

MONOGENNĚ PODMÍNĚNÉ FORMY PARKINSONOVY NEMOCI

doc. MUDr. Jan Roth, CSc.

Centrum extrapyramidových onemocnění, Neurologická klinika 1. LF UK a VFN Praha

Nejčastější monogenně podmíněné formy PN vznikají na podkladě mutací v genu PARK 2 (protein parkin), PARK 6 (protein PINK1), PARK 7 (protein DJ1) a PARK 8 (protein LRRK-2). U PARK 8 se jedná o autozomálně dominantní způsob přenosu, u ostatních uvedených o autozomálně recesivní typ. Všechny tyto mutace dohromady jsou zodpovědné za maximálně 20 % případů vzniku PN, kdy nemoc začne před 40. rokem věku a za maximálně 2 % případů vzniku PN po 50. roce věku. Mechanismy účinků aberantních proteinů nejsou známy, diskutuje se význam apoptózy a poruchy v ubiquitin-proteazomovém systému.

Klíčová slova: parkin, PINK1, DJ1, LRRK2, ubiquitin-proteazomový komplex, apoptóza.

Neurol. pro praxi, 2007; 3: 159–161

Seznam zkratk

PN – Parkinsonova nemoc

DNA – deoxyribonukleová kyselina

PINK1 – druh kinázy – mutací způsobená změna tohoto enzymu podmiňuje vznik jedné z forem Parkinsonovy nemoci

DJ1 – protein ne zcela jasné funkce, jehož mutací způsobená změna podmiňuje vznik jedné z forem Parkinsonovy nemoci

LRRK2 – druh kinázy – mutací způsobená změna tohoto enzymu podmiňuje vznik jedné z forem Parkinsonovy nemoci

Úvod

PN je pomalu progredující neurodegenerativní onemocnění vznikající na podkladu progresivní ztráty dopaminergních buněk substantia nigra s následným deficitem dopaminu ve striatu. Projevuje se parkinsonským syndromem, tj. kombinací dvou a více z následujících čtyř symptomů: pohybového zpomalení (akineze, bradykineze, hypokineze), rigidity, tremoru, obvykle s maximem vyjádřeným v klidové zátěži a poruch stáje a chůze. Poměrně často jsou přítomny degenerativní změny v dalších mozkových jádrech, kortexu a periferních gangliích autonomního nervstva, které vedou k dalším příznakům senzorickým, autonomním a neuropsychiatrickým. V mozcích nemocných lze mimo neuronální ztráty a depigmentace v substantia nigra pozorovat i přítomnost cytoplasmatických inkluzí – tzv. Lewyho tělísek.

PN je po Alzheimerově nemoci druhé nejčastější neurodegenerativní onemocnění středního a vyššího věku – v celé populaci se vyskytuje asi 1 případ na 1 000 obyvatel, avšak ve věkové skupině nad 65 let až u 1–2 na 100 obyvatel. V České republice lze tedy odhadnout výskyt PN asi na 12–14 000 osob.

Etiopatogenetické hypotézy

Příčina či příčiny vzniku PN, tj. předčasného a selektivního odumírání dopaminergních neuronů,

nejsou doposud známy. Již mnoho let se diskutuje o několika kandidátních mechanismech (exces volných radikálů kyslíku, efekt selektivních exotoxinů a vliv dědičných faktorů).

Je možné a v zásadě i dosti pravděpodobné, že jednotlivé etiologické představy se nedají od sebe vzájemně oddělit, jedna může podmiňovat druhou a všechny dohromady mohou hrát svou roli ve vzniku onemocnění. Lze také předpokládat, že PN nemusí být po stránce etiologie jednotná klinická entita, a že různé mechanismy mohou vést k uniformnímu projevu nemoci a dokonce, že popsané mechanismy podle místa, kde se odehrávají, mohou působit vznik různých, klinicky odlišných onemocnění.

V následujícím textu se budeme zabývat výlučně možnostmi dědičného přenosu.

