



UNIVERSITA' DI GENOVA

DIPARTIMENTO DI MEDICINA INTERNA

**LA RICERCA : COSA CI POSSIAMO ASPETTARE**

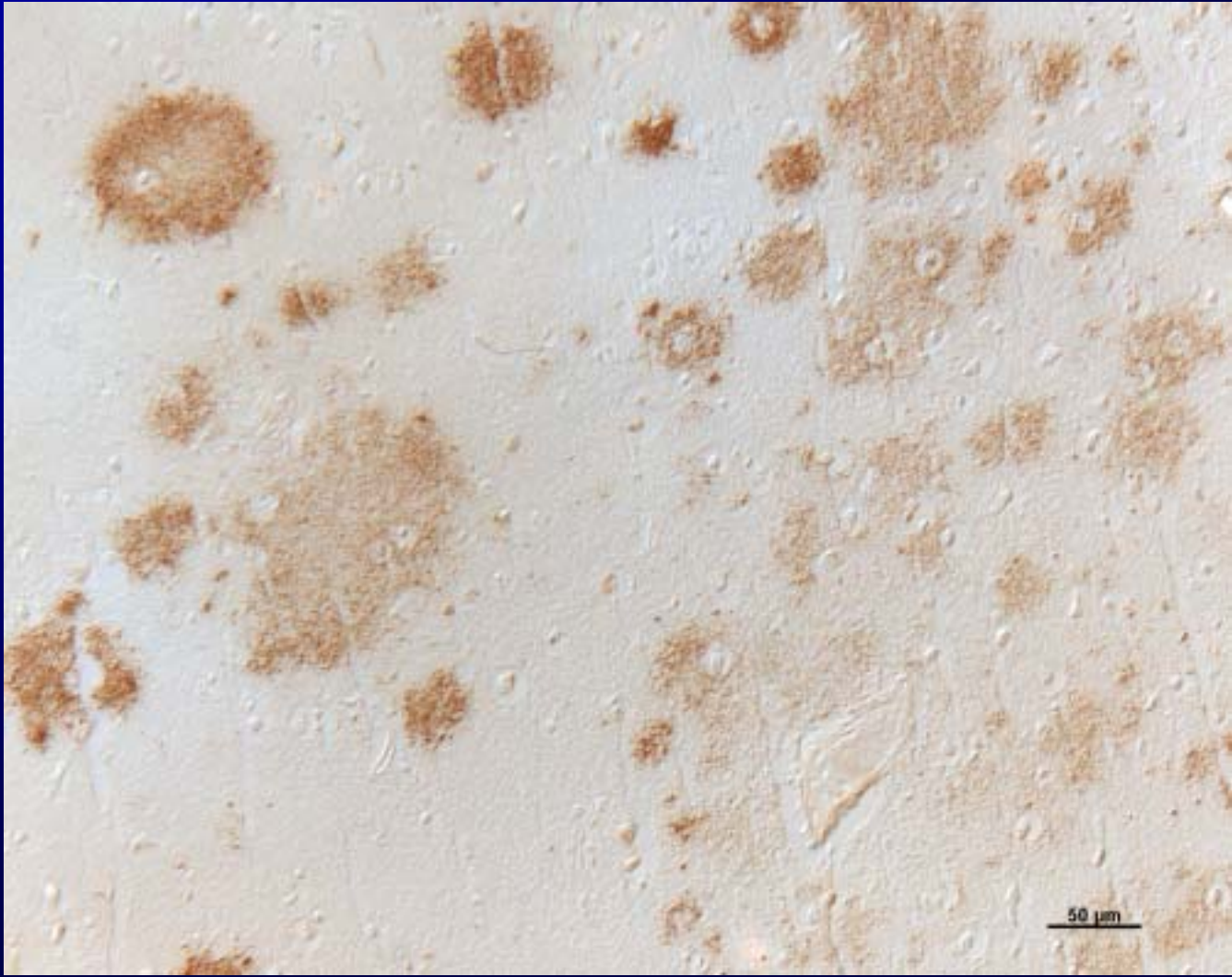
*Massimo Tabaton*

# Malattia di Alzheimer - Ipotesi dell'Amiloide

## Indizi:

- L'accumulo di amiloide è proporzionale all'invecchiamento.
- La  $\beta$ -amiloide è neurotossica.
