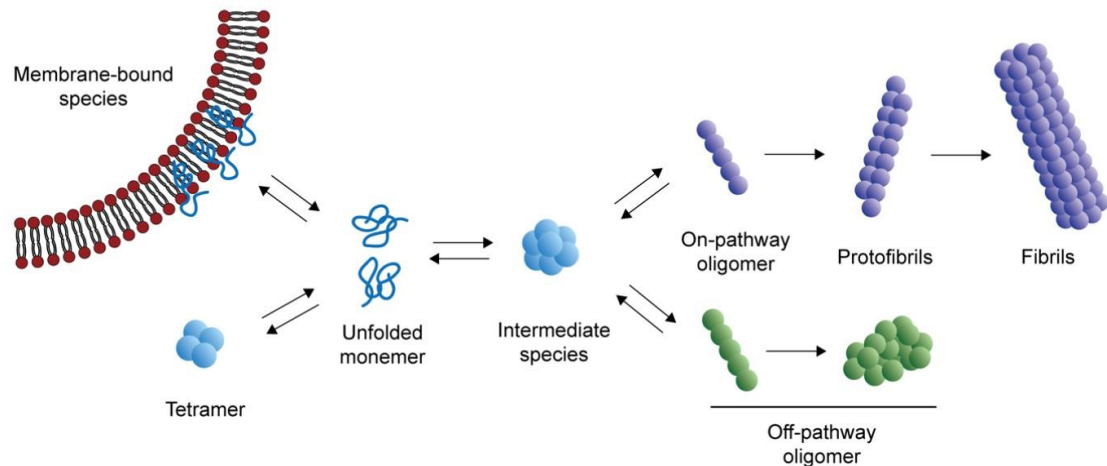
Parkinsonin taudin kliinisten oireiden kanssa. On myös havaittu, että hermoston rappeutumista esiintyy potilailla, joille ei kerry Lewyn kappaleita aivoihin. Lisäksi useissa tutkimuksissa amyloidisäikeet eivät aiheuttaneet huomattavaa toksisuutta solukasvatuksissa. Nämä havainnot johtivat hypoteesiin siitä, että alfasynukleiinin toksinen muoto olisi oligomeerirakenne amyloidisäierakenteen sijaan. (Mehra ja muut 2019.)

Oligomeerit ovat makromolekyylikomplekseja, jotka koostuvat ei-kovalenttisesti sitoutuneista monomeereista. Alfasynukleinioligomeerit koostuvat yleensä useista kymmenistä monomeereista, mikä tekee niistä hyvin heterogeenisiä rakenteeltaan ja molekyylipainoltaan. Toisin kuin amyloidisäikeet, oligomeerit ovat liukoisia ja epästabiileja, minkä vuoksi ne pystyvät muuttamaan konformaatiotaan nopeasti. (Du ja muut 2020.) Näiden ominaisuuksien vuoksi alfasynukleinioligomeerien rakenne on vielä melko tuntematon ja niiden karakterisoinnissa on useita teknisiä ongelmia. (Villar-Piqué ja muut 2016).

Aggregaatioprosessin (kuva 2) aikana alfasynukleiniinimonomeereista muodostuu useita erilaisia oligomeereja, jotka voidaan jakaa kahteen eri ryhmään. Oligomeereihin, jotka pystyvät muodostamaan amyloidisäikeitä (*engl. on-pathway*) ja oligomeereihin, jotka eivät muodosta säikeitä (*engl. off-pathway*). Säikeitä muodostavat oligomeerit omaavat β -laskos rakenteen ja muodostavat lopulta amyloideja. Oligomeerit, jotka eivät pysty muodostamaan säikeitä ovat tasapainotilassa muiden mono- ja oligomeerien kanssa, lisäten epäsuorasti muodostuvien säikeiden määrää. (Mehra ja muut 2019.) Ennen β -laskoksesta muodostuvaa rakennetta, oligomeereilla esiintyy välimuoto, joka koostuu pääosin α -heliksistä. Kyseinen välimuoto on sytotoksinen ja voi edistää alfasynukleiinien aggregoitumista. Kaikki oligomeerit eivät kuitenkaan kasvata amyloidisäikeitä, tällaisia oligomeereja on havaittu kaksi ja niiden on huomattu estävän amyloidien muodostumista. (Du ja muut 2020.)

