



## **L'inflammatione nella malattia di Alzheimer: la genetica come fattore di rischio**

Giulia Berzero<sup>1</sup>, Elena Colombo<sup>1</sup>, Cristina Cereda<sup>2</sup>, Mauro Ceroni<sup>3</sup>, Arrigo Moglia<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Reparto di Neurologia Generale e <sup>2</sup>Laboratorio di Neurobiologia Sperimentale, Fondazione IRCCS Istituto Neurologico Nazionale C. Mondino, e <sup>3</sup>Dipartimento di Sanità Pubblica e Neuroscienze, Università degli Studi di Pavia, Pavia, Italia

---

### ***L'inflammatione nella malattia di Alzheimer: la genetica come fattore di rischio***

La malattia di Alzheimer è una patologia neurodegenerativa ad eziologia multifattoriale al cui sviluppo contribuiscono fattori genetici e ambientali. Nell'ultimo decennio, grazie a studi epidemiologici, autotipici e sperimentali, si è consolidata l'evidenza che la neuroinflammatione contribuisce in maniera consistente a determinare la perdita neuronale; studi successivi hanno quindi analizzato i polimorfismi di geni codificanti per citochine e mediatori infiammatori alla ricerca di un profilo genetico di suscettibilità alla malattia.

Nel nostro studio abbiamo considerato due polimorfismi del gene RAGE (-374 T/A e -429 T/C) e tre polimorfismi del gene TNF- $\alpha$  (-857, -308 e -238 G/A), in quanto entrambi questi mediatori infiammatori sono fortemente coinvolti nel processo patogenetico della malattia.

Abbiamo reclutato 33 pazienti affetti da deterioramento cognitivo afferenti alle strutture della Fondazione C. Mondino (22 AD, 8 VaD, 3 MCI) e 220 controlli sani paragonabili per sesso, età ed etnia alla popolazione studiata.

L'obiettivo della nostra ricerca è stato duplice: in primo luogo stabilire se vi fossero polimorfismi di questi due geni in grado di aumentare la suscettibilità individuale alla malattia e in secondo luogo verificare se tali polimorfismi correlassero con alcuni parametri clinici (età d'esordio e velocità di progressione, valutata con il MMSE) e infiammatori (CRP e PINI).

Abbiamo quindi calcolato le frequenze alleliche e genotipiche dei polimorfismi nel gruppo degli affetti e dei controlli ed è emerso che il genotipo AG del polimorfismo -238 G/A di TNF- $\alpha$  è significativamente più frequente nella popolazione degli affetti (frequenze genotipiche  $\chi^2=0.013$ , alleliche  $\chi^2=0.046$ ). Inoltre, dato che i geni RAGE e TNF- $\alpha$  mappano entrambi sul cromosoma 6 nella regione HLA III, abbiamo calcolato le frequenze aplotipiche derivanti dalla combinazione dei cinque polimorfismi studiati ed è emerso che l'aplotipo TTGAA è significativamente meno frequente nel gruppo degli affetti ( $p$ -value=0.018). Non sono invece emerse correlazioni statisticamente significative tra i polimorfismi e i parametri clinici (età esordio e velocità di progressione) e infiammatori (CRP e PINI).

### ***Inflammation in Alzheimer's disease: the role of genetics***

Alzheimer's disease is a neurodegenerative disorder determined by both genetic and environmental factors. In the last decade, thanks to epidemiological, post-mortem and experimental studies, the evidence was proven that the neuroinflammatory process contributes consistently in determining neuronal loss; later studies analyzed the polymorphisms of genes involved in the regulation of the inflammatory response searching for a genetic profile of susceptibility towards the disease.

In our study we considered two polymorphisms of the RAGE gene (-374 T/A and -429 T/C) and three polymorphisms of the TNF- $\alpha$  gene (-857, -308 and -238 G/A), as both these molecules are strongly involved in the pathogenesis of the disease.

