

7. Luglio

La proteomica del cervello, del liquido cerebrospinale e del plasma identifica le firme molecolari per distinguere la malattia di Alzheimer sporadica e genetica

*Se non riesci a ricordare dove hai messo le chiavi,
non pensare subito all'Alzheimer;
inizia invece a preoccuparti se non riesci
a ricordare a cosa servono le chiavi.*

Rita Levi Montalcini

La **malattia di Alzheimer (AD)**, la causa più comune di demenza negli anziani, è una malattia neurodegenerativa complessa caratterizzata dalla comparsa di **placche amiloide- β (A β) e grovigli di tau iperfosforilati**.

La malattia di Alzheimer ha una forte componente genetica e i recenti progressi nella tecnologia del genoma hanno portato alla luce nuove varianti in diversi geni, che potrebbero fornire informazioni sui meccanismi patogenetici che contribuiscono all'AD.

Particolarmente interessanti sono le varianti del **recettore TREM2** espresso dalla microglia che sono associate a un rischio aumentato di 2-4 volte di sviluppare l'AD. Dalla scoperta di un legame tra **TREM2** e AD, sono emersi numerosi studi per verificare se la perdita parziale o completa della funzione **TREM2** abbia contribuito alla deposizione di A β o alla microgliosi associata ad A β . Sebbene da questi studi siano emersi alcuni dati confusi e contrastanti riguardo al ruolo di **TREM2** nella regolazione della deposizione di A β all'interno dell'ippocampo, l'osservazione più coerente e sorprendente è una forte diminuzione della microgliosi che circonda le placche di A β nei topi aploinsufficienti e carenti di **TREM2**.

È interessante notare che una simile compromissione della microgliosi è stata segnalata in modelli murini di malattia da prioni, ictus e sclerosi multipla, suggerendo un ruolo fondamentale per **TREM2** nel supportare la microgliosi in risposta alla patologia nel sistema nervoso centrale. In questa recensione, riassumiamo i recenti rapporti sul ruolo di TREM2 nella patologia AD e sui meccanismi ipotizzati mediante i quali la funzione TREM2 potrebbe influenzare la microgliosi indotta da AD.

Ulrich JD et al *[TREM2 Function in Alzheimer's Disease and Neurodegeneration](#)*. *ACS Chem Neurosci*. 2016 Apr 20;7(4):420-7.

Ad oggi, lo sviluppo di terapie modificanti la malattia per il morbo di Alzheimer (AD) si è in gran parte concentrato sulla rimozione dei frammenti di amiloide-beta A β dal sistema nervoso centrale. La **profilazione proteomica** dei fluidi dei pazienti può aiutare a identificare nuovi bersagli terapeutici e biomarcatori associati alla patologia dell'AD.

Whelan CD et al . *[Multiplex proteomics identifies novel CSF and plasma biomarkers of early Alzheimer's disease](#)*. *Acta Neuropathol Commun*. 2019 Nov 6;7(1):169.

L'analisi della **coespressione proteica** su più di 7000 misurazioni proteiche nel liquido cerebrospinale e 9500 misurazioni proteiche nel plasma su tutte le piattaforme proteomiche ha rivelato forti cambiamenti nei moduli correlati *all'autofagia, all'ubiquitinazione e al metabolismo dello zucchero nel liquido cerebrospinale e all'endocitosi e al matrisoma nel plasma*. La proteomica cross-platform e cross-biofluid rappresenta un approccio promettente per lo sviluppo di biomarcatori AD. compresi importanti membri dei moduli di co-espressione del cervello AD.

*Dammer EB et al . Multi-platform proteomic analysis of Alzheimer's disease cerebrospinal fluid and plasma reveals network biomarkers associated with proteostasis and the matrisome. *Alzheimers Res Ther.* 2022 Nov 17;14(1):174.*

Pertanto gli studi di proteomica per la malattia di Alzheimer (AD) sono strumentali e preziosi per identificare i percorsi dell'AD, ma spesso si concentrano su singoli tessuti e casi sporadici di AD. Un maxi team coordinato dal *Department of Psychiatry della Washington University School of Medicine di St . Louis*, ieri (5 luglio) ha pubblicato il report :

Proteomics of brain, CSF, and plasma identifies molecular signatures for distinguishing sporadic and genetic Alzheimer's disease

uno studio proteomico che analizza *1305 proteine nel tessuto cerebrale, nel liquido cerebrospinale (CSF) e nel plasma* di pazienti con:

- AD sporadico
- portatori di varianti di rischio TREM2
- pazienti con AD autosomico dominante (ADAD)
- individui sani.

