



**UNIVERSITÀ POLITECNICA DELLE MARCHE**  
**DIPARTIMENTO DI SCIENZE DELLA VITA E DELL' AMBIENTE**  
**Corso di laurea**  
**Scienze Biologiche**

**Morbo di Alzheimer: studio sull'eme-A $\beta$**   
*Alzheimer's Disease: A Heme-A $\beta$  perspective*

Tesi di laurea di:  
Marisa Cianci

Docente Referente:  
Chiar.ma Prof.ssa  
Roberta Galeazzi

Sessione Straordinaria Febbraio 2020  
Anno Accademico 2018-2019

# Articolo: Alzheimer's Disease: A Heme-A $\beta$ Perspective

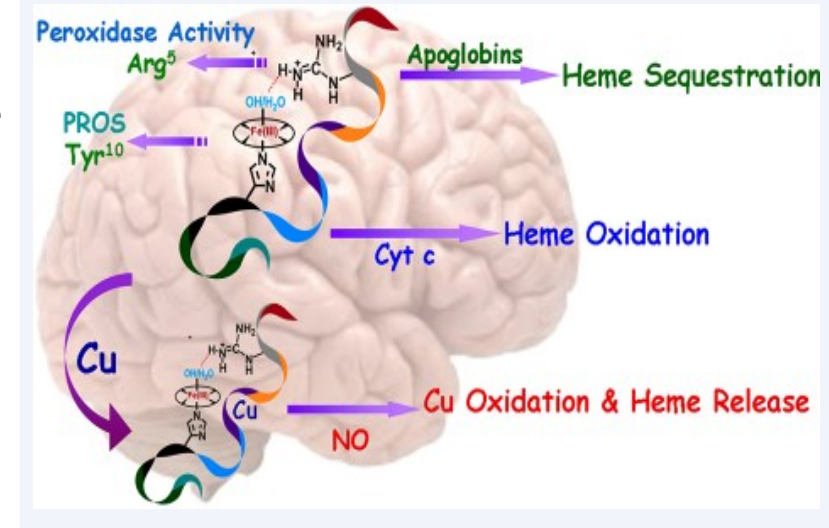
L'aggregazione delle proteine e le formazioni amiloidi sono caratteristiche comuni di molti disturbi neurodegenerativi come il morbo di Alzheimer (AD), il quale è caratterizzato da placche senili neuritiche (SP) che contengono in prevalenza  $\beta$ -amiloidi (A $\beta$ ). Più studi hanno inoltre dimostrato la stretta correlazione tra la co-localizzazione dell'eme e i peptidi A $\beta$  facendo pensare ad un suo possibile ruolo neuropatologico.

L'eme lega un equivalente di A $\beta$  per formare un complesso eme-A $\beta$  1:1. Nell'articolo si è andato ad indagare il centro di legame tra i peptidi e l'eme concentrandosi su tre residui di istidina e uno di tirosina.

Si scende, poi, nel dettaglio valutando la reattività di questo complesso in particolare azione perossidasi, reattività dell'ossigeno, dell'ossido nitrico, della sua capacità di trasferire elettroni e della sua funzione di molecola di trasferimento.

Infine, viene proposto un modello di piattaforma artificiale formata da layer auto-assemblanti che serve a saggiare la reattività dell'O<sub>2</sub> e l'effetto di piccole molecole in relazione al legame con A $\beta$ .

L'articolo conclude con il dire che sembra evidente un coinvolgimento delle proteine A $\beta$  nel morbo di Alzheimer e che risulta necessario indagare ancora in questo campo.



# Morbo di Alzheimer

- Il morbo di Alzheimer (AD, Alzheimer Disease) è il disturbo neurodegenerativo più comune caratterizzato clinicamente da una demenza progressiva.
- Tra le caratteristiche fondamentali dell'AD troviamo le placche senili contenenti principalmente  $\beta$ -amiloidi ( $A\beta$ ).
- Alcune precedenti trattazioni mostrano l'ambiente del sito attivo dell'eme legato con  $A\beta$  e, l'interazione con i complessi eme- $A\beta$  con differenti biomolecole, mostrano un plausibile ruolo patologico dell'eme nella neurodegenerazione dell'Alzheimer.



