



MARIA ANTONIETTA LEPORE

**MALATTIE
NEURODEGENERATIVE
PROTOCOLLI DI RICERCA**





aracne



ISBN
979-12-218-0508-6

PRIMA EDIZIONE
ROMA 10 FEBBRAIO 2023

INDICE

7	<i>Riassunto / Summery</i>
9	<i>Introduzione</i>
13	<i>Introduction</i>
17	Capitolo I Malattia di Parkinson
23	Capitolo II Eziologia
29	Capitolo III Diagnosi con <i>Neuroimaging</i>
31	Capitolo IV Terapia e riabilitazione
35	Capitolo V Malattia di Alzheimer
39	Capitolo VI Fasi della malattia di Alzheimer

6 *Indice*

- 43 Capitolo VII
Genetica della malattia di Alzheimer
- 53 Capitolo VIII
Strategie terapeutiche
- 55 Capitolo IX
Proteomica nella malattia di Alzheimer
- 59 *Conclusione*
- 63 *Conclusion*
- 67 *Bibliografia*

RIASSUNTO

Lo studio presentato in questo volume ha lo scopo di aumentare la consapevolezza nei confronti della ricerca innovativa sulle malattie neurodegenerative. L'informazione sulle attività neurologiche è frutto del coordinamento internazionale attraverso differenti modalità di ricerca coordinata, in particolare, da *European Dana Alliance for the Brain* in Europa e Stati Uniti e da *European Academy of Neurology*, adiuvati dai laboratori diagnostici, anche mediante argomenti esplicativi destinati agli studenti e attività divulgative su tematiche che riguardano patologie neurologiche, adatte alle loro capacità di apprendimento.

L'obiettivo del nostro lavoro è anche sensibilizzare gli studi sulla prevenzione e la lotta alle malattie neurodegenerative, informare sui progressi importanti raggiunti dalla ricerca scientifica, dedicata a mettere in luce la correlazione tra stile di vita e ricadute. È una narrazione chiara con informazioni sui geni, proteine, caratteristiche delle proteine, metaboliti, essenzialità dei geni, regolazione genica.

L'innovazione tecnologica e la scoperta di nuovi farmaci sta segnando l'inizio di una nuova era nella cura di queste patologie particolarmente invalidanti, riducendo e/o rallentando molti disturbi che causano gravi disagi e ripercussioni anche sulla qualità di vita dei pazienti che ne sono affetti.

Si vuole sottolineare, inoltre, i significativi miglioramenti dal punto di vista della prevenzione e delle terapie messe in atto per il trattamento più efficace delle malattie neurodegenerative, attraverso la condivisione dei soggetti affetti dalla malattia di Alzheimer e del morbo di Parkinson e dei loro familiari per fornire obiettivi e strategie comuni.

SUMMARY

This study aims to raise awareness of innovative research on neurodegenerative diseases. Information on neurological activities is the result of international coordination through different forms of research coordinated, in particular, by the *European Dana Alliance for the Brain* in Europe and the United States and by the *European Academy of Neurology*, assisted by diagnostic laboratories, also mediating explanatory arguments destined for students and divulgating activity on topics related to neurological diseases, suited to their learning abilities.

The objective of this work is also to sensitize students to the prevention and fate of this pathology, to inform them of important advances in scientific research, dedicated to measuring the correlation between life style and stress. It is a clear narration with information on genes, proteins, characteristics of proteins, metabolites, essentiality of genes, gene regulation.

Technological innovation and the scope of new pharmacies signify the initiation of a new era in the cure for these particularly invalid pathological pathologies, reducing and/or slowing down many disorders that cause severe discomfort and repercussions, even in the quality of life that are affected.

If we underestimate, in addition, significant improvements from the point of view of prevention and therapy in the most effective treatment of neurodegenerative diseases, through the sharing of subjects affected by Alzheimer's disease and Parkinson's disease and their family members to provide common goals and strategies.

INTRODUZIONE

Le malattie neurodegenerative sono frequenti e causano una diminuzione e/o perdita di alcune funzioni, peggiorando la qualità di vita di chi ne è affetto; sono un complesso di malattie neurologiche che comprende le più conosciute e diffuse morbo di Parkinson e malattia di Alzheimer.