Sono state identificate 8 proteine cerebrali
40 CSF

9 proteine plasmatiche che erano alterate in individui con *AD sporadico*.

Questi risultati sono stati replicati in diversi set di dati esterni.

E' stato così possibile identificare una firma proteomica che ha differenziato *TREM2portatori* di variante sia da individui con *AD sporadico* che da *individui sani*.

Anche le proteine associate all'*AD sporadica* erano alterate *nei pazienti con ADAD*, ma con una dimensione dell'effetto maggiore.

Anche le proteine derivate dal cervello associate all'ADAD sono state replicate in ulteriori campioni di CSF.

Le analisi di arricchimento hanno evidenziato l'esistenza di diversi percorsi, compresi quelli implicati *nell'AD (calcineurina e Apo E)*, *nel morbo di Parkinson (α -sinucleina e LRRK2)* e nelle *risposte immunitarie innate (SHC1, ERK-1 e SPP1)*.

Questi risultati suggeriscono che la **proteomica combinata** attraverso *tessuto cerebrale, liquido cerebrospinale e plasma* può essere utilizzata per identificare marcatori per *l'AD sporadico* e geneticamente definito

Uno studio multinazionale coordinato dal Dipartimento di Psichiatria, Università di Oxford ha applicato il tradizionale **machine learning (ML)** per analizzare i dati di plasma omics e cercare potenziali biomarcatori, ma i metodi ML più moderni basati sul **deep learning** per identificare le proteine plasmatiche che predicono le patologie amiloidi, tau e neurodegenerative (AT[N]) nell'AD.

Sono state misurate 3.635 proteine utilizzando SOMAscan in 881 partecipanti dello studio European Medical Information Framework for AD Multimodal Biomarker Discovery study (EMIF-AD MBD). I partecipanti sono stati sottoposti a misurazioni del carico di amiloide β ($A\beta$) nel cervello, del carico di tau fosforilata (p-tau) e del carico di tau totale (t-tau) per determinare i loro stati AT(N). Le proteine sono state classificate in base alla loro associazione con $A\beta$, p-tau, t-tau e AT(N) e inserito le prime 100 proteine insieme all'età e allo stato dell'apolipoproteina E (APOE) nei classificatori NN come caratteristiche di input per prevedere questi quattro risultati rilevante per l'AD. Sono state confrontate prestazioni NN dell'utilizzo di proteine, età e genotipo APOE con le prestazioni dell'utilizzo di età e APOEstatus da solo per identificare i pannelli proteici che hanno migliorato in modo ottimale la previsione su questi principali fattori di rischio. Le proteine che hanno migliorato la previsione per ciascun risultato sono state aggregate e nominate per l'arricchimento del percorso e l'analisi dell'arricchimento dell'interazione proteina-proteina.

L'età e l'APOE da soli hanno predetto il carico di $A\beta$, p-tau, t-tau e AT(N) con punteggi dell'area sotto la curva (AUC) di 0,748, 0,662, 0,710 e 0,795. L'aggiunta di proteine ha migliorato significativamente le AUC a 0,782, 0,674, 0,734 e 0,831, rispettivamente. Le proteine identificate sono state arricchite in cinque gruppi di percorsi associati all'AD, tra cui l'infezione da virus 1 dell'immunodeficienza umana, la via di segnalazione p53 e la via di segnalazione fosfoinositide-3-chinasi-proteina chinasi B/Akt. Se combinate con l'età e il genotipo APOE, le proteine identificate hanno il potenziale per fungere da biomarcatori basati sul sangue per l'AD e attendono la convalida in studi futuri.

