



*‘Un possibile nuovo marcatore
ematico per la diagnosi della demenza di
Alzheimer’*

Mallozzi C., Crestini A., D’Amore C., Piscopo P., Cappella M.,
Perrone F., Rivabene R., Talarico G., Bruno G., Vanacore N.

e

Confaloni Annamaria

VIII Convegno

**IL CONTRIBUTO DELLE UNITÀ DI VALUTAZIONE ALZHEIMER (UVA)
NELL’ASSISTENZA DEI PAZIENTI CON DEMENZA**

7 novembre 2014

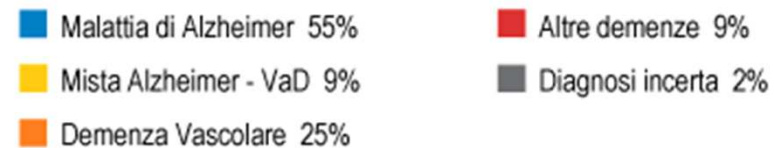
ISTITUTO SUPERIORE DI SANITÀ’

Demenza di Alzheimer

~ 36 milioni nel mondo

600.000 in Italia

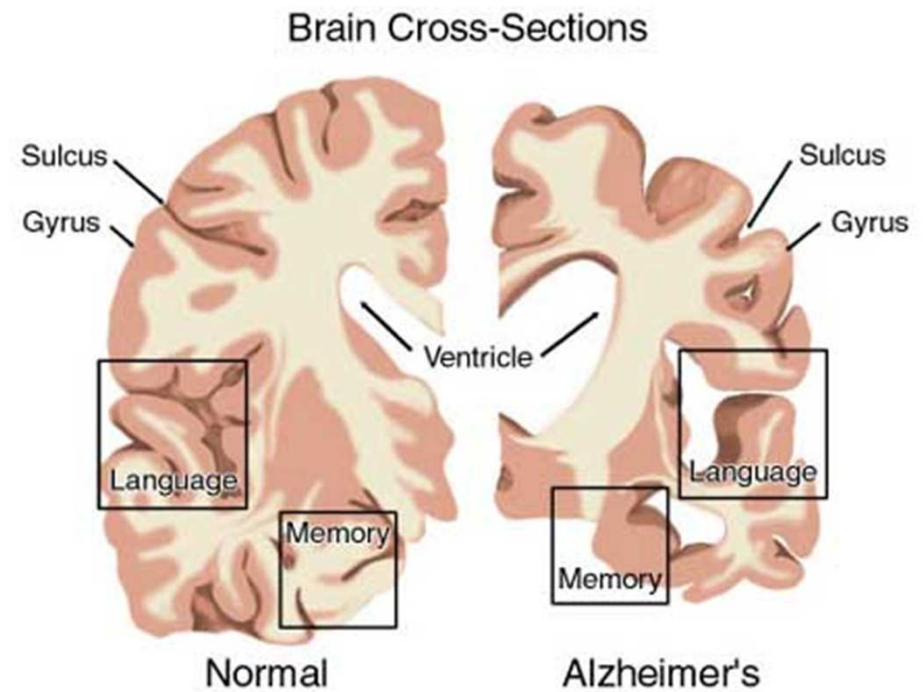
FREQUENZA RELATIVA DELLE DIVERSE FORME DI DEMENZA



Malattia neurodegenerativa a decorso cronico progressivo

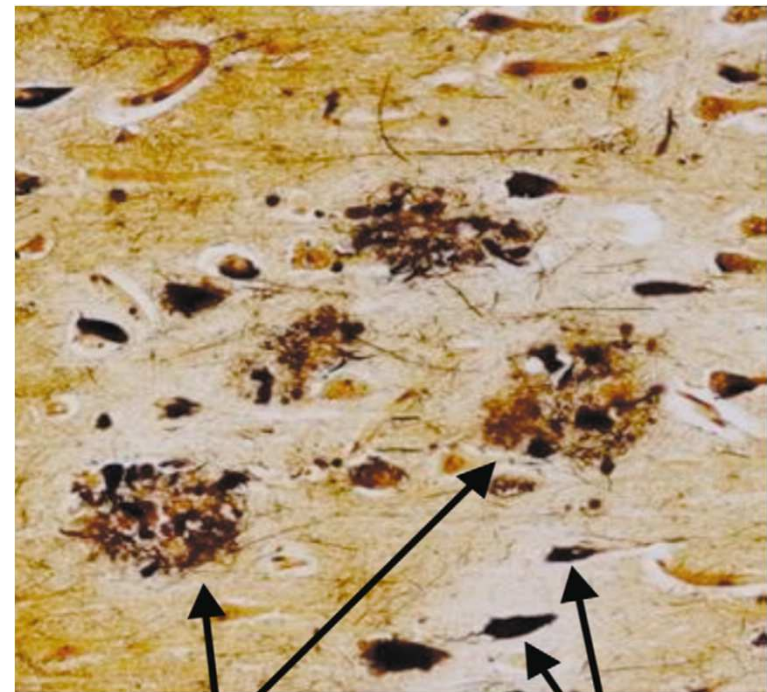
Demenza di Alzheimer

- ◆ Macroscopicamente
 - Atrofia cerebrale
 - Dilatazione ventricoli
 - Solchi allargati



