

Al Dottor **Marco Cattaneo**
Direttore Responsabile di "*Le Scienze*"
Via Cristoforo Colombo, 149 -- 00147 Roma

Piove di Sacco, 20 agosto 2007

Egregio Direttore,

nel n° 468, Agosto 2007, della Sua rivista "*Le Scienze*", a pagina 41 (scienza NEWS), si legge: "Svelata l'origine del morbo di Gehrig".

Secondo gli Autori dell'articolo recensito, la proteina Superossido Dismutasi a rame/zinco (SOD-rame/zinco), nata senza gli ioni metallici, per "stress ossidativo" (mancando di ioni rame/zinco) tende ad aggregarsi: « Sarebbero gli aggregati a risultare tossici per la cellula ». Nelle forme di SLA familiare (circa il 10 % dei casi) « esistono più di cento proteine mutate associate alla malattia ». « E' un fatto strano perché di solito le malattie genetiche sono collegate a una sola mutazione ».

Gli Autori concludono che « Le cento forme alterate della proteina non sarebbero la causa dell'esordio della malattia, bensì l'effetto ».

La conclusione degli Autori impone di domandarci:

- Se quelli osservati sono "effetti", quale è la "causa" determinante ?
- Perché la SOD-nativa, nella SLA, rimane senza ioni metallici ?
- Che cosa produce lo "stress ossidativo" ?

Le mie ricerche dimostrano che la Sclerosi Laterale Amiotrofica (85 casi studiati) è una malattia tossi-infettiva da Bordetella Pertussis (www.domenicofiore.it) e le azioni patogene delle principali tossine di questo batterio (Tossina Pertussica, Adenilatociclastasi; Tossina Dermonecrotica-Citotracheale) rispondono puntualmente ai nostri quesiti.

Rinviando per precisazioni e dettagli a

- Suzuki Hisanori: Una triade di enzimi dalle molteplici funzioni. *Le Scienze*. N° 335. Luglio 1996. 74-79. --- Alberts: *Biologia Molecolare*. Zanichelli, 1995. 275-285.
- Kimelberg H.K. – Norenberg M. D. : Gli astrociti. *Le Scienze*. Anno XXII, vol XLII, n° 25, 6/1989, 54-62.--
- Pellegrini G.: Energia per il cervello. *Le Scienze*. N° 373, settembre 1999. 50-58.--
- Alberts B. et Altri: *Biologia Molecolare della Cellula*. Zanichelli, 1995. Pag. 84-87, paragr 64.

alle precedenti domande rispondo:

Normalmente, i piccoli danni al DNA vengono riparati attraverso le reazioni di poli-ADP-ribosilazione. L'adenosina-difosfo-ribosio (**ADPR**) è parte della molecola del nicotinammide-adenin-dinucleotide (NAD⁺; NADH se ridotto), coenzima di numerosi enzimi coinvolti in importanti reazioni di ossido-riduzione. La poli-ADP-ribosilazione è catalizzata dalla **Poli-ADPR-polimerasi (PARP)**: un enzima ubiquitario nelle cellule eucariote, localizzato prevalentemente nei nuclei, particolarmente abbondante nel testicolo, nel cervello, nel timo. Per l'attività dell'enzima è necessaria la presenza di DNA con punti di rottura su singolo o doppio filamento: l'enzima viene prontamente attivato quando si verificano danni a carico del DNA. La PARP dopo aver riconosciuto la "rottura" presente sul DNA, vi si lega e si attiva; le proteine cromosomiche prossime al punto di rottura vengono ADP-ribosilate e allontanate dal DNA: si ha un rilasciamento della superstruttura della Cromatina che facilita l'accesso agli enzimi riparatori del DNA (DNA-elicasi; DNA-topoisomerasi I); enzimi degradativi staccano i poli-ADPR dalle proteine allontanate dal DNA e tutto torna alla normalità. La PARP, preposta all'integrità del DNA, ha due ruoli:

- se i danni sono lievi, essa crea le migliori condizioni per la riparazione del DNA;
- - se i danni sono notevoli, può indurre morte cellulare per un eccessivo consumo di NAD⁺ e per una profonda deplezione cellulare di ATP.

La PARP utilizza il NAD⁺ come substrato e richiede **ioni zinco** quali **cofattori** (*cofattore: sostanza non peptidica, stabile al calore, necessaria per l'attività ottimale di alcuni enzimi*).

La porzione ammino-terminale della PARP contiene il sito legante il DNA, costituito da due "dita di zinco", strutture capaci di chelare ioni zinco ("*chelare*": *combinare un metallo in un complesso molecolare in cui il metallo faccia parte di un anello*). Le due dita di Zn presenti nella PARP svolgono ruoli particolari: - uno riconosce il punto di rottura sul DNA e consente la formazione del complesso fra PARP e DNA; - l'altro, subito dopo, attiva il sito catalitico dell'enzima.

Normalmente, la PARP all'inizio "chela" (ingloba e tiene agganciati nella propria molecola) due ioni zinco; subito dopo la riparazione del DNA, li rilascia. Se per azione della Tossina Pertussica non si arriva alla riparazione del DNA e all'attivazione del sito catalitico della PARP, gli ioni zinco rimangono inglobati nella PARP; per la mancata catalisi (*dissoluzione*), ioni zinco non sono più disponibili per legarsi alla SOD-nativa; le molecole di SOD-nativa, prive di Zinco, si "aggregano" come descritto dagli Autori.