We recruited 33 patients affected with cognitive deterioration (22 AD, 8 VaD, 3 MCI) from C. Mondino Foundation and 220 healthy controls comparable for sex, age and race to the population of interest.

The purpose of our research was first to determine whether any of the polymorphisms increased individual susceptibility towards the disease, and second to verify if these polymorphisms correlated with some chosen clinical (age of onset and rate of progression, evaluated with MMSE score) and inflammatory parameters (CRP and PINI).

The comparison of the allelic and genotypic frequencies in the population of affected and healthy controls showed that the AG genotype of -238 G/A polymorphism of TNF- $\alpha$  gene was significantly more frequent among the affected (genotypic freq.  $\chi^2=0.013$ ; allelic freq.  $\chi^2=0.046$ ). Then, as RAGE and TNF- $\alpha$  genes are both localized on chromosome 6 in the HLA III region, we compared the haplotypic frequencies resulting from the combination of the five polymorphisms in the group of affected and in the group of controls and we found that the TTGAA haplotype was significantly less frequent among the affected (p-value=0.018). No statistically significant correlation between the polymorphisms and the clinical (age of onset and rate of progression) and inflammatory parameters (CRP and PINI) was found.

---

## **Introduzione**

### ***La genetica dell'infiammazione***

L'ipotesi che l'infiammazione fosse un fattore di rischio maggiore per la malattia di Alzheimer è stata inizialmente basata sul riscontro autoptico di alterazioni infiammatorie associate alle lesioni tipiche di malattia e sull'evidenza epidemiologica dell'effetto protettivo dei farmaci anti-infiammatori.

Oggi sappiamo che l'attivazione microgliale riveste un ruolo centrale nella patogenesi infiammatoria dell'AD [1]: la microglia è infatti responsabile della produzione di citochine pro-infiammatorie, proteine del complemento, enzimi e sostanze neurotossiche in grado di determinare alterazioni neurodegenerative [2]. Studi autoptici e sperimentali hanno rilevato nelle lesioni caratteristiche di malattia citochine prodotte dalla microglia come l'IL-1, l'IL-6, il TNF- $\alpha$  e l' $\alpha$ 1-antichimotripsina, sovraesprese nei tessuti cerebrali dei pazienti affetti. Studi successivi hanno poi confermato che il rischio di malattia è effettivamente modulato dai polimorfismi dei geni che codificano per queste molecole. Questi polimorfismi, frequentemente localizzati nella regione del promotore, aumentano infatti la quantità di prodotto genico espresso e sono quindi più frequenti nei pazienti affetti da malattia di Alzheimer rispetto ai controlli sani [3]. Tali polimorfismi sono comuni nella popolazione generale: la probabilità individuale complessiva di sviluppare malattia sarebbe influenzata da un profilo di suscettibilità determinato dall'aver ereditato più alleli ad alto rischio. Alcuni dei polimorfismi in questione sono già stati correlati ad altre patologie infiammatorie come l'artrite reumatoide giovanile o la periodontite; potrebbero quindi emergere associazioni tra l'Alzheimer ed altre patologie cronicodegenerative, ma soprattutto queste nuove scoperte potrebbero condurre all'elaborazione di nuove strategie terapeutiche da utilizzare negli stadi precoci di malattia.

### **RAGE (Receptor for Advanced Glycation End products)**

RAGE è un recettore che appartiene alla superfamiglia delle immunoglobuline ed è capace di interagire con un ampio spettro di ligandi, tra i quali gli AGEs, le S100 calgranuline, le anfoterine e i peptidi di  $\beta$ -amiloide ( $A\beta$ ). La rilevanza di RAGE nel morbo di Alzheimer è stata suggerita dalla scoperta autoptica di aumentati livelli di questo recettore nel cervello di pazienti AD rispetto ai controlli [4]. L'elevata espressione di RAGE è stata riscontrata in diversi tipi cellulari presenti all'interno del SNC: neuroni, microglia, astrociti, cellule endoteliali e muscolari lisce della barriera emato-encefalica. RAGE sembra intervenire nella patogenesi della malattia di Alzheimer ad almeno tre livelli:

- l'interazione tra RAGE e i peptidi di  $A\beta$  attiva la microglia, aumentando l'espressione di citochine pro-infiammatorie, la produzione di fattori neurotossici e di specie reattive dell'ossigeno, amplificando quindi il danno neuronale [5];
- a livello della barriera emato-encefalica RAGE agisce come trasportatore di peptidi di  $A\beta$ : una sua aumentata espressione aumenta la concentrazione di  $A\beta$  a livello liquorale e quindi encefalico;
- altera la plasticità sinaptica inibendo i processi di comprensione e di consolidamento della memoria ed accelerando quindi il processo di deterioramento cognitivo [6].

Tutti questi studi suggeriscono quindi che RAGE rivesta un ruolo nella patogenesi della disfunzione neuronale associata all'AD, indotta dall'amiloide a diversi livelli.

Del gene RAGE abbiamo esaminato due polimorfismi del promotore -374 T/A e -429 T/C che regolano la trascrizione genica e di conseguenza i livelli quantitativi di tale recettore.

### **TNF- $\alpha$ (Tumor Necrosis Factor Alpha)**

TNF- $\alpha$  è una citochina pro-infiammatoria che partecipa alla regolazione della risposta immune: aumenta l'espressione di molecole d'adesione sulla superficie delle cellule endoteliali favorendo la migrazione leucocitaria e aumenta la produzione di chemochine. La principale fonte di TNF- $\alpha$  sono i fagociti mononucleati attivati ma è prodotto anche da linfociti T, cellule NK e mastociti. Esercita inoltre diverse altre funzioni: modula l'espressione genica, il metabolismo energetico, può indurre apoptosi in diversi tipi cellulari ed è un potente inibitore della carcinogenesi e della replicazione virale.

La prima indicazione del coinvolgimento del TNF- $\alpha$  nella malattia di Alzheimer si ebbe quando, durante l'analisi autoptica di cervelli affetti, fu riscontrata la presenza di questa citochina nelle placche di amiloide [7]. Studi in vitro hanno successivamente dimostrato che TNF- $\alpha$  aumenta la produzione dei peptidi di  $A\beta$  regolando il complesso gamma secretasico [8]; si crea così un meccanismo *feed-forward* per cui il TNF- $\alpha$  aumenta la sintesi di peptidi  $A\beta$  che a loro volta inducono infiammazione e produzione di TNF- $\alpha$ . Ulteriori studi condotti su modelli murini transgenici hanno confermato che l'infiammazione, e in particolare l'azione esplicata dal TNF- $\alpha$ , contribuisce sia all'insorgenza che alla progressione della malattia [9].

Del gene TNF- $\alpha$  abbiamo analizzato tre polimorfismi del promotore: -857 G/A, -308 G/A e -238 G/A.

### **La regione HLA di classe III**

La regione HLA (*Human Leukocyte Antigen*) è un ampio tratto di DNA localizzato sul cromosoma 6 che contiene i geni che codificano per antigeni e molecole correlate al sistema immunitario e alla risposta infiammatoria; tali geni possono essere divisi in tre classi (HLA di classe I, II e III) in base alla loro funzione. I geni HLA di classe III sono interposti tra i geni delle altre due classi e codificano per fattori del complemento, citochine pro-infiammatorie (come TNF- $\alpha$  e  $\beta$ ) e *heat-shock proteins*.

I geni RAGE e TNF- $\alpha$ , sono localizzati proprio nella regione HLA di classe III (6p21.32 e 6p21.3), a poche paia di basi l'uno dall'altro. Il fatto che questi geni si trovino in una regione così speciale del genoma ci ha indotto a valutare questi polimorfismi prima singolarmente e poi nelle loro combinazioni aplotipiche, alla ricerca di un'eventuale aumentata suscettibilità alla malattia.

