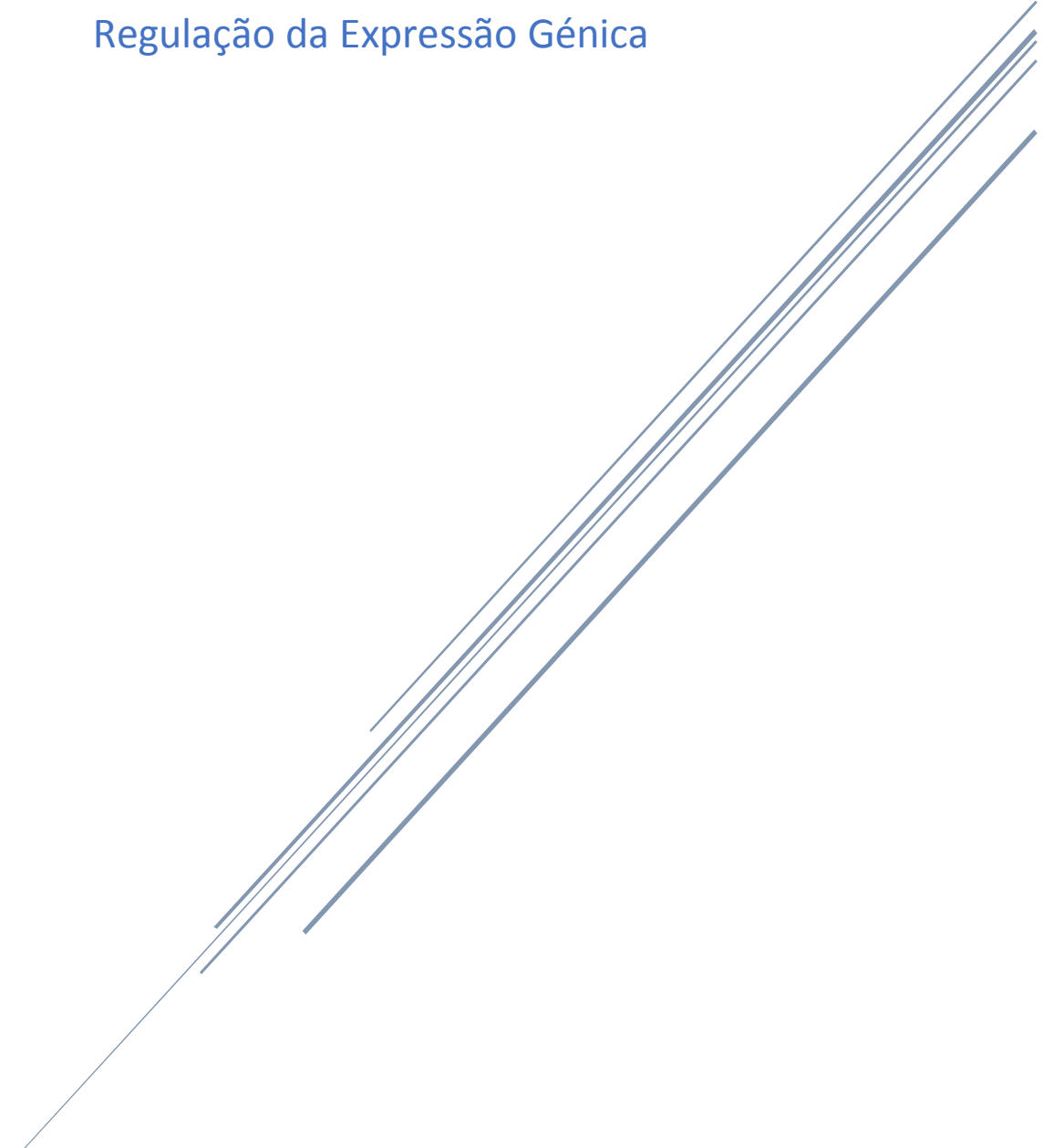




Ciências
ULisboa

REGULAÇÃO DA EXPRESSÃO DA ALPHA-SINUCLEÍNA

Regulação da Expressão Génica



Docente: Luisa Cyrne

Discentes: Ana Sofia Pendão, nº47749
Francisco Schäller Dias, nº47735

Alpha-sinucleína – Estrutura e Função

Estrutura

Este trabalho tem como fim o estudo da regulação da expressão da proteína alpha-sinucleína (alpha-syn). No entanto, uma primeira análise da estrutura e função da alpha-syn é necessária para melhor compreender os processos de regulação desta. Deste modo, é necessário ter em conta que esta proteína é produzida maioritariamente nos terminais sinápticos das células neuronais (sendo mais abundante em neurónios dopaminérgicos), podendo também ser encontrada no coração e músculo. A alpha-syn é uma proteína acídica monomérica de 14 kDa, com 140 resíduos de aminoácidos, sendo solúvel em solução [1]. Foi ainda definida como fazendo parte da família de proteínas intrinsecamente desordenadas, isto é, não tem uma estrutura tridimensional definida em