Nelle malattie neurodegenerative i neuroni subiscono un danno progressivo, che, nel tempo, compromette prima la comunicazione intersinaptica tra le cellule, poi interamente la struttura cellulare, infine provoca la morte. Le cellule nervose non si replicano e, escludendo la presenza di un piccolo numero di cellule progenitrici, non vengono sostituite; perciò, il danno ai neuroni diventa irreversibile.

La ricerca, negli ultimi anni, ha raggiunto importanti traguardi e molti disturbi possono essere prevenuti o efficacemente curati, soprattutto correggendo i fattori di rischio per le malattie cerebrovascolari, ampliando la riserva cognitiva nel fisiologico invecchiamento cerebrale.

Una iniziativa importante è conoscere i dati normativi per la valutazione dei disturbi cognitivi, quali memoria, ragionamento, orientamento, organizzazione nella vita quotidiana, attenzione e demenza ricevendo informazioni, al fine di prevenirli con percorsi di diagnosi e terapie. Vi sono nuovi orizzonti nella ricerca, comprese le tecnologie più innovative, soprattutto per la prevenzione ad alto impatto sociale, anche in rapporto agli stili di vita, per sperimentare modalità differenti

di utilizzare la mente con il pensiero creativo ad allenarla a migliorare la concentrazione e inoltre, per fornire utili informazioni e suggerimenti per il mantenimento in salute del cervello e prevenire sintomi largamente più invalidanti, come ictus e processo riabilitativo.

Per prevenire e/o contrastare le malattie neurodegenerative risulta indispensabile adottare uno stile di vita sano; è necessario, quindi, modificare errate abitudini, senza sottovalutare segni e sintomi che possano far sospettare un disturbo neurologico.

La diagnosi precoce rappresenta, infatti, una potente arma per mettere in atto gli interventi terapeutici volti a limitare severe conseguenze.

Il funzionamento del sistema nervoso richiede una dieta sana ed equilibrata in grado di fornire un costante apporto di micro e macro nutrienti attraverso un bilanciato apporto vitaminico.

Evidenze scientifiche consolidate dimostrano come gli alimenti svolgano un ruolo protettivo nello sviluppo di patologie neurodegenerative, cerebrovascolari e infiammatorie. La dieta mediterranea, in particolare, raccoglie gli alimenti ricchi di micronutrienti, acidi grassi polinsaturi (omega 3, per es.) e antiossidanti.

Studi recenti hanno dimostrato come la dieta mediterranea sia in grado di ridurre di circa il 30% il rischio di sviluppare la malattia di Alzheimer e il morbo di Parkinson, calcolando che soggetti che ne sono affetti, ad oggi, siano circa sei milioni.

È importante ricordare come la caratterizzazione dei cambiamenti strutturali nel cervello possano precedere i sintomi clinici di deterioramento cognitivo e aiutare ad identificare i pazienti ad aumentato rischio di sviluppare sia la malattia di Alzheimer sia il morbo di Parkinson e guidare ulteriori ricerche su eventuali trattamenti terapeutici più efficaci.

Un'analisi di imaging, coordinata da Prescott e colleghi, pubblicata su *Neuroscience*, ha evidenziato che nei portatori asintomatici di mutazioni autosomiche dominanti della malattia di Alzheimer, presenti sul braccio lungo del cromosoma 21, la connettività strutturale della sostanza bianca è alterata rispetto ai non portatori. Inoltre, nei portatori di queste mutazioni, una connettività strutturale minore e la presenza di accumulo di amiloide sarebbero correlati con gli anni stimati di insorgenza dei sintomi della demenza.

Nei portatori di mutazioni, inoltre, è stata riscontrata una connettività minore nella zona frontoparietale rispetto ai non portatori. Tuttavia, la descrizione delle variazioni della struttura nel cervello, che possono precedere i sintomi clinici di danneggiamento cognitivo, potrebbe aiutare nell'identificazione dei pazienti ad aumentato rischio di sviluppare la malattia di Alzheimer e dirigere ulteriori ricerche su potenziali trattamenti terapeutici. I risultati ottenuti, se pur molto apprezzabili e valevoli, devono essere controllati e validati attraverso opportuni procedimenti, per la correttezza dei dati scientifici realizzati mediante il confronto con regole e dati già noti su popolazioni più ampie.