- L'Alzheimerizzazione nella sindrome di Down.
- Le alterazioni genetiche che sottendono forme familiari di AD ad esordio precoce determinano un'aumentata produzione o un' aumentata aggregazione di  $\beta$  amiloide.







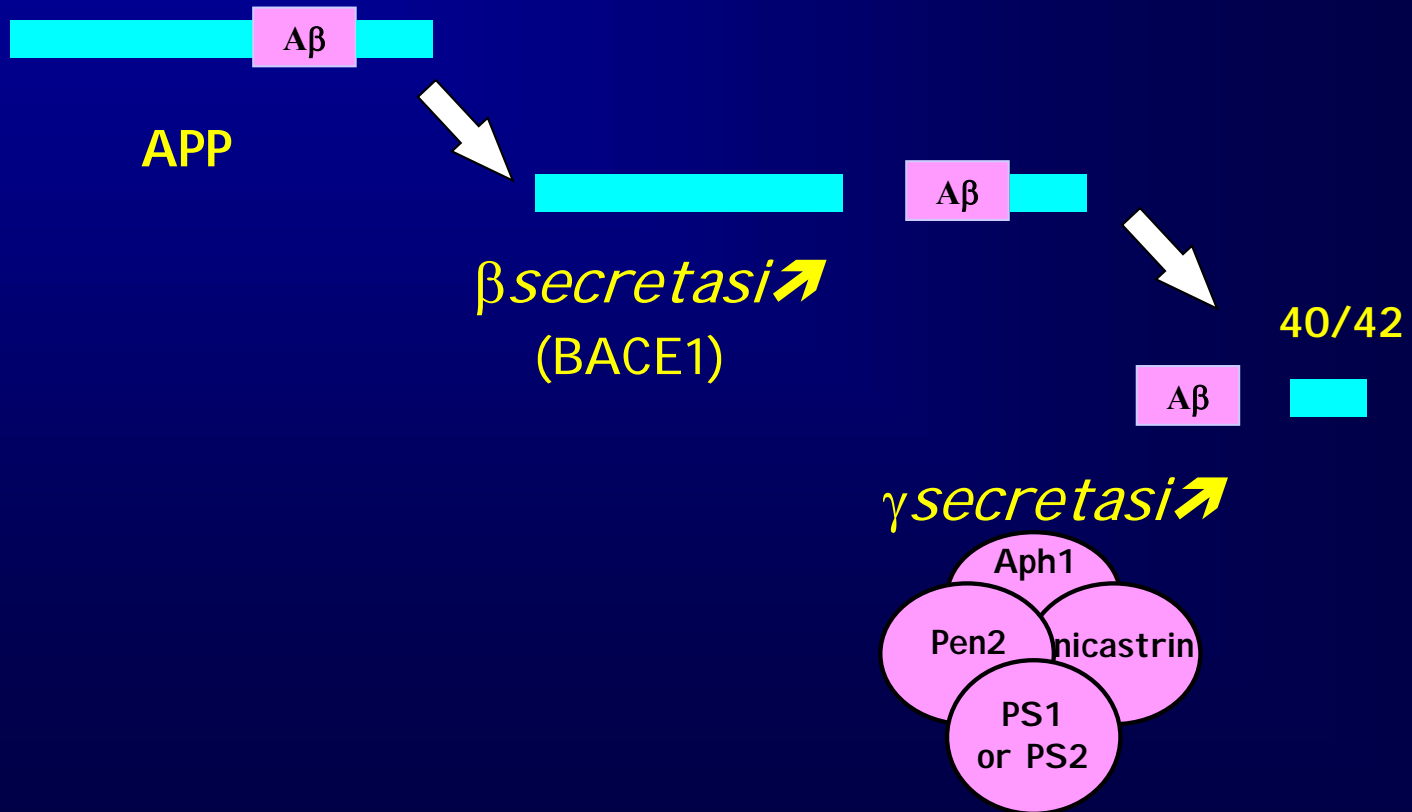
## $\beta$ -Amiloide (A $\beta$ )