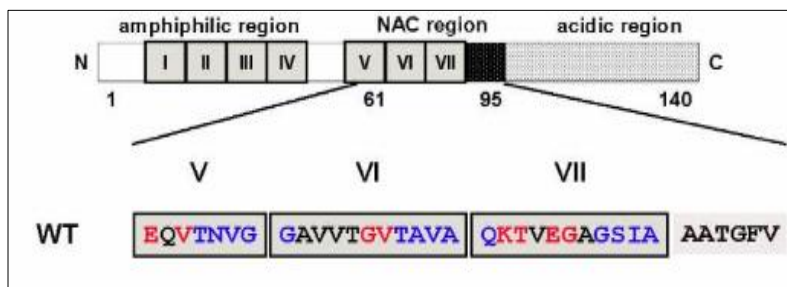


Figura 1. Esquema da alpha-syn com as regiões anfipática, NAC e ácida indicadas. As letras romanas são representativas dos domínios. As letras vermelhas indicam aminoácidos conservados no motivo hexamérico característico (KTKEGV), as letras azuis indicam resíduos apolares. As regiões com contorno rectangular representam regiões de repetição incompleta. [3]

solução, apresentando várias regiões passíveis de interacção com outras proteínas. No entanto, a alpha-syn possui três domínios que podem ser descritos, sendo estes um N-terminal que se pode ligar a camadas lipídicas, uma região central NAC e um C-terminal ácido (Fig.1).

O N-terminal da alpha-syn, normalmente acetilado na forma fisiológica, é uma região carregada positivamente devido à presença de 4 repetições do motivo hexamérico KTKEGV. Este motivo também é encontrado nas apolipoproteínas e, tal como estas, permite à alpha-syn interagir com membranas lipídicas. A característica anfipática deste motivo promove a ancoragem dos resíduos positivos do N-terminal da proteína às cabeças dos fosfolípidos aniónicos das camadas lipídicas, fazendo com que a alpha-syn adquira uma estrutura helicoidal quando ligada às membranas e se torne um tetrâmero de 58 kDa (Fig.2).

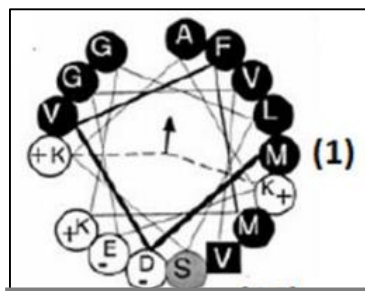


Figura 2. Projecção helicoidal dos primeiros 16 resíduos de aminoácidos da alpha-syn. Os resíduos apolares estão sombreados a preto os polares a cinzento e os carregados não estão sombreados.

Após ligadas às membranas, a proteína fica com a sua região hidrofóbica NAC central exposta, região esta que é responsável pela agregação em fibras com estrutura em folhas *cross- β* tóxicas. Esta região contém ainda 3 repetições imperfeitas do motivo KTKEGV, e o 6º motivo aparenta ter um efeito inibitório sobre o processo de fibrilação, permitindo que a alpha-syn permaneça desordenada em solução.

O C-terminal da proteína possui muitos resíduos negativos, encontrando-se então geralmente *unfolded*. Esta região serve como protecção à formação das fibras amilóides. Acredita-se que a elevada presença de pequenas chaperonas (sHSP) nesta região seja responsável pela protecção da degradação da proteína levada a cabo pelo UPR (*unfolded protein response*). No C-terminal ainda se encontram diversos resíduos de serina, nomeadamente a S129, que quando fosforilados facilitam o processo de agregação por bloquear o papel protector que desta região.

Ainda é importante referir que a alpha-syn está associada a diversas patologias neurodegenerativas, como é o caso do Parkinson. Nesta patologia ocorre uma acumulação de corpos de Lewy, associados com a perda dos neurónios dopaminérgicos, sendo estes maioritariamente formados por acumulações de alpha-syn com o C-terminal fosforilado na Ser129. Esta acumulação deve-se à alpha-syn pertencer à família de proteínas intrinsecamente desordenadas, possuindo então regiões de propensão para a agregação (APR). Estas regiões interagem com outros monómeros de alpha-syn, iniciando o processo de fibrilação, que culmina na formação de fibras insolúveis (folhas cross-beta). As fibras ir-se-ão depositar nos neurónios, levando à activação de vias apoptóticas e consequente morte celular. [2]

A alpha-syn pode também estar associada a outras doenças neurodegenerativas, como é o caso do Alzheimer (placas A β e NFTs, *neurofibrillary tangles* - tau hiperfosforilado), uma vez que ocorre um *overlap* da agregação de proteínas nestas duas patologias.

Em estudos *in vitro* demonstrou-se que a alpha-syn promovia a hiperfosforilação da tau nos resíduos S262 e S352, através do PKA [23]. Para além deste enzima, o GSK3 β também participa na fosforilação da tau, nos resíduos T181, S396 e S404, sendo o recrutamento e activação deste dependente da alpha-syn. Este efeito não está só dependente do aumento da actividade do GSK3 β enquanto cinase, mas também da formação de um complexo GSK3 β – alpha-syn – tau, estando a tau ligada ao C-terminal ácido da alpha-syn e o GSK3 β à região NAC e domínios KTEGV desta mesma [24] [25] [26]. A activação do ERK e JNK também podem estar relacionados com a sobre-expressão da alpha-syn, fosforilando a tau nos resíduos S396 e S404.