Zhang Y et al [Predicting AT\(N\) pathologies in Alzheimer's disease from blood-based proteomic data using neural networks](#). *Front Aging Neurosci.* 2022 Nov 29;14:1040001

Allegato

Alzheimer's disease

Dal seminario del Alzheimer Centre Amsterdam,

tenuto da Philip Scheltens

[Lancet. 2021 Apr](#)

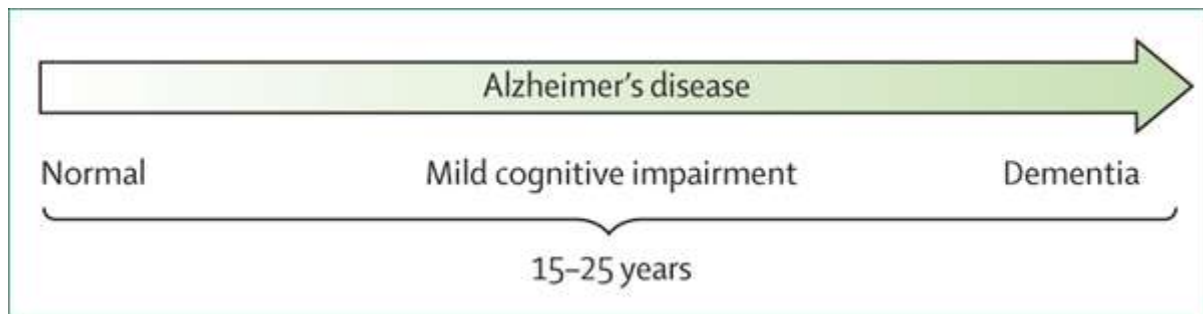


Il morbo di Alzheimer è la principale causa di demenza e sta rapidamente diventando una delle malattie più costose, letali e gravose di questo secolo

La diagnosi del morbo di Alzheimer è passata da un approccio puramente patologico, ai tempi di Alois Alzheimer (1864-1915), a un approccio clinico di esclusione nel 1984.

Inizialmente, la diagnosi di malattia di Alzheimer era ristretta allo stadio della demenza, una sindrome clinica caratterizzata da un sostanziale deterioramento cognitivo progressivo che interessava diversi

domini, o sintomi neurocomportamentali di gravità sufficiente a causare un evidente impatto funzionale sulla vita quotidiana. Una persona con demenza non è più completamente indipendente e questa perdita di indipendenza è la caratteristica principale che differenzia la demenza dal lieve deterioramento cognitivo.



La malattia di Alzheimer è un continuum

La freccia indica il continuum della malattia di Alzheimer, che si estende su un periodo di 15-25 anni, in cui la patologia della malattia di Alzheimer può essere presente senza alcun sintomo attraverso uno stadio di lieve deterioramento cognitivo che porta alla demenza conclamata, dimostrando che la demenza è la fine risultato di una presenza di lunga data della patologia del morbo di Alzheimer. Non tutti i pazienti seguiranno necessariamente questo percorso per definizione. Nota: tra deterioramento cognitivo normale e lieve, i pazienti possono manifestare disturbi soggettivi, ma non tutti i disturbi sono segni precoci di demenza e il valore predittivo di avere disturbi per la demenza è sconosciuto

Nel 2018, Alzheimer's Disease International ha stimato una prevalenza di demenza di circa 50 milioni di persone in tutto il mondo, destinata a triplicare nel 2050, con due terzi che vivono in paesi a basso e medio reddito. I dati più recenti stimano che la prevalenza della demenza in Europa raddoppierà entro il 2050. Prove crescenti suggeriscono che l'incidenza della demenza è in calo nei paesi ad alto reddito sebbene le prove di un calo della prevalenza siano meno convincenti.

Per un individuo di 70 anni, la durata stimata è di 10 anni per la fase preclinica, 4 anni per la fase prodromica e 6 anni per la fase di demenza della malattia di Alzheimer, per un totale di 20 anni. Un primo tentativo di stimare la prevalenza sulla base di una definizione biologica (piuttosto che clinica) ha mostrato che, all'età di 85 anni, la prevalenza della malattia di Alzheimer definita biologicamente è 3 volte superiore a quella della malattia di Alzheimer definita clinicamente.

