



*Università Politecnica delle Marche*

*Dipartimento di Scienze della Vita e dell'Ambiente*

*Laurea triennale in Scienze Biologiche*

# Ruolo degli *chaperones* molecolari nelle malattie neurodegenerative

Function of molecular *chaperones* in neurodegenerative diseases

Laureanda:

Elena Travaglini

Sessione Autunnale

A.A.2018/2019

Relatore:

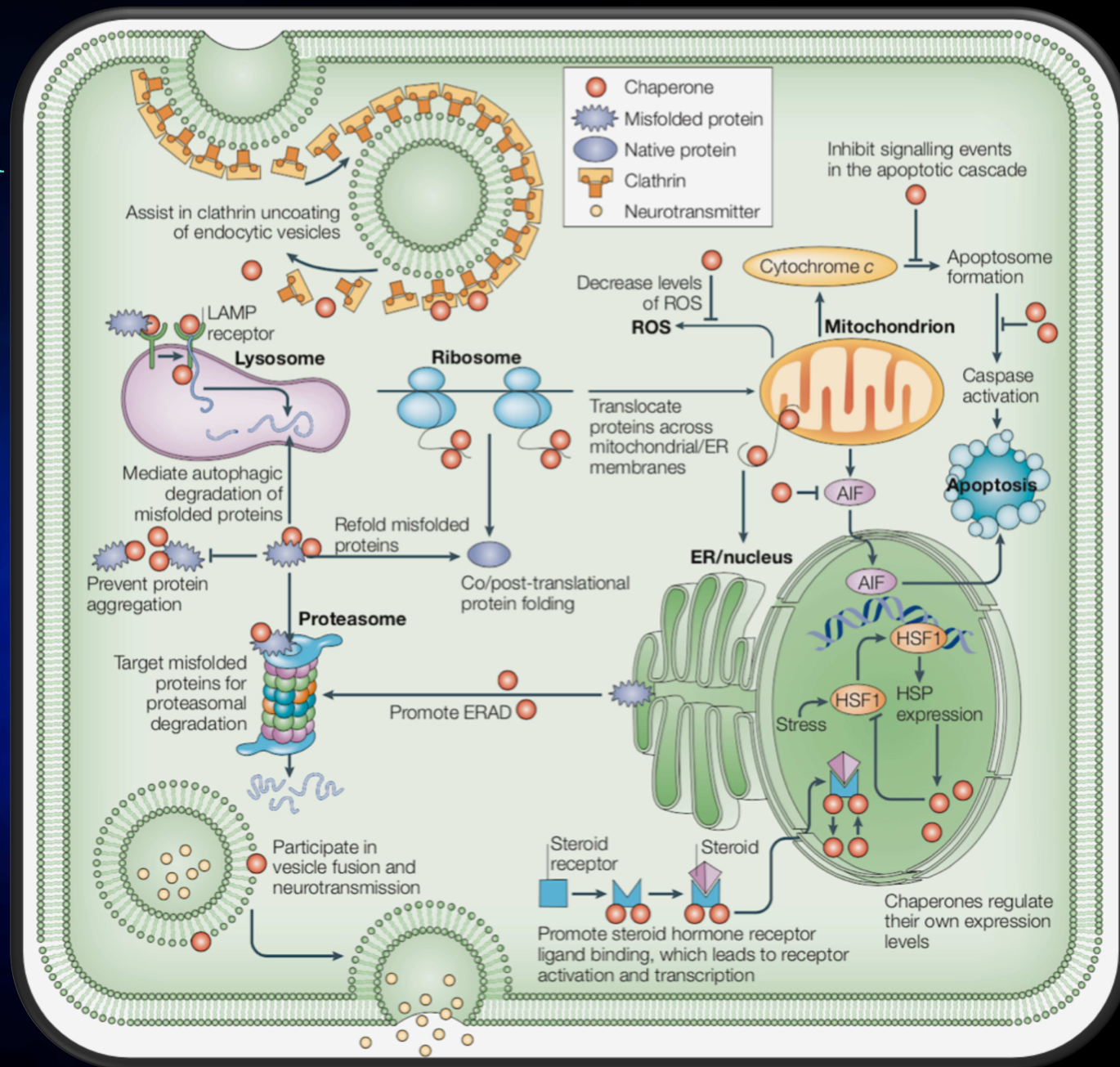
Tiziana Cacciamani

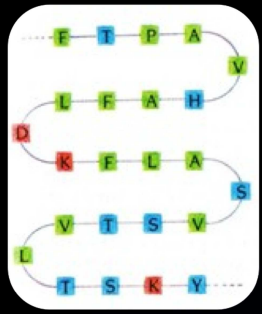
# Sommario

Molte malattie neurodegenerative sono causate da proteine *misfolded* e dall'aggregazione di fibre amiloidi in ambiente intra- o extra-neuronale. Gli *chaperones* molecolari, per le loro molteplici proprietà, risultano essere una linea di difesa contro l'aggregazione delle proteine *misfolded*, anche nelle prime fasi delle malattie neurodegenerative. Per analizzare la loro funzione in condizioni patologiche, sono stati fatti diversi studi sulla malattia dell'Alzheimer, del Parkinson e sulle malattie polyQ. In queste patologie gli *chaperones* molecolari risultano essere neuroprotettivi in quanto limitano l'interazione di proteine aberranti che causano una cascata di eventi portando la cellula nervosa alla morte cellulare.

# Chaperones molecolari

- Facilitare ripiegamento delle proteine.
- Prevenire l'aggregazione di proteine danneggiate.
- Mediare l'autofagia cellulare.
- Facilitare la fusione delle vescicole alla membrana.
- Bloccare l'apoptosi.
- Facilitare la degradazione attraverso proteosoma.