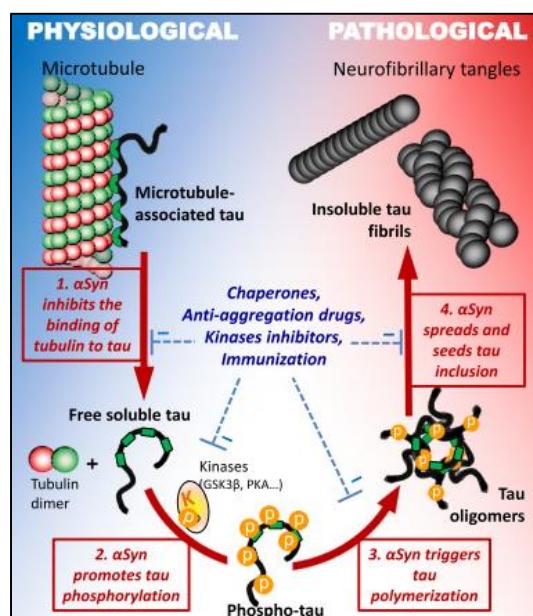


Figura 3. Vias de interacção da alpha-syn e tau. Interacção entre estas duas proteínas pode promover doenças neurodegenerativas por diferentes mecanismos. 1. A alpha-syn pode bloquear a interacção normal entre a tau e a tubulina, através de ligação directa à tau e à tubulina, interferindo com a função fisiológica da tau. 2. A alpha-syn pode recrutar cinases e promover a hiperfosforilação da tau. 3. A alpha-syn pode catalisar a polimerização da tau e promover a formação de co-oligómeros tau/alpha-syn. 4. Os oligómeros ou fibras de alpha-syn podem, por meios de *seeding*, promover a fibrilação de tau e propagar a taupatologia [27].

Por último, é necessário ter em conta, que a alpha-syn pode promover a destabilização da interacção da tau com a tubulina, o que culmina na agregação da tau e desorganização do citoesqueleto. Este efeito deve-se à competição de ligação à tubulina que ocorre entre a tau e a alpha-syn, como também às propriedades de hiperfosforilação da tau por parte da alpha-syn já referidas (Fig. 3). [27]

Função fisiológica da isoforma normal da alpha-syn

A função da alpha-syn ainda é, hoje em dia, pouco conhecida. No entanto, algumas funções (enunciadas na Tabela 1) já foram tomadas em consideração, uma vez que são concordantes com a actividade da proteína.

Tabela 1. Possíveis funções fisiológicas da alpha-syn. [2]

Alpha-Synuclein function	Target	Mechanism	Result
Suppression of apoptosis ^[26]	Protein kinase C	Deactivation of NFκB	Neuroprotection
Regulation of glucose levels ^[27-30]	G-protein-coupled-receptor	Increase tissue glucose uptake	Inhibition of type 2 diabetes
	The pancreatic β-cell KATP channel	Inhibition of insulin secretion	Susceptibility to diabetes
Modulation of calmodulin activity ^[31]	CaM	Conversion of CaM from an inhibitor to an activator	Modulation of G-protein-coupled receptor kinase
Chaperone activity ^[32-37]	Presynaptic membranes	Maintenance of SNARE structure during assembly	SNARE-complex assembly
	Heat shock proteins	Helping proteins to obtain correct conformations	Efficient neurotransmitter release
Maintenance of PUFA levels ^[38]	Acyl-coA synthetase	Modulation of lipid synthesis	Synthesis of brain vital fatty acids
Antioxidation ^[39-41]	Cytochrome c oxidase	Prevention of Caspases activation	Neuroprotection
	JNK-interacting protein	Inhibition of JNK pathway	
Neuronal differentiation ^[42-44]	Rab3a	Activation of ERK/MAPK pathway	Transcription of genes
Regulation of dopamine biosynthesis ^[45-46]	Protein phosphatase 2A	Inhibition of tyrosine hydroxylase	Regulation of dopamine levels

CaM = Calmodulin; SNARE = Sensitive factor attachment protein receptor; MAPK = Mitogen-activated protein kinase; PUFA = Poly unsaturated fatty acid; JNK = c-Jun N-terminal kinase; NFκB = Nuclear factor κB

Supressão da apoptose nos neurónios dopaminérgicos, através da redução da actividade do cinase C

O cinase C é um serina-treonina cinase que, como o nome indica, catalisa a fosforilação diversas proteínas. Deste modo, controla vários mecanismos incluindo a apoptose. Este cinase é extremamente sensível ao stress oxidativo e desencadeia uma cascata apoptótica nas células dopaminérgicas quando este é sentido. Uma das possíveis funções da alpha-syn é ser um inibidor deste cinase – desta forma poderá prevenir as células dopaminérgicas da morte celular. Foi previamente observado que a alpha-syn pode anular a cascata proteolítica através da regulação da expressão do cinase c, uma vez que inactiva o factor nuclear κB, o que consequentemente reduz a transcrição do cinase. Assim sendo, a alpha-syn pode ser considerada uma proteína neuroprotectiva das células dopaminérgicas.

Regulação dos níveis de glucose

A alpha-syn também foi identificada em outras células que não as neuronais, tais como as células envolvidas em processos de secreção. Esta proteína interage com os canais K_{ATP} dos grânulos de secreção de insulina, o que leva à inibição da secreção de insulina resultante da estimulação por glucose. Estas observações sugerem que a alpha-syn poderá ter um papel na diabetes, uma vez que esta advém de uma desregulação na modulação dos processos secretórios.

No entanto, noutro estudo, observou-se que a alpha-syn é responsável pelo aumento do *uptake* de glucose, minimizando então a resistência à insulina. Supõe-se que a alpha-syn facilite a entrada de glucose nos tecidos adiposos e músculo esquelético, através de um receptor acoplado à proteína G, o LPAR2-CD90.

Modulação da actividade da calmodulina

A calmodulina é uma proteína modulada por cálcio, sendo uma proteína mensageira que pode ser activada através da ligação a iões Ca^{2+} activando diversos mecanismos envolvidos em memória de curto e longo prazo. Na ausência de alpha-syn a camodulina tem um efeito inibitório na proteína GRK5 (*G-protein-coupled receptor kinase 5*). Por oposto, na presença de alpha-syn a proteína irá promover a actividade do GRK5, o que resulta na fosforilação e consequente desactivação de outros receptores acoplados à proteína G.

