

2023-04-21

Atrophie multi-systématisée : à la croisée des mécanismes cellulaires, moléculaires et génétiques

Nadia Stefanova & Gregor K. Wenning

Résumé

L'atrophie multi-systématisée (AMS) est une α -synucléinopathie oligodendrogliale rare caractérisée par une neurodégénérescence dans les régions striatonigrale et olivopontocérébelleuse et dans les centres cérébraux autonomes. Elle provoque des incapacités motrices et non motrices cumulatives complexes avec une progression rapide. Un traitement efficace fait actuellement défaut. Les difficultés de diagnostic et de traitement de l'AMS sont en grande partie liées à la compréhension incomplète de la pathogenèse de la maladie. Le paysage pathogénique de l'AMS est complexe et les résultats convergents d'études génétiques et neuropathologiques ainsi que d'études dans des modèles expérimentaux d'AMS ont indiqué l'implication de changements génétiques et épigénétiques ; mauvais repliement, agrégation et propagation de l' α -synucléine ; et la spécificité de la souche α -synucléine. Ces études indiquent également l'implication de la myéline et de la dyshoméostasie du fer, de la neuroinflammation, du dysfonctionnement mitochondrial et d'autres aspects spécifiques aux cellules qui sont pertinents pour la progression rapide de l'AMS. Dans cette revue, nous discutons de ces résultats et soulignons les implications de la complexité de la cascade pathogénique multifactorielle pour la recherche translationnelle future et son impact sur la découverte de biomarqueurs et les définitions des cibles de traitement.

Encadré 1

Diagnostic clinique de l'atrophie multisystématisée

Le diagnostic clinique de l'atrophie multi-systématisée (AMS) repose sur la présence de caractéristiques cardinales non motrices et motrices, notamment l'insuffisance urogénitale et cardiovasculaire, le parkinsonisme et l'ataxie cérébelleuse. L'insuffisance urogénitale peut se présenter avec une incontinence urinaire par impériosité et une rétention urinaire post-mictionnelle. Les déficits cardiovasculaires incluent l'hypotension orthostatique neurogène caractérisée par une chute de tension artérielle $\geq 20/10$ mmHg dans les 3 min de position debout ou d'inclinaison tête haute. Selon le syndrome moteur prédominant, une variante parkinsonienne (AMS-P) ou cérébelleuse (AMS-C) de la maladie est définie. Selon les récents critères de l'AMS, le diagnostic clinique est considéré comme établi lorsqu'une insuffisance autonome, un syndrome moteur caractéristique (parkinsonisme réfractaire à la L-DOPA et/ou ataxie cérébelleuse) et des signes cliniques à l'appui (« red flags ») ainsi que des anomalies IRM sont présents. Un diagnostic d'AMS probable est moins rigoureux et ne nécessite pas d'IRM. Les caractéristiques cliniques à l'appui peuvent inclure une instabilité posturale, des troubles graves de la parole, une dysphagie grave, un stridor, des soupirs inspiratoires, des extrémités froides et décolorées, une incontinence émotionnelle, un dysfonctionnement érectile et une progression rapide. Les anomalies typiques de l'IRM sont l'atrophie du putamen, du pont, du pédoncule cérébelleux moyen et du cervelet ; le signe « hot cross bun » lié à la dégénérescence des voies ponto-cérébelleuses transverses ainsi qu'à une diffusivité accrue du

putamen et du pédoncule cérébelleux moyen. De plus, des critères de recherche pour une éventuelle AMS prodromique ont été proposés. Ceux-ci peuvent inclure un trouble du comportement en sommeil paradoxal prouvé par polysomnographie, une hypotension orthostatique neurogène ou une insuffisance urogénitale (dysfonction érectile avant l'âge de 60 ans avec des difficultés à uriner ou avec un volume résiduel urinaire post-mictionnel > 100 ml ou une incontinence urinaire par impériosité) associée à une insuffisance cérébelleuse ou urinaire subtile ou des traits parkinsoniens. La perte d'olfaction ou une réponse bénéficielle soutenue à la L-DOPA fait partie des critères d'exclusion du diagnostic d'AMS évoquant la maladie de Parkinson.

Introduction

L'atrophie multi-systématisée (AMS) est une maladie neurodégénérative rare qui appartient au spectre des α -synucléinopathies, avec la maladie de Parkinson (MP) et la démence à corps de Lewy (DCL). La cause de l'AMS est inconnue. Cliniquement, le début se situe après la troisième décennie de la vie, mais le début réel de la maladie reste mal défini. Le diagnostic clinique repose sur des combinaisons variables d'éléments cliniques cardinaux et auxiliaires comprenant un dysfonctionnement autonome (insuffisance uro-génitale et insuffisance cardiovasculaire autonome), un syndrome parkinsonien et un syndrome cérébelleux 2 (Encadré1).

L'AMS se caractérise par une progression rapide de la maladie et les patients sont généralement confinés en fauteuil roulant dans les 5 à 8 ans 3 avec une espérance de vie approximative pouvant aller jusqu'à 10 ans après le diagnostic 3 . Un diagnostic définitif de MSA n'est possible que post-mortem. Elle est basée sur la découverte neuropathologique d'abondantes inclusions cytoplasmiques gliales (GCI) représentant des agrégats d' α -synucléine fibrillaire dans les oligodendrocytes, associés à une neurodégénérescence striatonigrale et/ou olivopontocérébelleuse 4 . Les limites cliniques actuelles en termes de retard de diagnostic et d'absence de traitement, le fardeau social de la progression rapide de la maladie et de l'invalidité précoce et du décès des personnes atteintes de la maladie met en évidence le besoin pour des avancées dans notre compréhension des mécanismes pathogènes de l'AMS. De nouvelles connaissances sur la pathogenèse sont susceptibles de guider le développement de biomarqueurs de diagnostic et de progression de la maladie ainsi que l'identification de thérapies qui peuvent non seulement soulager les symptômes, mais aussi atténuer sa progression.

Les acteurs clés de la pathogenèse de l'AMS ont été identifiés principalement par des études génétiques, des études neuropathologiques post-mortem (Encadré2) et des modèles expérimentaux (Fig.1 et Encadré3). Dans cette revue, nous résumons les progrès dans notre compréhension de la pathogenèse de la MSA et les implications pour la recherche translationnelle future. Nous discutons de l'impact du mauvais repliement, de l'agrégation et de la propagation de l' α -synucléine, de multiples aspects spécifiques aux cellules du processus pathologique et du rôle de la génétique et de la modulation épigénétique dans l'AMS.

Agrégation d' α -synucléine dans l'AMS

L'agrégation des protéines est une caractéristique pathologique majeure des troubles neurodégénératifs. L'AMS appartient au groupe des α -synucléinopathies classiques [avec la MP et la DLB, qui sont collectivement connues sous le nom de maladie à corps de Lewy (LBD)] en raison de l'accumulation intracellulaire d' α -synucléine mal repliée. Des observations récentes d'accumulation d' α -synucléine dans les systèmes nerveux périphérique et autonome de personnes atteintes de trouble du comportement en sommeil paradoxal et d'insuffisance autonome pure - deux conditions pouvant précéder le diagnostic de LBD ou de MSA - ont incité leur classification à la suite des synucléinopathies prodromiques. Des agrégats intracellulaires d' α -synucléine tels que les corps de Lewy (LB) dans le LBD et les GCI dans l'AMS sont nécessaires pour un diagnostic post-mortem concluant. En raison du rôle central des GCI dans le diagnostic de l'AMS, l'un des principaux objectifs de la recherche AMS est de comprendre le rôle du mauvais repliement et de l'agrégation de l' α -synucléine dans la cascade pathogénique moléculaire de la maladie.

L'origine de l' α -synucléine mal repliée et la cause de son accumulation dans les GCI des cerveaux AMS restent obscures à ce jour. L' α -synucléine est généralement considérée comme une protéine neuronale. Compte tenu de la propagation possible de cellule à cellule de l' α -synucléine, comme discuté ultérieurement, les neurones semblent être une source plausible de la protéine d'agrégation.

Une question importante et encore sans réponse à considérer est pourquoi l' α -synucléine s'accumule dans les oligodendrocytes exclusivement dans l'AMS, mais pas dans les autres synucléinopathies.

Le niveau d'expression neuronale de l'ARNm SNCA dans le cerveau AMS est inchangé par rapport aux cerveaux sains. L'agrégation de l' α -synucléine dans les oligodendroglies saines n'est pas étayée de manière convaincante par les schémas de propagation expérimentaux 9,10 (Fig. 1a). Le rôle de l' α -synucléine oligodendrogliale-propre (endogène) dans la formation de GCI fait également l'objet d'un débat. L'analyse PCR quantitative montre l'expression de l'ARNm du gène SNCA dans les oligodendrocytes capturés au laser des cerveaux AMS et contrôle avec une certaine tendance non significative à l'augmentation de l'expression dans l'AMS. En outre, les **cellules progénitrices oligodendrogiales (OPC)** et les oligodendrocytes immatures expriment l'ARNm SNCA à la fois chez les rongeurs et chez l'homme. Fait important, la densité des OPC est augmentée dans l'AMS, peut-être en tant que mécanisme compensatoire du système pour faire face au dysfonctionnement existant de la myéline. Pourtant, **les OPC¹, qui représentent le stade de maturation** avec une expression endogène confirmée de l'ARNm de la SNCA, ne montrent aucun GCI dans les cerveaux AMS. Cette dernière découverte peut être interprétée de manière spéculative de plusieurs manières : il pourrait y avoir un temps insuffisant pour que les jeunes OPC génèrent des GCI, ou des oligodendrocytes matures pourraient fournir un milieu intracellulaire différent ou présenter des déficits spécifiques à la maladie dans la manipulation des protéines, ce qui permet la formation de GCI chez les adultes oligodendrocytes mais pas dans les OPC.

Signes d'une dysfonction oligodendrogliale primaire dans l'AMS

On pense qu'un certain nombre de changements sous-cellulaires dans les oligodendroglies contribuent à la cascade pathogène et à l'agrégation de l' α -synucléine dans l'AMS (Fig.2). Les premières observations sur des progéniteurs ou neurones neuronaux et gliaux obtenus par différenciation de cellules souches pluripotentes induites issues de patients atteints d'AMS indiquent l'existence d'une pathologie cellulaire, en particulier une perturbation mitochondriale associée à une sensibilité accrue au stress, qui peut précéder l'agrégation de l' α -synucléine.

Le dysfonctionnement cellulaire de l'oligodendroglie dans l'AMS semble également refléter une déficience protéolytique, qui pourrait favoriser l'accumulation d' α -synucléine. Fait intéressant, les découvertes post-mortem suggèrent que la protéine p25 α (p25 α /TPPP) favorisant la polymérisation de la tubuline, une protéine associée à la myéline, peut être déplacée des processus cellulaires et des gaines de myéline vers le corps cellulaire des oligodendrocytes AMS et, en fait, ce processus peut précéder et médier l'agrégation de l' α -synucléine dans l'oligodendroglie MSA 20. p25 α /TPPP s'avère également déplacée du noyau vers le cytoplasme périnucléaire de l'oligodendroglie AMS. En outre, des travaux expérimentaux in vitro ont proposé des voies autophagiques dysfonctionnelles pertinentes pour la dégradation des protéines à la fois de p25 α / TPPP et de l' α -synucléine dans l'oligodendroglie. En outre, les niveaux de lipides sont diminués dans les lésions de la substance blanche dans l'AMS, reflétant la perturbation de la myéline et interférant éventuellement avec l'agrégation de l' α -synucléine.

Toutes ces observations incitent à supposer que l'oligodendroglie AMS pourrait avoir un dysfonctionnement primaire (oligodendroglie primaire) précédant l'accumulation d' α -synucléine 25 (Fig.3) ; cependant, les initiateurs du dysfonctionnement oligodendroglial (génétique, épigénétique ou environnemental) conduisant aux modifications subcellulaires observées sont encore mal connus. Fait intéressant, dans les biopsies cutanées de patients atteints d'AMS, des agrégats positifs pour l' α -synucléine phosphorylée en Ser129 sont identifiés dans les cellules de Schwann des racines spinales et des nerfs périphériques ainsi que dans les cellules de Schwann non myélinisantes Remak, indiquant la

¹ OPC : cellules progénitrices oligodendrogiales

possibilité d'une dysfonction gliale plus répandue dans l'AMS non retrouvée dans d'autres synucléinopathies. De futures études sur la progression de l'agrégation de l' α -synucléine dans les cellules de Schwann chez les personnes atteintes d'AMS pourraient offrir une occasion unique de suivre les mécanismes d'agrégation des protéines gliales, qui sont actuellement mal compris.

Le rôle des GCI dans la cascade pathogénique MSA

Le moment de la formation des GCI au cours de la progression de la maladie, c'est-à-dire le fait de savoir si les GCI sont une conséquence de la neurodégénérescence ou la précèdent, est inconnu. Semblables aux LBs (corps de Lewy), les fibrilles d' α -synucléine ne sont pas le seul composant biochimique des GCI, ce qui suggère que les GCI pourraient être un phénomène en aval des processus neurodégénératifs, une « poubelle » des oligodendrocytes AMS. Cependant, certains cas rares qualifiés par les médecins de « changement minimal AMS », qui présentent des symptômes non moteurs asymptomatiques ou précoces et des GCI généralisés sans perte neuronale généralisée, soutiennent fortement l'hypothèse selon laquelle le mauvais repliement et l'agrégation de l' α -synucléine dans les oligodendrocytes AMS sont un événement pathogène précoce précédant la perte neuronale. Cette hypothèse est étayée par des modèles AMS déclenchés par l' α -synucléine, dans lesquels la pathologie de type GCI est l'événement initial déclenchant une neuroinflammation et une perte neuronale supplémentaires et conduisant à un dysfonctionnement non moteur et moteur 36 (Fig.1b).

Encadré 2

Neuropathologie et corrélats clinicopathologiques de l'atrophie multi-systématisée

Les caractéristiques neuropathologiques de l'atrophie multisystématisée (AMS) sont une inclusion cytoplasmique gliale généralisée représentant des agrégats multicomposants contenant de l' α -synucléine fibrillaire, modifiée post-traductionnelle dans le cytoplasme des oligodendrocytes. La charge d'inclusion cytoplasmique gliale est en corrélation avec la neurodégénérescence dans les régions striatonigrale et olivo-pontocérébelleuse, les caractéristiques parkinsoniennes et cérébelleuses sous-jacentes. L'insuffisance autonome dans l'AMS est associée à une abondante pathologie d'inclusion d' α -synucléine et à une perte neuronale dans les colonnes intermédiolatérales de la moelle épinière et dans les zones autonomes du tronc cérébral, par exemple, la formation réticulaire ponto-médullaire, le noyau moteur dorsal du nerf vague, la moelle rostroventrolatérale, le noyau raphé, le noyau d'Edinger–Westphal, locus coeruleus et hypothalamus dorsal. Des agrégats d' α -synucléine se trouvent également dans le cytoplasme et les noyaux des neurones dans de multiples régions du cerveau.

