

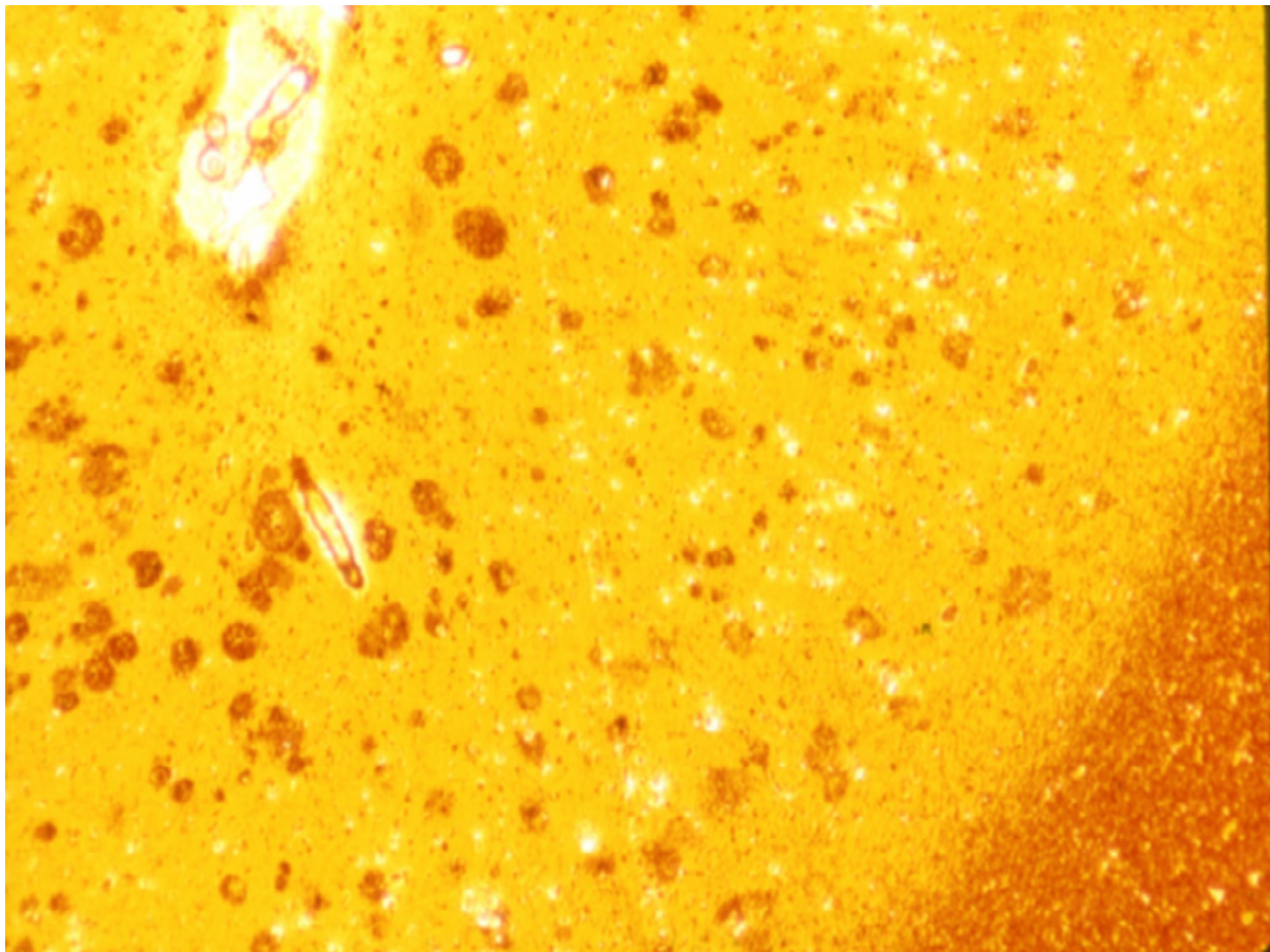


UNIVERSITA' DI GENOVA

DIPARTIMENTO DI NEUROSCIENZE

**Cosa c'è di nuovo nella
fisiopatologia della malattia di
Alzheimer?**

Massimo Tabaton



β -Amiloide (A β)

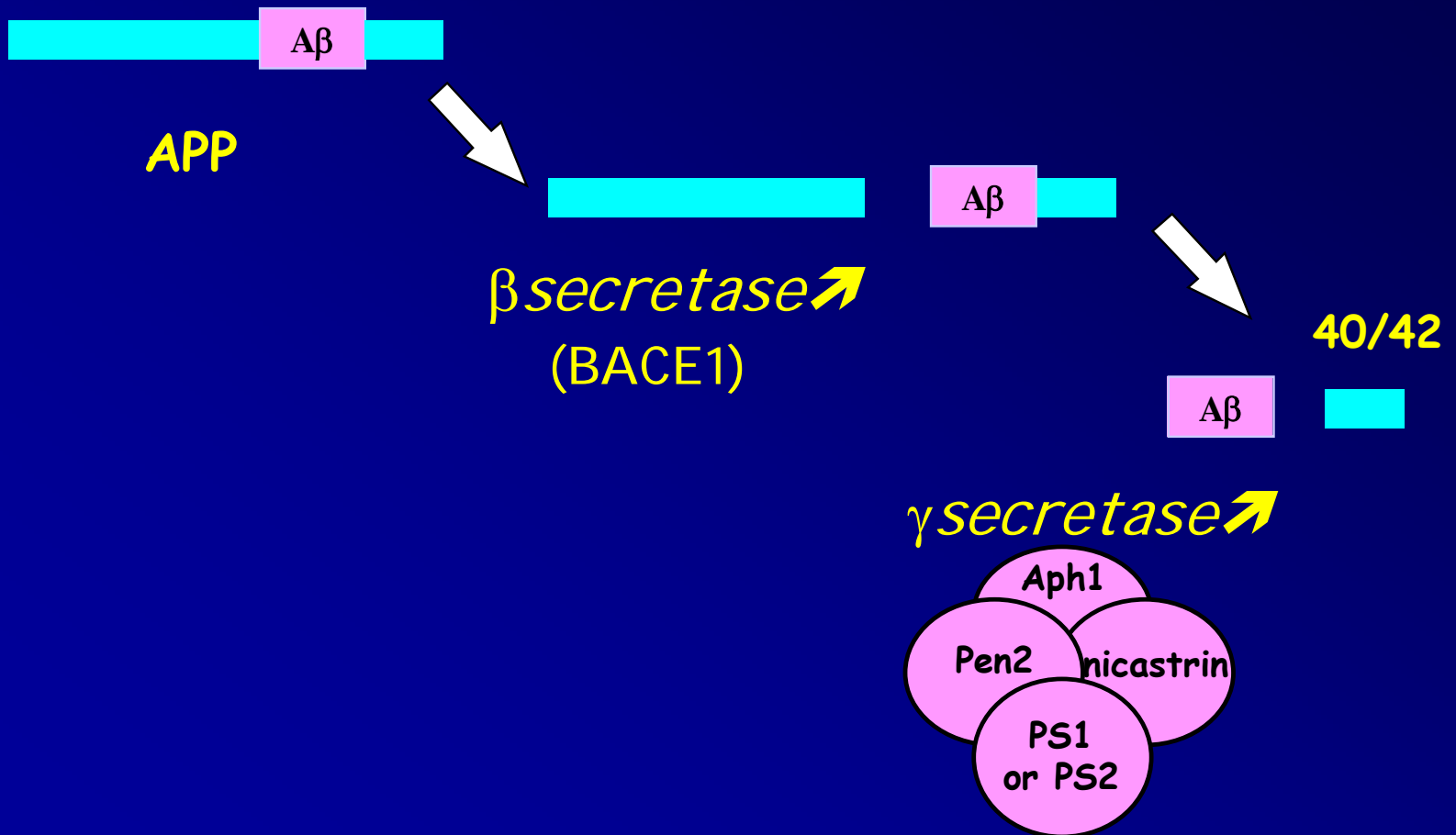
un peptide eterogeneo con C-terminale 40-42

aggrega formando fibrille di amiloide

La polimerizzazione dipende da:

- *concentrazione*
- *lunghezza :C-terminale 42 aggrega più facilmente*

Produzione di A β



A β 42 è il colpevole della AD

Tutte le cause di aumentata produzione di A β 42 :

- Mutazioni genetiche (Preseniline, APP)
- Sovradosaggio genico (duplicazione del gene APP, trisomia 21)



Patologia AD

Il destino della $A\beta$ 42 nella AD

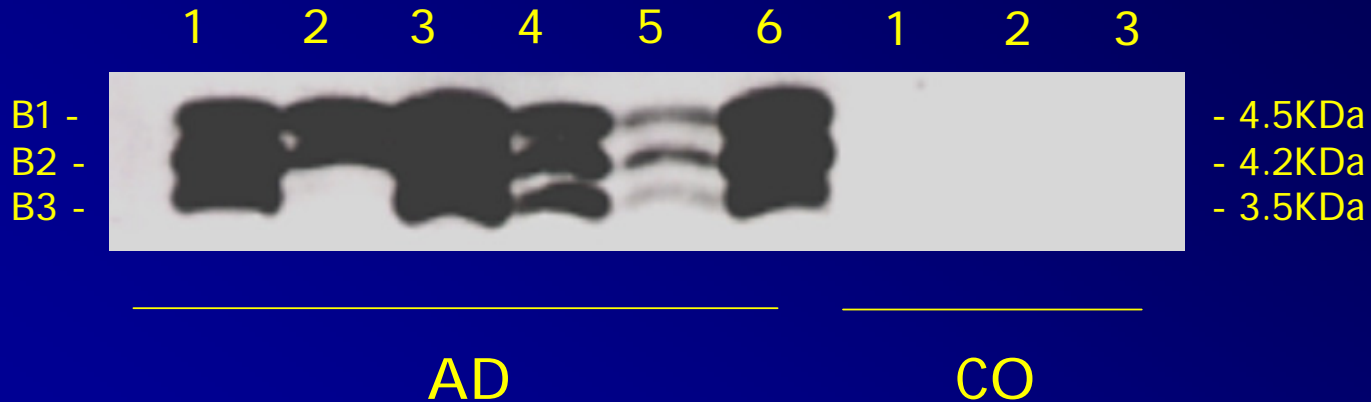
- è assente nel cervello normale
- si accumula per aumentata produzione e aggregazione, e diminuito smaltimento