Promoção da formação do complexo SNARE (*sensitive factor attachment protein receptor*)

A associação e dissociação do complexo SNARE é um processo que tem de ser repetido em cada ciclo de libertação de neurotransmissores. No entanto, neste processo ocorre a formação de intermediários de proteínas SNARE que estão *unfolded*, causando danos às células neuronais. A alpha-syn, enquanto monómero, tem uma função de chaperona molecular, estando envolvida neste processo de modo a manter a estrutura das SNARE nos ciclos de associação e dissociação do complexo, garantindo a neuroprotecção nos terminais pré-sinápticos.

Chaperona molecular

A alpha-syn é considerada uma chaperona, uma vez que contém regiões homólogas às proteínas 14-3-3, sendo estas membros da família das chaperonas citoplasmáticas que fosforilam o *binding site* dos seus alvos. Estes alvos incluem PKC, *Bcl-2-associated death promoter* (BAD) e *Extracellular-signal-regulated kinases* (ERK), sendo também nestes que a alpha-syn actua.

A actividade da alpa-syn enquanto chaperona é dependente da região C-terminal e N-terminal. O N-terminal é responsável pela interacção da alpha-syn com os seus alvos levando à formação de complexos, por oposto o C-terminal é responsável pela solubilização destes mesmos complexos.

Estudos também já demonstraram que a alpha-syn faz parte de um complexo de chaperonas que contém a Hsp70, expressas em resposta ao stress celular, e duas co-chaperonas, responsáveis pela eficiência da libertação de neurotransmissores.

Manutenção dos níveis de ácidos gordos polinsaturados (PUFAs)

O cérebro é a segunda fonte principal de lípidos, estando enriquecido em PUFAs, ácido araquidónico, e ácido docosahexanóico. O Acyl-coA sintetase (ACSL) é responsável pela síntese destes ácidos gordos. A isoforma ACSL6 é responsável pela incorporação de ácido araquidónico nos fosfolípidos, sendo a sua actividade modulada pela alpha-syn.

Acção de antioxidante e prevenção da oxidação dos lípidos insaturados nas vesículas

A forma monomérica da alpha-syn interage com as membranas lipídicas dos neurónios dopaminérgicos, protegendo-os da oxidação. No entanto, outros estudos indicam que a alpha-syn poderá não ser um antioxidante, mas sim um inibidor da apoptose. Esta inibição resultaria da ligação ao citocromo c oxidase, na membrana dos mitocôndrios, o que consequentemente preveniria a translocação do citocromo c do mitocôndrio para o citosol. Deste modo, os caspases não poderiam ser activados e, portanto, não ocorreria a apoptose. Por outro lado, a alpha-syn, ao ligar-se ao peróxido de hidrogénio, impede a activação do N-terminal do c-Jun cinase (JNK), responsável pela promoção da apoptose em condições de stress oxidativo.

Diferenciação neuronal

Como já referido, a alpha-syn é estruturalmente e funcionalmente homóloga às proteínas 14-3-3, também interagindo com os ligandos destas. Assim sendo, a alpha-syn é considerada como estando envolvida em diferentes funções celulares que envolvam a activação do Ras. A activação deste leva ao desencadeamento da via ERK/MAPK, que está envolvida na diferenciação neuronal.

Regulação da biosíntese de dopamina

A alpha-syn actua como inibidor da actividade do tirosina hidroxilase (TH), estando este associado à produção de dopamina e controlando os seus níveis celulares. A alpha-syn interage com o fosfatase 2A (PP2A), o que leva a activação deste resultando na desfosforilação do resíduo 40-serina do TH e inactivação do enzima, deste modo a alpha-syn modula a biosíntese de dopamina.

Modulação do tráfego das vesículas

A formação de vesículas começa com a ajuda de proteínas *coat*, como o exemplo a clatrina, que promovem a curvatura da membrana. As vesículas formadas são de seguida direccionadas para uma via secretória com a ajuda das proteínas SNARE. A alpha-syn liga-se à membrana (através dos 11 resíduos repetidos, XKTKEGVXXXX), modulando o tráfego de vesículas nas sinapses através da redução da velocidade e da quantidade de vesículas recicladas da área sináptica para a pré-sináptica. [2]

Regulação da expressão do gene SNCA

Abordando então o foco principal deste trabalho, passamos à regulação da expressão da alpha-syn. Esta regulação dá-se através de vários métodos, tais como regulação da transcrição; splicing; microRNAs; mutações e pós-traducional, que irão ser de seguida explicados em detalhe. Todos estes métodos têm como alvo o gene SNCA, responsável pela síntese da alpha-syn. Este gene encontra-se no cromossoma 4, braço longo (q), posição 22.1, loci PARK1 e PARK4, (Fig.4). Sendo que o SNCA foi o primeiro gene a estar relacionado com o Parkinson de tipo familiar, estando também presente em alguns casos esporádicos da patologia [5]. É necessário ter em conta que estudos