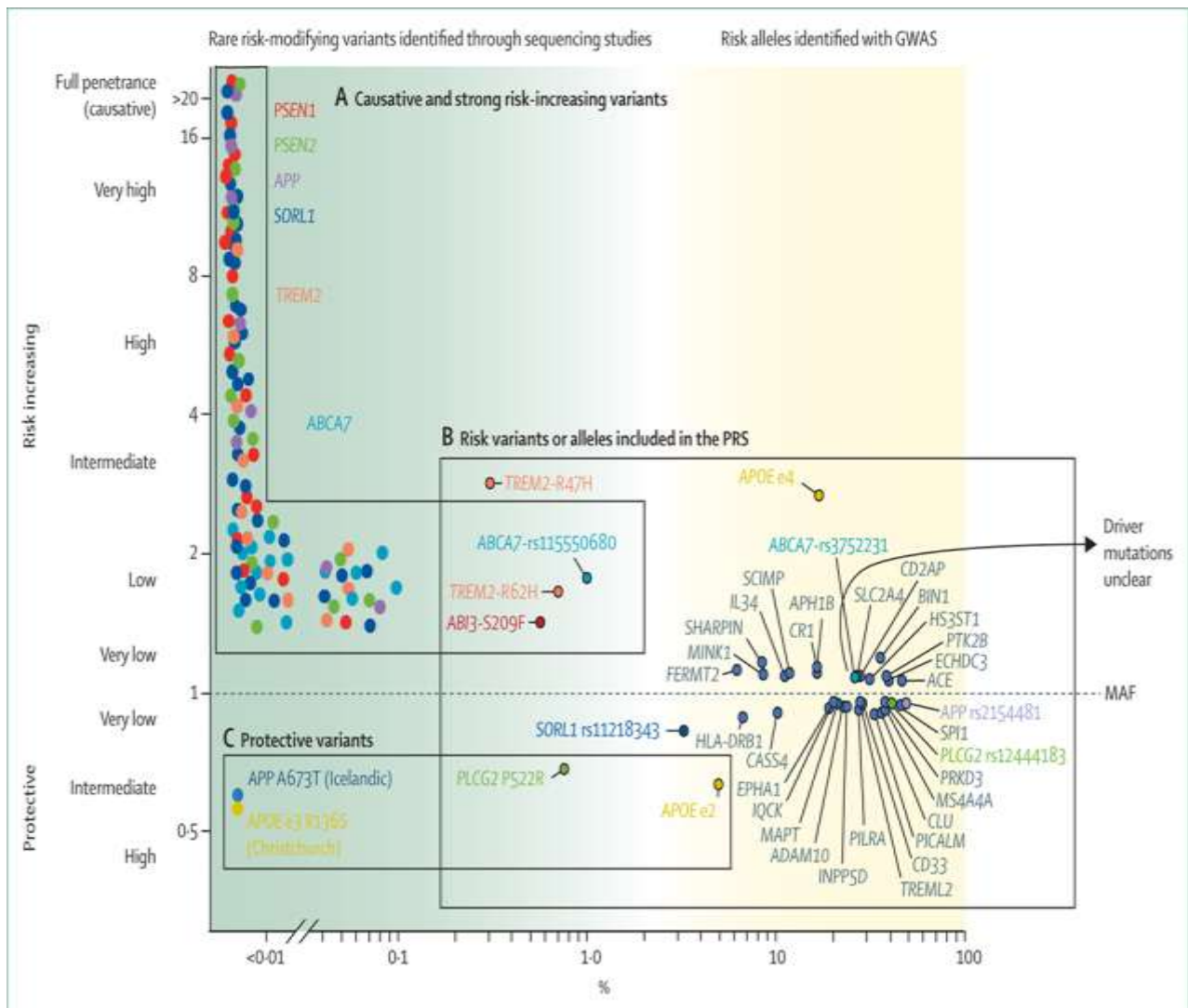
Fattori di rischio per la demenza e la malattia di Alzheimer

I più forti fattori di rischio per la malattia di Alzheimer sono l'età avanzata (più di 65 anni, anche se questa non è una definizione fissa) e il possesso di almeno un allele *APOE ε4*. Inoltre, le donne hanno maggiori probabilità di sviluppare la malattia di Alzheimer rispetto agli uomini, soprattutto dopo gli 80 anni. Le donne hanno anche maggiori probabilità di avere un carico di tau più elevato, nonostante abbiano un carico di amiloide-β simile.

Geni causativi e di rischio

Gli studi sui gemelli hanno dimostrato che il rischio di malattia di Alzheimer dipende per il 60-80% da fattori ereditari. L'allele *APOE ε4* comune spiega una parte sostanziale, ma non completamente, dell'ereditabilità della malattia di Alzheimer. Sono stati condotti ampi studi di associazione sull'intero genoma per identificare nuove varianti genetiche nella malattia di Alzheimer, l'ultimo dei quali fino ad oggi ha studiato circa 150.000 persone con malattia di Alzheimer e controlli di pari età, e più di 300.000 persone con un proxy -fenotipo della malattia di Alzheimer (storia parentale della malattia di Alzheimer) e controlli (nessuna storia parentale della malattia di Alzheimer), che ha aumentato il numero di alleli di rischio associati alla malattia di Alzheimer a più di 40. Tuttavia, sebbene il comune allele di rischio *APOE ε4* sia associato a un rischio di malattia di Alzheimer stimato 3-4 volte maggiore in diversi studi di associazione

genome-wide, altri alleli di rischio di malattia di Alzheimer sono associati a contributi molto minori al rischio totale di malattia (probabilità rapporto compreso tra 1.05 e 1.2;