•accumulo \longrightarrow piccoli aggregati solubili

Disfunzione neuronale

Degenerazione neuronale

A β solubile in corteccia cerebrale



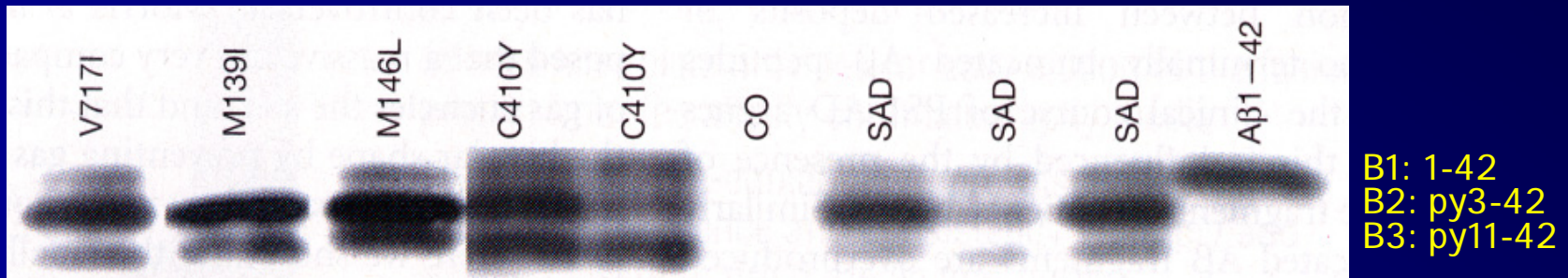
Spettrometria di massa: 3 peptidi principali

B1: 1-42

B2: py3-42

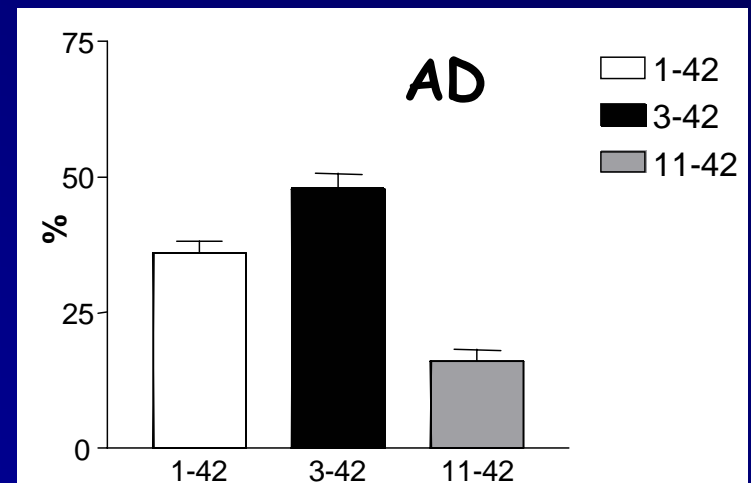
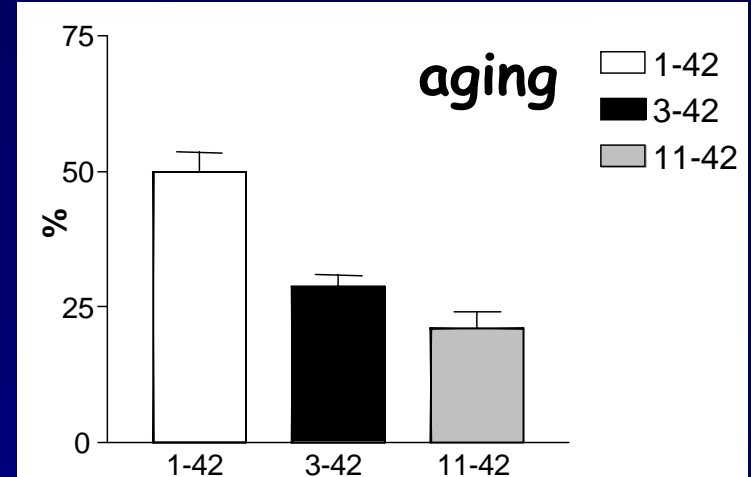
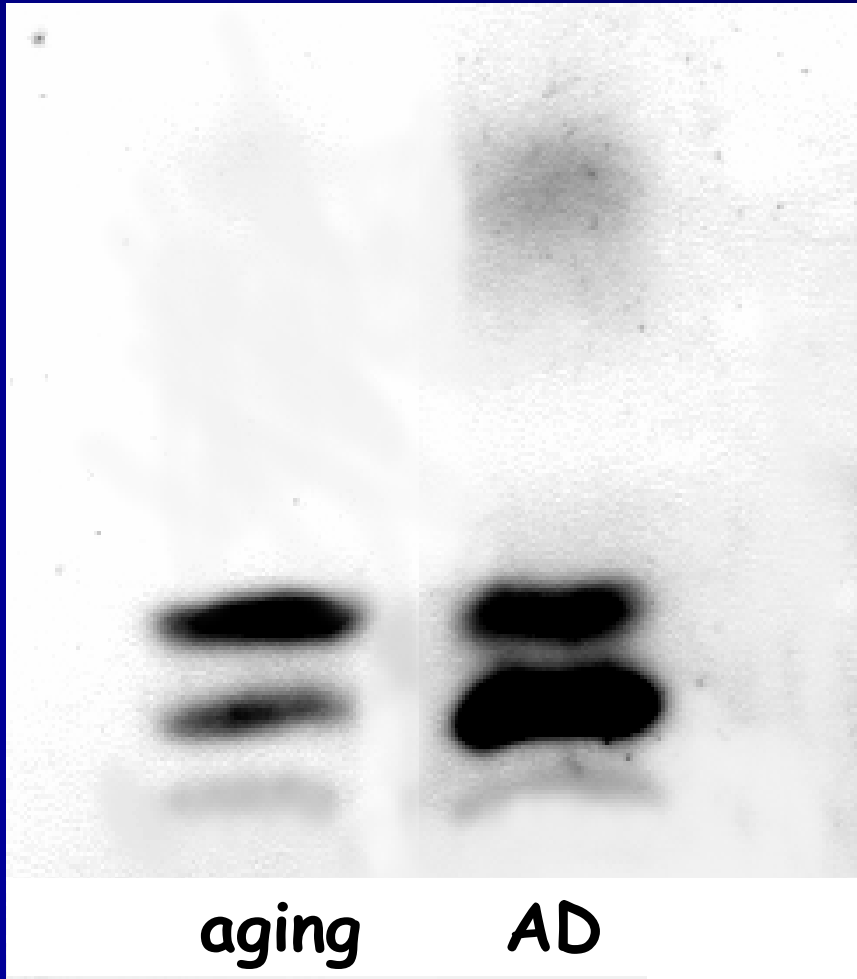
B3: py11-42

Composizione di A β solubile in AD familiare con mutazioni della Presenilina 1 (Russo et al, Nature, 2000)



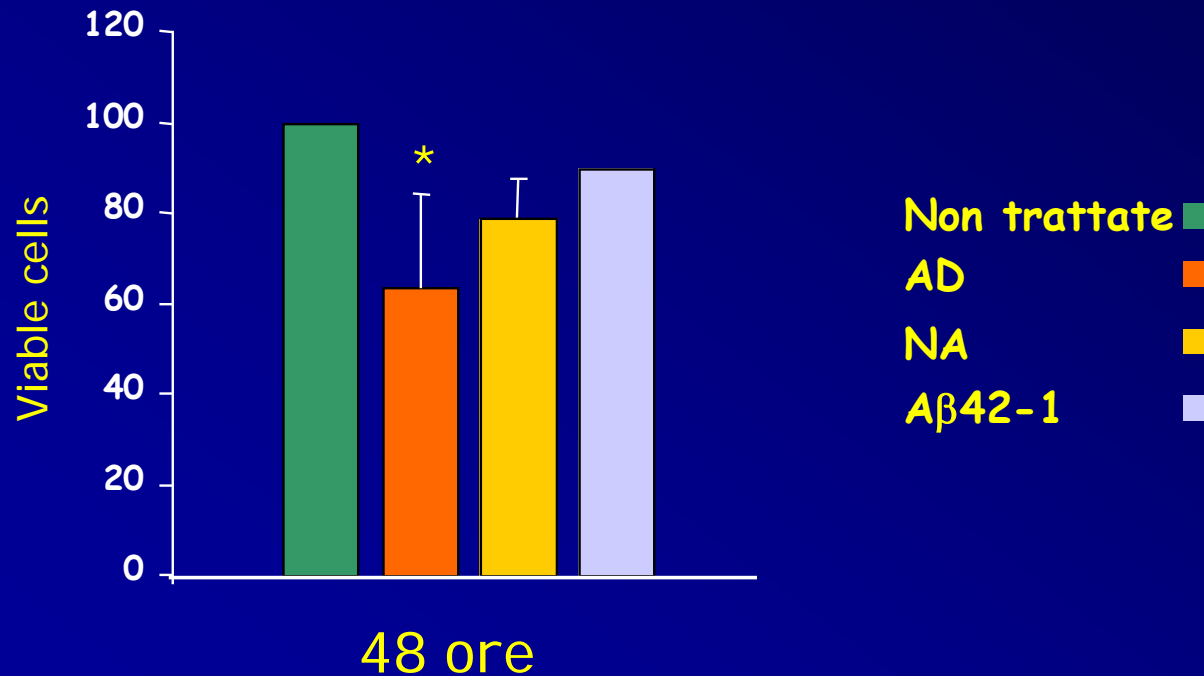
- La percentuale di peptidi troncati aumenta nei casi con mutazioni della Presenilina 1
- Il loro aumento è proporzionale alla gravità della malattia
- La composizione di A β solubile condiziona il fenotipo della AD ?

