

## Riassunto

La sindrome di Down (DS) è la più comune aneuploidia autosomica, con una frequenza di 1,03-1,30 per 1000 nati vivi in tutti i gruppi etnici, causata dalla presenza in triplice copia dell'intero cromosoma 21 o di una porzione di esso, detta regione critica (21q22.2). Nella maggior parte dei casi questa condizione origina da eventi di non-disgiunzione cromosomica (trisomia primaria) avvenuti durante la gametogenesi prevalentemente materna, o da una traslocazione reciproca (traslocazione Robertsoniana) di origine materna o paterna; esiste inoltre una minoranza di casi rappresentata da mosaici genetici.

La DS è stata annoverata fra le sindromi ad invecchiamento precoce. In particolare modo, ha suscitato notevole attenzione la relazione presente fra la DS e la malattia di Alzheimer (AD). Infatti, recenti dati di letteratura sembrano convergere verso un'unica ipotesi che cerca di correlare le due malattie e la trisomia del cromosoma 21, in relazione alla presenza di numerose caratteristiche condivise da entrambe le patologie.

Il gene rivelatosi determinante nell'assumere un ruolo in entrambe le patologie è il gene APP, che mappa sul cromosoma 21, codificante per la proteina precursore della  $\beta$ -amiloide, probabilmente coinvolta nell'insorgenza precoce della demenza nei DS e implicata nell'eziopatogenesi dell'AD.

Numerosi studi hanno indagato il ruolo dei radicali liberi nel processo d'invecchiamento e nell'eziologia di varie patologie, rilevandone l'importanza nella genesi e/o nella progressione della malattia di Alzheimer, della malattia di Parkinson e della sindrome di Down. In quest'ultima l'aumento dello stress ossidativo renderebbe conto dell'insorgenza di malattie autoimmuni, cataratte e precoce invecchiamento.

Un evento di stress ossidativo si produce all'interno di una cellula quando si verifica uno squilibrio tra la produzione di radicali liberi e la capacità del sistema antiossidante di neutralizzarli.

La cellula presenta un equilibrato macchinario enzimatico in grado di neutralizzare la produzione di radicali liberi di origine esogena ed endogena, rappresentato all'azione sinergica della superossido dismutasi (SOD), della catalasi (Cat) e della glutatione perossidasi (GSHPx).

Studi recenti suggeriscono, infatti, che la sovraespressione del gene SOD, che mappa sul cromosoma 21, e l'alterato rapporto SOD/Cat+GSHPx porti ad un severo stress ossidativo nei DS.

Questa tesi si è proposto lo scopo di valutare la presenza di danno primario e ossidativo al DNA di leucociti di sangue periferico in un gruppo di individui affetti da DS e di un gruppo di controllo, mediante l'applicazione del test della cometa (SCGE, *single cell gel electrophoresis*) nella sua forma modificata, che prevede l'utilizzo di due enzimi lesione-specifici (endonucleasi III e formamidopirimidina glicosilasi) che convertono le basi ossidate in rotture a singolo filamento, in modo da evidenziare, oltre al danno spontaneo, anche la presenza di purine e pirimidine ossidate, inclusa la 8-idrossi-deossiguanosina (8-OH-dG), tipico marcatore di danno ossidativo.

I risultati ottenuti hanno evidenziato un incremento statisticamente significativo ( $p < 0.005$ ) del danno ossidativo a carico delle purine nei DS rispetto ai controlli ( $3.95 \pm 2.30$  vs.  $2.50 \pm 2.76$ ). È stato riscontrato un aumento nel danno a carico delle pirimidine (siti endo III) nei DS rispetto ai controlli, sebbene non risulti statisticamente significativo ( $2.82 \pm 2.53$  vs.  $1.92 \pm 2.43$ ). Non è stata rilevata alcuna differenza nel danno primario fra DS e controlli.

Inoltre, al fine di analizzare la presenza di un eventuale danno cromosomico negli individui oggetto di studio, è stato effettuato il test del micronucleo con blocco della citochinesi (CBMN, *cytokinesis block micronucleus*) su linfociti di sangue periferico nei DS e nei controlli.

È stato rilevato un aumento della frequenza media di linfociti binucleati con micronucleo nei DS rispetto ai controlli ( $6.42 \pm 2.78$  vs.  $5.26 \pm 3.57$ ), sebbene non risulti statisticamente significativo. I DS maschi presentano un incremento statisticamente significativo ( $p < 0.005$ ) della frequenza media di binucleate con micronucleo rispetto ai maschi di controllo.

Sulla stessa popolazione è stata effettuato un lavoro di caratterizzazione per il gene dell'apolipoproteina E (Apo E) mediante la tecnica della PCR-RFLP. Il gene è presente in tre varianti alleliche ( $\epsilon 2$ ,  $\epsilon 3$ ,  $\epsilon 4$ ) e le diverse isoforme della proteina sono state associate con l'insorgenza della demenza nei DS e rappresenterebbero un importante fattore di rischio nell'AD. È stata valutata l'influenza del genotipo sul danno primario, ossidativo e cromosomico nel gruppo dei DS e nel gruppo dei controlli. Al momento non emerge alcun ruolo significativo del genotipo relativo al gene APO E in nessuna categoria di danno.

Possiamo quindi ipotizzare che la sindrome di Down possa rappresentare un interessante modello nella comprensione del ruolo dello stress ossidativo nell'insorgenza e/o nella progressione del processo neurodegenerativo.