



ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΔΗΜΟΚΡΑΤΙΑ

Εθνικόν και Καποδιστριακόν
Πανεπιστήμιον Αθηνών

— ΙΔΡΥΘΕΝ ΤΟ 1837 —

ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ

ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ

ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ

“Ιατρική Γενετική: Κλινική και Εργαστηριακή Κατεύθυνση”

ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

**“Μελέτη της παθογόνου παραλλαγής p.A30G (c.88C>G) στο γονίδιο SNCA σε
ένα ευρύ φάσμα συνουκλεϊνοπάθειών στον ελληνικό πληθυσμό”**

Τσάμη Βικτωρία

A.M.: 7450382200021

ΑΘΗΝΑ

Ιανουάριος, 2025



ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΔΗΜΟΚΡΑΤΙΑ
Εθνικόν και Καποδιστριακόν
Πανεπιστήμιον Αθηνών
— ΙΔΡΥΘΕΝ ΤΟ 1837 —

ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ

ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ

ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ

“Ιατρική Γενετική: Κλινική και Εργαστηριακή Κατεύθυνση”

ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

“Μελέτη της παθογόνου παραλλαγής p.A30G (c.88C>G) στο γονίδιο *SNCA* σε ένα ευρύ φάσμα συνουκλεινοπάθειών στον ελληνικό πληθυσμό”

Τσάμη Βικτωρία

A.M.: 7450382200021

Τριμελής Εξεταστική Επιτροπή

Στεφανής Λεωνίδας (Επιβλέπων)

Καθηγητής, Τμήμα Ιατρικής, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών

Traeger-Συνοδινού Ιωάννα-Ραχήλ

Καθηγήτρια, Τμήμα Ιατρικής, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών

Μακρυθανάσης Περικλής

Καθηγητής, Τμήμα Ιατρικής, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών

ΑΘΗΝΑ

Ιανουάριος, 2025



HELLENIC REPUBLIC

**National and Kapodistrian
University of Athens**

EST. 1837

School of Health Sciences

Department of Medicine

MASTER PROGRAM IN

“Medical Genetics: Clinic & Laboratory Direction”

MASTER THESIS

**“Study of the p.A30G (c.88C>G) pathogenic variant in the *SNCA* gene in a wide spectrum
of Synucleinopathies in the Greek population”**

Tsami Viktoria

Register Number: 7450382200021

Examining Board Members

Stefanis Leonidas (Supervisor)

Professor, Medical Department, University of Athens

Traeger-Synodinos Joanne-Rachel

Professor, Medical Department, University of Athens

Makrithanasis Periklis

Professor, Medical Department, University of Athens

Athens

January, 2025

© [2025]

Ιατρική Σχολή Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών (ΕΚΠΑ)

[Τσάμη Βικτωρία, Βιολόγος]

Η παρούσα Μεταπτυχιακή Διπλωματική Εργασία, η οποία εκπονήθηκε στα πλαίσια του Π.Μ.Σ. “ΙΑΤΡΙΚΗ ΓΕΝΕΤΙΚΗ: ΚΛΙΝΙΚΗ ΚΑΙ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΗ ΚΑΤΕΥΘΥΝΣΗ” αποτελεί συνιδιοκτησία του ΕΚΠΑ και του/της φοιτητή/τριας, ο/η καθένας/μία από τους/τις οποίους/ες έχει το δικαίωμα ανεξάρτητης χρήσης και αναπαραγωγής τους (στο σύνολο ή τμηματικά) για διδακτικούς και ερευνητικούς σκοπούς, σε κάθε περίπτωση αναφέροντας τον τίτλο και τον/την συγγραφέα και το ΕΚΠΑ όπου εκπονήθηκε η Διπλωματική Εργασία καθώς και τον Επιβλέποντα και την άλλα μέλη της Εξεταστικής Επιτροπής.



ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ

ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ

ΒΕΒΑΙΩΣΗ ΕΚΠΟΝΗΣΗΣ ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ

«Δηλώνω υπεύθυνα ότι η συγκεκριμένη Διπλωματική Εργασία με τίτλο:

*[Μελέτη της παθογόνου παραλλαγής p.A30G (c.88C>G) στο γονίδιο SNCA σε ένα ευρύ φάσμα
συνουκλείνοπάθειών, στον ελληνικό πληθυσμό]*

για τη λήψη του μεταπτυχιακού τίτλου σπουδών του Π.Μ.Σ. **“ΙΑΤΡΙΚΗ ΓΕΝΕΤΙΚΗ:ΚΛΙΝΙΚΗ ΚΑΙ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΗ ΚΑΤΕΥΘΥΝΣΗ”**, της Ιατρικής Σχολής του ΕΚΠΑ, έχει συγγραφεί από εμένα προσωπικά και δεν έχει υποβληθεί ούτε έχει εγκριθεί στο πλαίσιο κάποιου άλλου μεταπτυχιακού ή προπτυχιακού τίτλου σπουδών, στην Ελλάδα ή στο εξωτερικό.

Η εργασία αυτή αντιπροσωπεύει τις προσωπικές μου απόψεις επί του θέματος.

Κατά τη συγγραφή, ακολούθησα την πρόπουσα ακαδημαϊκή δεοντολογία. Οι πηγές στις οποίες ανέτρεξα για την εκπόνηση της συγκεκριμένης διπλωματικής αναφέρονται στο σύνολό τους, δίνοντας πλήρεις αναφορές στους συγγραφείς, συμπεριλαμβανομένων και των πηγών που ενδεχομένως χρησιμοποιήθηκαν από το διαδίκτυο. Έχω επίσης αποφύγει οποιαδήποτε ενέργεια που συνιστά παράπτωμα λογοκλοπής. Γνωρίζω ότι η λογοκλοπή μπορεί να επισύρει ποινή ανάκλησης του πτυχίου μου.

Σε κάθε περίπτωση, αναληθούς ή ανακριβούς δηλώσεως, υπόκειμαι στις συνέπειες που προβλέπονται στον Κανονισμό Σπουδών του Μεταπτυχιακού Προγράμματος Σπουδών στην **“ΙΑΤΡΙΚΗ ΓΕΝΕΤΙΚΗ:ΚΛΙΝΙΚΗ ΚΑΙ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΗ ΚΑΤΕΥΘΥΝΣΗ”**, και στις διατάξεις που προβλέπει η Ελληνική και Κοινοτική Νομοθεσία περί πνευματικής ιδιοκτησίας».

Ο/Η ΔΗΛΩΝ/ΟΥΣΑ

Υπογραφή: Τσάμη Βικτωρία

Ονοματεπώνυμο: Τσάμη Βικτωρία

Αριθμός Μητρώου: 7450382200021

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ	6
ΠΕΡΙΛΗΨΗ	8
ABSTRACT	9
ΠΙΝΑΚΑΣ ΟΡΟΛΟΓΙΑΣ.....	10
ΠΙΝΑΚΑΣ ΣΥΝΤΟΜΟΓΡΑΦΙΩΝ.....	11
ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΠΙΝΑΚΩΝ.....	13
ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΕΙΚΟΝΩΝ	13
1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ	14
1.1. Κλινικό φάσμα	15
1.1.1. Νόσος Πάρκινσον	15
1.1.2. Άνοια με σωμάτια Lewy	16
1.1.3. Πολλαπλή Συστηματική Ατροφία	17
1.1.4. Η διαταραχή συμπεριφοράς στον ύπνο REM.....	19
1.2. Η γενετική των συνουκλειϊνοπαθειών.....	20
1.2.1 Γενετικοί παράγοντες που συμβάλλουν στην παθογένεια της νόσου Πάρκινσον	20
1.2.2 Γενετικοί παράγοντες που συμβάλλουν στην παθογένεια της άνοιας με σωμάτια Lewy	23
1.2.3 Γενετικοί παράγοντες που συμβάλλουν στην παθογένεια της Πολλαπλής Συστηματικής Ατροφίας	24
1.2.4. Γενετική Βάση της Ιδιοπαθούς Διαταραχής Συμπεριφοράς στον Ύπνο REM.....	25
2. ΣΚΟΠΟΣ	27
3. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ	28
3.1 Ασθενείς.....	28
3.2 Εξαγωγή DNA	29
3.3 Αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης (Polymerase Chain Reaction, PCR)	30
3.4 Πολυμορφισμός μήκους περιοριστικών θραυσμάτων (Restriction Fragment Length Polymorphism, RFLP)	31
3.5 Πέψη.....	32
3.6 Ηλεκτροφόρηση σε πήκτωμα αγαρόζης.....	32

4. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ.....	34
6. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ.....	45
7. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	46

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Οι συνουκλείνοπάθειες αποτελούν μια ομάδα νευροεκφυλιστικών διαταραχών, που περιλαμβάνουν τη νόσο Πάρκινσον (PD), την άνοια με σωματία Lewy (DLB), την Πολλαπλή Συστηματική Ατροφία (MSA) και τη Διαταραχή Συμπεριφοράς κατά τον Ύπνο REM (RBD), και χαρακτηρίζονται από ανώμαλη συσσώρευση της α-συνουκλείνης στο νευρικό σύστημα. Σκοπός της παρούσας εργασίας είναι η διερεύνηση της παθογόνου παραλλαγής p.A30G (c.88C>G) του γονιδίου *SNCA* στο πλαίσιο αυτών των διαταραχών στον ελληνικό πληθυσμό.

Για την επίτευξη αυτού του σκοπού, μελετήθηκαν 327 ασθενείς με PD (n=271), DLB (n=13), MSA (n=36) ή RBD (n=7) συμπεριλαμβανομένων περιπτώσεων με θετικό οικογενειακό ιστορικό και σποραδικών. Από το DNA των ασθενών, που απομονώθηκε από δείγματα αίματος, ανιχνεύθηκε η παρουσία της παθογόνου παραλλαγής p.A30G (c.88C>G) μέσω αλυσιδωτής αντίδρασης πολυμεράσης (PCR) και ανάλυσης πολυμορφισμού μήκους περιοριστικών θραυσμάτων (RFLP). Τα προϊόντα της ανάλυσης εξετάστηκαν με ηλεκτροφόρηση σε πήκτωμα αγαρόζης.

Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι η παθογόνος παραλλαγή p.A30G (c.88C>G) ανιχνεύθηκε αποκλειστικά σε ασθενείς με PD, ενώ απουσίαζε από τις άλλες 3 διαταραχές. Από τους 271 ασθενείς, 6 βρέθηκαν θετικοί στη παθογόνο παραλλαγή (2.2%), με τυπικά κινητικά χαρακτηριστικά της νόσου Πάρκινσον. Παράλληλα, σε αρκετές περιπτώσεις εντοπίστηκαν συνοδά γνωστικά και ψυχιατρικά συμπτώματα, καθώς και πρώιμες κινητικές επιπλοκές.

Η παρούσα μελέτη συμβάλλει στην κατανόηση της παθογένειας της παθογόνου παραλλαγής p.A30G (c.88C>G) στο γονίδιο *SNCA* και υπογραμμίζει τη σημασία του γενετικού αίτιου της νόσου Πάρκινσον. Τα ευρήματα παρέχουν πολύτιμα δεδομένα για τη γενετική βάση των συνουκλείνοπαθειών στον ελληνικό πληθυσμό, ενισχύοντας τις προσπάθειες για την έγκαιρη διάγνωση και την ανάπτυξη στοχευμένων θεραπευτικών στρατηγικών.

Επιστημονική περιοχή: Νευρογενετική, Μοριακή Βιολογία, Νευροεκφυλιστικές Νόσοι

Λέξεις-κλειδιά: Συνουκλείνοπάθειες, Νόσος Πάρκινσον, Παθογόνος παραλλαγή p.A30G (c.88C>G), Γονίδιο *SNCA*, Ελληνικός πληθυσμός

ABSTRACT

Synucleinopathies constitute a group of neurodegenerative disorders, including Parkinson's disease (PD), dementia with Lewy bodies (DLB), multiple system atrophy (MSA), and REM sleep behavior disorder (RBD). These neurodegenerative disorders share a common pathological hallmark: the abnormal accumulation of alpha-synuclein in the nervous system. This study aims to investigate the presence of the p.A30G (c.88C>G) pathogenic variant in the *SNCA* gene in the context of these disorders in the Greek population.

To achieve this aim, 327 patients with PD (n=271), DLB (n=13), MSA (n=36) or RBD (n=7), were studied, including cases with a positive family history and sporadic ones. The DNA of the patients, isolated from blood samples, was analyzed for the presence of the p.A30G (c.88C>G) pathogenic variant using polymerase chain reaction (PCR) and restriction fragment length polymorphism (RFLP) analysis. The products of the analysis were analyzed through agarose gel electrophoresis.

The results showed that the p.A30G (c.88C>G) pathogenic variant was exclusively detected in patients with PD, while it was absent in the other disorders. Out of the 271 patients with PD, 6 tested positive for the pathogenic variant (2,2%), exhibiting typical motor characteristics of Parkinson's disease. Additionally, several cases presented associated cognitive impairment, psychiatric manifestations, and early-onset motor complications.

This study contributes to understanding the pathogenicity of the p.A30G (c.88C>G) pathogenic variant in the *SNCA* gene and highlights its significance as a genetic cause of Parkinson's disease. The findings provide valuable data on the genetic basis of synucleinopathies in the Greek population, enhancing efforts toward early diagnosis and the development of targeted therapeutic strategies.

Scientific Fields: Neurogenetics, Molecular Biology, Neurodegenerative Disorders
Keywords: Synucleinopathies, Parkinson's Disease, p.A30G (c.88C>G) Pathogenic variant, *SNCA* Gene, Greek Population

ΠΙΝΑΚΑΣ ΟΡΟΛΟΓΙΑΣ

Ελληνικός Όρος	Ξενόγλωσσος όρος
Ατροφία πολλαπλών συστημάτων	Multiple system atrophy
Άνοια με σωματία Lewy	Dementia with Lewy bodies
Νόσος του Πάρκινσον	Parkinson's disease
Ανθρωποέτη	Ανθρωποέτη
Λεβοντόπα	Levodopa
Ντοπαμίνη	Dopamine
Νόσος του Αλτσχάιμερ	Alzheimer's disease
Εταιρεία Κινητικών Διαταραχών	Movement Disorder Society
Φασματοφωτόμετρο	Spectrophotometer
Οπτική πυκνότητα	Optical density
Αποδιάταξη	Denaturation
Πρόσδεση εκκινητών	Annealing
Επιμήκυνση	Extension
Άγριος τύπος	Wild type
Ζεύγος βάσεων	Base pair
Μεταλλαγμένο	Mutated
Δυσανάλογη κάμψη της κεφαλής	Antecollis
Κύφωση	Camptocormia
Βρωμιούχο αιθίδιο	Ethidium bromide

ΠΙΝΑΚΑΣ ΣΥΝΤΟΜΟΓΡΑΦΙΩΝ

Ελληνικές συντομογραφίες:

Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, ΕΚΠΑ

Ίδρυμα Ιατροβιολογικών Ερευνών της Ακαδημίας Αθηνών, ΙΙΒΕΑΑ

Νόσος Πάρκινσον, ΝΠ

Ξενογλωσσες συντομογραφίες:

Multiple system atrophy, MSA

Dementia with Lewy bodies, DLB

Parkinson's disease, PD

Rapid eye movement, REM

Glial Cytoplasmic Inclusions, GCIs

N-Acetyl Cysteine, NAC

Senile Plaques, SPs

Iodine-123-meta-iodobenzylguanidine, ¹²³I-MIBG

Multiple System Atrophy - Parkinsonian Type, MSA-P

Multiple System Atrophy - Cerebellar Type, MSA-C

Alpha-synuclein, SNCA

Movement Disorder Society, MDS

Polymerase Chain Reaction, PCR

Restriction Fragment Length Polymorphism, RFLP

New England Biolabs, NEB

Ultraviolet radiation, UV

Ethidium bromide, EtBr

Not available, NA

Base pair, Bp

Wild type, WT

Unified Parkinson's Disease Rating Scale, UPDRS

Mini-Mental State Examination, MMSE

Montreal Cognitive Assessment, MoCA

Age at Onset, AAO

Age at Death, AAD

Rapid eye movement sleep, RBD

Mesencephalic Central Reticular Formation, MCRF

Sublaterodorsal nucleus, SLD

Precoeruleus, PC

Polysomnographic, PSG

REM sleep without atonia, RSWA

Non-Amyloid Component, NAC

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΠΙΝΑΚΩΝ

Πίνακας 3.1 [Πληροφορίες για τις διαφορετικές κατηγορίες ασθενών]	(σελ. 29)
Πίνακας 3.2 [Προϊόν πέψης περιορισμού άγριου τύπου και μετάλλαξης]	(σελ. 31)
Πίνακας 3.3 [Δημογραφικά και κλινικά δεδομένα ασθενών]	(σελ. 34)
Πίνακας 3.4 [Δημογραφικά και κλινικά χαρακτηριστικά των ασθενών με τη παθολόγο παραλλαγή p.A30G (c.88C>G) από τις έξι ελληνικές οικογένειες]	(σελ. 35)

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΕΙΚΟΝΩΝ

Εικόνα 1.1: Απλοποιημένο σχηματικό διάγραμμα της πρωτοταγούς δομής της α-συνουκλεΐνης. Παρουσιάζονται επίσης οι τρεις κύριες περιοχές {αμφιπαθητική, υδρόφοβη περιοχή NAC (Non-Amyloid Component), όξινη}, τα μοτίβα KTKEGV, οι σημειακές μεταλλάξεις και οι θέσεις φωσφορυλίωσης.....	(σελ. 22)
Εικόνα 3.1 [Ενδεικτική φωτογραφία με θετικά και αρνητικά δείγματα για την παθολόγο παραλλαγή p.A30G (c.88C>G)].....	(σελ. 33)
Εικόνα 3.2 [Γενεαλογικά δέντρα των έξι οικογενειών με τη παθολόγο παραλλαγή p.A30G (c.88C>G)]	(σελ. 37)

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Οι συνουκλεινοπάθειες αναφέρονται σε μια ομάδα διαταραχών που χαρακτηρίζονται από ανώμαλες, λανθασμένα αναδιπλωμένες συσσωρεύσεις της α -συνουκλειΐνης στο περιφερικό και κεντρικό νευρικό σύστημα (Spillantini et al., 2000). Οι διαφορές στην κυτταρική τοποθεσία και το πρότυπο εναπόθεσης της α -συνουκλειΐνης οδηγούν σε κλινικά διακριτές οντότητες συνουκλεινοπαθειών: στην ατροφία πολλαπλών συστημάτων (Multiple system atrophy, MSA), την άνοια με σωμάτια Lewy (Dementia with Lewy bodies, DLB) και τη νόσο του Πάρκινσον (Parkinson's disease, PD) (Campbell et al., 2001).