Demenza di Alzheimer

- ◆ Microscopicamente
- Placche senili
- Grovigli neurofibrillari



Plaques

Tangles

Demenza di Alzheimer

❖ SAD: 95%  Diversi fattori di rischio:

- età
- stress ossidativo
- ApoE

❖ FAD: 5%



Mutazioni genetiche:

- *APP*
- *PSENs* (*PSEN1* e *PSEN2*)

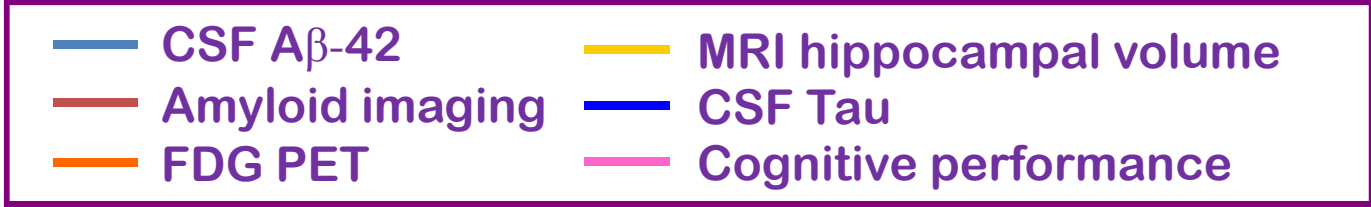
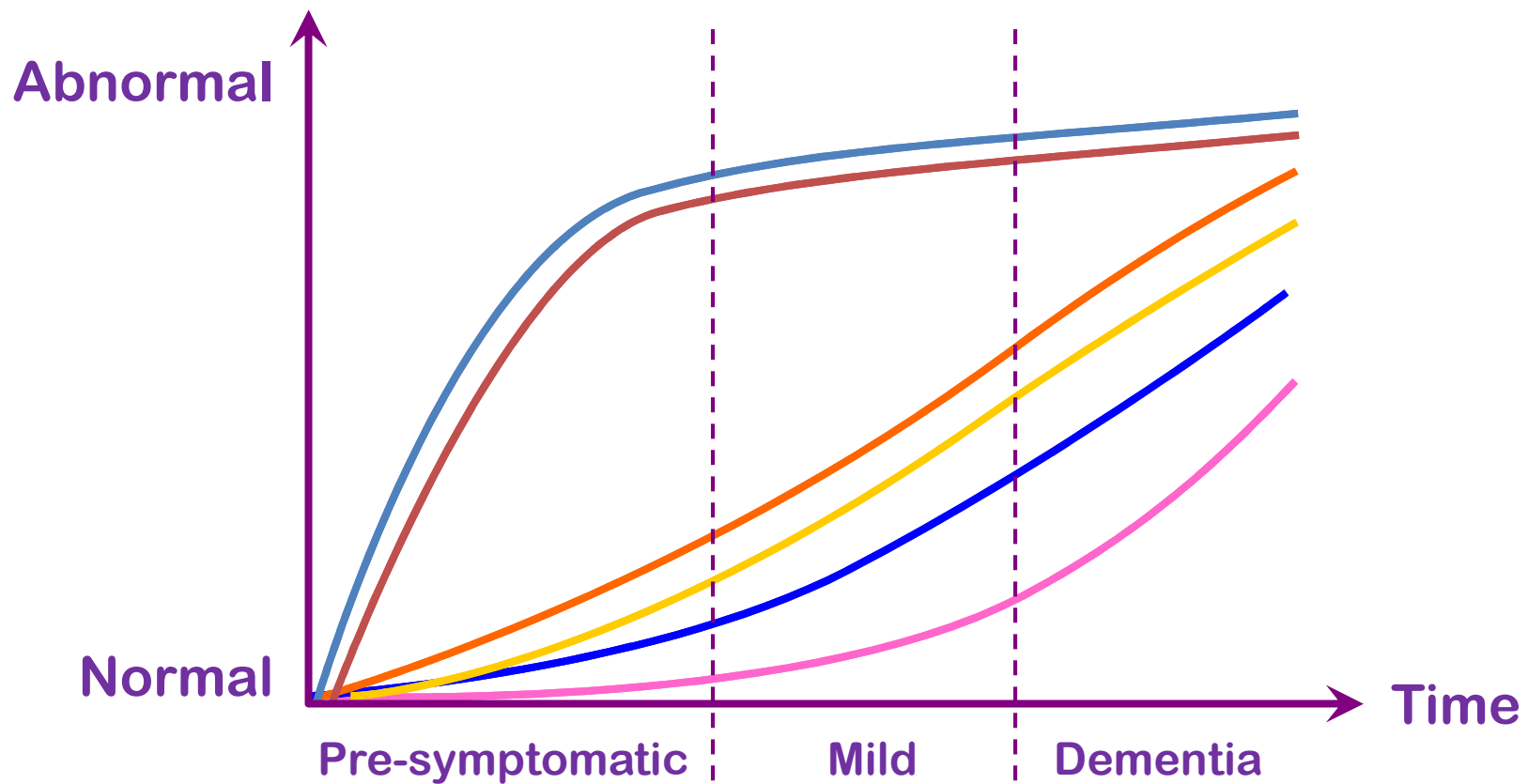


peptide $A\beta_{1-42}$: neurotossico

Diagnosi

➤ Test in uso:

- Test cognitivi: MMSE
- Test strumentali: imaging strutturale (RM)
imaging funzionale
(SPECT, PET, fMRI)
- Test biochimici: CSF



... e i test biochimici nel sangue???

