



Articolo di **Elena Cattaneo**

Dipartimento di Scienze Farmacologiche e Centro di Eccellenza sulle Malattie Neurodegenerative, Università degli Studi di Milano

Tanto è stato scoperto, a mio avviso, sulla malattia. Non ancora abbastanza per curare, oggi, ma sufficientemente per considerarsi sulla giusta strada. Un enorme passo avanti poiché solo fino a pochi anni fa non sapevamo neppure perché una mutazione in un gene di queste grosse dimensioni potesse provocare una malattia neurologica tanto invalidante. Perché quel gene mutato, presente in tutte le cellule dell'organismo, potesse danneggiare solo alcune di esse, e perché fossero proprio i neuroni del cervello, che controllano i nostri movimenti fini e la nostra sfera sociale ed emotiva, ad esserne maggiormente colpiti.

Non sapevamo nemmeno come. Come fa quella mutazione a danneggiare i neuroni? Quali molecole coinvolge e quali meccanismi altera? E quindi: quali strade percorrere per sviluppare farmaci? E su quali bersagli mirare?

Queste sono solo alcune delle considerazioni che non possiamo ignorare, perché ci fanno apprezzare il passo incalzante della ricerca e i successi già raggiunti.

Conquiste che non hanno ancora portato a una cura, ma senza le quali è persino impossibile sperare di arrivarci. Ora, alcune di queste conquiste permettono di pensare a come progettare un potenziale farmaco perché il meccanismo che quel farmaco dovrebbe colpire e curare è noto. Tanto va ancora aggiunto e migliorato, ma non è più come cercare di riparare un'automobile senza sapere esattamente qual'è e dov'è l'ingranaggio interrotto (ed il cervello è ben più complesso e oscuro di un ingranaggio che deve servire "solamente" a fare muovere quattro ruote sull'asfalto).

Una malattia è un insieme di tanti piccoli eventi negativi, interni alle nostre cellule, che possono essere innescati da una sola o da più molecole danneggiate. Queste, a cascata, creano reazioni anomale che si succedono con una sequenza temporale che, in ultimo, possono danneggiare la cellula e il circuito in cui essa è inserita.

Per la Corea di Huntington, questi eventi e la loro sequenza non erano noti e, per alcuni aspetti, ancora molto si deve scoprire. Vi sono però tracce importanti, ipotesi e idee che, da sottili come un filo di seta, si sono intrecciate a formare funi ben resistenti alla critica e alla rigorosa valutazione sperimentale, e sulle quali, pertanto, si concentra molta attenzione e speranza. Dietro, e non c'è da meravigliarsi, vi sono altre idee e altri fili di seta, che si consolidano e si aggiungeranno alle funi più resistenti e veritiere. A mio avviso, questo è il successo di questi anni.

Inizialmente, ricordiamolo, c'era "solo" la conoscenza del gene mutato, conseguenza della storica scoperta del 1993. Per sviluppare farmaci specifici per la Corea di Huntington era però necessario comprendere maggiormente quel gene mutato, le sue funzioni, i suoi partners d'azione, gli effetti nelle varie cellule dell'organismo, le molecole e le attività enzimatiche coinvolte, le interazioni aberranti ... affinché questo complesso (ma preciso) network di molecole che il gene mutato metteva a dura prova, potesse diventare, un giorno, il giusto bersaglio da colpire per interrompere la malattia.

Su alcuni di questi meccanismi, ora, c'è più luce che ombra. Ad esempio, ora sappiamo che la proteina huntingtina mutata presenta un'elevata propensione ad aggregare, risultato di un alterato ciclo di "produzione e smaltimento", tipico di qualsiasi proteina cellulare. Ora sappiamo che questi aggregati sono tossici, perché costituiscono un impedimento fisico alle normali attività cellulari ma anche perché, al loro interno, vengono intrappolate altre importanti proteine cellulari.

In poco tempo, questi risultati sono stati giudicati così solidi da far prevedere che farmaci in grado di inibire la formazione degli aggregati di huntingtina mutata potessero essere di grande

utilità clinica. Alcuni Paesi Europei, e gli Stati Uniti, hanno quindi già avviato un ampio screening di composti chimici (si tratta di centinaia di migliaia di molecole) volto a identificare farmaci in grado di prevenire la formazione degli aggregati.