Η νευρωνική δυσλειτουργία και νευροεκφύλιση στις συνουκλεινοπάθειες σχετίζεται με την ανώμαλη συσσώρευση της α -συνουκλειΐνης. Υπάρχουν συνεχώς αυξανόμενες ενδείξεις για τη μετάδοση της α -συνουκλειΐνης από κύτταρο σε κύτταρο με «prionlike» τρόπο (Prusiner et al., 2015). Η εμπλοκή του κεντρικού αυτόνομου δικτύου και των περιφερικών νευρώνων που ελέγχουν την αυτόνομη λειτουργία μπορεί να εκδηλωθεί ως ορθοστατική υπόταση, ουρογεννητική δυσλειτουργία, γαστρεντερική δυσαρθρία και θερμορυθμιστική δυσλειτουργία (Cersosimo et al., 2013). Ένα άλλο κοινό χαρακτηριστικό των συνουκλεινοπαθειών είναι η εμφάνιση της διαταραχής συμπεριφοράς κατά τον ύπνο REM (Rapid eye movement Behaviour Disorder, RBD), η οποία μπορεί να προηγείται των αυτόνομων ή κινητικών συμπτωμάτων. Στην περίπτωση που υπάρχει ως μόνο σύμπτωμα η RBD, πρόκειται για πρόδρομη μορφή των συνουκλεινοπαθειών, και ονομάζεται ιδιοπαθής RBD (iRBD) (Schenck et al., 2003). Τα νευρωνικά έγκλειστα, συγκεκριμένα τα σωμάτια Lewy και οι νευρίτες Lewy, αποτελούν τα κύρια παθολογικά έγκλειστα στη νόσο του Πάρκινσον και την άνοια με σωμάτια Lewy (DLB) (Papp et al., 1994). Ενώ, η Πολλαπλή Συστηματική Ατροφία (MSA) χαρακτηρίζεται από κυτταροπλασματικά έγκλειστα στα ολιγοδενδροκύτταρα του κεντρικού νευρικού συστήματος (Papp et al., 1994). Η α -συνουκλειΐνη έχει εμπλακεί ως κύριο συστατικό των σωληνοϊνώδων εγκλείστων που ανευρίσκονται στα ολιγοδενδροκύτταρα, γνωστά ως κυτταροπλασματικά γλοιακά έγκλειστα (Glial Cytoplasmic Inclusions, GCIs) (Tu et al., 1998).

Οι συνουκλειΐνες είναι μια οικογένεια διαλυτών πρωτεϊνών, των οποίων η λειτουργία δεν έχει γίνει καλά κατανοητή (Galvin et al., 2001). Οι πρωτεΐνες αυτές χαρακτηρίζονται από ένα όξινο καρβοξυτελικό άκρο και 5 ή 6 ατελή επαναλαμβανόμενα μοτίβα (KTKEGV) καταναμημένα σε όλο το αμινοτελικό άκρο (Giasson et al., 2000). Σήμερα υπάρχουν 4 μέλη της οικογένειας των συνουκλεινών, με μήκος που κυμαίνεται από 127 έως 140 αμινοξέα. Η πρώτη συνουκλειΐνη περιγράφηκε το 1988, αφού καθарίστηκε από την ηλεκτροπλακέτα του Torpedo και από τον εγκέφαλο αρουραίου, και είναι γνωστή ως α -συνουκλειΐνη (α S) (Maroteaux et al., 1988). Αργότερα, ωστόσο, ονομάστηκε και μη αμυλοειδές συστατικό

(NAC) της πρωτεΐνης των πρόδρομων πλακών, αφού το πεπτίδιο NAC (N-Acetyl Cysteine) απομονώθηκε από γεροντικές πλάκες πλούσιες σε αμυλοειδές (SPs, Senile Plaques) σε εγκεφάλους ασθενών με νόσο του Αλτσχάιμερ (Alzheimer's disease) και αποδείχθηκε ότι είναι ταυτόσημο με τα κατάλοιπα 61 έως 95 της αS (Ueda et al., 1993). Το γονίδιο της αS χαρτογραφήθηκε στη χρωμοσωμική θέση 4q21.3-q22 (Clayton et al., 1999).

1.1. Κλινικό φάσμα

1.1.1. Νόσος Πάρκινσον

Το σύνδρομο το οποίο περιγράφηκε για πρώτη φορά από τον James Parkinson το 1817 χαρακτηρίζεται από βραδυκινησία, τρόμο ηρεμίας, δυσκαμψία και διαταραχές της στάσης και της βάδισης (Parkinson J., 1817). Πέρα από αυτά τα συμπτώματα όμως ο Parkinson, περιέγραψε και τη δυσλειτουργία του αυτόνομου νευρικού συστήματος, αναφερόμενος στη δυσκοιλιότητα και στις διαταραχές της ούρησης, επιπρόσθετα με τη διαταραχή της κίνησης (Parkinson J., 1817). Η συχνότητα της νόσου του Parkinson είναι η υψηλότερη σε σύγκριση με τις υπόλοιπες συνουκλειϊνοπάθειες, φτάνοντας τα 14 περιστατικά ανά 100.000 ανθρωποέτη (man-years), αριθμός που αυξάνεται με τα χρόνια (Savica et al., 2016).

Εκτός από τα κινητικά χαρακτηριστικά του παρκινσονισμού, περίπου το 90% των ασθενών με νόσο του Πάρκινσον θα αναπτύξουν τουλάχιστον ένα μη κινητικό σύμπτωμα (Shulman et al., 2001). Η δυσκοιλιότητα αναφέρεται συχνά από τους ασθενείς με νόσο Πάρκινσον, όπως και τα συμπτώματα νευρογενούς κύστης, η επιτακτική ανάγκη για ούρηση και ακράτεια, καθώς και η ορθοστατική υπόταση (Mathers et al., 1989).

Στους ασθενείς με νόσο του Πάρκινσον, η κινητικότητα του παχέος εντέρου είναι μειωμένη, οδηγώντας σε μείωση της συχνότητας των κενώσεων (Mathers et al., 1989). Η συμμετοχή του ανώτερου γαστρεντερικού συστήματος μπορεί να οδηγήσει σε καθυστέρηση των κενώσεων του στομάχου, προκαλώντας συμπτώματα ναυτίας, πρώιμου κορεσμού και κοιλιακής διάτασης. Επιπλέον, η καθυστερημένη γαστρική κένωση μπορεί να επιβραδύνει την απορρόφηση της λεβοντόπα (Levodopa) στο δωδεκαδάκτυλο, γεγονός που εξηγεί τις διακυμάνσεις που αναπτύσσονται στα μεταγενέστερα στάδια της νόσου (Kurlan., 1998).

Η ορθοστατική υπόταση εμφανίζεται σε ποσοστό έως και 50% των ασθενών με νόσο του Πάρκινσον (Goldstein., 2006) και μπορεί να ανιχνευθεί στα αρχικά στάδια της νόσου και μπορεί να οφείλεται σε δυσσαυτονομία, αν και μη νευρογενείς αιτίες, όπως η υποογκαιμία, η απίσχναση και οι παρενέργειες φαρμάκων, συχνά συμβάλλουν (Senard et al., 2010). Οι ντοπαμινεργικοί παράγοντες,

συμπεριλαμβανομένης της λεβοντόπα και των αγωνιστών της ντοπαμίνης (dopamine), μπορεί να συμβάλλουν στην ορθοστατική υπόταση (Senard et al., 2010). Η λεβοντόπα όταν μεταβολίζεται στην περιφέρεια, έχει διουρητική δράση και προκαλεί αγγειοδιαστολή (Senard et al., 2010). Σε ασθενείς με δυσλειτουργία του αυτόνομου συστήματος λόγω της νόσου του Πάρκινσον, αυτό μπορεί να συμβάλλει στη μείωση της αρτηριακής πίεσης (Senard et al., 2010).

Τα ουρολογικά συμπτώματα επηρεάζουν έως και το 85% των ασθενών με νόσο του Πάρκινσον (McDonald et al., 2017). Τα κλασικά ουρολογικά συμπτώματα περιλαμβάνουν νευρογενή υπερδραστηριότητα του εξωστήρα. Οι ασθενείς μπορεί να αναφέρουν ερεθιστικά συμπτώματα της κύστης, όπως επιτακτική ούρηση, συχνουρία και νυκτουρία, ενώ η κατακράτηση ούρων αναφέρεται λιγότερο συχνά (Özcan et al., 2016).

Η διάγνωση της νόσου του Πάρκινσον παραμένει κλινική, με την ύπαρξη παρκινσονισμού το οποίο ορίζεται ως βραδυκίνησια σε συνδυασμό με τρόμο ηρεμίας και/ή δυσκαμψία (Postuma., et al., 2015). Διάφορα επίπεδα βεβαιότητας καθορίζονται με βάση τα τρέχοντα κλινικά διαγνωστικά κριτήρια της Εταιρείας Διαταραχών Κίνησης για τη νόσο του Πάρκινσον, συμπεριλαμβανομένων των κατηγοριών «κλινικά επιβεβαιωμένη» και «κλινικά πιθανή» (Postuma., et al., 2015). Η αξιολόγηση της αυτόνομης λειτουργίας σε ασθενείς με τη νόσο του Πάρκινσον μπορεί να περιλαμβάνει έλεγχο για ορθοστατική υπόταση, η οποία μπορεί να πραγματοποιηθεί στο κρεβάτι του ασθενή ή μέσω ειδικών εξετάσεων αυτόνομης λειτουργίας και παρατεταμένης παρακολούθησης της αρτηριακής πίεσης (Thaisetthawatkul et al., 2004).

Η θερμορυθμιστική δοκιμή ιδρώτα συνήθως δείχνει περιφερική μεταγαγγλιακή δυσλειτουργία των ιδρωτοποιών αδένων, η οποία είναι συνήθως ήπιας βαρύτητας (McDonald et al., 2017).

Η μαγνητική τομογραφία εγκεφάλου μπορεί να είναι χρήσιμη σε ασθενείς με νόσο του Πάρκινσον και σημαντικά αυτόνομα συμπτώματα για να αξιολογηθεί η ύπαρξη άτυπου παρκινσονισμού, όπως η MSA (Πολυσυστηματική Ατροφία) (Thaisetthawatkul et al., 2004).

1.1.2. Άνοια με σωμάτια Lewy

Τα σωμάτια Lewy ονομάστηκαν έτσι προς τιμήν του Friedrich Lewy, ο οποίος περιέγραψε τα κυτταροπλασματικά έγκλειστα σε μια δημοσίευση του το 1923, σε μια ομάδα ασθενών με παρκινσονισμό, οι μισοί εκ των οποίων παρουσίαζαν συμπτώματα άνοιας (Lewy., 1923). Το σύνδρομο άνοιας που προηγείται του παρκινσονισμού ή εμφανίζεται εντός ενός έτους από την έναρξη της νόσου του Πάρκινσον ονομάστηκε άνοια με σωμάτια Lewy το 1996 (McKeith et al., 2017). Η άνοια με σωμάτια Lewy (DLB)

είναι η δεύτερη πιο συχνή μορφή άνοιας, με επίπτωση 3,5 περιστατικά ανά 100.000 ανθρωποέτη (Savica et al., 2013).

Η διάγνωση της άνοιας με σωμάτια Lewy (DLB) απαιτεί προοδευτική και σοβαρή γνωστική έκπτωση, με δυσανάλογη δυσλειτουργία προσοχής και εκτελεστικών λειτουργιών, καθώς και ελλείμματα στην οπτική επεξεργασία (McKeith et al., 2017). Τα κύρια κλινικά χαρακτηριστικά περιλαμβάνουν διακυμάνσεις στη γνωστική λειτουργία, επαναλαμβανόμενες οπτικές ψευδαισθήσεις και διαταραχή συμπεριφοράς κατά τον ύπνο REM, μαζί με τουλάχιστον ένα βασικό χαρακτηριστικό παρκινσονισμού (βραδυκίνησια, τρόμος ηρεμίας ή δυσκαμψία) (McKeith et al., 2017). Επιπλέον, η δυσαντονομία, η ευαισθησία στα νευροληπτικά, η αστάθεια στη στάση με επανειλημμένες πτώσεις και οι νευροψυχιατρικές εκδηλώσεις αποτελούν υποστηρικτικά κλινικά χαρακτηριστικά (McKeith et al., 2017).

Η δυσαντονομία είναι κοινή στην άνοια με σωμάτια Lewy (DLB), αν και συνήθως σε λιγότερο σοβαρό βαθμό σε σύγκριση με την πολυσυστηματική ατροφία (MSA), αλλά πιο έντονη από ό,τι στη νόσο του Πάρκινσον (Thaisetthawatkul et al., 2004). Τα συμπτώματα της ορθοστατικής υπότασης συναντώνται συχνά στην DLB, με τη μείωση της αρτηριακής πίεσης να θεωρείται μέτριας βαρύτητας (Thaisetthawatkul et al., 2004). Αν και η ορθοστατική υπόταση εμφανίζεται συνήθως αργότερα σε σύγκριση με άλλα παρκινσονικά σύνδρομα, ορισμένοι ασθενείς μπορεί να παρουσιάσουν και αρχικά τα συμπτώματα (Wenning et al., 1999). Η δυσκοιλιότητα είναι επίσης συχνή στην DLB (Thaisetthawatkul et al., 2004).

Τα διαγνωστικά κριτήρια για την άνοια με σωμάτια Lewy (DLB) περιλαμβάνουν την δυσαντονομία ως υποστηρικτικό κλινικό χαρακτηριστικό (Thaisetthawatkul et al., 2004). Οι δοκιμές της αυτόνομης λειτουργίας τείνουν να δείχνουν μεταγαγγλιακή ιδρωτοκινητική ανεπάρκεια με μέτρια καρδιοπαρασυμπαθητική και αδρενεργική ανεπάρκεια (Thaisetthawatkul et al., 2004). Η απώλεια ιδρώτα στη θερμορυθμιστική δοκιμή ιδρώτα ακολουθεί συνήθως ένα περιφερικό πρότυπο, όπως στη νόσο του Πάρκινσον, με μεγαλύτερο βαθμό ανιδρωσίας από ό,τι στη νόσο του Πάρκινσον, αλλά μικρότερο από την MSA (Yoshita et al., 2015). Η μεταγαγγλιακή συμπαθητική απονεύρωση της καρδιάς ανιχνεύεται μέσω σπινθηρογράφηματος με ¹²³I-MIBG (Iodine-123-meta-iodobenzylguanidine), παρόμοια με τη νόσο του Πάρκινσον (Yoshita et al., 2015).

1.1.3. Πολλαπλή Συστηματική Ατροφία

Η Πολλαπλή Συστηματική Ατροφία (MSA) είναι μια προοδευτική νευροεκφυλιστική διαταραχή που χαρακτηρίζεται από δυσαντονομία και κινητικά συμπτώματα με κυρίαρχο το παρκινσονισμό (MSA-P, Multiple System Atrophy - Parkinsonian Type) ή την κυρίαρχη παρεγκεφαλιδική αταξία (MSA-C, Multiple

System Atrophy - Cerebellar Type) (Graham et al., 1969). Ο όρος «Πολλαπλή Συστηματική Ατροφία» χρησιμοποιείται από το 1969, όταν εισήχθη από τους Graham και Oppenheimer, και περιλαμβάνει διαταραχές που προηγουμένως αναφέρονταν ως εκφυλισμός της ραβδωτής ουσίας και της μέλαινας ουσίας, εκφύλιση της ελιάς και της γέφυρας, και σύνδρομο Shy-Drager (Graham et al., 1969). Η πολυσυστηματική ατροφία (MSA) επηρεάζει κατά προσέγγιση 0,6 άτομα ανά 100.000 άτομα ετησίως, ενώ αυτός ο αριθμός αυξάνεται σε 3 ανά 100.000 άτομα ετησίως σε άτομα άνω των 50 ετών (Bower et al., 1997), με την έναρξη της νόσου να εμφανίζεται συνήθως στην έκτη δεκαετία της ζωής τους (Ben-Shlomo et al., 1997). Το προσδόκιμο επιβίωσης στην MSA είναι μειωμένο, με μια προοδευτική πορεία που καταλήγει στον θάνατο, και η μέση επιβίωση από την έναρξη της νόσου έως τον θάνατο κυμαίνεται από 6 έως 10 χρόνια (Coon et al., 2015).

Η MSA εμφανίζεται αρχικά με κινητικά συμπτώματα στους περισσότερους ασθενείς (Gilman et al., 2008). Αυτά μπορεί να εκδηλωθούν ως παρκινσονισμός με βραδυκινησία και δυσκαμψία, ενώ ο ασύμμετρος τρόμος ηρεμίας όπως παρατηρείται κλασικά στη νόσο του Πάρκινσον, είναι σπάνιος στην MSA-P (Gilman et al., 2008). Όταν όμως η αρχική κλινική εικόνα περιλαμβάνει κυρίως χαρακτηριστικά δυσλειτουργίας, όπως αταξία στα άκρα, βάδισμα με ευρεία βάση στήριξης και νυσταγμό, ο φαινότυπος ονομάζεται MSA-C (Gilman et al., 2008).

Η δυστονία μπορεί να είναι έντονη, εμφανιζόμενη ως δυσανάλογη κάμψη της κεφαλής (antecollis), κύφωση (camptocormia) ή δυστονία που επηρεάζει το χέρι ή το πόδι (Quinn., 1989).

Η ομιλία επηρεάζεται συχνά και μπορεί να παρουσιάζει υποκινητικά, αταξικά, σπαστικά ή μικτά χαρακτηριστικά. Καθώς η νόσος εξελίσσεται, η δυσαρθρία μπορεί να προχωρήσει σε αναρθρία και η δυσφαγία μπορεί επίσης να γίνει έντονη (Fanciulli et al., 2015).

Η δυσαισθησία στην Πολλαπλή Συστηματική Ατροφία (MSA) τείνει να είναι σοβαρή και εκτεταμένη από τα πρώτα στάδια της νόσου (Fanciulli et al., 2015). Η ορθοστατική υπόταση μπορεί να σχετίζεται ή να εμφανίζεται πρώτα μαζί με υπέρταση σε ύπτια θέση. Ορισμένοι ασθενείς μπορεί να μην εμφανίζουν συμπτώματα, παρά τη σοβαρή πτώση της αρτηριακής πίεσης, ενώ άλλοι μπορεί να βιώνουν επαναλαμβανόμενες λιποθυμίες (Fanciulli et al., 2015). Η ουρογεννητική ανεπάρκεια μπορεί επίσης να είναι πρόωμη και σοβαρή (Fanciulli et al., 2015). Η σεξουαλική δυσλειτουργία συχνά εκδηλώνεται ως στυτική δυσλειτουργία στους άνδρες και ως μειωμένη αισθητικότητα των γεννητικών οργάνων στις γυναίκες (Fanciulli et al., 2015).

Οι αναπνευστικές διαταραχές και οι διαταραχές ύπνου είναι συχνές στην MSA (Köllensperger et al., 2008).

Τα διαγνωστικά κριτήρια για την Πολλαπλή Συστηματική Ατροφία (MSA) περιλαμβάνουν τις κατηγορίες ορισμένης, πιθανής και ενδεχόμενης MSA (Gilman et al., 2008).

Η δοκιμή της αυτόνομης λειτουργίας στην MSA γενικά αποκαλύπτει ενδείξεις κεντρικής αυτόνομης δυσλειτουργίας (Coon et al., 2015). Η θερμορρυθμιστική δοκιμή ιδρώτα συνήθως δείχνει υψηλό βαθμό ανιδρωσίας (Coon et al., 2015). Η πολυυπνοογραφία συνιστάται για τη διάγνωση της διαταραχής συμπεριφοράς στον ύπνο REM, ενώ μπορεί να ανιχνευθεί και νυχτερινός συριγμός (Lalich et al., 2014). Η παρουσία συριγμού πρέπει να οδηγήσει σε άμεση λαρυγγοσκόπηση, η οποία μπορεί να αποκαλύψει ανωμαλίες ή παράλυση της κινητικότητας των φωνητικών χορδών (Lalich et al., 2014).