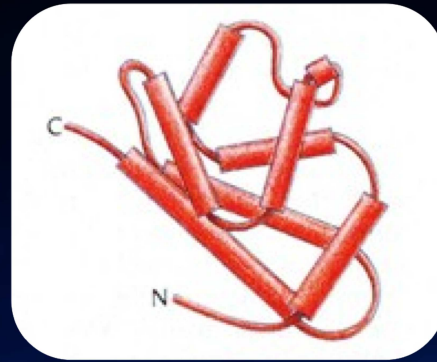




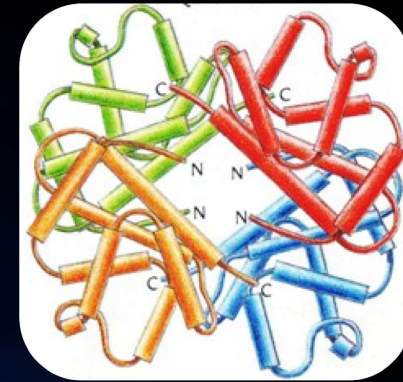
*Struttura primaria*



*Struttura secondaria*

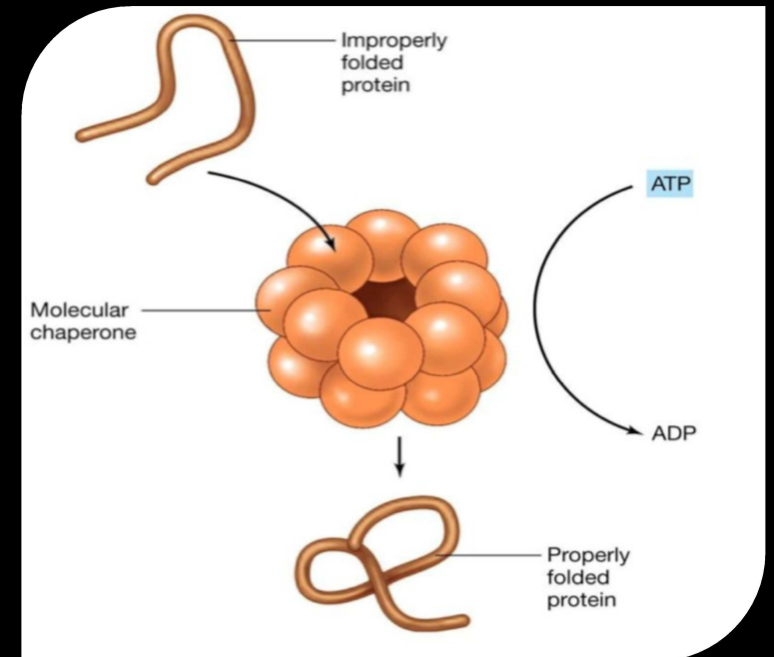


*Struttura terziaria*



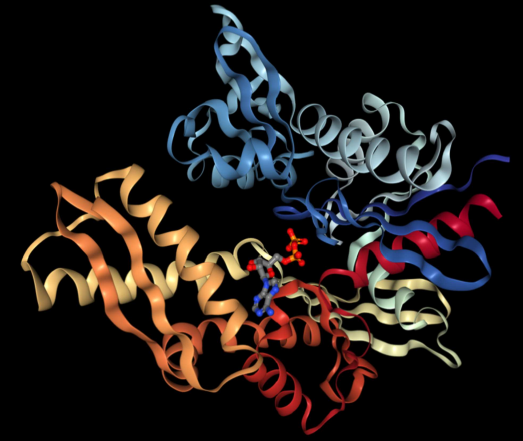
*Struttura quaternaria*

- Sono complessi capaci di avere un'interazione reversibile con le proteine neosintetizzate accompagnandone il ripiegamento per raggiungere la corretta conformazione terziaria.
- Possono essere sia costitutive sia indotte da diversi fattori:
  - **FATTORI AMBIENTALI:** shock termico, metalli pesanti, agenti chemioterapici;
  - **STATI PATOLOGICI:** infezioni virali, infiammazioni, febbre, neoplasie;
  - **STATO FISIOLÓGICO:** ciclo di divisione cellulare, fattori di crescita.

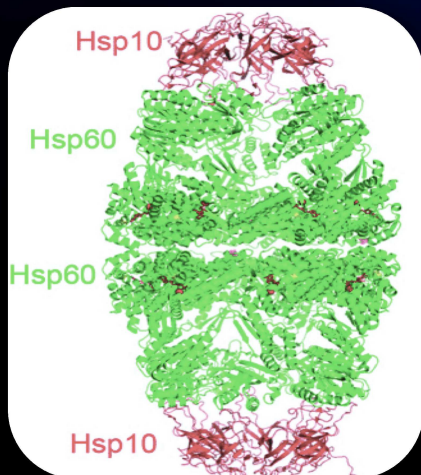
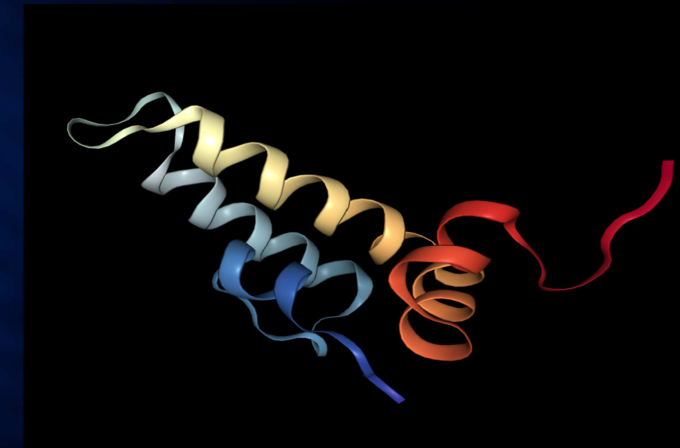


