

Stefano Govoni, Emanuela Porrello, Marco Racchi

Dipartimento di Farmacologia Sperimentale e Applicata, Università di Pavia

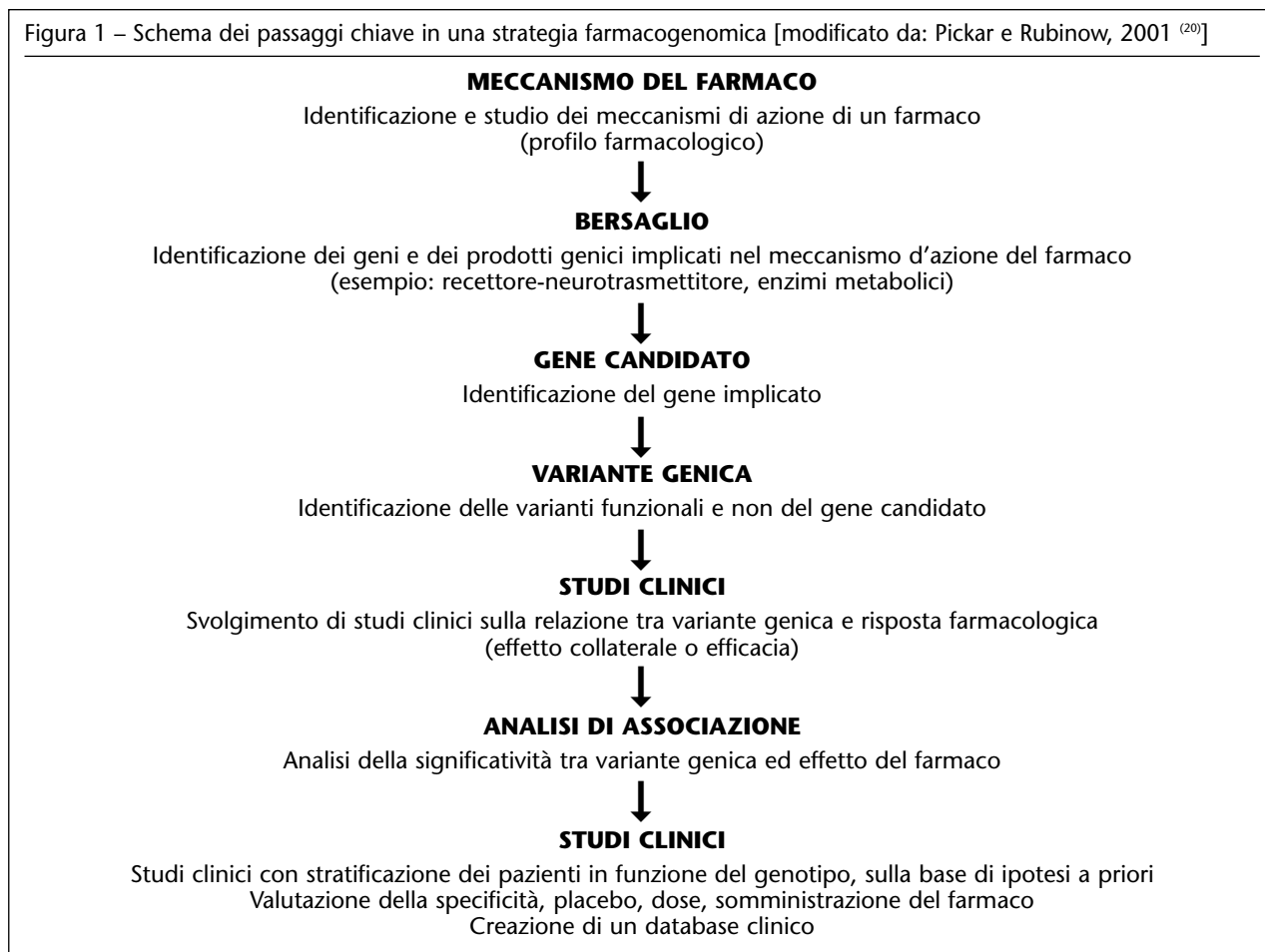
Farmacogenetica e farmacogenomica delle demenze

I progressi fatti negli ultimi anni, grazie all'evoluzione del Progetto Genoma Umano e alla sempre più avanzata evoluzione delle tecniche e degli strumenti della biologia molecolare, hanno portato all'elaborazione di numerose ipotesi patogenetiche per molte malattie neurodegenerative. Sulla base delle conoscenze derivate dalle informazioni genetiche sui meccanismi patogenetici sono state già avviate sperimentazioni cliniche e in questo contesto la genetica sta assumendo un ruolo sempre più significativo. Si tratta del contesto della farmacogenetica e della farmacogenomica, termini spesso interscambiabili ma che si intersecano rispetto allo sfrutta-

mento delle conoscenze genetiche che riguardano l'eziopatogenesi di una malattia o il meccanismo d'azione o la farmacocinetica di una molecola terapeutica.