1.1.4. Η διαταραχή συμπεριφοράς στον ύπνο REM

Οι βασικές κλινικές εκδηλώσεις της διαταραχής συμπεριφοράς στον ύπνο REM (Rapid eye movement sleep, RBD) περιλαμβάνουν ανώμαλες φωνητικές εκφράσεις, ανώμαλη κινητική συμπεριφορά και διαταραχές στη νοητική επεξεργασία των ονείρων, κατά τις οποίες οι ασθενείς φαίνεται να ενεργούν κατά τη διάρκεια των ονείρων τους (Olson et al., 2000). Αυτό συχνά εκδηλώνεται με φωνές, κραυγές, άτακτες κινήσεις των άκρων, γροθιές, κλωτσιές κ.λπ. Η RBD τείνει να επηρεάζει κυρίως άνδρες μέσης ηλικίας είτε και μεγαλύτερους (Olson et al., 2000).

Η διαταραχή συμπεριφοράς στον ύπνο REM (RBD) αντικατοπτρίζει, τουλάχιστον εν μέρει, την απώλεια της παράλυσης των σκελετικών μυών. Ο ύπνος REM εμφανίζεται κυρίως στο δεύτερο μισό της νύχτας, οι ανώμαλες συμπεριφορές συνήθως παρατηρούνται μετά τα μεσάνυχτα, ιδιαίτερα στο τελευταίο τρίτο του ύπνου (International Classification of Sleep Disorders, 2005). Το βασικό εύρημα στις μελέτες ύπνου (Polysomnographic, PSG) είναι η αυξημένη μυϊκή δραστηριότητα (μέτρηση με ηλεκτρομυογράφημα) κατά τον ύπνο REM, με ή χωρίς ανώμαλες συμπεριφορές (International Classification of Sleep Disorders, 2005).

Με βάση μελέτες σε ζωικά μοντέλα, ο υπολατεροραχιαίος πυρήνας και το σύμπλεγμα του προκοερούλιου πυρήνα (Sublaterodorsal nucleus, SLD/ Precoeruleus, PC), καθώς και ο μεγελοκυτταρικός δικτυωτός σχηματισμός (Mesencephalic Central Reticular Formation, MCRF), έχουν εμπλακεί στην παθοφυσιολογία της ανθρώπινης Διαταραχής Συμπεριφοράς στον Ύπνο REM (RBD) (Lai et al., 1988, 1997; Siegel et al., 2001, 2006; Boissard et al., 2002, 2003; Lu et al., 2006). Αυτοί οι πυρήνες στέλνουν προβολές, είτε άμεσα είτε έμμεσα, στα πρόσθια κέρατα των κινητικών νευρώνων που ελέγχουν τη μυϊκή δραστηριότητα του κρανίου, του κορμού και των άκρων στον εγκέφαλο και τον νωτιαίο μυελό (Boeve et al., 2007, 2010). Κατά τη διάρκεια του ύπνου REM, σε φυσιολογικά άτομα οι επιδράσεις από το SLD/PC και τον MCRF

καταστέλλουν αποτελεσματικά τους κινητικούς νευρώνες στα πρόσθια κέρατα, προκαλώντας παράλυση των περισσότερων κρανιακών και όλων σχεδόν των σκελετικών μυών (Frauscher et al., 2008). Αυτό αντικατοπτρίζεται ως μυϊκή ατονία στο ηλεκτρομυογράφημα (EMG) κατά την πολυκαταγραφική μελέτη ύπνου (PSG) για το μεγαλύτερο μέρος του ύπνου REM και την απουσία έντονων φωνητικών ή κινητικών συμπεριφορών. Αντίθετα, στην RBD, λόγω νευροεκφύλισης στις εν λόγω στελεχιαίες δομές, υπάρχει απώλεια της καταστολής και της μυϊκής ατονίας.

Η ερμηνεία των πιθανών φαινομένων της RBD μπορεί να είναι περίπλοκη σε ασθενείς με νόσο Πάρκινσον που έχουν άνοια ή κάνουν χρήση αντικαταθλιπτικών. Παρ' όλα αυτά, στις περισσότερες περιπτώσεις που υποβάλλονται σε PSG, οι διαφορές μεταξύ ύπνου REM, RSWA (REM sleep without atonia) και κλινικής RBD είναι σαφείς (Frauscher et al., 2008).

1.2. Η γενετική των συνουκλειϊνοπαθειών

1.2.1 Γενετικοί παράγοντες που συμβάλλουν στην παθογένεια της νόσου

Πάρκινσον

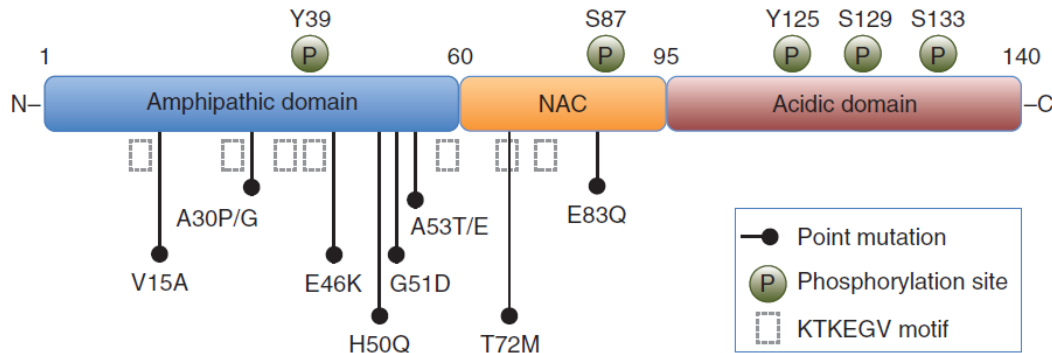
Ο γενετικός κίνδυνος στη νόσο Πάρκινσον ήταν αμφιλεγόμενος μέχρι πρόσφατα, ενώ το θετικό οικογενειακό ιστορικό θεωρούνταν κριτήριο αποκλεισμού. Παρόλα αυτά, ξεκινώντας με την ανακάλυψη-ορόσημο, το 1997, της πρώτης παθογόνου παραλλαγής, στο γονίδιο της α -συνουκλειΐνης (Alpha-synuclein, *SNCA*) (Polymeropoulos et al., 1997), τα τελευταία 25 χρόνια έχει σημειωθεί αξιοσημείωτη πρόοδος, με περισσότερα από 100 διαφορετικά γονίδια ή γονιδιακούς τόπους να έχουν πλέον συνδεθεί με την πρόκληση της νόσου (Blauwendraat et al., 2020). Η πρώτη αυτή γενετική ανακάλυψη οδήγησε μετά στην διαπίστωση ότι η α -συνουκλειΐνη αποτελεί κύριο συστατικό των σωματίων Lewy (Lewy Bodies) ακόμη και σε ασθενείς με σποραδική νόσο Πάρκινσον (Spillantini et al., 1997). Αρκετά χρόνια μετά, φάνηκε ότι γενετική υπερέκφραση του γονιδιακού τύπου της α -συνουκλειΐνης (*SNCA*) οδηγεί επίσης σε κληρονομικές μορφές της νόσου (Singleton et al., 2003).

Το *SNCA* είναι το πρώτο ταυτοποιημένο γονίδιο που προκαλεί αυτοσωμική επικρατούσα PD (Polymeropoulos et al., 1997), και μέχρι σήμερα έχουν αναφερθεί επτά διαφορετικές δυνητικά παθογόνες παραλλαγές αντικατάστασης αμινοξέων (p.A30P, p.E46K, p.H50Q, p.G51D, p.A53T, p.A53E, και p.A53V) οι οποίες σχετίζονται με τη νόσο (Liu et al., 2021). Η παθογόνος παραλλαγή p.A53T, η πρώτη παθογόνος παραλλαγή αντικατάστασης που ανακαλύφθηκε, έχει ανιχνευθεί κυρίως σε οικογένειες

ελληνικής και ιταλικής καταγωγής (Klein et al., 2012). Η παραλλαγή p.H50Q αναφέρθηκε σε μία σποραδική περίπτωση (Proukakis et al., 2013) και σε μία οικογένεια με επικρατούσα κληρονομικότητα (Appel-Cresswell et al., 2013), αλλά αργότερα θεωρήθηκε πιθανώς μη παθογόνος, καθώς δεν υπήρχε σημαντική συχνότητα σε περιπτώσεις PD συγκριτικά με τους μάρτυρες στις μεγάλες πληθυσμιακές βάσεις δεδομένων (Blauwendraat et al., 2018). Η παθογόνος παραλλαγή p.A53V βρέθηκε σε μία ιαπωνική οικογένεια με επικρατούσα κληρονομικότητα σε ομόζυγη κατάσταση (Yoshino et al., 2017) και δύο σποραδικές περιπτώσεις PD από την Κίνα σε ετερόζυγη κατάσταση (Chen et al., 2020). Άλλες παθογόνες παραλλαγές αντικατάστασης στο *SNCA*, p.E46K (Zarranz et al., 2004; Pimentel et al., 2015), p.G51D (Lesage et al., 2013; Kiely et al., 2015), και p.A53E (Pasanen et al., 2014; Martikainen et al., 2015) έχουν βρεθεί σε αρκετές οικογένειες, ενώ η p.A30P βρέθηκε να συγκαταλέγεται μόνο σε πέντε καταγεγραμμένες περιπτώσεις μιας γερμανικής οικογένειας (Krüger et al., 1998). Πιο πρόσφατα, το 2020 σε μια μελέτη βρέθηκε μια νέα παθογόνος παραλλαγή, η p.E83Q στο γονίδιο *SNCA*, η οποία σχετίζεται με εκτεταμένη παθολογία σωμάτων Lewy, σοβαρή ατροφία των μετωποκροταφικών λοβών και γνωστική εξασθένηση (Karasi et al., 2020). Το 2021, μελετήθηκαν δύο οικογένειες τουρκικής καταγωγής με PD όπου εντοπίστηκε μια νέα ετερόζυγη παραλλαγή του *SNCA*, c.215C > T (p.Thr72Met), η οποία συσχετίζεται με τη PD σε συνολικά τέσσερα μέλη των δύο οικογενειών (Diau et al., 2023). Βρέθηκε κοινός απλότυπος στην περιοχή του γονιδίου *SNCA* μεταξύ των φορέων της παραλλαγής, υποδεικνύοντας έναν κοινό πρόγονο. Στη συνέχεια, βρέθηκε ότι η α-συνουκλεΐνη p.Thr72Met παρουσιάζει ενισχυμένη συσσώρευση *in vitro*, σε σύγκριση με τον φυσιολογικό τύπο (Diau et al., 2023). Η *in silico* ανάλυση του δομικού μοντέλου της τετραμερής α-συνουκλεΐνης αποκάλυψε ότι η θρεονίνη 72 βρίσκεται στη διεπαφή του τετραμερούς, και η αντικατάστασή της με τη μεθειονίνη ενδέχεται να αποσταθεροποιεί το τετραμερές (Diau et al., 2023). Έπειτα ακόμη πιο πρόσφατα, η παραλλαγή p.V15A της α-συνουκλεΐνης έχει ανιχνευθεί σε δύο Καυκάσιες οικογένειες με PD. Ωστόσο, η σημασία αυτής της παραλλαγής με αλλαγή αμινοξέος παρέμεινε ασαφής. Η ανακάλυψη όμως της παραλλαγής p.V15A σε ιαπωνικές οικογένειες ενισχύει την πιθανότητα ότι η p.V15A μπορεί να αποτελεί αίτιο για την εμφάνιση της PD. Η p.V15A παρουσίασε μειωμένη συγγένεια με φωσφολιπίδια και αυξημένη ικανότητα διάδοσης σε σύγκριση με τον φυσιολογικό τύπο (wild-type) (Daida et al., 2022).

Οι Liu και συνεργάτες σε μελέτη που διεξήχθη το 2021, εντόπισαν την ετερόζυγη παθογόνο παραλλαγή p.A30G (c.88C>G) στο γονίδιο *SNCA* σε πέντε επηρεασμένα άτομα από τρεις ελληνικές οικογένειες που δεν σχετίζονται μεταξύ τους. Τα αποτελέσματα αυτής της έρευνας ανέδειξαν τη σημασία της παθογόνου παραλλαγής, η οποία προκαλεί οικογενή νόσο Πάρκινσον με ευδιάκριτα μη κινητικά συμπτώματα (Liu et al., 2021). Η παθογόνος παραλλαγή p.A30G (c.88C>G) τροποποιεί τη δομή της α-έλικας της πρωτεΐνης, διαταράσσει τη σύνδεση με τις μεμβράνες και ενισχύει τον σχηματισμό ινιδίων (Liu et al., 2021). Αυτά τα νέα γενετικά και λειτουργικά δεδομένα ρίχνουν φως στους μηχανισμούς μέσω των οποίων η παθολογική

α-συνουκλεΐνη μπορεί να οδηγήσει στη νόσο Πάρκινσον και είναι ιδιαίτερα σημαντικά για τη συνηθισμένη ιδιοπαθή μορφή, όπου οι μεταβολές της α-συνουκλεΐνης θεωρούνται ότι διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο (Liu et al., 2021).



Εικόνα 1.1: Απλοποιημένο σχηματικό διάγραμμα της πρωτοταγούς δομής της α-συνουκλεΐνης. Παρουσιάζονται επίσης οι τρεις κύριες περιοχές {αμφιπαθητική, υδρόφοβη περιοχή NAC (Non-Amyloid Component), όξινη}, τα μοτίβα KTKEGV, οι σημειακές μεταλλάξεις και οι θέσεις φωσφορυλίωσης (Vekrellis et al., 2024).

Οι αιτίες της πρώιμης αυτοσωμικής υπολειπόμενης νόσου είναι οι παθογόνες παραλλαγές στα γονίδια *PARKIN* (Kitada et al., 1998) και *PINK1* (Valente et al., 2004), καθώς και άλλα (Blauwendraat et al., 2020). Τόσο η *PARKIN* όσο και η *PINK1* έχουν συνδεθεί με ένα κυτταρικό μονοπάτι το οποίο εμπλέκεται στην αποικοδόμηση των μιτοχονδρίων στα λυσοσώματα μέσω μακρο-αυτοφαγίας. Η απώλεια λειτουργίας αυτών των γονιδίων οδηγεί σε μειωμένη “μιτοφαγία”, με αποτέλεσμα τη συσσώρευση δυσλειτουργικών μιτοχονδρίων (Shin et al., 2011). Μεταλλάξεις στο γονίδιο DJ-1 προκαλούν επίσης αυτοσωμική υπολειπόμενη πρώιμη εμφάνιση της νόσου (Bonifati et al., 2003). Ο παράγοντας DJ-1 έχει αντιοξειδωτικές επιδράσεις μέσω πολλαπλών μηχανισμών, συμπεριλαμβανομένης της ρύθμισης του NRF2, ενός μεταγραφικού παράγοντα που ρυθμίζει πολλαπλές αντιοξειδωτικές άμυνες, διεγείροντας έτσι τη σύνθεση γλουταθειόνης (Raninga et al., 2017). Σημαντικό να αναφερθεί πως, οι παθογόνες παραλλαγές στο γονίδιο *LRRK2* (*PARK8*) είναι η πιο κοινή γενετική αιτία τόσο της οικογενούς όσο και της σποραδικής νόσου (Li et al., 2014). Οι παθογόνες παραλλαγές στο γονίδιο *LRRK2* σχετίζονται με την αυτοσωμική επικρατούσα νόσο με ελλιπή διεισδυτικότητα (περίπου 25% για τη παθογόνο παραλλαγή p.G2019S, αλλά πολύ υψηλότερη για τη p.R144G) και είναι παρούσες σε περίπου 1-2% όλων των ασθενών με νόσο και 5% στην οικογενή, όμως παρουσιάζονται υψηλότερες σε ορισμένους πληθυσμούς, όπως οι ασθενείς με εβραϊκή

καταγωγή Ashkenazi και οι Βέρβεροι της Βόρειας Αφρικής (Alessi et al., 2018). Έχει προταθεί επίσης ότι οι παθογόνες παραλλαγές *LRRK2* που σχετίζονται με τη νόσο αυξάνουν τα επίπεδα *LRRK2* ως απόκριση σε φλεγμονώδη ερεθίσματα. Επιπλέον, υπάρχει μια θετική συσχέτιση μεταξύ των επιπέδων της πρωτεΐνης *LRRK2* στην έκκριση κυτταροκινών και στην ενεργοποίηση των T-κυττάρων που υποστηρίζει έναν ανοσορυθμιστικό ρόλο της *LRRK2* στη νόσο (Cook et al., 2017). Ένας άλλος κοινός γενετικός παράγοντας που συμβάλλει στον κίνδυνο εμφάνισης αφορά παθογόνες παραλλαγές στο γονίδιο *GBA* που σχετίζεται με την αυτοσωμική υπολειπόμενη νόσο του Gaucher (Clark et al., 2005). Οι πληθυσμοί που φέρουν μια παθολογική παραλλαγή στο *GBA* έχουν περίπου 4 φορές αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης PD, αν και ο κίνδυνος ποικίλλει ανάλογα με τις διάφορες παθογόνες παραλλαγές στο *GBA*. Ορισμένες μελέτες υποδηλώνουν αυξημένο κίνδυνο άνοιας στην PD που σχετίζεται με τη παθολογική παραλλαγή στο *GBA* (Riboldi et al., 2019). Οι παθογόνες παραλλαγές στο *GBA* που συνδέονται με την PD θεωρείται ότι προκαλούν αδρανοποίηση του λυσοσωμικού ενζύμου γλυκοσερεβροσιδάση (GCase) που κωδικοποιείται από το *GBA* γονίδιο.