E' il normale prodotto metabolico della proteolisi di una proteina espressa prevalentemente nei neuroni

E' un peptide di circa 40 aminoacidi con differenti N- e C-terminali

Ha vari stati di aggregazione: oligomeri, protofibrille, fibre di amiloide

# Produzione di A $\beta$



# Clearance di $A\beta$

## Degradazione ad opera di proteasi extracellulari

- Neprilisina
- Insulin degrading enzyme
- Endothelin converting enzyme
- Angiotensin converting enzyme

## Rimozione dal cervello $\longrightarrow$ fluido interstiziale $\longrightarrow$ sangue

- Lipoprotein receptor-related protein
- Immunità (anticorpi anti- $A\beta$ )

## Afflusso dal sangue al cervello:

RAGE (receptor for AGE)

## Fattori che favoriscono aggregazione di A $\beta$

- > concentrazione di A $\beta$
- isoforme di A $\beta$  (N- e C-terminali)
- A $\beta$  mutata
- Matrice extracellulare
- ApoE
- Metalli pesanti

## Accumulo di A $\beta$

- Aumentata produzione
- Facilitata aggregazione
- Diminuita clearance

# AD familiare ad esordio precoce

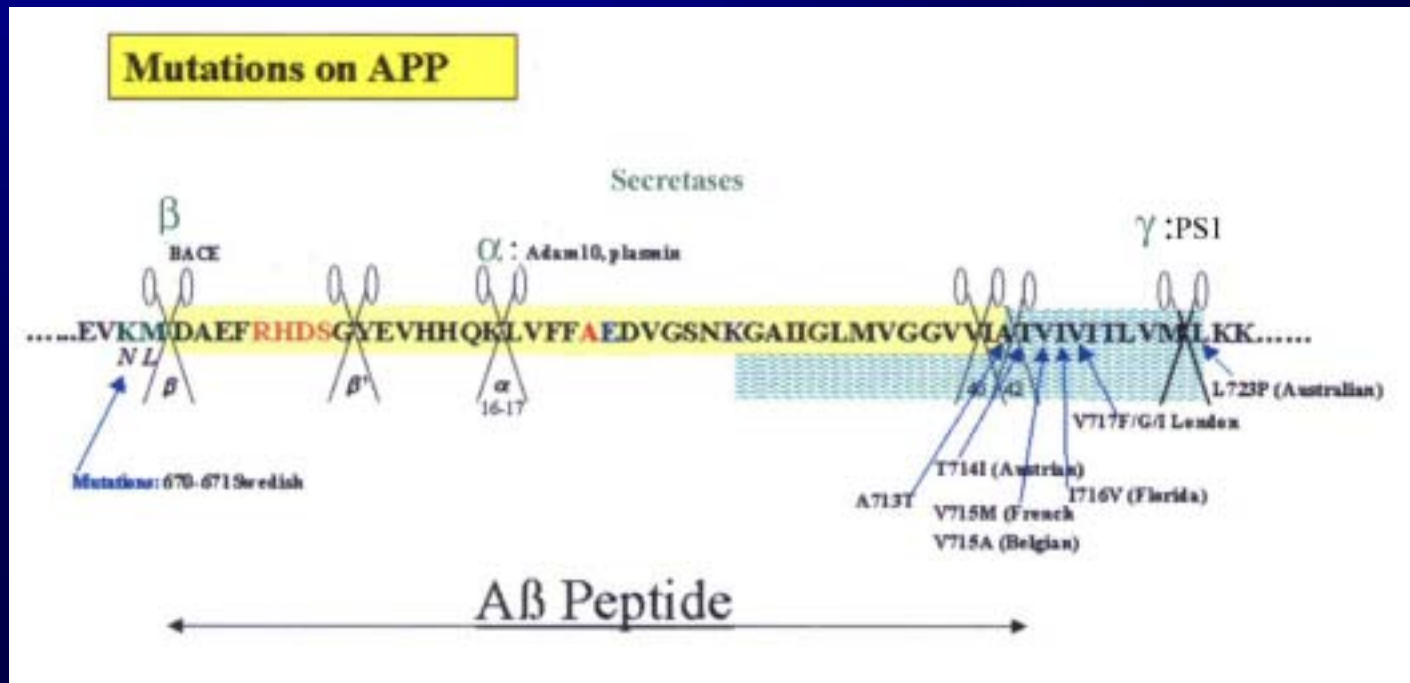
## Aumentata produzione di A $\beta$ - alterazioni genetiche

