

**UTILIZZO DEI FATTORI DI RISCHIO GENETICI PREDITTIVI DI MALATTIA.
DESCRIZIONE DEL PROGETTO OPERATIVO:**

**CHECK UP GENOMICO SU PARENTI DI PRIMO GRADO DI PAZIENTI
CON DEMENZA DI TIPO ALZHEIMER PER LA PREVENZIONE DEI
DIFETTI COGNITIVI E DELLA DEMENZA.**

Lo studio si rivolge ad un campione nella fascia d'età compresa fra i 35 e 60 anni. Il reclutamento avverrà tra i parenti di primo grado (figli, sorelle e fratelli) di pazienti con malattia di Alzheimer o altra forma di demenza senile ricoverati presso RSA.

Il campione di persone oggetto del check up sarà composto dai familiari che in modo volontario avranno aderito al progetto, avendo manifestato il loro motivato interesse nel conoscere il proprio profilo individuale di rischio per il decadimento cognitivo e la DA.

Il compito di organizzare conferenze e seminari illustrativi dell'iniziativa e degli scopi del progetto, sostenere i colloqui individuali informativi per i medici delle RSA e residenze protette, e con i familiari interessati e illustrare la somministrazione del test.

Test genetici predittivi di decadimento cognitivo.

I soggetti che vorranno conoscere il proprio profilo di rischio potranno rivolgersi presso la RSA, che procederà, sotto la supervisione scientifica dell'AMIA, alla somministrazione di un test cognitivo e parallelamente al prelievo delle cellule di sfaldamento della mucosa orale per l'isolamento del DNA genomico, su cui eseguire i test genetici.

I test genetici verranno eseguiti da _____.

Ciascun soggetto dovrà firmare un consenso informato prima di eseguire la spatolatura orale.

Verranno osservate le norme che regolano la privacy a tutela del singolo soggetto e verranno spiegate le modalità di utilizzazione dei risultati del test genetico, secondo le indicazioni appositamente emesse dal garante per la tutela dei dati sensibili. Il referto sarà eseguito dal Dr. _____, membro del Comitato Scientifico dell'AMIA e verrà così determinata la predisposizione al rischio valutata in tre fasce: basso, moderato e alto.

Ciascun soggetto riceverà il referto contenente i risultati della genotipizzazione tramite il medico / RSA che ha somministrato il test.

Gli specialisti saranno sempre a disposizione per fornire spiegazioni o delucidazioni.

Preventivo di spesa per l'esecuzione dei soli test genetici.

I test genetici saranno eseguiti una sola volta all'ingresso del soggetto nel follow up. Saranno analizzati 6 geni e 7 polimorfismi allelici (vedi oltre). Ciascun soggetto verrà analizzato in base all'algoritmo di rischio messo a punto dal Prof. Federico Licastro e a ciascun soggetto verrà assegnata una categoria di rischio.

Costo per ciascuna tipizzazione, calcolo dell'algoritmo, stima della categoria di rischio e refertazione AMIA _____

Obiettivi e rilevanza dello studio:

Lo studio permetterà di individuare per la prima volta su un campione sufficientemente ampio di soggetti con familiarità positiva, la percentuale di soggetti sani con predisposizione moderata o alta al decadimento cognitivo associato all'avanzare dell'età. Non esistono studi di questo tipo sulla scena nazionale ed internazionale e questo progetto potrà permettere per la prima volta, tramite l'uso di strumenti genetici predittivi, di capire quanti soggetti sani risulteranno portatori di una predisposizione significativa e misurabile per il decadimento cognitivo.

A questo primo campione comprendente i soggetti portatori di rischio alto sarà possibile suggerire politiche sanitarie volte alla modificazione del rischio intrinseco. Queste verteranno sul miglioramento dello stile di vita, la modificazione della dieta e l'eliminazione di eventuali fattori di rischio ambientali.

Inoltre questi soggetti potrebbero essere inseriti in un follow up clinico di approfondimento neurocognitivo che permetta un più definito inquadramento individuale e indirizzi quando possibile verso trattamenti personalizzati volti alla prevenzione del decadimento cognitivo od ad un suo significativo ritardo (di anni) nella manifestazione clinica. Il tutto con risparmio finale non indifferente di costi per il cittadino e per il S.S.N.

Questa proposta costituisce un primo approccio razionale basato sull'evidenza scientifica e la buona pratica clinica che può contribuire ad aprire nuovi orizzonti per la medicina preventiva in generale e in particolare per la prevenzione del deterioramento cognitivo e la demenza senile.

NOTE INTRODUTTIVE

La malattia di Alzheimer é una sindrome degenerativa del sistema nervoso centrale ad eziologia non completamente definita caratterizzata da morte neuronale. E' la forma piú comune di demenza senile, i casi accertati negli Stati Uniti sono 4 milioni mentre le stime epidemiologiche relative al numero di persone affette in tutto il mondo considerano un totale di 12 milioni.