➤ Pro:

- Minor invasività

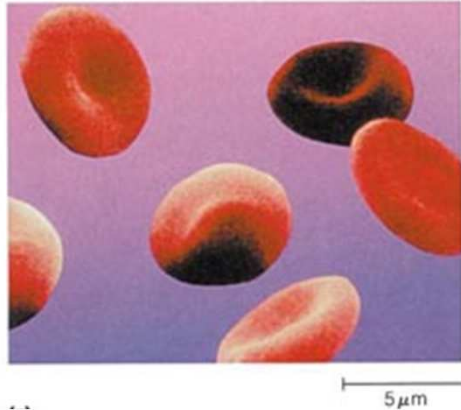
➤ Contro:

- i biomarcatori presenti in esso sono eterogenei
- le loro concentrazioni molto piccole
- i dati rilevabili possono riflettere ampio spettro di cambiamenti

Biomarkers of Alzheimer's disease

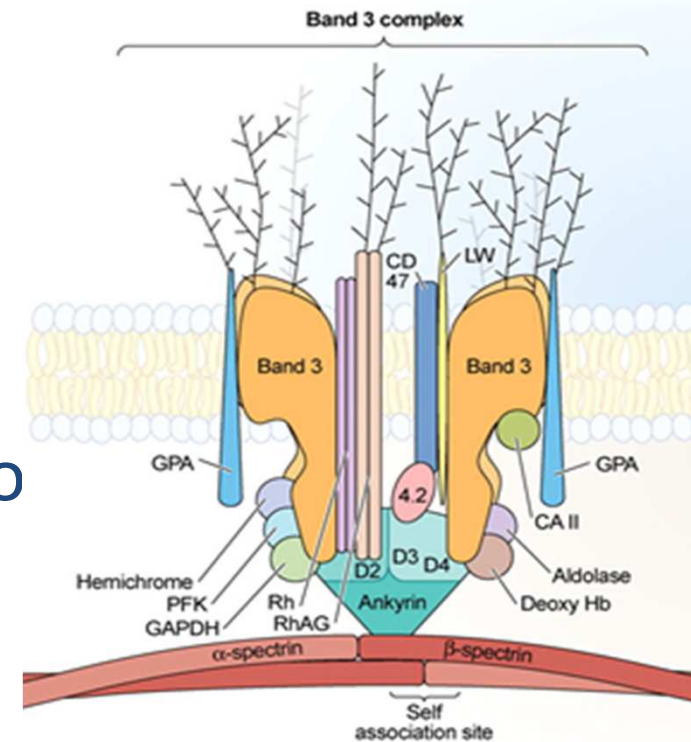
- Introduction The search for biomarkers of Alzheimer's disease (AD) has yielded numerous expensive and/or invasive candidates, including putative disease markers obtained by magnetic resonance imaging (MRI) and positron emission tomography (PET) and those that require collection of cerebrospinal fluid (CSF) via lumbar puncture.
- Although considerable progress has been made in demonstrating how these bio- markers relate to the pathophysiology of AD [Lancet Neurol 2013;12:207–216], there remains an urgent need for less costly and intrusive and more widely available blood-based (serum or plasma) biomarkers that can aid in the early diagnosis of AD and in the prediction of disease progression.

Banda 3



Proteina ubiquitaria
sia sulla membrana neuronale
che su quella eritrocitaria

- Funzioni
- ✗ Trasportatore anionico
- ✗ Antigene di senescenza
- ✗ Ancoraggio del citoscheletro