Dal punto di vista dell'applicabilità futura, l'importanza della farmacogenetica e della farmacogenomica consiste nella possibilità di usare le informazioni genetiche per guidare la terapia e migliorare l'efficienza dei farmaci disponibili. La strategia farmacogenetica/farmacogenomica può assumere diversi connotati; uno tra questi (Figura 1) prevede una caratterizzazione molecolare precisa dell'effetto di un farmaco e prosegue con lo studio di tutti i geni coinvolti

Figura 1 – Schema dei passaggi chiave in una strategia farmacogenomica [modificato da: Pickar e Rubinow, 2001 ⁽²⁰⁾]



nella risposta dell'organismo a tale farmaco. Da questo ci si aspetta di identificare uno o più geni candidati che siano associati al meccanismo patogenetico della malattia o identificati come fattori di rischio per la stessa. Queste potenziali associazioni (farmaco-gene) devono quindi essere studiate in opportune sperimentazioni cliniche. È possibile anche un approccio diverso nel quale l'identificazione di un fattore di rischio genetico o di un gene causativo per la malattia determinino l'elaborazione di una strategia terapeutica che a sua volta deve essere saggiata in una sperimentazione clinica controllata tenendo presente la gerarchia degli eventi studiati. Per diverse patologie neurodegenerative esistono indicazioni significative sia per quanto riguarda geni (e mutazioni di tali geni) associati a forme autosomiche dominanti, sia per quanto riguarda geni associati alla patologia come fattori di rischio. In quest'ultimo caso la caratteristica sporadica della malattia non può escludere una componente genetica complessa e fattori ambientali che influenzano gli eventi patogenetici e le variazioni fenotipiche della malattia e, non da ultimo, la risposta ai trattamenti terapeutici.

Nel loro complesso le patologie dementigene stanno risentendo (anche se ancora limitatamente) dei progressi della genetica applicati alla farmacoterapia e in questa rassegna si cercherà di razionalizzare alcune delle conoscenze e informazioni genetiche acquisite rispetto alle terapie in atto e alle strategie terapeutiche in corso di sperimentazione.

MALATTIA DI ALZHEIMER

La malattia d'Alzheimer (AD) è la patologia dementigena più comune della società occidentale, caratterizzata da un progressivo declino delle capacità cognitive e demenza. La neuropatologia riconosce due marcatori diagnostici come le placche senili e i gomitoli neurofibrillari.

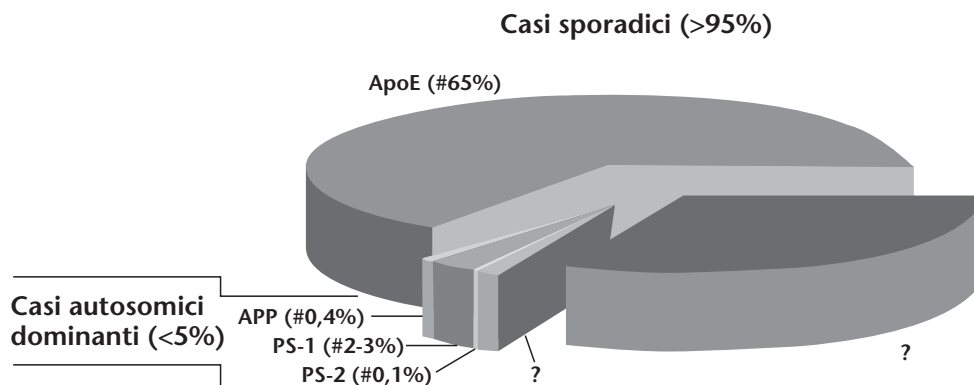
La comunità scientifica non è concorde ma una delle ipotesi patogenetiche più accreditate indica nel peptide β -amiloide (A β) (che è il costituente principale delle placche senili) la causa della degenerazione neuronale che porta a demenza.

Tra le variabili cliniche che caratterizzano i diversi fenotipi della malattia l'età di esordio permette di classificare le forme di AD a esordio precoce (prima dei 65 anni) e le forme a esordio tardivo (dopo i 65 anni) che sono quelle più comuni.

Nella maggior parte dei casi la malattia è di tipo sporadico con esordio tardivo anche se tali casi talvolta dimostrano una limitata storia di demenza familiare ⁽¹⁾, suggerendo che i membri di queste famiglie hanno fattori genetici o ambientali in comune.

Le forme a esordio precoce sono più rare e si presentano con caratteristiche tipiche di trasmissione ereditaria di tipo autosomico dominante: si parla in questo caso di Alzheimer familiare di tipo autosomico dominante (FAD, Familial Alzheimer's Disease) (Figura 2).

Figura 2 - Distribuzione delle forme di AD e dei loro relativi fattori genetici di suscettibilità [modificato da: Richard e Amouyel, 2001 ⁽⁶⁵⁾]



La genetica delle forme sporadiche a esordio tardivo

Nonostante l'assenza di evidenti caratteristiche di trasmissione genetica della malattia, nelle forme a esordio tardivo sono noti e sono stati indagati molti geni che conferiscono suscettibilità. In alcuni casi, come vedremo, tali geni sono stati studiati anche in funzione delle applicazioni terapeutiche presenti e future.

ApoE

Grazie a studi di linkage genetico è stato possibile determinare la presenza di un locus di suscettibilità per l'AD, localizzato sul cromosoma 19q12-q13 ⁽²⁾. Successive analisi hanno identificato questo gene in apolipoproteina E (apoE) ⁽³⁾.

Il gene apoE codifica una proteina di 299 aminoacidi, apolipoproteina E, implicata nella regolazione del metabolismo del colesterolo e dei trigliceridi. Essa è sintetizzata nel sistema nervoso centrale e tramite analisi immunoistochimica è stata osservata nelle placche senili in cervelli di pazienti AD ⁽⁴⁾.

Il gene apoE possiede tre differenti alleli polimorfici denominati $\epsilon 2$, $\epsilon 3$ ed $\epsilon 4$, le cui frequenze nella popolazione caucasica sono rispettivamente 10%, 75% e 15%. Il confronto tra le frequenze della popolazione controllo e dei pazienti AD ha mostrato che c'è un aumento della frequenza dell'allele $\epsilon 4$ in pazienti AD di circa il 40% ⁽⁵⁾ e che la presenza dell'allele apoE $\epsilon 4$ è associata al declino cognitivo correlato all'età ⁽⁶⁾. Questa associazione tra $\epsilon 4$ e AD è stata confermata in numerosi studi e in differenti gruppi etnici ⁽⁷⁾. Viceversa, è stato determinato un effetto protettivo dell'allele apoE $\epsilon 2$ in pazienti AD ^(8,9).