Mutazioni di APP: 31

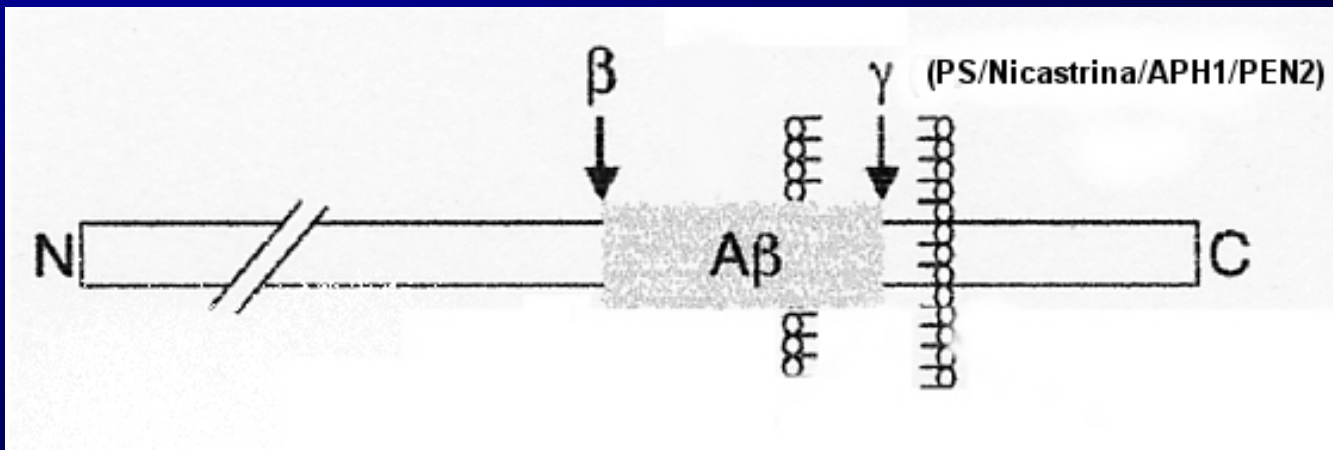
Duplicazione gene APP

> A $\beta$  totale

> A $\beta$  42



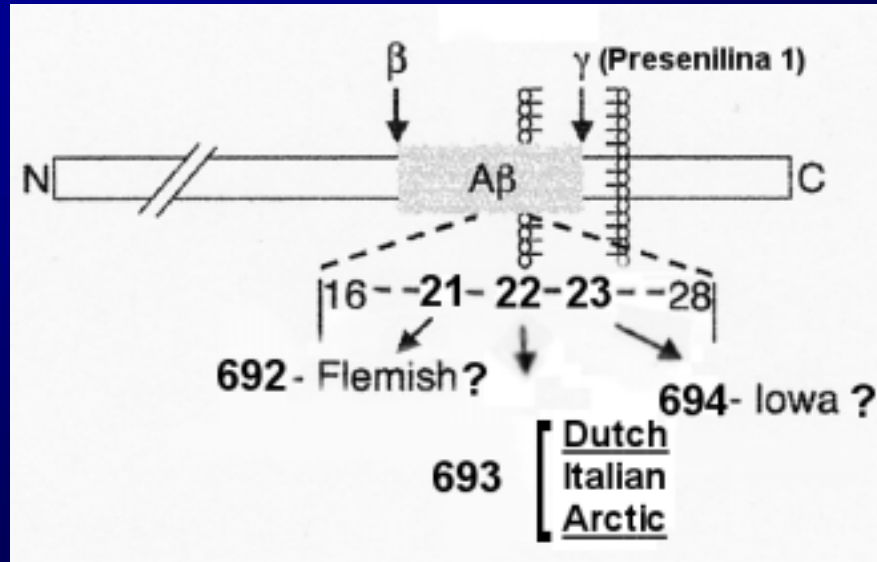
**Aumentata produzione di A $\beta$**   
**Mutazioni di Presenilina 1: 176**  
**Presenilina 2: 18**



**Selettiva iperproduzione di A $\beta$  42**  
**per l'alterata (debole) attività della  $\gamma$  secretasi**

# Facilitata aggregazione di A $\beta$

Alterazioni genetiche che sottendono forme familiari precoci di emorragie cerebrali