# Heat Shock Proteins

- **HSP70**: hanno un dominio N-terminale con attività ATPasica (che lega e idrolizza ATP) e un dominio C-terminale che lega il substrato. Di questa famiglia fanno parte anche **HSC70**, **GRP78** e **GRP75**.
- **HSP40**: è un co-chaperone che lega e stimola HSP70 all'idrolisi dell'ATP grazie al suo dominio J; ha la capacità di legare e indirizzare substrati al HSP70.



Research Collaboratory for Structural Bioinformatics PDB (RCSB PDB)



Frontiers in Molecular Biosciences 2018 April;5(35) Toward Developing Chemical Modulators of Hsp60 as Potential Therapeutics; Qianli Meng, Bingbing X. Li and Xiangshu Xiao

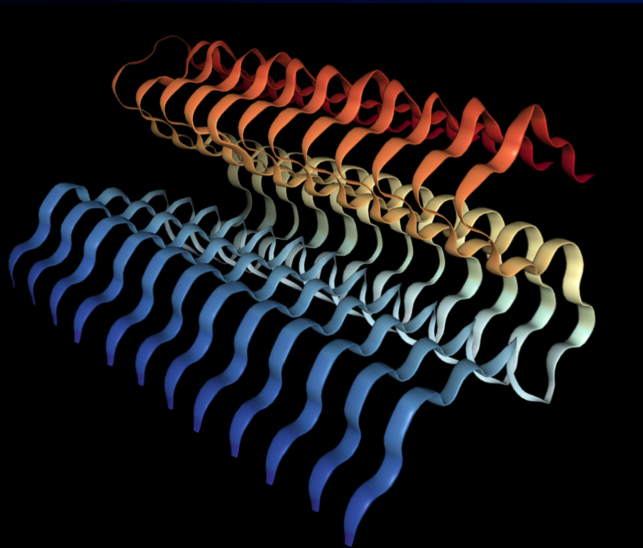
- **HSP60**: trovato nei mitocondri in collaborazione con **HSP10**; permette il corretto ripiegamento della proteina misfolded all'interno del sito catalitico utilizzando ATP.

