

S. Sorbi • F. Massaro

## Neurodegenerazione nelle demenze e amiloidosi

**Riassunto** In un ampio numero di malattie neurologiche sono presenti depositi di amiloide determinati da un alterato *fold*ing proteico. Tale processo dinamico agisce in parallelo o in alternativa al *fold*ing fisiologico, generando aggregati proteici insolubili e tossici sotto forma di fibrille proteiche con struttura secondaria tipo  $\beta$ -sheet. La suscettibilità al *misfold*ing proteico è spesso determinata geneticamente in quanto specifiche mutazioni a carico della proteina precursore dell'amiloide aumentano la probabilità di formazione di fibrille. Le patologie neurodegenerative caratterizzate da demenza e deposito di amiloide sono rappresentate dalla malattia di Alzheimer, le malattie

da prioni e dalle rare demenze familiari con angiopatia amiloidosica cerebrale, quali la demenza familiare tipo British e quella Danese. La comprensione dei meccanismi biochimici che conducono alla neurodegenerazione rappresenta il primo passo per lo sviluppo di nuove possibili strategie terapeutiche eziologiche, volte a prevenire la formazione degli aggregati proteici patologici.

**Parole chiave** Neurodegenerazione • Demenza • Proteina precursore amiloide • Malattia di Alzheimer • Malattie da prioni

Le malattie neurodegenerative sono malattie croniche progressive caratterizzate da selettiva perdita neuronale nei sistemi motori, sensitivi o cognitivi. Il *pattern* di perdita cellulare associato a *markers* cellulari specifici ha permesso una classificazione neuropatologica di molte malattie neurodegenerative. L'aggregazione anomala di una proteina extracellulare rappresenta un elemento che caratterizza molte malattie neurologiche tra le quali la malattia di Alzheimer (AD), la malattia di Creutzfeld-Jacob (CJD), le malattie del motoneurone, la malattia di Huntington (HD) e la polineuropatia amiloidosica familiare (FAP).

La localizzazione di fibrille proteiche nei tessuti in degenerazione suggerisce che il processo di fibrillogenesi contribuisca alla morte cellulare o ne sia un inseparabile epifenomeno [1].

Fino ad oggi sono state identificate almeno 21 differenti proteine che, pur avendo strutture e funzioni eterogenee, sono in grado di generare fibrille di amiloide aventi caratteristiche ultrastrutturali simili. Circa mezza dozzina sono implicate nella patogenesi di alcune malattie del sistema nervoso centrale caratterizzate da demenza.

La struttura secondaria e terziaria della proteina solubile nativa può essere modificata da diversi fattori che concorrono al processo di fibrillogenesi: le modificazioni

S. Sorbi (✉) • F. Massaro  
Dipartimento di Scienze Neurologiche e Psichiatriche  
Università degli Studi di Firenze  
Viale Morgagni 85, I-50134 Firenze, Italia  
e-mail: sorbi@neuro.unifi.it

genetiche e post-traduzionali, l'aumentata concentrazione della proteina stessa, il basso pH, fattori tissutali sconosciuti, ioni metallici e il deposito di proteine associate all'amiloide o *chaperons*.

Le modificazioni genetiche delle proteine precursori rappresentano l'argomento di numerosi studi volti ad indagare come la mutazione stessa possono influenzare la percentuale di conversione di una proteina dalla forma nativa a quella fibrillare.

Il processo dinamico di *misfolding*, che avviene in parallelo o in alternativa al fisiologico ripiegamento, genera aggregati tossici insolubili che si depositano nei tessuti in fascicoli di fibrille con struttura secondaria a tipo  $\beta$ -sheet.

I depositi di amiloide sono identificati sulla base della birifrangenza verde alla luce polarizzata al microscopio ottico dopo colorazione con rosso congo e dalla presenza di fibrille non ramificate di 7,5–10 nm al microscopio elettronico [2].

---

### Malattia di Alzheimer

La malattia di Alzheimer è la più comune malattia neurodegenerativa caratterizzata da progressivo deterioramento delle funzioni cognitive. I *markers* neuropatologici sono rappresentati dalla presenza di perdita neuronale, placche extracellulari contenenti  $\beta$ -amiloide e filamenti neurofibrillari costituiti da proteina Tau iperfosforilata. L'amiloide contenuta nelle placche è il prodotto di clivaggio di una proteina precursore dell'amiloide da parte di una serie di proteasi: l' $\alpha$ -, la  $\beta$ - e la  $\gamma$ -secretasi.