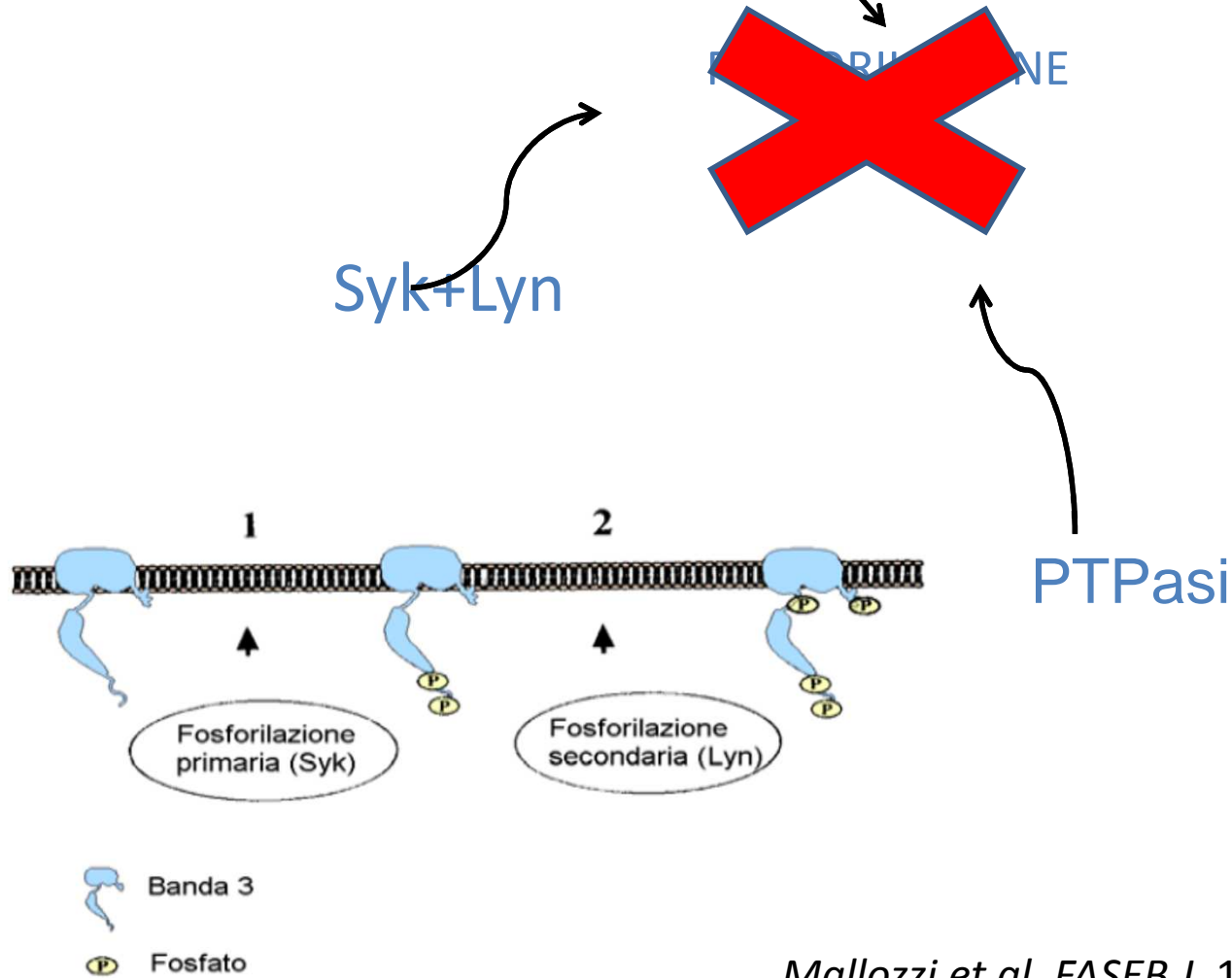


Fosforilazione Banda 3

- La sua fosforilazione avviene secondo un **meccanismo sequenziale** ad opera di due tirosin-chinasi, **Syk** e **Lyn**. La chinasi Syk fosforila i residui tirosinici 8 e 21, creando siti di aggancio per i domini SH2 della seconda chinasi, **Lyn**, che una volta legata alla banda 3, fosforila gli altri due siti tirosinici, 359 e 904 (Brunati et al., 2000);
- **protein-fosfatasi (PTPasi)** è quello di opporsi all'azione delle chinasi, idrolizzando gli stessi gruppi fosforici e così determinando la reversibilità del processo fosforilativo;