# Malattie neurodegenerative

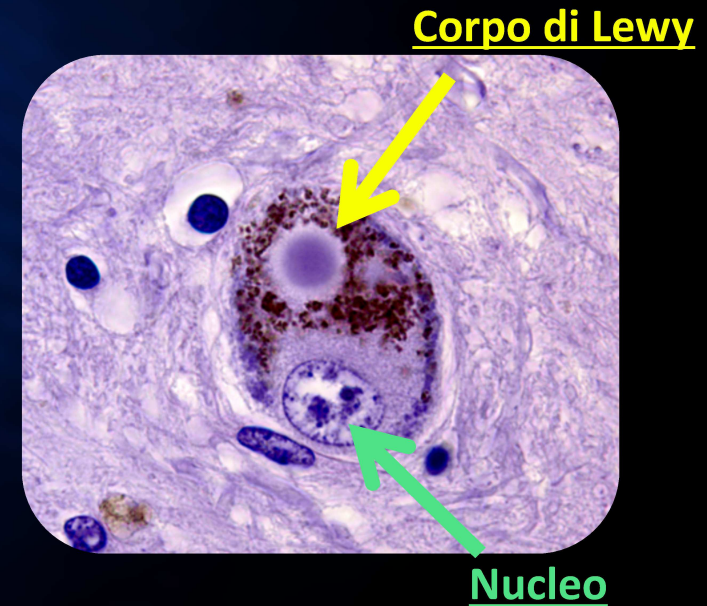
- Sono patologie caratterizzate dalla perdita lenta e progressiva di una o più funzioni del sistema nervoso data dalla morte cellulare di specifici neuroni, conseguenza di un accumulo di aggregati e oligomeri neurotossici.

Le fibrille che compongono gli aggregati hanno caratteristiche biochimiche comuni:

- insolubili;
- alto contenuto di  $\beta$ -sheet;
- capacità di legare coloranti lipofilici.



Research Collaboratory for  
Structural Bioinformatics PDB  
(RCSB PDB)



<http://neuropathology-web.org> Chapter 9,  
Degenerative diseases, Dimitri P.  
Agamanolis