Entro il 2025 si prevedono 32 milioni di diagnosi, mentre per il 2050 le previsioni avanzate al World Alzheimer's Congress nel 2000 fissano la stima ad oltre 48 milioni di persone affette a causa dell'aumento dell'età media della popolazione. E' infatti utile ricordare che la demenza di tipo Alzheimer (DA) é una patologia legata all'invecchiamento (infatti meno del 5% dei casi colpisce le persone con età inferiore a 65 anni).

In Italia si stima che le persone affette dalla malattia di Alzheimer siano tra 600.000 e 1 milione e il numero dei nuovi casi per anno (incidenza) negli ultimi decenni è drammaticamente aumentato poichè, con l'aumento della vita media, sono aumentate in maniera rilevante le fasce di età, da i 65 anni in su, dove sia l'incidenza che la prevalenza della malattia aumentano progressivamente.

La DA rappresenta una delle piú importanti causa di disabilità nell'anziano e quindi uno dei principali problemi sanitari e sociali correlati all'invecchiamento, sia per la quantità che per la qualità dell'assistenza richiesta dal malato che per il coinvolgimento medico, sociale ed economico.

Come accennato all'inizio la DA é una malattia neurodegenerativa cronica, si manifesta a livello clinico quando ormai la perdita neuronale é già ad uno stadio avanzato e quindi al momento non é possibile intervenire con terapie efficaci; questo rende la demenza di tipo Alzheimer una malattia da cui non si può guarire.

Per questo motivo sarebbe molto utile avere degli efficaci strumenti di diagnosi precoce o ancora meglio, di **prevenzione**.

Genetica predittiva e prevenzione della DA

Le innovative tecniche di neuroimaging stanno facendo passi enormi nell'individuare e monitorare le alterazioni cerebrali in pazienti affetti da disfunzioni cognitive ma ancora non dementi, condizione chiamata MCI (mild cognitive impairment), la maggior parte di questi soggetti svilupperà poi la malattia di Alzheimer; tuttavia, sarebbe estremamente utile avere buoni strumenti terapeutici preventivi o di intervento precoce che potrebbero diminuire sia l'incidenza che la prevalenza della malattia.

Si deve sottolineare che la demenza di tipo Alzheimer é una patologia multifattoriale ad eziologia complessa; varie prove sperimentali hanno dimostrato che **nella forma non familiare della malattia che rappresenta oltre il 95% dei casi esistono fattori genetici predisponenti**. Questi possono essere definiti dalla analisi di polimorfismi allelici (mutazioni a livello della catena del DNA) largamente presenti nella popolazione che aumentano o diminuiscono il rischio di sviluppare la malattia.

Ciò non significa che un soggetto sano portatore della variante allelica associata alla malattia svilupperà sicuramente la demenza di tipo Alzheimer; tuttavia un soggetto con un

determinato assetto genetico ha più probabilità di svilupparla rispetto ad un soggetto non portatore.

Sfruttando queste conoscenze si possono sviluppare test basati sull'identificazione dei vari polimorfismi associati alla malattia per individuare il rischio individuale per la malattia e attuare così terapie preventive al fine di impedirne lo sviluppo o comunque ritardarne notevolmente l'insorgenza.

A tal riguardo si rammenta in analogia che la diagnosi precoce delle alterazioni cancerose e precancerose ha determinato il successo della lotta contro il cancro nelle nostre società, tanto da permettere la cura e la sopravvivenza a lungo termine nella maggior parte dei casi di cancro. La proposta contenuta nel presente progetto, basata su l'identificazione dei fattori di rischio genetico per un intervento precoce, potrebbe contribuire in un futuro molto vicino a diminuire l'incidenza della demenza, preservare la qualità della vita in porzioni consistenti della nostra popolazione ed ad estendere il benessere della popolazione in età avanzata.

FATTORI METABOLICI E INFIAMMATORI NELLA MALATTIA DI ALZHEIMER

La malattia di Alzheimer é la forma di demenza senile piú diffusa dopo i 65 anni.

Le caratteristiche neuropatologiche tipiche della malattia sono la perdita neuronale e sinaptica, deposizioni intraneuronali di neurofilamenti degenerati (NFT) e la deposizione extracellulare della proteina beta-amiloide con la conseguente formazione di placche senili (PS) (Terry R.D, 1994.).

E' inoltre noto che la glia presente attorno ai depositi amiloidi e gli astrociti presenti nelle aree del cervello particolarmente colpite dalla neurodegenerazione tipica della malattia si presentano con fenotipo attivato e secernono molecole infiammatorie (Dickson D. al., 1988). Alcune di queste sono state trovate nel cervello di pazienti affetti da malattia di Alzheimer associate alle placche senili.

Un possibile coinvolgimento dell'infiammazione nella malattia é avvalorato anche da studi epidemiologici che hanno dimostrato un minor rischio di sviluppare la malattia da parte dei soggetti che facevano uso di farmaci antinfiammatori non steroidei (Breitner JC et al., 1994).

Negli ultimi anni si é anche sviluppato un grande interesse nell'individuare la relazione tra colesterolo e malattia di Alzheimer nato da evidenze emerse da studi epidemiologici che suggerivano un possibile link tra livelli sierici di colesterolo e la presenza della malattia.