Un'altro polimorfismo di un singolo nucleotide in posizione -491 nel promotore del gene di apoE è stato associato con un incremento del rischio di AD ⁽¹⁰⁾. L'effetto di questo polimorfismo sembra essere indipendente da apoE $\epsilon 4$, ma è legato a un aumento nel livello plasmatico di apoE ⁽¹¹⁾. Questi ultimi dati dovranno essere ulteriormente investigati in quanto non sono stati confermati da altri autori ^(12,13).

Non si conosce completamente il ruolo patogenetico di apoE nel cervello Alzheimer. Sono state ipotizzate diverse teorie: apoE potrebbe fa-

vorire la deposizione di β -amiloide nelle placche, mentre altri ritengono che apoE possa avere un ruolo nella clearance di β -amiloide. Infine, poiché la funzione principale di apoE è il trasporto di lipidi, questo comporterebbe un'implicazione rilevante nel meccanismo di riparazione cellulare in pazienti AD, ove lo scambio di lipidi e le attività membranali sono compromesse.

Il ruolo significativo di apoE4 è stato sfruttato per i primi studi di farmacogenetica condotti in una patologia dementigena.

Nonostante l'espansione delle conoscenze sulla patogenesi, la cura della malattia è limitata all'utilizzo di inibitori della colinesterasi e su questo tipo di trattamento e l'incrocio con il substrato genetico è stato analizzato il ruolo farmacogenomico di apoE. È stato suggerito che i pazienti AD che possiedono l'allele apoE $\epsilon 4$ abbiano difetti colinergici maggiori rispetto a pazienti con altre isoforme di apoE. Sulla base di queste osservazioni sarebbe plausibile osservare differenze nelle risposte alle terapie colinergiche in funzione del genotipo apoE. Quest'ipotesi è stata saggiata da Poirier e collaboratori ⁽¹⁴⁾ in pazienti trattati con tacrina e i risultati sembrano suggerire che i soggetti portatori di apoE4 siano meno responsivi alla terapia. L'indicazione iniziale è stata confermata da Farlow et al. ⁽¹⁵⁾ dimostrando ulteriormente che esiste anche un effetto di sesso nella risposta alla terapia farmacologica (le donne portatrici di apoE4 rispondono peggio).

Altri tre inibitori della colinesterasi - donepezil, metrifonato, e galantamina - sono stati saggiati in pazienti AD, ma non sono stati osservati effetti dipendenti dal genotipo apoE ⁽¹⁶⁻¹⁹⁾.

Oltre a questi citati, molti altri studi hanno cercato un'indicazione definitiva per la caratterizzazione farmacogenomica del rapporto tra terapia colinergica e apoE (per una rassegna si veda Pickar e Rubinow, 2001 ⁽²⁰⁾) e, pur senza conclusioni che influenzino la pratica clinica, viene suggerita la riduzione dell'efficacia della terapia colinergica nei pazienti portatori di apoE4.

Oltre apoE verso altri geni di suscettibilità e influenza farmacogenetica

Oltre ad apoE sono stati identificati diversi geni di suscettibilità che influenzano l'esordio e il decorso della malattia e che potrebbero in-

fluenzare la risposta a terapie correnti o in corso di sviluppo o alternativamente (secondo un principio di strategia farmacogenetica/farmacogenomica) indirizzare la ricerca verso nuove strategie terapeutiche.

Recettore degli estrogeni - L'utilizzo pregresso di estrogeni (come terapia ormonale in donne post-menopausa) è stato indicato come un fattore protettivo rispetto all'esordio della malattia ⁽²¹⁾ con una componente associata al genotipo apoE. Infatti, il loro uso in pazienti AD/apoE ε4 si associa a un rischio relativamente basso nello sviluppo della malattia, suggerendo un possibile effetto benefico nella prevenzione della malattia a esordio precoce ⁽²²⁾. Inoltre un polimorfismo nel recettore degli estrogeni di tipo α è associato con un rischio più elevato dello sviluppo della malattia a esordio tardivo con una componente additiva rispetto al genotipo apoE4 ⁽²³⁾. Queste indicazioni, in parte su base genetica, indicano una via di razionalizzazione delle strategie terapeutiche con utilizzo di ormoni (Tabella 1), strategie che vanno perseguite anche in un'ottica farmacogenomica mirata a individuare gli individui che (in base al sub-

strato genetico) saranno maggiormente propensi a rispondere alla terapia.

α1-antichimotripsina e interleuchina 1β - L'α1-antichimotripsina (ACT), localizzata nei depositi amiloidi nei cervelli di pazienti AD, è un inibitore delle proteasi ⁽²⁴⁾. Un polimorfismo nella regione codificante il segnale peptidico del gene ACT conferisce alto rischio di AD ⁽²⁵⁾. Il rilascio di ACT nel cervello di pazienti AD può provocare da una parte una reazione di infiammazione secondaria locale ⁽²⁶⁾ e dall'altra può contribuire o all'aumento dell'aggregazione della proteina β-amiloide ⁽²⁷⁾ o ostacolare la sua degradazione ⁽²⁸⁾.

Dati recenti suggeriscono che il polimorfismo di ACT può aumentare il rischio di AD a esordio precoce e tale effetto sembra aumentare in concomitanza col polimorfismo del gene dell'interleuchina 1β ⁽²⁹⁾.

Il polimorfismo analizzato per il gene interleuchina 1 propone, come visto in precedenza per il recettore degli estrogeni, future indicazioni sull'uso di farmaci antinfiammatori o antagonisti del recettore per interleuchina 1 nell'AD (Tabella 1).