L'obiettivo principale è aumentare la conoscenza sulle malattie neurodegenerative, in modo da sensibilizzare la popolazione ad affidarsi alle cure degli specialisti, soprattutto quando compaiono i primi sintomi che caratterizzano ogni singola patologia neurologica e poco chiari alla maggior parte degli individui.

Infatti, vi sono numerose lacune sulla conoscenza delle patologie neurodegenerative, che risulta molto vaga tra la popolazione. Uno studio recente pubblicato su *Scientific Reports* ha rivelato come soltanto una piccola percentuale, $\leq 10\%$, conosce e saprebbe indicare i sintomi della malattia di Alzheimer, considerando che, in Italia, ne sono affetti oltre un milione e addirittura $\leq 1\%$ quelli del morbo di Parkinson, di cui ne sono affetti circa 500.000 soggetti, in costante aumento con l'invecchiamento della popolazione.

Considerando le probabili cause determinanti il danno neurologico sia della corteccia cerebrale sia del muscolo, la diagnosi e la cura delle malattie neurodegenerative sono molto complesse e solo i professionisti che hanno una adeguata preparazione sono in grado di individuare e differenziare tra la vasta serie di possibili variabili diagnostiche.

Attualmente, le malattie neurodegenerative sono al primo posto tra le condizioni patologiche, acute e/o croniche, tra le cause di disabilità e responsabili di perdita di autonomia.

Ricerca e innovazione tecnologica sono la strategia e i presupposti fondamentali per assicurare l'efficacia terapeutica e l'appropriatezza clinica di queste malattie, caratterizzate da particolare complessità clinica.

Nel libro vi sono contenuti informativi sulle caratteristiche principali delle malattie neurodegenerative, sui sintomi, in qualità di campanelli

di allarme e sulle terapie innovative. Il volume può essere considerato una panoramica delle malattie neurodegenerative, con risposte alle domande più frequenti e uno strumento per argomenti legati alla biologia, alla genetica, all'ingegneria biomedica, alla protomica, alla biotecnologia utile agli studenti, discenti e ai ricercatori.

INTRODUCTION

Neurodegenerative diseases are frequent and cause a decrease and/or loss of some function, worsening the quality of life of those affected; they are a complex of neurological diseases which includes the best known and most widespread Parkinson's disease and Alzheimer's disease.

In neurodegenerative diseases, neurons undergo progressive damage, which, over time, first compromises the intersynaptic communication between cells, then the entire cellular structure, and finally causes death.

Nerve cells do not replicate and, excluding the presence of a small number of progenitor cells, are not replaced; therefore, the damage to the neurons becomes irreversible.

Research, in last decade, has reached important goals and some disorders can be prevented or effectively treated, above all by correcting the risk factors, expanding the cognitive reserve in physiological cellular aging.

An important initiative is to know the regulatory data for the assessment of cognitive disorders, in particular for prevention with a high social impact, also in relation to lifestyles and to experiment with different ways of using the mind with creative thinking to train it to improve concentration, to provide useful information and suggestions for maintaining brain health, and preventing much more disabling symptoms, such as stroke and rehabilitation process.

To prevent and/or counter neurodegenerative diseases, it is possible to adopt a healthylifestyle and it is therefore necessary to change incorrect habits, without underestimating signals that may lead to suspicion of a neurological disorder.

In fact, early diagnosis represents a powerful weapon to implement therapeutic interventions aimed at limiting severe consequences.

The functioning of the nervous system requires a healthy and balanced diet, able to provide a constant supply of micro and macro nutrients through a balanced vitamin contribution.

Scientific evidence demonstrates that suitable foods play a protective role in the development of neurodegenerative, cerebrovascular and inflammatory diseases. The Mediterranean diet, in particular, gathers foods rich in micronutrients, fatty acids (omega 3, for example) and antioxidant.