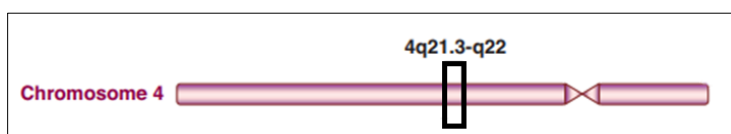


Figura 4. Esquema da localização da alpha-syn no cromossoma 4. [6]

verificaram que os níveis de alpha-syn solúveis estavam diminuídos em doentes de Parkinson, muito possivelmente porque se encontravam sequestrados em agregados proteicos insolúveis ou porque o seu *turnover* estava aumentado. No entanto, vários autores sugerem que os níveis de alpha-syn são independentes dos níveis de mRNA da proteína [21]. De qualquer das formas, a compreensão da regulação do gene SNCA é de extremo interesse para melhor entendimento do Parkinson e outras patologias associadas à desregulação da alpha-syn. Deste modo, abordaremos então de que forma a regulação do gene SNCA pode alterar a produção de alpha-syn. [5]

Transcrição

Em termos da transcrição, sendo este um dos primeiros níveis onde poderá haver desregulação do gene SNCA, foram identificados alguns factores de transcrição que regulam a transcrição deste mesmo gene.

Entre eles encontram-se:

- Factores *PITX3*, *OTX2*, *NR3C1*, *AR*, *TBP* → interacção com promotores do gene *SNCA*;
- Factor *PARP-1* que se liga ao *Rep1* (região repetida dinucleotídica polimórfica localizada a 10kb *upstream* do início da transcrição) [7] → activação da transcrição do gene *SNCA*;
- Factores da família *GATA* e *ZSCAN* que se ligam aos elementos do intrão 1 (possivelmente associados à UPR) e à região promotora *SNCA* → indução da transcrição do gene *SNCA*;

É importante referir que as regiões intrónicas, ricas em conteúdo CT, também influenciam os níveis de transcrição do gene *SNCA*. [5]

Foi ainda sugerido por *Clough et al.* [8] uma relação entre a via *ERK/PI3K* (*extracellular signal-regulated kinases/ phosphatidylinositol 3-kinases*), que através da interacção com a família dos factores *ZSCNA* pode induzir a transcrição do *SNCA*.

Splicing

O *splicing* é outro mecanismo pelo qual se pode regular a expressão dos transcritos de *SNCA* pós-transcricionalmente. Sabe-se da existência de pelo menos 6 variantes deste gene: *SNCA* 140, *SNCA* 126, *SNCA* 115, *SNCA* 112, *SNCA* 98, *SNCA* 67, dos quais *SNCA* 112, *SNCA* 126 e *SNCA* 98 são obtidos por *splicing* alternativo.

Para melhor perceber como é que se originam estas isoformas é necessário ter em conta que o mRNA do gene *SNCA* possui 6 exões (Fig.5), não havendo deleção de nenhum destes forma-se a isoforma *SNCA* 140. Se houver deleção do exão 3 forma-se a isoforma *SNCA* 126, que leva à interrupção da região responsável pela promoção da interacção entre a proteína e a membrana (no N-terminal), havendo como consequência menor agregação. Uma deleção do exão 5 resulta na isoforma *SNCA* 112, que leva a uma grande diminuição do C-terminal, ficando este destruturado, o que resulta num aumento significativo da agregação da alpha-syn. A deleção de ambos os exões, 3 e 5, resulta na isoforma *SNCA* 98. [5]

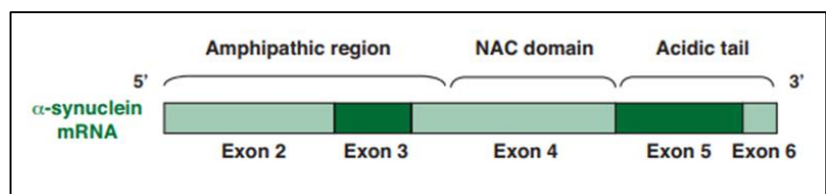


Figura 5. Esquema do mRNA da alpha-syn com localização dos exões e regiões amfipática, NAC e cauda ácida.[6]

Apesar de não se conhecer a razão da existência destas isoformas, sabe-se que algumas estão associadas ao aumento da agregação intracelular e encontram-se sobre expressas em sinucleinopatias. [9]

MicroRNA

A região 3'-UTR contém *binding sites* para alguns microRNAs, entre eles o miR-7, miR-153, miR-34c e miR-34b. Estes miRNAs encontram-se expressos predominantemente nos neurónios, induzindo *downregulation* da expressão da alpha-syn. Em doentes com Parkinson, a transcrição dos miR-34c e miR-34b está diminuída, levando assim a um aumento dos níveis de alpha-syn e à formação de agregados amilóides [11]. Quanto aos miR-7 e miR-153, não se sabe ao certo se a sua expressão se encontra diminuída em doentes com Parkinson, mas caso não se encontre, estes miRNAs poderão servir como base para estudos terapêuticos para esta doença [22].

Mutações

Conhecem-se cerca de 30 mutações no gene *SNCA* relacionados com a doença de Parkinson, estando estas associadas à forma familiar da doença, *early-onset* (antes dos 50) [12]. Duas das primeiras mutações pontuais a serem associadas à patologia são a A53T e a A30P (N-terminal). Destas alterações advêm diversos problemas, para além de ocorrer *misfold* tridimensional da proteína, o que pode levar à perda ou ganho de função, estas mutações terão consequências graves no tráfego e localização celular da alpha-syn, uma vez que a proteína se liga à membrana das vesículas sinápticas através da região N-terminal. Ainda é importante referir que nestes mutantes a velocidade de transição da proteína entre o citoplasma e o núcleo encontra-se aumentada, este factor em junção com o anterior leva ao aumento de alpha-syn no núcleo das células mutadas. Estas mutações ainda vão alterar a cinética de oligomerização e fibrilação da alpha-syn, alguns estudos [13] indicam que a presença destas mutações leva a uma maior propensão de oligomerização, em vez de fibrilação. Por oposto existe também a possibilidade de a mutação A53T promover a agregação da alpha-syn e formação de filamentos, em contraste com a mutação A30P [14]. A terceira mutação a ser associada ao Parkinson foi a E64K, esta mutação vai alterar a polaridade da alpha-syn o que leva a modificações drásticas na físico-química da proteína. Pensa-se ainda que esta mutação está associada a uma alteração na libertação dos neurotransmissores, uma vez que modifica a ligação da alpha-syn aos fosfolípidos das membranas celulares.