LA PREVENZIONE DEL DEFICIT COGNITIVO E DALLA DA.

La DA é una malattia cronico degenerativa dell'encefalo e attualmente non sono disponibili terapie in grado di curare efficacemente la malattia. Infatti nonostante i numerosi protocolli clinici sperimentali internazionali e l'impiego di numerosi e diversi farmaci non é possibile ancora avere una terapia efficace per la malattia.

E' importante sottolineare che esistono situazioni pre-cliniche della malattia che poi sfociano col tempo nella manifestazione dei sintomi clinici della DA. Attualmente c'è molta attenzione su i protocolli clinici che applicano a soggetti con alterazioni pre-cliniche

diverse terapie con lo scopo di prevenire o ritardare significativamente lo sviluppo della forma conclamata della malattia.

Non é da escludere che successi terapeutici significativi si potrebbero avere applicando terapie precoci in soggetti predisposti alla malattia ma che non ancora manifestano i sintomi pre-clinici che poi sfoceranno col tempo nella malattia conclamata. Il problema più complesso per questo approccio consiste nell'individuare i soggetti a rischio della malattia. Per ottenere questo scopo si possono seguire diverse strategie.

Il nostro gruppo di ricerca da molti anni si occupa dell'individuazione di profili di rischio predittivi di malattie cronico-degenerative e ha individuato un profilo genetico di rischio fortemente associato alla DA e predittivo di decadimento cognitivo. L'applicazione di questi studi ha permesso la messa a punto di un test genetico che può valutare la predisposizione individuale o rischio per la DA ed individuare i soggetti sani, ma ad elevato rischio di sviluppare la malattia. Su questi soggetti l'applicazione di un follow up di approfondimento diagnostico, la valutazione della dieta, degli stili di vita e la eventuale somministrazione di farmaci con modulazione sulla crasi lipidica e sulla risposta infiammatoria potrebbe risultare in una prevenzione della malattia o in subordine in un significativo ritardo dei suoi segni clinici.

TEST PREDITTIVO PRO-INFIAMMATORIO E METABOLICO PER LA DEMENZA DI TIPO ALZHEIMER

L'ipotesi di un coinvolgimento di un'anormale risposta immunitaria nella patogenesi della DA é ormai stata ampiamente dimostrata. Anche se non é ancora chiaro se i processi infiammatori presenti nel cervello dei pazienti affetti siano un evento scatenante, é ormai certo che l'infiammazione gioca un ruolo importante per lo sviluppo della malattia. Numerosi studi epidemiologici hanno dimostrato che nei soggetti sottoposti a terapie con farmaci anti-infiammatori non steroidei si osservava una diminuita incidenza della demenza e del decadimento cognitivo età-associato. Inoltre studi istopatologici hanno mostrato che nel cervello dei pazienti con la malattia di Alzheimer esistono lesioni caratteristiche, fra le quali un'iperattivazione degli astrociti e della glia cerebrale (astrogliosi reattiva). Queste cellule accessorie del encefalo producono e rilasciano molecole con funzione infiammatoria.

Il nostro test si basa sull'analisi di polimorfismi allelici di geni coinvolti nella risposta infiammatoria che sono stati trovati associati ad un aumentato rischio di sviluppare l'Alzheimer. Il gruppo di geni da noi analizzato é stato selezionato dal gruppo di ricerca del Prof. Federico Licastro, del Dipartimento di Patologia dell'Università di Bologna sulla base di un'esperienza clinica e di ricerca pluriennale. Questo gruppo di polimorfismi é stato testato su un'ampia popolazione di pazienti affetti da malattia di Alzheimer e di soggetti di controllo comparabili per sesso ed età, applicando una comparazione statistica opportuna. Questa comparazione statistica ha permesso di elaborare i dati ottenuti su tutti i polimorfismi in oggetto ed ha dato risultati sull'importanza relativa di ciascun

polimorfismo nell'insorgenza della patologia. Questo approccio integrato ha permesso l'identificazione di un profilo di rischio pro- infiammatorio associato all'Alzheimer.

Di seguito si danno alcune informazioni succinte sui geni analizzati per la valutazione del profilo di rischio.

INTERLEUCHINA-1. Il gene dell'interleuchina-1 (IL-1) é situato sul cromosoma 2 in posizione 2q13 dove é presente un cluster di geni che codifica sia per l'IL-1alfa, che per IL-1beta il recettore di queste due molecole. L'IL-1 é una citochina pluripotente, cioè capace di svolgere e regolare molte funzioni immunitarie ed é soprattutto coinvolta nell'attivazione delle risposte infiammatorie. L'IL- 1beta in particolare viene anche rilasciata nel torrente circolatorio esercitando anche azioni diffuse nell'organismo, è infatti uno dei fattori capace di indurre febbre, sonno, anoressia e ipotensione. Nella DA è espressa dalla microglia attivata che circonda le placche senili, sembra inoltre che promuova la sintesi e il processamento dell'APP (proteina da cui deriva la proteina beta-amiloide) aumentando così la presenza di depositi amiloidi e la formazione delle placche senili. I nostri studi si sono focalizzati sul polimorfismo presente sul promotore dell'IL-1neta in posizione -511 che consiste nella sostituzione di una citosina (C) con una timina (T). Questo polimorfismo é stato studiato su un'ampia popolazione italiana affetta da DA. La presenza del genotipo TT aumenta il rischio di sviluppare la malattia (Licastro et al. Gene polymorphism affecting alpha1-antichymotrypsin and interleukin-1 plasma levels increases Alzheimer's disease risk. Ann Neurol. 2000), pertanto i soggetti portatori di tale genotipo hanno maggiori probabilità di sviluppare la malattia rispetto ai non portatori.