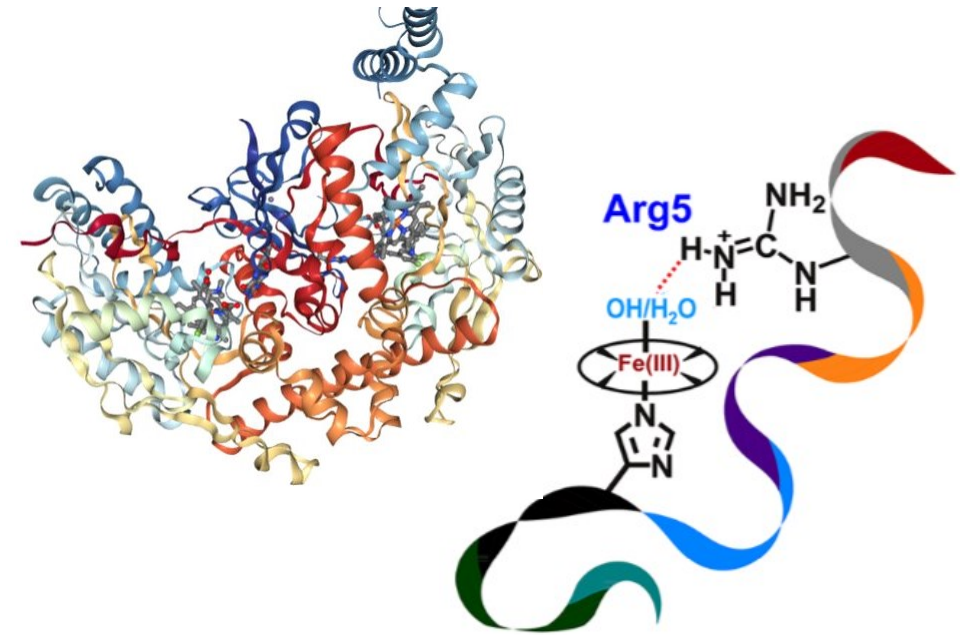
# Sito attivo

L'eme lega un equivalente di A $\beta$  per formare un complesso eme-A $\beta$  1:1.

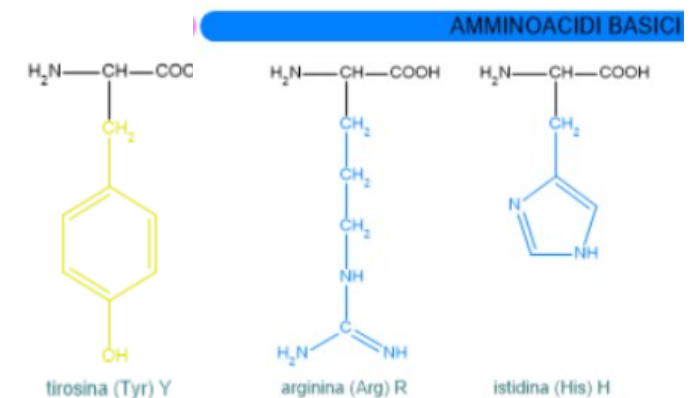
Il legame dell'eme con A $\beta$  avviene in una regione idrofila del peptide compresa tra i residui 1-16 che contiene tre istidine (His6, His13, His14) e una tirosina (Tyr10)

L'eme sembra essere legato:

- Nella tasca prossimale con una delle istidine, presumibilmente His 13, che si coordina con il ferro;
- Nella tasca distale ad un gruppo protonato dell'arginina 5 (Arg5) attraverso un legame idrogeno derivato dall'acqua.



Rappresentazione schematica del legame eme-A $\beta$



# Reattività: Perossidasi

Perossidasi → enzimi contenenti l'eme che catalizzano l'ossidazione di numerosi substrati in presenza di  $H_2O_2$ . Allo stesso modo l'eme- $A\beta$  ossida substrati come 5-HT in presenza di  $H_2O_2$ .

