

NUOVO MODELLO ANIMALE DELLA MALATTIA DI ALZHEIMER: ACCORDO ITALIA-USA



Daniela Merlo

Dipartimento di Biologia Cellulare e Neuroscienze, ISS

RIASSUNTO - La malattia di Alzheimer è una patologia altamente invalidante: i costi umani e sociali sono elevatissimi poiché si tratta di una patologia neurodegenerativa a lenta progressione. Anche se sono stati realizzati modelli sperimentali della malattia, nessuno di essi riproduce tutti i marcatori che si ritrovano tipicamente nei pazienti affetti da Alzheimer. La mancanza di modelli sperimentali rappresenta il maggior ostacolo per lo sviluppo di nuovi protocolli diagnostici e terapeutici. La Fisher Center for Alzheimer's Research Foundation (USA) ha recentemente finanziato un progetto dell'Istituto Superiore di Sanità (ISS) per la realizzazione di un nuovo modello animale.

Parole chiave: Alzheimer, neurodegenerazione, modelli sperimentali

SUMMARY (*A new animal model of Alzheimer's disease: Italy-USA agreement*) - Alzheimer's Disease (AD) is a common and chronic dementing disorder among elderly people. Due to lack of treatment and to the invalidating nature, the social and economic impact of this disease is high. Although different subset of AD phenotypic traits are reproduced in animal models, none of them recapitulate all features typical of the disease. Lack of experimental animal models represents the major problem for the development of novel diagnostic and therapeutic protocols. The Fisher Center for Alzheimer's Research Foundation (USA) has recently financed to the Istituto Superiore di Sanità - Italian National Institute of Health - a project for the development of a new animal model.

Key words: Alzheimer, neurodegeneration, experimental models

dagnolo@iss.it

La malattia di Alzheimer provoca un declino delle funzioni intellettive e un deterioramento della personalità

La malattia di Alzheimer, che rappresenta il 60% di tutte le demenze, è un processo degenerativo cerebrale che provoca un declino progressivo e globale delle funzioni intellettive associato a un deterioramento della personalità e della vita di relazione.

La malattia colpisce la memoria e le funzioni cognitive, si ripercuote sulla capacità di parlare e di pensare ma può causare anche altri problemi fra cui stati di confusione, cambiamenti di umore e disorientamento spazio-temporale. Essa colpisce senza distinzione di nazionalità, di razza, di gruppo etnico o di livello sociale e interessa indifferentemente uomini e donne. Attualmente, nel mondo, ne soffre cir-

ca il 5% delle persone con più di 60 anni; in Italia si stimano circa 500.000 ammalati e si prevede che il numero raddoppierà per il 2020. I costi umani e sociali sono elevatissimi poiché si tratta di una patologia neurodegenerativa a lenta progressione e, in media, i pazienti possono vivere fino a 8-10 anni dalla diagnosi della malattia.

Nei pazienti affetti da demenza di Alzheimer si osserva una perdita di cellule nervose nelle aree cerebrali vitali per la memoria e per altre funzioni cognitive, quali la corteccia e l'ippocampo. Si riscontra, inoltre, un basso livello del neurotrasmettitore acetilcolina, coinvolto nella comunicazione tra le cellule nervose. All'esterno dei neuroni in via di de-



Il Professor Enrico Garaci, Presidente dell'ISS, e il Professor Stern, Presidente della Fisher Center for Alzheimer's Research Foundation, firmano l'accordo Italia-USA per il finanziamento del progetto. (Roma, 5 febbraio 2005)

generazione e morte, si vengono progressivamente a depositare delle fibrille altamente insolubili formate da un peptide denominato beta-amiloide, proveniente da una proteina chiamata precursore dell'amiloide (APP), il cui alterato metabolismo risulta appunto in un'aumentata produzione del peptide. All'interno delle cellule si riscontrano delle strutture denominate grovigli neurofibrillari derivati dall'accumulo di polimeri della forma iperfosforilata della proteina tau, che normalmente svolge un ruolo fondamentale nell'assemblaggio e nella stabilità dei microtubuli.

Non esiste a tutt'oggi un'adeguata diagnosi precoce né una terapia per la malattia di Alzheimer. Anche se sono stati realizzati modelli sperimentali, nessuno di essi riproduce l'intero spettro di sintomi e marcatori che si ritrovano tipicamente nei pazienti affetti da Alzheimer. La mancanza di un adeguato modello sperimentale è unanimamente riconosciuta come un grave ostacolo per la sperimentazione di nuovi farmaci o di innovativi approcci terapeutici. Utilizzando le metodologie che permettono di generare animali transgenici, si sono resi disponibili animali che producono in grandi quantità la beta-amiloide, simulando così una parte della

patologia che colpisce l'uomo. Allo stesso modo, si sono generati animali transgenici che esprimono mutanti della proteina tau o della prenilina, un enzima presente nella membrana plasmatica, con attività proteolitica sull'APP. Il maggiore limite di questi modelli è rappresentato dal fatto che non consentono di studiare la

sequenza temporale degli eventi neuropatologici che caratterizzano la malattia. Secondo quella che viene definita "ipotesi colinergica", esiste infatti una relazione causale tra i diversi eventi patogenici associati alla malattia che originano dal declino della trasmissione sinaptica colinergica nel telencefalo basale dei cervelli dei pazienti affetti da Alzheimer. Numerose osservazioni effettuate sull'uomo *post mortem*, *ante mortem* e su modelli animali sostengono questa ipotesi, in particolare: la diminuita attività della acetilcolintransferasi (l'enzima che catalizza la sintesi della acetilcolina), il ridotto rilascio di acetilcolina, la ridotta espressione dei suoi recettori muscarinico e nicotinico e della loro affinità di legame con il neurotrasmettitore.