INTERLEUCHINA-10. Il gene codificante per l'Interleuchina 10 (IL-10) é situato sul cromosoma 1 e codifica per l'omonima proteina. IL-10 é una molecola con attività antinfiammatorie ovvero inibisce il rilascio delle citochine pro-infiammatorie durante lo sviluppo delle risposte infiammatorie. E' secreta dai linfociti T, monociti e macrofagi e regola le risposte infiammatorie mediante la sua attività immunosoppressiva. L'IL-10 é sintetizzata anche nel sistema nervoso centrale e la sua funzione é quella di limitare la risposta infiammatoria e promuovere la sopravvivenza neuronale durante infezioni. Poichà la neuroinfiammazione é associata alla demenza e l'anomala produzione di fattori infiammatori può concorrere alla manifestazione clinica della malattia e al suo progressivo peggioramento, lo studio di questa citochina con funzione regolatoria sulla risposta infiammatoria ha suscitato un grande interesse fra gli studiosi della malattia di Alzheimer. Molti studi hanno studiato il polimorfismo presente nella regione promotrice del gene dell'IL-10 in posizione - 1082. Tale polimorfismo consiste nella sostituzione di una guanina (G) con un'adenina (A). E' utile ricordare che studi in vitro hanno suggerito che la presenza dell'allele A è associata ad una minor produzione della molecola di IL-10. Uno studio condotto su un gruppo di pazienti con probabile AD e relativo gruppo di controllo ha dimostrato che la presenza del genotipo AA aumenta il rischio di sviluppare la malattia (Lio et al. Interleukin-10 promoter polymorphism in sporadic Alzheimer's disease. Genes Immun 2003). Uno studio successivo fatto su un gruppo di pazienti AD ha confermato i

risultati precedentemente descritti e dimostrato anche che tale genotipo aumenta anche la velocità del decadimento cognitivo nei pazienti affetti dalla malattia (Chiappelli et al. Impaired regulation of immune responses in cognitive decline and Alzheimer's disease: lessons from genetic association studies. Expert Rev Neurotherapeutics. 2006).

ALFA-1-ANTICHIMOTRIPSINA. Il gene dell'alfa-1-antichimotripsina (ACT) è situato sul cromosoma 14 e codifica per una proteina chiamata ACT, una molecola che ha attività inibitoria nei confronti di alcuni enzimi specifici ad attività proteasica ed è una proteina coinvolta nel processo infiammatorio. In condizioni fisiologiche la sua concentrazione plasmatica è bassa, ma aumenta rapidamente e drasticamente in seguito a processi infiammatori. ACT è rilasciata principalmente dalle cellule epatiche, tuttavia anche altri tipi di cellule, quali i macrofagi, le cellule endoteliali e epiteliali sono in grado di sintetizzare questa proteina. Questa proteina ha suscitato un grande interesse nell'ambito dello studio della malattia di Alzheimer in quanto è presente come componente secondario nelle placche senili e depositi di sostanza amiloide.

L'ACT è secreta dagli astrociti iper-reattivi che circondano le placche di amiloide cerebrali e le lesioni neurodegenerative presenti nell'encefalo dei pazienti affetti da DA. L'ACT è un marcatore importante, è infatti presente non solo all'interno delle placche cerebrali ma anche a livelli elevati nel fluido cerebrospinale e nel sangue dei pazienti affetti (Licastro et al. Acute phase reactant a-1-ACT is increased in cerebrospinal fluid and serum of patients with probable AD. Alz. Dis. Ass. Disorders, 1995). Recentemente è stato completato il sequenziamento della regione promotrice del gene dell'ACT alla ricerca di polimorfismi interessanti in relazione alla demenza. Quello più significativo è presente in posizione -51 e consiste nella sostituzione di una guanina (G) con una timina (T); tale sostituzione implica una maggiore secrezione della molecola stessa da parte di linee cellulari astrocitarie. (Morgan K et al. Polymorphism in the ACT gene promoter: effect on expression in transfected glial and liver cell and plasma ACT concentration. Hum Genet 2001). Questo polimorfismo (ACT -51) è stato studiato in una popolazione ampia di pazienti affetti dalla DA. I risultati ottenuti ci permettono di affermare che il polimorfismo del gene dell'ACT in posizione -51 è un fattore di rischio per la malattia di Alzheimer soprattutto per i casi ad insorgenza precoce e che tale polimorfismo influenza anche la velocità di decadimento cognitivo dei pazienti affetti dalla malattia. In altre parole i portatori del genotipo TT dopo la manifestazione della malattia presentavano un decadimento cognitivo più veloce durante i primi due anni di osservazione clinica (Licastro et al. A new promoter polymorphism in the alpha-1-antichymotrypsin gene is a disease modifier of Alzheimer's disease. Neurob Aging 2005).