Il glutammato in alte concentrazioni induce la morte dei neuroni del SNC. Nelle cellule trattate con glutammato il DNA viene rapidamente frammentato, con conseguente aumento sproporzionato di sintesi di ADPR negli acidi nucleici e morte cellulare. L'aumento di ADPR e la successiva morte cellulare non avvengono se, prima del glutammato, le cellule sono incubate con inibitori della PARP.

Nelle tossi-infezioni da Bordetella, oltre a quelli prodotti dalla *Tossina Pertussica*, altri danni sono prodotti dalla tossina *Adenilatociclastasi*. La *Adenilatociclastasi* (ADN-c) pertussica si fissa ai neuroepiteli tramite un recettore di membrana specifico (il GM1) e attiva una ADP-ribosil-trasferasi, che provoca aumento eccessivo di AMP-ciclico, di Calcio endocellulare e una serie di perturbazioni metaboliche, di cui la più evidente è l'azione edemigena per accumulo di liquidi negli spazi intercellulari. L'aumento del Calcio intracellulare attiva la NO-sintetasi calcio-dipendente, con produzione di monossido di azoto (NO = *ossido nitrico*).

Da quanto fin qui ricordato, le azioni patogene delle tossine pertussiche spiegano perfettamente perché nelle SLA familiari « esistono più di cento proteine mutate associate alla malattia » (*la Tossina Pertussica impedisce la riparazione dei comuni e frequenti piccoli danni al DNA*); la morte dei motoneuroni (*eccessivo consumo di NAD⁺ e profonda deplezione cellulare di ATP*); lo "stress ossidativo" (ADN-c).

Nella patogenesi della SLA, però, hanno un ruolo prevalente gli Astrociti, intossicati dalla tossina pertussica Dermonecrotica-Citotracheale (inibisce la ATP-asi Na e K dipendente).

Il ruolo determinante degli Astrociti deriva dal fatto che, oltre al carattere "produttore" o "non-produttore" di Ag-HLA di II classe (SM o SLA), la prima cellula del tessuto nervoso centrale che subisce i danni tossinici da Bordetelle è proprio l'Astrocita:

1. perché l'Astrocita è la cellula del tessuto nervoso a "contatto" con il sangue circolante (i podociti degli astrociti costituiscono l'avventizia vasale nel SNC);
2. perché, nel tessuto nervoso, l'Astrocita è la cellula metabolicamente più coinvolta (è la sola cellula che può assumere dal sangue circolante: ossigeno, glucosio, aminoacidi).

Nelle tossi-infezioni da Bordetelle, l'inibizione delle ATPasi, indotta dalla Tossina Dermonecrotica in tutte le cellule, non permette più agli Astrociti di produrre quantità "sufficienti" di glutammina e lattato.

Nella SLA: - se l'Astrocita non fornisce al primo motoneurone una quantità sufficiente di lattato (essenziale fonte di energia per i neuroni) e di glutammina, il motoneurone non può produrre il glutammato necessario a trasmettere l'impulso al secondo motoneurone; - per la

mancata rimozione del glutammato liberato nella sinapsi dal primo motoneurone (rimozione non possibile per l'inibizione della ATPasi astrocitaria ad opera della tossina Dermonecrotica), il secondo motoneurone subisce un effetto eccitocitotossico, che lo porta rapidamente a morte.

L'eziologia infettiva (Bordetella Pertussis) spiega anche gli aspetti più interessanti della epidemiologia della SLA: 1) la maggior frequenza di malattie neurodegenerative tra i parenti di primo e secondo grado di pazienti SLA; 2) i *cluster* di malattia negli individui che lavorano nello stesso ambiente o che vivono nello stesso edificio; 3) i cosiddetti casi di *SLA coniugale*, cioè l'insorgenza della malattia in entrambi i coniugi (ne sono stati descritti una ventina di casi: io ne ho visto uno recentemente).

In **conclusione**: la SLA è una malattia tossi-infettiva da Bordetella; la diagnosi eziologica si fa ricercando gli anticorpi anti Bordetella con metodica adeguata e parametri di riferimento validi negli adulti (*Diagnosi Eziologica*, in www.domenicofiore.it); il trattamento specifico consiste nel trattamento a lungo termine con Etilsuccinato di Eritromicina e, per evitare un possibile shock tossinico e ulteriori danni irreversibili al SNC, n° sei-otto sedute di Plasmaferesi nei primi venti giorni di cura antibiotica.

A disposizione per precisazioni, approfondimenti, bibliografia; *disponibile ad inviarvi copia della presente per e-mail, se preferite*: ribadendo che il trattamento antibiotico specifico, instaurato ai primissimi segni di malattia, previene l'insorgenza della grave disabilità e della prognosi infausta che caratterizzano attualmente la Sclerosi Laterale Amiotrofica; ringraziando in anticipo dell'attenzione; per la Scienza, per i Malati, per le loro Famiglie, per la Società, Le chiedo di pubblicare sulla Sua prestigiosa Rivista questa mia lettera.

Per riferimenti preliminari essenziali, allego:

Dr. Domenico Fiore: **Amyotrophic Lateral Sclerosis**. In:

- *Neurological Sciences* - Supplement - Volume 23 - September **2002** - XXXIII Congress of the Italian Neurological Society - Abstracts,
- Diagnosis and Treatment of Multiple Sclerosis and Amyotrophic Lateral Sclerosis: Neuropathies from Bordetella Pertussis. *America Journal of Therapeutics* 10, 377-379 (Sep. / Oct. **2003**)
- *Neurological Sciences* - Supplement - Volume 25 - September **2004** - XXXV Congress of the Italian Neurological Society - Abstracts, S112

Cordiali saluti

Dr. Domenico Fiore
Viale Madonna delle Grazie, 17
35028 Piove di Sacco (PD)