Il panorama genetico della malattia di Alzheimer

MAF (asse x) è la frequenza con cui si verifica un allele non di riferimento (variante) nella popolazione. I portatori di varianti con $OR=1$ e i non portatori hanno le stesse probabilità di sviluppare la malattia di Alzheimer, le varianti con $OR > 1$ sono associate a un aumentato rischio di malattia di Alzheimer e le varianti con $OR < 1$ sono associate a un effetto protettivo (asse y).

(A) Varianti che aumentano il rischio causale o forte. Una rappresentazione schematica di singole varianti rare per le quali non è possibile stimare gli OR a causa dell'estrema rarità delle varianti. Studi di linkage in grandi alberi genealogici indicano che varianti rare specifiche in PSEN1, PSEN2 e APP causare la malattia di Alzheimer autosomica dominante, in alcuni casi con età di esordio già a 40 anni. Si noti che non tutte le varianti di questi tre geni danno origine al morbo di Alzheimer autosomico dominante; alcuni potrebbero essere modificatori del rischio o non patogeni. Inoltre, si stanno accumulando prove del fatto che alcune varianti del gene SORL1 sono responsabili del morbo di Alzheimer prima dei 70 anni. L'associazione di varianti della malattia di Alzheimer in SORL1, ABCA7 e TREM2 i geni sono stati trovati nei test basati sui geni; i portatori possono provenire da piccoli pedigree con modelli di ereditarietà della malattia di Alzheimer suggestivi di ereditarietà autosomica dominante.

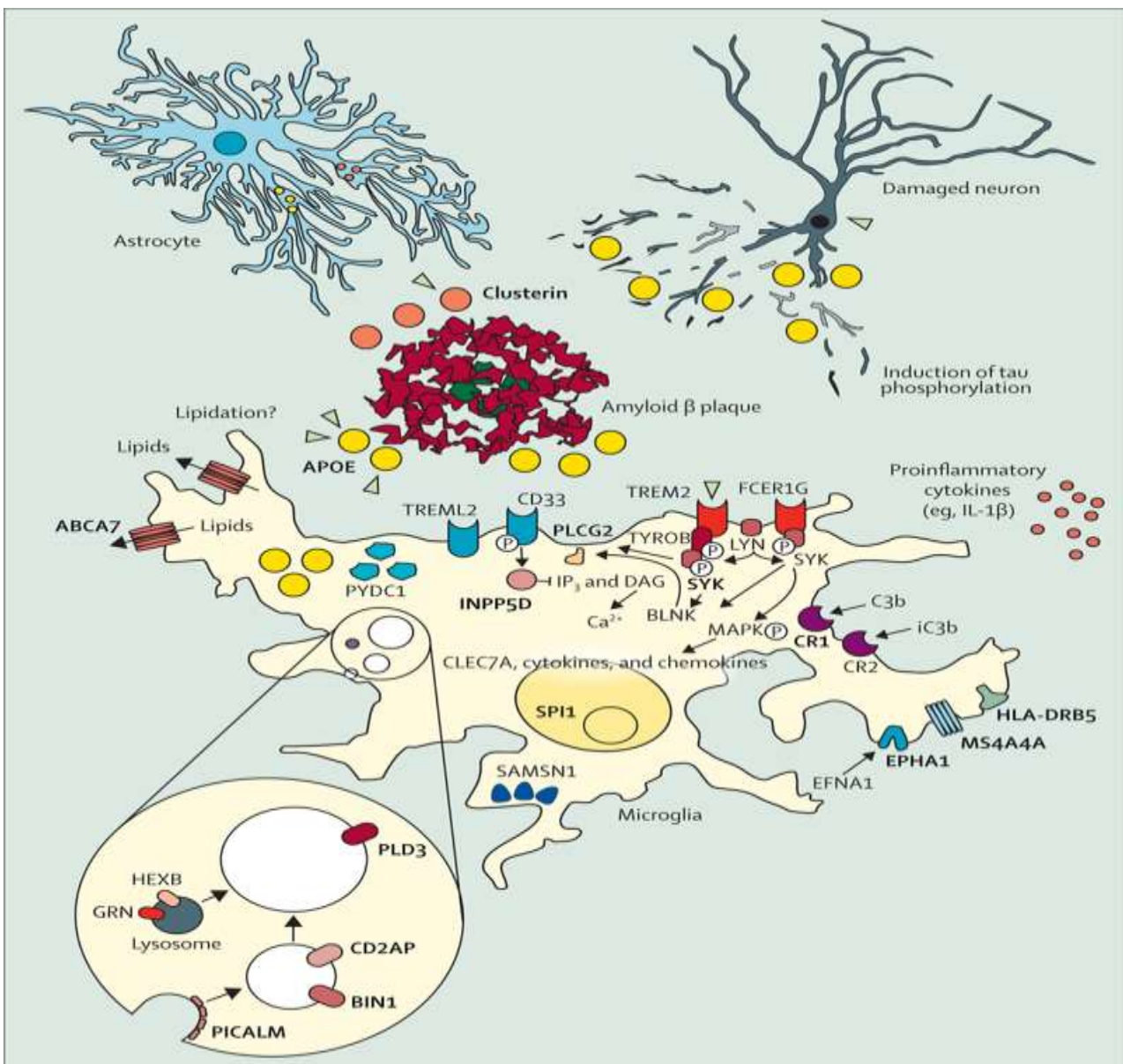
(B) Gli hit GWAS sono varianti comuni (per convenzione, $MAF > 1\%$) che rappresentano alleli di rischio che si verificano con frequenza significativamente diversa nei pazienti con malattia di Alzheimer e nei controlli. Ogni variante è rappresentata dal gene in cui si trova, o quando la variante non è codificante, dal gene che