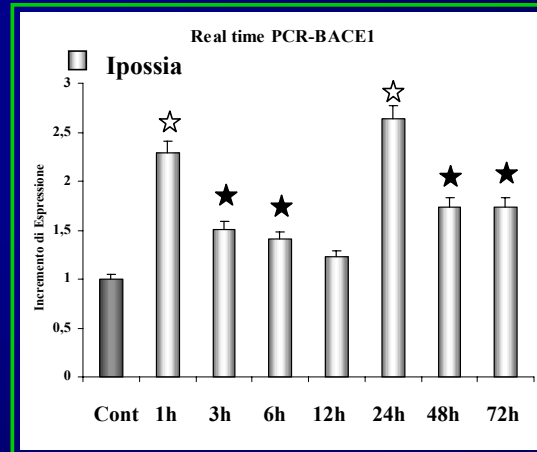
> Formazione di oligomeri e polimeri di A $\beta$  40/42  
prevalente deposizione nelle arterie cerebrali: angiopatia amiloidea

# Alzheimer sporadica ad esordio tardivo

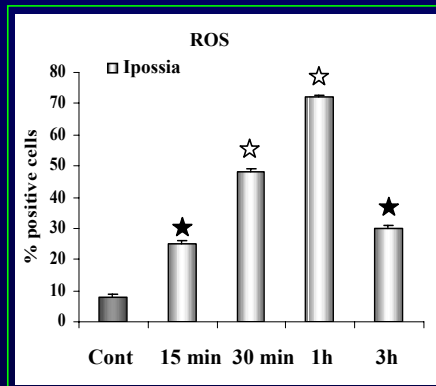
Fattori che favoriscono l'accumulo di A $\beta$ :

- Ishemia-ipoossia
- Alterazioni molecolari correlate all'età
- Traumi cranici
- Diabete
- ApoE allele  $\epsilon 4$
- Altri polimorfismi genici (sortilina, IDE, canali del calcio, etc.)