Il est important de noter que les inclusions cytoplasmiques neuronales dans l'AMS sont distinctes des corps de Lewy et peuvent être différenciées par la coloration à l'argent Gallyas. Le fardeau des inclusions cytoplasmiques neuronales dans le néocortex est lié à une déficience cognitive dans l'AMS. L'astroglie et l'activation microgliale accompagnent la distribution sélective de la perte neuronale et des agrégats d' α -synucléine. L'activation gliale est associée à la signalisation neuroinflammatoire, y compris l'infiltration des lymphocytes T 83 . Il joue un rôle important dans la médiation de la progression de la maladie et peut être déclenché par des souches pathologiques d' α -synucléine. La dégénérescence et la démyélinisation de la myéline sont courantes lors de l'autopsie. Une augmentation du dépôt de fer a été constamment observée dans les cerveaux AMS et suggère des aberrations dans le métabolisme du fer. Enfin, les nerfs périphériques de la peau AMS et des organes viscéraux présentent des agrégats d' α -synucléine mal repliée phosphorylée par Ser129 à la fois dans les fibres nerveuses et dans les cellules de Schwann .

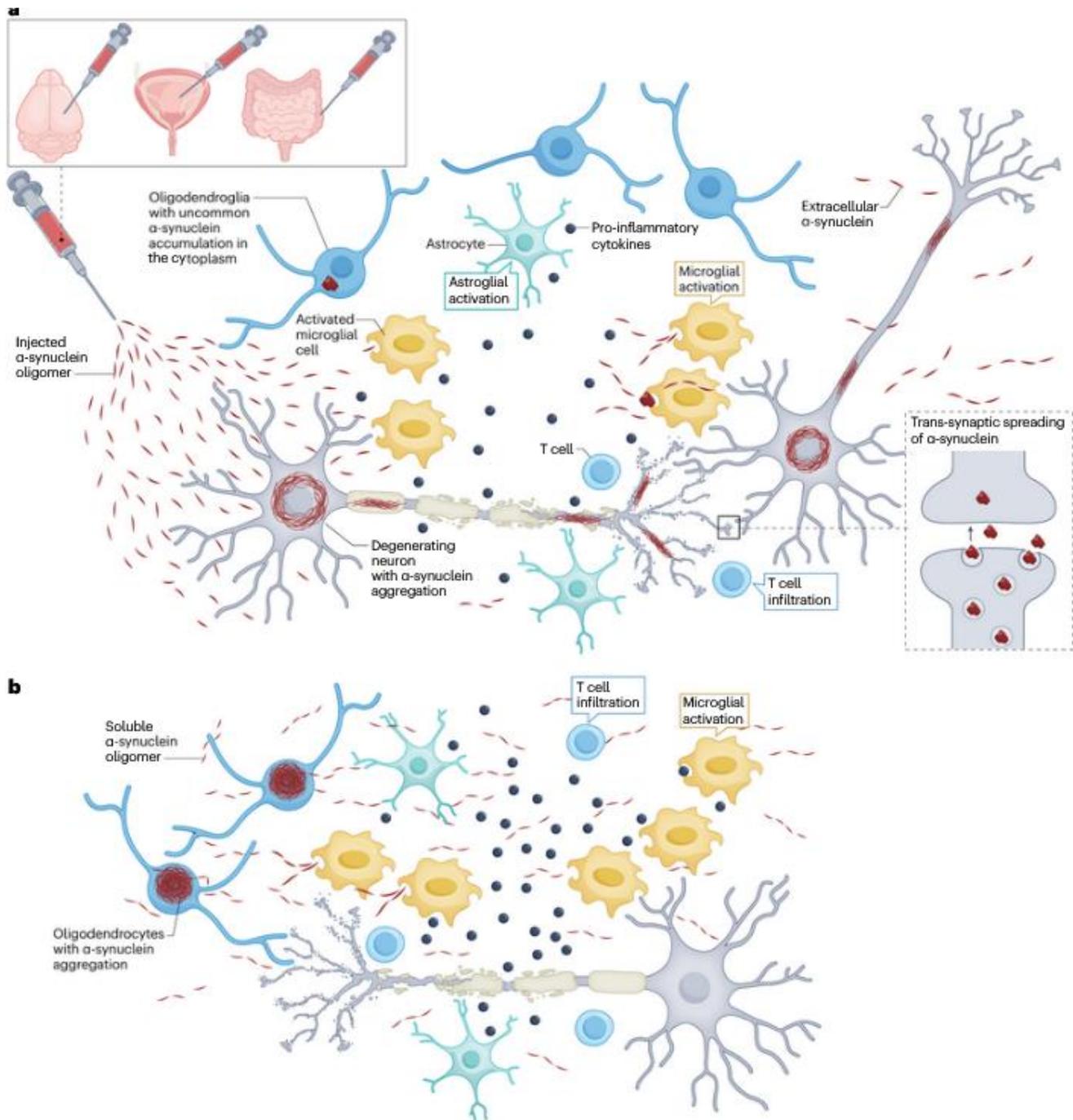
Souches d' α -synucléine spécifiques à l'AMS et propagation

Comme déjà mentionné, les souches d' α -synucléine dans l'AMS diffèrent considérablement de celles observées dans la PD ou la DLB. La différence a été démontrée au niveau structural par cryo-microscopie électronique. L'analyse par micro-spectroscopie infrarouge via le synchrotron révèle une représentation beaucoup plus faible de la structure de l' α -synucléine en feuillet β dans les GCI, par rapport aux LB. La diversité structurale de l' α -synucléine dans l'AMS entraîne un profil différent de l'activité d'ensemencement, comme démontré dans des tests de test variables. Au sein de l'AMS, une grande hétérogénéité des profils d'ensemencement a été identifiée à la fois entre les patients atteints d'AMS et entre les différentes régions du cerveau, mais les facteurs contributifs (titre protéique et autres facteurs) restent flous. Les connaissances récentes sur la diversité structurale et d'ensemencement des souches d' α -synucléine dérivées d'AMS soulèvent de multiples questions liées au moment, comment et pourquoi les différences sont générées et quelles sont les conséquences pour la pathologie de la maladie et le cours de la progression de la maladie.

Fig. 1 | Modèles expérimentaux d' α -synucléinopathie de type AMS.

a, Les modèles de propagation sont basés sur l'injection locale (cerveau, tractus gastro-intestinal et vessie) de fibrilles préformées de protéine recombinante ou d' α -synucléine dérivée du patient. Ces modèles sont caractérisés par une importante formation d'agrégats neuronaux, qui se propagent (principalement de manière trans-synaptique) à d'autres neurones. Fait important, les agrégats d' α -synucléine dans les oligodendrocytes sont rares. La gliose et les réponses neuroinflammatoires accompagnent la neurodégénérescence. Les cellules microgliales et astrogliales activées libèrent des cytokines pro-inflammatoires, qui peuvent exercer des effets toxiques sur les neurones et moduler l'infiltration secondaire des cellules T, aggravant encore l'environnement pro-inflammatoire dans les régions cérébrales touchées. Les cellules microgliales activées à activité phagocytaire jouent un rôle important pour tenter d'éliminer les oligomères extracellulaires d' α -synucléine et de limiter la propagation de la pathologie.

b, les modèles avec surexpression ciblée de l' α -synucléine dans les oligodendrocytes présentent des agrégats d' α -synucléine gliales cytoplasmiques de type inclusion. La pathologie d'inclusion cytoplasmique gliale et la propagation putative d'oligomères solubles d' α -synucléine déclenchent des réponses neuro-inflammatoires associées à l'activation de la microglie et de l'astroglie ainsi qu'à un dysfonctionnement oligodendroglial. Cette cascade d'événements conduit à une neurodégénérescence progressive spécifique à la région



Ont-ils un tropisme cellulaire spécifique, qui définit la formation des GCI ? Codent-ils les traits clinicopathologiques spécifiques des synucléinopathies ? Il a été proposé que l' α -synucléine nativement dépliée puisse former différents assemblages dans des conditions chimiques et physiques spécifiques. D'autres travaux expérimentaux suggèrent que le milieu cellulaire dans l'oligodendrogliose peut être le déclencheur définissant les propriétés de l' α -synucléine spécifiques à l'AMS.

Les souches d' α -synucléine, en particulier les oligomères, dérivés des GCI des personnes atteintes d'AMS déclenchent la perte neuronale et la démyélinisation dans le cerveau des primates sains, mais ne provoquent pas d'agrégation généralisée de type GCI. Les expériences chez la souris et le rat suggèrent que la souche spécifique de la maladie ne définit pas le tropisme cellulaire qui conduit à l'agrégation de l' α -synucléine dans les oligodendrocytes, mais peut dicter la perte neuronale et sa gravité. L'inoculation d'oligomères d' α -synucléine (synthétiques ou dérivés d'AMS) dans le cerveau de rongeurs ou de primates entraîne une pathologie d'inclusion neuronale progressive liée à la perte neuronale et à la neuroinflammation, mais conduit très rarement à une véritable pathologie GCI (Fig. 1a). Les auteurs d'une étude expérimentale ont proposé que la pathologie oligodendrogliale de l' α -synucléine puisse être générée beaucoup plus lentement par rapport à la pathologie neuronale de l' α -synucléine dans les modèles de propagation; cependant, cette hypothèse et sa pertinence pour l'AMS sont difficiles à concevoir pour deux raisons : premièrement, la progression des modèles de propagation de l' α -synucléine est limitée, et deuxièmement, l'AMS humaine se caractérise par sa progression rapide. Enfin, le rôle principal de l'oligodendroglie primaire en relation avec la formation de GCI après exposition à des oligomères d' α -synucléine spécifiques a récemment été fourni par les découvertes selon lesquelles la pathologie de type GCI n'est déclenchée qu'en présence d'une surexpression d' α -synucléine oligodendrogliale, indépendamment de la matrice α -synucléine exogène et de sa structure amyloïde distincte, alors que la gravité de la maladie dépend fortement du type de souche α -synucléine.

Il est important de reconnaître ici deux limites actuelles :

premièrement, la majorité des théories sur la propagation et la propagation de l' α -synucléine sont basées sur des études chez les rongeurs ou les primates, limitant leur pertinence pour l'homme ;

et deuxièmement, les conclusions basées sur l'utilisation de fibrilles préformées de protéine recombinante générées artificiellement doivent être interprétées avec prudence car elles se comportent différemment des souches d' α -synucléine dérivées de patients. Pris ensemble, on peut émettre l'hypothèse que l' α -synucléine, provenant très probablement des neurones, forme des souches spécifiques d'AMS dans les conditions physico-chimiques intracellulaires particulières de l'oligodendrogliose dysfonctionnelle. Ce dernier peut être déterminé, par exemple, par le dysfonctionnement précoce de la myéline et la relocalisation des protéines de la myéline ou par l'accumulation précoce de fer dans les oligodendroglies, qui peuvent médier l'ensemencement et la fibrillation spécifiques de l' α -synucléine dans l'AMS.

Bien que la propagation trans-synaptique semble être un mécanisme important de propagation de LB entre des régions anatomiquement liées, comme le montrent les modèles de propagation de rongeurs, la réplication d'un mécanisme de propagation qui entraîne des GCI chez les rongeurs a été plus difficile à démontrer. Des preuves récentes indiquent que la connexine 32, une protéine de jonction lacunaire, facilite l'absorption de l' α -synucléine oligomérique par les oligodendrocytes. D'autres mécanismes putatifs de propagation de l' α -synucléine peuvent inclure le transfert à travers des exosomes oligodendrogliaux ou, de manière spéculative, des réseaux oligodendrogliaux et/ou microgliaux à travers des nanotubes à effet tunnel .

Rôle de l' α -synucléine dans la progression de l'AMS

Bien que les mécanismes de propagation oligodendrogliale de l' α -synucléine n'aient pas encore été complètement élucidés, des preuves convergentes d'études expérimentales dans des modèles AMS (Fig.1) ont fourni des informations sur le rôle causal des oligomères et / ou polymères d' α -synucléine dans l'AMS-. comme la neurodégénérescence, y compris des rapports sur l'efficacité biologique du ciblage de l' α -synucléine avec de petites molécules ou des immunothérapies. L'étendue et la fenêtre temporelle d'implication des agrégats d' α -synucléine et des souches solubles

dans l'induction de la neurodégénérescence dans l'AMS humaine restent à définir. L'échec récent des immunothérapies chez les patients atteints de MP précoce suggère que la clairance des oligomères d' α -synucléine extracellulaires peut ne pas être suffisante pour atténuer la propagation de la pathologie d'inclusion et la neurodégénérescence progressive qui en résulte. Une meilleure compréhension de l'implication de l' α -synucléine dans le processus de la maladie sera cruciale pour le succès des essais cliniques avec des approches ciblant l' α -synucléine. En outre, il est important de comprendre comment l' α -synucléine interfère avec d'autres mécanismes pathogènes liés à l'AMS, comme discuté ultérieurement.

Autre changement subcellulaire, l'examen autopsique des cerveaux AMS montre une astrogliose significative et une activation microgliale accompagnant la pathologie GCI et la neurodégénérescence. Bien que les astrocytes et les cellules microgliales soient activés en réponse à des espèces pathologiques d' α -synucléine in vitro, curieusement, les astroglioses dans l'AMS ne présentent pas d'inclusions d' α -synucléine contrairement à la MP, indiquant la spécificité de la maladie via la réponse astrogliale. En outre, l'astrogliose semble être plus importante dans la matière grise que dans les régions de la substance blanche lorsqu'elle est évaluée par stéréologie dans le cerveau AMS, ce qui indique que la perte neuronale plutôt que les modifications de la substance blanche (y compris les GCI et l' α -synucléine) joue le rôle principal en tant que déclencheur de l'activation astrogliale dans l'AMS. En revanche, l'activation microgliale dans le cerveau AMS, à nouveau évaluée à l'aide de la méthode de stéréologie, est prédominante dans la matière grise et blanche, ce qui suggère que la pathologie α -synucléine est le principal moteur de l'activation microgliale dans l'AMS. Cette notion est corroborée par des études de progression dans un modèle de souris transgénique d'AMS, ce qui suggère que l'activation microgliale déclenchée par l' α -synucléine peut être un événement pathogène précoce. De plus, la suppression précoce de l'activation microgliale dans le même modèle sauve les neurones dopaminergiques nigras, ce qui est cohérent avec le fait que l' α -synucléine joue un rôle majeur dans l'activation de la microglie dans la neurodégénérescence murine de type AMS.