La Fisher Center for Alzheimer's Research Foundation (USA), presieduta da Michael Stern (vicepresidente il Nobel Paul Greengard), ha scelto di recente l'Istituto Superiore di Sanità per finanziare un progetto innovativo volto alla generazione di un nuovo modello animale della malattia di Alzheimer. Tale modello permetterebbe di chiarire la cascata di eventi alla base dell'insorgenza della malattia così da individuare nuovi bersagli molecolari per lo sviluppo di ►

**La Fisher Center
for Alzheimer's
Research
Foundation (USA)
ha scelto l'ISS
per finanziare
un progetto
innovativo volto
alla generazione
di un nuovo
modello animale
della malattia
di Alzheimer**

Gli animali transgenici con un'espressione tessuto-specifica e inducibile verranno generati mediante l'utilizzo del "Tetracycline-Regulated System"

farmaci. In particolare, saranno realizzati alcuni topi transgenici in cui sia possibile indurre la morte dei neuroni colinergici, specificamente nel telencefalo basale, in maniera controllata nel tempo. L'ipotesi alla base di tale modello sperimentale prevede che l'over-espressione della proteina p49, appartenente alla famiglia del fattore di trascrizione NFκB, sia in grado di ridurre l'attività della acetilcolintransferasi con conseguente riduzione della trasmissione sinaptica colinergica. Un'augmentata traslocazione nucleare del fattore di trascrizione NFκB è stata infatti osservata nei neuroni colinergici di pazienti Alzheimer. Studi effettuati sulle cellule di feocromocitoma di ratto (PC12), differenziate in neuroni colinergici mediante trattamento con il Nerve Growth Factor (NGF) dimostrano inoltre che la proteina p49 è in grado di legarsi a un sito all'interno del promotore dell'enzima acetilcolintransferasi riconosciuto anche da fattori di trascrizione attivati dal-

l'NGF, scalandone il legame e provocando la riduzione della trascrizione dell'enzima. La proteina p49 può dunque essere un regolatore negativo dell'attività della acetilcolintransferasi.

Gli animali transgenici con un'espressione tessuto-specifica e inducibile verranno generati mediante l'utilizzo del "Tetracycline-Regulated System" (Figura). Questo sistema prevede la generazione di due linee di animali transgenici. La prima linea esprimerà un regolatore trascrizionale controllato dalla tetraciclina (rtTA) posizionato sotto il controllo di un promotore specifico per il tessuto in cui si vuole esprimere il gene di interesse; la seconda linea esprimerà il gene di interesse (p49) sotto il controllo del promotore "rtTA-responsive" (TetOp promoter). Il transattivatore rtTA si lega e attiva la trascrizione dal TetOp promoter solo in presenza della doxiciclina, un analogo della tetraciclina (Tet-On System). Le due linee di topi transgenici verranno incrociate per ottenere una linea bigenica in cui si avrà l'espressione tessuto-specifica e inducibile, mediante somministrazione di doxiciclina nell'acqua da bere, del gene desiderato.

I topi transgenici p49, rappresentando un modello sperimentale alternativo dell'Alzheimer, consentiranno lo studio della relazione causale tra la disfunzione sinaptica colinergica e la cascata di eventi patologici caratteristici della malattia e del ruolo di NFκB nella degenerazione neuronale. Il chiarimento delle caratteristiche molecolari che rendono i neuroni della corteccia e dell'ippocampo suscettibili alla morte, contribuirebbe allo sviluppo di strumenti di diagnosi precoce e allo sviluppo di nuovi target terapeutici per la malattia di Alzheimer. ■

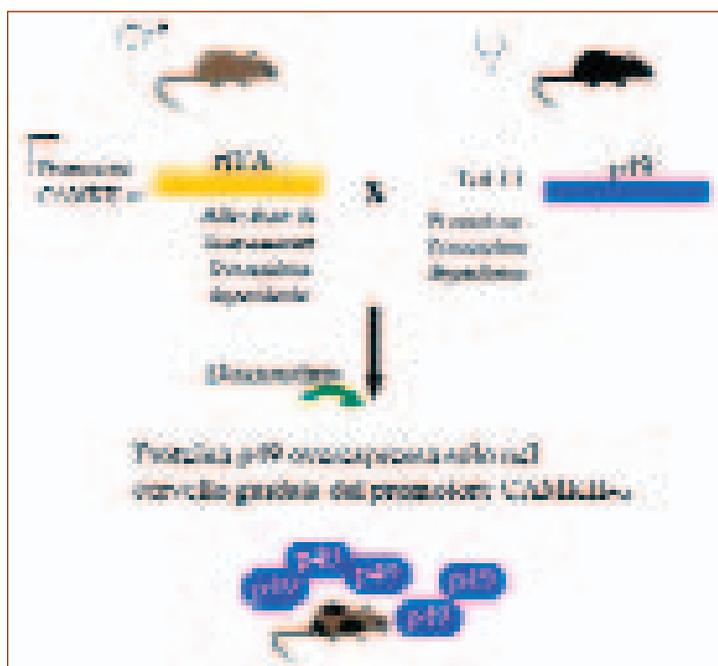


Figura - Sistema inducibile (Tet-On System) per la generazione di topi transgenici esprimenti la proteina p49