Tutkimuksissa on havaittu, että alfasynukleinioligomeerit ovat hermosoluille sytotoksisia. Oligomeerit, jotka eivät muodosta säikeitä, aiheuttavat merkittävää toksisuutta hermosoluissa, verrattuna säikeitä muodostaviin, jotka aiheuttavat tuhoa vähemmän tai ei ollenkaan. Tämä tulos vahvistaa käsitystä oligomeerien toksisuudesta ja osoittaa niiden olevan todennäköisesti ratkaisevammassa asemassa taudin kuvassa, kuin säikeiden ja niistä muodostuvien amyloidien. On myös saatu vahvaa näyttöä, että tietyt toksiset oligomeerit kertyvät taudin alkuvaiheessa, näitä ei kuitenkaan vielä tunneta kovin

hyvin, sillä niitä on vaikea tutkia. Huomattavaa on että, vaikka oligomeerit usein yhdistetään toksisuuden lisääntymiseen, niiden toimintamekanismit ovat kuitenkin vielä pääosin täysin tuntemattomat. Oligomeerien aiheuttaman sytotoksisuuden ymmärtämiseksi, on välttämätöntä selvittää niiden rakenteet ja toimintamekanismit. (Mehra ja muut 2019.)



Kuva 2. Alfasy nukleiinin aggregoitumisreitit. Alfasy nukleiini esiintyy fysiologisessa ympäristössä membraaniin sitoutuneena ja liukoisena järjestäytymättömänä monomeerina sekä tetrameerina. Aggregaatioprosessissa monomeereista muodostuu joko säikeitä muodostavia oligomeereja tai oligomeereja, jotka eivät pysty muodostamaan säikeitä. (Du ja muut 2020.)

Alfasy nukleiinioligomeerien sytotoksisuuden taustalla ovat niiden tietyt sekundaarirakenteet. Oligomeerien N-terminaalisen alueen amfipaattiset α -heliksit auttavat niitä kiinnittymään solun kaksoiskalvoihin aiheuttaen sytotoksisuutta. Tämän vuoksi oligomeerien aiheuttamaa toksisuutta soluissa saadaan vähennettyä huomattavasti, kun käytetään vasta-ainetta, joka sitoutuu N-terminaaliselle alueelle estäen kiinnittymisen kalvoihin. Myös oligomeerien ytimessä sijaitseva β -laskos aiheuttaa sytotoksisuutta ja eroaa rakenteeltaan amyloidisäikeissä esiintyvistä β -laskoksesta. Oligomeerien β -laskos on antiparalleeli ja proteiinisäikeissä havaittu muoto on paralleeli. Ytimen β -laskos rakenteen ansiosta oligomeerit pystyvät läpäisemään kaksoiskalvoja ja rikkomaan niiden eheyttä. On myös havaittu, että amyloideista erkaantuneet liukoiset oligomeerit pystyvät tekemään kaksoiskalvoihin reikiä. (Du ja muut 2020.)

Alfasy nukleiinioligomeerien merkityksen kasvaessa Parkinsonin taudin tutkimuksessa on hyvä silti muistaa, että myös alfasy nukleiinisäikeiden ja niistä muodostuvien amyloidien toksisuudesta raportoidaan jatkuvasti uusissa tutkimuksissa. Tutkimuksista saatu tieto on ristiriitaista ja alfasy nukleiinin toksisuutta aiheuttavaa mekanismia on vielä