ENCADRÉ 3

Modèles animaux d'atrophie multi-systématisée

La modélisation in vivo de l'atrophie multi-systématisée (AMS) est basée sur la récapitulation des caractéristiques neuropathologiques de la maladie humaine dans le but de générer des bancs d'essai phénotypiques pour des études sur la pathogenèse, la progression de la maladie et le dépistage d'interventions candidates modificatrices de la maladie. Les classes de modèles suivantes ont été développées au fil des ans :

a. Les modèles de neurotoxines (souris, rats et primates) sont basés sur l'utilisation de neurotoxines sélectives pour générer du nigra (6-hydroxydopamine et 1-méthyl-4-phényl-1,2,3,6-tétrahydropyridine (MPTP)) et lésions striatales (acide quinolinique et acide 3-nitropropionique) pour reproduire la dégénérescence striatonigrale avec perte de réponse dopaminergique. Ces modèles sont utiles pour étudier la physiopathologie de la dégénérescence striatonigrale mais manquent de pathologie α -synucléine.

b. Les modèles de surexpression de l' α -synucléine (souris, rats et primates) sont basés sur l'utilisation de promoteurs oligodendrogliaux sélectifs pour déclencher la surexpression de l' α -synucléine dans les oligodendrocytes, soit dans des systèmes transgéniques conventionnels ou inductibles, soit par surexpression ciblée par le virus adéno-associé (AAV) 70,156–160 . Les modèles génèrent une neurodégénérescence progressive déclenchée par l' α -synucléine avec des phénotypes moteurs et non moteurs pertinents et l'activation concomitante de la microglie, de l'astrogliose, de l'infiltration des lymphocytes T et des réponses neuroinflammatoires. Le phénotype peut être exacerbé vers une pathologie de type MSA "à part entière" par exposition à un stress oxydatif ou protéolytique. Ces modèles n'ont pas de propagation prouvée de neurone à oligodendroglie de l' α -synucléine qui aurait lieu dans l'AMS humaine. Les modèles de surexpression de l' α -synucléine conviennent pour étudier les mécanismes en aval de la neurodégénérescence de type AMS et pour tester les stratégies de traitement ciblant l' α -synucléine ou les étapes ultérieures de la cascade pathogène.

c. Les modèles de propagation de l' α -synucléine sont basés sur l'injection de fibrilles préformées ou de fibrilles d' α -synucléine dérivées d'AMS, soit par voie intracérébrale, soit dans des organes périphériques, par exemple la vessie. Les fibrilles préformées ne reproduisent pas exactement les conformations de l' α -synucléine dans l'AMS humaine, et les tests de souches dérivées d'AMS humaine dans le cerveau des rongeurs ou des primates peuvent être limités par des différences interspécifiques. Ces modèles sont utiles pour étudier la toxicité et les propriétés biologiques des souches d' α -synucléine spécifiques à l'AMS et pour comprendre les mécanismes possibles de la neurodégénérescence de type AMS.

d. Les modèles à base de cellules souches pluripotentes induites sont basés sur l'application de technologies de cellules souches pluripotentes induites ; on pense que ces modèles surmontent les limites des différences entre les espèces et conduisent à la compréhension des premiers stades de l'AMS

Enfin, les études TEP démontrent l'activation microgliale dans le cerveau des patients atteints d'AMS au cours des premiers stades de la maladie, fournissant des preuves supplémentaires pour le point de vue susmentionné. Pris ensemble, les preuves expérimentales et neuropathologiques soutiennent un **rôle important de la microglie dans la pathogenèse et la progression de l'AMS**. Comment la microglie peut-elle influencer l'évolution de la maladie après avoir été exposée et activée par l' α -synucléine pathologique ? Cela peut impliquer la génération d'un environnement neuro-inflammatoire cytotoxique, y compris l'activation de l'inflammasome NLRP3 ; la régulation à la hausse de la myéloperoxydase ; et la libération d'espèces réactives de l'oxygène, d'oxyde nitrique et de cytokines pro-inflammatoires comme dans d'autres troubles neurodégénératifs. La microglie peut contribuer à la propagation de la pathologie α -synucléine à travers les exosomes, mais peut également être impliquée dans la dégradation de l' α -synucléine pathologique. Les études en cours et futures appliquant le profilage unicellulaire, la transcriptomique spatiale et la protéomique fourniront des informations importantes sur l'hétérogénéité microgliale et les réponses spécifiques à la maladie, ce qui pourrait encore améliorer notre compréhension de la pathogenèse de l'AMS.

La composante inflammatoire dans la pathogenèse de l'AMS est en outre étayée par les signatures génétiques partagées qui ont été identifiées entre l'AMS et la maladie inflammatoire de l'intestin ainsi que par la détection d'une infiltration de lymphocytes T dans le cerveau AMS qui peut participer au processus neurodégénératif. Bien que les mécanismes auto-immuns soient la clé de la démyélinisation à médiation immunitaire et de la neurodégénérescence subséquente dans la sclérose en plaques, l'implication des lymphocytes T semble émerger à un stade ultérieur dans les cerveaux AMS, à la suite de changements neuro-inflammatoires locaux liés à la pathologie de l' α -synucléine.

Autres changements subcellulaires

En plus du rôle de la pathologie de l' α -synucléine, du dysfonctionnement oligodendroglial, des déficits mitochondriaux et de la signalisation inflammatoire, un certain nombre d'autres événements subcellulaires ont été potentiellement associés à la progression de la neurodégénérescence dans des modèles expérimentaux d'AMS. La présence de synucléinopathie dans l'oligodendroglie interfère avec le support neurotrophique (par exemple, le facteur neurotrophique dérivé du cerveau ou le facteur neurotrophique dérivé de la glie) fourni par les oligodendrocytes. En effet, la livraison du facteur neurotrophique dérivé de la glie dans un modèle de souris transgénique d'AMS était neuroprotecteur. De plus, les oligodendrocytes sont d'importants dépôts de fer dans le cerveau et **le fer peut jouer un rôle crucial dans l'agrégation de l' α -synucléine**. En outre, **une accumulation accrue de fer est présente dans le cerveau AMS, corroborant l'implication supposée du métabolisme du fer dans les mécanismes de la maladie. Cette hypothèse a été encore renforcée par la capacité d'un chélateur de fer de faible affinité, ATH434, à réduire l'oligomérisation de l' α -synucléine et à atténuer la neurodégénérescence dans un modèle transgénique d'AMS.**

Il existe d'autres mécanismes impliqués dans la pathologie AMS. Comme déjà mentionné, le dysfonctionnement de l'autophagie dans l'AMS peut résulter de l'accumulation d' α -synucléine mal repliée et accélérer davantage l'agrégation

des protéines. Intrigant mais encore incertain est le rôle putatif des changements précoces du cytosquelette² dans l'AMS, par exemple, impliquant une association génétique MAPT et un transport subcellulaire perturbé et la relocalisation des protéines de la myéline dans les oligodendrocytes AMS.

Malheureusement, en raison du biais actuel dans la génération de modèles de maladie AMS initiant principalement la maladie par une surcharge pathogène en α -synucléine (Fig.1), **tous les événements susmentionnés ne peuvent être identifiés que comme une conséquence, et leur rôle comme principal moteur du processus de la maladie reste insaisissable.**

Modulateurs génétiques dans l'AMS

Une étape importante vers la compréhension des mécanismes pathogènes et des événements qui sous-tendent un trouble est l'identification des facteurs génétiques qui lui sont associés. L'AMS présente de faibles estimations de l'hérédité, ce qui rend difficile la confirmation de la nature sporadique pure de la maladie et rend également les études de découverte de gènes très difficiles.

En raison des chevauchements cliniques et pathologiques entre l'AMS et la MP, de nombreuses études génétiques sur l'AMS ont adopté l'approche pragmatique consistant à cibler les gènes associés à la MP. Bien qu'il existe une longue liste de gènes connus pour contribuer à la MP, la signature génétique de l'AMS est loin d'être concluante. Par exemple, aucune mutation n'a été identifiée dans la région codante du gène de l' α -synucléine SNCA dans l'AMS confirmé pathologiquement. Cependant, les observations de mosaïcisme avec des gains de nombre de copies SNCA dans les neurones dopaminergiques nigraux dans la MP et l'AMS suggèrent que les mutations somatiques pourraient être un facteur de risque dans les synucléinopathies sporadiques. Cette hypothèse est étayée par les résultats des profils de variantes du nombre de copies somatiques à l'échelle du génome à partir de cellules de substantia nigra, pons et putamen dans l'AMS, bien que le besoin d'ensembles de données de contrôle limite l'étendue des conclusions qui peuvent être tirées. Les mutations du gène GBA de la glucocérébrosidase, liées au trouble de stockage lysosomal de la maladie de Gaucher et à un risque élevé de développer la MP, semblent avoir une association plus limitée avec l'AMS, le GBAT408M étant identifié comme un facteur de risque.

Bien que des études antérieures n'aient pas réussi à montrer une association de la mutation LRRK2G2019S avec l'AMS, des rapports récents ont identifié cette mutation dans des cas uniques de la maladie. En outre, il a été proposé que les variants exoniques de LRRK2 contribuent à la sensibilité à l'AMS, mais peut-être uniquement dans des sous-populations spécifiques. D'autres variantes génétiques et associations génétiques du gène α -synucléine SNCA ont été confirmés pathologiquement dans l'AMS.

Cependant, les observations de mosaïcisme avec des gains de nombre de copies SNCA dans les neurones dopaminergiques nigraux dans la MP et l'AMS suggèrent que les mutations somatiques pourraient être un facteur de risque dans les synucléinopathies sporadiques. Cette hypothèse est étayée par les résultats des profils de variantes du nombre de copies somatiques à l'échelle du génome à partir de cellules de substantia nigra, pons et putamen dans l'AMS, bien que le besoin d'ensembles de données de contrôle limite l'étendue des conclusions qui peuvent être tirées. Les mutations du gène GBA de la glucocérébrosidase, liées au trouble de stockage lysosomal de la maladie de Gaucher et à un risque élevé de développer la MP, semblent avoir une association plus limitée avec l'AMS, le GBAT408M étant identifié comme un facteur de risque. Bien que des études antérieures n'aient pas réussi à montrer une association de la mutation LRRK2G2019S avec l'AMS^{100,101}, des rapports récents ont identifié cette mutation dans des cas uniques de la maladie. En outre, il a été suggéré que les variants exoniques de LRRK2 contribuent à la sensibilité à l'AMS, mais peut-être uniquement dans des sous-populations spécifiques.

² , le cytosquelette **est la charpente de l'architecture de la cellule et contrôle ses mouvements et les mouvements de ses structures internes.** Il est composé de microfilaments (actine F), de microtubules (tubuline) et de filaments intermédiaires.

D'autres variantes génétiques et associations génétiques du gène α -synucléine SNCA dans l'AMS sont confirmées pathologiquement. Cependant, les observations de mosaïcisme avec des gains de nombre de copies SNCA dans les neurones dopaminergiques nigraux dans la MP et l'AMS suggèrent que les mutations somatiques pourraient être un facteur de risque dans les synucléinopathies sporadiques. Cette hypothèse est étayée par les résultats des profils de variantes du nombre de copies somatiques à l'échelle du génome à partir de cellules de substantia nigra, pons et putamen dans l'AMS, bien que le besoin d'ensembles de données de contrôle limite l'étendue des conclusions qui peuvent être tirées. Les mutations du gène GBA de la glucocérébrosidase, liées au trouble de stockage lysosomal de la maladie de Gaucher et à un risque élevé de développer la MP, semblent avoir une association plus limitée avec l'AMS, le GBAT408M étant identifié comme un facteur de risque.

Bien que des études antérieures n'aient pas réussi à montrer une association de la mutation LRRK2G2019S avec l'AMS, des rapports récents ont identifié cette mutation dans des cas uniques de la maladie. En outre, il a été proposé que les variants exoniques de LRRK2 contribuent à la sensibilité à l'AMS, mais peut-être uniquement dans des sous-populations spécifiques. D'autres variantes génétiques et associations génétiques avec l'AMS ont été signalées au fil des ans, notamment des gènes liés à l'inflammation, au dysfonctionnement mitochondrial et au stress oxydatif. Malheureusement, la plupart des études qui ont montré ces effets sont limitées par l'investigation de petites cohortes et le manque de réplification. Les **études d'association pangénomique** (GWAS) de 918 patients atteints d'AMS et de 3 864 témoins n'ont pas identifié de loci significatifs associés à la maladie et, contrairement à d'autres études, n'ont pas pu associer la variation génétique commune de SNCA et de COQ2 à l'AMS.

Un GWAS plus récent dans 731 cas avec AMS et 2 898 témoins a identifié une association de maladie avec rs16859966 sur le chromosome 3 et un lien potentiel proposé de ZIC1 et ZIC4 (qui codent les protéines à doigts de zinc du cervelet 1 et 4) avec la vulnérabilité neuronale dans l'AMS. **Malgré les résultats génétiques contradictoires et largement non concluants jusqu'à présent, la spécificité de la population AMS et les preuves de cas familiaux rares soutiennent l'implication de mécanismes génétiques dans l'AMS.**

En particulier, le sous-type Parkinson d'AMS prédomine dans les populations nord-américaines et européennes, ce qui contraste avec la prédominance de la variante cérébelleuse MSA dans les cohortes japonaises. Les gènes candidats potentiellement intéressants observés dans une GWAS de sujets caucasiens AMS (FBXO47, ELOVL7, EDN1 et MAPT) n'ont pas conféré de risque significatif dans une population chinoise. En fait, des différences de population ont également été détectées en relation avec des variantes génétiques spécifiques associées à l'AMS familiale rare. Une variante du gène COQ2 liée à une famille japonaise atteinte d'AMS était significativement associée à l'AMS dans des cas japonais sporadiques¹¹⁰, mais pas dans les cas nord-américains, européens ou chinois atteints d'AMS.