Composizione di A β solubile nel normale invecchiamento e nella AD (Piccini et al, JBC, 2005)



Tossicità della A β solubile del normale invecchiamento e AD

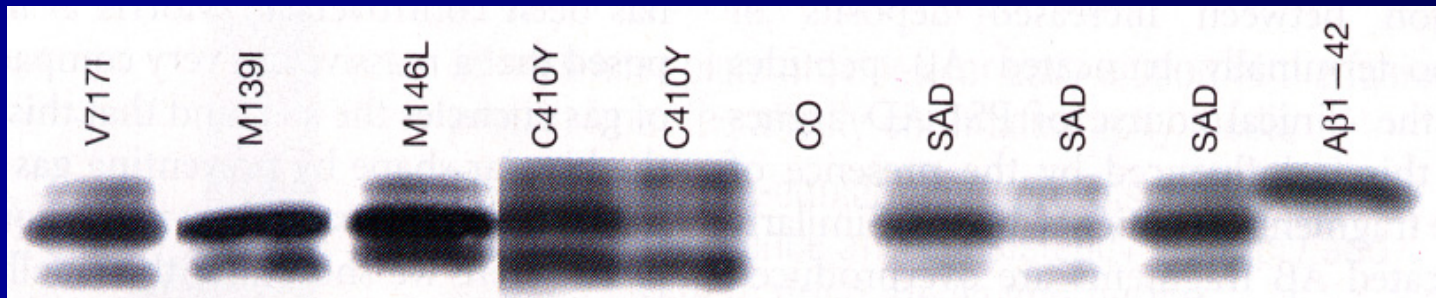
MTT assay - neuroblastoma cells



✓ La composizione della A β solubile detta la tossicità degli aggregati

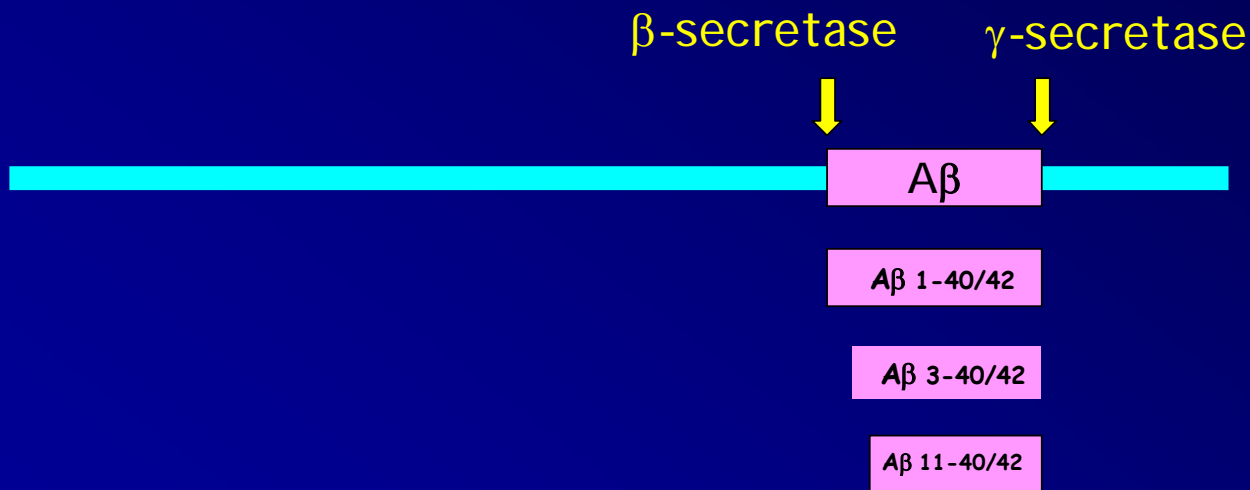
La percentuale dei frammenti troncati è correlata con la tossicità degli aggregati solubili e con la gravità del fenotipo

I peptidi A β troncati all'N-terminale prevalgono sulla forma completa nei casi di AD con mutazioni della Presenilina 1



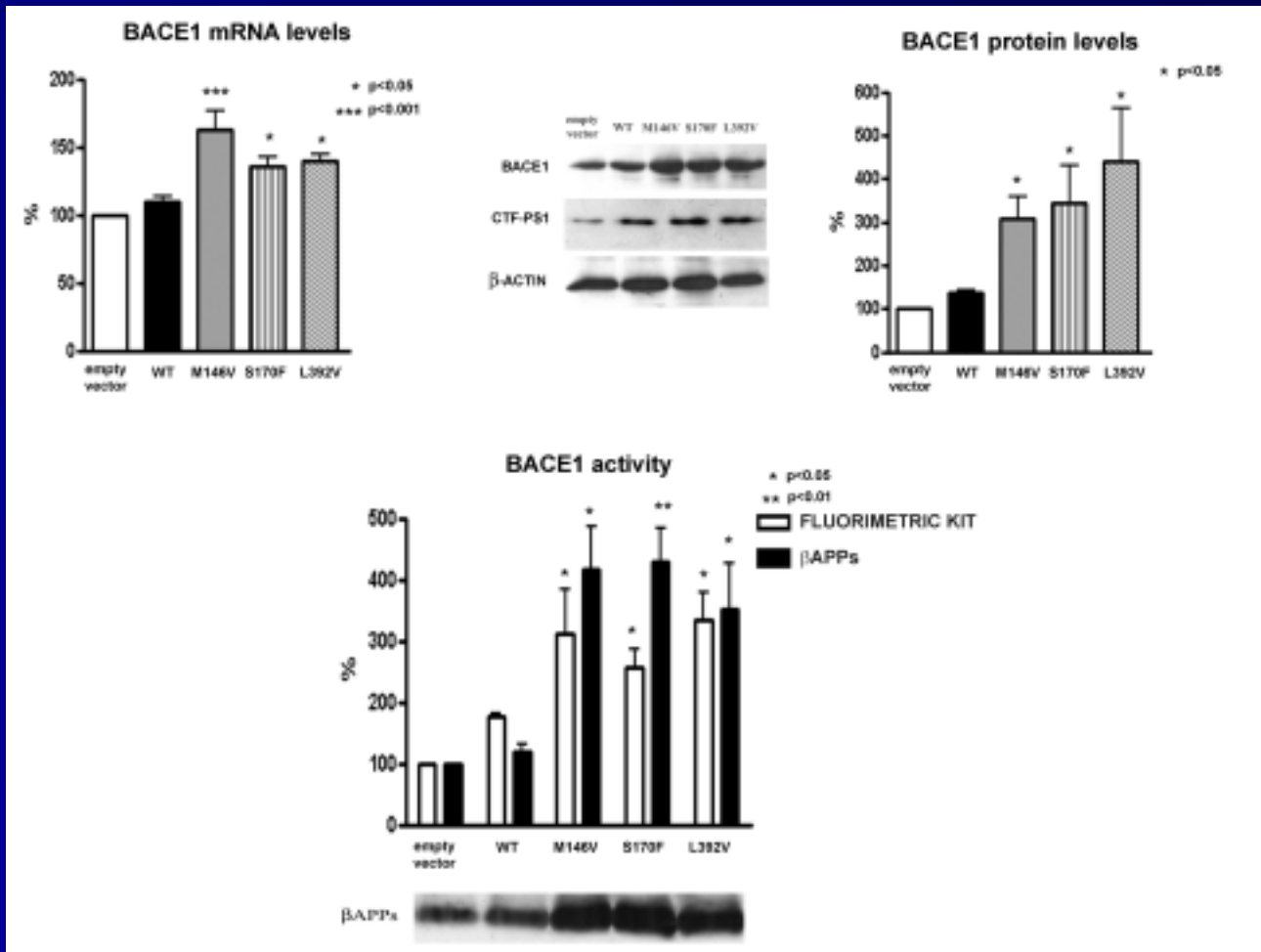
Le mutazioni della PS1 alterano il γ -secretase cleavage aumentando la produzione di A β 42

I peptidi A β troncati all'N-terminale sono prodotti dal β -secretase cleavage

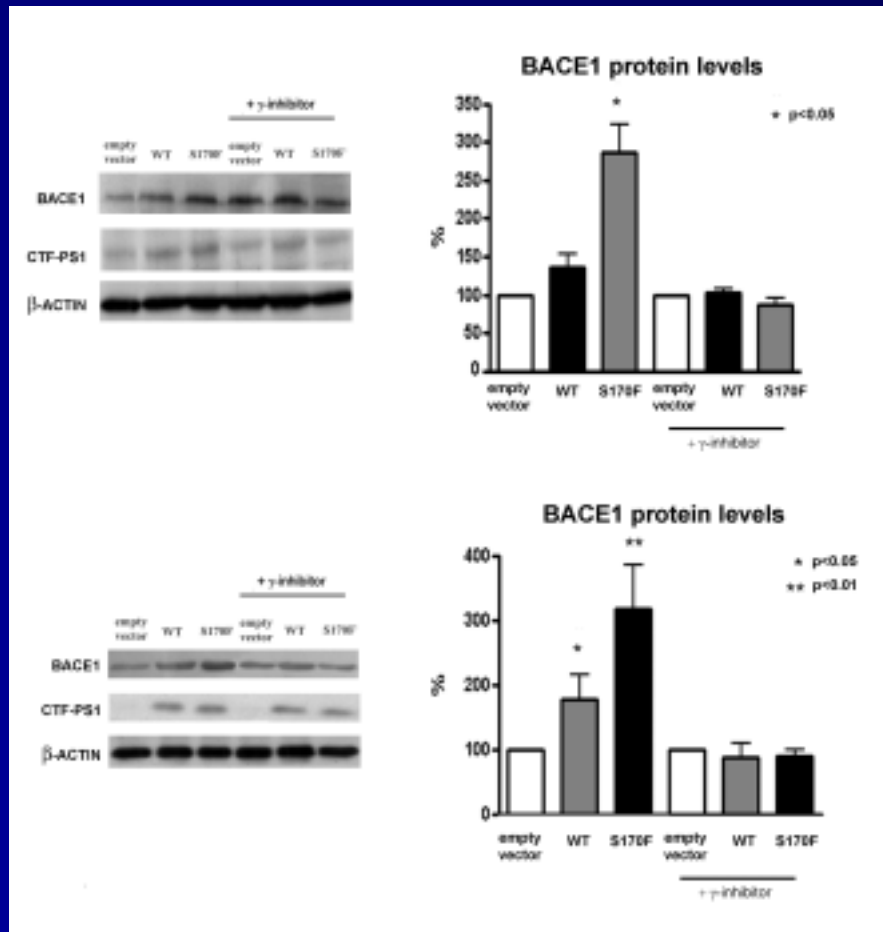


Le mutazioni della PS1 alterano anche l'attività della β -secretasi ? (BACE1)

Le mutazioni della Presenilina 1 aumentano espressione, livelli proteici e attività di BACE1 in HEK-293