Table 1 | **Protein misfolding diseases associated with molecular chaperones**

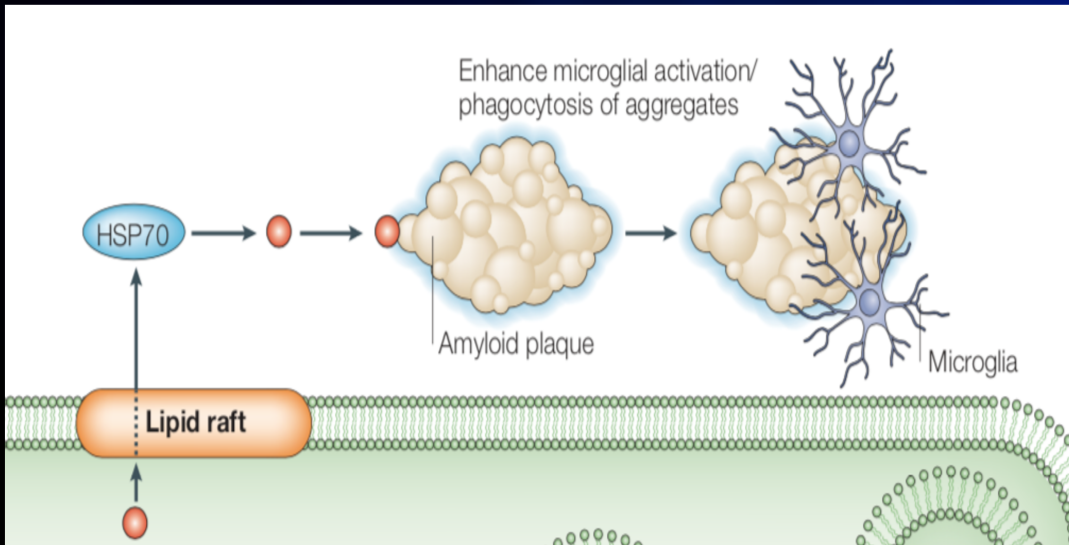
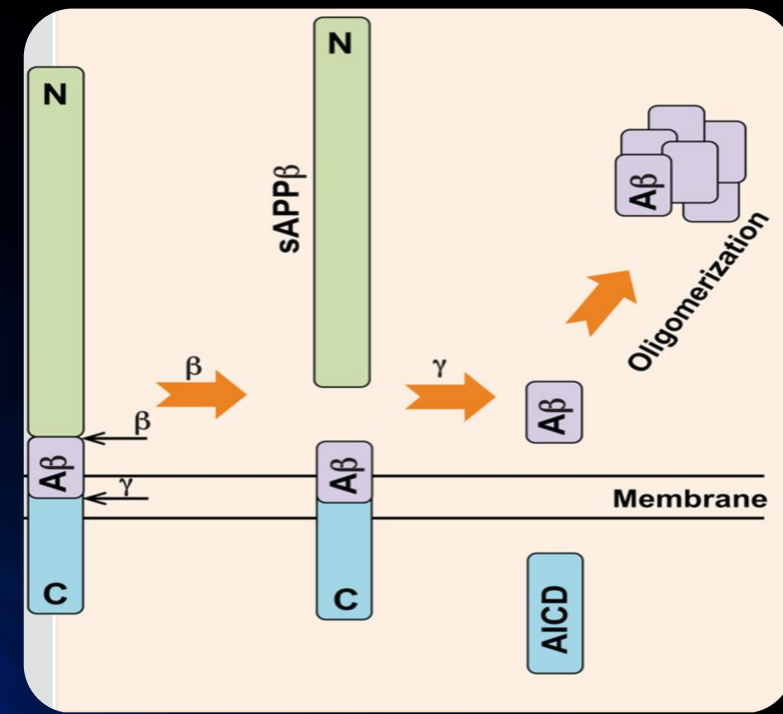
<b>Neurodegenerative disease</b>	<b>Disease genes</b>	<b>Lesion</b>	<b>Main aggregate component</b>	<b>Co-localization of chaperones with lesions (human brain tissue)</b>
Alzheimer's disease	<i>APP</i> Presenilin 1 Presenilin 2	Extracellular senile plaques  Intracellular neurofibrillary tangles	A $\beta$ peptides (A $\beta$ 40, A $\beta$ 42)  Hyperphosphorylated tau	HSP72 HSP28 $\alpha$ B-crystallin, HSP27 GRP78, HSP90 HSP27 HSP90
Parkinson's disease	$\alpha$ -synuclein Parkin <i>UCHL1</i> <i>PINK1</i> <i>DJ1</i>	Intracellular Lewy bodies	$\alpha$ -synuclein	HSP70, HSP40
Dementia with Lewy bodies		Intracellular Lewy bodies	$\alpha$ -synuclein	HSP90, HSP70, HSP60, HSP40, HSP27
Familial amyotrophic lateral sclerosis	<i>SOD1</i>	Intracellular inclusions	Mutant SOD1	HSC70
Polyglutamine diseases		Cytoplasmic and nuclear inclusions		
Huntington's disease	<i>IT15</i> (huntingtin)		Mutant huntingtin	
Spinocerebellar ataxias (SCA1–3, 7)	ataxins		Mutant ataxin	HSP40, HSP70 HSP40

# Malattia di Alzheimer

Le placche senili sono costituite da depositi insolubili di  $\beta$ -amiloide ( $A\beta$ ) che si accumula a livello extracellulare nel sistema nervoso centrale.

I monomeri  $A\beta$  vengono prodotti dall'azione di  $\beta$  e  $\gamma$ -secretasi su una **proteina precorritrice dell'amiloide (APP)** in diversi compartimenti come nel golgi, reticolo endoplasmatico(ER), endosomi e zattere lipidiche.

**GRP78** nel ER ha affinità con APP limitando la secrezione di  $A\beta_{42}$  e  $A\beta_{40}$ .



Trovati *chaperones* molecolari citosolici in ambiente extracellulare in associazione con le placche senili nel sistema nervoso centrale di pazienti con Alzheimer.