Por último ainda é importante referir que as mutações pontuais não são as únicas associadas à doença de Parkinson, sendo que também está associada a esta a duplicação ou triplicação anómala do gene *SNCA*, o que leva ao excesso de alpha-syn, facilitando a sua agregação e formação de fibras amilóides [15]. [5]

Pós-traducional

A regulação da alpha-Syn a nível pós-traducional é um dos últimos níveis onde pode ocorrer a desregulação do gene *SNCA*, esta ocorre maioritariamente por meio da sua degradação. Apesar deste mecanismo ainda não estar esclarecido vários autores propõem que o turnover desta proteína

seja influenciado pelo sistema ubiquitina-proteassoma (UPS) e pela *autophagy-lissossomal pathway* (ALP). Deste modo, com o avançar da idade começam a ocorrer falhas nestes sistemas de controlo de qualidade. Estas falhas levam a um aumento de proteínas potencialmente tóxicas, como a alpha-syn, e consequentemente à sua agregação. Por outro lado, a acumulação de alpha-syn e dos seus agregados pode também bloquear o UPS e ALP, levando à morte celular. [5]

Regulação da expressão a nível traducional da alpha-syn e o papel do ferro

De seguida vai-se abordar a regulação da tradução da alpha-syn e a função do ferro neste processo.

O ferro tem um papel importante na alpha-syn, uma vez que para além de afectar indirectamente nos neurónios e ocorrer destabilização da homeostasia celular por meio do stress oxidativo,

promoção da oligomerização e agregação, e formação de poros, novos estudos indicam que o ferro poderá ter um envolvimento mais directo com a alpha-syn. Estes estudos propõem que a alpha-syn ligar-se-á ao Cu(II), pelo N-terminal, e ao Fe(III), através do C-terminal, podendo ser um ferrireductase responsável pela redução do Fe(III) à sua forma biodisponível de Fe(II). O ferro agiria como um regulador da tradução e estabilidade do mRNA da alpha-syn através da sequência *cis-acting*, IRE (*iron responsive element*). Esta sequência encontra-se na região 5'-UTR do mRNA da alfa-syn, sendo semelhante à sequência habitualmente presente em ferritinas na mesma região (Fig.6). [16]

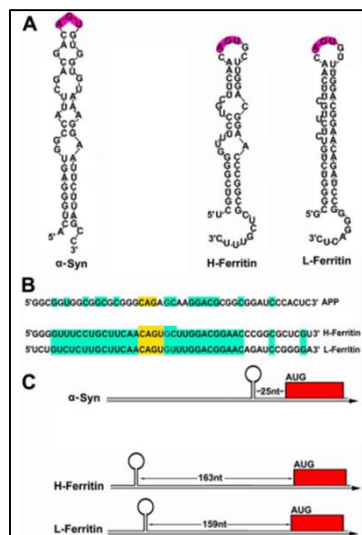


Figura 6. Comparação da região 5'-UTR, contendo os *stem loops* IRE, da alpha-syn, H- e L- ferritina. **A** - Previsão do *fold* da alpha-syn 5'-UTR em RNA *stem loops*, semelhantes aos IRE encontrados na região 5'-UTR na ferritina. O *key motif* AGU do IRE está em destaque roxo. **B** - Análise homóloga do *stem loop* IRE das sequências da alpha-syn, H- e L- ferritina. O *key motif* do IRE encontra-se destacado a amarelo, os nucleótidos homólogos que flanqueiam as áreas do *key motif* do IRE estão destacadas a cyan. **C** - Mapas do 5'-UTR, contendo os *stem loops* IRE, na alpha-syn, H- e L- ferritina.[17]

Uma vez que o papel das ferritinas vai ser importante para demonstrar a importância do ferro na alpha-syn, esta proteína vai ser de seguida abordada.

A ferritina é uma proteína de acumulação de ferro composta por duas subunidades, L- e H-, sendo que a subunidade H- irá oxidar Fe(II) a Fe(III), guardando-o depois na sua cavidade. A tradução do mRNA desta proteína é modulada pelas IRP-1 e IRP-2 (*iron regulated proteins*), responsáveis pelo controlo da homeostasia intracelular do ferro. Estas ligam-se com alta afinidade aos *stem loops* conservados do RNA, sendo estes compostos pelas IREs – motivos de RNA com 30 nucleótidos contendo a sequência CAGUGN – na região 5'-UTR do mRNA da L- e H- subunidades da ferritina [17]. A interacção IRE/IRP impede o acesso da pequena subunidade 40S do ribossoma ao 5'-UTR do mRNA da ferritina, suprimindo então a tradução do mRNA desta. O influxo de ferro activa a

tradução, através da remoção do IRP-1 do IRE da ferritina, este irá ser convertido num cis-aconitase citoplasmático, enquanto que o IRP-2 é degradado. A remoção de ambos os IRPs do mRNA da ferritina faz com que seja de novo possível o recrutamento da pequena subunidade 40S do ribossoma para a região 5'-UTR (Fig. 7). [18]