- Fosforilazione della banda 3

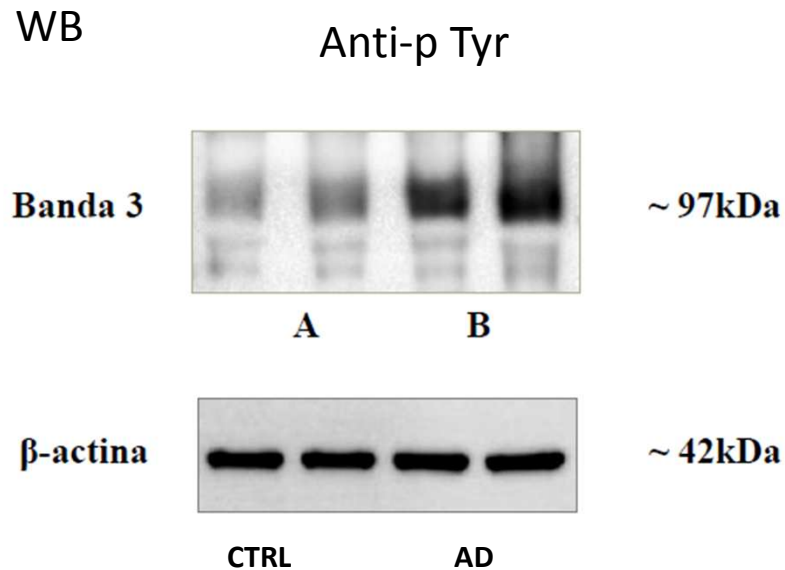
Stress ossidativo e stress osmotico



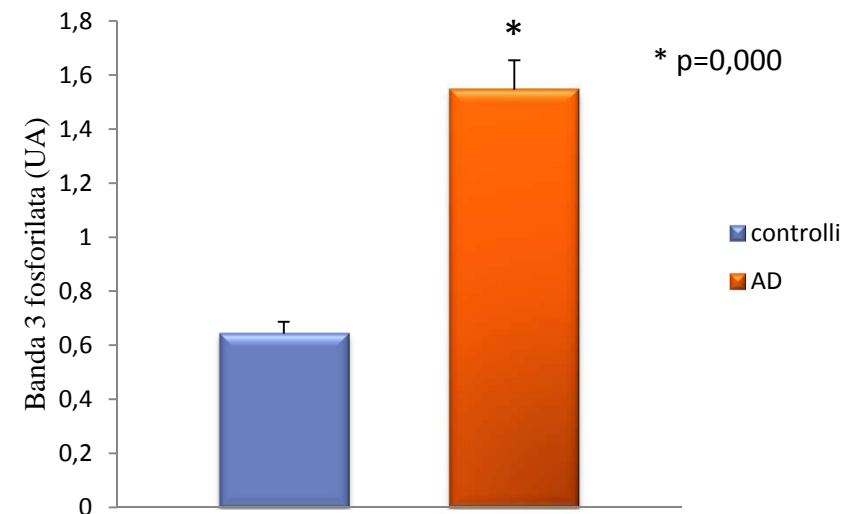
Mallozzi et al. FASEB J. 11: 1281-1290, 1997

- Valutazione della forma fosforilata della banda 3 nei soggetti affetti e di controllo

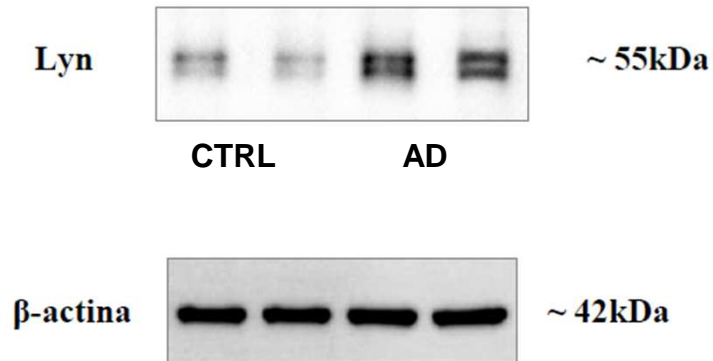
Gruppi	n	Sesso (M/F)	Età (media±DS)	Esordio (media±DS)	ApoE +ε4
Controlli	28	10/18	72.036 ± 7.87	-	4 (16%)
AD	35	17/18	75.14 ± 6.70	69.22±7.27	18 (58,1%)



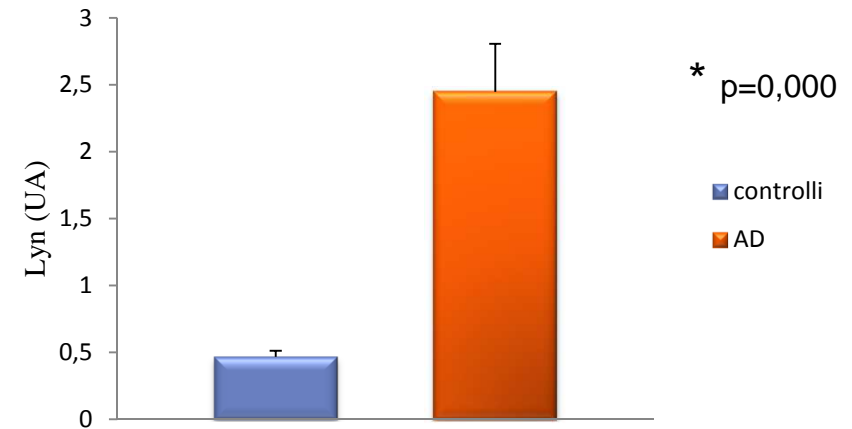
Analisi densitometrica della forma fosforilata della banda 3



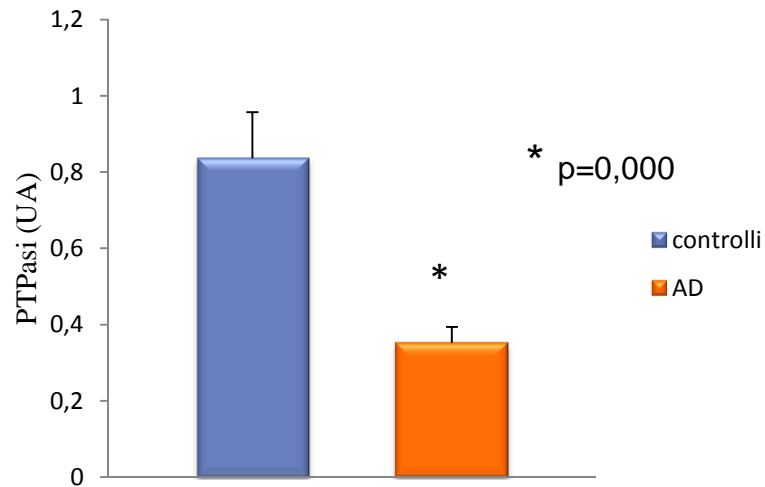
Valutazione dell'espressione di Lyn e dell'attività delle PTPasi