hankala määritellä täydellisesti. Tutkimuksissa on havaittu, että hermosolut, jotka tuottavat alfasynukleiiniamyloideja kuolevat, kun niihin lisätään alfasynukleiinisäikeitä, toisinkuin hermosolut, jotka eivät tuota amyloideja. Tämä tulos osoittaa yhteyden solukuolemien ja amyloidien välillä. Toisaalta on myös havaittu, että amyloidit voisivat toimia hermosolujen suojaavana mekanismina, sitoen toksisia oligomeereja. Teoriaa tukee tulokset, joissa kuvataan amyloidien muodostumisen laskevan sytotoksisuutta. (Villar-Piqué ja muut 2016.) Vaikka tutkituista oligomeereista on löydetty jotain samankaltaisuuksia, niillä on myös merkittäviä poikkeavuuksia rakenteen ja toiminnan kannalta, mikä vaikeuttaa yhtenäisen toksisuutta aiheuttavan mekanismin selvittämistä. Myös havainto erilaisista oligomeereista, osoittaa tutkimattomien konformaatioiden ja useiden eri aggregoitumisreittien olemassaolon. Lisätutkimus on siis tarpeen, jotta voidaan selvittää mitkä muodot alfasynukleiinista ja sen oligomeereista ovat toksisia ja miten niihin kohdistuvia lääkkeitä voitaisiin suunnitella. (Mehra ja muut 2019.)

3.3.4 Prionin kaltainen leviäminen

Hemorappeumasairauksissa esiintyvien amyloidien on havaittu toimivan prionin kaltaisesti (Mehra ja muut 2019). Prionit koostuvat väärin laskostuneista prioniproteiineista, jotka voivat indusoida muiden prionimonomeerien aggregoitumista. Näin prionit pystyvät leviämään aivoissa aiheuttaen prionisairauksia. Prionisairaudet ovat ainoita hemorappeumasairauksia, joiden on todistettu leviävän tartunnan kautta. Kuitenkin kaikkien hemorappeumasairauksien väärin laskostuneet proteiinit osoittavat prionin kaltaista toimintaa, myös alfasynukleiini. (Du ja muut 2020.)

Ensimmäinen havainto alfasynukleiinin prionin kaltaisesta leviämisestä in vivo havaittiin Parkinsonin tautia sairastavalla potilaalla, jolle oli tehty hermosolusiirre aivoihin. 14 vuotta siirroksen jälkeen hermosolusiirteestä löydettiin alfasynukleiiniposiitivisia Lewyn kappaleita. Alfasynukleiinin leviäminen solusta toiseen tapahtuu suoran läpäisyn, endosytoosin tai reseptorikuljetuksen välityksellä. Mekanismin, joka aiheuttaa leviämistä ja säätelee amyloidien kasvua in vivo ei kuitenkaan vielä ymmärretä. (Mehra ja muut 2019.) Tutkimuksissa on havaittu, että säikeitä muodostavat oligomeerit, joilla on antiparalleeli β -laskosrakenne, pystyvät nopeuttamaan monomeerien liittymistä säikeiksi. On myös havaittu, että tietyt oligomeerit pystyvät läpäisemään solukalvon ja indusoimaan sytosolisen alfasynukleiinin oligomerisoitumista ja aggregoitumista. (Du ja muut 2020.)

Alfasynukleiinin on havaittu leviävän myös alueilla, joita ei ole aikaisemmin suoraan yhdistetty Parkinsonin tautiin. Alfasynukleiinioligomeerit pystyvät kulkemaan aivoihin hajukäämin hermosolujen kautta. On myös näyttöä, että alfasynukleiini, kaikissa rakennemuodoissaan, pystyy vagushermon kautta leviämään suolistosta aivoihin. Vagushermon kautta leviämien tukee hypoteesia, jossa Parkinsonin tauti alkaa suolistossa enterisessä hermostossa. (Du ja muut 2020.)

Edellä mainitut havainnot osoittavat, että alfasynukleiini pystyy leviämään itsenäisesti prionin kaltaisesti. Prionisairauksista poiketen ei ole todisteita, että alfasynukleiniamyloidit pystyisivät leviämään isännältä toiselle, minkä vuoksi ilmiöstä käytetään termiä ”prionin kaltainen”. (Mehra ja muut 2019.)