Recent studies have shown that the Mediterranean diet is able to reduce the risk of developing Alzheimer's disease and Parkinson's disease by about 30%, calculating that people who are affected, to date, are about six million.

It is important to remember how the characterization of structural changes in the brain may precede clinical symptoms of cognitive impairment and help identify patients at increased risk of developing Alzheimer's disease and Parkinson's disease and guide further research on possible more effective therapeutic treatments.

An imaging analysis, carried out by Prescott et al., published in *Neuroscience*, showed that in asymptomatic carriers of autosomal dominant mutations of Alzheimer's disease, present on the long arm of chromosome 21, the structural connectivity of the white matter is altered compared to non-carriers. Furthermore, in carriers of these mutations, less structural connectivity and the presence of amyloid accumulation would be correlated with the estimated years of onset of symptoms of dementia.

In addition, less frontoparietal connectivity was found in the mutation carriers than in non-carriers. However, the description of changes in the structure in the brain, which precede clinical symptoms of cognitive impairment, could help in identifying patients with increased risk of developing Alzheimer's disease and direct further research into potential valid therapeutic treatments.

The results obtained, although appreciable and valid, must be checked and validated through appropriate procedures for the correctness of scientific data, achieved by comparison with rules and data already known on larger populations.

The main objective is to increase knowledge on neurodegenerative diseases, in order to sensitize the population to rely on the care of specialists, especially when the first symptoms that characterize any neurological pathology appear and are unclear to most individuals.

A recent study, published in *Scientific Reports*, revealed that only a small percentage $\leq 10\%$, know and would be able to indicate the symptoms of Alzheimer's disease, assuming that, in Italy, over a million are affected, and only $\leq 1\%$ those of Parkinson's disease, of which about 500,000 people are affected.

Considering the probable causes determining the neurological damage of the cerebral cortex and of the muscle, the diagnosis and treatment of degenerative diseases are very complex and only professionals with adequate training are able to recognize and differentiate between the wide range of possible diagnostic variables.

Currently, neurodegenerative diseases are in first place among the pathological conditions, acute and/or chronic, cause of disability and responsible for loss of autonomy.

Research and technological innovation are the fundamental strategy and prerequisites to ensure the therapeutic efficacy and clinical appropriateness of these diseases, characterized by particular clinical complexity.

The book contains information on the main features of neurodegenerative diseases, on symptoms, as alarm bells and on innovative therapies. The volume can be considered an overview of neurodegenerative diseases, with answer to frequently asked questions and a tool for topics related to biology, genetics, biomedical engineering, proteomics, biotechnology useful for students, learners and researchers.

CAPITOLO I

MALATTIA DI PARKINSON

La malattia di Parkinson, comunemente definita morbo di Parkinson o parkinsonismo idiopatico, è una delle più frequenti malattie neurodegenerative. Questa condizione è spesso definita come una sindrome idiopatica, anche se svariati casi hanno un'origine genetica.

Viene ormai considerata una malattia sociale e prende il nome dal medico inglese James Parkinson, che per primo l'ha descritta dettagliatamente, oltre un secolo fa; colpisce gli adulti, ma può manifestarsi, più raramente, anche prima di 50 anni.

La diagnosi non è semplice, perché non sono disponibili biomarker affidabili e, anche l'analisi strumentale attraverso NMR e PET non garantisce sicurezza diagnostica.

La sintomatologia classica è basata su disturbi motori, rigidità, tremori, decadimento cognitivo e alterazioni del sonno, che derivano dalla necrosi delle cellule della *substantia nigra* nel mesencefalo che sintetizzano e rilasciano dopamina. La causa della loro morte non è ancora nota, ma si ipotizza che questa malattia sia caratterizzata dall'accumulo di una proteina, α -sinucleina, presente nei corpi di Lewy, nei neuroni, responsabile della degenerazione lobare frontotemporale in un fenotipo neurodegenerativo progressivo. L' α -sinucleina è una proteina solubile espressa prevalentemente nei tessuti nervosi; può formare