Vstupní informace pro úvahy

o možnosti dědičného přenosu PN

V některých rodinách se vyskytuje PN u více příbuzných. V těchto rodinách se onemocnění manifestuje často již před 21. rokem věku (tzv. juvenilní typ PN) (1, 4, 12). Oproti tomu osoby postižené PN po 50. roku věku (jichž je naprostá většina) obvykle neudávají výskyt nemoci v širší rodině a PN je u nich tzv. sporadického rázu.

Kumulace nemoci v rodině však a priori nemusí znamenat, že jediné vysvětlení tohoto jevu je dědičnost: může se např. jednat i o kontakt s určitým druhem toxinu, či jinak získanou vložku pro danou nemoc. Pokud by se skutečně jednalo o hereditární onemocnění, třeba i s nízkou penetrancí, mělo by se výrazně častěji objevit u monozygotních v porovnání s dizygotními dvojčaty.

Takovéto geneticko-epidemiologické studie byly skutečně prováděny v 80. letech a výsledek byl překvapující. Rozdíl v četnosti výskytu „klasické“ PN (tj. vzniklé po 50. r. věku) mezi monozygotními a dizygotními dvojčaty byl nízký a fakta tedy svědčí spíše proti genetickému přenosu vložky (15, 19).

Pokud u dvojčat není prokázán klasický mendelovský typ hereditarity, neznamená to, že genetický přenos vložky pro nemoc je vyloučen. DNA je totiž přítomna nejen v buněčném jádru, ale také v mitochondriích. Podezření na mitochondriální typ přenosu mutace u PN se však nepodařilo přesvědčivě prokázat (3).

Ve výzkumu vlivu dědičnosti u PN se podařilo získat řadu nových zjištění až v posledních letech 20. století. Intenzivně totiž byly studovány rodiny s kumulovaným výskytem PN. Takovýchto rodin je sice pouhý zlomek procenta v populaci nemocných s PN, ale jejich výzkum může odhalit společné patogenetické souvislosti se sporadickou PN. V etiopatogenezi PN se může totiž jednat o společný mechanismus, který je však u sporadické formy PN odstartován jiným iniciačním signálem než je mutace s následnou tvorbou aberantního proteinu u hereditárních forem.

Monogenně podmíněné formy PN

Doposud známé monogenně podmíněné formy PN jsou vedeny v tabulce 1.

V současnosti se odhaduje, že veškeré monogenní formy vysvětlí maximálně 20 % všech případů, kdy se PN začne manifestovat před 40. rokem věku a zhruba jen 2 % všech případů PN s klasickým počátkem (první symptomy PN se objevují po 50. roce věku) (7).

Některé z uvedených mutací, demonstrovaných v tabulce 1, jsou relativně častěji zastoupeny v populaci nemocných s PN. Jsou to proteiny parkin, PINK1, DJ1 a LRRK2. Jejich výskyt je schematizován v tabulce 2.

Parkin (10)

Podmiňuje autozomálně recesivní formu PN. Gen kóduje protein ubiquitin ligázu 3. Tento enzym hraje roli v ubiquitin-proteazomovém systému (viz níže). Mutace je pravděpodobně nejčastější hereditární příčinou vzniku PN do 40 let věku (cca 10–20 %). Nemoc se rozvíjí pomalu, obvykle začíná v mladším dospělém věku, ale jsou popsány i případy manifestace po

50. roku věku. Nemocní se mohou mimo parkinsonskou symptomatiku (častěji symetricky vyjádřenou) manifestovat v počátku nemoci i fokální dystonií. Poměrně často také mají zvýšené propriospinální reflexy na dolních končetinách. Klinické projevy jsou jinak neodlišitelné od klasické PN. Tíže symptomatiky může kolísat v rámci denní doby (diurnální fluktuace). Dopaminergní terapie je dobře účinná. Po několika letech léčby se často rozvinou klasické pozdní hybné komplikace: fluktuace a dyskineze. V mozcích pacientů obvykle nejsou přítomna Lewyho tělíska.