Analisi densitometrica dell'espressione di Lyn



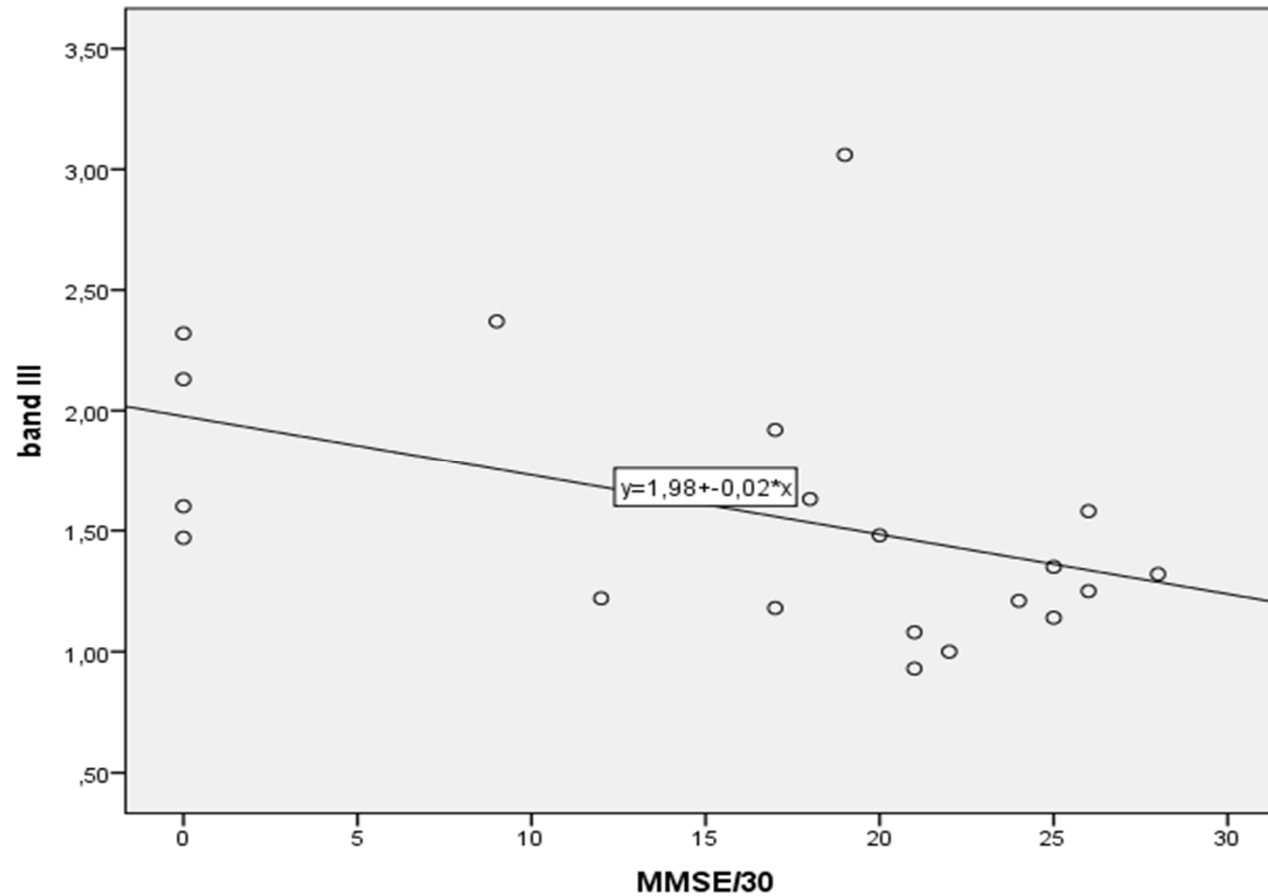
Analisi dell'attività enzimatica delle PTPasi