Pris ensemble, ces résultats soulignent le rôle des antécédents génétiques spécifiques à la population dans le risque d'AMS, qui doivent être pris en compte dans la conception des études génétiques sur l'AMS. Bien que les familles avec des cas héréditaires d'AMS soient rares, leur identification fournit des preuves de l'héritabilité génétique et donc l'existence probable de gènes associés au risque d'AMS. Une famille allemande avec une AMS confirmée post-mortem et une éventuelle transmission autosomique dominante a été signalée, mais le gène sous-jacent n'a pas encore été identifié. Quatre familles multiplex, chacune avec deux frères et sœurs affectés, ont été identifiées au Japon, une famille étant consanguine et porteuse de mutations COQ2. Le nombre limité de familles AMS et le manque habituel de confirmation du diagnostic neuropathologique des cas familiaux présentant une présentation clinique phénotypique de type AMS entravent considérablement les progrès de la découverte de gènes à risque et la compréhension des déclencheurs possibles et des mécanismes de la maladie. Une analyse rétrospective suggère que 40 % des cas d'AMS ont des antécédents familiaux de troubles neurodégénératifs. Ces familles présentent souvent un profil neurodégénératif héréditaire mixte, généralement dans le spectre de l' α -synucléinopathie, y compris les présentations AMS ou de type AMS, entre autres. Curieusement, une étude a montré que des parents atteints de parkinsonisme héréditaire développaient une pathologie LBD ou AMS, malgré l'absence de mutation dans SNCA¹²⁶. Une étude plus récente a décrit un pedigree de six générations, y compris des cas d'AMS et de MP confirmés neuropathologiquement avec démence, sans cause héréditaire spécifique détectable. En revanche, des cas familiaux ont

également été trouvés qui présentaient une triplication du locus SNCA ou une mutation SNCAG51D en parallèle à la MP et présentaient une pathologie oligodendrogliale α -synucléine rappelant l'AMS.

Un rapport récent sur la synucléinopathie d'apparition juvénile, dans lequel le modèle de repliement de l' α -synucléine mutante rappelait les filaments d'AMS, suggérant des mécanismes de fibrillation partagés, est également pertinent pour le rôle putatif des mutations SNCA dans l'AMS. En effet, la coexistence familiale de l'AMS et des pathologies neurodégénératives héréditaires ne se limite pas aux α -synucléinopathies : des pedigrees intrigants de sclérose latérale amyotrophique coexistant avec des expansions répétées d'hexanucléotides dans C9orf72 et AMS ont été rapportés cependant, une association d'expansions répétées de C9orf72 avec un risque accru d'AMS n'est pas trouvée. Une autre ligne de recherche s'est concentrée sur le chevauchement génétique putatif entre AMS et l'ataxie spinocérébelleuse (SCA). Bien que les preuves globales d'une association entre les SCA et l'AMS soient faibles, certaines familles avec des expansions répétées de triplets dans les gènes SCA1 et SCA3 variables et la pathologie AMS ont été rapportées. Par exemple, l'expansion répétée biallélique récessive dans le gène RFC1 (AAGGG)_{exp} - une cause fréquente d'ataxie tardive qui se retrouve dans plus de 90% des cas d'ataxie cérébelleuse, de neuropathie et de syndrome d'aréflexie vestibulaire - a été récemment identifiée dans un petit sous-groupe de patients atteints d'AMS. Cela élargit le spectre phénotypique clinique des troubles liés à RFC1137. Un autre rapport de cas a en outre lié l'ataxie cérébelleuse, la neuropathie et le syndrome d'aréflexie vestibulaire et les expansions bialléliques de RFC1 avec une présentation clinique putative d'AMS, y compris le parkinsonisme avec une atteinte autonome sévère. Dans l'ensemble, cependant, des preuves concluantes d'une association entre la maladie liée à RFC1 et la neuropathologie spécifique à l'AMS font toujours défaut. Ils suggèrent que **les déclencheurs de l'AMS sont susceptibles d'être multifactoriels**, ce qui dans certains cas peut inclure, mais sans s'y limiter, la dose et/ou la modification de l' α -synucléine et/ou le dysfonctionnement mitochondrial.

Cependant, le manque de preuves d'un lien génétique concluant entre les membres de la famille et le risque d'AMS dans certaines des familles décrites suggèrent que des associations héréditaires peuvent encore exister qui sont inférieures aux seuils ou méthodologies actuellement appliqués. Des approches alternatives récentes pour étudier les mécanismes pathologiques de l'AMS comprennent des études d'étiologies génétiques partagées. Par exemple, l'AMS et la maladie intestinale inflammatoire présentent un chevauchement génétique, impliquant un dysfonctionnement immunitaire et intestinal dans la cascade pathogène de l'AMS. Enfin, des approches telles que la recherche d'associations polygéniques de risque-score pourraient permettre de mieux prédire les effets cumulatifs de la charge génétique et pourraient faciliter les découvertes génétiques dans l'AMS, si elles existent.

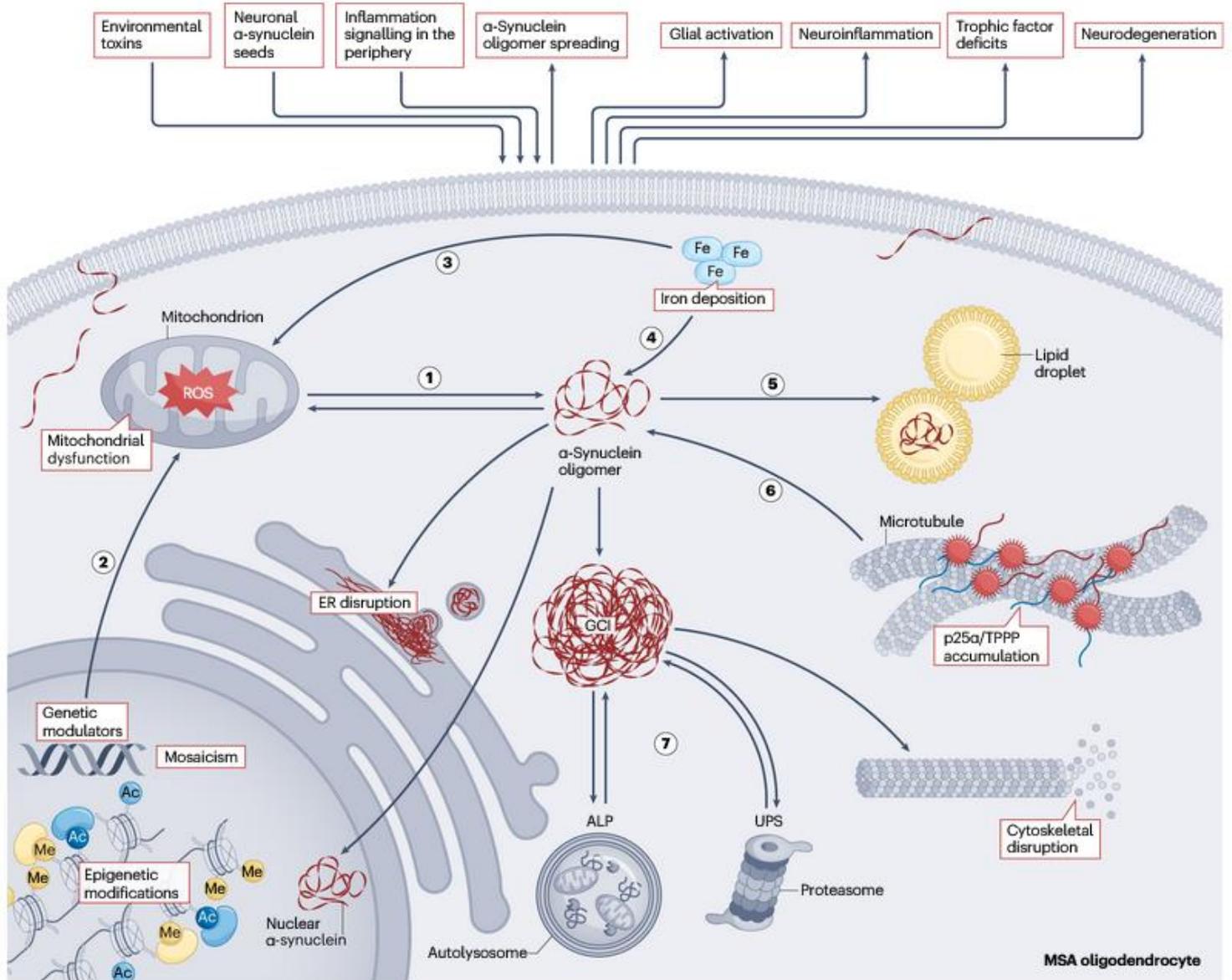


Fig. 2 | Dysfonctionnement multifactoriel de l'oligodendroglie dans l'atrophie multi-systématisée - cascades pathogènes putatives.

Au sein des oligodendrocytes d'atrophie multi-systématisée (AMS), le mauvais repliement et l'agrégation de l' α -synucléine sont associés à la présence d'un dysfonctionnement mitochondrial, d'un stress oxydatif et de la production d'espèces réactives de l'oxygène (ROS) (1), qui peuvent résulter de modifications génétiques, y compris le nombre de copies, variation et mosaïcisme (2) ou accumulation pathologique de fer (3). Le fer (4) ou d'autres composants inconnus peuvent moduler le milieu intracellulaire favorisant l'oligomérisation de l' α -synucléine ainsi qu'une homéostasie lipidique dysfonctionnelle (5) conduisant à une perturbation de la myéline. Ce dernier est en outre associé à la relocalisation de p25 α /TPPP dans le cytoplasme périnucléaire (6), qui s'est avéré précéder l'agrégation de l' α -synucléine. Enfin, un dysfonctionnement de la voie autophagie-lysosomale (ALP) et, dans une moindre mesure, de la voie ubiquitine-protéasomique (UPS) (7) entraînent un stress protéolytique et une stase de la clairance des protéines dans la cellule. L'agrégation de l' α -synucléine interfère en retour et aggrave le dysfonctionnement de plusieurs organites, y compris le réticulum endoplasmique (RE) et la perturbation du cytosquelette ainsi que les modifications épigénétiques dans le noyau. Les processus pathogènes intracellulaires dans les oligodendrocytes AMS sont fortement affectés par le milieu environnant, y compris l'exposition putative aux toxines, les graines d' α -synucléine neuronale ou la signalisation inflammatoire. À son tour, l' α -synucléinopathie oligodendrogliale peut entraîner une activation ingliale, une neuroinflammation, des déficits neurotrophiques et, finalement, une neurodégénérescence. GCI, inclusion cytoplasmique gliale.

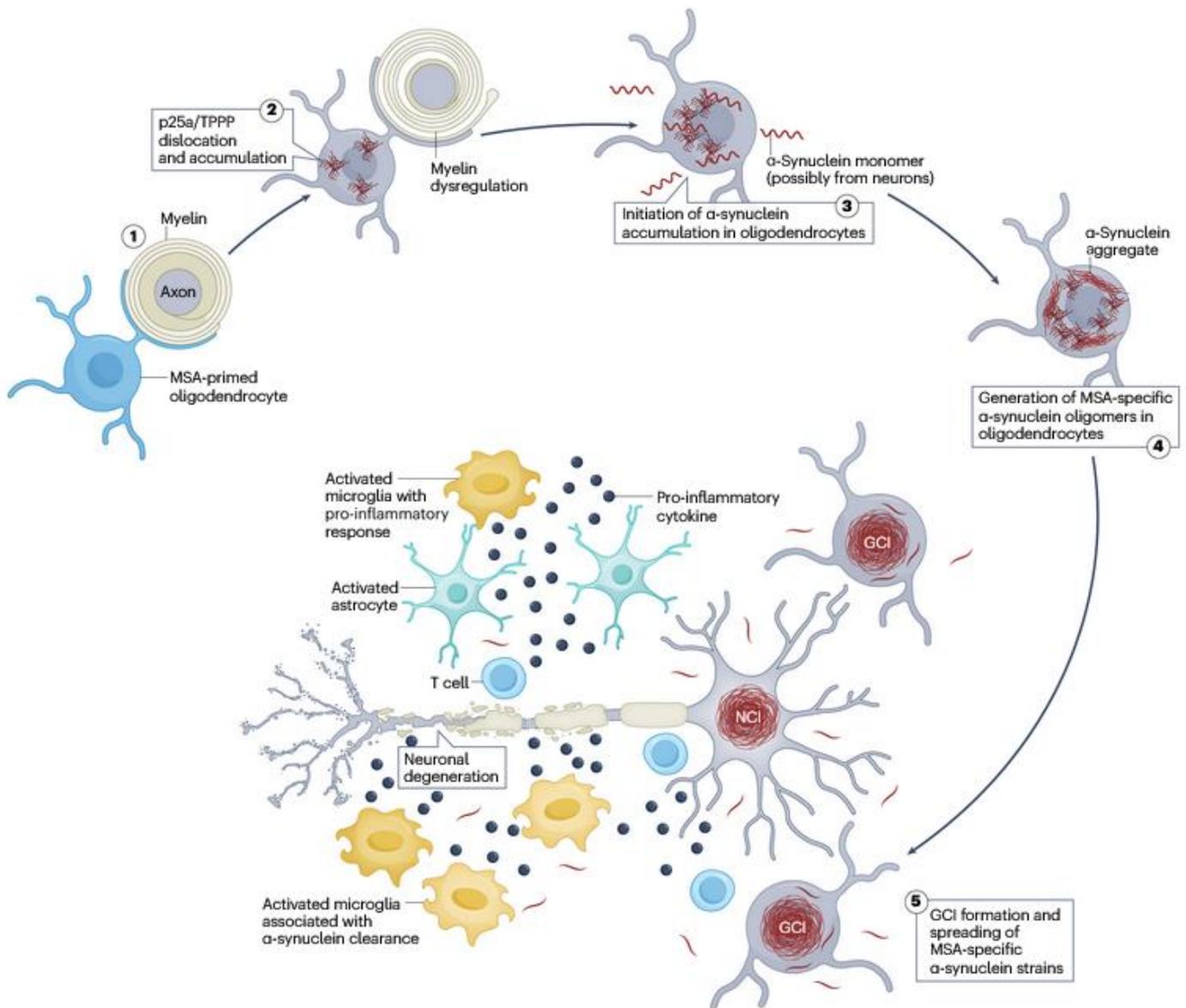


Fig. 3 | Compréhension actuelle de l'oligodendroglie primaire sous-jacente au processus neurodégénératif dans l'atrophie multisystématisée. L'oligodendroglie (1) de l'atrophie multi-systématisée intrinsèquement dysfonctionnelle (AMS), lorsqu'elle est exposée à des facteurs de stress liés à un déséquilibre de la régulation génétique ou épigénétique, à un stress mitochondrial, inflammatoire ou oxydatif, peut entraîner une dérégulation particulière de la myéline (2), qui peut servir d'amorce pour le mauvais repliement et l'agrégation de l' α -synucléine dans les oligodendrocytes avec une source neuronale putative d' α -synucléine (3). Les propriétés intracellulaires spécifiques des oligodendroglies dictent la génération d'oligomères spécifiques d'AMS (4), qui servent à la formation d'inclusions cytoplasmiques gliales (GCI) (5). Les oligomères d' α -synucléine AMS se sont également propagés à d'autres cellules, entraînant l'ensemencement d'inclusions cytoplasmiques neuronales (NCI), qui sont structurellement différentes des corps de Lewy, ainsi que l'activation de la microglie et de l'astroglie. La microglie et l'astroglie activées libèrent des signaux pro-inflammatoires qui, en outre, attirent les lymphocytes T et, par leur activation, s'ajoutent à l'environnement de corruption dans le cerveau des personnes atteintes d'AMS. L'explosion de facteurs neurotoxiques et le dysfonctionnement cellulaire qui s'ensuit conduisent finalement à une neurodégénérescence progressive.