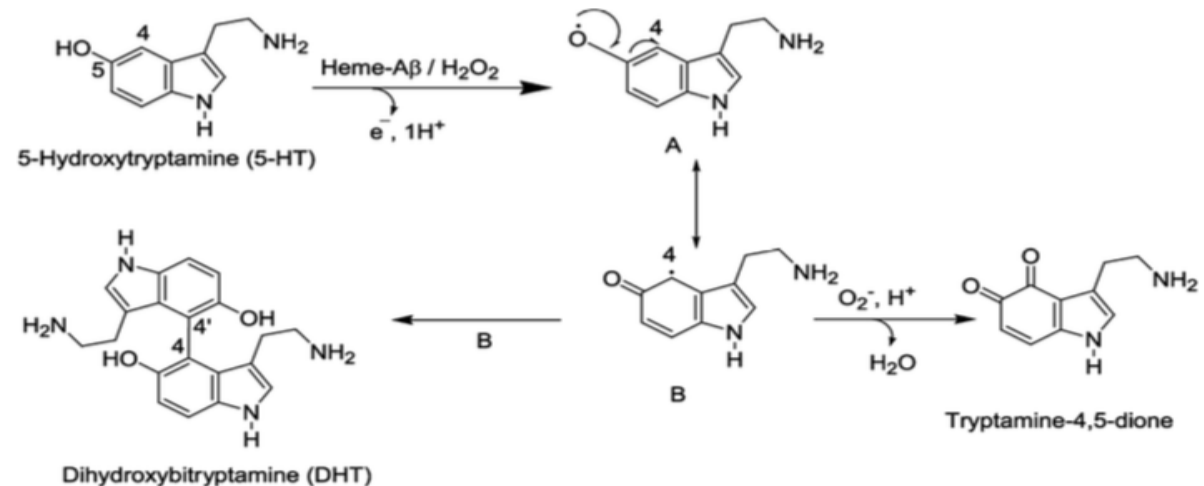
La Serotonina è un neurotrasmettitore essenziale per le funzioni cognitive e la formazione di nuovi ricordi. Un deficit di Serotonina è tipico dell'Alzheimer.

L'eme- $A\beta$  ossida la serotonina (5-HT) in presenza di  $H_2O_2$ , il radicale per risonanza si sposta in posizione 4 dando la forma radicalica B.

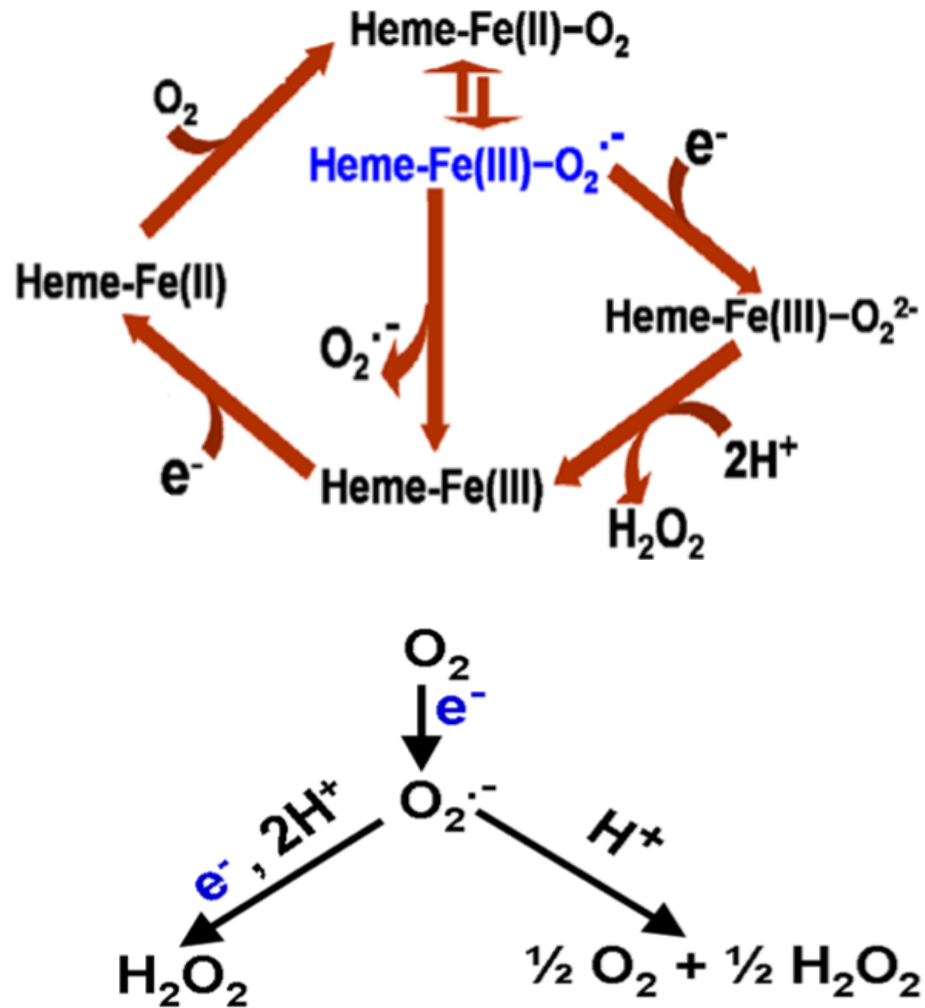
La forma radicalica B può essere convertita in ambiente acido ed in presenza dell'anione superossido  $O_2^-$  in triptamina 4,5-dione oppure in ambiente basico dimerizza formando diidrossibitriptamina (DHT).