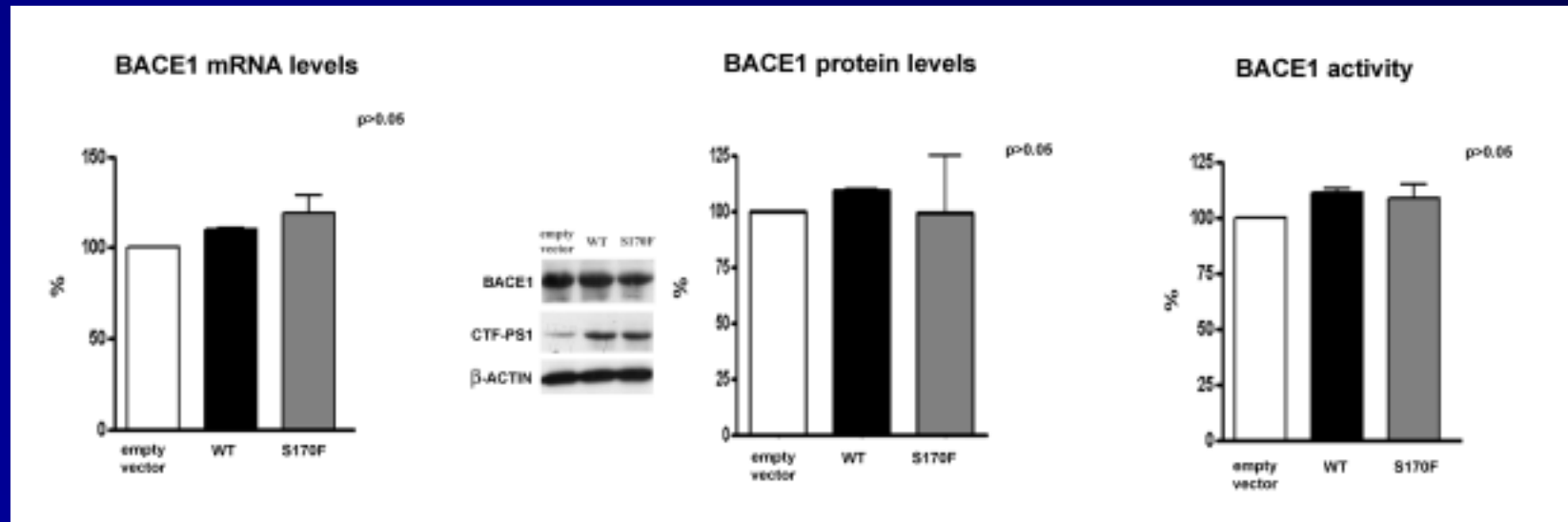
L'attivazione di BACE1 indotta dalle mutazioni PS1 necessita dell'attività della γ -secretasi.



HEK-293 cells

MEFS PS1-/- cells

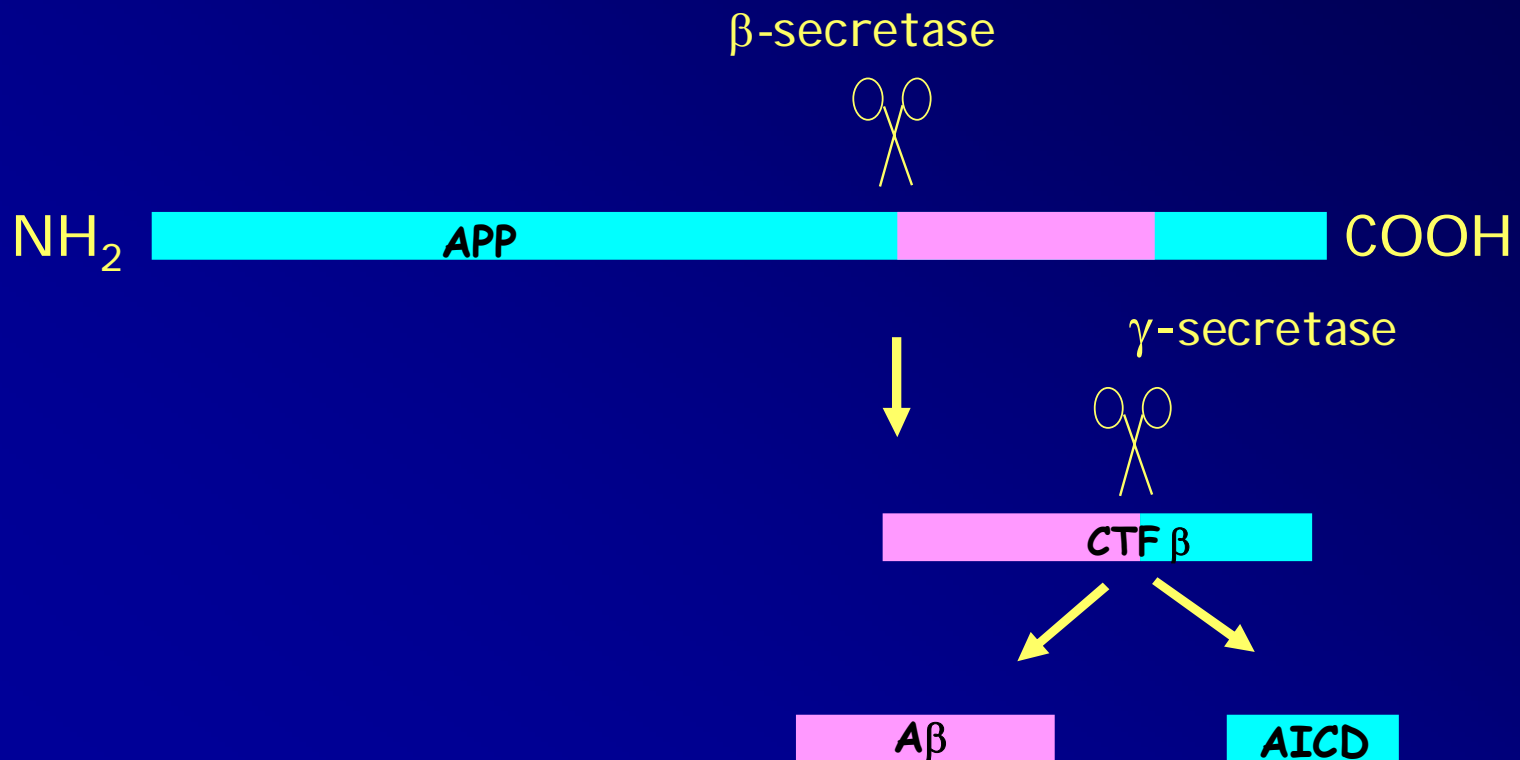
L'attivazione di BACE1 indotta da PS1 mutata necessita di APP, il substrato della γ -secretasi



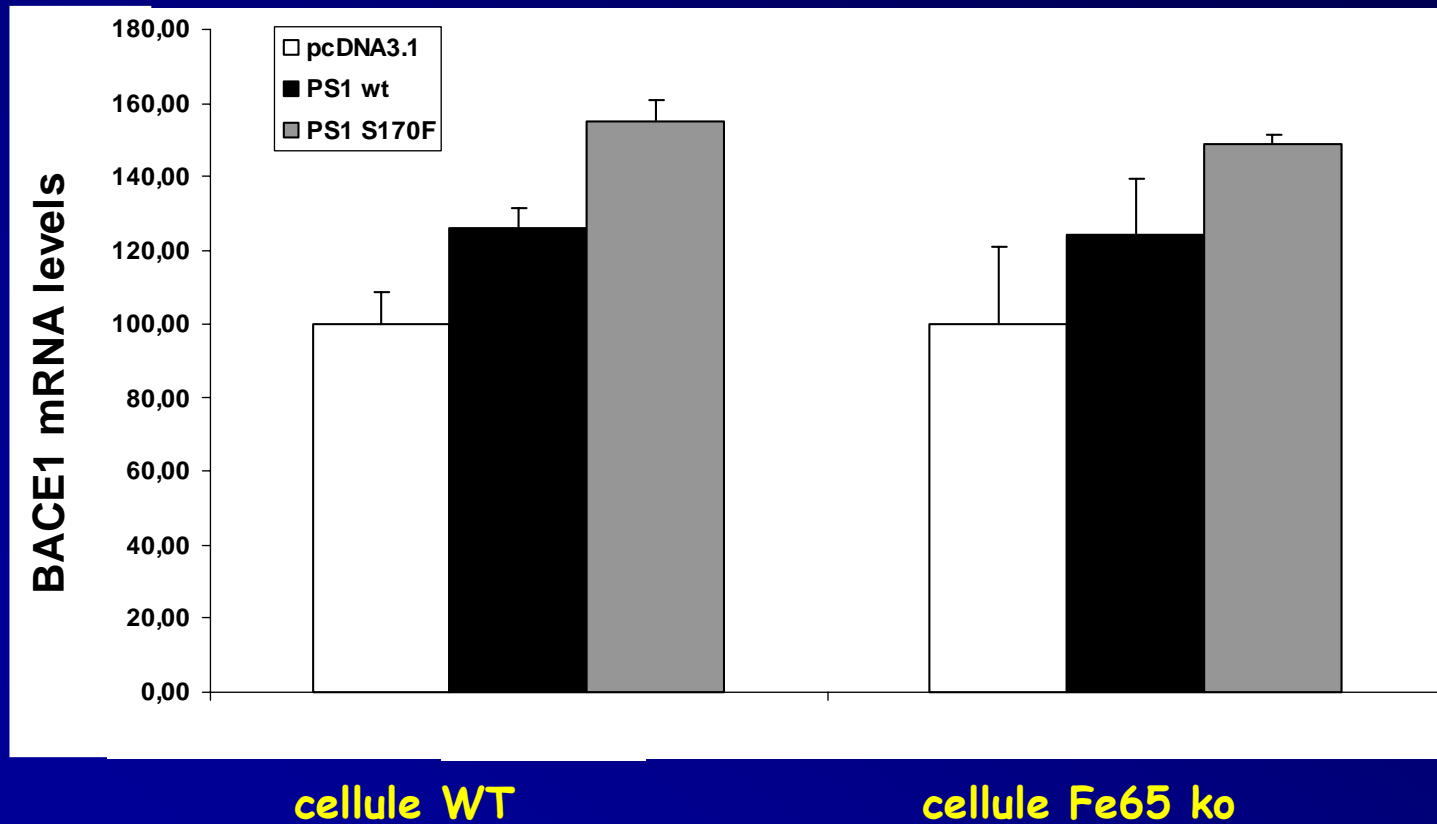
Cellule APP Knock out

- L'attivazione di BACE1 causata dalle mutazioni di PS1 necessita del γ -secretase cleavage di APP