PINK1 (16, 17)

Podmiňuje autozomálně recesivní formu PN. Produktem mutace je změněná PTEN – indukovaná kináza. Protein má zřejmě antiapoptotickou aktivitu, a také se podílí na mitochondriálních procesech. Příznaky začínají obvykle v mladém věku, manifestace symptomů je asymetrická a dopaminergní terapie má dobrý účinek. Nemoc se rozvíjí pomalu, v souvislosti s dlouhodobou terapií se objevují fluktuace a dyskineze. Zajímavé je, že mnoho nemocných má tzv. sleep benefit (po probuzení mají pocit nejlepšího stavu hybnosti z celého dne).

DJ1 (2, 18)

Podmiňuje autozomálně recesivní formu PN. Gen kóduje protein s doposud ne zcela objasněnou funkcí, zřejmě se jedná o onkogen, mimoto však má funkci tzv. chaperonu (viz níže). Onemocnění začíná v mladém dospělém věku, na počátku rozvoje nemoci se manifestuje častěji také fokální dystonií. Poměrně časté jsou poruchy chování a psychiatrické komplikace, včetně psychotické symptomatiky. Nemoc se manifestuje asymetricky, dopaminergní léky mají dobrý efekt.

LRRK2 (6, 13, 20)

Podmiňuje autozomálně dominantní formu PN. Gen kóduje protein nazývaný leucin-rich repeat (dardarin). Jeho funkce není doposud objasněna,

zřejmě funguje jako sekundární messenger a má vliv na vesikulární transport. Je předpoklad, že se může uplatňovat u neurodegenerativních onemocnění. Nemoc obvykle počíná v klasickém věku pro PN, vyvíjí se pomalu, reaguje dobře na dopaminergní terapii. Symptomatika bývá asymetrická. Nemocní po dlouhodobé léčbě vykazují fluktuace a dyskineze.

Mechanismy vedoucí od mutace k buněčné smrti

Jaké děje se vlastně uvnitř neuronů odehrávají, že mutace způsobí odumírání buněčných subpopulací? V recentní literatuře se diskutují především 2 možnosti: apoptóza a poruchy ubiquitin-proteazomového komplexu. Oba mechanismy jsou pravděpodobně provázané.

Apoptóza (5, 8)

Apoptóza (aktivně spuštěná a rychle probíhající buněčná smrt) slouží k likvidaci buněk, odsouzených (např. svým poškozením) k zániku. Smyslem apoptózy je zabránit množení takovýchto buněk. Nejrychlejším způsobem, jak to provést, je zničení DNA, což se děje její tzv. fragmentací. Následně se rozvíjejí další procesy, které vedou k destrukci celé buňky. Celý proces začíná aktivací apoptotické kaskády. K aktivaci může dojít buď zevnitř buňky nebo indukci zvnějšku.

1. Při vnitřní aktivaci dojde k aktivnímu spuštění exprese tzv. genů smrti, jež poškodí mitochondriální funkce. Mitochondrie uvolní při své destrukci proteiny, které spustí proteolytickou kaskádu – enzymatický komplex kaspáz (tzv. cysteinové proteázy). Kaspázový systém destrukuje buněčné bílkoviny a současně aktivuje celou řadu dalších enzymů poškozujících DNA, membrány atd. Celý proces je významně ovlivňován excesem volných radikálů kyslíku, cytokiny a některými neurotransmitery.
2. Ke spuštění apoptotických mechanismů může dojít i mechanismem extracelulárním. Dochází k tomu podle současných znalostí aktivací re-

ceptoru pro tzv. tumor necrosis factor alfa, např. ischemickým, zánětlivým či paraneoplastickým procesem. Následné reakce opět vedou ke kaskádě kaspázového systému a její činnosti.

U neurodegenerativních onemocnění probíhá buněčný zánik preferenčně apoptotickým procesem. Zdá se, že tento proces může být právě aktivován přítomností aberantních proteinů, vzniklých na podkladě mutací.

Ubiquitin-proteazomový systém (9, 14)

Ubiquitin-proteazomový systém je přítomen v každé buňce lidského těla a jeho funkcí je odstraňovat použité či patologicky změněné proteiny. Lze jej přirovnat k mlýnu na maso, kam se vkládají proteiny a naspodu vypadávají aminokyseliny sloužící k opětovné syntéze nových bílkovin.