Questi composti sono tossici e potrebbero essere tra le cause della citopatologia delle cellule neuronali nell'AD.

Rappresentazione del percorso di ossidazione della serotonina



# Reattività: ROS



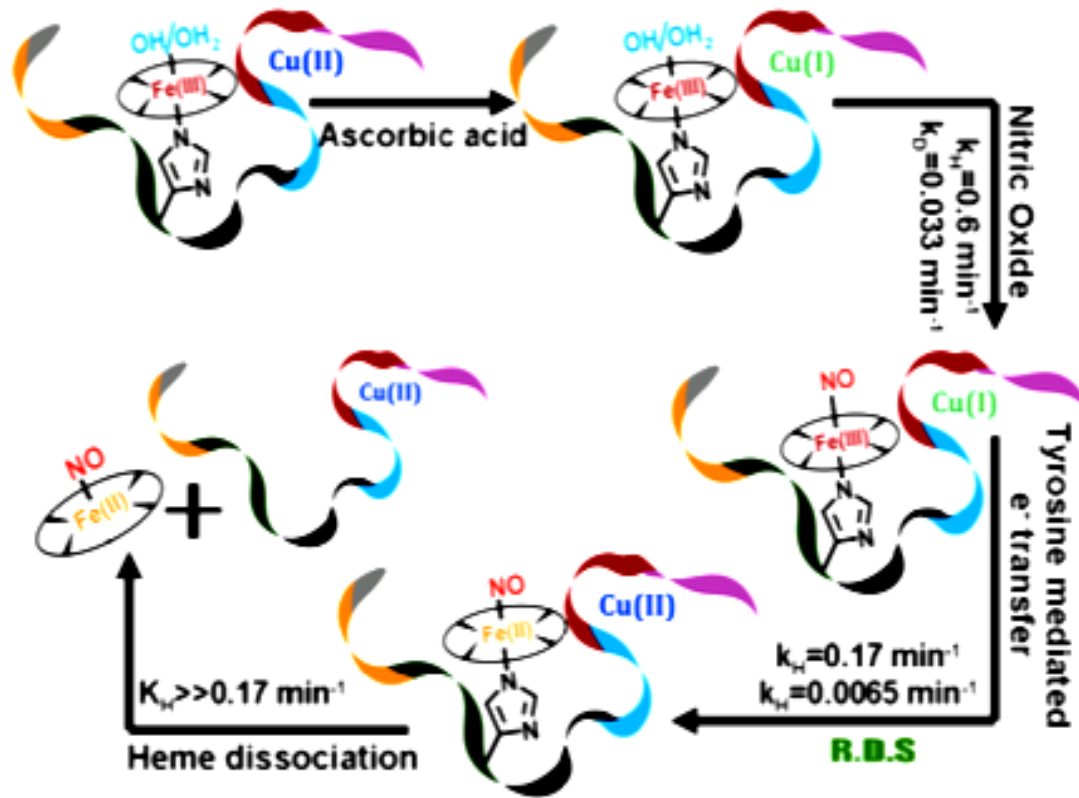
I metalli redox di transizione come Fe(II) e Cu (I) sono conosciuti per reagire con O<sub>2</sub> generando specie parzialmente ridotte dell'ossigeno (PROS) come O<sub>2</sub><sup>•-</sup>, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, HO<sup>•</sup> che sono molecole fortemente neurotossiche.