4 Alfasy nukleiinin toksisuus solutasolla

Alfasy nukleiiniproteiinikertymien esiintyminen useissa hermorappeumasairauksissa osoittaa, että niillä voi olla merkitys tautien patologiassa. Alfasy nukleiinin ajatellaan aiheuttavan toksisuutta vähentämällä tai lisäämällä aktiivisuuttaan. Aktiivisuuden vähenemisestä johtuva toksisuus on vielä heikosti ymmärretty, sillä alfasy nukleiinin normaalitoiminta on yhä suurelta osin tuntematon. Tämän vuoksi alfasy nukleiinin toksisen aktiivisuuden lisääntymisen uskotaan olevan perustana Parkinsonin taudin patogeneisyydessä. (Villar-Piqué ja muut 2016.)

Alfasy nukleiini pystyy aiheuttamaan soluissa sytotoksisuutta eri mekanismeilla, joihin kuuluvat solun tukirangan muutokset, mitokondrion toimintahäiriöt, solulimakalvoston stressi, proteostaasin häiriöt, synaptiset häiriöt ja apoptoosi. (Du ja muut 2020.)

4.1 Solun tukirangan muutokset

Keinotekkoisten kalvojen avulla on pystytty todistamaan, että alfasy nukleiinin eri konformaatiot ja oligomeerit pystyvät läpäisemään lipidikaksoiskalvoja. Läpäisevyyden seurauksena on havaittu soluliman ja solunsisäisten kalvojen rakenteellisia muutoksia sekä kalsiumpitoisuuksien nousua ja synapsien säätelyhäiriöitä. (Villar-Piqué ja muut 2016.)

On ehdotettu, että hydrofobiset alfasy nukleiin oligomeerit läpäisevät lipidikaksoiskalvon muokaten kalvon rakennetta sellaiseksi, että muut ympäristön hydrofiiliset molekyylit pääsevät virtaamaan soluun. Toinen esitetty teoria on, että rengas- tai putkimalliset oligomeerit pystyisivät sulautumaan solukalvoon muodostaen solun pinnalle kanavan. Tutkimuksissa hermosoluihin lisättiin alfasy nukleiin oligomeereja, joiden havaittiin aiheuttavan solukalvoon reikiä ja teorian mukaisesti molekyylien sisäänvirtauksen. Tätä samaa havaintoa ei olla kuitenkaan pystytty havaitsemaan in vivo -tutkimuksissa ja keinotekoisissa malleissa tehtyjen havaintojen biologista merkitystä ei tiedetä vielä. (Villar-Piqué ja muut 2016.)

Alfasy nukleiin oligomeerit muokkaavat solun tukirankaa inhiboiden tubuliinin polymerisaatiota. Myös alfasy nukleiinin yli-ilmeneminen solukasvatuksissa aiheuttaa mikrotubuluksien epästabiiliutta. Näiden havaintojen uskotaan osoittavan alfasy nukleiinin sitoutuvan soluissa proteiineihin, jotka ovat yhteydessä aksoneissa tapahtuvaan kuljetukseen. Parkinsonin tautia sairastavien aivoissa, varsinkin

alfasynukleiniokertymiä sisältävissä hermosoluissa, esiintyy tavallista vähemmän moottoriproteiineja, joita tarvitaan aksoneissa tapahtuvassa kuljetuksessa. Nämä havainnot osoittavat, että alfasynukleiinilla voisi olla suora yhteys aksonaaliseen kuljetukseen. (Villar-Piqué ja muut 2016.)