1.2.2 Γενετικοί παράγοντες που συμβάλλουν στην παθογένεια της άνοιας με σωματίδια Lewy

Παρά το γεγονός ότι είναι πλέον γνωστό πως η γενετική παίζει ρόλο στη νόσο, τα γονίδια που προκαλούν την DLB δεν έχουν ακόμη εντοπιστεί πλήρως. Σε σύγκριση με την νόσο Alzheimer και τη νόσο Parkinson, γνωρίζουμε πολύ λιγότερα για τη γενετική της βάση. Μέχρι σήμερα, μόνο τρία γονίδια έχει αποδειχθεί ότι εμπλέκονται στην DLB: *APOE*, *GBA* και *SNCA*. Η παραλλαγή του γονιδίου *SNCA* μπορεί να διαμορφώνει τον κίνδυνο ή να οδηγεί σε φαινότυπους της νόσου. Οι καθιερωμένοι παράγοντες κινδύνου για τη νόσο είναι επίσης γνωστό ότι εμπλέκονται είτε στη νόσο Alzheimer (*APOE*) είτε στην νόσο Parkinson (*GBA*, *SNCA*). Το γονίδιο *SNCA* ενοχοποιήθηκε για πρώτη φορά όταν εντοπίστηκαν σημειακές παθογόνες παραλλαγές, p.Ala53Thr και p.Glu46Lys, και πολλαπλασιασμοί του επίτοπου σε οικογένειες με μικτούς φαινότυπους παρκινσονισμού και άνοιας που έμοιαζαν με την DLB (Zarranz et al., 2004; Morfis et al., 2006; Singleton et al., 2003). Πολλαπλασιασμοί του τόπου που οδηγούν σε τρία αντίγραφα (ετερόζυγος διπλασιασμός) ή τέσσερα αντίγραφα (ομόζυγος διπλασιασμός ή ετερόζυγος τριπλασιασμός) της *SNCA* έχουν περιγραφεί σε PD, PDD και DLB (Singleton et al., 2003; Obi et al., 2008; Nishioka et al., 2006; Chartier-Harlin et al., 2004; Ikeuchi et al., 2008; Ibáñez et al., 2004). Οι παθογόνες μεταλλάξεις στην *SNCA* είναι πολύ σπάνιες και μπορούν να οδηγήσουν σε ένα ευρύ φαινοτυπικό φάσμα από PD, PDD, DLB, όπως επίσης ατροφία πολλαπλών συστημάτων (MSA) ή ακόμη και Μετωποκροταφική άνοια (Markopoulou et

al., 2008; Pasanen et al., 2014; Kiely et al., 2013; Bougea et al., 2017). Σημαντικό να αναφερθεί πως έχουν την ικανότητα να παρουσιάζουν ετερογένεια μεταξύ των μελών της ίδιας οικογένειας όσον αφορά την ηλικία έναρξης, τον φαινότυπο και την παθολογία. Επιπλέον, δεν είναι όλοι οι διπλασιασμοί πλήρως διεισδυτικοί (Nishioka et al., 2006). Έχει διατυπωθεί η υπόθεση ότι οι παραλλαγές αυτές μπορεί να διαταράσσουν τη δραστηριότητα δέσμωσης της μεμβράνης ή να ξεκινούν τη νόσο αυξάνοντας την τάση της πρωτεΐνης να συσσωματώνεται. Ο Guella και οι συνεργάτες του διαπίστωσαν σε μια μελέτη πάνω σε μοντέλα με DLB, PD, PDD καθώς και υγιείς μάρτυρες ότι ο κίνδυνος για DLB σχετίζεται με έναν επίτοπο που βρίσκεται στο 5' άκρο του γονιδίου, ενώ ο κίνδυνος για PD σχετίζεται με παραλλαγές που βρίσκονται στο 3' άκρο του (Guella et al., 2016). Όσον αφορά το αλληλόμορφο *APOE* ε4 του γονιδίου έχει επίσης αποδειχθεί ότι αποτελεί παράγοντα κινδύνου για την ανάπτυξη της νόσου και εντοπίστηκε για πρώτη φορά πριν από 20 χρόνια (Handy et al., 1994). Υπήρξε η υπόθεση ότι η συσχέτιση της *APOE* ε4, μπορεί να οφείλεται στην παρουσία νευροπαθολογίας σχετιζόμενης με τη NA (Nielsen et al., 2003), η οποία συχνά παρατηρείται παράλληλα με την παθολογία που σχετίζεται με την παρουσία Lewy Bodies στον εγκέφαλο. Τέλος, αναφορικά με το γονίδιο *GBA*, φαίνεται πως, πέραν της PD, παθογόνες παραλλαγές στο *GBA* προδιαθέτουν και σε νοητική έκπτωση που μπορεί να εμφανιστεί ως PDD ή DLB.

1.2.3 Γενετικοί παράγοντες που συμβάλλουν στην παθογένεια της Πολλαπλής Συστηματικής Ατροφίας

Η σημασία της α-συνουκλεΐνης στην παθογένεια της MSA βρίσκεται στο επίκεντρο του ενδιαφέροντος (Whittaker et al., 2017). Στη συγκεκριμένη νόσο, η α-συνουκλεΐνη είναι παρούσα σε συσσωρευμένη μορφή ως κύριο συστατικό της GCI στα ολιγοδενδροκύτταρα. Η συσσώρευση της α-συνουκλεΐνης φαίνεται να προκαλεί μείωση του επιπέδου των νευροτροφικών παραγόντων στα ολιγοδενδροκύτταρα, μειώνοντας την ικανότητα των ολιγοδενδροκυττάρων να παρέχουν αξονική σταθερότητα (Ubhi et al., 2010). Φαίνεται επίσης να επηρεάζει την ικανότητα των ολιγοδενδροκυττάρων να αναγεννώνται και να επιδιορθώνονται (Yazawa et al., 2005). Ωστόσο, μέχρι σήμερα δεν έχουν βρεθεί αιτιώδεις παραλλαγές στο *SNCA* για την MSA και η συσχέτιση μεταξύ της παραλλαγής της α-συνουκλεΐνης και της MSA δεν έχει ακόμη αποδειχθεί. Αρκετές μελέτες έχουν διερευνήσει την κληρονομικότητα των παραλλαγών *SNCA* σε οικογένειες με MSA (Kiely et al., 2013; Kiely et al., 2015; Perez et al., 2002). Μια μελέτη μιας βρετανικής οικογένειας με την παραλλαγή *SNCA* p.G51D αποκάλυψε νευροπαθολογικά χαρακτηριστικά τόσο της MSA όσο και της PD (Kiely et al., 2013). Η συσχέτιση των πολυμορφισμών ενός νουκλεοτιδίου *SNCA* (SNPs) με την MSA έχει επίσης μελετηθεί. Δύο SNPs, rs3857059 και rs11931074, βρέθηκαν να

σχετίζονται σημαντικά με αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης MSA σε έναν ευρωπαϊκό πληθυσμό (Scholz et al., 2009). Οι πολυμορφισμοί του *COQ2* έχουν, επίσης, συσχετιστεί με την MSA σε αρκετές μελέτες. Σε μια μελέτη, η λειτουργικά εξασθενημένη παραλλαγή *COQ2* p.V393A αποδείχθηκε ότι σχετίζεται με σποραδική MSA σε ιαπωνικό πληθυσμό (Mitsui et al., 2013). Η συσχέτιση αυτή υποστηρίχθηκε από μια μετα-ανάλυση σε μια επόμενη μελέτη, στην οποία η p.V393A φάνηκε να σχετίζεται με αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης MSA σε κινεζικούς, ιαπωνικούς και ενδεχομένως ευρύτερους πληθυσμούς της Ανατολικής Ασίας (Zhao et al., 2016). Η παθολογική σχέση μεταξύ *COQ2* και MSA ενισχύθηκε όταν ανακαλύφθηκε ότι τα επίπεδα του συνένζυμου Q10 στο πλάσμα ήταν χαμηλότερα στους ασθενείς με MSA σε σύγκριση με τους υγιείς μάρτυρες (Mitsui et al., 2016). Επιπλέον, βρέθηκε ότι τα επίπεδα του συνένζυμου Q10 ήταν χαμηλότερα στην παρεγκεφαλίδα, μαζί με εξασθένηση της μιτοχονδριακής δυσλειτουργίας και του οξειδωτικού στρες, σε περιπτώσεις MSA σε σύγκριση με τους μάρτυρες (Barca et al., 2016). Υπάρχουν ορισμένες ενδείξεις ότι η ταυ μπορεί να εμπλέκεται στην παθογένεια της MSA. Παρόλο που είναι παρούσα στην GCI (Cairns et al., 1997), δεν είναι σαφές αν αυτό οφείλεται στο γεγονός ότι παίζει ενεργό ρόλο στην παθογένεια της MSA ή αν αυτό συμβαίνει σε μεταγενέστερο στάδιο της διαδικασίας της νόσου. Εξίσου σημαντικό να αναφερθεί είναι το γεγονός πως γονίδια όπως τα *GBA1* (Mitsui et al., 2015), *LRRK2* (Ozelius et al., 2007) και *C9orf72* (Scholz et al., 2015) παρουσιάζουν μια συσχέτιση με τη νόσο σε μία πληθώρα μελετών, παρ' όλα αυτά δεν έχει αποσαφηνιστεί πλήρως εάν η εμπλοκή τους επηρεάζει την έναρξη της νόσου ή εμπλέκονται μεταγενέστερα.

1.2.4. Γενετική Βάση της Ιδιοπαθούς Διαταραχής Συμπεριφοράς στον Ύπνο REM

Σε πρόσφατη μελέτη για τον εντοπισμό γενετικών περιοχών κινδύνου σε όλο το γονιδίωμα που σχετίζονται με το RBD (διαταραχή συμπεριφοράς του ύπνου REM), πραγματοποιήθηκε μελέτη συσχέτισης περίπτωσης-μάρτυρα (Genome-wide association studies, GWAS) για το ιδιοπαθές RBD (Idiopathic REM sleep behavior, iRBD) όπου εντοπίστηκαν έξι περιοχές που σχετίζονται με το RBD σε πέντε γονιδιωματικές περιοχές: δύο κοντά στα *SCARB2* και *INPP5F* και τρεις περιοχές που είχαν αναφερθεί προηγουμένως στη PD κοντά στα *SNCA*, *GBA* και *TMEM175* (Krohn et al., 2022). Αυτές οι πέντε περιοχές έχουν επίσης συσχετιστεί με τη PD, ωστόσο τα SNPs (Single-nucleotide polymorphism) που σχετίζονται με το RBD στα *SNCA* και *SCARB2* βρίσκονται σε ανισορροπία σύνδεσης (Linkage disequilibrium, LD) με τα κορυφαία SNPs που σχετίζονται με τη PD στις ίδιες περιοχές, και ως εκ τούτου θεωρούνται ανεξάρτητα (Krohn et al., 2022).

Επιπλέον βρέθηκε πως τα SNPs που σχετίζονται με τη PD ή την DLB σε αξιοσημείωτες περιοχές GWAS, όπως *MAPT* (rs62053943), *LRRK2* (rs34637584), *BINI* (rs6733839) και *APOE* (rs769449), δεν συσχετίζονται με το RBD (Krohn et al., 2022). Αυτό υποδηλώνει ότι η συνουκλεινοπάθεια που σχετίζεται με το RBD μπορεί να έχει μερικώς επικαλυπτόμενο γενετικό υπόβαθρο σε σχέση με τη συνολική νόσο του Πάρκινσον και την DLB (Krohn et al., 2022).

2. ΣΚΟΠΟΣ

Σκοπός της παρούσας διπλωματικής εργασίας είναι η διερεύνηση και η μελέτη της παθογόνου παραλλαγής p.A30G (c.88C>G) του γονιδίου *SNCA*, όχι μόνο στο πλαίσιο της νόσου Πάρκινσον, αλλά και στο ευρύτερο φάσμα των συνουκλεινοπαθειών, όπως η άνοια με σωματία Lewy, η Πολλαπλή Συστηματική Ατροφία και η διαταραχή συμπεριφοράς στον ύπνο REM.

Η παρούσα διπλωματική εργασία αποτελεί συνέχεια της μελέτης που δημοσιεύθηκε το 2021 των Liu και συνεργατών σχετικά με την παθογένεια της παθογόνου παραλλαγής p.A30G (c.88C>G) στην ασυνουκλειΐνη. Η προηγούμενη εργασία παρείχε σημαντικά δεδομένα σχετικά με τον ρόλο αυτής της σπάνιας παθογόνου παραλλαγής στη νόσο Πάρκινσον, επικεντρώνοντας κυρίως σε οικογενείς περιπτώσεις με πρόωμη έναρξη.

Η παρούσα μελέτη στοχεύει να επεκτείνει τα ευρήματα εκείνης της έρευνας, εστιάζοντας στους 4 βασικούς άξονες:

A) Επέκταση του Πληθυσμού Μελέτης και σε άλλους ασθενείς με Νόσο Πάρκινσον

B) Συμπερίληψη μεγαλύτερου αριθμού ασθενών με νόσο Πάρκινσον στην Ελλάδα, καλύπτοντας όχι μόνο οικογενείς αλλά και σποραδικές περιπτώσεις.

Γ) Μελέτη περιπτώσεων με πρόωμη και όψιμη έναρξη της νόσου, ώστε να διαπιστωθεί αν η παθογόνος παραλλαγή p.A30G (c.88C>G) σχετίζεται με διαφορετικούς φαινότυπους και ηλικιακές ομάδες.

Δ) Επέκταση του Πληθυσμού Μελέτης και σε άλλες συνουκλεινοπάθειες

Στόχος είναι να διαπιστωθεί αν η συγκεκριμένη παθογόνος παραλλαγή εμπλέκεται και σε άλλες νευροεκφυλιστικές διαταραχές πέραν της νόσου Πάρκινσον. Με την ανάλυση αυτή, η εργασία στοχεύει να προσφέρει νέες γνώσεις σχετικά με την κλινική σημασία της παθογόνου παραλλαγής p.A30G (c.88C>G), την κατανομή της στον ελληνικό πληθυσμό και τη δυναμική συμμετοχή της σε ευρύτερες νευροεκφυλιστικές παθήσεις.

3. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ

3.1 Ασθενείς

Διερευνήσαμε μια ελληνική ομάδα αποτελούμενη από 327 ασθενείς χωρίς συγγένεια (190 άνδρες και 137 γυναίκες) για τη παθολόγο παραλλαγή p.A30G (c.88C>G) του γονιδίου *SNCA*. Με νόσο Πάρκινσον (PD) εξετάστηκαν 271 ασθενείς με μέσο όρο ηλικίας 58 έτη (+/- 12), με Άνοια με σωμάτια Lewy (DLB) 13 ασθενείς με μέσο όρο ηλικίας 71 έτη (+/- 7), με Ατροφία Πολλαπλών Συστημάτων (MSA) 36 ασθενείς με μέσο όρο ηλικίας 61 έτη (+/-8) και με Διαταραχή Συμπεριφοράς στον Ύπνο REM (RBD) 7 ασθενείς με μέσο όρο ηλικίας 66 έτη (+/-12), όπου οι 55 από αυτούς είχαν θετικό οικογενειακό ιστορικό με τουλάχιστον έναν πρώτου ή δεύτερου βαθμού συγγενή με Πάρκινσον και 201 σποραδικά περιστατικά. Ενώ για 71 περιστατικά δεν υπάρχουν πληροφορίες για κληρονομικότητα.

Οι ασθενείς στρατολογήθηκαν από το εξωτερικό ιατρείο της Νευρογενετικής Μονάδας της Α' Νευρολογικής Κλινικής του Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών (ΕΚΠΑ) και από τα ειδικά εξωτερικά ιατρεία κινητικών διαταραχών της Α' και Β' Νευρολογικής Κλινικής του ΕΚΠΑ. Η διάγνωση βασίστηκε στα κλινικά διαγνωστικά κριτήρια της Εταιρείας Κινητικών Διαταραχών (Movement Disorder Society, MDS) (Postuma et al., 2015). Όλοι οι συμμετέχοντες έδωσαν ενήμερη συγκατάθεση πριν από τη συμμετοχή τους στις μοριακές γενετικές εξετάσεις. Η έρευνα διεξάχθηκε στα εργαστήρια του Ιδρύματος Ιατροβιολογικών Ερευνών της Ακαδημίας Αθηνών (ΙΙΒΕΑΑ) και το υλικό που χρησιμοποιήθηκε είναι απομονωμένο γενετικό υλικό (DNA) από το περιφερικό αίμα των ασθενών.

Πίνακας 3.1: Πληροφορίες για τις διαφορετικές κατηγορίες ασθενών.

Κατηγορία Ασθενών	Αριθμός Εξετασθέντων	Άνδρες/ Γυναίκες	Μέση ηλικία	Θετικό Οικογενειακό Ιστορικό	Σποραδικές Περιπτώσεις	Δίχως πληροφορία κληρονομικότητας
PD	271	141/130	58 (+/- 12έτη)	54	189	28
MSA	36	18/18	61 (+/- 8έτη)	-	-	36
DLB	13	8/5	71 (+/- 7έτη)	1	12	-
RBD	7	3/4	66 (+/- 12έτη)	-	-	7

3.2 Εξαγωγή DNA

Από τους ασθενείς συλλέχθηκαν 10 ml δείγμα αίματος, τα οποία τοποθετήθηκαν σε σωλήνες των 50 ml που περιείχαν Na₂EDTA 10% w/v (Alter Chem). Για την απομόνωση του DNA ακολουθήθηκε το πρωτόκολλο της Qiagen σε δείγμα αίματος από 4 - 14ml. Το σετ της FlexiGene DNA περιέχει το ρυθμιστικό διάλυμα FG1, FG2, FG3, την QIAGEN πρωτεάση, 100% ισοπροπανόλη και 70% αιθανόλη. Σε τέσσερα σωληνάρια φυγοκέντρωσης των 50ml προσθέσαμε την ποσότητα από το ρυθμιστικό διάλυμα FG1 και το αίμα. Αναποδογυρίσαμε δέκα φορές τα σωληνάρια και τα τοποθετήσαμε στη φυγόκεντρο για είκοσι λεπτά στα 2000g. Απορρίψαμε το υπερκείμενο, προσέχοντας όμως να μην χάσουμε το ίζημα και έπειτα προσθέσαμε το ρυθμιστικό διάλυμα FG2 και την πρωτεάση QIAGEN. Ανακινήσαμε καλά τα σωληνάρια ώστε να ομογενοποιηθεί πλήρως το ίζημα και στη συνέχεια επώασαμε στους 65°C για δέκα λεπτά. Το δείγμα αλλάζει χρώμα από κόκκινο σε πράσινο, υποδεικνύοντας την πέψη την πρωτεΐνης. Στο επόμενο βήμα, προσθέσαμε την ισοπροπανόλη (100%) και ανακινήσαμε καλά έως ότου το ίζημα του DNA ξεκίνησε να εμφανίζεται. Φυγοκεντρήσαμε για τρία λεπτά στα 2000g και στο τέλος απορρίψαμε το υπερκείμενο και αφήσαμε τα σωληνάρια αναποδογυρισμένα σε ένα καθαρό χαρτί προσέχοντας όμως να μείνει το ίζημα. Στη συνέχεια προσθέσαμε την αιθανόλη 70% και φυγοκεντρήσαμε για τρία λεπτά στα 2000g.

Επαναλάβαμε την διαδικασία με το καθαρό χαρτί μέχρι το σωληνάριο να είναι στεγνό. Τέλος, προσθέσαμε το ρυθμιστικό διάλυμα FG3 και επώασαμε στους 65°C στο υδατόλουτρο.

Η συγκέντρωση και η καθαρότητα του εξαγόμενου γονιδιωματικού DNA αξιολογήθηκαν με φασματοφωτόμετρο (Spectrophotometer; Nanophotometer, IMPLLEN). Η συγκέντρωση του DNA μετρήθηκε μέσω της οπτικής πυκνότητας (Optical density, OD) στα 260 nm, ενώ η καθαρότητα του DNA υπολογίστηκε μέσω της αναλογίας της οπτικής πυκνότητας του DNA (A260) προς την οπτική πυκνότητα των πρωτεϊνών (A280). Όταν η αναλογία απορρόφησης (OD260/OD280) κυμαίνεται από 1,8 έως 2,0, θεωρείται ότι αντιπροσωπεύει ένα καθαρό DNA. Όταν η τιμή αναλογίας είναι χαμηλότερη από 1,8 υποδηλώνει μόλυνση από πρωτεΐνες, ενώ όταν η τιμή αναλογίας είναι υψηλότερη από 2,0 υποδηλώνει μόλυνση από RNA.