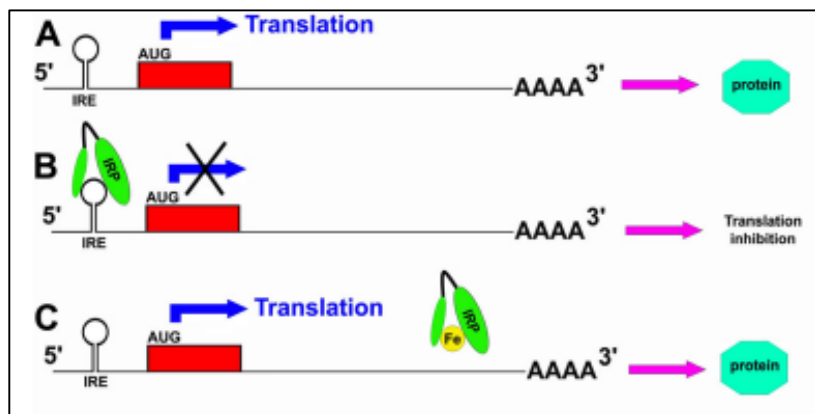


Figura 7. Mecanismo da modulação da tradução pela via IRP-IRE. **A** - A tradução dos transcritos que contêm uma região 5'-UTR IRE ocorre na ausência de IRP ligado ao IRE. **B** - Após ligação do IRP ao IRE na região 5'-UTR a tradução dos transcritos é inibida. **C** - Na presença de ferro, este liga-se ao IRP, ocorrendo uma mudança conformacional neste que culmina na sua dissociação com o IRE. Ao ocorrer a dissociação ocorre a facilitação da tradução dos transcritos.[17]

Tomando como homóloga a influência do ferro na ferritina, sabe-se então que na ausência deste, as IRPs ligam-se à sequência IRE do mRNA da alpha-syn e bloqueiam a tradução desta, havendo então uma regulação da repressão da tradução do mRNA da alpha-syn por parte do ferro que modula parcialmente a associação do mRNA desta proteína aos poliribossomas. Por oposto, na presença de ferro vai haver uma

associação deste com as IRPs, sendo que deste modo estas não se ligam aos IRE e assim sendo há facilitação da tradução do mRNA da alpha-syn.[19]

Para além deste envolvimento do ferro, sendo a alpha-syn um ferrireductase, esta tem um papel basal na regulação da razão de Fe(II)/ Fe(III), importante para a sobrevivência dos neurónios dopaminérgicos. Enquanto que o Fe(II) tem um papel como cofactor do tirosina hidroxilase, responsável pela catálise da conversão de L-tirosina em di-hidroxi-fenil-alanina (L-DOPA), o Fe(III) induz o stress oxidativo, por meio da interacção com neuromelanina (é necessário ter em conta que estas hipóteses são inferenciais e ainda não foi feita uma observação directa).

A via do tirosina hidroxilase deixa de funcionar correctamente aquando da reduzida disponibilidade do Fe(II), devido à diminuição da actividade do ferrireductase, que utilizam *redox cycling* dos átomos cobre para remover electrões do ferro, reduzindo-o de Fe(III) a Fe(II). [20]

Bibliografia

- [1] Saleh, H., Saleh, A., Yao, H., Cui, J., Shen, Y., & Li, R. (2015). Mini review: Linkage between α -Synuclein protein and cognition. *Translational Neurodegeneration*, 4(1), 5–10. <https://doi.org/10.1186/s40035-015-0026-0>
- [2] Emamzadeh, F. N. (2016). Alpha-synuclein structure, functions, and interactions. *Journal of Research in Medical Sciences*, 21(2). <https://doi.org/10.4103/1735-1995.181989>
- [3] Sode, K., Ochiai, S., Kobayashi, N., & Usuzaka, E. (2007). Effect of reparation of repeat sequences in the human α -synuclein on fibrillation ability. *International Journal of Biological Sciences*, 3(1), 1–7. <https://doi.org/10.7150/ijbs.3.1>
- [5] Tagliafierro, L., & Chiba-Falek, O. (2016). Up-regulation of SNCA gene expression: implications to synucleinopathies. *Neurogenetics*, 17(3), 145–157. <https://doi.org/10.1007/s10048-016-0478-0>
- [6] Venda, L. L., Cragg, S. J., Buchman, V. L., & Wade-Martins, R. (2010). α -Synuclein and dopamine at the crossroads of Parkinson's disease. *Trends in Neurosciences*, 33(12), 559–568. <https://doi.org/10.1016/j.tins.2010.09.004>
- [7] Venda, L. L., Cragg, S. J., Buchman, V. L., & Wade-Martins, R. (2010). α -Synuclein and dopamine at the crossroads of Parkinson's disease. *Trends in Neurosciences*, 33(12), 559–568. <https://doi.org/10.1016/j.tins.2010.09.004>
- [8] Clough RL, Dermentzaki G, Stefanis L. (2009). Functional dissection of the alpha-synuclein promoter: transcriptional regulation by ZSCAN21 and ZNF219. *Journal of neurochemistry*, 110:1479–1490. <https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.2009.06250>
- [9] Janeczek, P., Brooker, C., Dodd, P. R., & Lewohl, J. M. (2015). Differential expression of α -synuclein splice variants in the brain of alcohol misusers: Influence of genotype. *Drug and Alcohol Dependence*, 155, 284–292. <https://doi.org/10.1016/j.drugalcdep.2015.05.045>
- [10] Janeczek, P., Brooker, C., Dodd, P. R., & Lewohl, J. M. (2015). Differential expression of α -synuclein splice variants in the brain of alcohol misusers: Influence of genotype. *Drug and Alcohol Dependence*, 155, 284–292. <https://doi.org/10.1016/j.drugalcdep.2015.05.045>
- [11] Janeczek, P., Brooker, C., Dodd, P. R., & Lewohl, J. M. (2015). Differential expression of α -synuclein splice variants in the brain of alcohol misusers: Influence of genotype. *Drug and Alcohol Dependence*, 155, 284–292. <https://doi.org/10.1016/j.drugalcdep.2015.05.045>
- [12] In site: <https://ghr.nlm.nih.gov/gene/SNCA#conditions>
- [13] Lücking, C. B., & Brice, A. (2000). Alpha-synuclein and Parkinson's disease. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 57(13–14), 1894–1908. <https://doi.org/10.1007/PL00000671>
- [14] Narhi, L., Wood, S. J., Steavenson, S., Jiang, Y., Wu, G. M., Anafi, D., ... Citron, M. (1999). Both Familial Parkinson's Disease Mutations Accelerate α -Synuclein Aggregation. *Journal of Biological Chemistry*, 274(14), 9843–9846. <https://doi.org/10.1074/JBC.274.14.9843>
- [15] Dana, D., Haile, A., & Arota, A. (2016). Prevalence of Intestinal Parasitic Infection and Associated Factors among Pediatric Patients at Shenen Gibe Hospital , Ethiopia, 12, 30–35. <https://doi.org/10.2174/1389202914666131210205839>