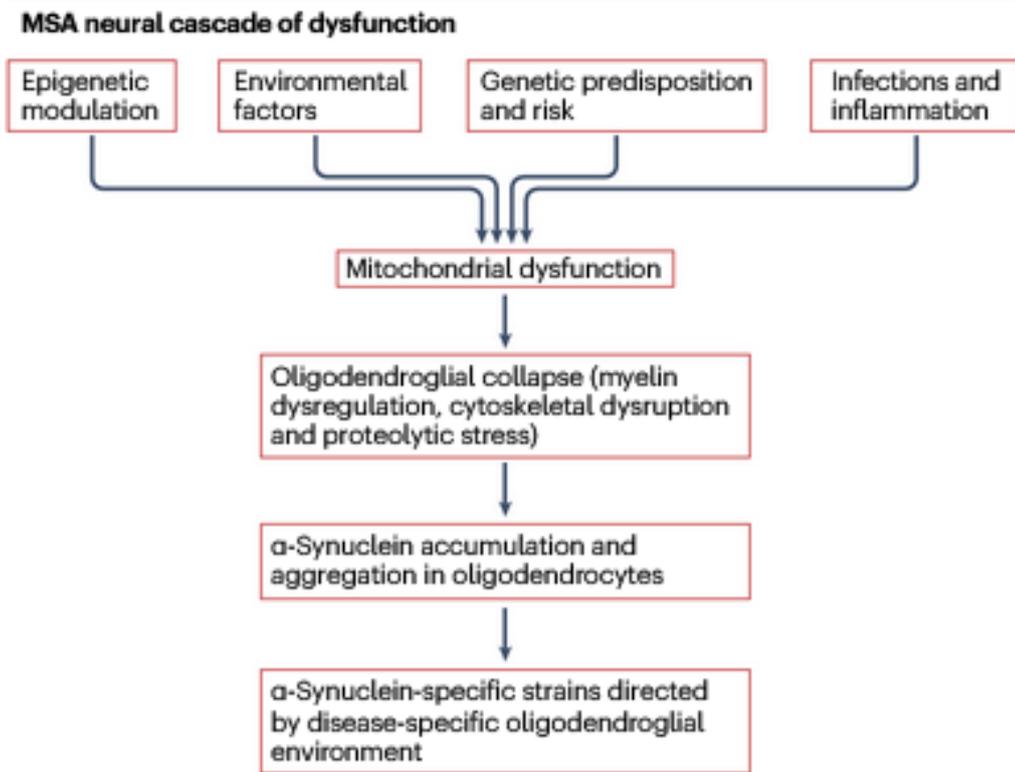


Fig. 4 | Initiateurs putatifs de l'atrophie multi-systématisée.

Une cascade d'événements agissent de concert pour déclencher un dysfonctionnement neuronal spécifique de l'atrophie multi-systématisée (AMS), commençant éventuellement par une déficience mitochondriale (comme suggéré par des études basées sur des cellules souches pluripotentes induites^{16,17}), ce qui conduit à un dysfonctionnement oligodendroglial et à une pathologie α -synucléine qui possède une signature moléculaire particulière.

Modulateurs épigénétiques dans MSA

Une analyse récente à l'échelle de l'épigénome de la substance blanche de personnes atteintes d'AMS a montré une méthylation de l'ADN considérablement modifiée. Les gènes associés à ces altérations sont impliqués dans l'endocytose médiée par la clathrine, la dynamique du cytosquelette, le transport vésiculaire, le trafic des récepteurs de fret entre Golgi et le réticulum endoplasmique et la myélinisation, suggérant un contrôle moléculaire épigénétique possible de ces gènes dans l'AMS. Curieusement, l'association la plus forte révélée par une analyse de réseau de co-méthylation était entre AMS et un module dans SNCA (cg15402943) contenant une région où un nucléotide cytosine est suivi d'un nucléotide guanine dans la séquence linéaire des bases le long de la direction 5' → 3' (CpG)¹⁴⁰.

Le rôle des mécanismes de contrôle épigénétiques dans la pathogenèse de l'AMS a été étayé par des études expérimentales : l' α -synucléine se trouve dans les inclusions nucléaires de l'AMS et peut agir comme un modulateur nucléaire de l'acétylation des histones. En effet, l'inhibition de l'histone désacétylase est capable d'arrêter la progression de la maladie dans un modèle murin d'AMS avec surexpression transgénique de SNCA humaine dans des oligodendroglia¹⁴³. Dans le même modèle AMS, l' α -synucléine dans les oligodendrocytes est liée à une dérégulation précoce du réseau de régulation microARN-ARNm, soutenant davantage le rôle des mécanismes épigénétiques putatifs dans la neurodégénérescence AMS. Une étude post-mortem de striata AMS a identifié des niveaux anormaux de microARN associés à la maladie à prions et à l'inflammation, entre autres processus. D'autres expériences in vitro ont démontré un lien entre les microARN et l'agrégation de l' α -synucléine dans les oligodendrocytes par des déficits dans le système de clairance des protéines. Une étude plus approfondie de l'implication épigénétique possible dans l'AMS sera cruciale pour identifier les mécanismes de contrôle moléculaire, qui peuvent être soit un déclencheur de la pathologie GCI, soit un régulateur en aval de la neurodégénérescence.

Un autre problème important non résolu lié à l'étiologie de l'AMS reste l'implication de toxines environnementales. Quelques études épidémiologiques ont tenté de lier l'exposition aux solvants organiques et les antécédents professionnels de l'agriculture à un risque plus élevé d'AMS; cependant, toutes ces études ont été considérées comme sous-alimentées. Dans l'ensemble, les preuves tendent à soutenir une combinaison de facteurs qui peuvent interagir de

certaines manières pour déclencher la cascade pathogénique spécifique de l'AMS (Fig.4) et ses multiples facettes de présentation clinique (Encadrés 1 et 2).

Conclusion

L'AMS est une maladie orpheline essentiellement sporadique et, en raison de sa faible prévalence et de l'apparition tardive des symptômes, il a été difficile d'identifier les initiateurs de la maladie et d'étudier les mécanismes qui entraînent sa progression. **Les analyses génétiques et les associations n'indiquent pas sans équivoque une pathologie génétique spécifique**, et l'AMS est actuellement considérée comme une **maladie multifactorielle avec des composantes génétiques, épigénétiques, environnementales et infectieuses** contribuant à un dysfonctionnement cérébral sélectif, affectant en particulier la lignée oligodendrogliale.

Le matériel d'autopsie a fourni des informations sur l'image du stade terminal de la neuropathologie AMS. Ce dernier a été récapitulé dans des modèles animaux mécanistes, qui servent d'outil pratique pour étudier des mécanismes spécifiques de neurodégénérescence en aval, en particulier ceux liés à l'accumulation oligodendrogliale d' α -synucléine et de souches spécifiques d' α -synucléine.

De nouvelles stratégies de modélisation, y compris des modèles basés sur des cellules souches pluripotentes induites, ont déjà été introduites, et leur développement et raffinement futurs devraient fournir de meilleures lectures qui contournent les limites neurobiologiques des modèles de rongeurs. Les principaux composants de la cascade pathogénique de l'AMS, en particulier l' α -synucléine et la neuro-inflammation, comme discuté dans cette revue, servent actuellement de cibles importantes pour la découverte de biomarqueurs ainsi que la modification de la maladie. Malheureusement, à ce jour, il n'a pas été possible de reproduire les avantages des approches thérapeutiques précliniques dans des essais contrôlés randomisés sur l'homme. Les efforts actuels se concentrent sur la fourniture de biomarqueurs précoces et de progression fiables basés sur notre compréhension de la pathogenèse de l'AMS, comme discuté ici. De nouveaux radiotraceurs tels que AC112589, qui ciblent l' α -synucléine, donnent l'espoir d'un diagnostic amélioré et d'un engagement de cible médicamenteuse dans l'AMS.

Multiple system atrophy: at the crossroads of cellular, molecular and genetic mechanisms

Review article Check for updates Multiple system atrophy: at the crossroads of cellular, molecular and genetic mechanisms Nadia Stefanova¹ & Gregor K. Wenning

Abstract Multiple system atrophy (MSA) is a rare oligodendroglial α -synucleinopathy characterized by neurodegeneration in striatonigral and olivopontocerebellar regions and autonomic brain centres. It causes complex cumulative motor and non-motor disability with fast progression and effective therapy is currently lacking. The difficulties in the diagnosis and treatment of MSA are largely related to the incomplete understanding of the pathogenesis of the disease. The MSA pathogenic landscape is complex, and converging findings from genetic and neuropathological studies as well as studies in experimental models of MSA have indicated the involvement of genetic and epigenetic changes; α -synuclein misfolding, aggregation and spreading; and α -synuclein strain specificity. These studies also indicate the involvement of myelin and iron dyshomeostasis, neuroinflammation, mitochondrial dysfunction and other cell-specific aspects that are relevant to the fast progression of MSA. In this Review, we discuss these findings and emphasize the implications of the complexity of the multifactorial pathogenic cascade for future translational research and its impact on biomarker discovery and treatment target definitions.

Box 1

Clinical diagnosis of multiple system atrophy The clinical diagnosis of multiple system atrophy (MSA) is based on the presence of cardinal non-motor and motor features including urogenital and cardiovascular failure, parkinsonism and cerebellar ataxia². Urogenital failure may present with urinary urge incontinence and post-void urinary retention. The cardiovascular deficits include neurogenic orthostatic hypotension featuring a blood pressure drop of $\geq 20/10$ mmHg within 3 min of standing or head-up tilt. Depending on the predominant motor syndrome, a parkinson (MSA-P) or cerebellar (MSA-C) variant of the disease is defined. According to the recent MSA criteria², the clinical diagnosis is considered established when autonomic failure, a characteristic motor syndrome (L-DOPA refractory parkinsonism and/or cerebellar ataxia) and supporting clinical features ('red flags') as well as MRI abnormalities are present. A diagnosis of probable MSA is less rigorous and does not require MRI. Supporting clinical features may include postural instability, severe speech impairment, severe dysphagia, stridor, inspiratory sighs, cold discoloured extremities, emotional incontinence, erectile dysfunction and rapid progression. Typical MRI abnormalities are atrophy of the putamen, pons, middle cerebellar peduncle and cerebellum; the 'hot cross bun' sign linked to degeneration of transverse pontocerebellar tracts as well as increased diffusivity of the putamen and the middle cerebellar peduncle. In addition, research criteria for possible prodromal MSA have been proposed. These may include polysomnography-proven REM sleep behaviour disorder, neurogenic orthostatic hypotension or urogenital failure (erectile dysfunction before the age of 60 with voiding difficulties or with post-void urinary residual volume >100 ml or urinary urge incontinence) combined with subtle cerebellar or parkinsonian features. Loss of olfaction or a sustained beneficial response to L-DOPA is among the exclusion criterion for MSA diagnosis pointing towards Parkinson disease.

Introduction

Multiple system atrophy (MSA) is a rare neurodegenerative disorder that belongs to the spectrum of α -synucleinopathies, together with Parkinson disease (PD) and dementia with Lewy bodies (DLB)¹. The cause of MSA is unknown. Clinically, onset is after the third decade of life², but the actual disease initiation remains poorly defined. The clinical diagnosis is

based on variable combinations of cardinal and supporting clinical features including autonomic dysfunction (uro- genital failure and cardiovascular autonomic failure), parkinsonism and a cerebellar syndrome 2 (Box 1).

MSA is characterized by rapid disease progression, and patients are commonly wheelchair-bound within 5–8 years 3 with an approximate life expectancy of up to 10 years after diagnosis 3 . A definite diagnosis of MSA is only possible post-mortem. It is based on the neuropathological finding of abundant glial cytoplasmic inclusions (GCIs) representing aggregates of fibrillar α -synuclein in oligodendrocytes, associated with striatonigral and/or olivopontocerebellar neurodegeneration 4 . The current clinical limitations in terms of delayed diagnosis and lack of Box 1 Clinical diagnosis of multiple system atrophy The clinical diagnosis of multiple system atrophy (MSA) is based on the presence of cardinal non-motor and motor features including urogenital and cardiovascular failure, parkinsonism and cerebellar ataxia 2 . Urogenital failure may present with urinary urge incontinence and post-void urinary retention. The cardiovascular deficits include neurogenic orthostatic hypotension featuring a blood pressure drop of $\geq 20/10$ mmHg within 3 min of standing or head-up tilt. Depending on the predominant motor syndrome, a parkinson (MSA-P) or cerebellar (MSA-C) variant of the disease is defined. According to the recent MSA criteria 2 , the clinical diagnosis is considered established when autonomic failure, a characteristic motor syndrome (L-DOPA refractory parkinsonism and/or cerebellar ataxia) and supporting clinical features ('red flags') as well as MRI abnormalities are present. A diagnosis of probable MSA is less rigorous and does not require MRI. Supporting clinical features may include postural instability, severe speech impairment, severe dysphagia, stridor, inspiratory sighs, cold discoloured extremities, emotional incontinence, erectile dysfunction and rapid progression. Typical MRI abnormalities are atrophy of the putamen, pons, middle cerebellar peduncle and cerebellum; the 'hot cross bun' sign linked to degeneration of transverse pontocerebellar tracts as well as increased diffusivity of the putamen and the middle cerebellar peduncle. In addition, research criteria for possible prodromal MSA have been proposed. These may include polysomnography-proven REM sleep behaviour disorder, neurogenic orthostatic hypotension or urogenital failure (erectile dysfunction before the age of 60 with voiding difficulties or with post-void urinary residual volume >100 ml or urinary urge incontinence) combined with subtle cerebellar or parkinsonian features. Loss of olfaction or a sustained beneficial response to L-DOPA is among the exclusion criterion for MSA diagnosis pointing towards Parkinson disease of treatment, the social burden of rapid disease progression and early disability and death of the people with the disease highlight the need for advances in our understanding of the pathogenic mechanisms of MSA. Novel insights into pathogenesis are likely to guide the development of diagnostic and disease-progression biomarkers as well as the identification of therapies that can not only provide relief from symptoms but also attenuate its progression.

