

N. 10 – GIUGNO 2021

AINAT *news*

PERIODICO SCIENTIFICO E DI INFORMAZIONE
DELL' ASSOCIAZIONE ITALIANA NEUROLOGI AMBULATORIALI TERRITORIALI



**Luci e ombre su Aducanumab
Le comorbidità dell'emicrania
Sonno e infiammazione
La responsabilità civile del medico
Non solo Scienza: Quattro virtù per combattere il COVID**

Scritti di

**Pasquale Alfieri, Gennaro Cascone, Domenico Cassano, Gianluca Coppola,
Vincenzo De Stefano, Vincenzo Galatro, Carlo Alberto Mariani,
Franco Salerno, Roberto Tramutoli, Giovanna Trevisi, Sofia Verderosa**

ainat.it

IN QUESTO NUMERO

L'EDITORIALE

A 100 ANNI DA QUEL GRAMMO DI RADIO... UN ANNIVERSARIO POCO RICORDATO

Dedicato a Marie Curie, prima donna ad ottenere ben due Premi Nobel, vera antesignana dell'emancipazione femminile

Roberto Tramutoli, pag. 4

LETTERE AL DIRETTORE

EPPUR SI MUOVE ... ANCORA!

Quale futuro per la nostra Associazione dopo l'oscuro periodo del COVID: le prospettive, le attese

Gennaro Cascone, pag. 7

AINAT SICILIA 2018-2021: TRAGUARDI RAGGIUNTI E PROGRAMMI FUTURI

Carlo Alberto Mariani, pag. 9

NEUROSCIENZE

LE COMORBIDITA' DELL'EMICRANIA

Gianluca Coppola, pag. 10

SONNO E INFIAMMAZIONE

Una breve riflessione sui rapporti fra sonno, infiammazione e sistema immunitario

Vincenzo De Stefano, pag. 16

ADUCANUMAB

Luci e ombre sul nuovo farmaco approvato dalla FDA contro l'Alzheimer (I parte: Le luci)

Sofia Verderosa, pag. 20



LA RESPONSABILITA' CIVILE DEL MEDICO

IL NUOVO SISTEMA BINARIO DI RESPONSABILITÀ, TRA MEDICO E STRUTTURA SANITARIA (PARTE II)

Guida sulla responsabilità medico-sanitaria, aggiornata alla riforma Gelli-Bianco (L. n. 24/107)

Vincenzo Galatro, pag. 23

PER UN'ANTROPOLOGIA DEL SACRO

QUATTRO VIRTÙ PER COMBATTERE IL COVID

In vetta alla classifica dei Santi più invocati nel corso della pandemia spicca la figura di Santa Rita, la santa dei "casi impossibili"

Franco Salerno, pag. 38

LA RUBRICA: LIBRIAMOCI

MANGIA SANO CHE TI PASSA di Barbanti e Jirillo, pag. 47

XIII GIORNATA DELLA CEFALEA

La cefalea, un disturbo invalidante che colpisce un miliardo di persone

Intervista a Giovanna Trevisi, pag. 48

UNA PARTNERSHIP CON L'ANIRCEF

La lettera del prof. Piero Barbanti, pag. 55

NEWS DAI CONGRESSI AINAT

CORSO DI PERFEZIONAMENTO SULLE DEMENZE

Dalla medicina territoriale alla diagnosi di precisione: un percorso realistico, pag. 56

IV CONGRESSO REGIONALE AINAT SICILIA 2021

AINAT Sicilia 2018-2021: Traguardi raggiunti e programmi futuri, pag. 57

AL DI LA' DEL FARO. NUOVI ORIZZONTI DI CONOSCENZA IN NEUROSCIENZE

Meeting AINAT, Vietri Sul Mare, 15-16 ottobre 2021, pag. 58



IN MEMORIAM

IL TUO SORRISO CI MANCHERA'

L'ultimo saluto a Dario Grossi, pag. 59

CARE MEMORIE

La nascita dell'AINAT e un ricordo del compianto Dario Grossi

Gennaro Cascone, pag. 60

INSERTO SPECIALE

GEORGE HUNTINGTON: UN'EREDITA' DI RICERCA E DI SPERANZA

Domenico Cassano

DALLA DISFUNZIONE DELLA HUNTINGTINA ALLA MALATTIA DI HUNTINGTON

Cerrato Daniela

***In copertina:* La più antica immagine conosciuta di Santa Rita (particolare della cassa che contenne il corpo, 1457, Santuario di Cascia)**