mappa più vicino alla variante (raffigurato in grigio scuro). **(C)** Le varianti protettive sono varianti (molto) rare suggerite per conferire resistenza contro i fattori di rischio di declino cognitivo associati all'età o alla malattia. *GWAS = studi di associazione sull'intero genoma. MAF=frequenza allelica minore. OR=rapporto probabilità. PRS=punteggi di rischio poligenico.*

Fisiopatologia

Gli scienziati di base designano la fase preclinica della malattia di Alzheimer come fase cellulare. Le alterazioni nei neuroni, nella microglia e nell'astroglia guidano l'insidiosa progressione della malattia prima che si osservi il deterioramento cognitivo. La neuroinfiammazione, le alterazioni dei vasi, l'invecchiamento, e la disfunzione del sistema glinfatico agiscono a monte o parallelamente all'accumulo di amiloide β in questo panorama di malattie cellulari. L'amiloide β induce, attraverso un modo sconosciuto, la diffusione della patologia tau, che è associata alla comparsa di marcatori di necroptosi nei neuroni che mostrano degenerazione granulovacuolare.

L'analisi del trascrittoma a cellula singola ha chiarito la risposta della microglia. *APOE* e *TREM2*, due dei principali geni di rischio di malattia di Alzheimer, sono parti importanti di questa risposta. L'ApoE si lega alle placche di amiloide- β , e le varianti genetiche associate alla malattia di Alzheimer di *TREM2* Arg47His, Arg62His e Asp87Asn diminuiscono il legame di *TREM2* all'ApoE



La fase cellulare della malattia di Alzheimer

Sebbene le placche amiloidi (in rosso, al centro della figura) e la fosforilazione e i grovigli di tau (neuroni, in alto a destra) siano ancora considerate le caratteristiche distintive della malattia di Alzheimer, il focus della ricerca è stato ampliato dai neuroni alla risposta di altre popolazioni cellulari in la malattia. 71 L'infiammazione mediata dalla microglia, nota da decenni per essere presente nella malattia di Alzheimer, 72 ha finalmente assunto un ruolo centrale nella ricerca funzionale sulla patogenesi della malattia. Molti dei prodotti proteici dei geni di rischio (grassetto e maiuscolo) identificati nella malattia di Alzheimer (figura 3) sono espressi e hanno funzioni nella microglia. Questi geni diventano sovraregolati quando le microglia sono esposte alle placche amiloidi e molti dei geni a rischio di malattia di Alzheimer sono arricchiti nella risposta della microglia associata alla malattia che caratterizza questo stato cellulare. 73 – 75 Sono indicati anche altri geni coinvolti in questa risposta e moderatamente positivi negli studi di associazione genome-wide. Adattato da Sierksma et al, 76 con il permesso di EMBO Molecular Medicine