3.3 Αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης (Polymerase Chain Reaction, PCR)

Η PCR είναι μια μέθοδος που επιτρέπει την ενίσχυση συγκεκριμένων τμημάτων DNA in vitro, χρησιμοποιεί ειδικούς εκκινητές (primers) για να στοχεύσει το επιθυμητό τμήμα DNA, μια θερμοσταθερή πολυμεράση, την Taq πολυμεράση, για να συνθέσει νέου DNA, το ρυθμιστικό διάλυμα, το Q-solution το οποίο διευκολύνει συχνά την ενίσχυση περιοχών με υψηλή περιεκτικότητα σε GC, το MgCl₂ (χλωριούχο μαγνήσιο) το οποίο είναι ένα βασικό συστατικό σε αντιδράσεις PCR, καθώς παίζει κρίσιμο ρόλο στη δραστηριότητα της DNA πολυμεράσης, τα dNTPs (δεσοξυνουκλεοτιδικά τριφωσφορικά, δηλαδή dATP, dCTP, dGTP και dTTP) τα οποία είναι βασικά συστατικά που χρειάζονται για τη σύνθεση του νέου DNA από την πολυμεράση και τέλος το νερό που χρησιμοποιείται στην PCR πρέπει να είναι αποστειρωμένο και απαλλαγμένο από DNases και RNases. Αυτό διασφαλίζει ότι δεν θα υπάρξουν επιμολύνσεις από ξένες νουκλεάσες που μπορεί να καταστρέψουν το DNA ή το RNA στο μείγμα της αντίδρασης. Στη συνέχεια ακολουθεί ένας θερμικός κύκλος που περιλαμβάνει τρία στάδια: αποδιάταξη (denaturation), πρόσδεση εκκινητών (annealing) και επιμήκυνση (extension) (Bartlett et al., 2003). Αυτή η διαδικασία επαναλαμβάνεται πολλές φορές, επιτρέποντας την εκθετική ενίσχυση του αρχικού DNA. Οι συνθήκες θερμοκυκλοποίησης περιλάμβαναν ένα αρχικό βήμα αποδιάταξης στους 94°C για 6 λεπτά, ακολουθούμενο από 30 κύκλους που περιλάμβαναν αποδιάταξη στους 94°C για 30 δευτερόλεπτα, υβριδοποίηση στους 55°C για 30 δευτερόλεπτα και πολυμερισμό στους 72°C για 30 δευτερόλεπτα. Ο κύκλος ολοκληρώθηκε με τελική επέκταση στους 72°C για 6 λεπτά και διατήρηση στους 4°C. Το προϊόν της PCR είχε μήκος 354bp.

3.4 Πολυμορφισμός μήκους περιοριστικών θραυσμάτων (Restriction Fragment Length Polymorphism, RFLP)

Για τη παθολόγο παραλλαγή p.A30G (c.88C>G) στο γονίδιο *SNCA*, πραγματοποιήσαμε έλεγχο μέσω Ανάλυσης Πολυμορφισμού Μήκους Περιοριστικών Θραυσμάτων (RFLP), χρησιμοποιώντας το ένζυμο περιορισμού BbvI (κωδ. R0173S) σύμφωνα με το πρωτόκολλο του κατασκευαστή (New England Biolabs, Beverly, MA, USA).

Η RFLP είναι μια μέθοδος που χρησιμοποιείται ευρέως για την ανάλυση DNA, η οποία καθιερώθηκε από τον Grodzicker και τους συνεργάτες του το 1974 (Grodzicker et al., 1974). Βασίζεται στη διάσπαση του γονιδιωματικού DNA σε θραύσματα διαφορετικού μεγέθους μέσω της χρήσης γνωστών ενζύμων περιορισμού (Di Felice et al., 2019). Αυτή η αναλυτική τεχνική αποτελεί ένα σημαντικό εργαλείο στη μοριακή βιολογία, επιτρέποντας την ανάλυση νουκλεοτίδιου αντικατάστασης βάσεων, εισαγωγών, διαγραφών, διπλασιασμών ή αναστροφών στο γονιδίωμα. Αυτές οι μεταβολές εντοπίζονται μέσω των διαφορετικών μοτίβων RFLP, τα οποία προκύπτουν από την αφαίρεση μιας θέσης περιορισμού ή τη δημιουργία μιας νέας (Yang et al., 2013).

Το ένζυμο BbvI διασπά το γονιδιωματικό DNA στις θέσεις GCAGC (8/12), αφήνοντας μια προεξοχή 4 βάσεων στο 5'. Κανονικά, το ένζυμο BbvI αναγνωρίζει και διασπά το προϊόν PCR σε 3 θέσεις περιορισμού, δημιουργώντας 4 περιοριστικά θραύσματα. Όταν υπάρχει η παθολόγος παραλλαγή p.A30G (c.88C>G), εξαλείφεται μία θέση περιορισμού και δημιουργούνται 3 περιοριστικά θραύσματα.

Πίνακας 3.2: Προϊόν πέψης περιορισμού άγριου τύπου και μετάλλαξης

Πριν την πέψη	Μετά την πέψη wt	Μετά την πέψη Mutated
354bp	152bp	199bp (58bp+141bp)
	141bp	152bp
	58bp	3bp
	3bp	

bp: base pair (ζεύγος βάσεων); wt: wild type (άγριος τύπος); mutated (μεταλλαγμένο)

3.5 Πέψη

Έπειτα ακολουθεί η πέψη με το περιοριστικό ένζυμο BbvI όπου χρησιμοποιήσαμε : 5μl προϊόν PCR, 1μl CutSmart Buffer, 0,7 μl BbvI και 3,3 μl dH₂O. Όσον αφορά το ρυθμιστικό παράγοντα rCutSmart, πρόκειται για ένα «έτοιμο προς χρήση» ρυθμιστικό διάλυμα που διευκολύνει τη δραστηριότητα πολλών περιοριστικών ενδονουκλεασών της New England Biolabs (NEB). Οι συνθήκες επώασης ήταν στους 37°C κατά τη διάρκεια της νύχτας και στη συνέχεια το ένζυμο απενεργοποιείται με θέρμανση στους 65°C για 20 λεπτά.

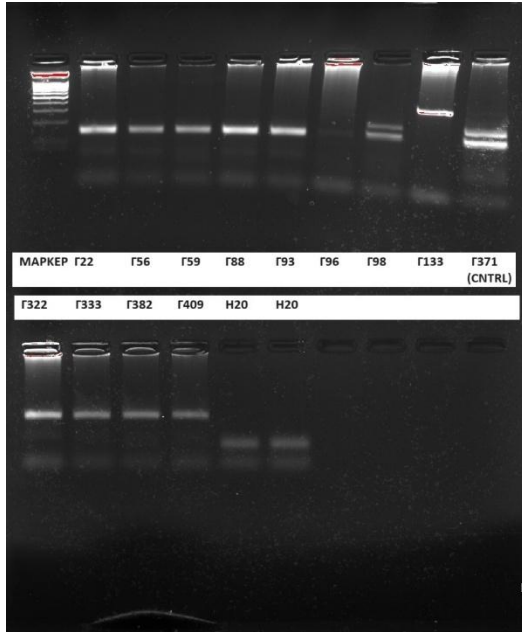
Τα προϊόντα περιορισμού αναλύθηκαν με ηλεκτροφόρηση σε πήκτωμα αγαρόζης 4% όπως περιγράφεται στην ενότητα «Ηλεκτροφόρηση σε πηκτή» παρακάτω.

3.6 Ηλεκτροφόρηση σε πήκτωμα αγαρόζης

Το επόμενο βήμα ήταν η ηλεκτροφόρηση σε πήκτωμα αγαρόζης 4%. Η ηλεκτροφόρηση με πήκτωμα αγαρόζης είναι μια βασική τεχνική για τον διαχωρισμό και την ανάλυση DNA και RNA με βάση το μέγεθός τους (Lodish et al., 2016). Η αγαρόζη, ένας πολυσακχαρίτης από φύκη, δημιουργεί ένα πορώδες δίκτυο στο οποίο τα μόρια μετακινούνται υπό την επίδραση ηλεκτρικού πεδίου (Lodish et al., 2016). Τα αρνητικά φορτισμένα νουκλεϊκά οξέα κινούνται προς την άνοδο, με τα μικρότερα θραύσματα να μετακινούνται γρηγορότερα από τα μεγαλύτερα (Lodish et al., 2016).

Τέλος, η ανάλυση των αποτελεσμάτων έγινε με χρώση βρωμιούχου αιθιδίου (Ethidium bromide, EtBr) και οπτικοποίηση σε σύστημα τεκμηρίωσης πηκτής (GelDoc-it, UVP) υπό υπεριώδες (Ultraviolet radiation, UV) φως.

Γ98: θετικό δείγμα; Γ371: θετικό control (έχει ανευρεθεί θετικό σε προηγούμενη μελέτη στο εργαστήριο);
Γ22, Γ56, Γ88, Γ93, Γ96, Γ322, Γ333, Γ382, Γ409: αρνητικά δείγματα; Γ133: Άκυρο δείγμα στην
ηλεκτροφόρηση - απαιτείται επανάληψη



Εικόνα 3.1: Ενδεικτική φωτογραφία με θετικά και αρνητικά δείγματα για την παθολόγο παραλλαγή p.A30G (c.88C>G)

4. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Συνολικά, από τους 327 ασθενείς που εξετάστηκαν, εντοπίστηκαν 6 φορείς της παθογόνου παραλλαγής p.A30G (c.88C>G) με νόσο Πάρκινσον (PD), ενώ κανένας από τους ασθενείς με πολλαπλή συστηματική ατροφία (MSA), άνοια με σωματίδια Lewy (DLB) και με διαταραχή συμπεριφοράς στον ύπνο REM (RBD) δεν βρέθηκε φορέας της παθογόνου παραλλαγής p.A30G (c.88C>G).

Πίνακας 3.3: Αποτελέσματα για την παθογόνο παραλλαγή p.A30G (c.88C>G).

	Συνολικός αριθμός	Θετικό οικογενειακό ιστορικό	Σποραδικά περιστατικά	Δίχως πληροφορία κληρονομικότητας
AP	327	55	201	71
Θετικοί p.A30G (c.88C>G) ασθενείς	6	4	2	
Φύλο (Α/Θ)	170/157	2/2	1/1	
Ποσοστό θετικών ασθενών (%)	1,8%	7,2%	0,9%	

AP: αριθμός; Α: άνδρες; Θ: γυναίκες

Στον Πίνακα 4. συνοψίζονται τα δημογραφικά και κλινικά ευρήματα των 6 ασθενών με τη παθογόνο παραλλαγή p.A30G (c.88C>G).

Τα γενεαλογικά δέντρα των οικογενειών με θετικό αποτέλεσμα για τη παθογόνο παραλλαγή p.A30G (c.88C>G) παρουσιάζονται στο Σχήμα 1. Τέσσερις από τους ασθενείς ήταν γυναίκες και δύο άνδρες.

Όλοι οι ασθενείς παρουσίασαν τυπικά παρκινσονικά συμπτώματα. Η πλειονότητα των ασθενών παρουσίασε τρόμο ηρεμίας και βραδυκινησία μαζί με ακαμψία (Πίνακας 3). Αξιοσημείωτο είναι πως η δυστονία συνυπήρχε με Παρκινσονισμό σε τρεις από τις περιπτώσεις (Οικ. 6-Π.2, Οικ. 1-Π.1, Οικ. 5-Π.1). Επιπλέον, όλοι οι ασθενείς είχαν καλή αρχική ανταπόκριση στη θεραπεία με λεβοντόπα, ωστόσο οι

περισσότεροι εμφάνισαν πρώιμες κινητικές επιπλοκές, και δύο από αυτούς (Οικ 6-Π.2, Οικ 1- Π.1) τελικά υποβλήθηκαν σε θεραπεία με αντλία Duodopa. Σημαντικά γνωστικά ελλείμματα και σοβαρή γνωστική έκπτωση παρατηρήθηκαν σε τρεις περιπτώσεις (Οικ. 3-Π.3, Οικ. 1-Π.1, Οικ. 2-Π.3). Η πλειοψηφία των ασθενών ανέφερε αυτόνομη δυσλειτουργία, ψυχιατρικά συμπτώματα, οσφρητικά ελλείμματα και διαταραχές ύπνου (RBD) και υπνηλία κατά τη διάρκεια της ημέρας. Παισιθήσεις αναφέρθηκαν από έναν ασθενή (Οικ. 2-Π.3).

Οι οικογένειες 2, 3 και 4 (Εικόνα 2) δεν ανέφεραν οικογενειακό ιστορικό σχετικό με τη νόσο του Πάρκινσον, ενώ η μητέρα της ασθενούς Οικ. 6-Π.2 βρέθηκε αρνητική για τη παθογόνο παραλλαγή p.A30G (c.88C>G), παρόλο που παρουσίασε φαινότυπο Πάρκινσον στα 70 της, ενώ ο πατέρας της δεν εκδήλωσε σημεία Παρκινσονισμού μέχρι το θάνατό του στην ηλικία των 80 ετών. Η περίπτωση Οικ. 1-Π.1 ήταν επίσης φορέας της παθογόνου παραλλαγής p.D409H στο γονίδιο *GBA*.

Τα κλινικά χαρακτηριστικά των 6 οικογενειών με την παθογόνο παραλλαγή p.A30G (c.88C>G) παρουσιάζονται παρακάτω.

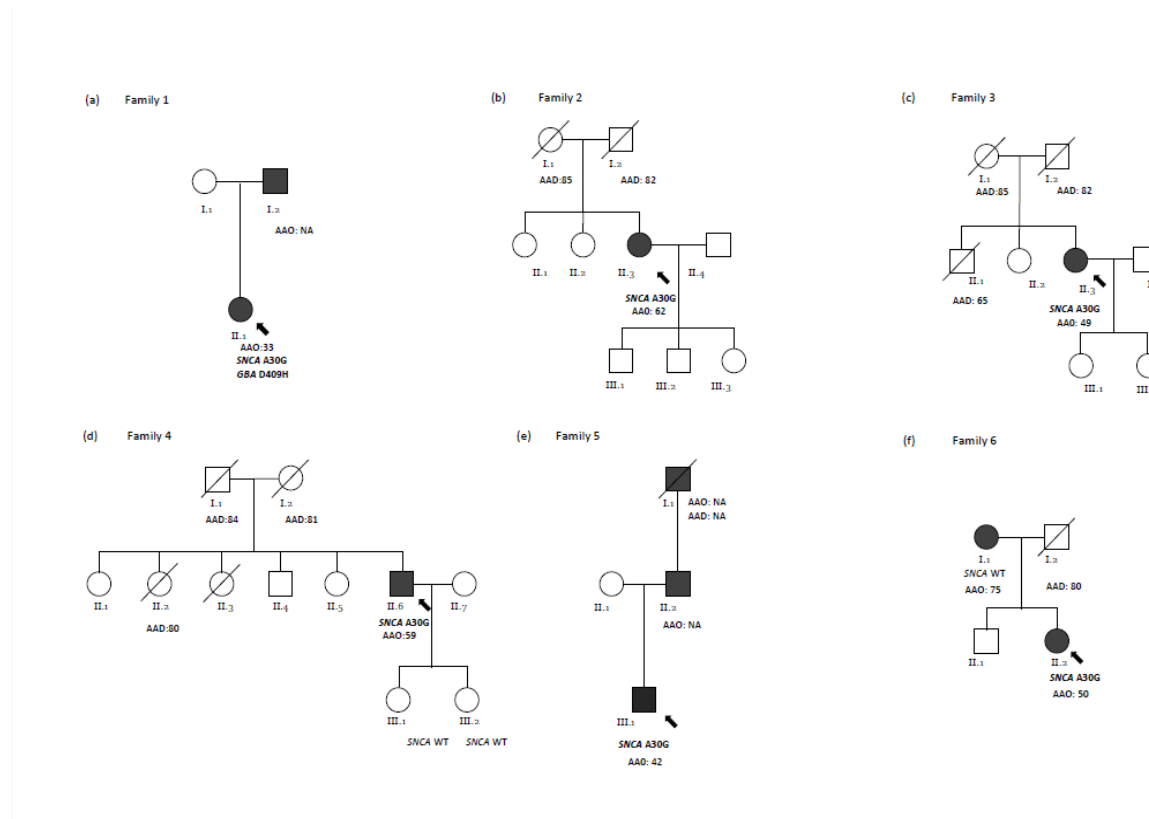
Πίνακας 3.4: Δημογραφικά και κλινικά χαρακτηριστικά των ασθενών με την παθογόνο παραλλαγή p.A30G (c.88C>G) από τις έξι ελληνικές οικογένειες.

Ασθενείς	Οικ. 1 (Π.1)	Οικ. 2 (Π.3)	Οικ. 3 (Π.3)	Οικ. 4 (Π.6)	Οικ. 5 (Π.1)	Οικ. 6 (Π.2)
Φύλο	Γυναίκα	Γυναίκα	Γυναίκα	Άνδρας	Άνδρας	Γυναίκα
Ηλικία έναρξης (έτη)	33	62	49	59	42	50
Ηλικία κατά την εξέταση (έτη)	46	67	62	65	43	56
Διάρκεια (έτη)	13	5	13	6	1	6
Αρχικό σύμπτωμα	NA	Τρόμος ηρεμίας	Τρόμος ηρεμίας	Τρόμος ηρεμίας	Ακαμψία, βραδυκίνησια	Ακαμψία, βραδυκίνησια
Ασυμμετρία αρχικού συμπτώματος	+	+	+	+	+	+
Βραδυκίνησια	+	+	+	+	+	+
Δυσκαμψία	+	+	+	+	+	+

Τρόμος	+	+	+	+	+	-
Αστάθεια στάσης	+	-	-	-	-	+
Ανταπόκριση στη λεβοντόπα	+	+	+	+	+	+
Επιπλοκές της θεραπείας	+	+	+	+	-	+
Αποτελέσματα UPDRS III	NA	32 (on)	24 (on)	16 (on)	NA	9 (on)
Αυτόνομη δυσλειτουργία	Δυσκοιλιότητα	Δυσκοιλιότητα	Δυσκοιλιότητα, ακράτεια ούρων	Δυσκοιλιότητα, δυσφαγία	Ήπια δυσκοιλιότητα	Ακράτεια ούρων, δυσκοιλιότητα
Οσφρητικές ελλείψεις	NA	+	+	+	+	+
Διαταραχές ύπνου	Διαταραχές ύπνου	RBD	Υπνηλία, συμπτώματα RBD	Πιθανό RBD	-	NA
Αντίληψη	Άνοια	MoCA: 14/30	MoCA: 10/30	MoCA: 23/30	MMSE: 30/30	MMSE: 30/30, MoCA: 29/30
Διαταραχές διάθεσης	Κατάθλιψη	Κατάθλιψη	Κατάθλιψη, άγχος, απάθεια	Άγχος	Άγχος	Κατάθλιψη, άγχος
Ψυχωτικά συμπτώματα	NA	Παραισθήσεις	-	-	-	-
Λοιπά χαρακτηριστικά	Δυστονία, σημηγατορροϊκή δερματίτιδα του τριχωτού της κεφαλής	-	Αίσθηση πόνου	-	Δυστονία	Δυστονία

UPDRS (Unified Parkinson's Disease Rating Scale) : Ενοποιημένη Κλίμακα Αξιολόγησης της Νόσου του Πάρκινσον, MMSE (Mini-Mental State Examination): Μίνι-Εξέταση, Νοητικής Κατάστασης, MoCA (Montreal Cognitive Assessment): Αξιολόγηση Νοητικών Λειτουργιών του Μόντρεαλ, NA (not available): δεν είναι διαθέσιμο, RBD (Rapid Eye Movement Sleep Behavior Disorder): Διαταραχή Συμπεριφοράς Ύπνου REM

(a) Γενεαλογικό δέντρο Οικογένειας 1, (b) Γενεαλογικό δέντρο Οικογένειας 2, (c) Γενεαλογικό δέντρο Οικογένειας 3, (d) Γενεαλογικό δέντρο Οικογένειας 4, (e) Γενεαλογικό δέντρο Οικογένειας 5, (f) Γενεαλογικό δέντρο Οικογένειας 6. Οι κύκλοι αναπαριστούν τις γυναίκες και τα τετράγωνα τους άνδρες. Τα γεμάτα μαύρα σύμβολα δείχνουν άτομα με νόσο του Πάρκινσον (PD), ενώ τα λευκά σύμβολα άτομα χωρίς τη νόσο. Οι κάθετες γραμμές μέσα στα σύμβολα αναπαριστούν ασυμπτωματικούς φορείς της παθογόνου παραλλαγής, οι οποίοι ενδέχεται αργότερα να παρουσιάσουν συμπτώματα. Τα βέλη δείχνουν την περίπτωση αναφοράς (index case) κάθε οικογένειας. Τα άτομα που έχουν διαγραφεί είναι αποβιώσαντες. WT: άγριος τύπος, AAO (Age at Onset): ηλικία εμφάνισης της νόσου, AAD (Age at Death): ηλικία θανάτου, NA (not available): δεν είναι διαθέσιμο.