L'EDITORIALE

A 100 anni da quel grammo di radio... un anniversario poco ricordato

Dedicato a Marie Curie, prima donna ad ottenere ben due Premi Nobel, vera antesignana dell'emancipazione femminile

Roberto Tramutoli

Il 21 Maggio del 1921 il Presidente degli Stati Uniti Warren G. Harding consegnava a Marie Curie una scatola di legno che rivestiva una pesante scatola di piombo al cui interno era contenuta una fiala con un grammo di Radio del valore di 121.000 dollari. Fu proprio grazie a questa "consegna" che la scienziata francese poté continuare l'implementazione dell'Istituto del Radio a Parigi e le ricerche sulla radioattività, completate dalla figlia Irene, anch'ella Premio Nobel per la fisica, con la scoperta della radioattività artificiale nel 1935, un anno dopo la morte di Marie.

Sebbene Marie Sklodowska Curie fosse all'epoca famosa ed avesse ottenuto già i due Nobel per la fisica e la chimica, sarebbe stato proprio questo gesto a consentirle di progredire e ultimare la sua opera. La radioterapia (all'epoca nota appunto come Curieterapia) da questo momento in poi accelera nella sua messa a punto e nelle applicazioni pratiche di controllo dei tumori.

Il viaggio negli USA era avvenuto al termine di una martellante campagna pubblicitaria condotta dall'amica giornalista Marie Mattlingly Meloney e grazie alle donazioni delle donne americane aveva permesso di raccogliere i fondi necessari all'acquisto del radio. L'Istituto del Radio (oggi Istituto M. Curie) versava all'epoca in situazioni precarie, sia per l'oggettivo costo proibitivo del radio che per l'immagine stessa della scienziata, discreditata 10 anni prima da una vicenda personale che aveva lasciato forti strascichi nell'opinione pubblica e nel mondo scientifico.

Durante la Conferenza di Solvey a Bruxelles nel 1911, la Curie aveva ricevuto la notizia della vincita del secondo premio Nobel per la chimica, ma quasi



contemporaneamente anche un secondo telegramma che la informava del furto di alcune lettere private nel suo appartamento poi consegnate alla stampa. Il giornalista Gustave Téry, pubblicandole su l’OEvre accusava la scienziata di essere “straniera”, oltre che ebrea e soprattutto della relazione con Paul Langevin, un allievo del marito Pierre, deceduto nel 1906.

Lo scandalo che seguì travolse la donna facendo crollare la fama che si era guadagnata nel tempo. Fu una rivolta non solo del popolo, che con atti vandalici costrinse la donna e le figlie a cambiare alloggio e rivolgersi a conoscenti, ma anche del mondo scientifico. Vari docenti della Sorbona (dove dal 1906 le era stata assegnata la cattedra di Fisica) le consigliarono di lasciare la Francia e Svante Arrhenius, per conto del Comitato Scientifico, le

suggerì di non presentarsi in Svezia per la consegna del Premio. Nessuno aveva chiesto al Langevin di lasciare il Paese o l’aveva condannato.

Ma la scienziata rifiutò, determinata a vedersi riconoscere i propri meriti. Come riporta Barbara Goldsmith nella biografia di Marie Curie: “Il peccato di Marie era soprattutto quello di non essere solo un’amante ma una donna emancipata, quando donne del genere erano considerate da entrambi i sessi una minaccia”. La stessa Marie decisamente affermava: “Il premio mi è stato assegnato per la scoperta del radio e del polonio e credo non vi sia alcun rapporto tra la mia opera scientifica e le vicende della mia vita privata... In linea di principio non posso ammettere che le calunnie e le maldicenze della stampa influenzino l’apprezzamento accordato al mio lavoro. (Monica Penetto: ilbolive.unipd.it/it/marie-curie-il-ritratto).

La storia di Marie Curie induce quantomeno a due riflessioni.