## Scopo del lavoro

Il primo obiettivo del nostro studio è stato verificare se vi fossero polimorfismi dei geni RAGE e TNF- $\alpha$  più frequenti nei soggetti con malattia di Alzheimer rispetto ai controlli sani, quindi polimorfismi che predisponessero a malattia. Per fare questo abbiamo calcolato le frequenze alleliche e genotipiche di ogni SNP (*Single Nucleotide Polymorphism*) e valutato con il test del chi quadrato se vi fossero differenze statisticamente significative tra il gruppo degli affetti e il gruppo dei controlli.

Il secondo obiettivo del nostro studio è stato invece verificare se tali polimorfismi del promotore, che aumentano la quantità di prodotto genico espressa, correlassero con un eventuale incremento della risposta infiammatoria. Per valutare lo stato infiammatorio dei nostri pazienti, abbiamo scelto due parametri ematochimici che per la loro elevata sensibilità potevano rispecchiare lo stato infiammatorio dei nostri pazienti: la proteina C reattiva (CRP), una proteina di fase acuta sintetizzata dal fegato nel corso di stati infiammatori, che nei soggetti sani è <1 mg/dl; e il PINI (*Prognostic Inflammatory and Nutritional Index*), un indice combinato ottenuto dividendo il prodotto di  $\alpha$ 1glicoproteina acida e di CRP e per il prodotto di albumina e transtiretina, che in soggetti sani e ben nutriti dovrebbe essere <1. Abbiamo poi cercato un'eventuale correlazione tra i polimorfismi e due parametri clinici: l'età d'esordio e la velocità di progressione. Il razionale di tale ricerca risiede nell'ipotesi che uno stato infiammatorio più intenso, determinato dai polimorfismi ad alto rischio, potesse determinare un'età d'esordio più precoce o una più rapida progressione di malattia. L'età d'esordio è stata registrata durante la raccolta anamnestica mentre la velocità di progressione della malattia è stata valutata con il punteggio ottenuto al *Mini Mental State Examination* (MMSE) al momento del prelievo ematico.

## Materiali e metodi

### *Soggetti studiati*

Per il nostro studio sono stati reclutati 33 soggetti affetti da deterioramento cognitivo afferenti alle strutture di degenza della Fondazione Istituto Neurologico C. Mondino di Pavia. Tutti i pazienti presentavano deterioramento cognitivo da almeno due anni e rispettavano i criteri di inclusione.

La presenza di disturbi psichiatrici, alcolismo, altre forme di demenza di tipo degenerativo e non degenerativo, pregressi traumi cranici, malattie o infezioni del sistema nervoso centrale, cause di demenza secondaria o reversibile e malattie sistemiche gravi sono stati considerati criteri di esclusione.

Tutti i pazienti sono stati sottoposti ad esame obiettivo generale e neurologico, ECG, EEG e ad uno studio di *neuroimaging* come la TC o la RMN encefalo; ai pazienti è stato inoltre somministrato, da parte del medico di reparto, il *Mini Mental State Examination* (MMSE), al momento del prelievo.

Per l'inquadramento diagnostico sono stati applicati i criteri NINCS-ADRDA per la diagnosi di AD, i criteri NINCS-AIREN per la diagnosi di VaD e i criteri di Petersen per la diagnosi di MCI.

Dei 33 pazienti: 22 avevano diagnosi di malattia di Alzheimer degenerativa (AD), 8 di demenza vascolare (VaD) e 3 di MCI (*Mild Cognitive Impairment*) di tipo amnesico; tutti i soggetti erano di razza caucasica, 20 erano femmine e 13 maschi (Tabella 1); l'età d'esordio media era di 70.4 anni. Nella tabella 2 sono invece indicati i valori medi degli indici infiammatori (CRP e PINI), dell'età d'esordio della malattia e dei punteggi ottenuti al MMSE per i diversi sottogruppi diagnostici.