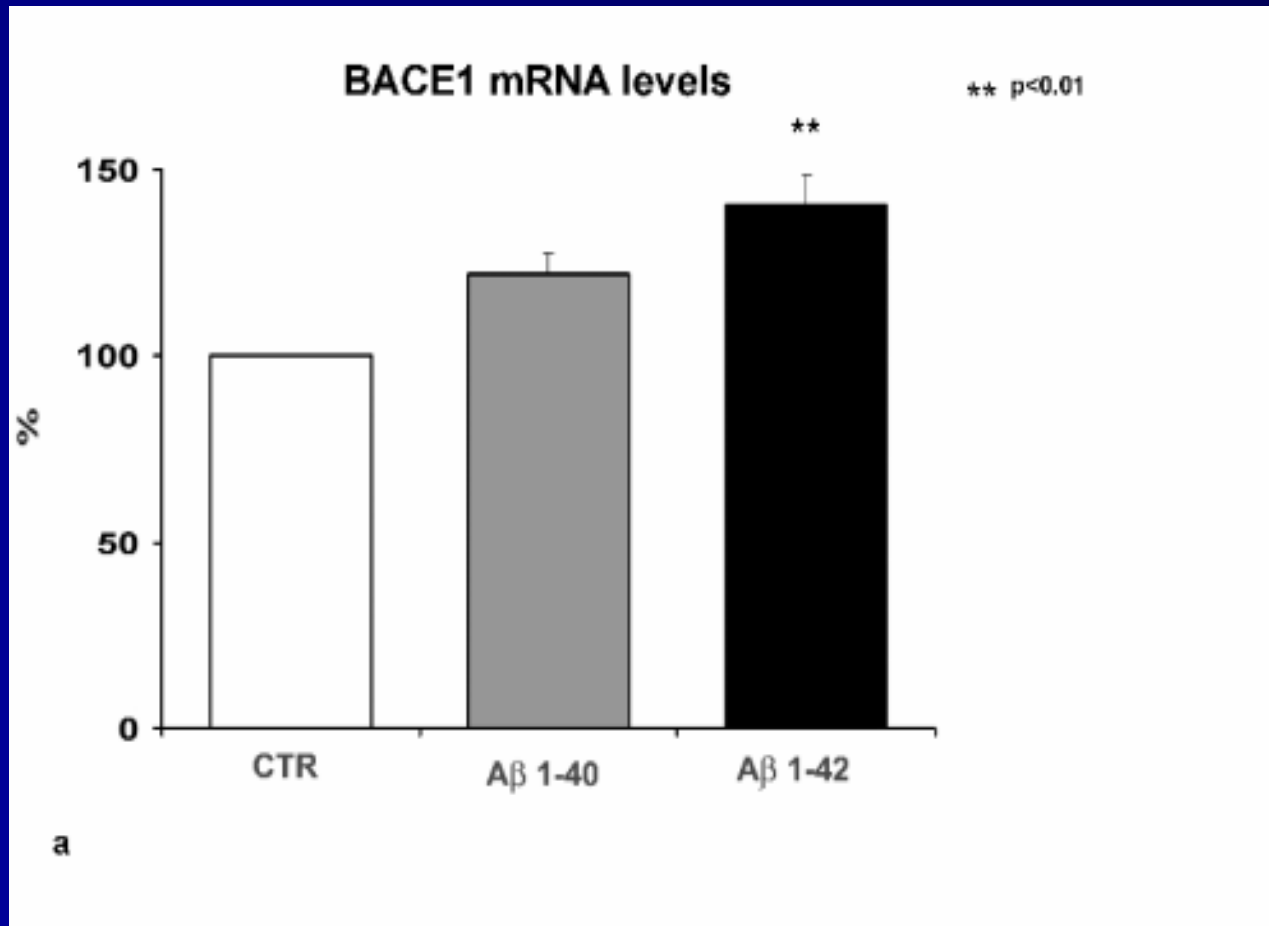
- I frammenti di APP che derivano dal γ -secretase cleavage sono $A\beta$ and AICD



AICD non partecipa all'attivazione di BACE1

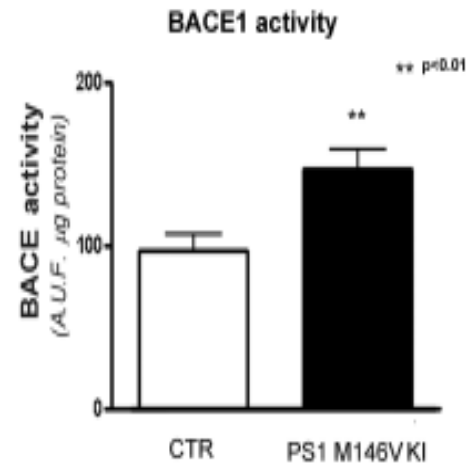
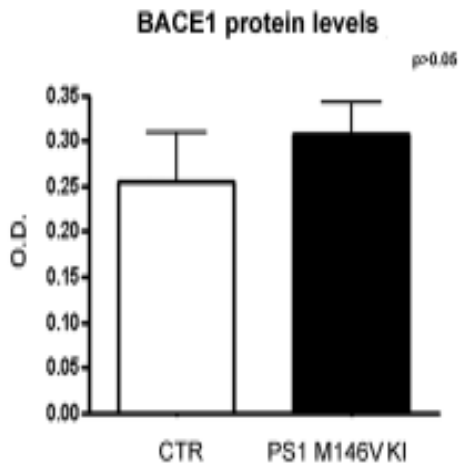
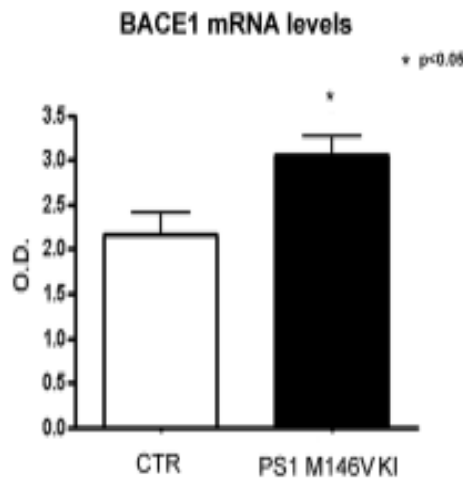


$A\beta$ 1-42 produce l'aumento di espressione di BACE1.



**Neuroblastoma
cells**

mRNA e attività di BACE1 sono aumentate in topi knock-in PS1 mutati

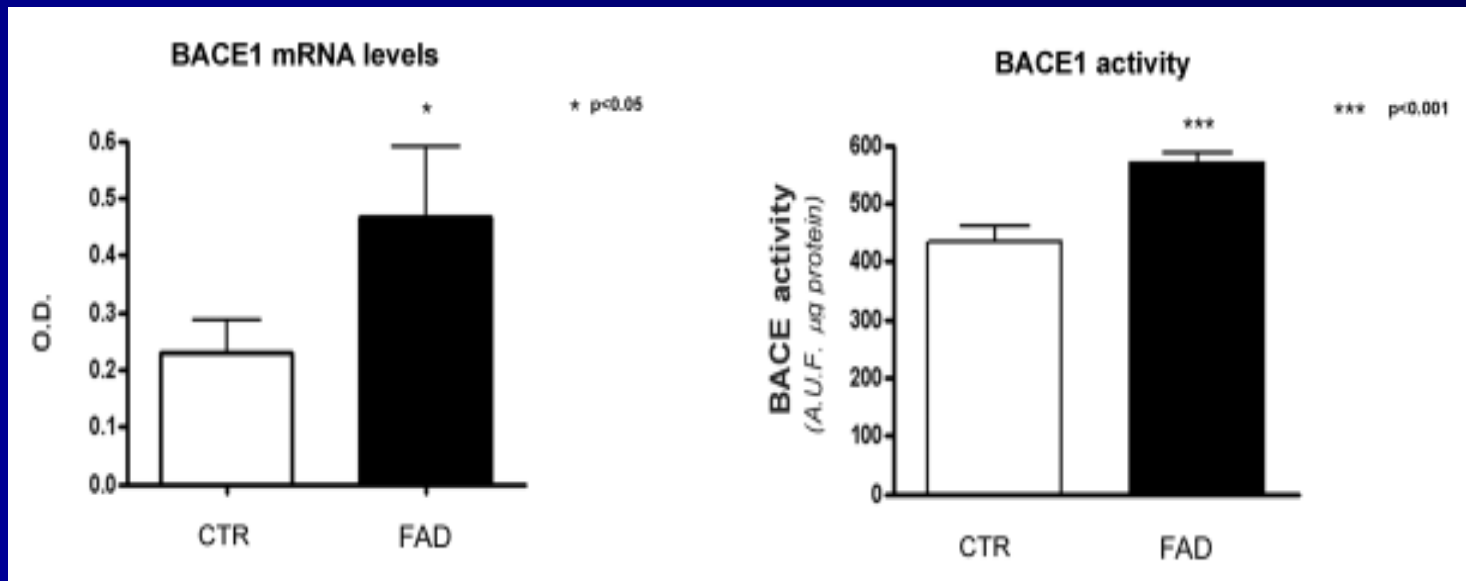


a

b

c

mRNA e attività di BACE1 sono aumentati nel cervello di FAD (10 casi con 10 differenti mutazioni PS1)



Le mutazioni della PS1 causano la up-regulation di BACE1 attraverso il loro effetto amiloidogenico: l'aumentata produzione di A β 42

Accumulo di A β nell'Alzheimer sporadico ad esordio tardivo

Aumentata produzione:

- >Attività delle secretasi
- Disponibilità substrato (APP)

Accelerata aggregazione:

- Cu⁺⁺/ Zn⁺⁺/Fe⁺⁺⁺
- isoforma 4 apoE

Diminuito smaltimento:

- neprilisina
- IDE
- isoforma 4 apoE

AD sporadico ad esordio tardivo

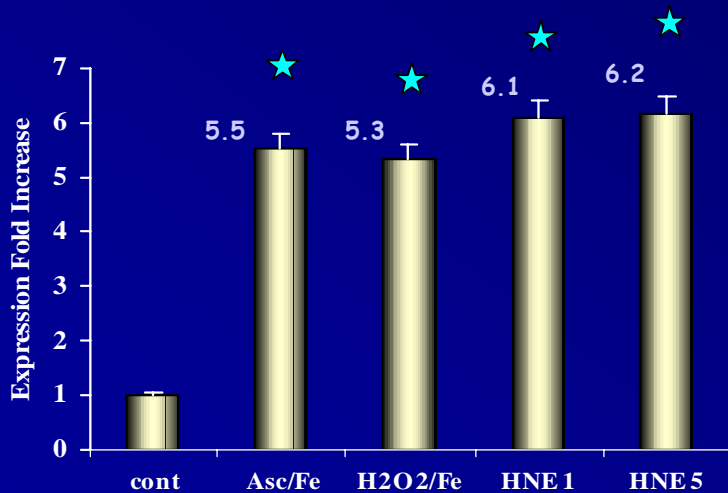
- Espressione e attività di BACE1 sono aumentate nel cervello di AD sporadico
- Lo stress ossidativo è una potenziale causa dell'aumento di BACE1 nell'AD sporadico:

Nel cervello di AD c'è stress ossidativo

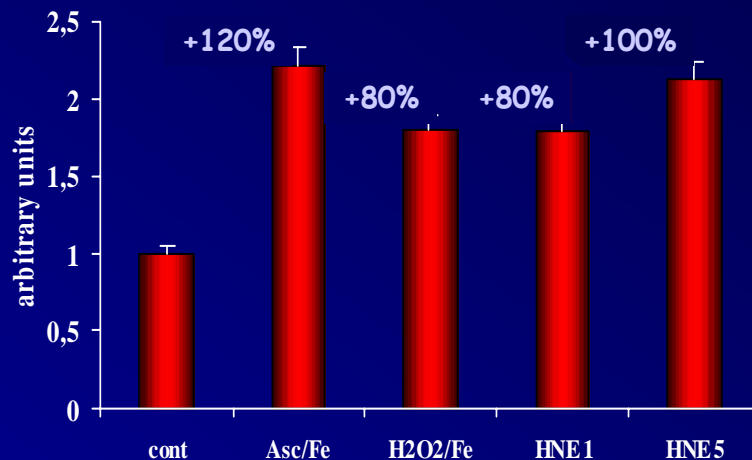
Lo stress ossidativo aumenta l'espressione di BACE1 in vitro (Tamagno E, et al. Neurobiol Dis. 2002; Kao SC, et al. J Biol Chem. 2004)

Lo stress ossidativo aumenta espressione e livelli proteici di BACE1 in NT2 cells (Tamagno et al, 2002, Neurobiol Dis; Kao SC et al, 2004, JBC)

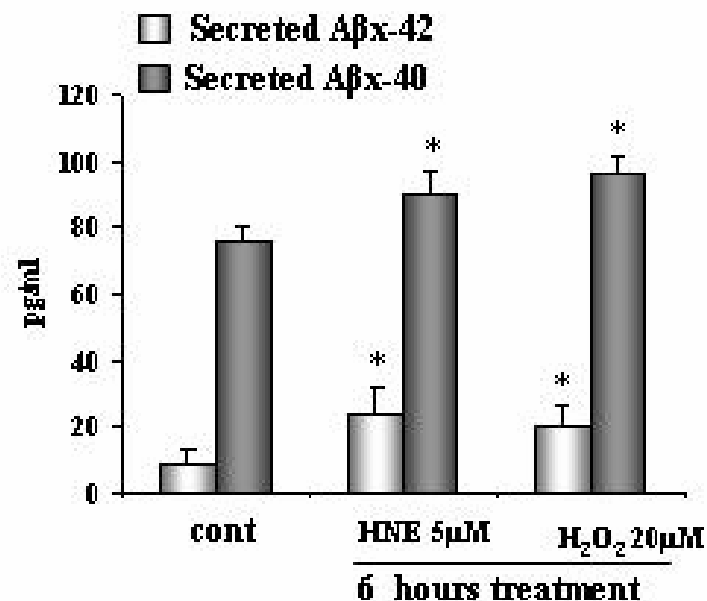
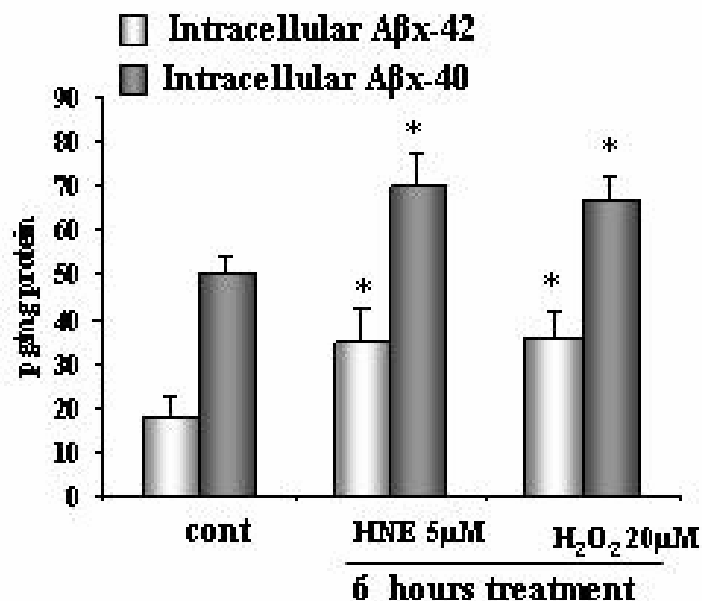
Real time-PCR



BACE1 protein levels



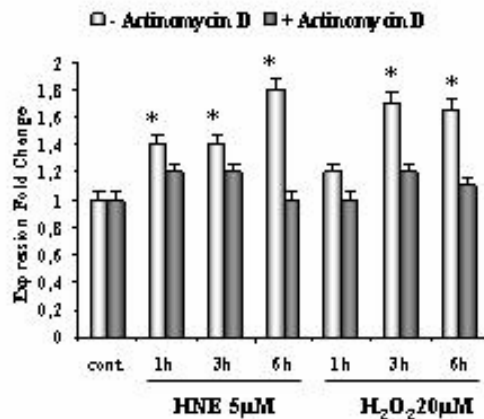
Lo stress ossidativo aumenta la produzione di $A\beta$ 40 e soprattutto di $A\beta$ 42



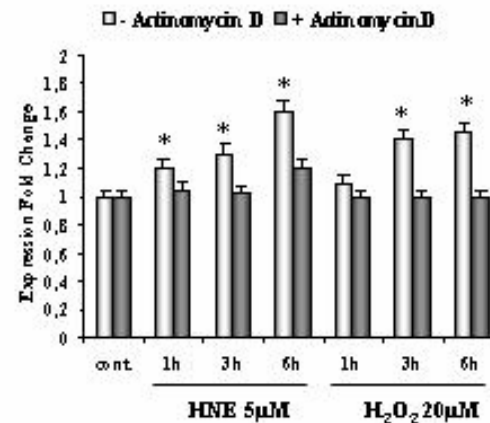
**Lo stress ossidativo e le mutazioni della
Presenilina 1 attivano BACE1 attraverso lo
stesso meccanismo?**

Lo stress ossidativo aumenta l'espressione di PS1, PEN-2 e l'attività della γ -secretasi