APOLIPOPROTEINA E. Il gene che codifica per l'apolipoproteina-E (APOE) è situato sul cromosoma 19 e codifica per l'omonima glicoproteina. Sono presenti tre isoforme (conformazioni strutturali diverse della stessa proteina) di ApoE: ApoE2, ApoE3 e ApoE4 che sono i prodotti di 3 forme alleliche diverse (E2, E3 ed E4). Queste diverse isoforme sono determinate da un cambiamento amminoacidico in due diverse posizioni (arg>cys aa112 e cys>arg aa158). L'APOE è sintetizzata principalmente nel fegato ed ha la

funzione di trasportatore lipidico. A livello cerebrale è sintetizzata dagli astrociti, e funge da trasportatore del colesterolo sia nel parenchima cerebrale che nel fluido cerebrospinale. Quando è complessata a lipidi ad alta densità (colesterolo) si lega al recettore specifico presente sui neuroni e stimola la crescita dei neuriti e delle sinapsi dei neuroni. Nella malattia di Alzheimer l'ApoE è presente nelle placche senili, negli ammassi neurofibrillari e nei depositi amiloidi cerebrovascolari presenti nel cervello dei pazienti affetti dalla malattia. ApoE è stato il primo fattore di rischio genetico associato alla DA. L'allele ApoE E4 è molto più frequente nei soggetti affetti dalla malattia rispetto ai controlli. Studi successivi hanno spiegato anche le ragioni di questa associazione, ovvero l'ApoE E4 lega con maggiore affinità le fibrille amiloidogeniche causandone una maggiore precipitazione e quindi una più veloce formazione di placche senili. Inoltre il rischio di sviluppare la malattia è anche dipendente dal numero di alleli E4 poiché gli individui omozigoti portatori del genotipo E4/ E4 hanno un maggior rischio di sviluppare la malattia rispetto ai portatori di un solo allele E4 (eterozigoti). I nostri studi hanno confermato su una casistica italiana casocontrollo che l'allele E4 aumenta il rischio di sviluppare la malattia. (Licastro et al. Apolipoprotein E and alpha-1-antichymotrypsin allele polymorphism in sporadic and familial Alzheimer's disease. Neurosci Letter 1999)

IDROSSI-METIL-GLUTARIL- COENZIMA A REDUTTASI. L'idrossi-metil-glutaril-coenzima A reduttasi (HMGCR) è un gene che codifica per l'omonima proteina fondamentale per la sintesi del colesterolo. È ricordato precedentemente che elevati livelli di colesterolo sono un fattore di rischio per le malattie cardiovascolari, poiché predispongono alla formazione delle lesioni aterosclerotiche. È interessante notare che data la sua posizione strategica nella catena biosintetica che porta alla sintesi di colesterolo, l'HMGCR è anche il target farmacologico delle statine, una famiglia di farmaci che, inibendone l'azione enzimatica, abbassano i livelli ematici di colesterolo. Studi epidemiologici hanno riportato un'associazione negativa tra l'uso di statine e rischio di sviluppare la DA. In altre parole l'incidenza della demenza era più bassa nei soggetti che usavano questi farmaci. Queste osservazioni hanno quindi promosso altre indagini sul potenziale ruolo di HMGCR nello sviluppo della malattia. Inoltre tali studi hanno anche dimostrato una possibile associazione dei livelli di colesterolo serico e malattia di Alzheimer; infatti l'aumento di tali livelli è associato ad un aumento della suscettibilità alla malattia. Sulla base di queste osservazioni abbiamo studiato un polimorfismo nella regione promotrice del gene HMGCR in posizione -911 che consiste nella sostituzione di una citosina (C) con un'adenina (A). Questo polimorfismo è stato studiato in un'ampia coorte di pazienti con probabile malattia di Alzheimer ed è risultato essere associato ad un aumentato rischio di sviluppare la malattia e ad una progressione più veloce della stessa. (Porcellini et al. The HMGCR promoter polymorphism is associated with Alzheimer's risk and cognitive deterioration. Mech Aging Develop, 2006 submitted; Chiappelli et al. Impaired regulation of immune responses in cognitive decline and Alzheimer's disease: lesson from genetic association studies. Expert Rev Neurotherapeutics) .