4.2 Mitokondrion toimintahäiriöt

Mitokondrioiden heikentynyt aktiivisuus on Parkinsonin taudille tyypillistä (Villar-Piqué ja muut 2016). Alfasynukleiinia kertyy mitokondrioihin jo ennen taudin puhkeamista muodostaen toksisia oligomeereja (Du ja muut 2020). Tutkimuksissa on havaittu, että mitokondrioissa alfasynukleiini heikentää kompleksi I:n aktiivisuutta häiriten soluhengityskoneistoa (Stefanis 2012). Oligomeerien aiheuttamat tuhot kompleksi I:ssä muuttavat mitokondrion osmoottista painetta, joka johtaa mitokondrion turpoamiseen ja lopulta solukuolemaan. Kompleksi I:n vaurioituminen voi johtaa myös kalvopotentiaalilin muutokseen, tuhota kalsiumtasapainotilan ja aiheuttaa sytokromi C:n yli-ilmenemistä. (Du ja muut 2020.)

Tutkimuksissa on myös havaittu alfasynukleinioligomeerien aiheuttavat mitokondrioiden sirpaloitumista, minkä epäillään olevan vastuussa niiden myöhemmistä toimintahäiriöistä ja tuhoutumisesta. Sirpaloitumien aiheuttaa vaurioituneiden mitokondrioiden tuhoutumista, minkä on todettu johtavan hermosolukuolemiin. Soluhengityskoneistoa häiritsemällä alfasynukleiini voisi myös indusoida reaktiivisten happilajien syntymistä ja oksidatiivista stressiä aiheuttaen lisää hermosolukuolemia. (Stefanis 2012.)

4.3 Solulimakalvoston stressi

Solulimakalvosto vastaa proteiinien valmistamisesta, laskostumisesta, muokkaamisesta ja kuljetuksesta. Solulimakalvoston stressi, eli ER-stressi (*engl. Endoplasmic reticulum stress*), ilmenee kun solulimakalvoston kyky laskostaa proteiineja saavuttaa maksimin. Parkinsonin tautia sairastaneiden aivojen dopamiinivälitteisistä hermosoluista on tunnistettu useita ER-stressin merkkiaineita. Tutkituista aivoista löydettiin myös alfasynukleinioligomeerikertymiä solulimakalvostoista. Eläinmalleilla on pystytty havaitsemaan, että alfasynukleinioligomeerit kertyvät solulimakalvostoon jo ennen taudin puhkeamista. Tutkimuksissa on myös havaittu, että oligomeerien määrä solulimakalvostossa kasvaa taudin edetessä. Nämä havainnot osoittavat, että

alfasynukleinioligomeerit voisivat aiheuttaa ER-stressiä Parkinsonin tautia sairastavien aivoissa. (Villar-Piqué ja muut 2016.)

Oligomeerien ja ER-stressin yhteyttä on tutkittu Parkinsonin tauti -hiirimalleilla, joissa havaittiin solulimakalvoston rakenteellisia poikkeavuuksia, jotka viittasivat toimintahäiriöön. Tutkimuksissa huomattavaa oli, että ER-stressin inhibointi viivytti sairauden oireiden puhkeamista sekä vähensi kertyvien oligomeerien määrää. Havainto osoittaa, että toksiset oligomeerit ja ER-stressi voisivat toimia yhdessä vaurioittavassa kiertessä. Kierteen laukaiseva tekijä on kuitenkin vielä tuntematon. (Villar-Piqué ja muut 2016.)

Solulimakalvoston toimintahäiriöiden uskotaan myös vaikuttavan solulimakalvoston ja golgin väliseen kuljetukseen. Alfasynukleinin yli-ilmenemisen on havaittu aiheuttavan golgin sirpaloitumista ja hidastavan solulimakalvoston ja golgin välistä kuljetusta. Solukasvatuksissa huomattiin alfasynukleiniikertymien olevan suoraan yhteydessä golgin sirpaloitumisen ja solunsisäisen kuljetuksen toimintahäiriöiden kanssa. (Villar-Piqué ja muut 2016.)