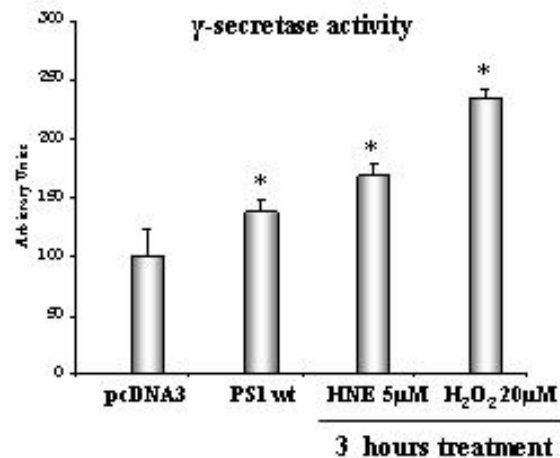
(a) PS1 mRNA levels



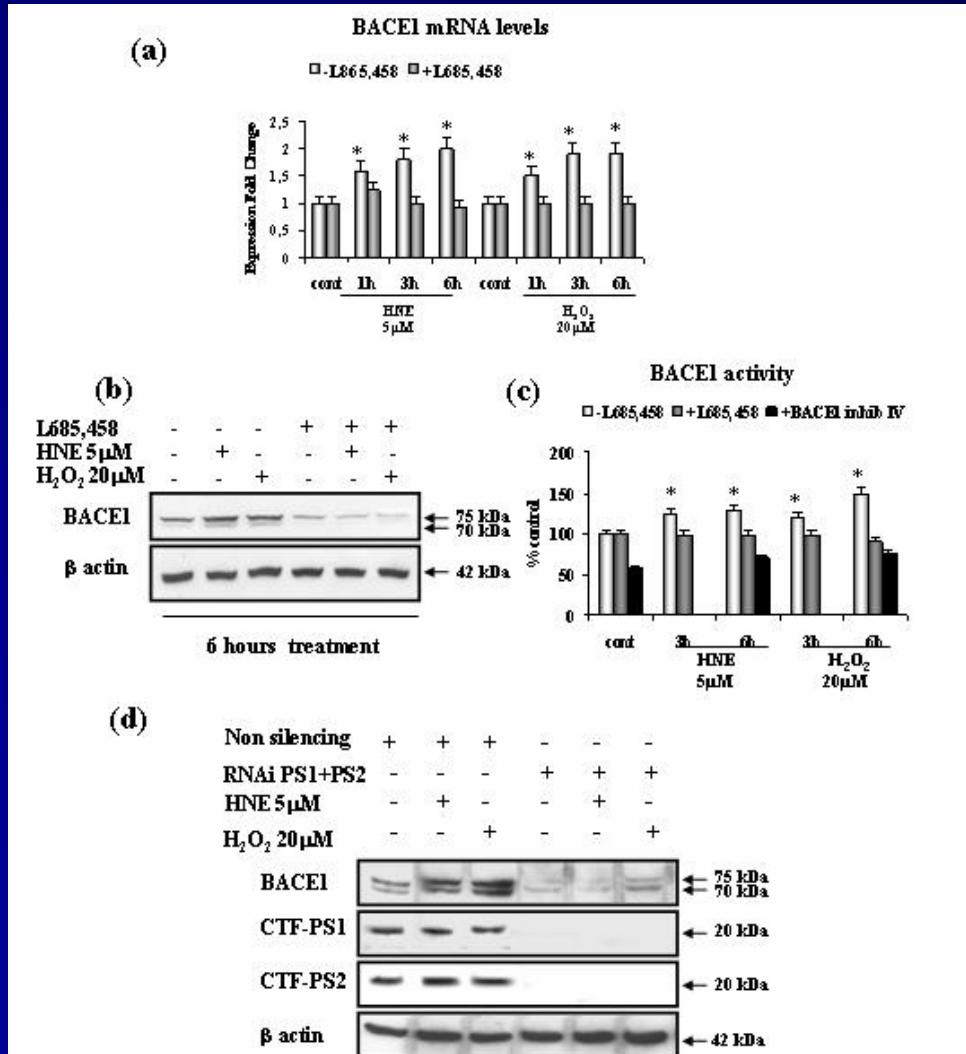
(b) PEN-2 mRNA levels



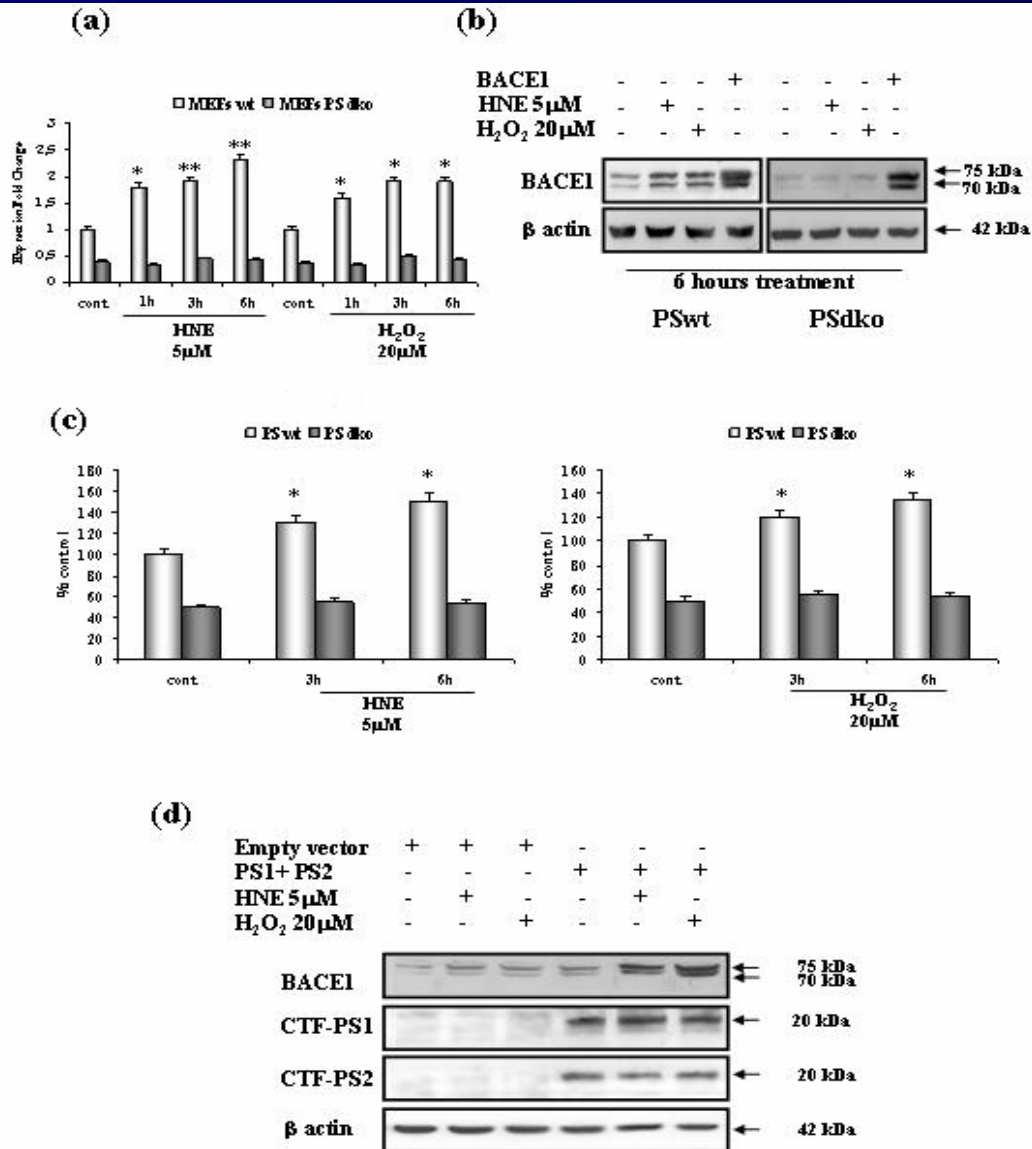
(c) γ -secretase activity



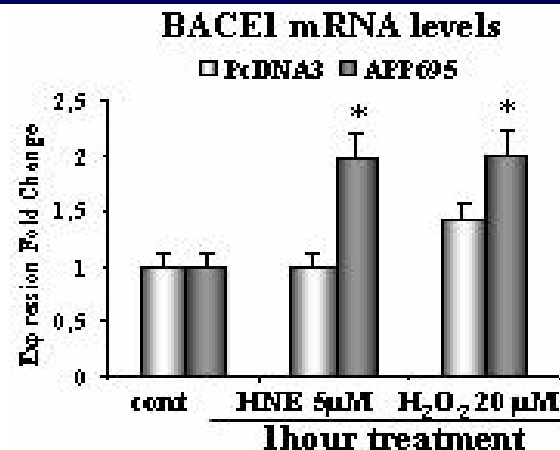
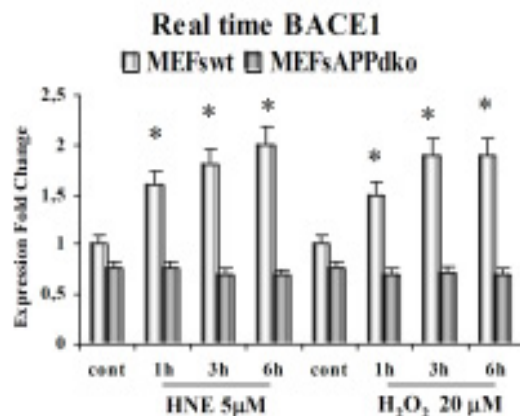
L'attivazione di BACE1 indotta da stress ossidativo necessita del γ -secretase cleavage



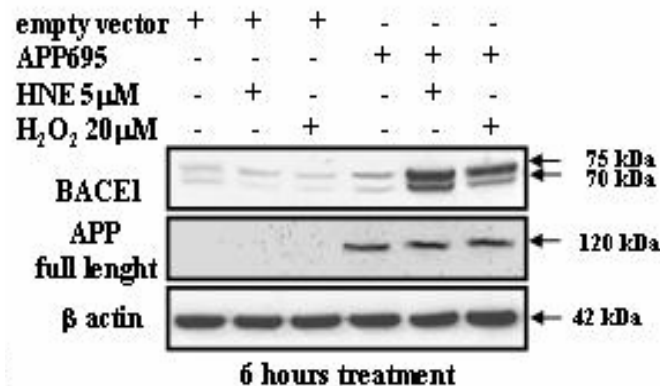
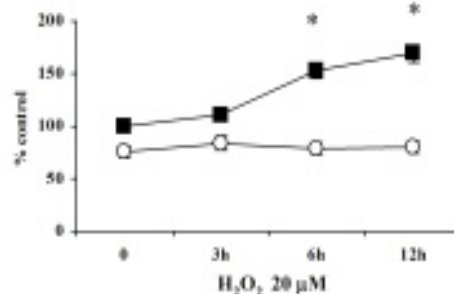
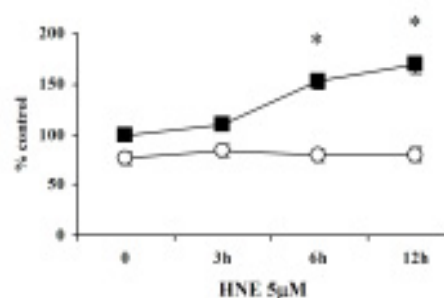
L'attivazione di BACE1 necessita delle Preseniline



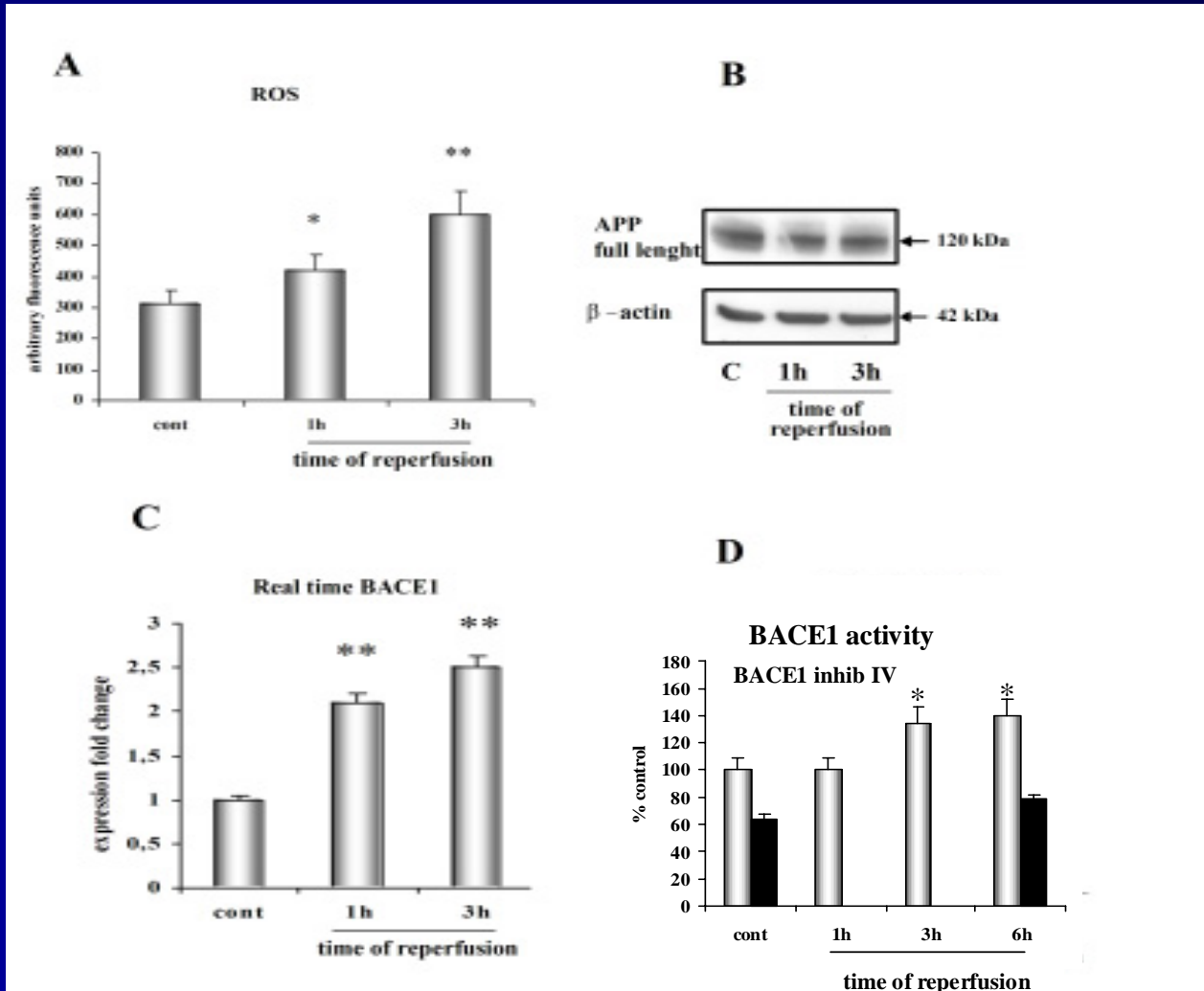
L'attivazione di BACE1 indotta da stress ossidativo richiede APP