- [16] Febbraro, F., Giorgi, M., Caldarola, S., Loreni, F., & Romero-Ramos, M. (2012). α -Synuclein expression is modulated at the translational level by iron. *NeuroReport*, 23(9), 576–580. <https://doi.org/10.1097/WNR.0b013e328354a1f0>
- [17] Zhou, Z. D., & Tan, E. K. (2017). Iron regulatory protein (IRP)-iron responsive element (IRE) signaling pathway in human neurodegenerative diseases. *Molecular Neurodegeneration*, 12(1), 1–12. <https://doi.org/10.1186/s13024-017-0218-4>
- [18] Cahill, C. M., Lahiri, D. K., Huang, X., & Rogers, J. T. (2009). Amyloid precursor protein and alpha synuclein translation, implications for iron and inflammation in neurodegenerative diseases. *Biochimica et Biophysica Acta - General Subjects*, 1790(7), 615–628. <https://doi.org/10.1016/j.bbagen.2008.12.001>
- [19] Febbraro, F., Giorgi, M., Caldarola, S., Loreni, F., & Romero-Ramos, M. (2012). α -Synuclein expression is modulated at the translational level by iron. *NeuroReport*, 23(9), 576–580. <https://doi.org/10.1097/WNR.0b013e328354a1f0>
- [20] Davies, P., Moualla, D., & Brown, D. R. (2011). Alpha-synuclein is a cellular ferriredutase. *PLoS ONE*, 6(1). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0015814>
- [21] Quinn, J. G., Coulson, D. T. R., Brockbank, S., Beyer, N., Ravid, R., Hellemans, J., ... Johnston, J. A. (2012). α -Synuclein mRNA and soluble α -synuclein protein levels in post-mortem brain from patients with Parkinson's disease, dementia with Lewy bodies, and Alzheimer's disease. *Brain Research*, 1459, 71–80. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2012.04.018>
- [22] Kabaria, S., Choi, D. C., Chaudhuri, A. D., Mouradian, M. M., & Junn, E. (2015). Inhibition of miR-34b and miR-34c enhances α -synuclein expression in Parkinson's disease. *FEBS Letters*, 589(3), 319–325. <https://doi.org/10.1016/j.febslet.2014.12.014>
- [23] Jensen PH, Hager H, Nielsen MS, Hojrup P, Gliemann J, (1999). Jakes R: alpha-synuclein binds to Tau and stimulates the protein kinase A-catalyzed tau phosphorylation of serine residues 262 and 356. *J Biol Chem*. 1999, 274: 25481-25489. 10.1074/jbc.274.36.25481.
- [24] Duka T, Duka V, Joyce JN, Sidhu A (2009). Alpha-Synuclein contributes to GSK-3 β -catalyzed Tau phosphorylation in Parkinson's disease models. *Faseb J*. 2009, 23: 2820-2830. 10.1096/fj.08-120410.
- [25] Duka T, Rusnak M, Drolet RE, Duka V, Wersinger C, Goudreau JL, Sidhu A (2006). Alpha-synuclein induces hyperphosphorylation of Tau in the MPTP model of parkinsonism. *Faseb J*. 2006, 20: 2302-2312. 10.1096/fj.06-6092com.
- [26] Ciacchioli G, Martins A, Rodrigues C, Vieira H, Calado P (2013). A powerful yeast model to investigate the synergistic interaction of alpha-synuclein and tau in neurodegeneration. *PLoS One*. 2013, 8: e55848-10.1371/journal.pone.0055848.
- [27] Delenclos, M., Ross, O. A., Jones, D. R., Moussaoud, S., McLean, P. J., & Moussaoud-Lamodière, E. L. (2014). Alpha-Synuclein and Tau: Teammates in Neurodegeneration? *Molecular Neurodegeneration*, 9(1), 43. <https://doi.org/10.1186/1750-1326-9-43>