Εικόνα 3.2 : Γενεαλογικά δέντρα των έξι οικογενειών με τη παθογόνο παραλλαγή p.A30G (c.88C>G).

Οικογένεια 1

Στην περίπτωση Οικ. 1 - Π.1 (Εικόνα 1a), πρόκειται για μια γυναίκα που είχε ήδη διαγνωσθεί θετική στη παθολόγο παραλλαγή p.D409H του γονιδίου GBA. Αρχικά παρουσίασε αριστερόπλευρα παρκινσονικά συμπτώματα στην ηλικία των 33 ετών. Η πρώτη κλινική εξέταση στο εξωτερικό ιατρείο, μετά από 11 χρόνια νόσου, έδειξε μέτρια δυσκαμψία και τρόμο στάσης στα αριστερά άκρα, με δυστονική θέση του αριστερού άνω άκρου. Υπέφερε από σοβαρή δυσκινησία, εναλλασσόμενη με περιόδους ακινησίας, πάγωμα του βαδίσματος και συχνές πτώσεις. Παρουσίαζε επίσης δυσκοιλιότητα, διαταραχή συμπεριφοράς στον ύπνο REM (RBD) και ήπια γνωστική έκπτωση με ελλείμματα στις εκτελεστικές λειτουργίες και την προσοχή. Παρά την τοποθέτηση αντλίας Duodopa, οι κινητικές της επιλοκές ήταν εξουθενωτικές. Στην ηλικία των 46 ετών (13 χρόνια νόσου), κατέστη κατάκοιτη, ανέπτυξε σοβαρή άνοια και απεβίωσε λίγο αργότερα. Ο πατέρας της (I.2) είχε διαγνωσθεί με νόσο Πάρκινσον, αλλά δεν υπήρχαν περαιτέρω πληροφορίες.

Οικογένεια 2

Στην περίπτωση Οικ. 2 - Π.3 (Εικόνα 2b), πρόκειται για μια γυναίκα 67 ετών με 5 χρόνια νόσου. Παρουσίασε τρόμο ηρεμίας και βραδυκινησία στο δεξιό κάτω άκρο. Ανέφερε σημάδια κατάθλιψης και διαταραχή συμπεριφοράς στον ύπνο REM (RBD), τα οποία προηγήθηκαν της έναρξης των κινητικών συμπτωμάτων κατά 2 χρόνια. Αρχικά, ανταποκρίθηκε καλά στη θεραπεία με λεβοντόπα, αλλά μετά από 2 χρόνια ανέφερε φθορά της θεραπείας και σταδιακά απαιτούνταν υψηλότερη δόση λεβοντόπα. Στην ηλικία των 67 ετών, υπέφερε από κινητική αναπηρία και ήπιες δυσκινησίες, με σημαντική γνωστική έκπτωση που αντιμετωπιζόταν με υψηλή δόση ριβαστιγμίνης. Σε αυτό το σημείο, η βαθμολογία MDS-UPDRS III (σε on κατάσταση) ήταν 34, ενώ στη MoCA είχε 14 βαθμούς. Παρουσίαζε επίσης οπτικές ψευδαισθήσεις και ορθοστατική υπόταση. Η οικογενειακή της καταγωγή ήταν από την Κεντρική Ελλάδα και την Ήπειρο, χωρίς αναφορές για οικογενειακό ιστορικό νόσου Πάρκινσον.

Οικογένεια 3

Στην περίπτωση Οικ. 3 - Π.3 (Εικόνα 2c) πρόκειται για μια γυναίκα 62 ετών, η οποία διαγνώστηκε με νόσο Πάρκινσον στην ηλικία των 49 ετών, όταν παρατήρησε τρόμο ηρεμίας στο δεξί της χέρι. Μετά από 13 χρόνια νόσου, παρουσίασε ήπια συμμετρική δυσκαμψία, βραδυκινησία και τρόμο, κυρίως στα άνω άκρα, μαζί με ήπια υπομιμία, υποφωνική ομιλία και απώλεια δεξιολογίας. Τα κινητικά της συμπτώματα

ανταποκρίθηκαν καλά σε χαμηλές δόσεις λεβοντόπα με ήπιες κινητικές επιπλοκές. Η βαθμολογία της στην κλίμακα MDS-UPDRS III (φάση on) ήταν 24. Ωστόσο, παρουσίασε σοβαρή γνωστική έκπτωση, ακόμα και με τη μέγιστη δόση ριβαστιγμίνης μέσω επιθέματος, με σκορ 10/30 στη MoCA, καθώς και κατάθλιψη, άγχος και απάθεια, καθιστώντας την ανίκανη να εκτελεί δουλειές στο σπίτι. Περαιτέρω εξέταση αποκάλυψε οσφρητικά ελλείμματα, υπνηλία κατά τη διάρκεια της ημέρας, επώδυνες αισθήσεις και δυσλειτουργία του αυτόνομου νευρικού συστήματος (δυσκοιλιότητα, ακράτεια ούρων). Η οικογένεια της είχε καταγωγή από την ελληνική κοινότητα της Κωνσταντινούπολης και από το νησί της Χίου. Δεν αναφέρθηκαν συγγενείς με ιστορικό σχετικό με νόσο Πάρκινσον. Και οι δύο γονείς της απεβίωσαν στην ηλικία των 80 ετών.

Οικογένεια 4

Στην περίπτωση Οικ. 4 - II.6 (Εικόνα 2d) πρόκειται για έναν άνδρα 65 ετών με καταγωγή από την Αττική, ο οποίος, στην ηλικία των 59 ετών, ανέπτυξε τρόμο ηρεμίας στο αριστερό άνω άκρο και βραδυκινησία στο αριστερό κάτω άκρο. Στα επόμενα χρόνια, ανέπτυξε τρόμο ηρεμίας και στα δύο άνω άκρα, με καλή ανταπόκριση στη λεβοντόπα. Η κλινική εξέταση αποκάλυψε δυσκαμψία, μειωμένη αιώρηση του αριστερού βραχίονα και υπομιμία. Ανέφερε επίσης μη κινητικά συμπτώματα, όπως δυσκοιλιότητα, ήπια δυσφαγία, διαταραχή συμπεριφοράς στον ύπνο REM (RBD) και άγχος. Μετά από 6 χρόνια νόσου, η βαθμολογία MDS-UPDRS III (σε on κατάσταση) ήταν 16, και βρισκόταν στο στάδιο 2 της κλίμακας Hoehn και Yahr (H&Y). Είχε σκορ 23 στη MoCA, παρουσιάζοντας ελλείμματα στην καθυστερημένη ανάκληση, την ευχέρεια λόγου και την προσοχή. Δεν αναφέρθηκε οικογενειακό ιστορικό σχετικό με τη νόσο Πάρκινσον. Μία αδερφή του (II.3) αναφέρθηκε ότι εμφάνισε τρόμο κεφαλής στην ηλικία των 75 ετών, αλλά δεν ανέπτυξε άλλα συμπτώματα έως το θάνατό της 5 χρόνια αργότερα.

Οικογένεια 5

Στην περίπτωση Οικ. 5 - III.1 (Εικόνα 2e), πρόκειται για έναν άνδρα 43 ετών με οικογενειακό ιστορικό νόσου Πάρκινσον. Αναφέρθηκε ότι ο πατέρας και ο παππούς του από την πατρική πλευρά έπασχαν από παρκινσονισμό. Η οικογένειά του κατάγεται από την νότια Πελοπόννησο. Τον τελευταίο χρόνο παραπονιόταν για δυσκολία στα δεξιά άκρα. Η κλινική εξέταση αποκάλυψε βραδυκινησία και δυσκαμψία στη δεξιά πλευρά του σώματός του και ήπιο αμφοτερόπλευρο τρόμο στα χέρια. Εκείνη την περίοδο η βαθμολογία του στην κλίμακα MMSE ήταν 30/30. Ανέφερε επίσης άγχος και ήπια κατάθλιψη, που ξεκίνησαν πριν από τέσσερα χρόνια. Ξεκίνησε θεραπεία με λεβοντόπα και είχε καλή ανταπόκριση.

Οικογένεια 6

Στην περίπτωση Οικ. 6 - II.2 (εικόνα 2f), πρόκειται για μια 56χρονη δασκάλα η οποία κατάγεται από τα χωριά της Πελοποννήσου και από τις δύο πλευρές της οικογένειας. Η αρχική εμφάνιση της νόσου στην ηλικία των 50 ετών περιλάμβανε βραδυκινησία και δυσκαμψία στο κάτω αριστερό άκρο, χωρίς τρόμο. Τα κινητικά συμπτώματα της ασθενούς ανταποκρίνονταν αρχικά στη λεβοντόπα. Σταδιακά, εμφανίστηκαν δυσκινήσιες, φαινόμενο εξασθένισης ("wearing-off"), πάγωμα κίνησης και δυστονία. Κατά την πρώτη της εξέταση, παρουσίασε επιπλέον βραδυκινησία και δυσκαμψία στα άνω άκρα, χωρίς τρόμο. Εκείνη τη στιγμή, είχε βαθμολογία 9 (on) στην κλίμακα MDS-UPDRS-III, 30/30 στο MMSE και 29/30 στο MoCA. Παρουσίαζε διάφορα μη-κινητικά συμπτώματα, όπως κατάθλιψη, άγχος, υποσμία, ακράτεια ούρων και δυσκοιλιότητα. Η κατάθλιψη και η υποσμία είχαν αναφερθεί περίπου 12 χρόνια πριν από την έναρξη της νόσου. Στα επόμενα 3 χρόνια, ανέπτυξε σοβαρές κινητικές επιπλοκές και τέθηκε σε αντλία Duodopa με μέτρια ανταπόκριση. Η μητέρα της (I.1) είχε επίσης διαγνωστεί με νόσο του Πάρκινσον στην ηλικία των 75 ετών, αλλά βρέθηκε αρνητική για την παθογόνο παραλλαγή p.A30G (c.88C>G). Κατά την εξέταση της ασθενούς, η μητέρα της ήταν 81 ετών, αλλά η σοβαρότητα της νόσου καθιστούσε αδύνατη την εξέτασή της στην κλινική. Ο πατέρας της (I.2) απεβίωσε σε ηλικία 80 ετών από άγνωστα αίτια, ενώ το οικογενειακό ιστορικό από την πατρική πλευρά ήταν ελεύθερο από νευρολογικά νοσήματα.

Ασυμπτωματικοί φορείς

Μέλη της οικογένειας 4 υποβλήθηκαν σε προ-συμπτωματικό γενετικό έλεγχο για την παθογόνο παραλλαγή p.A30G (c.88C>G). Τα δύο παιδιά της οικογένειας 4 (Οικ. 4-III.1, Οικ. 4-III.2) βρέθηκαν αρνητικά για τη συγκεκριμένη παθογόνο παραλλαγή. Πριν από την λήψη του δείγματος των συμμετεχόντων εν δυνάμει ασυμπτωματικών φορέων στην μελέτη, υπήρξε ενημέρωση από την ομάδα του Καθηγητή Κου Στεφανή σε σχέση με τα πιθανά οφέλη και κινδύνους που προκύπτουν από την γενετική αυτή ανάλυση. Ακολούθησε μετά την ανακοίνωση του αποτελέσματος στους ασυμπτωματικούς συμμετέχοντες μέλη οικογενειών με την παθογόνο παραλλαγή σχετική ενημέρωση.

5. ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Η παρούσα εργασία είχε ως στόχο να μελετήσει την παθολόγο παραλλαγή p.A30G (c.88C>G) του γονιδίου *SNCA*, όχι μόνο στη νόσο Πάρκινσον, αλλά και σε άλλες συναφείς νευροεκφυλιστικές ασθένειες, όπως η άνοια με σωματία Lewy, η Πολλαπλή Συστηματική Ατροφία, και η διαταραχή συμπεριφοράς στον ύπνο REM.

Η μελέτη βασίζεται σε προηγούμενη έρευνα του 2021 από τους Liu και συνεργάτες, που ανέδειξε τον πιθανό ρόλο αυτής της σπάνιας παθολόγου παραλλαγής στη νόσο Πάρκινσον, κυρίως σε περιπτώσεις με οικογενειακό ιστορικό και πρόωμη έναρξη, όπου η ετερόζυγη παθολόγος παραλλαγή p.A30G (c.88C>G) στο γονίδιο *SNCA* εντοπίστηκε σε πέντε ασθενείς από τρεις μη συγγενείς ελληνικές οικογένειες, προκαλώντας μια αυτοσωμική επικρατή μορφή της νόσου Πάρκινσον (PD) (Liu et al., 2021).

Επεκτείνοντας αυτά τα δεδομένα, η παρούσα εργασία εξετάζει έναν μεγαλύτερο αριθμό ασθενών στην Ελλάδα, περιλαμβάνοντας τόσο οικογενείς όσο και σποραδικές περιπτώσεις, με διαφορετικές ηλικίες έναρξης της νόσου. Επιπλέον, διερευνά αν η παθολόγος παραλλαγή συνδέεται με άλλες ασθένειες του ίδιου φάσματος, προκειμένου να κατανοηθεί καλύτερα η σημασία της τόσο στη νόσο Πάρκινσον όσο και σε άλλες συνουκλεινοπάθειες. Η προσέγγιση αυτή στοχεύει να συμβάλει στην κατανόηση της παθολόγου παραλλαγής p.A30G (c.88C>G), της συχνότητάς της στον ελληνικό πληθυσμό και του ρόλου της σε ευρύτερες νευροεκφυλιστικές διαταραχές.

Συγκεκριμένα, από τους 271 ασθενείς με νόσο Πάρκινσον (PD) που εξετάστηκαν όπου οι 54 είχαν θετικό οικογενειακό ιστορικό, οι 189 ήταν σποραδικές περιπτώσεις και οι 28 δίχως πληροφορία κληρονομικότητας με μέσο όρο ηλικίας 58 έτη (+/- 12), 6 άτομα (2.2%) βρέθηκαν να φέρουν την παθολόγο παραλλαγή p.A30G (c.88C>G). Στην άνοια με σωματία Lewy (DLB), μεταξύ των 13 ασθενών που εξετάστηκαν όπου 1 ασθενείς είχε θετικό οικογενειακό ιστορικό και 12 ασθενείς ήταν σποραδικές περιπτώσεις με μέσο όρο ηλικία 71 έτη (+/- 7), η παθολόγος παραλλαγή δεν ανιχνεύθηκε, γεγονός που υποδεικνύει ότι πιθανώς δεν συνδέεται με αυτόν τον φαινότυπο. Εξετάζοντας 36 ασθενείς με Πολλαπλή Συστηματική Ατροφία (MSA) στους οποίους δεν υπήρχε πληροφορία κληρονομικότητας με μέσο όρο ηλικίας 61 έτη (+/- 8), η παθολόγος παραλλαγή δεν εντοπίστηκε σε κανέναν, υποστηρίζοντας ότι η p.A30G (c.88C>G) δεν σχετίζεται με την MSA. Τέλος, σε 7 ασθενείς δίχως πληροφορία κληρονομικότητας με διαταραχή συμπεριφοράς στον ύπνο REM (RBD) με μέσο όρο ηλικίας 66 έτη (+/- 12), η παθολόγος παραλλαγή επίσης δεν ανιχνεύθηκε, ενισχύοντας την πιθανότητα ότι η p.A30G (c.88C>G) δεν επηρεάζει αυτόν τον φαινότυπο.

Ωστόσο, ο περιορισμένος αριθμός δειγμάτων στις κατηγορίες με MSA, DLB και RBD δεν επιτρέπει την εξαγωγή ασφαλών συμπερασμάτων, και απαιτείται η διεξαγωγή της μελέτης σε μεγαλύτερο πληθυσμό ασθενών για πιο αξιόπιστα αποτελέσματα.

Παρουσιάζουμε εδώ τα γενετικά και κλινικά χαρακτηριστικά 6 φορέων της νέας ετερόζυγης παθογόνου παραλλαγής p.A30G (c.88C>G) στο γονίδιο *SNCA* σε 6 μη συγγενικές ελληνικές οικογένειες, τα οποία είναι σε συμφωνία με την αρχική μελέτη που αναφέρθηκε πιο πάνω.

Οι 6 νέοι ασθενείς με νόσο Πάρκινσον (PD) που φέρουν τη παθογόνο παραλλαγή p.A30G (c.88C>G) παρουσίασαν έναν τυπικό φαινότυπο της νόσου, περιλαμβάνοντας κινητικά και μη κινητικά συμπτώματα. Η μέση ηλικία έναρξης ήταν $51,7 \pm 9,2$ (μέση τιμή \pm τυπική απόκλιση) έτη, με εύρος από 33 έως 62 έτη. Η προέλευση των εννέα επηρεαζόμενων οικογενειών ήταν από γεωγραφικά απομακρυσμένες μεταξύ τους περιοχές της Ελλάδας, χωρίς να υπάρχει ένδειξη κοινής περιφερειακής καταγωγής. Αυτό έρχεται σε αντίθεση με τη παθογόνο παραλλαγή p.A53T, η οποία εμφανίζεται σχεδόν αποκλειστικά σε άτομα πελοποννησιακής καταγωγής. Σε επιπλέον μελέτη που έγινε με το παρόν γενετικό υλικό, φάνηκε ότι οι φορείς της παθογόνου παραλλαγής p.A30G (c.88C>G) μοιράζονταν το ίδιο απλότυπο που είχε εντοπιστεί στην αρχική μελέτη, υποδεικνύοντας ότι η παθογόνος παραλλαγή προέρχεται από έναν κοινό πρόγονο στον ελληνικό πληθυσμό. Αδημοσίευτα ευρήματα από ερώτημα σε δίκτυο επιστημόνων που ασχολούνται με την γενετική βάση της ΝΠ στην Ιταλία, υποδεικνύουν ότι στην γειτονική αυτή χώρα δεν υπάρχουν ασθενείς φορείς της παθογόνου παραλλαγής αυτής, που φαίνεται να είναι πολύ εντοπισμένη σε συγκεκριμένο Ελληνικό πληθυσμό. Τα κινητικά συμπτώματα είναι παρόμοια με αυτά της ιδιοπαθούς νόσου Πάρκινσον, με τον τρόπο ηρεμίας να είναι συχνός. Όλοι οι ασθενείς παρουσίασαν ποικιλία μη κινητικών εκδηλώσεων, όπως δυσλειτουργία του αυτόνομου νευρικού συστήματος, ελλείμματα όσφρησης, διαταραχές ύπνου (RBD και υπνηλία κατά τη διάρκεια της ημέρας), καθώς και διαταραχές διάθεσης (κατάθλιψη, άγχος).

Προβλήματα γνωστικής λειτουργίας παρατηρήθηκαν στους μισούς από τους ασθενείς. Σημαντικό, στην περίπτωση Οικ 4-Π.1, ο οποίος φέρει τόσο μεταλλάξεις στο GBA όσο και στο *SNCA*, παρουσίασε πρώιμη ηλικία έναρξης και εξαιρετικά σοβαρή πορεία της νόσου σε σύγκριση με τις υπόλοιπες περιπτώσεις. Προηγούμενη έρευνα έχει δείξει ότι οι μεταλλάξεις στο GBA προδιαθέτουν σε πρώιμη έναρξη της νόσου και σοβαρότερη πορεία (Nichols et al., 2009; Ren et al., 2023). Ωστόσο, οι ακριβείς επιπτώσεις των μεταλλάξεων στο GBA όταν συνυπάρχουν με μεταλλάξεις στα *SNCA* ή *LRRK2* χρήζουν περαιτέρω διερεύνησης (Tayebi et al., 2017; Yahalom et al., 2019; Ortega et al., 2021).