La  $\beta$ -secretasi in particolare è responsabile della genesi di un peptide  $\beta$ 42-amiloide di importanza patogenetica in quanto capace di formare fibrille tossiche insolubili che si trovano nelle placche senili [3]. Il peptide di 9 aminoacidi ( $\beta$ 34–42) alla regione COOH-terminale del frammento  $\beta$ 42 forma fibrille stabili ed ordinate. Queste proprietà inusuali suggeriscono che il processo di assemblaggio delle fibrille è altamente ordinato e che l'estremità C-terminale del peptide  $\beta$  è essenziale nel determinarne la percentuale di trasformazione. Inoltre è stato dimostrato che la formazione di fibrille è un processo nucleazione-dipendente, simile in qualche modo alla cristallizzazione; infatti, soluzioni sovrassature di peptide di amiloide tendono spontaneamente all'aggregazione, ma il processo può essere accelerato dall'aggiunta di piccole quantità di fibrille di amiloide preformate. Il tempo richiesto per "nucleare" fibrille  $\beta$ 40 è più lungo di quello richiesto per "nucleare" fibrille  $\beta$ 42 tuttavia il primo può essere accelerato dalla presenza di basse concentrazioni di fibrille  $\beta$ 42 preformate.

L'importanza del peptide  $\beta$ 42 è confermata dal fatto che risulta presente in alta concentrazione in tre forme

genetiche di AD ad esordio precoce, dovute a mutazioni a carico dei geni codificanti per la proteina precursore dell'amiloide (APP), la preselinina 1 e la presenilina 2, ma non nelle forme sporadiche. È interessante inoltre l'osservazione che il trauma cranico grave rappresenti un fattore di rischio per la comparsa di malattia di Alzheimer. Alcuni pazienti con trauma cranico mostrano infatti elevati, se pur transitori, livelli di  $\beta$ 42 dopo una settimana dall'evento; forse tale aumento transitorio potrebbe essere sufficiente a promuovere la nucleazione di fibrille di amiloide, che in seguito favorirebbero la comparsa della malattia [1].

---

### Malattie da prioni

Le malattie da prioni sono un gruppo eterogeneo di malattie neurodegenerative caratterizzate, da un punto di vista neuropatologico, da perdita dei neuroni della corteccia e dei nuclei della base, astrogliosi e depositi di amiloide nella matrice extracellulare costituiti da accumuli di proteina prionica patogena (PrP<sup>Sc</sup>).

La "replicazione" della proteina prionica patogena avviene attraverso l'interazione con la proteina prionica cellulare (PrP<sup>C</sup>) normale, codificata dal gene PRNP localizzato sul cromosoma 20. Sebbene la PrP<sup>C</sup> e la PrP<sup>Sc</sup> abbiano la stessa sequenza aminoacidica, presentano una conformazione spaziale diversa: la PrP<sup>C</sup> è ricca in regioni ad  $\alpha$ -elica mentre la PrP<sup>Sc</sup> ha una percentuale maggiore di regioni di  $\beta$ -struttura. Una proteolisi limitata della PrP<sup>Sc</sup> porta alla formazione di un frammento corto di 142 aminoacidi resistente alle proteasi che è capace di polimerizzare in fibrille di amiloide. La conversione da PrP<sup>C</sup> a PrP<sup>Sc</sup> procede con una reazione a cascata e quando viene raggiunta una concentrazione critica, le proteine patogene si aggregano e danneggiano il tessuto nervoso [4–6].

I vari fenotipi clinici delle malattie da prioni dipendono in ultima analisi dal selettivo coinvolgimento di diverse aree cerebrali.

---

### Demenze familiari con angiopatia amiloidosica cerebrale

Due forme rare ereditarie di demenza, la *Familial British Dementia* (FBD) e la *Familial Danish Dementia* (FDD), rappresentano verosimilmente il *trait d'union* tra le angiopatie cerebrali amiloidosiche, la deposizione parenchimale di amiloide e la neurodegenerazione [7].

La FBD è una malattia autosomica dominante caratterizzata da perdita di memoria progressiva, tetraparesi spastica ed atassia cerebellare con esordio intorno ai 60 anni. L'angiopatia cerebrale amiloidosica è estesa, ma le emorragie significative sono rare.

La FDD è stata descritta come una malattia ereditaria oftalmo-oto-encefalica in una famiglia danese con esordio verso i 30 anni con cataratta ed emorragie oculari, a cui seguono poi la perdita di udito, atassia cerebellare e verso i 40 anni i disturbi psichiatrici e la demenza [8].