The key players in MSA pathogenesis have been identified mainly through genetic studies, post-mortem neuropathological studies (Box 2) and experimental models (Fig. 1 and Box 3). In this Review, we summarize the progress in our understanding of MSA pathogenesis and the implications for future translational research. We discuss the impact of α -synuclein misfolding, aggregation and spreading, multiple cell-specific aspects of the disease process and the role of genetics and of epigenetic modulation in MSA.

α -Synuclein aggregation in MSA

Protein aggregation is a leading pathological feature of neuro- degenerative disorders. MSA belongs to the group of classical α -synucleinopathies (together with PD and DLB, which are collectively known as Lewy body disease (LBD)) because of the intracellular accumulation of misfolded α -synuclein 5 . Recent observations of α -synuclein accumulation in the peripheral and autonomic nervous systems of people with REM sleep behaviour disorder and pure autonomic failure — two conditions that may precede the diagnosis of LBD or MSA — have prompted their classification further to prodromal synucleinopathies 6,7 . Intracellular α -synuclein aggregates such as Lewy bodies (LBs) in LBD and GCIs in MSA are required for a conclusive post-mortem diagnosis. Owing to the central role of GCIs in MSA diagnosis, a major focus of MSA research is to understand the role of α -synuclein misfolding and aggregation within the molecular pathogenic cascade of the disease.

The origin of the misfolded α -synuclein and the cause of its accumulation in GCIs in MSA brains remain obscure to date. α -Synuclein is generally considered a neuronal protein. In view of the possible cell-to-cell spreading of α -synuclein, as discussed subsequently, neurons appear to be a plausible source of the aggregating protein. An important and still

unanswered question to consider is why α -synuclein accumulates in oligodendrocytes exclusively in MSA, but not in other synucleinopathies. The level of neuronal SNCA mRNA expression in the MSA brain is unchanged when compared with healthy brains 8 . Aggregation of α -synuclein in healthy oligodendroglia is not convincingly supported by experimental propagation patterns 9,10 (Fig. 1a). The role of oligodendroglia-proper (endogenous) α -synuclein in GCI formation is also under debate. Quantitative PCR analysis shows SNCA mRNA expression in laser-captured oligodendrocytes of both MSA and control brains with some non-significant tendency of increased expression in MSA 8 . Furthermore, oligodendroglial progenitor cells (OPCs) and immature oligodendrocytes express SNCA mRNA both in rodents and in humans 11,12 . Importantly, the density of OPCs is increased in MSA 13 , possibly as a compensatory mechanism of the system to cope with the existing myelin dysfunction. Yet, OPCs, which represent the maturation stage with confirmed SNCA mRNA endogenous expression, show no GCIs in MSA brains 13 . The latter finding may be interpreted speculatively in several ways: there might be insufficient time for the young OPCs to generate GCIs, or mature oligodendrocytes might provide a different intracellular milieu or have disease-specific deficits in protein handling, which enables GCI formation in mature oligodendrocytes but not in OPCs 14,15 .

Signs of a primary oligodendroglial dysfunction in MSA

A number of subcellular changes in oligodendroglia are thought to contribute to the pathogenic cascade and α -synuclein aggregation in MSA (Fig. 2). Early observations in neural and glial progenitors or neurons obtained by differentiation of induced pluripotent stem cells derived from patients with MSA indicate the existence of cellular pathology, particularly mitochondrial disruption associated with increased stress susceptibility, which may precede the α -synuclein aggregate formation 16–18 . The cellular dysfunction of oligodendroglia in MSA appears to also reflect proteolytic deficiency, which might promote α -synuclein accumulation 19 . Interestingly, post-mortem findings suggest that tubulin polymerization-promoting protein p25 α (p25 α /TPPP), a myelin-associated protein, may get dislocated from the cell processes and myelin sheaths to the cell body of MSA oligodendrocytes and, in fact, this process may precede and mediate α -synuclein aggregation in MSA oligodendroglia 20 . p25 α /TPPP is found to be also relocated from the nucleus to the perinuclear cytoplasm of MSA oligodendroglia 21 . Furthermore, experimental in vitro work has proposed dysfunctional autophagic pathways relevant to the protein degradation of both p25 α /TPPP and α -synuclein in oligodendroglia 22 . In addition, lipid levels are decreased in white matter lesions in MSA, reflecting myelin disruption and possibly interfering with α -synuclein aggregation 23,24 . All these observations prompt the assumption that MSA oligodendroglia may have a primary dysfunction (primary oligodendroglialopathy) preceding the accumulation of α -synuclein 25 (Fig. 3); however, the initiators of the oligodendroglial dysfunction (genetic, epigenetic or environmental) leading to the observed subcellular modifications are still unclear. Interestingly, in skin biopsies of patients with MSA, aggregates positive for α -synuclein phosphorylated at Ser129 are identified in Schwann cells of spinal roots and peripheral nerves 26 as well as in Remak non-myelinating Schwann cells 27 , indicating a possibility for a more widespread glial dysfunction in MSA not found in other synucleinopathies 28 . Future studies on the progression of α -synuclein aggregation in Schwann cells in people with MSA may offer a unique opportunity to follow the mechanisms of glial protein aggregation, which is currently poorly understood 11,13 .

The role of GCIs in the MSA pathogenic cascade

The timing of formation of GCIs during the disease progression, that is, whether GCIs are a consequence of the neurodegeneration or precede it, is unknown. Similar to LBs, α -synuclein fibrils are not the sole biochemical component of GCIs, suggesting that GCIs might be a phenomenon that is downstream of neurodegenerative processes, a 'trash bin' of MSA oligodendrocytes 29 . However, some rare cases labelled by physicians as 'minimal change MSA', which present with either asymptomatic or early non-motor symptoms and widespread GCIs without widespread neuronal loss, strongly support the hypothesis that α -synuclein misfolding and aggregation in MSA oligodendrocytes are an early pathogenic event preceding neuronal loss 30–35 . This hypothesis is supported by α -synuclein-triggered MSA models, in which GCI-like pathology is the initial event setting off further neuroinflammation and neuronal loss and leading to non-motor and motor dysfunction 36 (Fig. 1b).

Neuronal inclusion pathology in MSA

Despite GCIs being the hallmark feature of MSA pathology, one should bear in mind that α -synuclein misfolding and aggregation also adversely affect neurons 37,38 . Detailed neuropathological examination has shown that, in some brain regions, GCIs may represent the only or major α -synuclein pathology, whereas neuronal α -synuclein inclusions are always accompanied by GCIs, implying that the neuronal inclusion pathology (cytoplasmic or nuclear), even if abundant, is secondary to the α -synuclein accumulation in oligodendroglia 37 . Intriguingly, the neuronal cytoplasmic inclusions in MSA differ ultrastructurally from LBs. In summary, it seems that neuronal α -synuclein may have a significant role in intracellular aggregate formation in MSA; however, a preceding oligodendroglial pathology (for example, dysfunction of protein or lipid processing 19–21,23,24) appears mandatory to generate widespread GCI pathology and MSA-specific α -synuclein strains, which trigger secondary neuronal α -synuclein aggregation different from LB formation in LBD.

Box 2

Neuropathology and clinicopathological correlates of multiple system atrophy The neuropathological hallmark features of multiple system atrophy (MSA) are widespread glial cytoplasmic inclusion representing multicomponent aggregates containing fibrillar, post-translationally modified α -synuclein in the cytoplasm of oligodendrocytes. The glial cytoplasmic inclusion burden correlates with neurodegeneration 147 in striatonigral and olivopontocerebellar regions, underlying parkinsonian and cerebellar features 148 . Autonomic failure in MSA is associated with abundant α -synuclein inclusion pathology and neuronal loss in the intermediolateral columns of the spinal cord and in brainstem autonomic areas, for example, pontomedullary reticular formation, dorsal motor nucleus of the vagus, rostromedial medulla, raphe nuclei, Edinger–Westphal nucleus, locus coeruleus and dorsal hypothalamus. α -Synuclein aggregates are also found in the cytoplasm and nuclei of neurons in multiple brain areas 37 . Importantly, neuronal cytoplasmic inclusions in MSA are distinct from Lewy bodies and can be differentiated by Gallyas silver staining 149 . The burden of neuronal cytoplasmic inclusions in the neocortex is linked to cognitive impairment in MSA 150 . Astroglial and microglial activation 62 accompany the selective distribution of neuronal loss and α -synuclein aggregates. Glial activation is associated with neuroinflammatory signalling including T cell infiltration 83 . It has an important role in mediating the progression of the disease and can be triggered by pathological α -synuclein strains. Myelin degeneration and demyelination are common on post-mortem examination 151 . Increased iron deposition has been consistently observed in MSA brains and suggests aberrations in iron handling 87 . Finally, peripheral nerves in MSA skin and visceral organs show aggregates of Ser129-phosphorylated, misfolded α -synuclein both in nerve fibres and in Schwann cells 27,152,153 .

MSA-specific α -synuclein strains and spreading

As mentioned already, α -synuclein strains in MSA differ substantially from those observed in PD or DLB. The difference has been demonstrated at the structural level by cryo-electron microscopy 28 . The synchrotron Fourier-transform infrared micro-spectroscopy analysis reveals much lower representation of β -sheet α -synuclein structure in GCIs, compared with LBs 39 . The structural diversity of α -synuclein in MSA results in a different profile of seeding activity, as demonstrated in variable test assays 40–43 . Within MSA, broad heterogeneity of seeding profiles has been identified both between patients with MSA and between different brain regions, but the contributing factors (protein titre and other factors) remain unclear 43 . The recent insights into structural and seeding diversity of MSA-derived α -synuclein strains raise multiple questions related to when, how and why the differences are generated and what is the consequence for disease pathology and the course of disease progression.

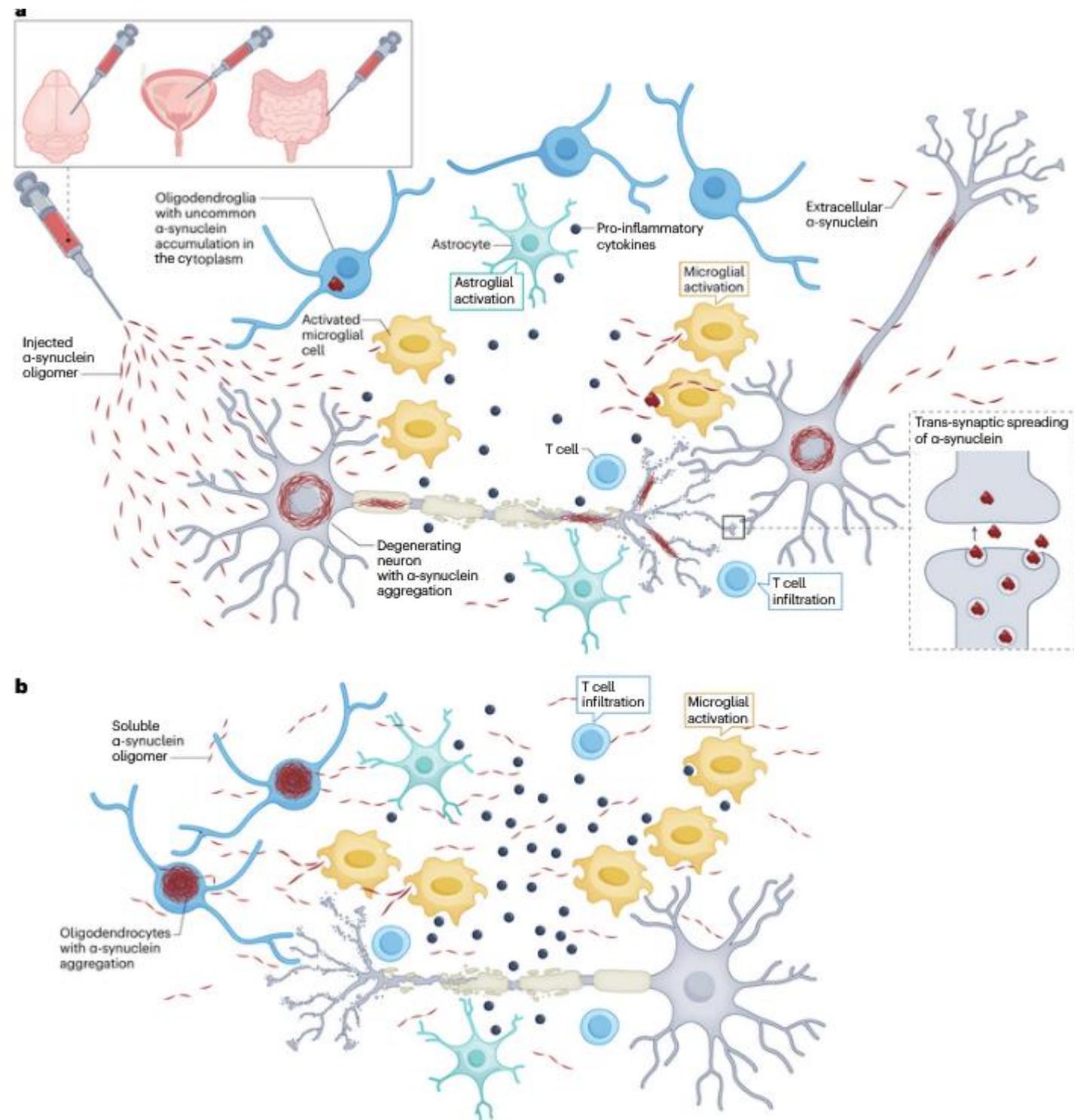


Fig. 1 | Experimental models of multiple system atrophy-like α -synucleinopathy. a, Propagation models are based on the local injection (brain, gastrointestinal tract and urinary bladder) of preformed fibrils of recombinant protein or patient-derived α -synuclein. These models are characterized by prominent neuronal aggregate formation, which propagates (predominantly trans-synaptically) to other neurons. Importantly, α -synuclein aggregates in oligodendrocytes are rare. Gliosis and neuroinflammatory responses accompany neurodegeneration. Activated microglial and astroglial cells release pro-inflammatory cytokines, which may exert toxic effects on neurons and modulate secondary infiltration of T cells, further aggravating the pro-inflammatory environment in the affected brain regions. Activated microglial cells with phagocytic activity play an important role in an attempt to clear the extracellular α -synuclein oligomers and to limit the spreading of

the pathology. b, Models with targeted overexpression of α -synuclein in oligodendrocytes feature glial cytoplasmic inclusion-like α -synuclein aggregates. The glial cytoplasmic inclusion pathology and the putative spreading of soluble α -synuclein oligomers trigger neuroinflammatory responses associated with the activation of microglia and astroglia as well as oligodendroglial dysfunction. This cascade of events leads to progressive region-specific neurodegeneration