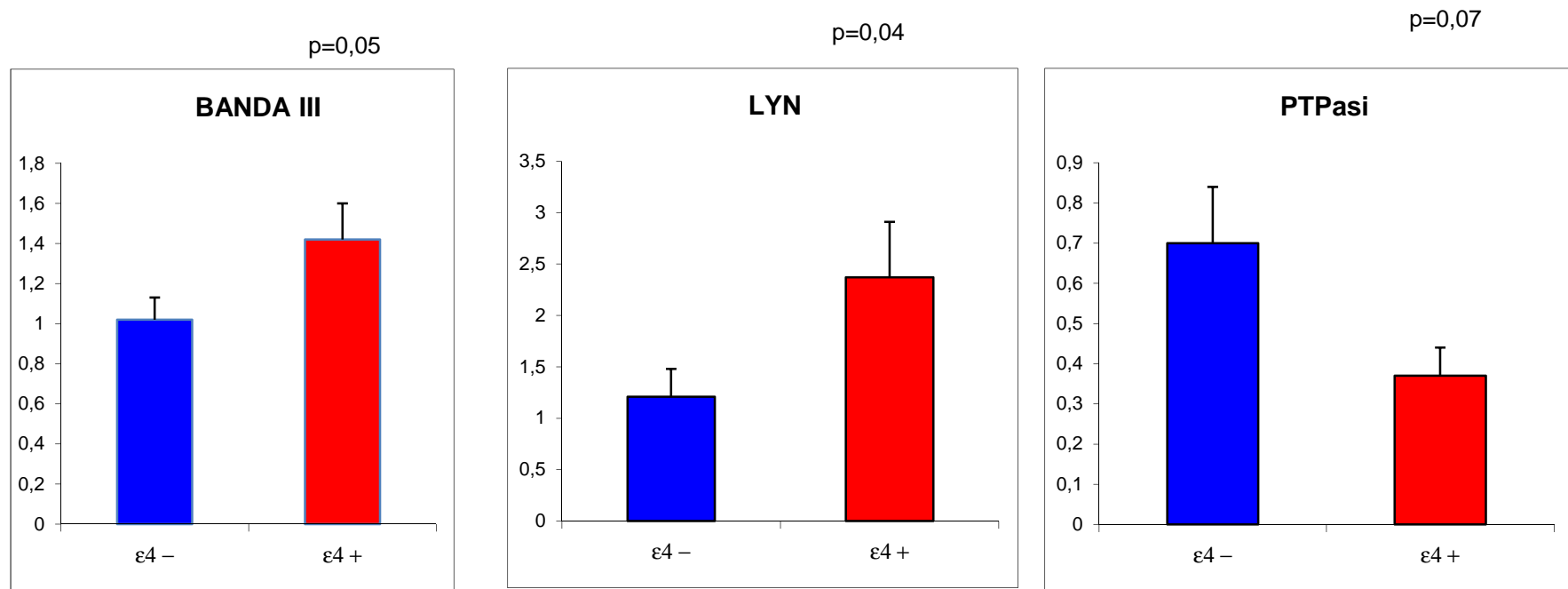
- Studio di correlazione tra le variabili:

- Età
- Sesso
- Onset
- MMSE
- ApoE
- Banda 3
- Lyn
- PTPasi

- Correlazione tra i livelli di fosforilazione della banda III ed il declino cognitivo

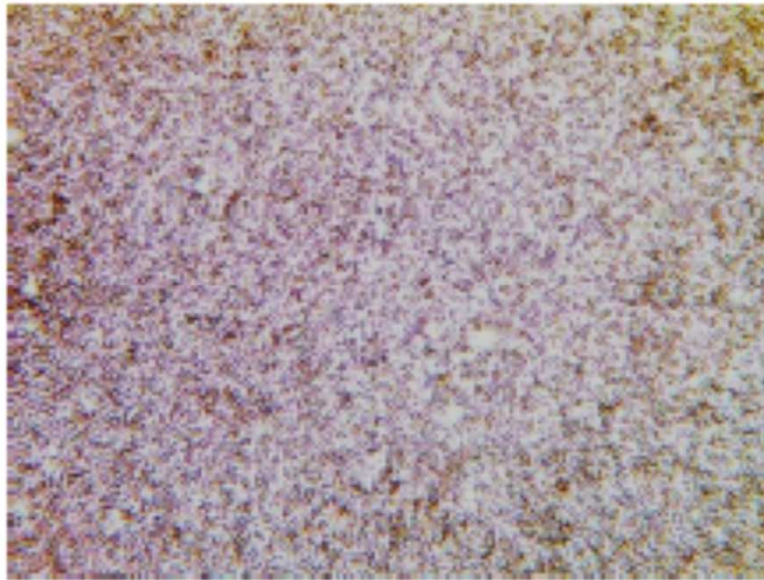


- Associazione tra i differenti biomarcatori ed il fattore di rischio $\epsilon 4$