4.4 Proteostaasin häiriöt

Proteostaasi tarkoittaa proteiinitasapainoa, jossa poistetaan toimimattomia ja väärinlaskostuneita proteiineja sekä muodostetaan uusia tilalle. Ubikitiini-proteasomijärjestelmä (*engl. ubiquitin-proteasome system*) ja autofagia-lysosomaalinen reitti (*engl. autophagy-lysosomal pathway*) ovat solun tärkeimmät mekanismit proteiinien pilkkomiseen ja proteostaasin ylläpitämiseen. Ubikitiini-proteasomijärjestelmä on vastuussa alfasynukleinin pilkkomisesta, mutta sen kuormittuessa myös autofagia-lysosomaalinen reitti osallistuu pilkkomiseen. (Du ja muut 2020.)

Alfasynukleinioligomeerit pystyvät estämään proteasomien toiminnan aiheuttaen väärin laskostuneiden proteiinien kertymistä. Oligomeerit sitoutuvat proteasomeihin estäen muiden substraattien sitoutumista. (Du ja muut 2020.) Tutkimuksissa on onnistuttu eristämään proteasomin osia alfasynukleiniaggregaateista sekä proteasomi on onnistuttu eristämään kiinnittyneenä alfasynukleinioligomeereihin. On myös havaittu, että alfasynukleinin yli-ilmeneminen solukasvatuksissa estää proteasomien aktiivisuutta, lisää ubikitiinia sisältävien inkluusiokappaleiden määrää, vähentää dopamiinin vapautumista ja aiheuttaa solujen rappeutumista. Nämä havainnot tukevat hypoteesia, että

alfasynukleini pystyy estämään proteiinien pilkkoutumisen, lisäten väärin laskostuneiden proteiinien määrää johtaen proteostaasin häiriöön. (Villar-Piqué ja muut 2016.) Tämä ehdotus sopisi hyvin Parkinsonin taudin patologiaan, sillä monet hermorappeumataudit ovat yhteydessä proteostaasin ongelmiin (Stefanis 2012). Kyseessä on kuitenkin vielä hypoteesi, jonka todistamiseen tarvitaan lisää tutkimusta (Villar-Piqué ja muut 2016).

4.5 Synaptiset häiriöt

Alfasynukleiniä esiintyy runsaasti synapseissa ja sen fysiologinen merkitys on vielä hyvin kiistelty. Alfasynukleinin uskotaan kuitenkin ylläpitävän synapsien fysiologista toimintaa ja tasapainoa. (Du ja muut 2020.) Solukasvatuksissa ja in vivo -tutkimuksissa alfasynukleinin yli-ilmenemisen havaittiin aiheuttavan presynaptisten proteiinien katoa, hermovälittäjäaineiden vapautumisen vähenemistä, SNARE-proteiinien uudelleen järjestymistä, suurentuneita vesikkeleitä ja vesikkelikuljetuksen inhibointia. On todennäköistä, että nämä muutokset aiheuttavat synapsien rappeutumista, vaikka tapahtumaketjua ei vielä tunneta hyvin. (Stefanis 2012.)

Alfasynukleinioligomeerien tiedetään voivan heikentää synapsien toimintaa. Suurien oligomeerien on huomattu yhdessä tietyn vesikkelikalvoproteiinin, VAMP2 (*engl. Vesicle-associated membrane protein*) kanssa, häiritsevän SNARE-kompleksien syntymistä ja siten dopamiinin vapautumista synapsista. Oligomeerien määrän lisääntyminen synapsissa johtaa myös aksoneissa tapahtuvan kuljetuksen katkoksiin aiheuttaen aksonien ja synapsien rappeutumista ja lopulta synapsien tuhoutumista. (Du ja muut 2020.) Tutkimuksista on saatu yksittäisiä todisteita, että oligomeerit voisivat häiritä kalsiumtasapainoa muodostamalla reikiä membraanien pinnalle ja sitoutumalla jänniteohjattuihin kanaviin aiheuttaen ylimääräisen kalsiumin sisäänkulkeutumisen. Hypoteesina on esitetty, että oligomeerit voivat reikiä muodostamalla rikkoa synapsin vesikkeleitä johtaen hermovälittäjäaineiden vapautumiseen sytosoliin. Ylimääräisen dopamiinin vapautuminen sytosoliin voi johtaa oksidatiiviseen stressiin ja sitä kautta solukuolemaan. (Stefanis 2012.) Nämä havainnot osoittavat, että oligomeerit voivat aiheuttaa säikeiden sijasta synapsien rappeutumista ja näillä mekanismeilla edistää Parkinsonin taudin puhkeamista (Du ja muut 2020).