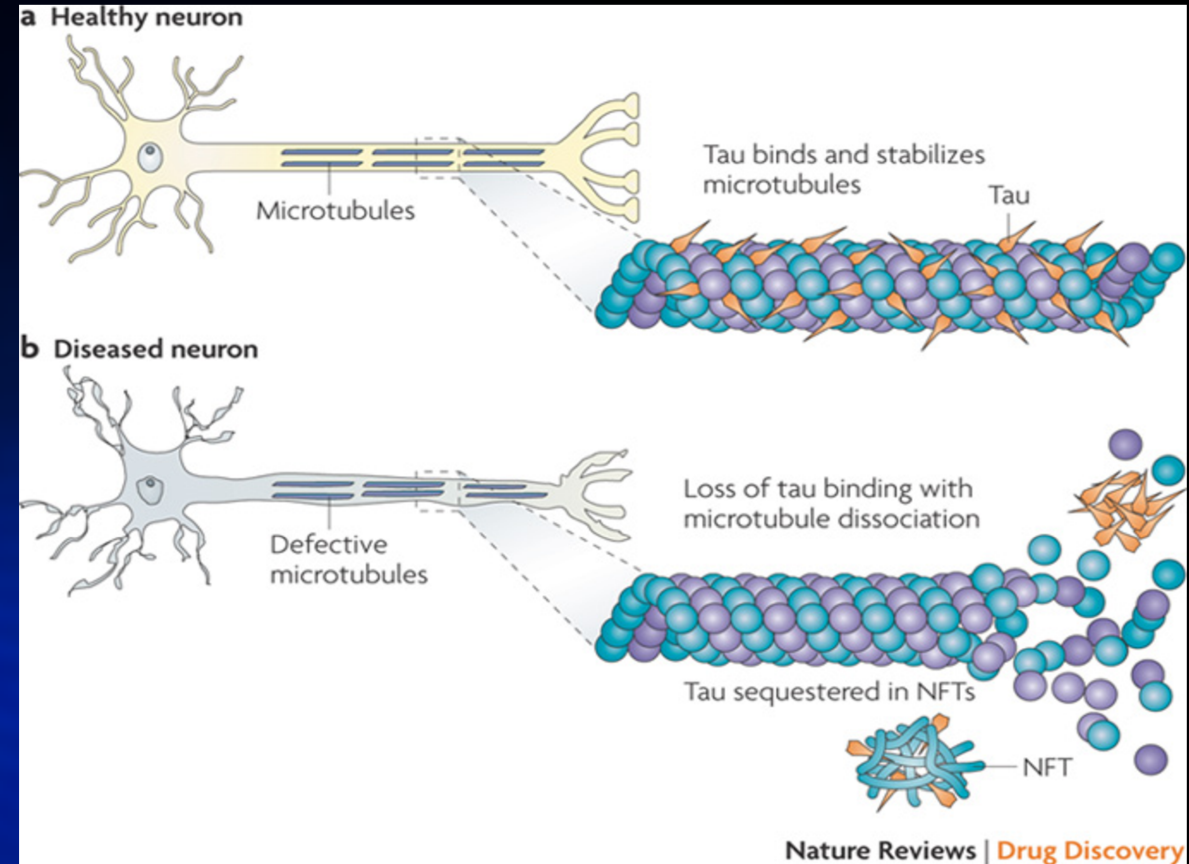
In cellule in coltura, zattere lipidiche indirizzano gli chaperones molecolari **HSP70** nell'ambiente extracellulare associati ai oligomeri di fibre  $\beta$ -amiloidi.

**HSP70** facilita la fagocitosi degli aggregati da parte delle cellule microglia e protegge la cellula dalla tossicità delle  $A\beta_{42}$



# Malattia di Alzheimer

- L'accumulo di placche amiloidi genera un'alterazione delle attività chinasiche.
- La proteina **Tau** iperfosforilata precipita in **grovigli neurofibrillari (NFT)**.
- **HSP27** interagisce con le proteine Tau iperfosforilate e in cellule in coltura ne vanno a diminuire la concentrazione, aumentando quella delle Tau defosforilate e sopprimendo la morte cellulare.
- RNAi per **HSP70** e **HSP90** tende ad aumentare l'accumulo di aggregati insolubili e diminuire l'associazione tra Tau e i microtubuli. La geldanamicina provoca l'effetto opposto stimolando l'espressione dell'**HSP90** e **HSP70**.



Nat Rev Drug Discov.2009 Oct;8(10):783-93. Advances in tau-focused drug discovery for Alzheimer's disease and related tauopathies. Brunker KR, Trojanowski JQ, Lee VM