Do they have a specific cellular tropism, which defines GCI formation? Do they code the specific clinicopathological traits of synucleinopathies? It has been proposed that the natively unfolded α -synuclein may form different assemblies under specific chemical and physical conditions 44 . Further experimental work suggests that the cellular milieu in oligodendroglia may be the defining trigger of the MSA-specific α -synuclein properties 14 . The α -synuclein strains, specifically oligomers, derived from GCIs of people with MSA trigger neuronal loss and demyelination in the brains of healthy primates, but do not cause widespread GCI-like aggregation 45 . The experiments in mice and rats suggest that the disease-specific strain does not define the cellular tropism that leads to α -synuclein aggregation in oligodendrocytes, but may dictate the neuronal loss and its severity 46,47 . Inoculation of α -synuclein oligomers (synthetic or MSA-derived) in the brains of rodents or primates results in progressive neuronal inclusion pathology linked to neuronal loss and neuroinflammation, but very rarely leads to actual GCI pathology 45,48,49 (Fig. 1a). The authors of an experimental study proposed that oligodendroglial α -synuclein pathology may be generated much slower when compared with neuronal α -synuclein pathology in propagation models 50 ; however, this hypothesis and its relevance to MSA are difficult to conceive for two reasons: first, the progression of α -synuclein propagation models is limited 49 , and second, human MSA is characterized by its fast progression 3 . Finally, support for the leading role of primary oligodendroglial pathology in relation to GCI formation after exposure to specific α -synuclein oligomers has recently been provided by findings that GCI-like pathology is triggered only in the presence of oligodendroglial α -synuclein overexpression, regardless of the exogenous α -synuclein template and its distinct amyloid structure, whereas the disease severity strongly depends on the type of the α -synuclein strain 46 . It is important to acknowledge here two current limitations: first, the majority of the theories on propagation and spreading of α -synuclein are based on studies in rodents or primates, limiting their relevance to humans; and second, the conclusions based on the use of artificially generated, preformed fibrils of recombinant protein must be interpreted with caution as they behave differently from patient-derived α -synuclein strains. Taken together, it can be hypothesized that α -synuclein, most likely originating from neurons, forms MSA-specific strains under the particular intracellular physicochemical conditions of dysfunctional oligodendroglia. The latter may be determined, for example, by the early myelin dysfunction and relocation of myelin proteins 20 or by early iron accumulation in oligodendroglia, which may mediate the specific α -synuclein seeding and fibrillation in MSA 51 . Although trans-synaptic propagation seems to be a prominent mechanism of LB spread between anatomically related regions as shown in rodent propagation models 48 , replicating a spreading mechanism that results in GCIs in rodents has been more difficult to demonstrate. Recent evidence indicates that connexin 32, a gap junction protein, facilitates uptake of oligomeric α -synuclein by oligodendrocytes 52 . Other putative mechanisms of α -synuclein spreading may include transfer through oligodendroglial exosomes 53 or, speculatively, oligodendroglial and/or microglial networks through tunnelling nanotubes 54 .

Role of α -synuclein in MSA progression

Although the mechanisms of oligodendroglial spreading of α -synuclein have yet to be fully elucidated, converging evidence from experimental studies in MSA models (Fig. 1) has provided insights into the causative role of α -synuclein oligomers and/or polymers in MSA-like neurodegeneration, including reports on the biological efficacy of α -synuclein-targeting with small molecules or immunotherapies 55–58 . The extent and the time window of involvement of α -synuclein aggregates and soluble strains in the induction of neurodegeneration in human MSA remain to be defined. The recent failure of immunotherapies in patients with early PD 59,60 suggests that the clearance of extracellular α -synuclein oligomers may not be sufficient to attenuate further spreading of inclusion pathology and the progressive neurodegeneration that results. A better understanding of the involvement of α -synuclein in the disease process will be crucial for the success of clinical trials with α -synuclein-targeting approaches. Furthermore, it is important to understand how α -synuclein interferes with other MSA-related pathogenic mechanisms, as discussed subsequently.

Other subcellular change Autopsy examination of MSA brains shows significant astrogliosis and microglial activation accompanying GCI pathology and neurodegeneration 61–65 . Although astrocytes and microglial cells are activated in response to pathological α -synuclein species in vitro 66,67 , intriguingly, astroglia in MSA do not show α -synuclein inclusions in contrast to PD, indicating disease specificity of the astroglial response 68 . Furthermore, astrogliosis seems to be more prominent in grey matter than in white matter regions when assessed by stereology in the MSA brain 64,65,69 , indicating that neuronal loss rather than white matter changes (including GCIs and α -synuclein) plays the leading role as the trigger of astroglial activation in MSA. By contrast, microglial activation in the MSA brain, again assessed using the stereology method, is prominent in both the grey and white matter, suggesting that α -synuclein pathology is the main driver of microglial activation in MSA 64,65,69 . This notion is corroborated by progression studies in a transgenic mouse model of MSA 70 , which suggests that α -synuclein-triggered microglial activation may be an early pathogenic event. Furthermore, early suppression of microglial activation in the same model rescues nigral dopaminergic neurons, consistent with α -synuclein playing a leading role in the activation of microglia in murine MSA-like neurodegeneration 71 .

BOX 3

Animal models of multiple system atrophy In vivo modelling of multiple system atrophy (MSA) is based on recapitulation of neuropathological features of the human disease with the aim of generating phenotypic testbeds for studies on pathogenesis, disease progression and screening of candidate disease-modifying interventions 154,155 . The following classes of models have been developed over the years: a. Neurotoxin models (mice, rats and primates) are based on the use of selective neurotoxins to generate combined nigral (6-hydroxydopamine and 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine (MPTP)) and striatal (quinolinic acid and 3-nitropropionic acid) lesions to replicate striatonigral degeneration with loss of dopaminergic response. These models are helpful to study the pathophysiology of striatonigral degeneration but lack α -synuclein pathology 155 . b. α -Synuclein overexpression models (mice, rats and primates) are based on the use of selective oligodendroglial promoters to trigger overexpression of α -synuclein in oligodendrocytes, either in conventional or inducible transgenic systems or by adeno-associated virus (AAV)-targeted overexpression 70,156–160 . The models generate α -synuclein-triggered progressive neurodegeneration with relevant motor and non-motor phenotypes and accompanying activation of microglia, astrogliosis, T cell infiltration and neuroinflammatory responses. The phenotype can be exacerbated towards 'full-blown' MSA-like pathology by exposure to oxidative or proteolytic stress 155,161 . These models have no proven neuron-to-oligodendroglia spreading of α -synuclein believed to take place in human MSA. The α -synuclein overexpression models are suitable to study downstream mechanisms of MSA-like neurodegeneration and to test treatment strategies targeting α -synuclein or subsequent steps of the pathogenic cascade. c. α -Synuclein propagation models are based on the injection of preformed fibrils or MSA-derived α -synuclein fibrils either intracerebrally or in peripheral organs, for example, urinary bladder 45,162,163 . Preformed fibrils do not exactly replicate α -synuclein conformations in human MSA, and the testing of human MSA-derived strains in rodent or primate brains may be limited by interspecies differences. These models are useful to study the toxicity and biological properties of MSA-specific α -synuclein strains and to understand possible mechanisms of MSA-like neurodegeneration. d. Induced pluripotent stem cell-based models are based on the application of induced pluripotent stem cell technologies; such models are believed to overcome the limitations of the species differences and lead towards understanding the early stages of MSA

Finally, PET studies demonstrate microglial activation in the brains of patients with MSA during early disease stages 72–74 , providing additional evidence for the aforementioned viewpoint. Taken together, both experimental and

neuropathological evidence support an important role of microglia in the pathogenesis and progression of MSA. How can microglia influence the disease course after being exposed to and activated by pathological α -synuclein? This may involve the generation of cytotoxic neuroinflammatory environment, including activation of the NLRP3 inflammasome; myeloperoxidase upregulation; and release of reactive oxygen species, nitric oxide and pro-inflammatory cytokines as in other neurodegenerative disorders 75–79 . Microglia may contribute to the spreading of α -synuclein pathology through exosomes 80 , but may also be involved in the degradation of pathological α -synuclein 54,66,81 . Ongoing and future studies applying single-cell profiling, spatial transcriptomics and proteomics will provide important insights into the microglial heterogeneity and disease-specific responses, which may further enhance our understanding of MSA pathogenesis. The inflammatory component in the pathogenesis of MSA is further supported by the shared genetic signatures that have been identified between MSA and inflammatory bowel disease 82 as well as by the detection of T lymphocyte infiltration in the MSA brain that may participate in the neurodegenerative process 83 . Although auto immune mechanisms are a key to immune-mediated demyelination and subsequent neurodegeneration in multiple sclerosis 84 , T lymphocyte involvement appears to emerge at a later stage in MSA brains, subsequent to local neuroinflammatory changes linked to α -synuclein pathology.

Other subcellular changes

In addition to the role of α -synuclein pathology, oligodendroglial dysfunction, mitochondrial deficits and inflammatory signalling, a number of other subcellular events have been potentially associated with the progression of neurodegeneration in experimental MSA models. The presence of synucleinopathy in oligodendroglia interferes with the neurotrophic support (for example, brain-derived neurotrophic factor or glia-derived neurotrophic factor) provided by oligodendrocytes. Indeed, delivery of glia-derived neurotrophic factor in a transgenic mouse model of MSA was neuroprotective 85 . In addition, oligodendrocytes are important iron depots in the brain and iron may have a crucial role in the aggregation of α -synuclein 86 . Furthermore, increased iron accumulation is present in the MSA brain 87 , corroborating the putative involvement of iron metabolism in MSA disease mechanisms. This hypothesis has been further strengthened by the ability of a low-affinity iron chelator, ATH434, to lower α -synuclein oligomerization and to attenuate neurodegeneration in a transgenic model of MSA 57 . There are other mechanisms implicated in MSA pathology. As already mentioned, autophagy dysfunction in MSA 88 may result from the accumulation of misfolded α -synuclein and further accelerate protein aggregation. Intriguing but yet unclear is the putative role of early cytoskeletal changes in MSA, for example, involving an MAPT genetic association 89 and disrupted subcellular transport and relocation of myelin proteins in MSA oligodendrocytes 20 . Unfortunately, owing to the current bias in the generation of disease models of MSA mainly initiating the disease by pathogenic α -synuclein overload (Fig. 1), all of the aforementioned events can only be identified as a consequence, and their role as primary driver of the disease process remains elusive.

Genetic modulators in MSA

An important step towards understanding the pathogenic mechanisms and events that underlie a disorder is the identification of genetic factors associated with it. MSA presents with low estimates of heritability 90 , which make it difficult to confirm the pure sporadic nature of the disease and also makes gene discovery studies highly challenging. Owing to the clinical and pathological overlaps between MSA and PD, many genetic studies of MSA have taken the pragmatic approach of targeting genes associated with PD. Although there is a long list of genes known to contribute to PD 91 , the genetic signature of MSA is far from conclusive. For example, no mutations have been identified in the coding region of the α -synuclein gene SNCA in pathologically confirmed MSA 92. However, observations of mosaicism with SNCA copy-number gains in nigral dopaminergic neurons in PD and MSA suggest that somatic mutations might be a risk factor in sporadic synucleinopathies 93. This hypothesis is supported by the outcomes of genome-wide somatic copy-number variant profiles from 169 cells from substantia nigra, pons and putamen in MSA, although the need of control data sets limits the extent of the conclusions that can be drawn 94,95. Mutations of the glucocerebrosidase gene GBA, linked to the lysosomal storage disorder Gaucher disease and to a high risk of developing PD, seem to have more limited association with MSA, with GBAT408M being identified as a risk factor 96–99. Although earlier studies failed to show an association

of the LRRK2G2019S mutation with MSA^{100,101}, recent reports identified this mutation in single cases of the disease^{102,103}. Furthermore, LRRK2 exonic variants have been proposed to contribute to MSA susceptibility, but possibly in specific subpopulations only¹⁰⁴. Other genetic variants and genetic associations the α -synuclein gene SNCA in pathologically confirmed MSA⁹². However, observations of mosaicism with SNCA copy-number gains in nigral dopaminergic neurons in PD and MSA suggest that somatic mutations might be a risk factor in sporadic synucleinopathies⁹³. This hypothesis is supported by the outcomes of genome-wide somatic copy-number variant profiles from 169 cells from substantia nigra, pons and putamen in MSA, although the need of control data sets limits the extent of the conclusions that can be drawn^{94,95}. Mutations of the glucocerebrosidase gene GBA, linked to the lysosomal storage disorder Gaucher disease and to a high risk of developing PD, seem to have more limited association with MSA, with GBAT408M being identified as a risk factor^{96–99}. Although earlier studies failed to show an association of the LRRK2G2019S mutation with MSA^{100,101}, recent reports identified this mutation in single cases of the disease^{102,103}. Furthermore, LRRK2 exonic variants have been proposed to contribute to MSA susceptibility, but possibly in specific subpopulations only¹⁰⁴. Other genetic variants and genetic associations