4.6 Apoptoosi

Yllä mainittujen mekanismien lisäksi alfasynukleiinioligomeerit voivat aiheuttaa apoptooseja eli ohjattuja solukuolemia. Oligomeerit voivat johtaa hermosolujen tuhoutumiseen indusoimalla reaktiivisten happilajien syntymistä. Oligomeerit, joissa on runsaasti β -laskosta voivat sitoutua solukalvoon aiheuttaen kalsiumin sisään virtauksen soluun ja rasvojen hapettumisen. Nämä muutokset voivat vielä aiheuttaa esimerkiksi solukalvon tuhoutumista, ionitasapainon häiriintymistä, soluntukirangan muutoksia, häiriöitä proteiinien laskostumisessa ja niiden pilkkomisessa. Kaikki edellä mainitut indusoivat solujen apoptoosia. Lisäksi alfasynukleiinisäikeet voivat kiinnittyä solun membraaneihin indusoiden alfasynukleiinin oligomerisaatiota sekä apoptoosireittejä. Nämä havainnot osoittavat alfasynukleiinioligomeerien edistävän solujen apoptoosia. (Du ja muut 2020.)

Alfasynukleiinioligomeerit voivat vaurioittaa dopamiinivälitteisiä hermosoluja monien eri mekanismien kautta kuten aikaisemmissa luvuissa on esitetty. Havainnot osoittaisivat, ettei Parkinsonin tauti ole sairaus, jonka synnylle olisi olemassa vain yksi selkeä syy. Tämän vuoksi Parkinsonin taudin tutkimuksessa alfasynukleiinilla, sen eri muodoilla ja toksisuutta aiheuttavilla mekanismeilla on suuri merkitys tulevaisuudessa. (Du ja muut 2020.)

5 Yhteenveto

Alfasynukleiinin tutkimus antaa toivoa Parkinsonin taudin hoidolle tulevaisuudessa. Tutkimukset ovat osoittaneet, että alfasynukleiinilla on selkeä merkitys taudin kuvassa vaikkei sen toimintamekanismeja vielä täysin tunnetakkaan. Tämän vuoksi tarvitaan lisää tutkimusta, jotta alfasynukleiinin eri muotojen aiheuttamaa toksisuutta pystyttäisiin ymmärtämään paremmin.

Erityisesti alfasynukleiinin toksisten muotojen tarkan rakenteen ja toimintamekanismien selvittäminen edistäisi Parkinsonin taudin tutkimusta suuresti. Tämä on kuitenkin erittäin vaikeaa, sillä alfasynukleiini esiintyy solussa samanaikaisesti monomeereina, oligomeereina ja erilaisina amyloidirakenteina. Varsinkin alfasynukleinioligomeerien tutkimista vaikeuttaa niiden epästabiilisuus sekä heterogeenisyys, minkä vuoksi oligomeerien atomirakennetta ei olla pystytty vielä selvittämään (Du ja muut 2020).

Useat tutkimukset ovat yrittäneet hyödyntää alfasynukleiinipitoisuuksia sairauden havaitsemisessa. Mittaukset ääreiskudoksista ja kudostenesteestä ovat olleet epäjohdonmukaisia. Alfasynukleiinipitoisuus näissä mittauksissa ei siis tarjoa sovellusta biomarkkeriksi. (Stefanis 2012.)