Diverse altre proteine legate al rischio genetico della malattia di Alzheimer, come SHIP1, CD2AP, RIN3, BIN1, PLCG2, CASS4 e PTKB2 agiscono presumibilmente a valle dell'endocitosi modulante il segnale ApoE e TREM2, motilità e fagocitosi nella microglia CD33 agisce in opposizione a TREM2 e MS4A4A modula la secrezione della proteina TREM2 solubile. Il fatto che così tanti geni di rischio di malattia di Alzheimer convergano sui percorsi di risposta della microglia indica il loro ruolo centrale nella patogenesi della malattia. Tuttavia, sono necessarie ulteriori ricerche per chiarire se la risposta della microglia è solo alle placche amiloidi β o se media anche la tossicità indotta dalla patologia tau o agisce in modo protettivo contro la tau.

Conclusioni

Negli ultimi 5 anni sono stati compiuti progressi sostanziali nella comprensione della fisiopatologia e delle basi genetiche della malattia di Alzheimer. L'ipotesi della cascata beta-amiloide è stata modificata da una comprensione più approfondita della fase cellulare, preclinica, della malattia di Alzheimer.

Gli studi genetici sono passati dall'individuazione di tre geni causali e di un gene di rischio all'identificazione di una pletera di geni che possono essere inseriti in un punteggio di rischio poligenico per la malattia di Alzheimer.

Gli sviluppi nella diagnosi dei biomarcatori hanno portato a un ripensamento completo di come etichettare la malattia di Alzheimer al di fuori e prima della sintomatologia clinica, consentendo l'arruolamento di pazienti nella ricerca in una fase molto precoce della malattia, in particolare ora che i biomarcatori del sangue sembrano essere a portata di mano .

Un ulteriore perfezionamento della classificazione diagnostica e delle basi patologiche della malattia sarà effettuato mediante imaging molecolare, consentendo la visualizzazione della copatologia e dell'aggregazione proteica regionale. A seguito di questi sviluppi ci saranno approfondimenti sulla riduzione del rischio, la prevenzione primaria e secondaria, gli approcci non farmacologici e farmacologici, alla fine forniti in parallelo e in un momento molto precedente rispetto a quanto è stato sperimentato in precedenza.

Se il campo mantiene questo ritmo, l'identificazione molto precoce e il trattamento multimodale dei pazienti possono diventare una realtà. alla fine dato in parallelo e in un punto temporale molto precedente rispetto a quanto è stato sperimentato prima.

Hi Darwin !



Ristabilire i grandi erbivori nei loro habitat precedenti può aiutare a ripristinare le relazioni trofiche e le funzioni dell'ecosistema. Storicamente le tartarughe giganti delle Galapagos non erano solo erbivori chiave, ma anche vegetazione calpestata e semi dispersi. Tapia Aguilera e Gibbs hanno documentato gli effetti della reintroduzione di tartarughe giganti nell'isola di Española per un periodo di monitoraggio di 15 anni. La reintroduzione della tartaruga ha ridotto le piante legnose e aumentato la copertura erbosa su scala paesaggistica e ampliato gli habitat aperti per altre specie, come l'endemico albatro delle Galapagos, da utilizzare. L'effetto maggiore è stato sul recupero del cactus albero, una specie importante per molti animali dell'isola. Ristabilire i grandi erbivori nei loro habitat precedenti può aiutare a ripristinare le relazioni trofiche e le funzioni dell'ecosistema. Storicamente le tartarughe giganti delle Galapagos non erano solo erbivori chiave, ma anche vegetazione calpestata e semi dispersi. Tapia Aguilera e Gibbs hanno documentato gli effetti della reintroduzione di tartarughe giganti nell'isola di Española per un periodo di monitoraggio di 15 anni. La reintroduzione della tartaruga ha ridotto le piante legnose e aumentato la copertura erbosa su scala paesaggistica e ampliato gli habitat aperti per altre specie, come l'endemico albatro delle Galapagos, da utilizzare. L'effetto maggiore è stato sul recupero del cactus albero, una specie importante per molti animali dell'isola.

Rewilding giant tortoises engineers plant communities at local to landscape scales