Sotto l'impulso innovativo delle più moderne nanotecnologie, questi sistemi di screening consentono, oggi, di valutare l'efficacia antiaggregante di decine di composti per settimana, avendo come sistema d'analisi una cellula messa in un piccolo piattino da laboratorio e contenente il gene mutato che, appunto, produce aggregati. I farmaci attivi, dopo questa prima valutazione, verranno poi sperimentati in sistemi multicellulari più complessi e, successivamente, nell'animale da esperimento, in cui l'effetto del farmaco verrà valutato anche in funzione della sua capacità di accedere e permanere nel tessuto da curare. Nel caso di un farmaco che si rivelasse di grandi potenzialità terapeutica ma scarsamente solubile o biodisponibile al sito desiderato, sarà anche possibile intervenire chimicamente al fine di modificarne la struttura, in modo da mantenere l'effetto terapeutico migliorandone anche le sue caratteristiche di disponibilità.

Una seconda strada, che crediamo complementare, è rappresentata dal suggerimento di ripristinare le funzioni neuroprotettive dell'huntingtina sana che, nel malato, non è presente in condizioni ottimali.

Questa strada, più recente, nasce interamente da noi, da studi condotti presso l'Università degli Studi di Milano ed è ora oggetto di esperimenti da parte di colleghi di tutto il mondo. Questo anche alla luce delle nostre ultime scoperte che vedono l'huntingtina sana come un importante attivatore di geni neuronali.

Lo scorso 27 Luglio 2003 la rivista scientifica Nature Genetics* riportava questi risultati in anteprima, firmati, come co-primi autori, da Chiara Zuccato e Marzia Tartari del laboratorio.

Due ricercatrici, insieme a Dorotea Rigamonti, Andrea Crotti, Donato Goffredo, Marta Valenza, Luciano Conti e Tiziana Cataudella e agli altri collaboratori del laboratorio, che aggiungono alla serietà e alla responsabilità del lavoro che svolgono, l'assiduità e l'ansia di chi non può aspettare domani per vedere il risultato di un esperimento.

Abbiamo cominciato diversi anni fa, pensando che dovesse pur esserci un'altra strada, una sorta di "uscita alternativa", nel caso in cui tutte le altre ipotesi sulla malattia avessero fallito.

Il rischio del fallimento è, infatti, sempre bene in vista e, nonostante i risultati, non deve mai essere sottovalutato. Questo rischio può essere affrontato e annullato solo attraverso il lavoro serio e incessante di chi considera molteplici strade che potrebbero poi convergere in una sola o che potrebbero sommarsi per dare un effetto maggiore e una cura migliore.

Oggi, credo, siamo al punto di essere convinti, anche se con un po' di cautela, che quell'uscita alternativa possa trasformarsi in una strada principale.

I nostri primi studi, iniziati da Dorotea Rigamonti, avevano infatti suggerito che l'huntingtina normale, proteina presente in tutte le persone, fosse importantissima per i neuroni del cervello. Nel 2000, Dorotea dimostrava che l'huntingtina sana agisce da proteina "salva-neuroni" e che, quando mutata, essa perde questo effetto. Era un passo avanti, ma soprattutto, era una nuova prospettiva aperta sulla malattia e sui suoi meccanismi.

L'anno successivo, Chiara Zuccato, col laboratorio, dava un altro importante impulso alla ricerca dimostrando e pubblicando, su Science, che la morte dei neuroni del cervello, nella malattia, poteva essere ricondotta ad un minor funzionamento dell'huntingtina sana, e non alla tossicità dell'huntingtina mutata.

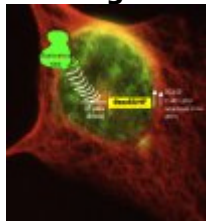
Non significava soppiantare un'ipotesi, sicuramente veritiera, quale quella che vede l'huntingtina mutata e i suoi aggregati, come un evento tossico per la cellula. Significava capire però, e aggiungere, un altro importante evento molecolare da considerare in questa malattia. E capimmo anche che si trattava di un'importante scoperta, un evento che poteva essere volto a favore della speranza, se oggetto di ulteriori approfondimenti.

