

L'objectiu general d'aquest treball és aprofundir en l'estudi de les α -sinucleïnopaties, principalment a nivell bioquímic, en les interaccions de l' α -sinucleïna amb altres proteïnes de cervell humà per tal d'estudiar l'efecte de la unió en aquestes patologies. També hem volgut comprovar la similitud de les sinucleïnopaties humanes amb un model animal existent, transgènic per la forma mutada de l' α -sinucleïna humana.

Un altre dels aspectes a estudiar de la demència dels cossos de Lewy era la transmissió sinàptica a nivell dels receptors del glutamat a partir d'estudis de *binding* de receptors, d'una banda, i a partir de la possible relació entre una de les proteïnes efectores per aquests receptors, com és la PLC β 1, i l' α -sinucleïna.

Sabent que l'estrès oxidatiu juga un paper en aquestes malalties, hem volgut corroborar i ampliar-ne el seu estudi en l'estat d'agregació de l' α -sinucleïna tan en la patologia humana com en el model animal.

Finalment, com a estudi complementari de les demències amb cossos de Lewy i donat que ambdues variants presenten un important grau d'amiloidogènesi, vam voler estudiar aquestes malalties des del punt de vista mol.lecular, analitzant el nivell de les isoformes d'ARNm de l'A β PP. A més vam voler esbrinar si les alteracions en els nivells d'ARNm podrien estar relacionades amb el fet de tenir a més característiques associades a Alzheimer, com és el cas de la forma comú de la DLB.

Les tècniques utilitzades per a portar a terme aquest estudi han estat bàsicament la immunoprecipitació, el *pull-down* i la comprovació dels resultats per *western blot*. Per a l'estudi de l'A β PP s'han utilitzat a més, la tècnica de PCR a temps real (assaig TaqMan). Les mostres de partida procedien del banc de teixits neurològics de l'Hospital de Bellvitge i hem utilitzat teixit de córtex de cervells control, entenent com a tal aquells que no presentaven cap alteració neurològica, i teixit de córtex cerebral de pacients afectats de les sinucleïnopaties més representatives que són: Demència amb cossos de Lewy forma pura (DLBp), forma comú (DLBc), malaltia de Parkinson (PD) i pacients d'Atrofia Multisistèmica (MSA). D'aquests últims també hem utilitzat cerebel, que és on està descrit que s'acumula l' α -sinucleïna de forma patològica. Per als estudis de l'estrès oxidatiu i pel de l'A β PP també hem fet servir mostres de pacients d'Alzheimer, de paràlisi supranuclear Progressiva (PSP) com a exemple de taupatia amb glioso abundant i absència de dipòsits de β -amiloide, i l'angiopatia amiloidea (AA) com a exemple de taupatia amb acúmuls de β -amiloide als vasos sanguinis.

L'altre tipus de mostra utilitzada ha estat la procedent de cervell de ratolins transgènics per a l' α -sinucleïna, per tal de corroborar la malaltia humana amb un model animal.

Aquests objectius generals els hem dividit en 4 de més concrets que són:

1. Estudi de les interaccions de l' α -sinucleïna amb les proteïnes sinàptiques rab3a i rabfilina en pacients amb demència amb cossos de Lewy. A partir d'un array

d'anticossos en el qual, en condicions patològiques, hi vam detectar la interacció de l' α -sinucleïna amb la proteïna rab3a, hem intentat esbrinar la interacció d'ambdues proteïnes sinàptiques, i l'efecte que podia tenir a nivell de proteïna efectora, que en aquest cas vam escollir la rabfilina. Per tal d'establir un mecanisme comú de degeneració, hem estudiat aquestes interaccions en patologies en les que els cossos de Lewy es troben majoritàriament al córtex, com la Demència amb cossos de Lewy, i en una patologia en la que les inclusions patològiques predominen al cerebel, com és el cas de l'Atrofia Multisistèmica. D'altra banda, i donada l'existència d'una línia de ratolins transgènics per α -sinucleïna, hem volgut comprovar l'efecte de la mutació en les interaccions trobades en humans, i extrapolar-ho al model murí.

2. El segon objectiu que teníem era estudiar la interacció de l' α -sinucleïna amb la fosfolipasa C β 1 (PLC β 1) en pacients amb Demència amb cossos de Lewy, tan la forma comú com la forma pura, arrel d'uns estudis en els que l'activitat dels receptors del glutamat, estudiada mitjançant experiments de *binding*, es veia alterada en aquestes malalties. Donat que la PLC β 1 és un efector directe d'aquests receptors, que l' α -sinucleïna s'acumula de forma anòmala en aquestes patologies i degut finalment a la capacitat d'aquesta d'unir-se a diferents proteïnes, vam estudiar si la PLC β 1 s'acumulava en els agregats patològics en la Demència amb cossos de Lewy, i si existia algun tipus d'interacció entre PLC β 1 i l' α -sinucleïna.
3. El tercer objectiu que ens vam plantejar era el de concretar alguns aspectes a nivell d'estrès oxidatiu. D'una banda corroborar el seu efecte en la formació dels agregats patològics d' α -sinucleïna i d'altra banda esbrinar si aquest tenia algun efecte en les interaccions sinàptiques. Per això hem utilitzat la mateixa línia de ratolins transgènics per a la forma mutada humana de l' α -sinucleïna tractada amb dos insults tòxics que es sap que provoquen estrès oxidatiu: l'MPTP i la rotenona. També hem abordat els efectes de l'estrès oxidatiu estudiant un producte de glicosilació no enzimàtica com és el RAGE (Receptor per als productes finals de glicosilació o *Receptor for Advanced Glycation End-products*) sensible a la generació d'espècies reactives d'oxigen, així com altres productes relacionats amb l'estrès oxidatiu, com són el semialdehid glutàmic (GSA) i el semialdehid amino adípic (AAS) com a indicadors de la oxidació proteica; l'N-(carboximetil) lisina (CML) i l'N-(carboxietil) lisina (CEL) com a marcadors de l'oxidació de glúcids i el malondialdehid lisina (MDA-Lys) com a marcador de l'oxidació de lípids.
4. Finalment, el quart objectiu fou el d'esbrinar el paper de les isoformes d'mRNA de l'A β PP, proteïna precursora de l'amiloidigènesi, en les demències amb cossos de

Lewy, tenint en compte que la variant comú de la malaltia portava associades característiques de la malaltia d'Alzheimer.