

Il 17 Marzo 2016 presso il Polo Vallisneri dell'Università degli Studi di Padova, in occasione del World Down Syndrome Day (in realtà è, NON a caso, il 21/3 di ogni anno) si sono tenuti due interessanti seminari riguardanti recenti scoperte scientifiche sulla sindrome di Down seguiti da un incontro con i famigliari e gli operatori delle associazioni che si occupano delle persone con sindrome di Down. Un evento co-organizzato dal corso di dottorato in bioscienze e biotecnologie-indirizzo di neurobiologia e dal corso di dottorato in scienze biomediche sperimentali dell'Università degli Studi di Padova e in particolare dal Prof. P. Bernardi, dalla Dott.ssa C. Fasolato e dalla Prof.ssa D. Pietrobon a cui vanno i miei sentiti ringraziamenti per la sensibilità e l'accuratezza (scientifica e non) dell'evento.

Le due relatrici sono state la Prof.ssa Renata Bartesaghi, del Dipartimento di Scienze Biomediche e Neuromotorie, Università di Bologna con un seminario dal titolo "Early pharmacotherapy: a promising strategy for the rescue of brain development in Down Syndrome" e la Dott.ssa Laura Cancedda PhD, Senior Group Leader, Dept. of Neuroscience and Brain Technologies & Dulbecco Telethon Institute, dell'Istituto Italiano di Tecnologia, di Genova con un seminario dal titolo "Modulation of Intracellular Cl⁻ to Regulate Synaptic Plasticity and Rescue Cognitive Function in a Mouse Model of Down Syndrome". Entrambe le ricercatrici italiane sono di fama internazionale nel campo della sindrome di Down e seppur lavorando su campi/meccanismi molecolari differenti condividono il fine comune di trovare un "terapia" farmacologica per tentare di recuperare/salvare le funzioni cognitive e lo sviluppo cerebrale delle persone con sindrome di Down. L'idea generale è basata sul fatto che essenzialmente nulla è possibile sulla triplicazione cromosomica (lì è e lì rimane) ma è possibile lavorare a valle cercando di correggere/migliorare le conseguenze della triplicazione cromosomica e dei geni corrispondenti, in particolare cercando di ridurre i difetti principali e sostanziali associati alla Sindrome di Down, cioè un alterato sviluppo e funzione del cervello. Entrambi gli studi/approcci si sono rivelati incredibilmente efficaci nei topi di laboratorio modelli di sindrome di Down (il topo trisomico Ts65Dn, che avendo circa i 2/3 di geni uguali al cromosoma umano 21 ed esibendo svariate caratteristiche fenotipiche della sindrome di Down umana, è un MODELLO ormai ben caratterizzato ed accettato per studiare la sindrome di Down appunto) ma NULLA è ancora noto sull'uomo (solo recentemente è partito uno studio clinico umano a Napoli (dove ci sono medici clinici in grado di fare questi studi) su bambini (23 + 23) con sindrome di Down tra i 5 e 10 anni sugli studi della Prof. Bartesaghi e un ulteriore studio partirà a Roma (Bambin Gesù) sugli studi della Dott. Cancedda.

L'approccio della Prof. Bartesaghi è molto logico, razionale e sotto alcuni punti di vista anche semplice (ho sempre pensato che idee, per essere valide, devono essere semplici). Conoscendo, tramite gli studi di altri ricercatori, che i due difetti principali nella sindrome di Down sono un deficit nella produzione e una ridotta ramificazione dei dendriti neuronali (già in fase fetale) ed una ridotta produzione del neurotrasmettitore serotonina, che è importantissimo per la maturazione cerebrale e la neurogenesi, assieme al suo gruppo ha pensato che la fluoxetina (un antidepressivo, nome commerciale Prozac), che inibisce la ricaptazione/riassorbimento della serotonina quindi mantenendola nel cervello, potesse avere benefici. Sui topi Ts65Dn, l'esperimento è riuscito, portando ad recupero del numero dei neuroni (anche dei dendriti) ed un miglioramento delle capacità cognitive quando la fluoxetina viene somministrata nel periodo perinatale (a cavallo della nascita, ecco perchè PRECOCE). Il recupero/ripristino è totale, indistinguibile dal cervello di topo normale!! L'aspetto più bello, sorprendente e anche meraviglioso, è che l'effetto positivo perdura anche una volta cessata la somministrazione di fluoxetina. La dimostrazione che la Fluoxetina/Prozac possa funzionare anche sugli uomini è però ancora lontana. Non è detto che nell'uomo l'effetto sia lo stesso, e fino alla dimostrazione chiara e inconfutabile non si possono illudere le famiglie ma le speranze ci sono e ce lo auguriamo tutti di cuore. Da segnalare per questo studio, sia nel modello di topo (altre molecole alternative alla fluoxetina) che umano, è stato fondamentale il finanziamento (molto corposo e generoso) da parte di Generali e Fondazione Generali. Inoltre, la Prof. Bartesaghi ha illustrato

brevemente altri studi in corso in Italia (Novara) su cellule (di topo o umane) in vitro sulle quali stanno testando una libreria (centinaia) di farmaci (già approvati per altre patologie, quindi più facilmente trasferibili in caso positivo) che possano favorire la neurogenesi. Infine, da notare, che sullo stesso modello di topo, la fluoxetina sembra molto promettente anche nello prevenire la malattia di Alzheimer (in quanto, nei topi, in presenza di trattamento con fluoxetina non si sono visti segni precoci di alterazione neuronale a carico degli endosomi).