Tabella 1 – Prospettive di trattamento farmacologico e strategie terapeutiche basate sull'interpretazione delle conoscenze genetiche sull'AD [modificato da: Maimone et al, 2001 ⁽⁶⁶⁾]

Geni	Terapie
<i>Variazioni genotipiche e terapie corrispettive</i>	
Precursore della proteina amiloide	Immunizzazione con proteina β-amiloide, anticorpi contro la proteina β-amiloide, inibitori di β- e γ-secretasi, stimolanti di α-secretasi
Presenilina 1	Immunizzazione con proteina β-amiloide, anticorpi contro la proteina β-amiloide, inibitori di γ-secretasi
Interluchina 1α/β	Farmaci antinfiammatori (ibuprofene, inibitori ciclossigenasi-2)
α1-antichimotripsina	Farmaci antinfiammatori (ibuprofene, inibitori ciclossigenasi-2), recettori antagonisti dell'interluchina 1
Proteina correlata per il recettore delle lipoproteine	Statine
Enzima di conversione dell'angiotensina	Inibitori di ACE
Recettore degli estrogeni α	Estrogeni
Fattori neurotrofici o recettori dei fattori neurotrofici	Fattori neurotrofici esogeni o trasfettati (NGF, BDNF, IGF-1, neurotrofina, AIT-082)
Geni relativi all'apoptosi	Farmaci antiapoptotici, inibitori delle caspasi
<i>Variazioni genotipiche e terapie potenziali</i>	
Recettori muscarinici	Inibitori dell'acetilcolinesterasi
Apolipoproteina E	Inibitori dell'acetilcolinesterasi

Proteina correlata al recettore delle lipoproteine o LRP - LRP, appartenente alla superfamiglia dei recettori delle lipoproteine a bassa densità, è presente nelle placche senili e interagisce con molti ligandi simili ad apoE, APP, α 2-macroglobulina⁽³⁰⁾. Il gene LRP possiede un tetranucleotide ripetuto (TTTC)_n polimorfico in grado di generare quattro differenti alleli: due alleli frequenti di 91 e 87 paia di basi (bp) e due alleli rari di 95 e 83 bp. Un'associazione tra l'allele di 87 bp e un aumentato rischio di AD a esordio tardivo è stata riportata per una popolazione caucasica⁽³¹⁾; invece, in due popolazioni europee, è stato trovato un arricchimento dell'allele 91 in pazienti AD confrontati con gruppi di controllo^(32,33).

Diversi autori hanno descritto un altro polimorfismo localizzato nell'esone 3 del gene LRP associabile a un aumento del rischio di FAD⁽³⁴⁻³⁶⁾.

Se confermati, questi dati potrebbero trovare implicazioni terapeutiche. LRP, infatti, è anche un recettore per il colesterolo e studi in vitro mostrano che una riduzione dei livelli di colesterolo mediante statine o ciclodestrine inibisce la produzione della proteina β -amiloide in colture di neuroni di ippocampo⁽³⁷⁾. Quindi l'uso delle statine può essere considerato un trattamento potenziale per pazienti AD portatori di determinati genotipi LRP (Tabella 1).

Forme di AD a carattere familiare autosomiche dominanti (FAD)

Fino a oggi, sono stati identificati tre importanti loci genetici per casi di FAD. Il gene del precursore della proteina amiloide (APP) sul cromosoma 21⁽³⁸⁾, il gene della presenilina 1 (PS-1) sul cromosoma 14⁽³⁹⁾ e il gene della presenilina 2 (PS-2) sul cromosoma 1⁽⁴⁰⁾.

APP

Il gene APP codifica una proteina transmembrana il cui metabolismo proteolitico è opera di tre secretasi. La prima, detta α -secretasi taglia all'interno della sequenza A β liberando nell'ambiente extracellulare un grosso frammento solubile sAPP α e lasciando ancorato alla membrana un piccolo frammento di 10kDa (α CTF). Quest'attività proteolitica previene la formazione di frammenti amiloidogenici (A β) e costituisce la via non amiloidogenica. In alternativa,

l'azione combinata o sequenziale di β - e γ -secretasi libera nel mezzo extracellulare il peptide β -amiloide promovendo la via amiloidogenica. La β -secretasi produce un frammento c-terminale sAPP β di circa 12kDa; successivamente, il frammento transmembrana diviene substrato di γ -secretasi, che porta alternativamente alla formazione di peptidi a 40 o 42 aminoacidi (A β 1-40 o A β 1-42)⁽⁴¹⁾.

Almeno sette differenti mutazioni del gene APP causano forme familiari di AD a esordio precoce⁽⁴²⁾. Esse sono tutte mutazioni che danno origine alla sostituzione di un singolo aminoacido, localizzate a livello dei siti di taglio delle α -, β -, γ -secretasi. Queste mutazioni alterano la proteolisi normale di APP producendo nel cervello di pazienti AD un incremento del deposito extracellulare di A β (A β 40 e A β 42) o solo di A β 42⁽⁴³⁾ con conseguente morte apoptotica delle cellule nervose.

I frammenti amiloidogenici c-terminali di APP, che sono simili a quelli prodotti dal taglio delle β -secretasi, sono tossici in vitro e causano neurodegenerazione in vivo⁽⁴⁴⁻⁴⁷⁾. Non è chiaro come questi frammenti possano coinvolgere l'apoptosi neuronale causata da mutanti di APP in FAD.

PS-1 e PS-2

Il gene PS-1 codifica una proteina di 467 aminoacidi, costituita da otto domini transmembrana. Questa proteina è tradotta a bassi livelli in vari distretti cellulari, sia nel sistema nervoso centrale, sia nei tessuti periferici. La funzione di PS-1 non è interamente conosciuta. Essa sembra coinvolta nel traffico proteico e di membrana e nella regolazione della traduzione del segnale intracellulare durante lo sviluppo⁽¹³⁾.