Vlastní ubiquitin je malý protein, který má za úkol navázat se na bílkovinu, jež má být eliminována. Proces této tzv. ubiquitinace běží v několika krocích, které jsou zprostředkovány řadou enzymů – ligáz. Spojení ubiquitinu a proteinu, jenž má být eliminován, je základní podmínka pro další děje.

Pokud by bílkovina nebyla navázána na ubiquitin, proteazom ji nerozpozná – ubiquitin je totiž schopen „prezentovat“ bílkovinu proteazomu.

Proteazom je nitrobuněčná komplexní struktura obsahující množství enzymů štěpících proteiny (proteázy). Je uložena jak v jádře, tak v cytoplasmě. Proteolytickou kaskádou dojde k rozštěpení dané bílkoviny na malé fragmenty až aminokyseliny. Ubiquitin se od proteinu odštěpí těsně před započítáním proteolýzy, v procesu zvaném deubiquitinace.

Patogenezi PN v rámci poruchy ubiquitin-proteazomového systému lze vysvětlit buď tvorbou patologického proteinu vznikajícího v dopaminergních neuronech, který nelze rozštěpit v proteazomu např. protože je pro něj příliš velký, či terciární struktura proteinu nebo jeho konformace znemožňuje zásah proteáz. Jinou možností je, že se na daný protein nedokáže navázat ubiquitin, a tak jej nelze předat do proteazomu nebo naopak vazba mezi proteinem a ubiquitem je příliš pevná a proces deubiquitinace se nezdaří. Z těchto důvodů zřejmě dochází k intracelulární kumulaci bílkovin – k tvorbě bílkovinných agregátů – inkluzí. Širší diskuze na téma obsahu Lewyho tělísek a zda inkluze

Tabulka 1. Monogenně podmíněné formy PN (modifikováno podle Hague et al (7))

Gen	Chromozóm	Protein	Heredita
PARK 1	4q21–23	Alfa-synuklein	AD
PARK 2	6q25.2–27	Parkin	AR
PARK 3	2p13	?	AD
PARK 4	4q21–23	Alfa-synuklein triplikace	AD
PARK 5	4p14	UCHL1	AD
PARK 6	1p35–36	PINK1	AR
PARK 7	1p36	DJ-1	AR
PARK 8	12p12	LRRK2	AD
PARK 9	1p36	?	AR
PARK10	1p32	?	?
PARK11	2q36–37	?	?
PARK 12	Xq	?	X vázaná
PARK 13	2p	HTRA2	AD

Tabulka 2. Výskyt hereditárních forem PN (modifikováno podle Kleina (11))

Juvenilní typ PN, počátek PN před 20. rokem věku: prakticky vždy recesivní dědičnost – Parkin, PINK1, DJ1

Časný počátek PN, počátek před 40. rokem věku: recesivní typ dědičnosti – Parkin, PINK1, DJ1
dominantní typ dědičnosti – LRRK2

Klasický a pozdní počátek PN: pokud je přítomna heredita, prakticky vždy dominantní typ dědičnosti – LRRK2

mají toxický efekt, či naopak slouží jako protektivní mechanismus, přesahuje rámec tohoto článku.

Z tohoto hlediska je extrémně významné, zda některé mutace působící PN (viz tabulka výše) nemají roli ve výše popsaném procesu. Již dnes víme, např. fyziologický parkin (PARK 2) je ubiquitin ligáza E3 umožňující ubiquitinaci, a tedy jeho mutace tuto schopnost poškozuje. Dále UCHL1 (PARK5) je ubiquitin hydroláza, zajišťující deubiquitinaci a protein označený DJ1 (PARK 7) má funkci chaperonu (chaperon je protein pomáhající jiným proteinům zaujmout správnou konformaci a chrání je před poškozením této přirozené prostorové struktury).

Závěr

Monogenní formy PN zcela jistě v současnosti nevysvětlují četný výskyt PN v populaci. Sledování biochemických dějů vznikajících v důsledku dysfunkčních aberantních proteinů jsou však zásadními objevy posunující náš pohled na etiopatogenezi PN velmi rychle dopředu.

*Podpořeno výzkumným záměrem MSM
0021620849.*

doc. MUDr. Jan Roth, CSc.