La prima è che la carenza di sovvenzioni da parte degli Stati nei confronti della ricerca è da sempre uno dei grandi limiti del progresso. Eppure la Francia dei primi decenni del secolo scorso avrebbe potuto certamente sostenere il lavoro della scienziata più importante di cui disponeva all’epoca e i cui effetti benefici si erano già visti nel corso del primo conflitto mondiale. Era stata proprio lei che nel 1914 aveva intuito che serviva portare la scienza e il progresso direttamente al fronte e si era adoperata per trasformare un veicolo in una unità mobile per raggi X (poi denominato Petite Curie), incorporando anche una dinamo e un generatore elettrico. Inoltre, sempre di sua iniziativa, aveva raccolto un finanziamento dalle donne parigine per adattare venti di tali veicoli e addestrare altrettante volontarie. Grazie a lei, numerose amputazioni non necessarie erano state evitate.



La seconda riflessione è forse ancora più profonda e grave. Nella campagna denigratoria avviata nei suoi confronti è forse comprensibile, per l'epoca, la violenta reazione della popolazione. I pregiudizi morali calpestano le benemeritenze e la grandezza dell'essere in quanto più radicati nella coscienza e nell'istinto del popolo e pertanto più forti di qualsiasi ragione. Meno giustificabile appare invece la reazione del mondo scientifico di allora. Una buona dose di tornaconto che impedisce di schierarsi nel giusto, un istinto di conservazione dello status quo e, non ultima, probabilmente una discreta dose di invidia per il prestigio raggiunto da una donna: sono elementi che non dovrebbero appartenere alla Scienza ma che sistematicamente ritornano quando qualcuno raggiunge vette ai più precluse. E purtroppo non sarà Marie l'ultimo caso.



LETTERE AL DIRETTORE

EPPUR SI MUOVE... ANCORA!

Quale futuro per la nostra associazione dopo l'oscuro periodo del COVID: le prospettive, le attese.

Gennaro Cascone, neurologo ambulatoriale, segretario AINAT 2006-2018

Erano le ultime settimane di febbraio del 2020 quando cominciammo a sentire il primo brusio, le prime voci sparse, e spesso anche contraddittorie, che parlavano di un misterioso virus proveniente dall' Oriente e la cui crudeltà segnò poi l'animo di ciascuno di noi.

Per l'AINAT il 2020 si annunciava ricco di progetti e di sogni che apparivano facili da realizzare alla luce di quello che era già stato fatto l'anno precedente nonostante alcune iniziali incomprensioni che, personalmente, ho sempre considerato fisiologiche in ogni gruppo di persone che camminano insieme.

Nel 2019 questa rivista era già nata. Nell'ottobre dello stesso anno eravamo riusciti a realizzare un congresso nazionale che amalgamava in una chimica perfetta la ricchezza del programma scientifico con quella naturale, spettacolare e culturale della città ospitante, vale a dire Napoli. Significativa ed emblematica la presenza di tanti ospiti stranieri, tra cui citiamo personalità scientifiche del calibro di Remi Burstein e Lars Edvinsson.

Dal punto di vista societario ci fu la svolta dell'approvazione del nuovo Statuto più consono alle mutate esigenze legislative, grazie al quale fu possibile aderire alla SIN (Società Italiana di Neurologia), il che apriva la nostra Associazione a nuovi orizzonti, pur nel rispetto della nostra autonomia.

Poi ci fu l'eclissi. Il congresso nazionale 2020, programmato per Firenze e che doveva aprire la nostra associazione anche in regioni del Nord, laddove la Neurologia del Territorio è scarsamente rappresentata, svanì assieme a tanti eventi ed iniziative – cosa capitata non soltanto all'AINAT.



Alcuni obblighi statutari sono stati forzatamente disattesi. Non è stato possibile radunare il Consiglio Direttivo e nemmeno l'Assemblea dei Soci. Non è stato presentato all'Assemblea il bilancio annuale per la necessaria e obbligatoria approvazione. Non essendoci stati consigli direttivi, dal 2018 non è stata approvata l'iscrizione di nessun nuovo socio, nonostante le richieste pervenute, il che è drammatico in quanto deve essere chiaro e noto a tutti che se vogliamo continuare ad esistere abbiamo bisogno dei giovani.

Non conosco lo stato di salute dell'AINAT riguardo agli adempimenti fiscali, spero che il prof. Cirillo, che ci guida in tale ambito fin dalla fondazione, non si sia dimenticato di noi.

In base allo Statuto l'Associazione è amministrata dal Consiglio Direttivo, ma in tale situazione, potevano fare di più i vari Mimmo Cassano, Giovanna Trevisi e tutti gli altri consiglieri uno per uno?