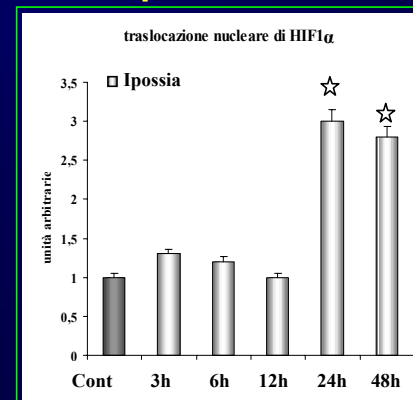
# L'ipossia aumenta l'espressione di BACE1 in vitro attraverso un meccanismo bifasico



Attivazione precoce stress ossidativo dipendente

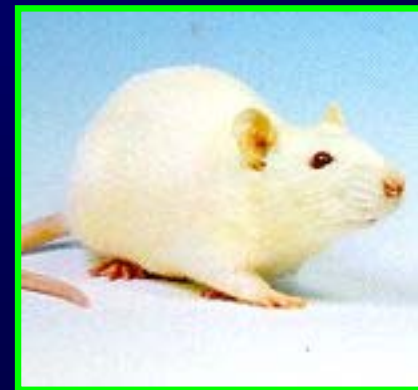
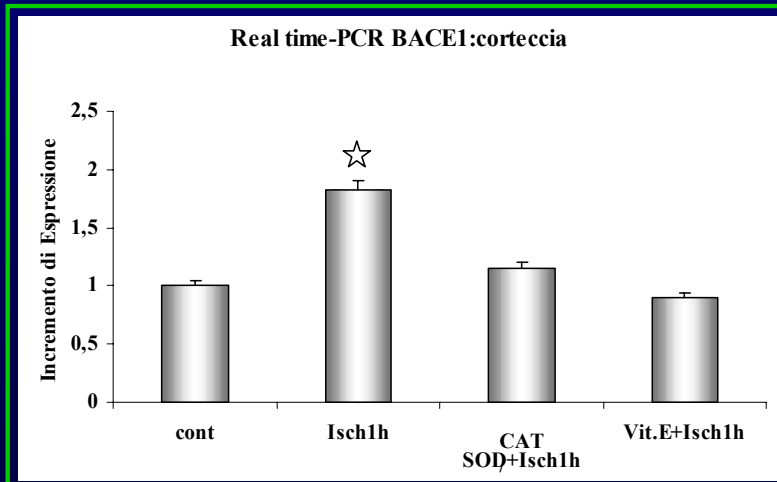
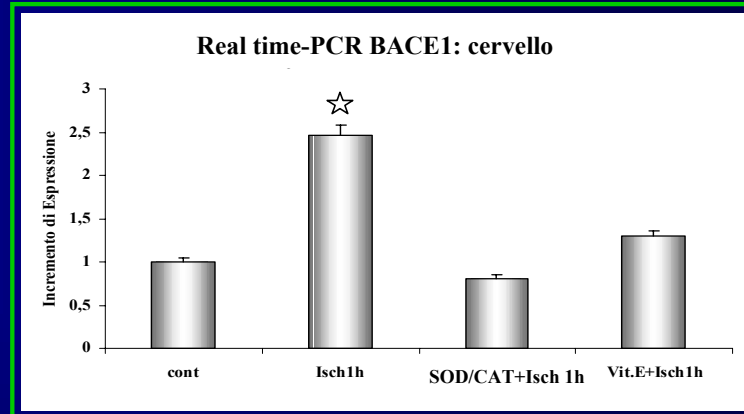


Attivazione tardiva HIF1 $\alpha$  dipendente



# Espressione di BACE1 in un modello di ischemia cerebrale in vivo

- Pre-trattamento con:  
Catalasi (4gg)  
VIT E (5gg)
- Ischemia 1h



Ischemia/Ipossia aumentano la produzione di A $\beta$  attraverso almeno 3 meccanismi che attivano la  $\beta$ -secretasi

- precoce stress ossidativo che aumenta la trascrizione di BACE1
- tardiva attivazione di HIF-1 $\alpha$  che aumenta la trascrizione di BACE1
- diminuzione di una proteina cargo GGA3 con conseguente diminuita degradazione di BACE1 e aumento della sua attività (Tesco et al, 2007)