Centrum extrapyramidových onemocnění,
Neurologická klinika 1. LF UK a VFN
Kateřinská 30, 120 00 Praha 2
e-mail: jan1roth2@gmail.cz

Literatura

1. Barbeau A, Roy M, Boyer L. Genetic studies in Parkinson's disease. *Adv Neurol* 1984; 40: 333–339.
2. Bonifati V, Rizzu P, van Baren MJ, Schaap O, Breedveld GJ, Krieger E et al. Mutations in the DJ-1 gene associated with autosomal recessive early-onset parkinsonism. *Science* 2003; 299: 256–259.
3. Di Monte DA. Mitochondrial DNA and Parkinson's Disease. *Neurology* 1991; 41 (Suppl. 2): 38–43.
4. Duvoisin RC, Johnson WG. Hereditary Lewy-body parkinsonism and evidence for a genetic etiology of Parkinson's disease. *Brain Pathol* 1992; 2: 309–320.
5. Friedlander RM. Apoptosis and Caspases in Neurodegenerative Diseases. *N Engl J Med* 2003; 384: 1365–1375.
6. Funayama M, Hasegawa K, Kowa H, Saito M, Tsuji S, Obata F. A new locus for Parkinson's disease (PARK8) maps to chromosome 12p11.2-q13.1. *Ann Neurol* 2002; 51: 296–301.
7. Hague SM, Klafke S, Bandmann O. Neurodegenerative disorders: Parkinson's disease and Huntington's disease. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2005; 76: 1058–1063.
8. Hengartner MO. The biochemistry of apoptosis. *Nature* 2000; 407: 770–776.
9. Kaytor MD, Warren ST. Aberrant protein deposition and neurological disease. *Journal of Biological Chemistry* 1999; 274: 37507–37510.
10. Kitada T, Asakawa S, Hattori N, Matsumine H, Yamamura Y, Minoshima S, Yokochi M, Mizuno Y, Shimizu N. Mutations in the parkin gene cause autosomal recessive juvenile parkinsonism. *Nature* 1998; 392: 605–608.
11. Klein C. Implications of Genetics on the Diagnosis and Care of Patients with Parkinson's disease. *Arch Neurol* 2006; 63: 328–334.
12. Martin WE, Young WI, Anderson VE. Parkinson's disease: a genetic study. *Brain* 1973; 96: 495–506.
13. Paisan-Ruiz C, Jain S, Evans EW et al. Cloning of the gene containing mutations that cause PARK8-linked Parkinson's disease. *Neuron* 2004; 44: 596–600.
14. Shastry BS Neurodegenerative disorders of protein aggregation. *Neurochemistry International* 2003; 43: 1–7.
15. Tanner CM, Ottmann R, Goldman SM, Ellenberg J, Chan P, Mayeux R et al. Parkinson's disease in twins: an etiologic study. *JAMA* 1999; 281: 341–346.
16. Valente EM, Abou-Sieiman PM, Valuto V et al. Hereditary early-onset Parkinson's disease caused by mutations in PINK1. *Science* 2004; 304: 1158–1160.
17. Valente EM, Bentivoglio AR, Dixon PH, Ferraris A, Ialongo T, Frontali M et al. Localization of a novel locus for autosomal recessive early-onset parkinsonism, PARK6, on chromosome 1p35–p36. *Am J Hum Genet* 2001; 68: 895–900.
18. van Duijn CM, Dekker MCJ, Bonifati V, Galjaard RJ, Houwing-Duistermaat JJ, Snijders PJ et al. PARK7, a novel locus for autosomal recessive early-onset parkinsonism, on chromosome 1p36. *Am J Hum Genet* 2001; 69: 629–634.
19. Ward CD, Duvoisin RC, Ince SE, et al. Parkinson's Disease in 65 pairs of twins and in a set of quadruplets. *Neurology* 1983; 33: 815–824.
20. Zimprich A, Biskup S, Leitner P et al. Mutations in LRRK2 cause autosomal dominant parkinsonism with pleiomorphic pathology. *Neuron* 2004; 44: 601–607.