VASCULAR ENDOTHELIAL GROWTH FACTOR. Il fattore di vascolare crescita endoteliale (vascular endothelial growth factor, VEGF) è un gene situato sul cromosoma 6 e codifica per la proteina omonima, una molecola in grado di promuovere la formazione di nuovi vasi, fenomeno definito neoangiogenesi. In qualsiasi tipo di processo angiogenetico si ha l'attivazione delle cellule endoteliali, le cellule che formano la parete del vaso sanguigno, che, a seguito di una carenza o assenza di ossigeno iniziano a rilasciare diversi fattori in grado di mediare segnali cellulari vitali per l'organismo. Il VEGF è fondamentale sia nella regolazione dell'angiogenesi fisiologica che di quella patologica, poiché è prodotto anche dalle cellule neoplastiche di alcuni tipi di tumore, quando si trovano in stato di forte ipossia. Il VEGF provoca l'aumento della permeabilità vascolare, il rilascio di proteasi, enzimi in grado di "tagliare" le proteine, importanti per l'invasione cellulare e il rimodellamento dei tessuti. E' anche in grado di prevenire l'apoptosi, cioè il suicidio programmato, di diversi tipi cellulari. E' stato recentemente suggerito che la Malattia di Alzheimer potrebbe essere un disordine angiogenesi-dipendente in quanto un'attivazione endoteliale anormale potrebbe essere responsabile della deposizione amiloide e della morte neuronale. Infatti è stata dimostrata la presenza di anomalie nelle funzioni vascolari cerebrali. Altri studi hanno dimostrato anche una funzione neuroprotettiva del VEGF in quanto stimola la sopravvivenza neuronale, la crescita, rigenerazione e differenziazione degli assoni. In più, il VEGF ha una concentrazione più elevata nella neurocorteccia dei pazienti affetti da DA rispetto ai soggetti sani e questo gene è espresso dagli astrociti e dalle cellule endoteliali che circondano le placche amiloidi presenti nel cervello dei pazienti affetti. Recentemente è stato trovato un polimorfismo presente nel promotore del VEGF in posizione -2578 che consiste nella sostituzione di una citosina (C) con un'adenina (A). Uno studio condotto su un'ampia popolazione di pazienti affetti dalla malattia, su un gruppo di pazienti non ancora affetti da Alzheimer ma con disfunzioni cognitive (MCI =mild cognitive impairment; soggetti con alterazioni cognitive lievi) e su un gruppo di soggetti sani di controllo ha dimostrato che questo polimorfismo nella popolazione italiana è associato ad un maggior rischio di sviluppare la malattia. Inoltre, prima che la demenza si manifestasse si è osservato che tale polimorfismo del VEGF era associato ad un maggior rischio di decadimento cognitivo e di conversione ad Alzheimer nei pazienti con MCI. (M. Chiappelli et al. VEGF gene and phenotype relation with Alzheimer's disease and mild cognitive impairment. *Renjuvanation Res*, 2006).

CONCLUSIONI

I polimorfismi fin qui descritti sono stati trovati associati ad un aumentato rischio di demenza senile. Vi sono molti altri polimorfismi su altri geni che sono stati descritti in associazione con la malattia. Molti di questi sono stati anche studiati durante le ricerche svolte negli anni passati. Abbiamo selezionato questo gruppo di geni e polimorfismi in base alla nostra pluriennale esperienza clinica e di ricerca. Inoltre questo gruppo di polimorfismi é stato specificamente testato su un'ampia popolazione di pazienti con DA e di soggetti di controllo comparabili per sesso ed età, applicando una comparazione statistica appropriata e modelli statistici diversi.

Questa comparazione statistica ha permesso di elaborare i dati ottenuti su tutti i polimorfismi in oggetto e ha dato risultati sulla importanza relativa di ciascun polimorfismo nel rischio di DA (Licastro et al., Genetic risk profile for Alzheimer's disease: integration of APOE genotype and variants that up regulates inflammation Neurobiol Aging, 2006).

Questo approccio integrato ha permesso l'identificazione di un profilo di rischio pro-infiammatorio associato alla demenza e al decadimento cognitivo che si basa sui 7 polimorfismi che sono stati sopra brevemente descritti e fanno parte della determinazione del livello di rischio individuale che é determinato tramite il referto di rischio genetico pro-infiammatorio associato alla DA e al decadimento cognitivo.

DESCRIZIONE DEL TEST PREDITTIVO DI RISCHIO DI DECADIMENTO COGNITIVO E DEMENZA.

Il test si avvale delle più avanzate tecniche della biologia molecolare (PCR Real-Time) per l'identificazione dei polimorfismi genetici individuali. La procedura di campionamento del DNA si basa sul prelievo di cellule di sfaldamento della mucosa orale effettuato mediante sfregamento di un'apposita spazzola (buccal swab) sulle pareti interne della bocca. Questo tipo di prelievo presenta numerosi vantaggi è assolutamente indolore, semplice da effettuare (può essere effettuato direttamente a domicilio), e può essere inviato direttamente ai nostri laboratori senza la necessità di utilizzare accorgimenti particolari per la conservazione.

Per rendere semplice il prelievo di cellule di sfaldamento della mucosa orale si è messo a punto una semplice procedura che prevede la consegna al soggetto che richiede la determinazione del test genetico del seguente materiale: 1) materiale informativo sul test; 2) un modulo per il consenso informato; 3) un semplice foglio di istruzioni per l'esecuzione del prelievo di cellule della mucosa orale; 4) una spazzola per il prelievo; 5) una busta per l'invio del campione.