Per il gruppo dei controlli sono stati analizzati i campioni ematici ottenuti da 220 soggetti sani paragonabili per sesso, età ed etnia alla popolazione degli affetti, provenienti dal Servizio Trasfusionale della Fondazione IRCCS Policlinico San Matteo di Pavia.

### ***Determinazione dei polimorfismi***

Il DNA di interesse è stato estratto da 200 µl di sangue venoso periferico conservato in EDTA ("DNA blood mini kit" – Quiagen) ed è stato poi amplificato mediante PCR (*Polymerase Chain Reaction*) utilizzando *primers* specifici per ogni sequenza da espandere. Al DNA amplificato sono stati poi aggiunti enzimi di restrizione specifici per ogni polimorfismo, il cui sito di restrizione cadesse in corrispondenza del polimorfismo da esaminare secondo la tecnica RFLP (*Restriction Fragment Length Polymorphism*). In base al polimorfismo presente l'enzima di restrizione operava o meno dei tagli a livello della sequenza, producendo frammenti di varia lunghezza che venivano poi separati mediante elettroforesi su gel di agarosio raggruppandosi in bande, visualizzate con un transilluminatore a raggi UV grazie ad un intercalante (etidio bromuro). Per ultimo il gel è stato fotografato utilizzando una fotocamera digitale Kodak DC290. Le differenze tra i genotipi si evincono dal numero e dalla posizione delle bande che compaiono al transilluminatore, determinati dal numero di siti di taglio presenti nella sequenza amplificata, e quindi dal polimorfismo presente.

Dopo aver determinato i polimorfismi e le loro frequenze relative nel gruppo degli affetti e dei controlli abbiamo effettuato un'analisi aplotipica riguardante tutti i cinque polimorfismi, i due di RAGE e i tre di TNF- $\alpha$ . Le frequenze aplotipiche sono state calcolate con il programma statistico HPLUS.

### ***Analisi statistica***

Per il confronto delle frequenze alleliche e genotipiche nel gruppo degli affetti e dei controlli sani abbiamo utilizzato il test del chi quadrato ( $\chi^2$ ). Per valutare la correlazione tra i genotipi di RAGE e TNF- $\alpha$  e i parametri clinici e infiammatori abbiamo calcolato con il programma Graph Pad Prism 5 il *p-value*, considerandolo significativo se  $<0.05$ .

## **Risultati**

Il primo obiettivo del nostro studio si proponeva di rilevare eventuali differenze nelle frequenze alleliche e genotipiche dei polimorfismi di RAGE e TNF- $\alpha$  tra il gruppo dei soggetti affetti e quello dei controlli sani: i risultati ottenuti sono stati riassunti nella tabella 3. Come possiamo notare, l'unico risultato statisticamente significativo riguarda le frequenze alleliche e genotipiche del polimorfismo in posizione -238 G/A del gene TNF- $\alpha$  (frequenze genotipiche:  $\chi^2=0.01264$ ; frequenze alleliche:  $\chi^2=0.04562$ ). Nel gruppo dei controlli è significativamente più frequente il genotipo GG, mentre nel gruppo degli affetti predomina il genotipo AG (Tabella 4), suggerendo che l'allele A potrebbe aumentare la suscettibilità alla malattia.

Non sono stati ottenuti risultati statisticamente significativi per gli altri polimorfismi esaminati.

Dato che sono emerse scarse correlazioni tra i polimorfismi considerati e la suscettibilità alla malattia, e data la localizzazione di entrambi i geni all'interno della regione HLA di classe III, ci siamo chiesti che effetto poteva derivare dall'ereditare contemporaneamente più alleli ad alto rischio: abbiamo quindi analizzato gli aplotipi derivanti dalla combinazione dei due polimorfismi del gene RAGE (374 T/A e -429 T/C) e dei tre del TNF- $\alpha$  (-857 G/A, -308 G/A e -238 G/A). Dal calcolo delle frequenze aplotipiche, effettuato grazie al programma statistico HPLUS (Figura 1), è emerso che uno dei sette aplotipi possibili, l'aplotipo TTGAA, era significativamente meno frequente nel gruppo dei pazienti rispetto a quello dei controlli ( $p$ -value=0.018) e potrebbe quindi essere protettivo.