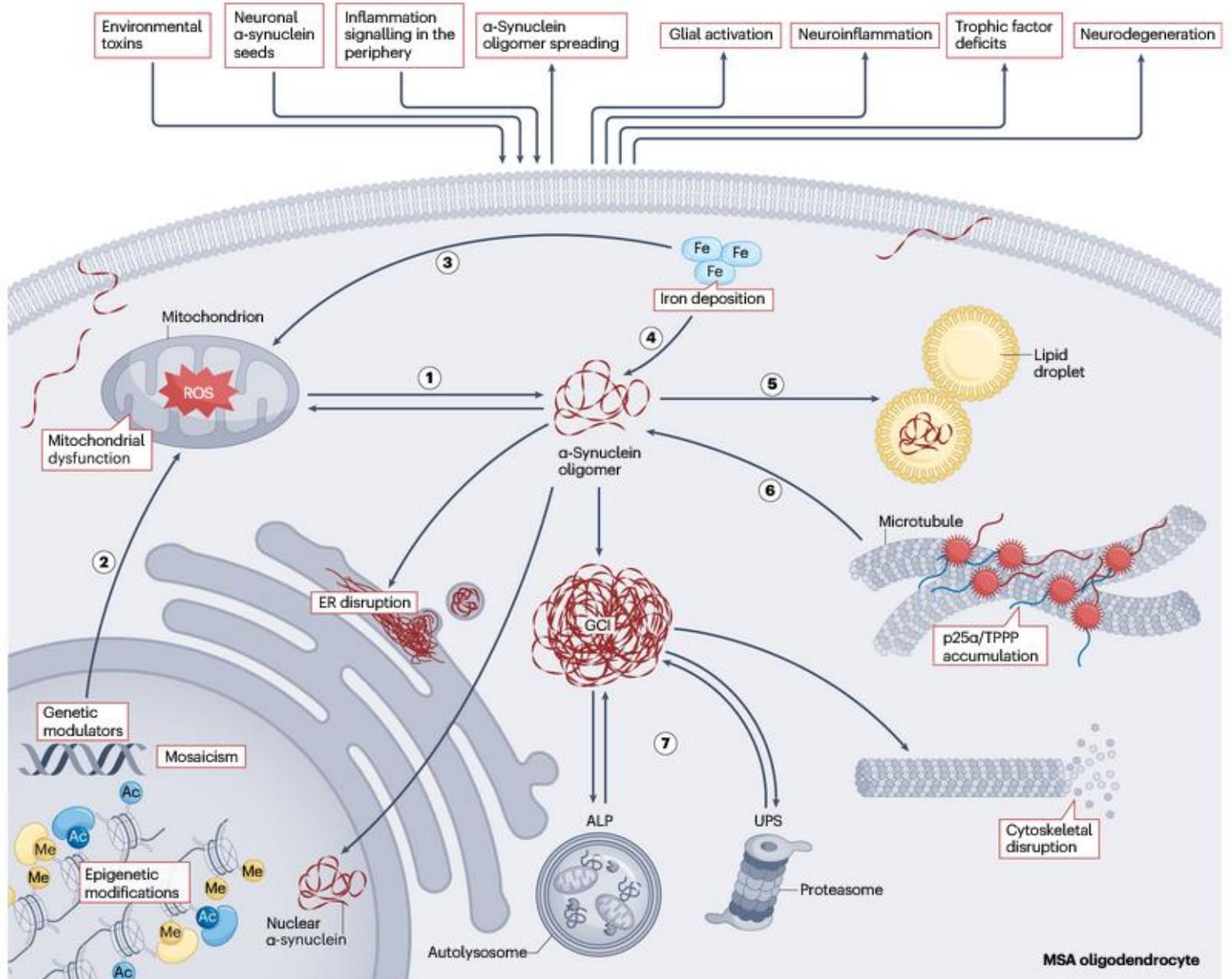
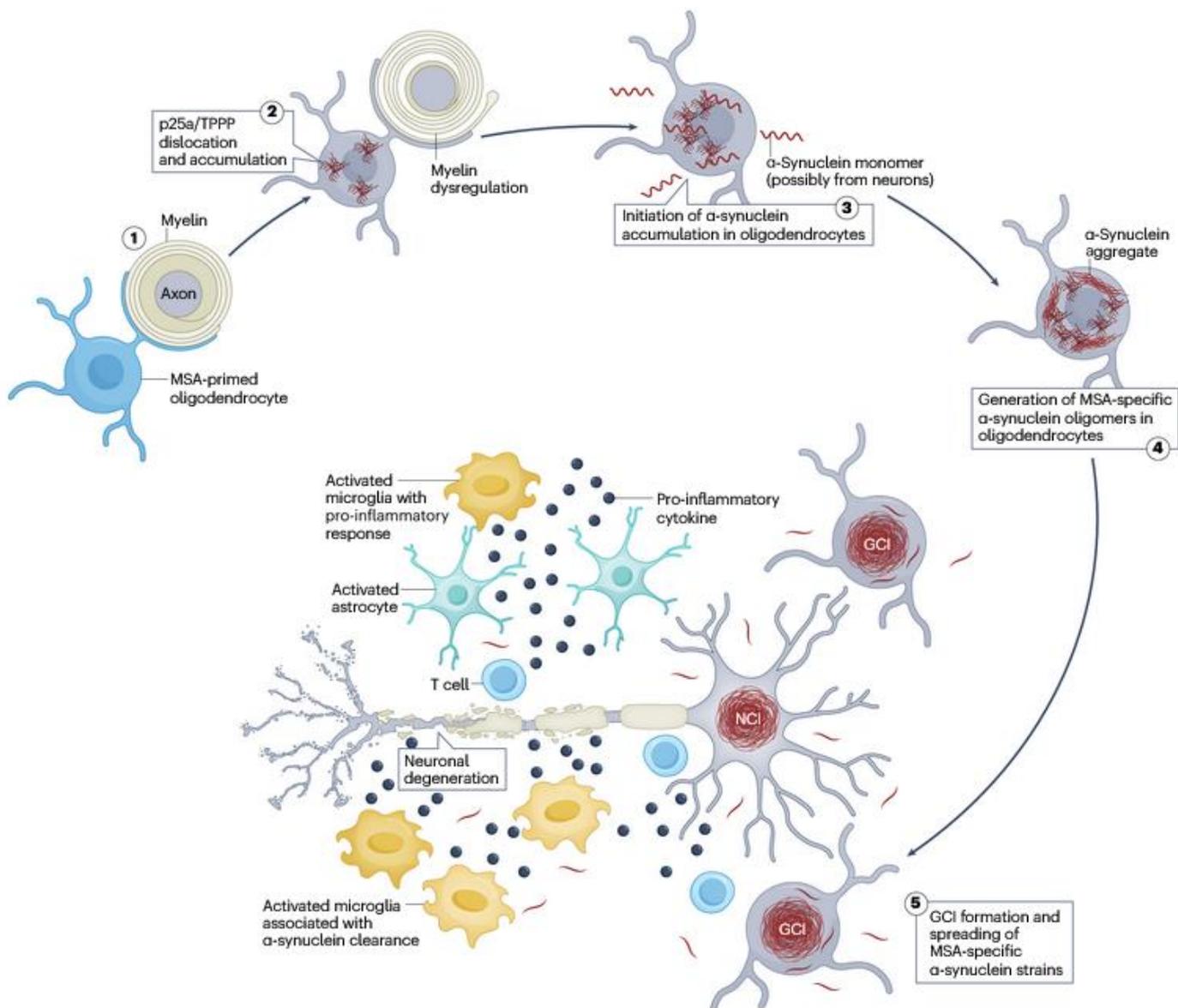


Fig. 2 | Multifactorial dysfunction of oligodendroglia in multiple system atrophy — putative pathogenic cascades. Within multiple system atrophy (MSA) oligodendrocytes, α -synuclein misfolding and aggregation are associated with the presence of mitochondrial dysfunction, oxidative stress and reactive oxygen species (ROS) production (1), which may result from genetic changes including copy-number variation and mosaicism (2) or pathologic iron accumulation (3). Iron (4) or other unknown components may modulate the intracellular milieu promoting α -synuclein oligomerization together with dysfunctional lipid homeostasis (5) leading to myelin disruption. The latter is further associated with re-localization of p25 α /TPPP to the perinuclear cytoplasm (6), which has been shown to precede α -synuclein aggregation. Finally, dysfunctional autophagy-lysosomal pathway (ALP) and, to a lesser extent, ubiquitin-proteasomal (UPS) pathway (7) lead to proteolytic stress and stasis in the protein clearance in the cell. The aggregation of α -synuclein interferes back and aggravates the multi-organelle dysfunction, including endoplasmic reticulum (ER) and cytoskeletal disruption as well as epigenetic modifications in the nucleus. The intracellular pathogenic processes in MSA oligodendrocytes are strongly affected by the surrounding environment including putative toxin exposure, neuronal α -synuclein seeds or inflammatory signalling. In turn, oligodendroglial α -synucleinopathy can result in glial activation, neuroinflammation, neurotrophic deficits and, finally, neurodegeneration. GCI, glial cytoplasmic inclusion.

Fig. 3 | Current understanding of the primary oligodendrogliaopathy underlying the neurodegenerative process in multiple system atrophy. Intrinsically dysfunctional multiple system atrophy (MSA) oligodendroglia 16 (1), when exposed to stress factors linked to genetic or epigenetic regulatory disbalance, mitochondrial, inflammatory or oxidative stress, may lead to



particular myelin dysregulation (2), which may serve as the primer for α -synuclein misfolding and aggregation in oligodendrocytes with a putative neuronal source of α -synuclein (3). The specific intracellular properties of oligodendroglia dictate the generation of MSA-specific oligomers (4), which serve the formation of glial cytoplasmic inclusions (GCIs) (5). MSA α -synuclein oligomers also spread to other cells, resulting in the seeding of neuronal cytoplasmic inclusions (NCIs), which are structurally different from Lewy bodies, as well as activation of microglia and astroglia. Activated microglia and astroglia release pro-inflammatory signals, which, in addition, attract T cells and, through their activation, add to the corruptive environment in the brains of individuals with MSA. The burst of neurotoxic factors and the following cellular dysfunction finally lead to progressive neurodegeneration.

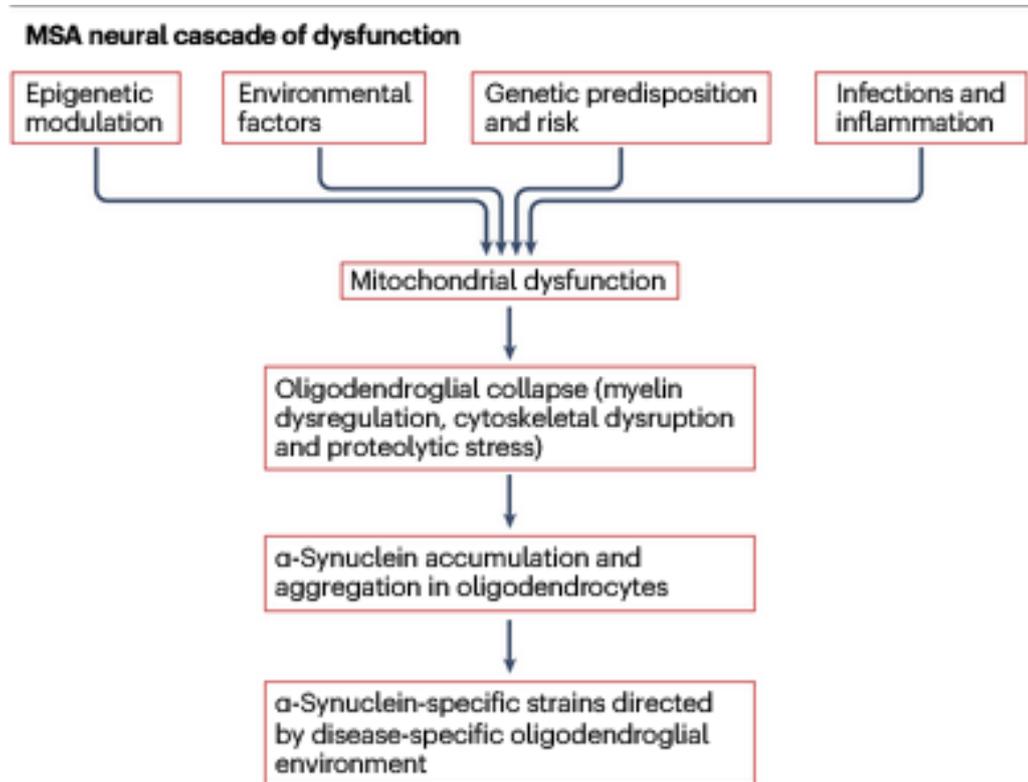


Fig. 4 | Putative initiators of multiple system atrophy. A cascade of events act in concert to trigger specific multiple system atrophy (MSA) neural dysfunction, possibly starting with mitochondrial deficiency (as suggested by induced pluripotent stem cell-based studies^{16,17}), which leads to oligodendroglial dysfunction and α -synuclein pathology that has a particular molecular signature^{14,28}.

Epigenetic modulators in MSA

Recent epigenome-wide analysis of white matter from people with MSA has shown substantially altered DNA methylation¹⁴⁰. The genes associated with these alterations are involved in clathrin-mediated endocytosis, cytoskeleton dynamics, vesicular transport, cargo receptor trafficking between Golgi and the endoplasmic reticulum and myelination, suggesting possible epigenetic molecular control of these genes in MSA. Intriguingly, the strongest association revealed by a co-methylation network analysis was between MSA and a module in SNCA (cg15402943) containing a region where a cytosine nucleotide is followed by a guanine nucleotide in the linear sequence of bases along the 5' → 3' direction (CpG)¹⁴⁰. The role of epigenetic control mechanisms in MSA pathogenesis has been further supported by experimental studies: α -synuclein is found in nuclear inclusions in MSA^{37,141} and can act as a nuclear modulator of histone acetylation¹⁴². Indeed, histone deacetylase inhibition is able to stop disease progression in a mouse model of MSA with transgenic overexpression of human SNCA in oligodendroglia¹⁴³. In the same MSA model, α -synuclein in oligodendrocytes is linked to early dysregulation of the microRNA–mRNA regulatory network, further supporting the role of putative epigenetic mechanisms in MSA neurodegeneration¹⁴⁴. A post-mortem study of MSA striata identified abnormal microRNA levels associated with prion disease and inflammation among other processes¹⁴⁵. Other in vitro experiments demonstrated a link between microRNAs and α -synuclein aggregation in oligodendrocytes through deficits in the protein clearance system¹⁹. Further study of the possible epigenetic involvement in MSA will be crucial for identifying molecular control mechanisms, which may be either a trigger of the GCI pathology or a downstream regulator of neurodegeneration. Another important unresolved issue linked to the aetiology of MSA remains the involvement of environmental toxins. A few epidemiological studies have attempted to link exposure to organic solvents and occupational history of farming with higher risk of MSA; however, all these studies have been considered underpowered¹⁴⁶. Overall, the evidence tends to support a combination of factors that may interact in certain ways to trigger the specific MSA pathogenic cascade (Fig. 4) and its multiple facets of clinical presentation (Boxes 1 and 2).

Conclusions

MSA is a mostly sporadic, orphan disease and owing to its low prevalence and late symptom onset, it has been difficult to identify the disease initiators and to study the mechanisms that drive its progression. Genetic analyses and associations do not unequivocally point to a specific genetic pathology, and MSA is currently considered a multifactorial disorder with genetic, epigenetic, environmental and infectious components contributing to selective brain dysfunction, particularly affecting the oligodendroglial lineage. Autopsy material has provided insights into the end-stage picture of MSA neuropathology. The latter has been recapitulated in mechanistic animal models, which serve as a practical tool to study specific downstream neurodegeneration mechanisms, particularly those linked to oligodendroglial accumulation of α -synuclein and specific α -synuclein strains. New modelling strategies including induced pluripotent stem cell-based models have been already introduced, and their future development and refinement is expected to provide better readouts that circumvent the neurobiological limitations of rodent models. The main components of the pathogenic cascade of MSA, specifically α -synuclein and neuroinflammation as discussed in this Review, serve currently as important targets for biomarker discovery as well as disease modification. Unfortunately, to date, it has not been possible to replicate benefits of preclinical therapeutic approaches in randomized controlled human trials. Current efforts focus on providing reliable early and progression biomarkers based on our understanding of MSA pathogenesis, as discussed here. Novel radiotracers such as [18 F]ACI12589, which target α -synuclein, give hope for an improved diagnosis and drug target engagement in MSA. Published online: xx xx xxxx