I PROS sono formati da complessi eme-Aβ, Aβ-Cu e eme-Aβ-Cu. Nello specifico è il residuo di tirosina ad essere fonte del secondo elettrone nella formazione dei PROS.

Una riduzione di questo effetto può essere data dal citocromo c, generalmente presente nei mitocondri, che quando si sposta nel citoplasma può legare il complesso eme-Aβ.

Il trasferimento di elettroni dall'eme-Aβ ridotto al citocromo c ossidato, porta ad una diminuzione della neurotossicità del complesso e della produzione di PROS.

# Reattività: Ossido nitrico (NO)



Rappresentazione schematica della reazione eme-Fe(III) –Cu(I)–Aβ con NO

- La diminuzione dei livelli di NO, osservata in neuroni in coltura in presenza di Aβ ostacola il processo di trasduzione del segnale nella formazione di una nuova memoria nel cervello.
- È stato visto, attraverso tecniche spettrofotometriche, che in presenza di eme-Fe(III)–Cu(II)–Aβ, grazie al residuo di tirosina (Tyr10), che ha ridotto il Fe(III) a Fe(II), si ha la formazione di un complesso eme-Fe(II)-NO con rilascio di Aβ. Questo legame impedisce all'NO di agire come neurotrasmettitore.

Reattività:

Trasporto  
dell'eme

- Neuroglobina (Ngb) e citoglobina (Cgb) sono due globine esacoordinate tipiche dei mammiferi.
- Le apoglobine (apoNgb e apoCgb) sono in grado, in virtù della loro spiccata affinità, di legare facilmente l'eme. Ciò comporta che siano in grado di sequestrarlo dal complesso eme- $A\beta$  ridotto, con conseguente formazione delle ologlobine Ngb e Cgb ridotte, che si trasformano nelle forme ossidate in presenza di  $O_2$ .
- In virtù di questo processo la formazione di Ngb risulta avere proprietà neuroprotettive, aumentando la concentrazione di  $O_2$  e fungendo da scavenger di radicali.



# Piattaforma artificiale per saggiare la reattività dell' O<sub>2</sub> e gli effetti su piccole molecole

- Aβ (1-16) con un residuo di cisteina (Aβcys) a livello del C-terminale forma dei layer autoassemblanti (SAM) dei peptidi Aβ su una superficie di Au.
- Trattando questi layer con eme e Cu si ha la formazione di legami, come succede in vivo. Ciò permette di utilizzare queste piattaforme artificiali per studiare in vitro le reazioni e sperimentare l'efficacia dei farmaci contro l'AD per ridurre il danno ossidativo.
- Ad esempio, trattando gli aggregati con blu di metilene (MB), vediamo che questo porta ad una significativa riduzione della tossicità dovuta alla formazione dei PROS da parte dell'eme. Questi risultati prospettano l'MB come un valido farmaco contro l'AD.






## Conclusioni

Tenendo conto di quanto esposto si potrebbe dire che l'eme risulta avere un ruolo significativo nell'Alzheimer.

È dunque necessario approfondire gli studi in questa direzione, concentrandosi in futuro su cofattori ossidoriduttivamente attivi, soprattutto metallici. Studi di questo tipo possono essere fatti sfruttando il modello abiologico per aggregati amiloidi.

Concludendo, sebbene si sia ancora molto lontani dal capire le cause e i meccanismi di azione di questa malattia, si ritiene che, porre l'accento sul complesso eme-A $\beta$ , sia stato un piccolo passo avanti in una direzione ancora inesplorata.



Vi ringrazio  
per  
l'attenzione

Marisa Cianci