Infine, per verificare il secondo obiettivo del nostro studio, abbiamo ricercato eventuali correlazioni tra i genotipi di RAGE e TNF- $\alpha$  e alcuni parametri clinici e infiammatori (età d'esordio, MMSE, CRP, PINI). Dall'analisi statistica abbiamo ottenuto i  $p$ -value per ogni coppia di variabili e abbiamo poi riassunto i risultati nella Tabella 5. Come possiamo notare, non abbiamo ottenuto alcun risultato statisticamente significativo.

## Discussione

### *I polimorfismi del gene RAGE (-374 T/A e -429T/C)*

Dall'analisi dei polimorfismi del promotore del gene RAGE ci saremmo aspettati che la frequenza degli alleli di rischio proinfiammatori (-374 T e -429 C) e dei relativi genotipi omozigoti fosse più elevata nei pazienti con AD rispetto ai controlli, dato che questi alleli si associano ad una maggior trascrizione genica; l'aumento dei livelli di RAGE amplifica infatti il processo infiammatorio [10].

I nostri risultati non mostrano differenze statisticamente significative per le frequenze alleliche e genotipiche dei pazienti rispetto a quelle dei controlli. Ciò però potrebbe essere dovuto al numero limitato di campioni che è stato possibile analizzare in questo studio, che è da ritenersi pertanto una ricerca preliminare; è quindi ipotizzabile che con un maggior numero di campioni e con una più chiara suddivisione degli stessi tra forme familiari e sporadiche si possano ottenere risultati diversi.

Abbiamo poi cercato eventuali associazioni tra i genotipi di questi due SNP e alcuni parametri clinici e infiammatori (età d'esordio, punteggio MMSE, CRP, PINI), non riscontrando alcuna correlazione statisticamente significativa tra i due gruppi di variabili.

### *I polimorfismi del gene TNF- $\alpha$ (-857 G/A, -308 G/A e -238 G/A)*

Dal confronto delle frequenze alleliche e genotipiche nel gruppo degli affetti e dei controlli sani sono emersi risultati statisticamente significativi solo per il polimorfismo -238 G/A del gene TNF- $\alpha$ . Si ritiene che questo polimorfismo del promotore moduli l'attività trascrizionale del gene, determinando una maggior espressione di prodotto genico: quantità maggiori di TNF- $\alpha$  amplificherebbero l'infiammazione e favorirebbero quindi lo sviluppo di malattia.

Per gli altri polimorfismi di TNF- $\alpha$  non abbiamo invece riscontrato differenze statisticamente significative nei due gruppi. Questo non ci ha però sorpresi in quanto, anche se l'associazione tra TNF- $\alpha$  e morbo di Alzheimer è stata a lungo investigata, i risultati in letteratura sono tutt'ora contrastanti. Sono state infatti sostenute ipotesi opposte sugli effetti del TNF- $\alpha$  sullo sviluppo della patologia; questa citochina potrebbe esercitare un ruolo sia stimolante che protettivo nei confronti dell'infiammazione, in dipendenza delle sue concentrazioni e della durata d'azione [11-12].

Successivamente, come per RAGE, abbiamo cercato correlazioni tra i tre polimorfismi di TNF- $\alpha$  e i dati clinici e infiammatori (età d'esordio, punteggio MMSE, CRP, PINI), non riscontrando alcuna correlazione statisticamente significativa tra i due gruppi di variabili.