I risultati pubblicati su Science dimostravano, infatti, che l'huntingtina sana, normalmente, protegge i neuroni perché sostiene la produzione di un fattore chiamato Brain Derived Neurotrophic Factor (BDNF), fondamentale per la sopravvivenza di quelle cellule del cervello. La mutazione nell'huntingtina impedisce questa attività, con la conseguenza che i neuroni si trovano senza "l'alimento" che permette loro di sopravvivere. Questa scoperta apriva molteplici

vie di indagine, di cui una (ma altre sono in corso), ha portato, dopo due anni, alla nuova scoperta del laboratorio, ora in pubblicazione su Nature Genetics*.

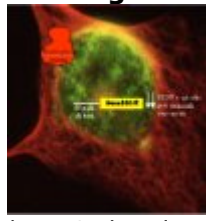
In questo recente lavoro abbiamo rafforzato di molto la conclusione precedente. Soprattutto, abbiamo capito esattamente come fa l'huntingtina sana a stimolare la produzione di BDNF. Abbiamo infatti scoperto che, normalmente, l'huntingtina sana e' importantissima per il cervello in quanto "parla" ad una precisa sequenza di DNA situata nel gene del BDNF, attivandola e utilizzandola come una sorta di interruttore-bersaglio (vedasi figura).

Huntingtina sana



L'huntingtina sana accende le 55 paia di basi e accende il gene BDNF e gli altri 20 geni neuronali che contengono quelle stesse 55 paia di basi.

Huntingtina mutata



La mutazione impedisce l'effetto benefico dell'huntingtina sana (descritto nel pannello a fianco). BDNF e gli altri geni neuronali non sono attivi: questo causa danno neuronale

Nella malattia, la mutazione nell'huntingtina fa perdere alla proteina questo importante controllo sull'interruttore-bersaglio e il BDNF non viene più prodotto. Questo interruttore-bersaglio consiste in un piccolo frammento di DNA di soli 55 paia di basi (lettere del DNA) e abbiamo anche dimostrato che non e' presente solamente nel gene del BDNF ma e' localizzato in altri 20 geni neuronali, concludendo, quindi, che l'huntingtina sana, e le sue

attività, sono importantissime per fare funzionare in modo ottimale un numero elevato di cruciali geni neuronali.

Oltre ad aggiungere importanti conoscenze sui meccanismi della malattia, questo studio pone l'attenzione su quel piccolo frammento di DNA, ed ora lavoreremo per identificare farmaci che agiscano su di esso esattamente come l'huntingtina sana, ripristinandone quindi le attività benefiche.

In assenza di cure si tratta ancora di restare con i piedi per terra ma, sicuramente, giorno dopo giorno, questi e tanti altri risultati devono aiutare a mantenere alta la fiducia nella ricerca e nel lavoro accanito di persone come Chiara, Marzia, Dorotea, Donato, Marta, Andrea, Luciano, Tiziana e gli altri colleghi del laboratorio e nel mondo.

Questo senza dimenticare mai l'importanza di Enti come il Telethon, l'Huntington's Disease Society of America, l'Hereditary Disease Foundation e le Associazioni dei Malati, che sono le radici su cui crescere continuamente.

Un "laboratorio agguerrito" non e' dunque mai solo, ma si confronta e si muove in un contesto mondiale che, continuamente, offre, riceve e aggiunge miglioramenti, strategie, stimoli, oltre che altri solidi risultati.

Un contesto ricco di ricercatori con un futuro comune: la cura per la Corea di Huntington.

Elena Cattaneo

Dipartimento di Scienze Farmacologiche e Centro di Eccellenza sulle Malattie Neurodegenerative, Università degli Studi di Milano
elena.cattaneo@unimi.it

*Articolo di riferimento:

Chiara Zuccato^o, Marzia Tartari^o, Andrea Crotti, Donato Goffredo, Marta Valenza, Luciano Conti, Tiziana Cataudella, Blair R. Leavitt, Michael R. Hayden, Tõnis Timmusk, Dorotea Rigamonti and Elena Cattaneo, Huntingtin interacts with REST/NRSF to modulate the transcription of NRSE-controlled neuronal genes. Nature Genetics, in stampa, Settembre 2003, Volume 35. (°co-primi autori)