Parkinsonin taudissa alfasynukleiini on noussut lupaavaksi terapeutin hoidon kohteeksi. Yksi tutkittavana oleva menetelmä perustuu vasta-aineisiin, jotka sitoutuvat alfasynukleiniin ja auttavat amyloidien poistamisessa. Menetelmän ongelmana on vielä, että vasta-aineet eivät ole tarpeeksi spesifisiä ja pystyvät kiinnittymään kaikkiin alfasynukleiinin muotoihin. (Du ja muut 2020.) Vasta-aineet voisivat toimia tulevaisuudessa, jos ne saadaan sitoutumaan vain tiettyihin toksisiin muotoihin. Muita menetelmiä on myös kehitteillä ja pääosin ne keskittyvät alfasynukleiinin amyloidien purkamiseen ja monomeerisen muodon stabilointiin (Mehra ja muut 2019).

Tutkimukset eläinmalleilla ovat osoittautuneet hyödyllisiksi, mutta niissä on myös merkittävä heikkous. Tähän mennessä käytetyillä malleilla Parkinsonin tauti on indusoitu villityypin alfasynukleiinin yli-ilmenemisellä tai mutatoitulla proteiinilla, jotka sopivat taudin perinnöllisen muodon tutkintaan. Ei-perinnöllisen muodon mallintamiseen eläimillä pitäisi ensin selvittää miten tauti saadaan puhkeamaan. Vielä ei kuitenkaan tunneta mekanisme, joka saa alfasynukleiinin siirtymään sen normaalista fysiologisesta toiminnasta tautia aiheuttavaan toksiseen muotoon. (Villar-Piqué ja muut 2016.)

Alfasynukleiinin toksisuuden selvittämiseksi olisikin tärkeää ymmärtää proteiinin normaali fysiologinen merkitys soluissa. Alfasynukleiinin runsaus aivoissa ja sen vaikutus moniin eri kohteisiin osoittaa, että mahdollisesti pienikin muutos sen toiminnassa voi muuttaa koko aivojen toimintaa. (Villar-Piqué ja muut 2016.) Tällä hetkellä alfasynukleiniin kohdistetut hoidot pystyvät estämään taudin etenemistä jonkin verran mutta eivät pysty muuttamaan taudin fenotyyppiä tai patologiaa kokonaan. (Mehra ja muut 2019.) On hyvä muistaa että, Parkinsonin tauti on sairaus, johon vaikuttavat monet eri tekijät. Tästä syystä on todennäköistä, että taudin hoitoon tarvitaan mahdollisesti useampia eri hoitomenetelmiä. Alfasynukleiinin rakenteen, normaalitoiminnan ja toksisten muotojen toimintamekanismien ymmärtäminen on ratkaisevassa asemassa uusien hoitomuotojen kehityksessä.

Lähteet

Käypä hoito, Suomalaisen Lääkäriseuran Duodecimin ja Suomen Neurologisen yhdistyksen asettama työryhmä (2022) Parkinsonin tauti

<<https://www.kaypahoito.fi/hoi50042?tab=suositus#K1>> (Luettu 23.11.2023)

Balestrino, R. & Schapira, A. h. v. (2020) Parkinson disease. *European Journal of Neurology* **27**:27–42.

Bendor, J. T., Logan, T. P. & Edwards, R. H. (2013) The Function of α -Synuclein. *Neuron* **79**:1044–1066.

Du, X., Xie, X. & Liu, R. (2020) The Role of α -Synuclein Oligomers in Parkinson's Disease. *International Journal of Molecular Sciences* **21**:8645.

Fan, T.-S., Liu, S. C.-H. & Wu, R.-M. (2021) Alpha-Synuclein and Cognitive Decline in Parkinson Disease. *Life* **11**:1239.

Mehra, S., Sahay, S. & Maji, S. K. (2019) α -Synuclein misfolding and aggregation: Implications in Parkinson's disease pathogenesis. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Proteins and Proteomics* **1867**:890–908.

Stefanis, L. (2012) α -Synuclein in Parkinson's Disease. *Cold Spring Harb Perspect Med* **2**:a009399.

Villar-Piqué, A., Lopes da Fonseca, T. & Outeiro, T. F. (2016) Structure, function and toxicity of alpha-synuclein: The Bermuda triangle in synucleinopathies. *Journal of Neurochemistry* **139**:240–255.