Είναι σημαντικό να σημειωθεί ότι στην παρούσα μελέτη 3 από τις περιπτώσεις δεν ανέφεραν οικογενειακό ιστορικό σχετικό με τη νόσο Πάρκινσον (PD), ενώ σε μια επιπλέον περίπτωση η πάσχουσα με ΝΠ μητέρα ασθενούς με την παθογόνο παραλλαγή ήταν αρνητική στον έλεγχο για την παθογόνο παραλλαγή p.A30G (c.88C>G), υποδηλώνοντας ότι η παθογόνος παραλλαγή πρέπει κατά πάσα πιθανότητα να έχει προέλθει από τον ασυμπτωματικό πατέρα (Οικογένεια 6). Αυτή η περίπτωση λοιπόν αντιπροσωπεύει ένα

παράδειγμα rhenocopy (φαινοτυπικού αντιγράφου), όπου ένα άτομο σε μία οικογένεια που έχει μια Μενδελιανή γενετική μορφή κάποιας νόσου πάσχει από την νόσο, αλλά δεν έχει την γενετική μορφή. Αυτό μπορεί να συμβεί σε περιπτώσεις νόσων που είναι σχετικά συχνές στον γενικό πληθυσμό, όπως συμβαίνει στην περίπτωση της ΝΠ. Επιπλέον, αναφέρεται ότι οι γονείς ορισμένων εκ των εξεταζόμενων ατόμων εκδήλωσαν τη νόσο σε προχωρημένες ηλικίες, άνω των 70 ετών, γεγονός που υποδηλώνει ότι αυτή η γενετική νόσος μπορεί να εκδηλωθεί με σημαντική καθυστέρηση σε ορισμένες περιπτώσεις. Ωστόσο, πρέπει κανείς να είναι προσεκτικός για την περίπτωση φαινοτυπικού αντιγράφου, όπως αναφέρεται παραπάνω, και πρέπει να τονιστεί ότι αυτές οι περιπτώσεις στις άλλες οικογένειες με όψιμη έναρξη της νόσου στους γονείς δεν έχουν επιβεβαιωθεί γενετικά.

Ορισμένα στοιχεία που υποδηλώνουν μειωμένη διεισδυτικότητα της παθολόγου παραλλαγή p.A30G (c.88C>G) του γονιδίου *SNCA* είχαν ήδη αναδειχθεί στην αρχική μελέτη των Liu et al., 2021. Δεδομένου του ότι η πλειονότητα των περιπτώσεων που παρουσιάζονται εδώ δεν εμφανίζουν σαφές αυτοσωμικό επικρατές πρότυπο κληρονομικότητας, φαίνεται πως η παθολόγος παραλλαγή p.A30G (c.88C>G) του *SNCA* εμφανίζει μέτρια διεισδυτικότητα. Τόσο οι παραλλαγές κατά αλλαγή του αμινοξέος όσο και οι παραλλαγές αριθμού αντιγράφων του *SNCA* έχουν περιγραφεί στο παρελθόν ότι παρουσιάζουν ατελή διεισδυτικότητα (Trinh., et al 2014; Papadimitriou et al., 1999; Papadimitriou et al., 2016). Λαμβάνοντας υπόψη τη μειωμένη διεισδυτικότητα της παθολόγου παραλλαγή p.A30G (c.88C>G), είναι πιθανό να ανιχνευτεί ακόμη και σε υγιή άτομα, σε προχωρημένες ηλικίες, όπως στους φαινομενικά υποχρεωτικούς φορείς, δηλαδή τους ασυμπτωματικούς γονείς των προσβεβλημένων φορέων στην παρούσα μελέτη.

Στην περίπτωση της παθολόγου παραλλαγή p.A30G (c.88C>G), τα διαθέσιμα δεδομένα δείχνουν ότι όλα τα περιστατικά νόσου Πάρκινσον (PD) ελληνικής καταγωγής θα πρέπει να ελέγχονται για την παρουσία αυτής της παθολόγου παραλλαγή. Αυτό οφείλεται στο γεγονός ότι η ηλικία εμφάνισης της νόσου δεν είναι ιδιαίτερα χαμηλή και ότι υπάρχουν σαφείς περιπτώσεις σποραδικής εμφάνισης στον πληθυσμό, χωρίς να εντοπίζεται συγκεκριμένη γεωγραφική κατανομή. Τα ευρήματα αυτά είναι ιδιαίτερα σημαντικά, καθώς για πρώτη φορά μια γενετική συνουκλεινοπάθεια που σχετίζεται με τη παθολόγο παραλλαγή στο γονίδιο *SNCA* συνδέεται άμεσα με σποραδικά περιστατικά της νόσου Πάρκινσον.

Ο εντοπισμός περισσότερων ατόμων που φέρουν τη παθολόγο παραλλαγή p.A30G (c.88C>G) του γονιδίου *SNCA* μέσω ευρύτερου ελέγχου είναι πολύ σημαντικός, διότι θα βοηθήσει να κατανοήσουμε καλύτερα τα χαρακτηριστικά τόσο των ατόμων που εμφανίζουν συμπτώματα όσο και εκείνων που παραμένουν ασυμπτωματικοί, καθώς και να μελετήσουμε την πορεία της νευροεκφύλισης που σχετίζεται με το *SNCA* στα πρώιμα και τα προχωρημένα στάδια της νόσου Πάρκινσον (PD). Επιπλέον, με την ανάπτυξη νέων θεραπειών που στοχεύουν την α -συνουκλεΐνη, η αναγνώριση αυτών των γενετικών ομάδων θα μπορούσε να αξιοποιηθεί για μικρές κλινικές δοκιμές. Το πλεονέκτημα είναι ότι στους φορείς αυτούς η παθολόγος α -

συνουκλεΐνη συνδέεται άμεσα με την εμφάνιση της νόσου, παρέχοντας έτσι μια ξεκάθαρη βάση για την αξιολόγηση νέων θεραπειών.

Τέλος, όσον αφορά τον έλεγχο των ασυμπτωματικών φορέων, η Ευρωπαϊκή Εταιρεία Ανθρώπινης Γενετικής (European Society of Human Genetics - ESHG) έχει εκδώσει κατευθυντήριες οδηγίες σχετικά με τον γενετικό έλεγχο ασυμπτωματικών φορέων, δίνοντας ιδιαίτερη έμφαση στον έλεγχο ανηλίκων. Σύμφωνα με τις συστάσεις της, η γενετική διερεύνηση σε ανηλίκους για νοσήματα όψιμης έναρξης (δηλαδή νοσήματα που εκδηλώνονται στην ενήλικη ζωή) δεν ενδείκνυται, εκτός εάν υπάρχουν διαθέσιμες προληπτικές ή θεραπευτικές παρεμβάσεις που μπορούν να εφαρμοστούν κατά την παιδική ηλικία.

Ο κύριος λόγος για αυτήν την προσέγγιση είναι η προστασία της αυτονομίας του παιδιού. Αν πραγματοποιηθεί γενετικός έλεγχος κατά την ανήλικη ζωή, ενδέχεται να στερήσει από το ίδιο το άτομο τη δυνατότητα να αποφασίσει ελεύθερα αν επιθυμεί να γνωρίζει τις γενετικές του πληροφορίες όταν ενηλικιωθεί. Επιπλέον, η γνώση ενός θετικού αποτελέσματος μπορεί να προκαλέσει σημαντικό ψυχολογικό βάρος τόσο στο παιδί όσο και στην οικογένειά του, ειδικά σε περιπτώσεις όπου δεν υπάρχει διαθέσιμη θεραπεία.

Στη βιβλιογραφία, αρκετές μελέτες υποστηρίζουν αυτήν τη θέση, αναφέροντας ηθικά, ψυχολογικά και κοινωνικά ζητήματα που μπορεί να προκύψουν από την πρόωρη γενετική διάγνωση.

Η γενετική συμβουλευτική για ασυμπτωματικούς φορείς, και ειδικά για ανηλίκους, θα πρέπει να γίνεται με προσοχή, ακολουθώντας διεθνείς κατευθυντήριες γραμμές. Ο γενετικός έλεγχος σε ανηλίκους συνιστάται μόνο όταν υπάρχει δυνατότητα έγκαιρης ιατρικής παρέμβασης που μπορεί να βελτιώσει την υγεία και την ποιότητα ζωής του παιδιού (Borry et al., 2009).

Στην περίπτωση του γενετικού ελέγχου στην δική μας μελέτη, διενεργήθηκε γενετική συμβουλευτική στα 2 ενήλικα ασυμπτωματικά άτομα, συγγενείς πρώτου βαθμού πάσχοντα με την p.A30G (c.88C>G) παθολόγο παραλλαγή, και πριν και μετά την ανακοίνωση του αποτελέσματος του γενετικού ελέγχου και ελήφθη η σχετική συγκατάθεση. Η γενετική αυτή συμβουλευτική βασίστηκε στις μέχρι τώρα γνώσεις που αφορούν την φύση και τις επιπτώσεις της συγκεκριμένης παραλλαγής, που συνεχώς εμπλουτίζεται με νέα δεδομένα. Παραδείγματος χάριν, είναι εμφανές ότι η διεισδυτικότητα της παθολόγου παραλλαγής δεν είναι πλήρης και ότι φορείς έχουν σημαντική πιθανότητα να μην νοσήσουν. Από την άλλη πλευρά, εάν νοσήσουν, φαίνεται από τα μέχρι τώρα δεδομένα, ότι η νόσος εμφανίζεται σε σχετικά πρόωμη ηλικία, στα 55 περίπου έτη, και ότι είναι γενικά σχετικά πιο βαρεία από την ιδιοπαθή νόσο.

6. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Συμπερασματικά, τα αποτελέσματά μας επιβεβαιώνουν την σημασία της παθολόγου παραλλαγής p.A30G (c.88C>G) στο *SNCA* γονίδιο σε ασθενείς με ΝΠ στον Ελληνικό χώρο. Είναι πολύ σημαντικό ότι η παθολόγος παραλλαγή αυτή μπορεί να ανευρεθεί ακόμη και σε σποραδικά περιστατικά, και ακόμη και σε περιστατικά με ηλικία έναρξης άνω των 60 ετών, ενώ εμφανίζεται σε άτομα Ελληνικής καταγωγής, χωρίς όμως συγκεκριμένο γεωγραφικό προσδιορισμό. Επομένως η παθολόγος παραλλαγή αυτή πρέπει να αναζητάται πρακτικά σε όλους τους ασθενείς με Νόσο Πάρκινσον στην Ελλάδα, αν και προφανώς είναι πιο συχνή σε εκείνους με πρόωμη ηλικία έναρξης και θετικό οικογενειακό ιστορικό. Σε ένα μικρό δείγμα ασθενών με άλλες συνουκλεινοπάθειες δεν ανευρέθη η παθολόγος παραλλαγή. Προφανώς πρέπει να γίνουν και άλλες μελέτες σε μεγαλύτερους αριθμούς ασθενών για να καταλήξει κανείς σε κάποιο συμπέρασμα σχετικά με την συχνότητα αυτής της παθολόγου παραλλαγής σε ασθενείς με MSA ή DLB ή iRBD στον Ελληνικό πληθυσμό. Τέτοιες μελέτες συμβάλλουν στην καλύτερη κατανόηση της παθογένειας της ιδιοπαθούς PD και των συνουκλεινοπαθειών γενικότερα. Η ανάδειξη του ρόλου συγκεκριμένων μεταλλάξεων, όπως η p.A30G (c.88C>G) του *SNCA*, δεν περιορίζεται μόνο στην ταυτοποίηση του γενετικού υποβάθρου της νόσου, αλλά δημιουργεί τη βάση για την ανάπτυξη στοχευμένων θεραπειών και εξατομικευμένων προσεγγίσεων στην πρόληψη και αντιμετώπιση της νόσου.

7. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Alessi DR, Sammler E. (2018). LRRK2 kinase in Parkinson's disease. *Science.*;360(6384):36–37.
2. Appel-Cresswell S, Vilarino-Guell C, Encarnacion M, et al. (2013). Alphasynuclein p.H50Q, a novel pathogenic mutation for Parkinson's disease. *Mov Disord.*;28:811–813.
3. Barca E, Kleiner G, Tang G, Ziosi M, Tadesse S, Masliah E, Louis ED, Faust P, Kang UJ, Torres J, et al. (2016). Decreased coenzyme Q10 levels in multiple system atrophy cerebellum. *J Neuropathol Exp Neurol.* 75:663–672.
4. Bartlett, J. M. S., & Stirling, D. (2003). A short history of the polymerase chain reaction. *Methods in Molecular Biology*, 226, 3-6.
5. Ben-Shlomo Y, Wenning GK, Tison F, Quinn NP (1997). Survival of patients with pathologically proven multiple system atrophy: a meta-analysis. *Neurology*;48(2):384–393.
6. Blauwendraat C, Kia DA, Pihlstrom L, et al. (2018). Insufficient evidence for pathogenicity of SNCA His50Gln (H50Q) in Parkinson's disease. *Neurobiol Aging*; 64:159. e5–159.e8.
7. Blauwendraat C, Nalls MA, Singleton AB (2020). The genetic architecture of Parkinson's disease. *Lancet Neurol.*;19(2):170–178.
8. Boeve B, Silber M, Saper C, Ferman T, Dickson D, Parisi J, et al. (2007). Pathophysiology of REM sleep behaviour disorder and relevance to neurodegenerative disease. *Brain.* 130:2770–88.
9. Boeve B. (2010). REM sleep behavior disorder: Updated review of the core features, the REM sleep behavior disorder-neurodegenerative disease association, evolving concepts, controversies, and future directions. *Ann NY Acad Sci.* 1184:17–56.
10. Boissard R, Gervasoni D, Schmidt M, Barbagli B, Fort P, Luppi P. (2002). The rat ponto-medullary network responsible for paradoxical sleep onset and maintenance: a combined microinjection and functional neuroanatomical study. *Eur J Neurosci.* 16:1959–73.
11. Boissard E, Fort P, Gervasoni D, Barbagli B, Luppi P. (2003). Localization of the GABAergic and non-GABAergic neurons projecting to the sublaterodorsal nucleus and potentially gating paradoxical sleep onset. *Eur J Neurosci.* 18:1627–39.
12. Bonifati V, Rizzu P, van Baren MJ, et al. (2003). Mutations in the DJ-1 gene associated with autosomal recessive early-onset parkinsonism. *Science.*;299(5604):256–259.
13. Borry P, Evers-Kiebooms G, Cornel MC, Clarke A, Dierickx K; Public and Professional Policy Committee (PPPC) of the European Society of Human Genetics (ESHG). (2009). Genetic testing in asymptomatic minors: background considerations towards ESHG Recommendations. *Eur J Hum Genet.*;17(6):711–719.

14. Bougea A, Koros C, Stamelou M, Simitsi A, Papagiannakis N, Antonelou R, et al. Frontotemporal dementia as the presenting phenotype of p.A53T mutation carriers in the alpha-synuclein gene. *Parkinsonism Relat Disord.* 2017 Feb; 35:82–87.
15. Bower JH, Maraganore DM, McDonnell SK, Rocca WA (1997). Incidence of progressive supranuclear palsy and multiple system atrophy in Olmsted County, Minnesota, 1976 to 1990. *Neurology*;49(5):1284–1288.
16. Cairns NJ, Atkinson PF, Hanger DP, Anderton BH, Daniel SE, Lantos PL. (1997). Tau protein in the glial cytoplasmic inclusions of multiple system atrophy can be distinguished from abnormal tau in Alzheimer's disease. *Neurosci Lett.* 230:49–52.
17. Campbell BC, McLean CA, Culvenor JG, et al. (2001). The solubility of alpha-synuclein in multiple system atrophy differs from that of dementia with Lewy bodies and Parkinson's disease. *J Neurochem*;76(1):87–96.
18. Cersosimo MG, Benarroch EE (2013). Central control of autonomic function and involvement in neurodegenerative disorders. *Handb Clin Neurol*; 117:45–57.
19. Chartier-Harlin MC, Kachergus J, Roumier C, Mouroux V, Douay X, Lincoln S, et al. (2004). Alpha-synuclein locus duplication as a cause of familial Parkinson's disease. *Lancet*, 364(9440):1167–1169.
20. Chen Y, Gu X, Ou R, et al. (2020). Evaluating the role of SNCA, LRRK2, and GBA in Chinese patients with early-onset Parkinson's disease. *Mov Disord.*;35:2046–2055.28191
21. Clark LN, Nicolai A, Afridi S, et al. (2005). Pilot association study of the beta-glucocerebrosidase N370S allele and Parkinson's disease in subjects of Jewish ethnicity. *Mov Disord.*;20(1):100–103.
22. Clayton DF, George JM (1999). Synucleins in synaptic plasticity and neurodegenerative disorders. *J Neurosci Res.*; 58:120-129.
23. Cook, D.A.; Kannarkat, G.T.; Cintron, A.F.; Butkovich, L.M.; Fraser, K.B.; Chang, J.; Grigoryan, N.; Factor, S.A.; West, A.B.; Boss, J.M., et al. (2017). LRRK 2 levels in immune cells are increased in Parkinson's disease. *NPJ Parkinsons Dis.*, 3:1.
24. Coon EA, Sletten DM, Suarez MD, et al. (2015). Clinical features and autonomic testing predict survival in multiple system atrophy. *Brain*;138(pt 12):3623–3631.
25. Daida K, Shimonaka S, Shiba-Fukushima K, Ogata J, Yoshin H, Okuzumi A, Hatano T, Motoi Y, Hirunagi T, Katsuno M, et al. 2022. α -Synuclein V15A variant in familial Parkinson's disease exhibits a weaker lipid-binding property. *Mov Disord* 37: 2075–2085.
26. Di Felice, F., Micheli, G., & Camilloni, G. (2019). Restriction enzymes and their use in molecular biology: an overview. *Journal of Biosciences*, 44, 38.