Sono state determinate più di 60 mutazioni nel gene PS-1 associate a FAD e la maggior parte di esse sono mutazioni missenso, localizzate in modo predominante nei domini transmembrana altamente conservati⁽³⁹⁾.

Molte di queste mutazioni sono altamente penetranti (le persone con mutazione sviluppano inevitabilmente la malattia), ma vi sono anche delle eccezioni⁽⁴⁸⁾. L'età di esordio della malattia in famiglie con mutazioni di PS-1 non è correlata con il genotipo di apoE⁽⁴⁹⁾, nonostante comunicazioni a congressi che

sembrano indicare in questo contesto un effetto protettivo di apoE ε2.

Il gene PS-2 codifica una proteina di 448 aminoacidi, avente una omologia di sequenza del 67% con la proteina PS-1. A differenza di PS-1, PS-2 è espressa nel muscolo cardiaco, scheletrico e nel pancreas. Studi di linkage genetico hanno permesso di identificare inizialmente due differenti mutazioni missenso nel gene PS-2 in FAD. La prima mutazione appartiene a una famiglia tedesca del Volga^(50,51), mentre la seconda è stata scoperta in una famiglia italiana⁽⁵¹⁾. Contrariamente alla frequenza di mutazione di PS-1, screening su ampia scala rilevano che le mutazioni di PS-2 sono rare e ad oggi si è arrivati a quattro distinte mutazioni.

La funzione di PS-2 non è conosciuta, ma alcuni dati suggeriscono che PS-2 insieme a PS-1 è implicata nella differenziazione neuronale durante la neurogenesi⁽⁵²⁾ e nella crescita dei neuriti⁽⁵³⁾.

In letteratura vi sono vari consensi sull'ipotesi che mutazioni missenso dei geni di APP, PS-1 e PS-2 possano portare a un meccanismo patogenetico comune: l'alterazione del metabolismo di APP, provocando così l'accumulo della proteina β-amiloide. Sulla base di queste osservazioni si fonda l'ipotesi della cascata amiloide della malattia di Alzheimer, applicabile anche alle forme sporadiche, ed è stata recentemente sperimentata una strategia di immunizzazione, che ha dato ottimi risultati nell'animale^(54,55) ma che aspetta conferma negli studi sull'uomo.

Sulle basi genetiche sopra indicate si fondano ancora una volta delle strategie farmacologiche (Tabella 1). Non vi sono ancora farmaci a disposizione, ma il settore di ricerca che si occupa di studiare inibitori per le proteasi che generano Aβ ovvero β- e γ-secretasi⁽⁵⁶⁾ sta vivendo una stagione di crescita esponenziale. Sarà necessario ancora qualche tempo per capire se queste strategie avranno futuro ma le basi razionali e sperimentali sono state ampiamente esplorate.

ALTRE FORME DI DEMENZA

Demenza vascolare

Famiglie affette da malattie cerebrovascolari

sono riportate in diversi paesi. La malattia multi-infartuale ereditaria appare con segni clinici in giovani e adulti di mezza età, di entrambi i sessi e culmina in demenza progressiva, preceduta da episodi di disturbi neurologici. La malattia viene ereditata in modo autosomico dominante e il locus genetico responsabile è stato mappato sul cromosoma 19q12⁽⁵⁷⁾. Successivamente è stato identificato il gene coinvolto, Notch3⁽⁵⁸⁾, che fa parte di una famiglia di recettori che innescano la cascata di trasduzione del segnale coinvolta nella neurogenesi.

Tra i geni che conferiscono rischio per la demenza vascolare è stato suggerito apoE nella sua forma allelica ε4. Frisoni et al.⁽⁵⁹⁾ hanno dimostrato un aumento nella frequenza allelica di apoE ε4 in modo simile a quanto osservato per pazienti AD, un dato che è consistente se si considera il ruolo importante di apoE come carrier di lipidi nel sistema nervoso centrale, nel quale svolgono un ruolo strutturale insostituibile.

In questo contesto il concetto di apoE come fattore necessario alla riparazione neuronale successiva al danno rende la variabilità genotipica associata ad apoE un probabile fattore di rischio per molte patologie neurodegenerative.

Inoltre, recentemente è stato osservato un polimorfismo nella regione regolatoria del gene TNF-α (fattore di necrosi tumorale delle citochine proinfiammatorie) che aumenta in maniera significativa il rischio di demenza vascolare e incrementa il rischio di AD associato con apoE⁽⁶⁰⁾. Sebbene siano necessarie ulteriori ricerche, questi dati suggeriscono un ruolo potenziale delle terapie antinfiammatorie anche nella demenza vascolare oltre che nell'Alzheimer.

Demenza a corpi di Lewy

La demenza a corpi di Lewy è la seconda causa di demenza dopo l'AD. Sotto il termine "demenza a corpi di Lewy" si includono diversi tipi di patologie neurodegenerative: malattia con corpi di Lewy diffusa (DLBD), demenza senile a corpi di Lewy (DLB), forme varianti di AD per presenza di corpi di Lewy (VADLB). Alcuni geni sono stati determinati come fattori di rischio: apoE e NOS2A. I dati

riguardanti il gene apoE sono controversi, alcuni autori hanno mostrato che l'allele apoE $\epsilon 4$ è sovraespresso in casi di VADLB, ma non in casi di DLB.

È stata analizzata la distribuzione allelica di un pentanucleotide ripetuto (CCTTT)_n all'interno della regione del gene NOS2A. Data la differenza significativa osservata nella distribuzione allelica tra gruppi di controllo e DLB, è stato suggerito che variazioni in questo gene possono predisporre allo sviluppo delle DLB⁽⁶¹⁾.