### L'aplotipo RAGE-TNF $\alpha$

Dall'analisi aplotipica è emerso che l'aplotipo TTGAA è significativamente meno frequente nel gruppo degli affetti rispetto al gruppo dei controlli, e potrebbe quindi avere un effetto protettivo sotto il profilo neuroinfiammatorio. Pazienti con tale aplotipo potrebbero infatti presentare un processo infiammatorio meno aggressivo e una degenerazione neuronale meno marcata, eventualmente associati ad un'età di insorgenza più avanzata e ad una più lenta progressione di malattia. Questo interessante risultato è certamente suggestivo dell'importante ruolo che i geni HLA di classe III potrebbero rivestire in una malattia non solo degenerativa ma anche infiammatoria come la malattia di Alzheimer. Tuttavia poco si sa ancora sui meccanismi con cui avviene la regolazione della trascrizione in questa regione del genoma, o se vi siano anche altri geni che insieme a RAGE e TNF- $\alpha$  possano giocare un ruolo nella patogenesi della malattia.

## Tabelle e figure

**Tabella 1. Caratteristiche demografiche dei pazienti affetti, suddivisi in sottogruppi diagnostici.**

	<b>AD</b>	<b>VaD</b>	<b>MCI</b>
<b>Totale pazienti</b>	22	8	3
<b>Maschi</b>	9	2	2
<b>Femmine</b>	13	6	1

**Tabella 2. Valori medi degli indici infiammatori, dell'età d'esordio e dei punteggi ottenuti al MMSE nel gruppo degli affetti per sottogruppi diagnostici.**

	<b>AD</b>	<b>VaD</b>	<b>MCI</b>
<b>Età d'esordio (anni)</b>	68.86	75.38	68.33
<b>CRP (mg/dl)</b>	0.49	0.58	0.65
<b>PINI</b>	0.4385	0.5113	0.5867
<b>MMSE (su 30)</b>	15.56	18.21	27.1

**Tabella 3. Valori del test  $\chi^2$  per le frequenze alleliche e genotipiche, ottenute dal confronto tra il gruppo degli affetti e dei controlli.**

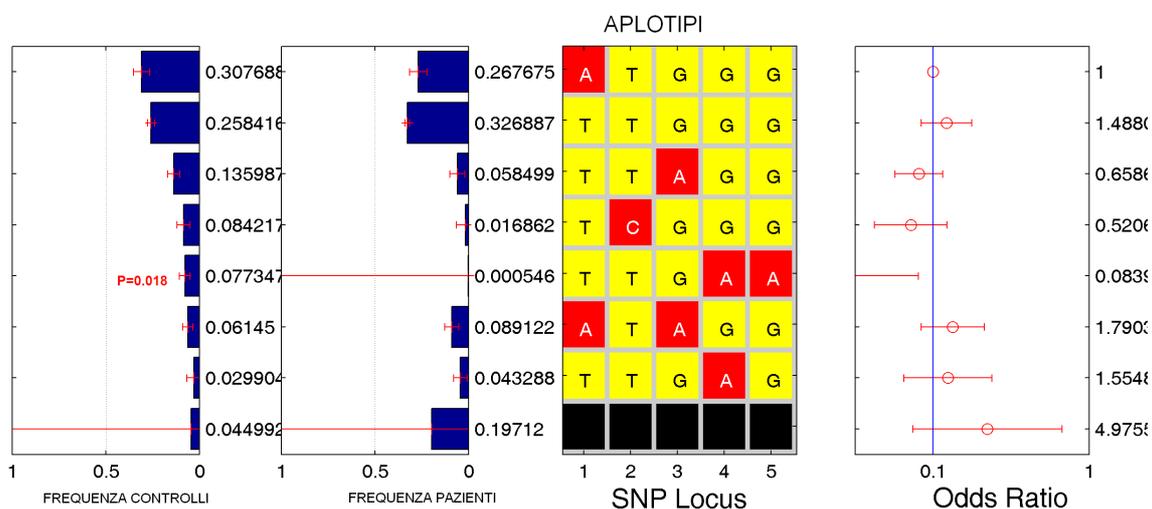
<b>Polimorfismo</b>	<b>FREQUENZE GENOTIPICHE</b>	<b>FREQUENZE ALLELICHE</b>
<b>374 T/A RAGE</b>	0.47289	0.42222
<b>429 T/C RAGE</b>	0.41306	0.47545
<b>857 G/A TNF-<math>\alpha</math></b>	0.40634	0.44444
<b>308 G/A TNF-<math>\alpha</math></b>	0.14285	0.17573
<b>238 G/A TNF-<math>\alpha</math></b>	0.01264	0.04562