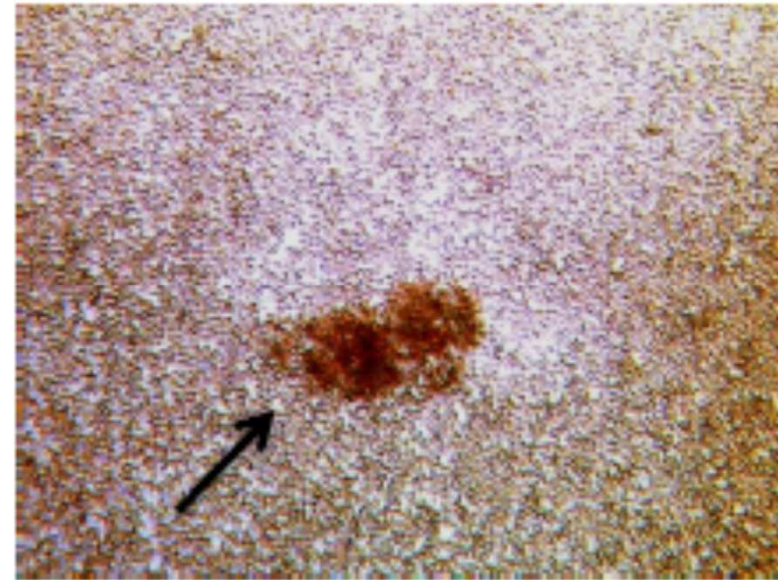


- Esperimenti *in vitro*

- Analisi *in vitro* di colture di eritrociti da soggetti di controllo



A. Non trattate

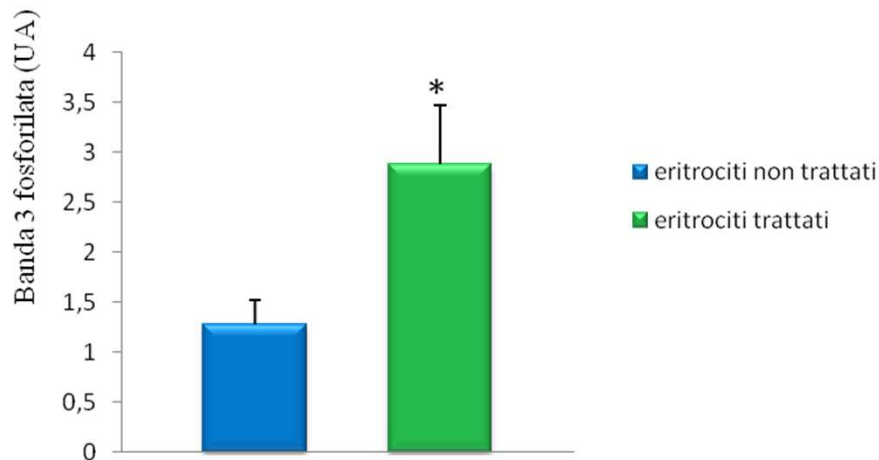


B. Trattate con frammento $A\beta_{42}$ fibrillato x 24h

- Valutazione della forma fosforilata della banda 3 e di Lyn nelle colture

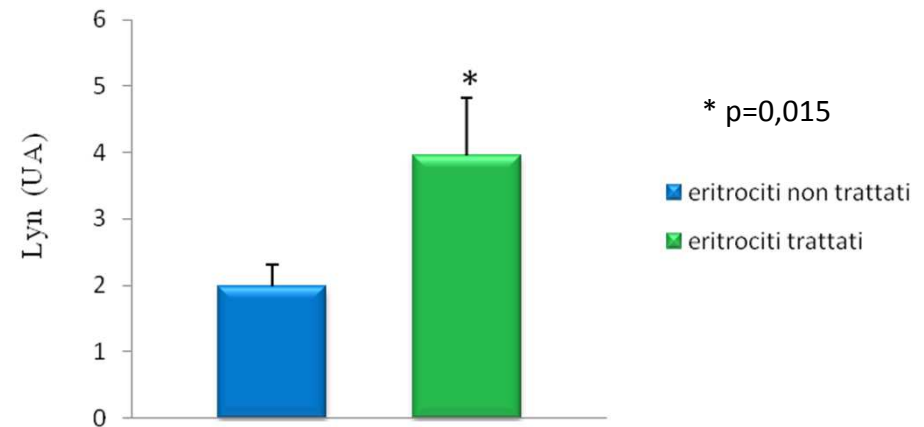
Analisi della banda 3 in colture eritrocitarie con e senza trattamento con $A\beta_{1-42}$

* $p=0,012$



Analisi densitometrica espressione di Lyn in colture eritrocitarie con e senza trattamento con $A\beta_{1-42}$

* $p=0,015$



Riassumendo

Studio caso-controllo

- ✓ Aumento della forma fosforilata della banda 3
- ✓ Aumento del livello di Lyn sulla membrana
- ✓ Diminuzione dell'attività delle PTPasi
- ✓ Correlazione tra MMSE e fosforilazione del nostro biomarcatore
- ✓ Associazione con l'allele $\epsilon 4$ dell'ApoE

Analisi *in vitro*

- ✓ Aggregazione degli eritrociti
- ✓ Aumento della forma fosforilata della banda 3
- ✓ Aumento del livello di Lyn sulla membrana

Ringraziamenti



- Nicola Vanacore

ISS CNESPS

- Cinzia Mallozzi
- Carmen D'Amore
- Alessio Crestini
- Paola Piscopo
- Marisa Cappella
- Federica Perrone
- Roberto Rivabene
- Lorenzo Malvezzi

ISS Dipartimento di Biologia Cellulare e Neuroscienze



Dott. Giuseppe Bruno
Dott.ssa Giuseppina Talarico
Dott. Marco Canevelli
Dott.ssa Marina Gasparini

**Università Sapienza Dipartimento
di Neurologia e Psichiatria -
*Memory Clinic***