Poiché i corpi di Lewy sono indicatori neuropatologici anche nella malattia di Parkinson, le DLB potrebbero avere lo stesso fattore di rischio.

Demenza fronto-temporale

Una caratteristica clinica predominante nelle demenze fronto-temporali è la presenza di sintomi parkinsoniani, e per questo si utilizza l'acronimo FTDP-17 per definirle (demenza frontotemporale legata al Parkinson sul cromosoma 17).

Nella maggior parte dei casi familiari di FTDP-17, la causa è associabile a mutazioni altamente penetranti del gene Tau, localizzato sul cromosoma 17^(62,63).

Inoltre, è stato osservato che un polimorfismo intronico del gene Tau analizzato mediante l'analisi dei microsatelliti (sequenze di 2 o 3 bp ripetute frequentemente nel genoma), combinato con il genotipo apoE $\epsilon 4$, è un fattore di rischio per FTDP-17⁽⁶⁴⁾.

CONCLUSIONI

Al di là del valore euristico degli studi di genetica delle demenze, la loro applicabilità clinica è ancora molto limitata. Anche nel caso delle indagini sui geni che producono la malattia, le cui ricadute sembrerebbero più immediate, l'interpretazione del dato genetico (e la sua utilità) è limitata ai soli casi per i quali esiste una sicura storia di andamento familiare, ricordando che comunque in una grande percentuale di queste ultime forme non si riesce a individuare il gene responsabile. Inoltre, per la malattia non esistono ancora cure risolutive per cui, prima di condurre l'indagine oc-

corre esaminare con cura gli aspetti etici e di discussione preventiva e comunicazione col paziente, procedura che richiede strutture e personale ad hoc, al di là delle tecniche sperimentali di indagine oggi disponibili in molti laboratori.

Un discorso a parte meritano i numerosi geni di rischio segnalati in letteratura, in un proliferare di pubblicazioni delle quali è difficile aggiornare l'elenco. Si tratta di osservazioni spesso non ripetibili che vanno valutate con molta cautela. La mancata ripetibilità è dovuta a indagini condotte su piccoli numeri, al fatto che le popolazioni di pazienti osservate derivano da popolazioni con background genetici molto diversi (si pensi ad esempio alla popolazione di colore negli Stati Uniti o alle popolazioni asiatiche o alle differenze tra Nord e Sud Europa) o alle interazioni geni-ambiente, poco conosciute e difficili da esplorare sperimentalmente. Va sottolineato che i geni di rischio (anche apoE, sul quale esiste una mole di studi molto più ampia e consistente rispetto agli altri) non possono essere usati per la diagnosi della malattia.

Volendo concludere in modo positivo e senza vanificare la mole di lavoro che è condotta nei laboratori interessati, va sottolineato che i dati così generati sono utili a indirizzare il disegno di nuove strategie terapeutiche e, se vi sarà maggiore collaborazione e integrazione tra le varie banche di DNA, a costruire database di riferimento che meglio descrivano le complesse interazioni tra substrati genetici in relazione ai corretti background di riferimento.

BIBLIOGRAFIA

1. Frisoni GB, Trabucchi M. Clinical rationale of genetic testing in dementia. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1997; 62(3):217-221.
2. Pericak-Vance MA, Bebout JL, Gaskell PC Jr, et al. Linkage studies in familial Alzheimer disease: evidence for chromosome 19 linkage. *Am J Hum Genet* 1991; 48(6):1034-1050.
3. Strittmatter WJ, Saunders AM, Schmechel D, et al. Apolipoprotein E: high-avidity binding to beta-amyloid and increased frequency of type 4 allele in late-onset familial Alzheimer disease. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993; 90(5):1977-1981.
4. Namba Y, Tomonaga M, Kawasaki H, et al. Apolipoprotein E immunoreactivity in cerebral