27. Diaw SH, Borsche M, Streubel-Gallasch L, Dulovic-Mahlow M, Hermes J, Lenz I, Seibler P, Klein C, Brüggemann N, Vos M, et al. 2023. Characterization of the pathogenic α -synuclein variant V15A in Parkinson's disease. *NPJ Parkinsons Dis* 9: 148.
28. Fanciulli A, Wenning GK (2015). Multiple-system atrophy. *N Engl J Med*;372(3):1375–1376.
29. Frauscher B, Iranzo A, Högl B, Casanova-Molla J, Salamero M, Gschliesser V, et al. (2008). Quantification of electromyographic activity during REM sleep in multiple muscles in REM sleep behavior disorder. *Sleep*. 31:724–31.
30. Galvin JE, Lee VM-Y, Trojanowski JQ. (2001). Synucleinopathies: Clinical and pathological implications. *Arch Neurol*.;58(2):186-190.
31. Giasson BI, Lee VM-Y, Trojanowski JQ (2000). The cellular and molecular pathology of Parkinson's disease. In: Clark CM, Trojanowski JQ, eds. *Neurodegenerative Dementias: Clinical Features and Pathological Mechanisms*. New York, NY: McGraw-Hill Co; 219-228.
32. Gilman S, Wenning GK, Low PA, et al. (2008). Second consensus statement on the diagnosis of multiple system atrophy. *Neurology*;71(9):670–676.
33. Goldstein DS (2006). Orthostatic hypotension as an early finding in Parkinson's disease. *Clin Auton Res*;16(1):46–54.
34. Graham JG, Oppenheimer DR (1969). Orthostatic hypotension and nicotine sensitivity in a case of multiple system atrophy. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*;32(5):28–34.
35. Grodzicker T, Anderson C, Sharp PA, Sambrook J (1974). Conditional lethal mutants of adenovirus 2-simian virus 40 hybrids I. Host range mutants of Ad2+ND1. *J Virol* ;13:1237–1244
36. Guella I, Evans DM, Szu-Tu C, Nosova E, Bortnick SF, Group SCS, et al. (2016). α -synuclein genetic variability: A biomarker for dementia in Parkinson disease. *Ann Neurol*. 79:991–999.
37. Hamza TH, Zabetian CP, Tenesa A, et al. (2010). Common genetic variation in the HLA region is associated with late-onset sporadic Parkinson's disease. *Nat Genet*. 9;42(9):781–5.
38. Hardy J, Crook R, Prihar G, Roberts G, Raghavan R, Perry R. (1994). Senile dementia of the Lewy body type has an apolipoprotein E epsilon 4 allele frequency intermediate between controls and Alzheimer's disease. *Neurosci Lett*. 182:1–2.
39. Ibáñez P, Bonnet A-M, Débarges B, Lohmann E, Tison F, Pollak P, et al. (2004). Causal relation between alpha-synuclein gene duplication and familial Parkinson's disease. *Lancet*. 364:1169–1171.
40. Ikeuchi T, Kakita A, Shiga A, Kasuga K, Kaneko H, Tan C-F, et al. (2008). Patients homozygous and heterozygous for *SNCA* duplication in a family with parkinsonism and dementia. *Arch Neurol*. 65:514–519.

41. International Classification of Sleep Disorders: Diagnostic and Coding Manual. 2nd. Westchester, IL: American Academy of Sleep Medicine; 2005.
42. Kapasi A, Brosch JR, Nudelman KN, et al. (2020). A novel SNCA E83Q mutation in a case of dementia with Lewy bodies and atypical frontotemporal lobar degeneration. *Neuropathology*;40(6):566–574.
43. Kiely AP, Asi YT, Kara E, Limousin P, Ling H, Lewis P, Proukakis C, Quinn N, Lees AJ, Hardy J, et al. (2013). Alpha-Synucleinopathy associated with G51D SNCA mutation: A link between Parkinson's disease and multiple system atrophy? *Acta Neuropathol.* 125:753–769.
44. Kiely AP, Ling H, Asi YT, et al. (2015). Distinct clinical and neuropathological features of G51D SNCA mutation cases compared with SNCA duplication and H50Q mutation. *Mol Neurodegener.*;10:41.
45. Kitada T, Asakawa S, Hattori N, et al. (1998). Mutations in the parkin gene cause autosomal recessive juvenile parkinsonism. *Nature.*;392(6676):605–8.
46. Klein C, Westenberger A. (2012). Genetics of Parkinson's disease. *Cold Spring Harb Perspect Med.*;2: a008888.
47. Krüger R, Kuhn W, Müller T, et al. (1998). Ala30Pro mutation in the gene encoding alpha-synuclein in Parkinson's disease. *Nat Genet.*; 18:106–108.
48. Kurlan (1998). Acute parkinsonism induced by the combination of a serotonin reuptake inhibitor and a neuroleptic in adults with Tourette's syndrome. *Mov Disord.*;13(1):178–179.
49. Köllensperger M, Geser F, Seppi K, et al. (2008). Red flags for multiple system atrophy. *Mov Disord*;23(8):1093–1099.
50. Lai Y, Siegel J. (1988) Medullary regions mediating atonia. *J Neurosci.*; 8:4790–6.
51. Lai Y, Siegel J. (1997). Brainstem-mediated locomotion and myoclonic jerks. II. Pharmacological effects. *Brain Res.* 745:265–70.
52. Lalich IJ, Ekbom DC, Starkman SJ, et al. (2014). Vocal fold motion impairment in multiple system atrophy. *Laryngoscope*;124(3):730–735.
53. Lesage S, Anheim M, Letournel F, et al. (2013). G51D α -synuclein mutation causes a novel Parkinsonian–pyramidal syndrome. *Ann Neurol.*; 73:459–471.
54. Lewy FH (1923). *Die Lehre vom Tonus und der Bewegung: Zugleich systematische Untersuchungen zur Klinik, Physiologie, Pathologie und Pathogenese der Paralysis agitans.* Berlin, Germany: Julius Springer.
55. Li, J.Q.; Tan, L.; Yu, J.T (2014). The role of the LRRK2 gene in Parkinsonism. *Mol. Neurodegener.*, 9:47.

56. Liu H, Koros C, Strohäker T, Schulte C, Bozi M, Varvaresos S, et al. (2021). A novel *SNCA* A30G mutation causes familial Parkinson's disease. *Mov Disord*.
57. Lodish, H., Berk, A., Kaiser, C. A., Krieger, M., Bretscher, A., Ploegh, H., & Matsudaira, P. (2016). *Molecular Cell Biology* (8th ed.). W. H. Freeman.
58. Lu J, Sherman D, Devor M, Saper C. (2006). A putative flip-flop switch for control of REM sleep. *Nature*. 441:589–94.
59. Markopoulou K, Dickson DW, McComb RD, Wszolek ZK, Katechlidou L, Avery L, et al. (2008). Clinical, neuropathological and genotypic variability in *SNCA* A53T familial Parkinson's disease. *Acta Neuropathol*. 116:25–35.
60. Maroteaux L, Campanelli JT, Scheller RH (1988). Synuclein: a neuron-specific protein localized to the nucleus and presynaptic nerve terminal. *J Neurosci*.;8:2804-2815.
61. Martikainen MH, Päivärinta M, Hietala M, Kaasinen V. (2015). Clinical and imaging findings in Parkinson disease associated with the A53E *SNCA* mutation. *Neurol Genet*.;1: e27.
62. Mathers SE, Kempster PA, Law PJ, et al. (1989). Anal sphincter dysfunction in Parkinson's disease. *Arch Neurol*;46(10):1061–1064.
63. McDonald C, Winge K, Burn DJ (2017). Lower urinary tract symptoms in Parkinson's disease: prevalence, aetiology and management. *Parkinsonism Relat Disord*; 35:8–16.
64. McKeith IG, Boeve BF, Dickson DW, et al. (2017). Diagnosis and management of dementia with Lewy bodies: fourth consensus report of the DLB Consortium. *Neurology*;89(1):88–100.
65. Mitsui J, Matsukawa T, Ishiura H, Y F, Ichikawa Y, H D. (2013). Mutations in *COQ2* in familial and sporadic multiple-system atrophy. *N Engl J Med*. 369:233–244.
66. Mitsui J, Matsukawa T, Sasaki H, Yabe I, Matsushima M, Durr A, Brice A, Takashima H, Kikuchi A, Aoki M, et al. (2015). Variants associated with Gaucher disease in multiple system atrophy. *Ann Clin Transl Neurol*. 2:417–426.
67. Mitsui J, Matsukawa T, Yasuda T, Ishiura H, Tsuji S. (2016). Plasma coenzyme Q10 levels in patients with multiple system atrophy. *JAMA Neurol*. 73:977–980.
68. Morfis L, Cordato DJ. (2006). Dementia with Lewy bodies in an elderly Greek male due to α -synuclein gene mutation. *J Clin Neurosci*. 13:942–944.
69. Muñoz, E.; Oliva, R.; Obach, V.; Martí, M.J.; Pastor, P.; Ballesta, F.; Tolosa, E (1997). Identification of Spanish familial Parkinson's disease and screening for the Ala53Thr mutation of the alpha-synuclein gene in early-onset patients. *Neurosci Lett*.;235:57–60.
70. Nichols WC, Pankratz N, Marek DK, Pauciulo MW, Elsaesser VE, Halter CA, et al. (2009). Mutations in *GBA* are associated with familial Parkinson disease susceptibility and age at onset. *Neurology*.;72(4):310.

71. Nielsen AS, Ravid R, Kamphorst W, Jørgensen OS. (2003). Apolipoprotein E epsilon 4 in an autopsy series of various dementing disorders. *J Alzheimers Dis.* 5:119–125.
72. Nishioka K, Hayashi S, Farrer MJ, Singleton AB, Yoshino H, Imai H, et al. (2006). Clinical heterogeneity of alpha-synuclein gene duplication in Parkinson's disease. *Ann Neurol.* 59:298–309.
73. Obi T, Nishioka K, Ross OA, Terada T, Yamazaki K, Sugiura A, et al. (2008). Clinicopathologic study of a *SNCA* gene duplication patient with Parkinson disease and dementia. *Neurology.* 70:238–241.
74. Ortega RA, Wang C, Raymond D, Bryant N, Scherzer CR, Thaler A, et al. Association of dual LRRK2 G2019S and GBA variations with Parkinson disease progression. *JAMA Netw Open.* 2021;4(4): e215845.
75. Ozelius LJ, Foroud T, May S, Senthil G, Sandroni P, Low PA, Reich S, Colcher A, Stern MB, Ondo WG, et al. (2007). G2019S mutation in the leucine-rich repeat kinase 2 gene is not associated with multiple system atrophy. *Mov Disord.* 22:546–549.
76. Olson E, Boeve B, Silber M. (2000). Rapid eye movement sleep behavior disorder: demographic, clinical, and laboratory findings in 93 cases. *Brain.* 123:331–9.
77. Papadimitriou A, Veletza V, Hadjigeorgiou GM, Patrikiou A, Hirano M, Anastasopoulos I. Mutated α -synuclein gene in two Greek kindreds with familial PD: Incomplete penetrance? *Neurology.* 1999 Feb 1;52(3):651.
78. Papadimitriou D, Antonelou R, Miligkos M, Maniati M, Papagiannakis N, Bostantjopoulou S, et al. Motor and Nonmotor Features of Carriers of the p.A53T Alpha-Synuclein Mutation: A Longitudinal Study. *Mov Disord.* 2016 Aug;31(8):1226–30.
79. Papp MI, Lantos PL (1994). The distribution of oligodendroglial inclusions in multiple system atrophy and its relevance to clinical symptomatology. *Brain;*117(pt 2):235–243.
80. Parkinson J. *An Essay on the Shaking Palsy.* London, United Kingdom: Sherwood, Neeley, and Jones; 1817.
81. Pasanen P, Myllykangas L, Siitonen M, et al. (2015). Novel α -synuclein mutation A53E associated with atypical multiple system atrophy and Parkinson's disease-type pathology. *Neurobiol Aging;*35: 2180.e1–2180.e5.
82. Perez RG, Waymire JC, Lin E, Liu JJ, Guo F, Zigmond MJ. (2002). A role for alpha-synuclein in the regulation of dopamine biosynthesis. *J Neurosci.* 22:3090–3099.
83. Pimentel MMG, Rodrigues FC, Leite MAA, et al. (2015). Parkinson disease: α -synuclein mutational screening and new clinical insight into the p.E46K mutation. *Parkinsonism Relat Disord.;*21:586–589.

84. Polymeropoulos MH, Lavedan C, Leroy E, Ide SE, Dehejia A, et al. (1997). Mutation in the α -synuclein gene identified in families with Parkinson's disease. *Science*;276(5321):2045–47.
85. Polymeropoulos, M.H.; Higgins, J.J.; Golbe, L.I.; Johnson, W.G.; Ide, S.E.; Di Iorio, G.; Sanges, G.; Stenroos, E.S.; Pho, L.T.; Schaffer, A.A.; et al. (1996). Mapping of a gene for Parkinson's disease to chromosome 4q21-q23. *Science*;274:1197–1199.
86. Postuma RB, Berg D, Stern M, Poewe W, Olanow CW, Oertel W, et al. (2015). MDS clinical diagnostic criteria for Parkinson's disease. *Mov Disord*;30(12):1591–601.
87. Proukakis C, Dudzik CG, Brier T, et al. (2013). A novel α -synuclein missense mutation in Parkinson disease. *Neurology*;80: 1062–1064.
88. Prusiner SB, Woerman AL, Mordes DA, et al. (2015). Evidence for α -synuclein prions causing multiple system atrophy in humans with parkinsonism. *Proc Natl Acad Sci U S A*;112(38):E5308–E5317.
89. Quinn N (1989). Disproportionate antecollis in multiple system atrophy. *Lancet*;1(8642):844.
90. Raninga PV, Di Trapani G, Tonissen KF (2017). The multifaceted roles of DJ-1 as an antioxidant. *Adv Exp Med Biol*; 1037:67–87.
91. Riboldi GM, Di Fonzo AB (2019). GBA, Gaucher disease, and Parkinson's disease: From genetic to clinic to new therapeutic approaches. *Cells*;8(4).
92. Savica R, Grossardt BR, Bower JH, et al. (2016). Time trends in the incidence of Parkinson disease. *JAMA Neurol*;73(8):981–989.
93. Savica R, Grossardt BR, Bower JH, et al. (2013). Incidence of dementia with Lewy bodies and Parkinson disease dementia. *JAMA Neurol*;70(11):1396–1402.
94. Schenck CH, Callies AL, Mahowald MW (2003). Increased percentage of slow-wave sleep in REM sleep behavior disorder (RBD). *Sleep*; 26(8):1066; author reply 1067.
95. Scholz SW, Houlden H, Schulte C, Sharma M, Li A, Berg D, Melchers A, Paudel R, Gibbs JR, Simon-Sanchez J, et al. (2009). *SNCA* variants are associated with increased risk for multiple system atrophy. *Ann Neurol*. 65:610–614.
96. Scholz SW, Majounie E, Revesz T, Holton JL, Okun MS, Houlden H, Singleton AB. (2015). Multiple system atrophy is not caused by C9orf72 hexanucleotide repeat expansions. *Neurobiol Aging*. 36(1223): e1221–e1222.
97. Senard JM, Pathak A (2010). Neurogenic orthostatic hypotension of Parkinson's disease: what exploration for what treatment? *Rev Neurol (Paris)*;166(10):779–784.
98. Siegel, J. (2001). REM Sleep Behavior Disorder. In: Schenck, C., editor. *Associated Professional Sleep Societies*. Vol. 2001. Chicago, IL.

99. Shin JH, Ko HS, Kang H, et al. (2011). PARIS (ZNF746) repression of PGC-1alpha contributes to neurodegeneration in Parkinson's disease. *Cell.*;144(5):689–702.
100. Shulman LM, Taback RL, Bean J, Weiner WJ (2001). Comorbidity of the nonmotor symptoms of Parkinson's disease. *Mov Disord*;16(3):507–510.
101. Singleton AB, Farrer M, Johnson J, et al. (2003). Alpha-synuclein locus triplication causes Parkinson's disease. *Science.*;302:841.
102. Spillantini MG, Goedert M (2000). The alpha-synucleinopathies: Parkinson's disease, dementia with Lewy bodies, and multiple system atrophy. *Ann N Y Acad Sci*; 920:16–27.
103. Tayebi N, Parisiadou L, Berhe B, Gonzalez AN, Serra-Vinardell J, Tamargo RJ, et al. (2017). Glucocerebrosidase haploinsufficiency in A53T α -synuclein mice impacts disease onset and course. *Mol Genet Metab.*;122(4):198–208.
104. Thaisetthawatkul P, Boeve BF, Benarroch EE, et al. (2004). Autonomic dysfunction in dementia with Lewy bodies. *Neurology.*;62(10):1804–1809.
105. Trinh J, Guella I, Farrer MJ. Disease penetrance of late-onset parkinsonism: A meta-analysis. *JAMA Neurol.* 2014;71(12):1535–1539.
106. Tu PH, Galvin JE, Baba M, et al. (1998). Glial cytoplasmic inclusions in white matter oligodendrocytes of multiple system atrophy brains contain insoluble α -synuclein. *Ann Neurol.*; 44:415-422.
107. Ubhi K, Rockenstein E, Mante M, Inglis C, Adame A, Patrick C, Whitney K, Masliah E (2010) Neurodegeneration in a transgenic mouse model of multiple system atrophy is associated with altered expression of oligodendroglial-derived neurotrophic factors. *J Neurosci.* 30:6236–6246.
108. Ueda K, Fukushima H, Masliah E, et al. (1993). Molecular cloning of cDNA encoding an unrecognized component of amyloid in Alzheimer disease. *Proc Natl Acad Sci U S A.*; 90:11282-11286.
109. Valente EM, Abou-Sleiman PM, Caputo V, et al. (2004). Hereditary early-onset Parkinson's disease caused by mutations in PINK1. *Science.*;304(5674):1158–1160.
110. Vaughan J, Durr A., Tassin J., Bereznai B., Gasser T., Bonifati V., De Michele G., Fabrizio E., Volpe G., Bandmann O, et al. (1998). The alpha-synuclein Ala53Thr mutation is not a common cause of familial Parkinson's disease: A study of 230 European cases. *European Consortium on Genetic Susceptibility in Parkinson's Disease. Ann Neurol.*; 44:270–273.
111. Vekrellis K, Emmanouilidou E, Xilouri M, Stefanis L. (2024). α -Synuclein in Parkinson's Disease: 12 Years Later. *Cold Spring Harbor Laboratory Press.*; 14(11): a041645

112. Wenning GK, Scherfler C, Granata R, et al. (1999). Time course of symptomatic orthostatic hypotension and urinary incontinence in patients with postmortem confirmed parkinsonian syndromes: a clinicopathological study. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*;67(5):620–623.
113. Whittaker HT, Qui Y, Bettencourt C, Houlden H. (2017). Multiple system atrophy: genetic risks and alpha-synuclein mutations. *F1000Res*. 6:2072.
114. Yahalom G, Greenbaum L, Israeli-Korn S, Fay-Karmon T, Livneh V, Ruskey JA, et al. (2019). Carriers of both GBA and LRRK2 mutations, compared to carriers of either, in Parkinson's disease: Risk estimates and genotype-phenotype correlations. *Parkinsonism Relat Disord*.;62:179–84.
115. Yang W, Kang X, Yang Q, Lin Y, Fang M (2013). Review on the development of genotyping methods for assessing farm animal diversity. *J Anim Sci Biotechnol*.;4:2.
116. Yazawa I, Giasson BI, Sasaki R, Zhang B, Joyce S, Uryu K, Trojanowski JQ, Lee VM. (2005). Mouse model of multiple system atrophy: alpha-synuclein expression in oligodendrocytes causes glial and neuronal degeneration. *Neuron*. 45:847–859.
117. Yoshino H, Hirano M, Stoessl AJ, et al. (2017). Homozygous alphasynuclein p.A53V in familial Parkinson's disease. *Neurobiol Aging*; 57:248. e7–248.e12.
118. Yoshita M, Arai H, Arai H, et al. (2015). Diagnostic accuracy of 123I-meta-iodobenzylguanidine myocardial scintigraphy in dementia with Lewy bodies: a multicenter study. *PLoS One*;10(3):e0120540.
119. Zarranz JJ, Alegre J, Gómez-Esteban JC, et al. (2004). The new mutation, E46K, of alpha-synuclein causes Parkinson and Lewy body dementia. *Ann Neurol*.; 55:164–173.
120. Zhao Q, Yang X, Tian S, An R, Zheng J, Xu Y. (2016). Association of the COQ2 V393A variant with risk of multiple system atrophy in East Asians: A case-control study and meta-analysis of the literature. *Neurol Sci*. 37:423–430.
121. Özcan T, Benli E, Özer F, et al. (2016). The association between symptoms of sexual dysfunction and age at onset in Parkinson's disease. *Clin Auton Res*;26(3):205–209.