Per informazioni:

A.M.I.A. www.assomediciantiaging.com Via Monte Cristallo 1

20159 – Milano

Tel. (mattino) +39 02.6883206

In coll. con Università di Milano, Bologna, Ferrara, Pavia, Palermo, Catania

Bibliografia essenziale riguardanti gli studi sullo sviluppo del test genetico proposto:

1. Licastro F., Pedrini S., Govoni M., Pession A., Ferri C., Annoni G., Casadei V., Veglia F., Bertolini S., Grimaldi L.M.E. APOLIPOPROTEIN E AND α -1-ANTICHYMOTRYPSIN ALLELE POLYMORPHISM IN SPORADIC AND FAMILIAL ALZHEIMER'S DISEASE. *Neurosci Letters* 270, 129-132, 1999.
2. Licastro F., Campbell IL., Kinkaid C., Veinberg I., VanUden E., Rokestein E., Gilbert JR., Masliah E. A ROLE FOR APOE IN REGULATING THE LEVELS OF α -1-ANTICHYMOTRYPSIN IN THE AGING MOUSE BRAIN AND IN ALZHEIMER'S DISEASE. *Am. J. Pathol.*, 155, 969-875, 1999.
3. Grimaldi L.M.E., Casadei V., Ferri C., Veglia F., Licastro F., Annoni G., Biunno I., De Bellis G., Sorbi S., Mariani C., Canal N., Griffin W.S.T., Franceschi M. ASSOCIATION OF EARLY-ONSET ALZHEIMER'S DISEASE WITH AN INTERLEUKIN-1 α GENE POLYMORPHISM. *Ann. Neurol.* 47, 361-365, 2000.
4. Licastro F., Pedrini S., Ferri C., Casadei V., Govoni M., Pession A., Sciacca F.L., Veglia F., Annoni G., Bonafé M., Olivieri F., Franceschi C., Grimaldi L.M.E. GENE POLYMORPHISM AFFECTING ALPHA-1-ANTICHYMOTRYPSIN AND INTERLEUKIN-1 PLASMA LEVELS INCREASES ALZHEIMER'S DISEASE RISK. *Ann. Neurol.* 48, 388-391, 2000.
5. Licastro F. GENETIC BACKGROUND OF INFLAMMATORY MOLECULES AFFECTS PROTEIN EXPRESSION, THE RISK OF DEVELOPING ALZHEIMER'S DISEASE AND COGNITIVE DECLINE. *Arch. Geront. Geriatr.* 33, 227-234, 2001.
6. Franceschi C., Valensin S., Lescai F., Olivieri F., Licastro F., Grimaldi L.M. E, Monti D., De Benedictis G., Bonafè M. NEUROINFLAMMATION AND THE GENETICS OF ALZHEIMER'S DISEASE: THE SEARCH FOR A PRO-INFLAMMATORY PHENOTYPE. *Aging Clin. Exp. Res. (Milano)*. 13,163-170, 2001.
7. Morgan K., Licastro F., Tilley L., Rithie A., Morgan L., Pedrini S., Kalsheker N. POLYMORPHISM IN THE ALPHA1-ANTICHYMOTRYPSIN (ACT) GENE PROMOTER: EFFECT ON THE EXPRESSION IN TRAFECTED GLIAL AND LIVER CELL LINES AND PLASMA ACT CONCENTRATIONS. *Hum.Genetics*.109, 303-310, 2001.
8. Licastro F. GENOMICS OF IMMUNE MOLECULES: EARLY DETECTION OF COGNITIVE DECLINE AND NEW THERAPEUTIC INTERVENTIONS. *Expert Rev. Neurotherapeutics*. 2, 639-645, 2002.
9. Licastro F., Chiappelli M. BRAIN IMMUNE RESPONSES COGNITIVE DECLINE AND DEMENTIA:RELATIONSHIP WITH PHENOTYPE EXPRESSION AND GENETIC BACKGROUND. *Mech. Aging Develop.* 124, 539-548, 2003.
10. Lio D., Licastro F., Scola L., Chiappelli M., Grimaldi L.M., Crivello A., Colonna-Romano G., Candore G., Franceschi C., Caruso C. INTERLEUKIN-10 PROMOTER POLYMORPHISM IN SPORADIC ALZHEIMER'S DISEASE. *Genes and Immunity*, 4, 234-238, 2003.