- amyloid deposits and neurofibrillary tangles in Alzheimer's disease and kuru plaque amyloid in Creutzfeldt-Jakob disease. *Brain Res* 1991; 541(1):163-166.
5. Saunders AM, Strittmatter WJ, Schmechel D, et al. Association of apolipoprotein E allele epsilon 4 with late-onset familial and sporadic Alzheimer's disease. *Neurology* 1993; 43(8):1467-1472.
 6. Berr C, Dufouil C, Brousseau T, et al. Early effect of apoE-epsilon 4 allele on cognitive results in a group of highly performing subjects: the EVA study. *Etude sur le Vieillissement Arteriel. Neurosci Lett* 1996; 218(1):9-12.
 7. Roses AD, Saunders A. Head injury, amyloid beta and Alzheimer's disease. *Nat Med* 1995; 1(7):603-604.
 8. Chartier-Harlin MC, Parfitt M, Legrain S, et al. Apolipoprotein E, epsilon 4 allele as a major risk factor for sporadic early and late-onset forms of Alzheimer's disease: analysis of the 19q13.2 chromosomal region. *Hum Mol Genet* 1994; 3(4):569-574.
 9. Farrer LA, Cupples LA, Haines JL, et al. Effects of age, sex, and ethnicity on the association between apolipoprotein E genotype and Alzheimer disease. A meta-analysis. APOE and Alzheimer Disease Meta Analysis Consortium. *JAMA* 1997; 278(16):1349-1356.
 10. Bullido MJ, Artiga MJ, Recuero M, et al. A polymorphism in the regulatory region of APOE associated with risk for Alzheimer's dementia. *Nat Genet* 1998; 18(1):69-71.
 11. Laws SM, Taddei K, Martins G, et al. The -491AA polymorphism in the APOE gene is associated with increased plasma APOE levels in Alzheimer's disease. *Neuroreport* 1999; 10(4):879-882.
 12. Casadei VM, Ferri C, Veglia F, et al. APOE-491 promoter polymorphism is a risk factor for late-onset Alzheimer's disease. *Neurology* 1999; 53(8):1888-1889.
 13. St George-Hyslop PH. Molecular genetics of Alzheimer's disease. *Biol Psychiatry* 2000; 47(3):183-199.
 14. Poirier J, Delisle MC, Quirion R, et al. Apolipoprotein E4 allele as a predictor of cholinergic deficits and treatment outcome in Alzheimer disease. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995; 92(26):12260-12264.
 15. Farlow MR, Lahiri DK, Poirier J, et al. Treatment outcome of tacrine therapy depends on apolipoprotein genotype and gender of the subjects with Alzheimer's disease. *Neurology* 1998; 50(3):669-677.
 16. Farlow MR, Cyrus PA, Nadel A, et al. Mefenamic acid treatment of AD: influence of APOE genotype. *Neurology* 1999; 53(9):2010-2016.
 17. Greenberg SM, Tennis MK, Brown LB, et al. Donepezil therapy in clinical practice: a randomized crossover study. *Arch Neurol* 2000; 57(1):94-99.
 18. Raskind MA, Peskind ER, Wessel T, et al. Galantamine in AD: a 6-month randomized, placebo-controlled trial with a 6-month extension. The Galantamine USA-1 Study Group. *Neurology* 2000; 54(12):2261-2268.
 19. Tariot PN, Solomon PR, Morris JC, et al. A 5-month, randomized, placebo-controlled trial of galantamine in AD. The Galantamine USA-10 Study Group. *Neurology* 2000; 54(12):2269-2276.
 20. Pickar D, Rubinow K. Pharmacogenomics of psychiatric disorders. *Trends Pharmacol Sci* 2001; 22(2):75-83.
 21. Tang MX, Jacobs D, Stern Y, et al. Effect of oestrogen during menopause on risk and age at onset of Alzheimer's disease. *Lancet*. 1996; 348(9025):429-432.
 22. Slooter AJ, Bronzova J, Wittman JC, et al. Estrogen use and early onset Alzheimer's disease: a population-based study. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*; 67(6):779-781.
 23. Brandi ML, Becherini L, Gennari L, et al. Association of the estrogen receptor alpha gene polymorphisms with sporadic Alzheimer's disease. *Biochem Biophys Res Commun* 1999; 265(2):335-338.
 24. Abraham CR, Selkoe DJ, Potter H. Immunohistochemical identification of the serine protease inhibitor alpha 1-antichymotrypsin in the brain amyloid deposits of Alzheimer's disease. *Cell* 1988; 52(4):487-501.
 25. Kamboh MI, Sanghera DK, Ferrell RE, et al. APOE epsilon 4-associated Alzheimer's disease risk is modified by alpha 1-antichymotrypsin polymorphism. *Nat Genet* 1995; 10(4):486-488.
 26. Licastro F, Pedrini S, Caputo L, et al. Increased plasma levels of interleukin-1, interleukin-6 and alpha-1-antichymotrypsin in patients with Alzheimer's disease: peripheral inflammation or signals from the brain? *J Neuroimmunol* 2000; 103(1):97-102.
 27. Ma J, Yee A, Brewer HB Jr, et al. Amyloid-associated proteins alpha 1-antichymotrypsin and apolipoprotein E promote assembly of Alzheimer beta-protein into filaments. *Nature* 1994; 372(6501):92-94.
 28. Yamin R, Malgeri EG, Sloane JA, et al. Metalloendopeptidase EC 3.4.24.15 is necessary for Alzheimer's amyloid-beta peptide degradation. *J Biol Chem* 1999; 274(26):18777-18784.
 29. Licastro F, Pedrini S, Ferri C, et al. Gene polymorphism affecting alpha1-antichymotrypsin and interleukin-1 plasma levels increases Alzheimer's disease risk. *Ann Neurol* 2000; 48(3):388-391.
 30. Rebeck GW, Reiter JS, Strickland DK, et al. Apolipoprotein E in sporadic Alzheimer's disease: allelic variation and receptor interactions. *Neuron* 1993; 11(4):575-580.
 31. Lendon CL, Talbot CJ, Craddock NJ, et al. Genetic association studies between dementia of the Alzheimer's type and three receptors for apolipoprotein E in a Caucasian population. *Neurosci Lett* 1997; 222(3):187-190.
 32. Lambert JC, Chartier-Harlin MC, Cottel D, et al. Is the LDL receptor-related protein involved in Alzheimer's disease? *Neurogenetics* 1999;