# A $\beta$ - Meccanismi di tossicit 

## Forme tossiche:

Aggregati non fibrillari, solubili, diffusibili

- strutture anulari
  - protofibrille
- } Analisi morfologica
- 
- oligomeri a basso peso molecolare
  - dodecamero "56" KDa
- } Analisi chimica

# $A\beta$ - Meccanismi di tossicità

## Danno funzionale

Alterazione delle LTP, correlato neurofisiologico della memoria e dell'apprendimento

- formazione di pori nella membrana: pseudo canali ionici
- interferenza con i recettori o le vie di segnale di neurotrasmettitori eccitatori (NMDA-AMPA)

# A $\beta$ - Meccanismi di tossicit 

## Neurodegenerazione

Aumento del Ca<sup>++</sup> intracellulare

- Attivazione GSK3-CDK5  
(degenerazione neurofibrillare)

- Degenerazione dendritica

Alterazione mitocondriale  
(attraverso ERAB e ciclofilina)

- Difetto produzione energia  
cellulare

- stress ossidativo

Alterazione del sistema  
Ubiquitina/proteosomi

- > Tau

- >  $\alpha$ -sinucleina

# A $\beta$ ha un ruolo fisiologico?

## La produzione di A $\beta$ è proporzionale all'attività neuronale

- In vitro l'attivazione sinaptica facilita l'endocitosi di APP e la produzione di A $\beta$  (Kamenetz et al, 2003)
- In vivo (trauma cranico) la concentrazione di A $\beta$  nel fluido interstiziale è proporzionale al miglioramento dei parametri clinici (Brody et al, 2008)

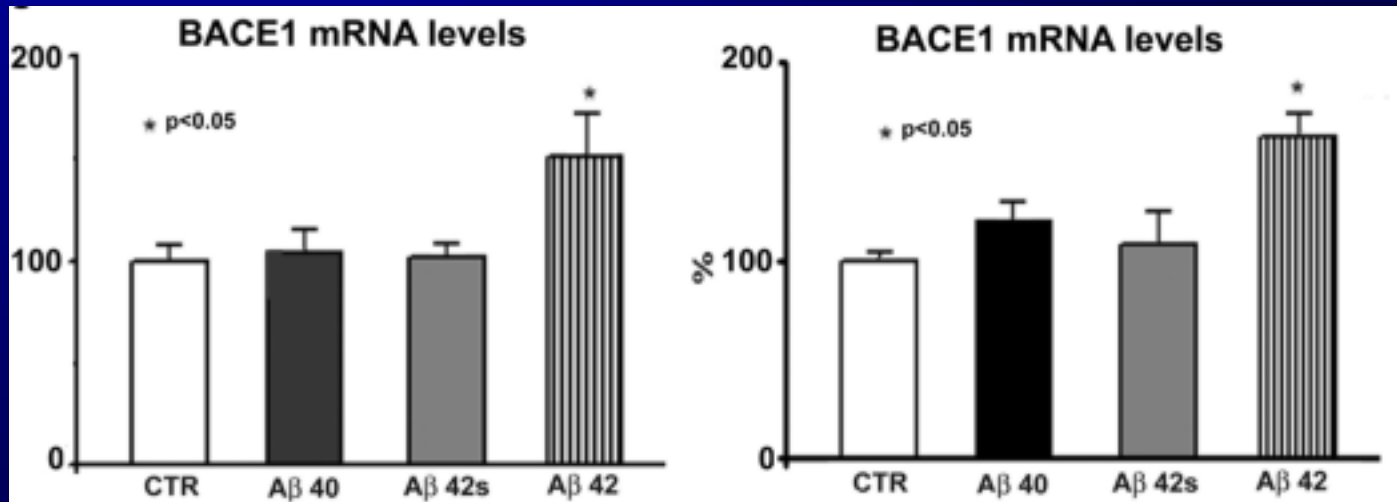
L'aumento di  $A\beta$  prodotto dall'attività neuronale deprime l'attività sinaptica

Quindi:

$A\beta$  controlla l'attività dei neuroni con meccanismo a feedback negativo

$A\beta$  si accumula nelle aree cerebrali che hanno attività sinaptica più intensa?