L'approccio della Dott. Cancedda è più complesso anche se ugualmente molto affascinante e promettente.

La Dott. Cancedda non proviene dal mondo medico nè dal mondo della Sindrome di Down (è laureata in Chimica e Tecnologie Farmaceutiche all'Università di Genova e ha successivamente ricevuto il dottorato in Neurofisiologia alla Scuola normale superiore di Pisa) ma si è sempre interessata del delicato/sottile equilibrio eccitazione e inibizione necessario per un cervello ben funzionante (recettori del glutammato-GABA; trasportatori che regolano la concentrazione di ione cloruro). In un congresso scopre che questo equilibrio/bilanciamento è alterato (troppa inibizione) nelle persone con problemi di apprendimento tra cui quelle con sindrome di Down. Paradossalmente, con una serie di esperimenti e ipotesi sbagliate, scopre, sui topi, che effettivamente il rapporto eccitazione/inibizione è alterato ma non per troppa inibizione ma perchè l'azione del GABA non era inibitoria ma eccitatoria. Vi era solo effetto eccitatorio nel cervello e quindi il motivo per cui le tesi non funzionavano. In altre parole, nei topi Ts65Dn il GABA funziona al contrario, e questo a causa di un eccesso di trasportatori del cloro (co-trasporto sodio/potassio/cloro di tipo 1, NKCC1) che determina un aumento della quantità di ione cloruro all'interno dei neuroni. L'esame di biopsie, ha rivelato che nel cervello di persone con sindrome di Down c'è una quantità più elevata di questo trasportatore. Lo squilibrio tra eccitazione ed inibizione può quindi essere corretto variando la concentrazione di ione cloruro dentro il neurone. Convinta, comunque, che l'idea di lavorare riequilibrando l'attività del neurotrasmettitore-chiave GABA, cioè l'equilibrio inibitorio/eccitatorio poteva essere una nuova e valida strada per migliorare il sistema cognitivo e la plasticità sinaptica-neuronale e grazie al suo background chimico-farmacologico e i tanti studi connessi, scartabellando tra tutti i farmaci che si usano per i cloruri, ha ipotizzato che il bumetanide, un inibitore di questo trasportatore usato di solito come diuretico (tipicamente contro l'ipertensione) potrebbe riportare l'inibizione al livello giusto (come effetto secondario). Provandolo sul topo trisomico, scopre che la somministrazione di bumetanide determina un completo recupero sia dei processi di memoria che di apprendimento, con una percentuale vicina al 100 per cento, sia dell'equilibrio inibitorio/eccitatorio. Dopo un lungo confronto con i clinici del Bambin Gesù di Roma riesce a convincerli che l'approccio è corretto (anche loro avevano prove che l'attivazione del recettore del GABA portava ad eccitazione favorendo crisi epilettiche). A breve si può partire con il trial clinico su adulti, finanziato dalla Fondazione Lejeune. Da notare che il progetto di ricerca è finanziato completamente da un grant Telethon (alla carriera) con la doppia finalità sia di provare il farmaco bumetanide in uno stadio precoce e vederne gli effetti a lungo termine sia di verificare se possa servire per altri disturbi tipici delle persone affette da sindrome di Down come l'epilessia, l'ansia e i problemi di sonno sia di trovare una nuova molecola che agisca con lo stesso meccanismo di azione specificamente sul trasportatore NKCC1 cerebrale e sulle basi molecolari (essere all'IIT dove esiste un dipartimento di drug discovery and development è di grande aiuto) ma che non abbia effetti collaterali quali diuresi e conseguente squilibrio di sali minerali (riduzione di potassio ma facilmente rimediabile con l'utilizzo di integratori salini). Se il risultato potrà essere traslato nell'uomo si scoprirà appena arriveranno i permessi del comitato etico del Bambino Gesù - entro qualche mese - e dell'Aifa. Ma è già pronto un trial, che dovrebbe durare circa un anno, che recluterà una sessantina di pazienti di età compresa tra i 10 e i 24 anni. Che cosa ci si aspetta? "Pur prevedendo performance variabili si spera in un miglioramento delle capacità cognitive e della memoria. Speriamo e incrociamo le dita.

La discussione si è conclusa con altri studi in corso, apigenina (un flavone presente nelle foglie di sedano e prezzemolo), la colina (vitamina B-7 presente nelle verdure a foglia verde, la lecitina, il lievito di birra, i legumi, etc.) e l'epigallocatechina gallato (tipo di catechina, la più abbondante catechina nel tè, e in particolare nel tè verde, ma di cui ancora non si conosce la loro reale efficacia.

Bartesaghi R., Haydar T.F., Delabar XJM., Dierssen M., Martínez-Cue´ C., and Bianchi D. New Perspectives for the Rescue of Cognitive Disability in Down Syndrome in *The Journal of Neuroscience*, **2015**, 35(41), 13843–13852

Guidi, S., Stagni, F., Bianchi, P., Ciani, E., Ragazzi, E., Trazzi, S., Grossi, G., Mangano, C., Calzà, L., Bartesaghi, R.

Early pharmacotherapy with fluoxetine rescues dendritic pathology in the Ts65dn mouse model of down syndrome in *Brain Pathology* **2013**, 23(2), 129-143

Deidda, G., Parrini, M., Naskar, S., Bozarth, I.F., Contestabile, A., Cancedda, L.

Reversing excitatory GABA A R signaling restores synaptic plasticity and memory in a mouse model of Down syndrome in *Nature Medicine* **2015**, 21(4), 318-326