# Malattie polyQ

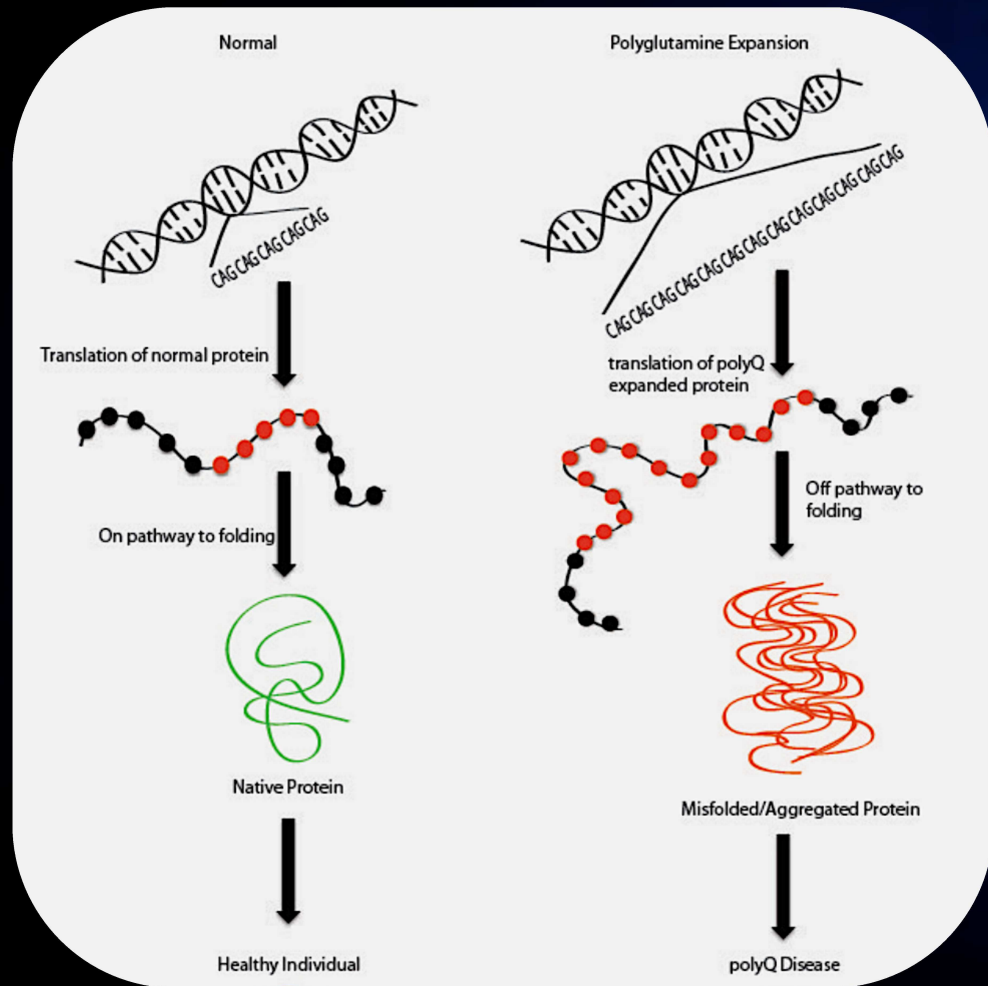
Sono malattie causate da espansioni in porzioni codificanti (esoniche) della tripletta CAG.