11. Licastro F., Grimaldi L.M.E., Bonafè M., Martina C., Olivieri F., Cavallone L., Giovanietti S., Masliah E., Franceschi C. INTERLEUKIN-6 GENE ALLELES AFFECT THE RISK OF ALZHEIMER'S DISEASE AND LEVELS OF THE CYTOKINE IN BLOOD AND BRAIN. *Neurobiol. Aging* 24,921-926, 2003.
12. Sciacca F.L., Ferri C., Licastro F., Veglia F., Biunno I., Gavazzi A., Calabrese E., Martinelli Boneschi F., Sorbi S., Mariani C., Franceschi M., Grimaldi L.M.E. INTERLEUKIN- 1B POLYMORPHISM IS ASSOCIATED WITH AGE AT ONSET OF ALZHEIMER'S DISEASE. *Neurobiol. Aging* 24, 927-931, 2003.
13. Caruso C., Franceschi C., Licastro F. GENETICS OF NEURODEGENERATIVE DISORDERS. (letter) *N. Engl. J. Med.* 349, 193-194, 2003.
14. Licastro F., Veglia F., Chiappelli M., Grimaldi L.M, Masliah E. A POLYMORPHISM OF THE INTERLEUKIN-1BETA GENE AT POSITION +3953 INFLUENCES PROGRESSION AND NEURO-PATHOLOGICAL HALLMARKS OF ALZHEIMER'S DISEASE. *Neurobiol. Aging* 25, 1017-1022, 2004.
15. Licastro F., Chiappelli M., Thal L.J., Masliah E. ALPHA-1-ANTICHYMOTRYPSIN POLYMORPHISM IN THE PROMOTER REGION AFFECTS SURVIVAL AND SYNAPSIS LOSS IN ALZHEIMER'S DISEASE. *Arch. Geront. Geriatr. Suppl.*9, 243-251, 2004.
16. Licastro F., Chiappelli M., Grimaldi L.M.E., Morgan K., Kalsheker N., Calabrese E., Ritchie A., Porcellini E., Salani G., Franceschi M., Canal N. A NEW PROMOTER POLYMORPHISM IN THE ALPHA-1-ANTICHYMOTRYPSIN GENE IS A DISEASE MODIFIER OF ALZHEIMER'S DISEASE. *Neurobiol. Aging* 26, 449-453, 2005.
17. Licastro F., Candore G Lio D., Porcellini E., Colonna-Romano G., Franceschi C., Caruso C. NON ADAPTIVE IMMUNITY AND AGEING: A KEY FOR UNDERSTANDING AGE-RELATED DISEASES. *Immunity and Ageing.* May. 2005.18, 8, PMID 15904534.
18. Ravaglia G., Forti P., Maioli F., Martelli M., Montesi F., Bastagli L., Bianchin M., Chiappelli M., Tumini E., Bolondi L., Licastro F. INTERLEUKIN-1BETA AND INTERLEUKIN-6 GENE POLYMORPHISM AS A RISK FACTORS FOR AD: A PROSPECTIVE STUDY. *Exp Gerontol* 41(1), 85-92, 2006.
19. Chiappelli M., Nasi M., Cossarizza A., Porcellini E., Tumini E., Pinti M., Troiano L., Franceschi M., Licastro F. POLYMORPHISMS OF FAS GENE: RELATIONSHIP WITH ALZHEIMER'S DISEASE AND COGNITIVE DECLINE. *Dementia and Geriatr Cogn Dis* 22, 296-300, 2006.
20. Chiappelli M., Tumini E., Porcellini E., Licastro F. IMPAIRED REGULATION OF IMMUNE RESPONSE IN COGNITIVE DECLINE AND ALZHEIMER'S DISEASE: LESSONS FROM GENETIC ASSOCIATION STUDIES. *Expert Rev Neurotherapeutics* 1327- 1336, 2006.
21. Chiappelli M., Borroni B., Archetti S., Calabrese E, Corsi MM., Francesch M., Padovani A., Licastro F. VEGF GENE AND PHENOTYPE RELATION WITH ALZHEIMER'S DISEASE AND MILD COGNITIVE IMPAIRMENT. *Rejuvenation. Res* 9, 485-493, 2006.

22. Licastro F., Porcellini E., Caruso C., Lio D., Corder EH. GENTIC RISK PROFILE FOR ALZHEIMER'S DISEASE: INTEGRATION OF APOE GENOTYPE AND VARIANTS THAT UP REGULATE INFLAMMATION. *Neurobiol Aging* Aug. 28,1637-1643, 2007.
23. Candore C., Balistreri C.R., Grimaldi M.P., Listi F.,Vasto S., Chiappelli M., Licastro F., Colonna-Romano G., Lio D., Caruso C. POLYMORPHISMS OF PRO-INFLAMMATORY GENES AND ALZHEIMER'S DISEASE RISK: A PHARMACOGENOMIC APPROACH. *Mech Ageing Dev* 128(1): 67-75, 2007.
24. Porcellini E., Calabrese E., Guerini F., Covoni M., Chiappelli M., Tumini E., Morgan K., Chappell S., Kalsheker N., Licastro F. THE HYDROXY-METHYL-GLUTARYL CoA REDUCTASE PROMOTER POLYMORPHISM IS ASSOCIATED WITH ALZHEIMER'S RISK AND COGNITIVE DETERIORATION. *Neurosci lett.* 416,66-70,2007.
25. Licastro F, Porcellini E, Chiappelli M, Forti P, Buscema M, Ravaglia G, Grossi E. MULTIVARIABLE NETWORK ASSOCIATED WITH COGNITIVE DECLINE AND DEMENTIA. *Neurobiol Aging*. In press, 2008.