aggregati proteici all'interno dei neuroni o nelle cellule della glia in svariate patologie neurologiche, tra cui la malattia di Alzheimer e il morbo di Parkinson sia nei casi familiari sia nei casi sporadici. L' α -sinucleina viene considerata come un nuovo biomarker che potrebbe portare alla diagnosi precoce della malattia di Parkinson con un intervento attraverso strategie di medicina di precisione e un trattamento risolutivo nelle prime fasi, per arrestarne e/o ritardarne il decorso. Rari casi ereditari, alcuni dovuti a mutazioni puntiformi nel gene di α -sinucleina, altri casi dovuti a duplicazioni o triplicazioni in differenti locus dello stesso gene, sono in grado di causare forme ereditarie dominanti di malattia di Parkinson.

Una recente ricerca ha indagato sui meccanismi attraverso i quali l' α -sinucleina interferisce con la comunicazione tra i neuroni per poi condurli alla neurodegenerazione. Il lavoro è volto ad indagare i meccanismi attraverso i quali l' α -sinucleina interferisce con i neuroni determinando le prime fasi della malattia con la speranza di poter individuare nuove strategie terapeutiche, come gli anticorpi monoclonali in grado di contrastare la progressione della malattia eliminando, finalmente, il farmaco levodopa, largamente utilizzato in quasi tutti i malati. Queste immunoterapie hanno lo scopo di far riconoscere al sistema immunitario precocemente l' α -sinucleina per distruggerla prima che arrechi danni cellulari neuronali.

L' α -sinucleina rappresenta, quindi, un target farmacologico promettente per la ricerca di una terapia per la malattia di Parkinson non solo per alleviarne i sintomi, ma per ritardarne e/o bloccarne la progressione.

Sono studi complessi e in fasi iniziali, ma l'immunoterapia è un obiettivo valido per lo sviluppo di nuove cure terapeutiche.

L' α -sinucleina è prodotta dai neuroni con la funzione di "regolare" il traffico sinaptico dei neurotrasmettitori, ma tende a formare aggregati di fibrille che, non consentendo ai neurotrasmettitori il passaggio tra le sinapsi, portano le cellule nervose a morte.

L'attività biologica di questa proteina è la fosforilazione endogena, che genera una maggiore intensità di fluorescenza dopo incubazione alla temperatura di 37°C con agitazione a 800 rpm per 24 h. La fluorescenza sviluppata viene misurata alla lunghezza d'onda di 450 nm mediante un lettore a micropiastre.

I primi sintomi evidenti della malattia di Parkinson sono legati al movimento, con difficoltà a camminare, lentezza nei movimenti, diminuzione della forza muscolare, rigidità, tremori. In seguito, insorgono problematiche comportamentali e cognitive, quali la demenza, che, però, si verifica nella fase più avanzata in cui anche i farmaci, come levodopa, costantemente utilizzato, risultano inefficaci.

La malattia di Parkinson è più frequente negli anziani, soprattutto intorno a 60 anni di età, con un incremento notevole nella popolazione sopra gli 80 anni; una percentuale intorno al 5% dei casi, ha esordio prima di 50 anni. Il parkinsonismo ha fatto accrescere la consapevolezza di essere una malattia sociale e, come tale, se ne devono comprendere tutti gli aspetti e le caratteristiche per migliorare la qualità di vita delle persone che ne sono affette.

Già agli inizi del Novecento, Frederic Lewy ha descritto alcune particelle microscopiche nel cervello di soggetti colpiti dalla malattia di Parkinson, chiamati “corpi di Lewy”, di cui l' α -sinucleina è risultata essere il principale componente, rilevata anche attraverso la colorazione immunoistochimica positiva. I corpi di Lewy sono un elemento patologico chiave nella malattia di Parkinson, perché i nuclei della base, strutture cerebrali innervate dal sistema dopaminergico, sono le aree cerebrali maggiormente colpite da questa malattia.

I trattamenti terapeutici utilizzati, inizialmente, sono stati, prevalentemente, la somministrazione di anticolinergici e la chirurgia per risolvere le lesioni della via cortico spinale, fino all'introduzione del farmaco levodopa, che entrò nella pratica clinica portando una vera e propria rivoluzione nella gestione della malattia.