- 2(2):109-113.
33. Wavrant-DeVrieze F, Perez-Tur J, Lambert JC, et al. Association between the low density lipoprotein receptor-related protein (LRP) and Alzheimer's disease. *Neurosci Lett* 1997; 227(1):68-70.
 34. Kamboh MI, Ferrell RE, DeKosky ST. Genetic association studies between Alzheimer's disease and two polymorphisms in the low density lipoprotein receptor-related protein gene. *Neurosci Lett* 1998; 244(2):65-68.
 35. Kang DE, Saitoh T, Chen X, et al. Genetic association of the low-density lipoprotein receptor-related protein gene (LRP), an apolipoprotein E receptor, with late-onset Alzheimer's disease. *Neurology* 1997; 49(1):56-61.
 36. Lambert JC, Wavrant-De Vrieze F, Amouyel P, et al. Association at LRP gene locus with sporadic late-onset Alzheimer's disease. *Lancet* 1998; 351(9118):1787-1788.
 37. Simons M, Keller P, De Strooper B, et al. Cholesterol depletion inhibits the generation of beta-amyloid in hippocampal neurons. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998; 95(11):6460-6464.
 38. Goate A, Chartier-Harlin MC, Mullan M, et al. Segregation of a missense mutation in the amyloid precursor protein gene with familial Alzheimer's disease. *Nature* 1991; 349(6311):704-706.
 39. Sherrington R, Rogaev EI, Liang Y, et al. Cloning of a gene bearing missense mutations in early-onset familial Alzheimer's disease. *Nature* 1995; 375(6534):754-760.
 40. Levy-Lahad E, Wasco W, Poorkaj P, et al. Candidate gene for the chromosome 1 familial Alzheimer's disease locus. *Science* 1995; 269(5226):973-977.
 41. Racchi M, Govoni S. Rationalizing a pharmacological intervention on the amyloid precursor protein metabolism. *Trends Pharmacol Sci* 1999; 20(10):418-423.
 42. Hardy J. Genetic dissection of neurodegenerative disease. *Clinical Neuroscience Research* 2001; 134-141.
 43. Selkoe DJ. Amyloid beta-protein and the genetics of Alzheimer's disease. *J Biol Chem* 1996; 271(31):18295-18298.
 44. Fraser SP, Suh YH, Djamgoz MB. Ionic effects of the Alzheimer's disease beta-amyloid precursor protein and its metabolic fragments. *Trends Neurosci* 1997; 20(2):67-72.
 45. Nalbantoglu J, Tirado-Santiago G, Lahsaini A, et al. Impaired learning and LTP in mice expressing the carboxy terminus of the Alzheimer amyloid precursor protein. *Nature* 1997; 387(6632):500-505.
 46. Oster-Granite ML, McPhie DL, Greenan J, et al. Age-dependent neuronal and synaptic degeneration in mice transgenic for the C terminus of the amyloid precursor protein. *J Neurosci* 1996; 16(21):6732-6741.
 47. Yankner BA, Dawes LR, Fisher S, et al. Neurotoxicity of a fragment of the amyloid precursor associated with Alzheimer's disease. *Science* 1989; 245(4916):417-420.
 48. Crook R, Verkkoniemi A, Perez-Tur J, et al. A variant of Alzheimer's disease with spastic paraparesis and unusual plaques due to deletion of exon 9 of presenilin 1. *Nat Med* 1998; 4(4):452-455.
 49. Hardy J. Framing beta-amyloid. *Nat Genet* 1992; 1(4):233-234.
 50. Levy-Lahad E, Wijsman EM, Nemens E, et al. A familial Alzheimer's disease locus on chromosome 1. *Science* 1995; 269(5226):970-973.
 51. Rogaev EI, Sherrington R, Rogaeva EA, et al. Familial Alzheimer's disease in kindreds with missense mutations in a gene on chromosome 1 related to the Alzheimer's disease type 3 gene. *Nature* 1995; 376(6543):775-778.
 52. Capell A, Saffrich R, Olivo JC, et al. Cellular expression and proteolytic processing of presenilin proteins is developmentally regulated during neuronal differentiation. *J Neurochem* 1997; 69(6):2432-2440.
 53. Dowjat WK, Wisniewski T, Efthimiopoulos S, et al. Inhibition of neurite outgrowth by familial Alzheimer's disease-linked presenilin-1 mutations. *Neurosci Lett* 1999; 267(2):141-144.
 54. Schenk D, Barbour R, Dunn W, et al. Immunization with amyloid-beta attenuates Alzheimer-disease-like pathology in the PDAPP mouse. *Nature* 1999; 400(6740):173-177.
 55. Bard F, Cannon C, Barbour R, et al. Peripherally administered antibodies against amyloid beta-peptide enter the central nervous system and reduce pathology in a mouse model of Alzheimer disease. *Nat Med* 2000; 6(8):916-919.
 56. Esler WP, Kimberly WT, Ostaszewski BL, et al. Transition-state analogue inhibitors of gamma-secretase bind directly to presenilin-1. *Nat Cell Biol* 2000; 2(7):428-434.
 57. Tournier-Lasserre E, Joutel A, Melki J, et al. Cerebral autosomal dominant arteriopathy with subcortical infarcts and leukoencephalopathy maps to chromosome 19q12. *Nat Genet* 1993; 3(3):256-259.
 58. Joutel A, Corpechot C, Ducros A, et al. Notch3 mutations in CADASIL, a hereditary adult-onset condition causing stroke and dementia. *Nature* 1996; 383(6602):707-710.
 59. Frisoni GB, Calabresi L, Geroldi C, et al. Apolipoprotein E epsilon 4 allele in Alzheimer's disease and vascular dementia. *Dementia* 1994; 5(5):240-242.
 60. McCusker SM, Curran MD, Dynan KB, et al. Association between polymorphism in regulatory region of gene encoding tumour necrosis factor alpha and risk of Alzheimer's disease and vascular dementia: a case-control study. *Lancet* 2001; 357(9254):436-439.
 61. Xu W, Liu L, Emson P, et al. The CCTTT polymorphism in the NOS2A gene is associated with dementia with Lewy bodies. *Neuroreport* 2000; 11(2):297-299.
 62. Poorkaj P, Bird TD, Wijsman E, et al. Tau is a candidate gene for chromosome 17 frontotemporal dementia. *Ann Neurol* 1998; 43(6):815-825.

63. Hutton M, Lendon CL, Rizzu P, et al. Association of missense and 5'-splice-site mutations in tau with the inherited dementia FTDP-17. *Nature* 1998; 393(6686):702-705.
64. Ingelson M, Fabre SF, Lilius L, et al. Increased risk for frontotemporal dementia through interaction between tau polymorphisms and apolipoprotein E epsilon 4. *Neuroreport* 2001; 12(5):905-909.
65. Richard F, Amouyel P. Genetic susceptibility factors for Alzheimer's disease. *Eur J Pharmacol* 2001; 412(1):1-12.
66. Maimone D, Dominici R, Grimaldi LM. Pharmacogenomics of neurodegenerative diseases. *Eur J Pharmacol* 2001; 413(1):11-29.