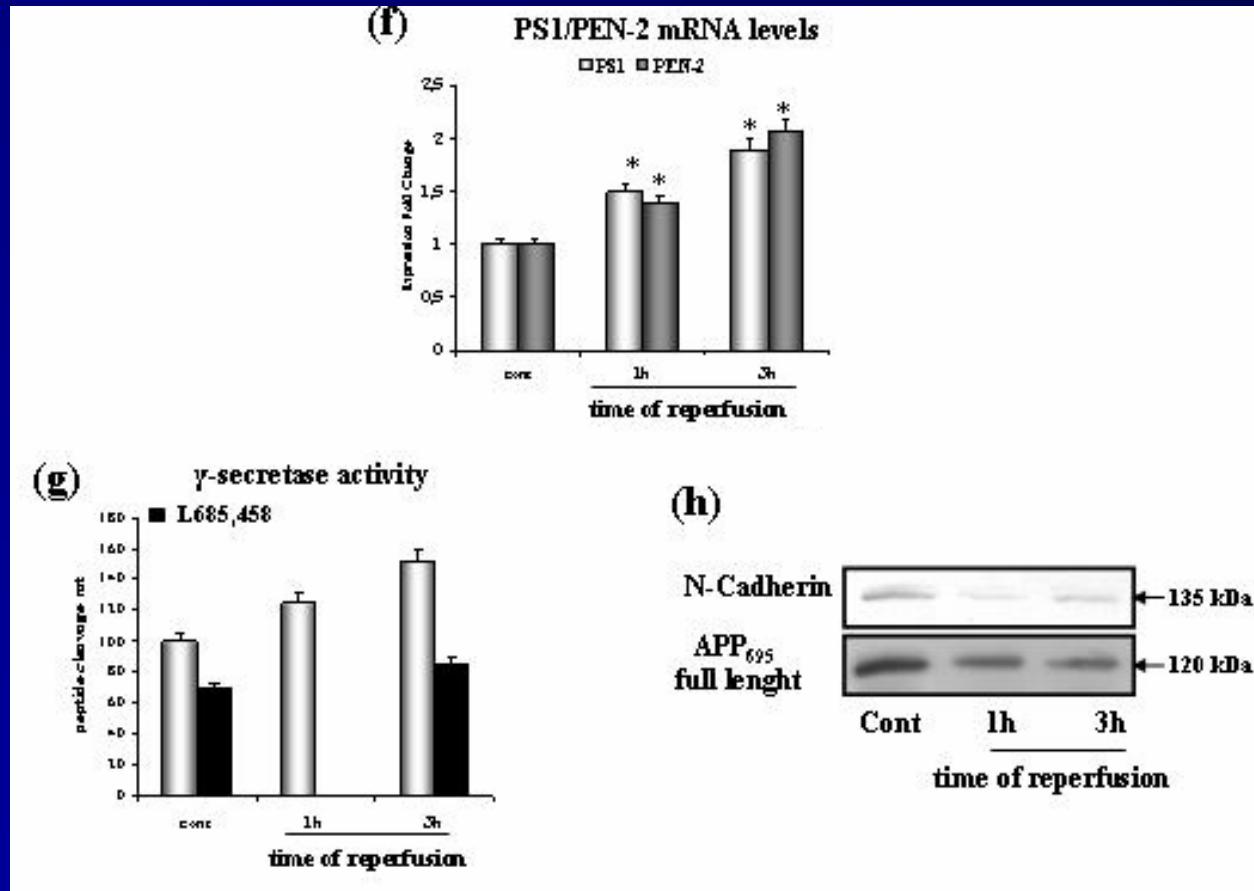
BACE1 activity
 ■ APPwt ○ APPdko



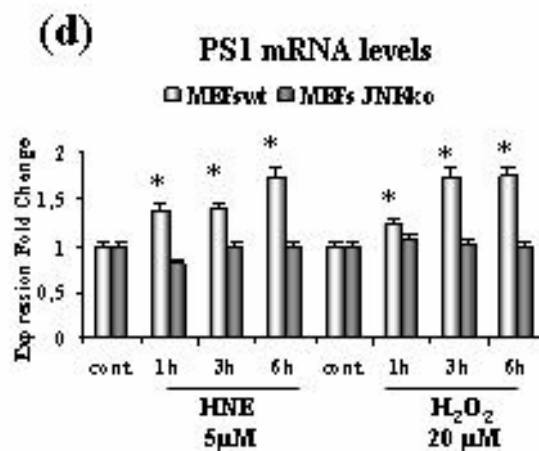
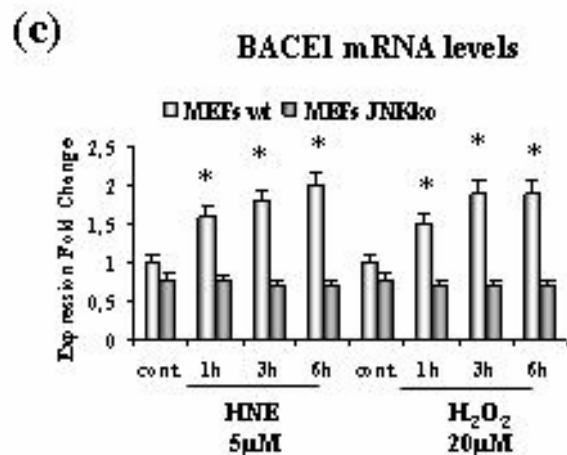
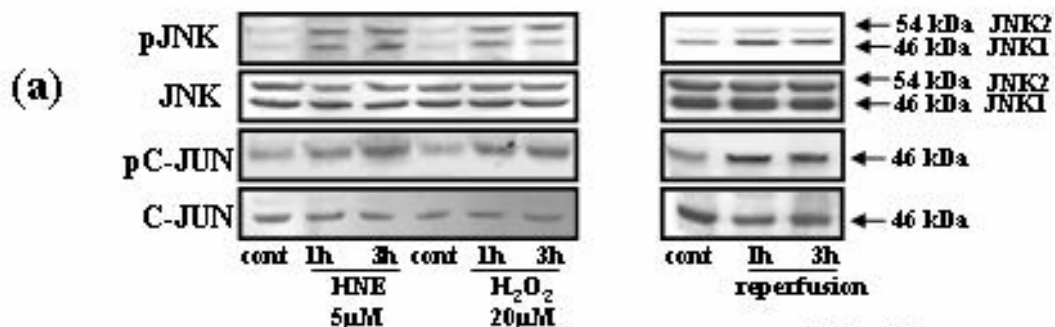
Espressione ed attività di BACE1 sono aumentate nel modello animale di stress ossidativo



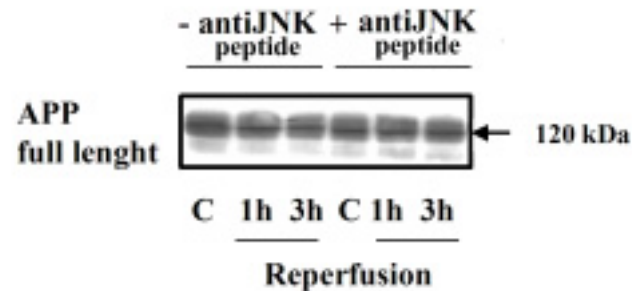
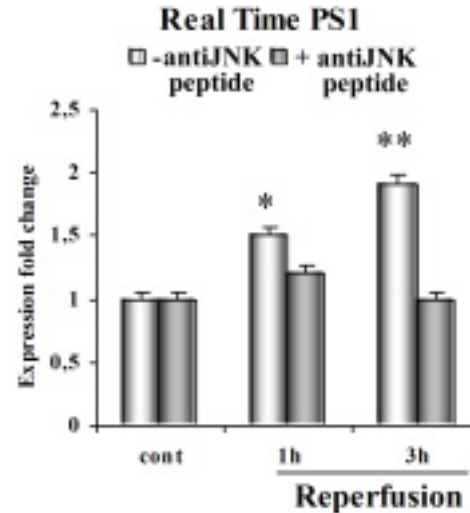
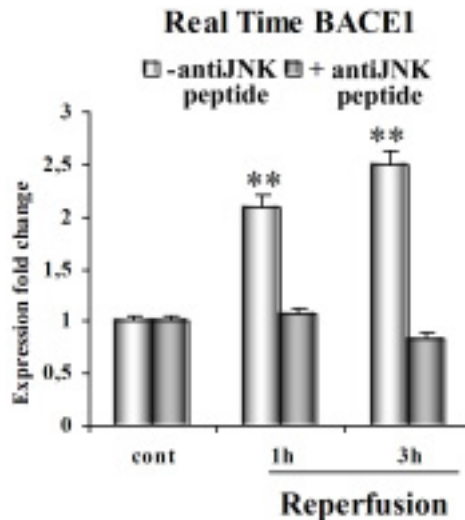
L'espressione di PS1 e l'attività della γ -secretasi sono aumentati nel modello animale di stress ossidativo



L'attivazione di PS1 e di BACE1 indotta da stress ossidativo utilizza la JNK/AP1 pathway



L'inibizione di JNK blocca l'aumento di BACE1 nel modello animale di stress ossidativo



Nuovo meccanismo patogenetico

Nella forma familiare (mutazioni di PS1) e nella forma sporadica (stress ossidativo) è attivo un feedback positivo dal γ -secretasi al β -secretasi cleavage di APP.

A β 42, il prodotto amiloidogenico del γ -secretase cleavage, è il fattore centrale dell'attivazione di BACE1

L'attivazione di BACE1 è trasmessa da JNK/AP1

L'attivazione di BACE1 può favorire la produzione dei peptidi A β troncati all'N-terminale e influenzare il tipo e la gravità del fenotipo di AD

University of Torino

Elena Tamagno
Michela Guglielmotto
Oliviero Danni

University of Genova

Roberta Borghi
Luca Giliberto
Rosa Mangerini
Alessandra Piccini

NIH, Intramural Research Program, Baltimore

Mohamed R. Mughal
Mark P. Mattson

Indiana Alzheimer disease center

Bernardino Ghetti

We thank: Tommaso Russo for providing MEFS Fe65 ko cells, APP-Gal4, pG5BLuc and CMV Renilla constructs; Bart De Strooper for providing MEFS Wt and PS-deficient cells; Ulrike Mueller for providing MEFS APP/APLP2-deficient cells; Luciano D'Adamio for the helpful discussion.