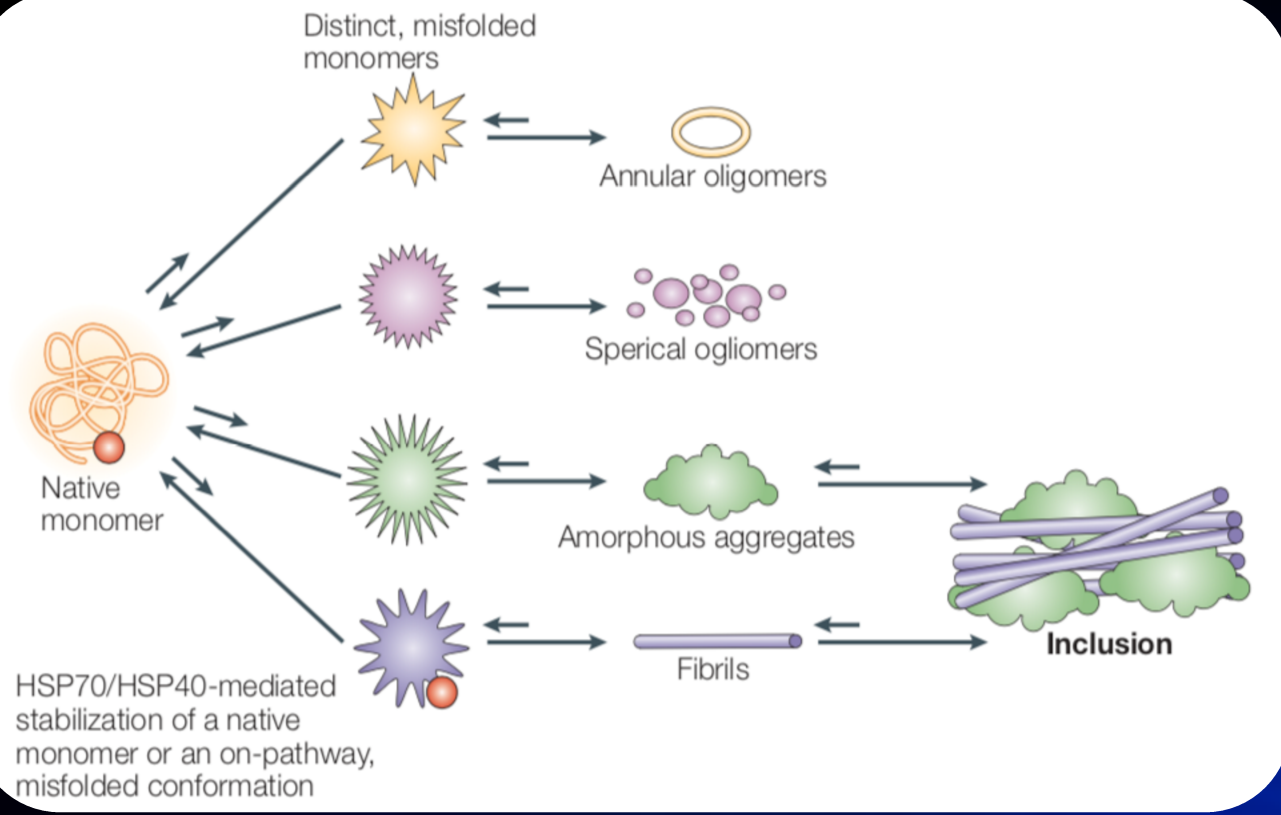
- **COREA DI HUNTINGTON**

Studi fatti su linee di topi transgenici R6/2 per il solo frammento N-terminale dell'Huntingtina mutante umana con 150 ripetizioni CAG e stimolando la sovraespressione di **HSP70** di circa 5-15 volte i valori normali → Nessun miglioramento se non per la diminuzione della perdita di peso.

- **ATASSIA SPINOCEREBELLARE di tipo 1 (SCA1)**

Utilizzati anche topi B05 con SCA1 incrociati con topi che esprimevano **HSP70** circa 10 volte più dei livelli normali → Miglioramento del fenotipo neuropatologico senza effetti sulla morfologia dei corpi di inclusione.



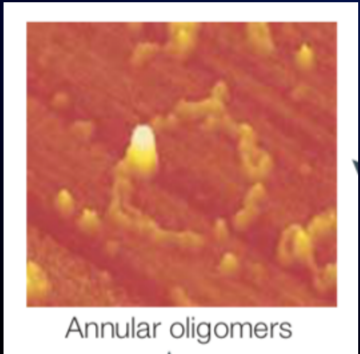


Per analizzare il ruolo della neuroprotezione degli *chaperones* molecolari è stata utilizzata la **microscopia a forza atomica (AFM)** su monomeri di huntingtina,  $A\beta$  e  $\alpha$ -sinucleina che possono assemblarsi in diverse strutture come:

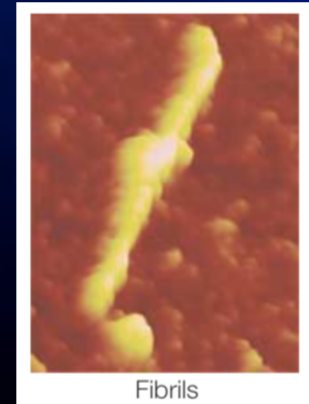
- oligomeri anulari;
- oligomeri sferici;
- aggregati amorfi;
- fibrille.



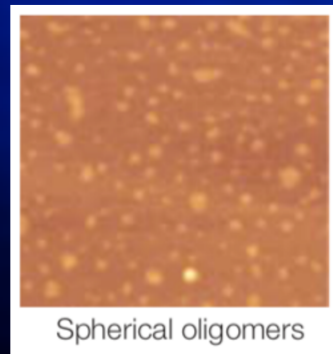
Amorphous aggregates



Annular oligomers



Fibrils



Spherical oligomers

Queste piccole aggregazioni, più che le fibre amiloidi, sono responsabili della disfunzione neuronale iniziale che termina con la morte cellulare. **HSP70** e **HSP40** attenuano la formazione di oligomeri anulari e sferici altamente neurotossici e stimolano la formazione di aggregati amorfi e di fibrille.

## Gli chaperones molecolari hanno un'azione neuroprotettiva a più livelli:

- facilitano il ripiegamento (A);
- correggono le conformazioni misfolded (B);
- prevengono l'aggregazione (C) o promuovono la dissociazione (D) di monomeri tossici;
- mediano la degradazione con proteosoma o lisosoma (E);
- interagiscono con proteine misfolded o aggregati proteici per evitare interazioni con le proteine cellulari (F).