In entrambe queste condizioni, l'anomalia genetica consiste in un allungamento della proteina precursore, normalmente di 266 aminoacidi, definita BRI-PP. Il normale codone di stop è sostituito da un'arginina per una mutazione puntiforme TA nella FBD, mentre è abolito da un *frameshift* dovuto all'inserzione di una duplicazione di 10 nucleotidi tra il codone 265 e 266 subito prima del codone di stop nel FDD [9]. Entrambi i tipi di mutazione portano ad una proteina precursore lunga ben 277 aminoacidi definita proteina precursore dell'amiloide Bri nella FBD e proteina precursore dell'amiloide Dan nella FDD. Il processamento di tali proteine porta ad un peptide mutato C-terminale designato ABri in FBD e ADan in FDD.

Da un punto di vista istologico la FBD è simile all'AD; sono infatti presenti placche di amiloide e degenerazione neurofibrillare. Esiste una grave angiopatia cerebrale amiloidosica che colpisce le piccole arterie e le arteriole delle leptomenigi, della sostanza bianca e grigia del sistema nervoso centrale, preservando alcune aree come lo striato.

Tutti i vasi affetti compresi quelli della retina e di altri organi, si colorano positivamente con anticorpi anti-ABri. Placche argirofile di amiloide ABri positive di diverse dimensioni si possono trovare nelle aree limbiche, mentre depositi ABri positivi, negativi per il rosso congo si ritrovano nella corteccia entorinale e nel giro fusiforme. La degenerazione neurofibrillare mostra una stretta associazione topografica sia con i depositi fibrillari che non fibrillari ABri positivi.

Un numero più limitato di dati istopatologici sono disponibili per la FDD. A differenza della FBD, in cui i depositi extracellulari di ABri formano placche di amiloide, nella FDD i depositi ADan che predominano nell'ippocampo sono rosso congo positivi e tioflavina-S negativi suggerendo che ADan ha una conformazione non fibrillare preamiloidosica in queste lesioni. La degenerazione neurofibrillare è più grave nelle strutture limbiche e nelle aree neocorticali rispetto alla FBD. Neuriti abnormi sono assenti intorno ai depositi non fibrillari. I vasi retinici sono più gravemente colpiti. Una caratteristica peculiare è che esiste una deposizione in quantità variabile di  $\beta$ -amiloide nei vasi sanguigni e nel parenchima sia in maniera isolata che associata alle placche di ADan.

Similmente ai casi sporadici di angiopatia cerebrale amiloidosica e di AD, le lesioni amiloidosiche vascolari e parenchimali sia nel FBD che FDD contengono proteine associate all'amiloide come proteoglicani eparan-solfato, apoE, apoJ, vitronectina e frazioni del complemento, suggerendo un'attivazione *in situ* della cascata del complemento.

---

## Conclusioni

Lo studio delle alterazioni morfo-strutturali delle proteine che concorrono alla formazione di amiloide ha permesso di identificare il substrato patogenetico di alcune malattie neurodegenerative.

La comprensione dei meccanismi biochimici che conducono alla neurodegenerazione rappresenta il primo passo per lo sviluppo di possibili strategie terapeutiche eziologiche volte a prevenire la formazione degli aggregati proteici patologici.

---

## Bibliografia

1. Koo EH, Lansbury PT jr, Kelly JW (1999) Amyloid disease: abnormal protein aggregation in neurodegeneration. *Proc Natl Acad Sci U S A* 96:9989-9990
2. Merlini G, Bellotti V (2003) Molecular mechanism of amyloidosis. *N Engl J Med* 349:583-596
3. Nussbaum RL, Ellis CE (2003) Alzheimer's Disease and Parkinson's Disease. *N Engl J Med* 348:1356-1364
4. Korth C, Stierli B, Streit P et al (1997) Prion PrpSc specific epitope defined by a monoclonal antibody. *Nature* 390:74-77
5. Wadsworth JD, Jackson GS, Hill AF, Collinge J (1999) Molecular biology of prion propagation. *Curr Opin Gen Dev* 9:338-345
6. Prusiner SB (2001) Shattuck lecture-neurodegenerative disease and prions. *N Engl J Med* 344:1516-1526
7. Revesz T, Ghiso J, Layshley T et al (2003) Cerebral Amyloid Angiopathies: a pathologic, biochemical and genetic review. *J Neuropathol Exp Neurol* 62:885-898
8. Mead S, Jammes Galton M, Revetz T et al (2000) Familial British dementia with amyloid angiopathy: early clinical, neuropsychological and imaging findings. *Brain* 123:721-791
9. Vidal R, Revesz T, Rostagno A et al (2000) A decamer duplication in the 3' region of the BRI gene originates an amyloid peptide that is associated with dementia in a Danish Kindred. *Proc Natl Acad Sci U S A* 97:4920-4925