**Tabella 4. Frequenze genotipiche e alleliche del polimorfismo -238 G/A del gene TNF- $\alpha$  nella popolazione degli affetti e dei controlli.**

TNF -238 G/A	Pazienti affetti	Controlli
GG	75.8%	86%
AG	24.2 %	14%
AA	0%	0%
G	87.9%	93%
A	12.1%	7%

**Tabella 5. Valori dei *p-value* ottenuti dalle correlazioni tra i polimorfismi in esame e i parametri clinici (età d'esordio e punteggio MMSE) e infiammatori (CRP e PINI).**

Polimorfismo	ETÀ ESORDIO	MMSE	CRP	PINI
374 T/A RAGE	0.5457	0.2656	0.2502	0.1357
429 T/C RAGE	0.4550	0.5801	0.5772	0.9470
857 G/A TNF- $\alpha$	0.5205	0.2831	0.2862	0.2530
308 G/A TNF- $\alpha$	0.3536	0.2576	0.1917	0.2411
238 G/A TNF- $\alpha$	0.4735	0.6261	0.1675	0.0999



**Figura 1. Frequenze aplotipiche nel gruppo degli affetti e dei controlli e relativi *odds ratio*, in rosso il *p-value* per l'aplotipo TTGAA.**

### **Bibliografia**

1. Lucas SM, Rothwell NJ, Gibson RM et al. The role of inflammation in CNS injury and disease. *Br J Pharmacol* 2006;147(Suppl. 1):S232-240.
2. Rogers J, Strohmeier R, Kovelowski CJ et al. Microglia and inflammatory mechanisms in the clearance of amyloid beta peptide. *Glia* 2002;40(2):260-269.
3. De Luigi A, Fragiaco C, Lucca U et al. Inflammatory markers in Alzheimer's disease and multi infarct dementia. *Mech Ageing Dev* 2001;122(16):1985-1995.
4. Lue LF, Walker DG, Brachova L et al. Involvement of microglial receptor for advanced glycation end-products (RAGE) in Alzheimer's disease: identification of a cellular activation mechanism. *Exp Neurol* 2001;171(1):29-45.
5. Bierhaus A, Humpert PM, Morcos M et al. Understanding RAGE, the receptor for advanced glycation end products. *J Mol Med* 2005;83(11):876-886.
6. Arancio O, Zhang HP, Chen X et al. RAGE potentiates Abeta-induced perturbation of neuronal function in transgenic mice. *EMBO J* 2004;23(20):4096-4105.
7. Dickson DW. The pathogenesis of senile plaques. *J Neuropathol Exp Neurol* 1997;56:321-339.
8. Blasko I, Marx F, Steiner E et al. TNFalpha plus IFNgamma induce the production of Alzheimer beta-amyloid peptides and decrease the secretion of APPs. *FASEB J* 1999;13(1):63-68.
9. Billings LM, Oddo S, Green KN et al. Intraneuronal Abeta causes the onset of early Alzheimer's disease-related cognitive deficits in transgenic mice. *Neuron* 2005;45(5):675-688.
10. Hudson BI, Stickland MH, Grant PJ. Identification of polymorphisms in the receptor for advanced glycation endproducts (RAGE) gene: prevalence in type 2 diabetes and ethnic groups. *Diabetes* 1998;47(7):1155-1157.
11. Akiyama H, Barger S, Barnum S. Inflammation and Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging* 2000;21:383-421.
12. Wick G, Berger P, Jansen-Dürr P. A Darwinian-evolutionary concept of age-related diseases. *Exp Gerontol* 2003;38(1-2):13-25.