La stimolazione cerebrale profonda, utilizzata in passato come potenziale trattamento per ritardare il decorso della malattia, è risultata poco efficace ed anche dannosa e, quindi, accantonata.

Il morbo di Parkinson e la malattia di Alzheimer sono le patologie neurodegenerative prevalenti nei paesi industrializzati e risultano meno diffuse nelle popolazioni di origine asiatica e africana.

L'incidenza di queste due malattie è tra 5 e 15 casi per 100.000 soggetti/anno. Nel corso degli anni, sono stati descritti alcuni fattori di rischio, come l'esposizione ai fitofarmaci e idrocarburi solventi, ma nessuno di questi è stato definitivamente individuato da prove certe;

tuttavia, sembra che l'esposizione ad alcune tossine ambientali sia in grado di aumentare il rischio di sviluppare la condizione patologica e le misure indirette dell'esposizione, come quelle effettuate su individui che vivono in ambienti rurali, hanno dimostrato un incremento del rischio di sviluppare la malattia di Parkinson e la malattia di Alzheimer.

In particolare, alcuni studi recenti, hanno evidenziato una correlazione tra ripetuti traumi cranici e l'insorgenza della malattia di Parkinson con un aumento significativo. Infatti, si pensa che i pugili professionisti sviluppino più frequentemente la malattia, in quanto soggetti a violenti e ripetuti colpi alla testa, sviluppando un parkinsonismo di carattere progressivo, come il pugile professionista Classius Clay, che ne potrebbe essere una lampante dimostrazione.

Da non trascurare l'età, che, da sola, risulta essere un potenziale fattore di rischio, in quanto anche nell'adulto ultrasessantenne sano si riscontra la perdita di cellule e pigmento nella *substantia nigra*, venendo meno, in tal modo, la protezione delle cellule contenenti dopamina e il cervello di tali soggetti, inevitabilmente, risulta più predisposto allo sviluppo del parkinsonismo.

È stato dimostrato che il consumo di caffeina, di altri alimenti contenenti caffeina e il fumo di tabacco, nonostante quest'ultimo sia nocivo per longevità e qualità di vita, siano capaci di proteggere dalla malattia di Parkinson.

Infatti, uno studio condotto nel 2010 su oltre 400.000 soggetti e pubblicato in *Neurology*, ha evidenziato che il rischio di sviluppare il Parkinson diminuisce progressivamente con il consumo di caffè e con il fumo di tabacco, ritenendo che queste sostanze possano avere effetto stimolante sulla dopamina. Livelli elevati di dopamina, infatti, promuovono l'attività motoria, mentre livelli ridotti, danneggiano i movimenti, come avviene nella malattia di Parkinson.

Un ulteriore studio di neuroimaging ha rivelato la localizzazione di una zona di significativa riduzione del volume cerebrale nella fase iniziale della malattia rispetto a un gruppo di partecipanti sani, concludendo che il danno al tronco cerebrale potrebbe essere il primo step identificabile della malattia di Parkinson.

Sono stati descritti differenti meccanismi per cui le cellule neuronali, in questa malattia, vanno incontro a necrosi; il più accreditato prevede

un accumulo abnorme della proteina α -sinucleina, che accumulandosi all'interno dei neuroni forma inclusioni, chiamate corpi di Lewy, che sono alla base del quadro patologico, anche nei soggetti asintomatici. Con la progressione della malattia, queste inclusioni si concentrano nella *sustantia nigra* e nella corteccia, che sono le aree principali della degenerazione neuronale nella malattia di Parkinson. Sono presenti, oltre ai corpi di Lewy, ammassi neurofibrillari e placche senili, riscontrabili anche nella malattia di Alzheimer.

Un altro meccanismo importante che porta alla necrosi neuronale è una ridotta attività mitocondriale, con conseguente alterazione della struttura lisosomiale e della compagine proteosomiale, ma il complesso degli elementi legati a questi meccanismi non sono ancora del tutto chiari, anche se potrebbe essere correlato, quasi certamente, allo stress ossidativo.