# A $\beta$ 42 attiva la trascrizione di BACE1



Neuroni primari

Cellule neuroblastoma

## $A\beta$ ha multipli ruoli fisiologici?

$A\beta$  42 aumenta l'espressione di BACE1 attraverso l'attivazione della via JNK/c-JUN

$A\beta$  42 attiva la trascrizione genica?

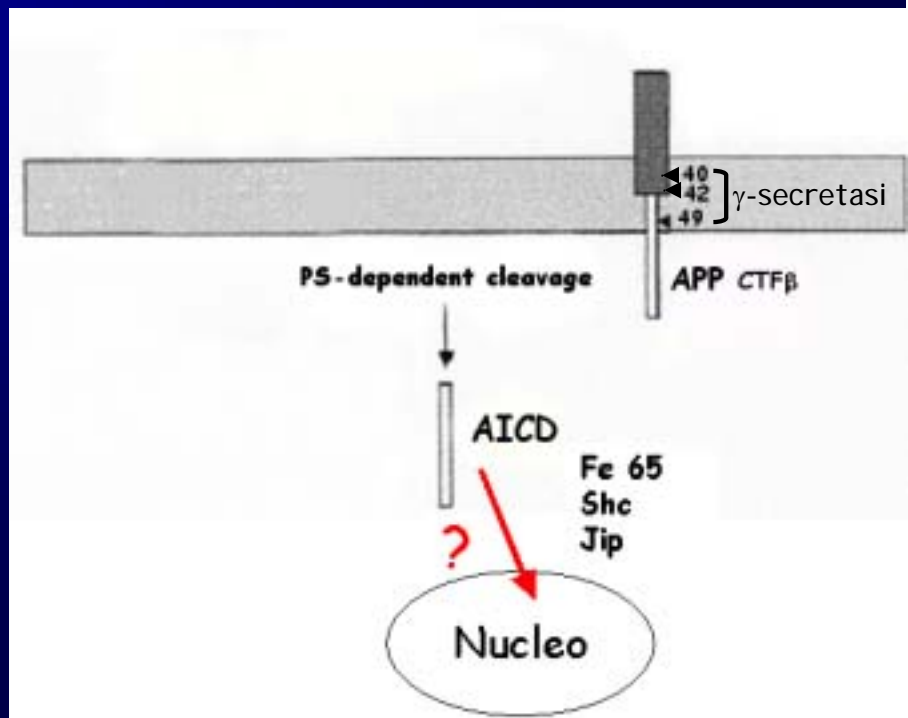
La caricatura di questa funzione contribuisce alla neurodegenerazione?

## Il processing di APP contribuisce alla neurodegenerazione?

In risposta a ligandi, la  $\gamma$ -secretasi rilascia il frammento intracellulare di vari recettori (proteine transmembrana) attivando la trascrizione

Il frammento intracellulare di APP prodotto dalla  $\gamma$ -secretasi è AICD

AICD, mediante l'interazione con proteine "ponte" attiva la trascrizione genica



- L'attivazione e produzione di AICD fanno parte di una fisiologica risposta allo stress cellulare
- L'eccessiva produzione di AICD è pro-apoptotica (attivazione di P53 e caspasi)



La cronica attivazione del sistema induce neurodegenerazione

## Università di Torino

Oliviero Danni  
Michela Guglielmotto  
Elena Tamagno

## Università di Genova

Roberta Borghi  
Luca Giliberto  
Rosa Mangerini  
Michela Pasero  
Matteo Pardini  
Alessandra Piccini