Col vecchio statuto il Direttivo restava in carica 5 anni ma c'era sempre stata l'abitudine delle dimissioni al termine del terzo anno per dare onore e oneri a tutti. Non so quali siano le intenzioni degli attuali consiglieri, forse dovrebbero continuare per portare a termine la missione. Forse il Direttivo avrebbe bisogno dell'iniezione di nuova linfa, non tanto per occupare le poltrone libere ma per agire e spingere. Aspettiamo il Consiglio Direttivo e l'Assemblea dei Soci 2021. Ma prima di convocare le due assemblee occorre ricostituire i libri dei verbali legalizzati nonché ricomporre l'elenco dei soci in regola.

Infine, essendo questo un periodico trimestrale ed essendo questo il numero di giugno, come ogni anno vorrei porgere, in occasione del 25 giugno, gli auguri per il suo compleanno al nostro presidente Domenico Cassano che in questo oscuro periodo di COVID, nonostante tutto, ha tenuto in vita l'AINAT. Auguri Mimmo. Ti auguro di conservare ancora per anni e anni e anni la tua energia e ogni tua curiosità e interesse in modo da poterne trarre anche noi giovamento. Grazie.



AINAT SICILIA 2018-2021: TRAGUARDI RAGGIUNTI E PROGRAMMI FUTURI

Carlo Alberto Mariani, neurologo territoriale, responsabile di Branca e referente Aziendale PDTA Parkinson ASP di Palermo, Coordinatore Regionale Ainat Sicilia

Anche quest'anno Ainat Sicilia incontra i neurologi e le altre professionalità di settore. Dopo aver organizzato il congresso residenziale di Agrigento del 2019 e il webinar "pandemico" del 2020, sperimenta la modalità ibrida, l'unica resa possibile grazie alle nuove normative ministeriali, scegliendo la città di Palermo come base logistica.

Su indicazione del Presidente, a causa della rivoluzione organizzativa indotta dal COVID-19, quest'anno non si terrà il Congresso Nazionale e di conseguenza verranno rinviati all'anno prossimo i rinnovi delle cariche direttive in scadenza sulla base di "normali" elezioni democratiche.

Finalmente quest'anno sarà possibile presentare un programma accreditato e articolato in cinque sessioni, di cui una composta da relazioni "carrefour", relative a quei settori culturali e governativi in cui Ainat Sicilia è entrata, inserendo "anche" la propria posizione organizzativa. E ciò in accordo con la nostra mission statutaria: siamo riusciti in questo triennio a conquistare spazi di operatività in quelle tematiche neurologiche orientate alla multidisciplinarietà e alla costituzione di reti operative e funzionali per il paziente. Per tale motivo ci siamo occupati, accanto alla componente scientifica, anche di tutti quegli aspetti operativi "pratici" con cui il neurologo territoriale ha quotidianamente a che fare, e la cui efficiente gestione rappresenta un plus per l'assistito.

La nostra partecipazione alla stesura del PDTA per la M. di Parkinson (patologia in cui abbiamo ottenuto dal 2019 pari potere prescrittivo rispetto ai colleghi universitari e ospedalieri), il nostro recente inserimento nel tavolo tecnico assessoriale per le demenze, la conquistata prescrivibilità per la nostra categoria di tutti i farmaci antiepilettici, il nostro avvio di percorso di inserimento nei tavoli tecnici per le cefalee e per le malattie neuromuscolari, "illustra" quindi, guardando al triennio trascorso, denso di traguardi raggiunti, e in proiezione ai prossimi anni, il programma congressuale di quest'anno.

Arricchito dall'inserimento tra i relatori di colleghi prestigiosi in ambito regionale e nazionale, speriamo di continuare a raccogliere consensi societari ed intersocietari, come è avvenuto di recente con la SIN, al fine di inserire la nostra figura professionale nei contesti culturali che merita.



LE COMORBIDITA' DELL'EMICRANIA

Gianluca Coppola

Sapienza Università di Roma Polo Pontino, Dipartimento di Scienze e Biotecnologie Medico-Chirurgiche, Latina

Negli ultimi anni, diversi autori hanno chiaramente osservato che i disturbi emicranici sono in comorbidità con una pletora di patologie, non solo del sistema nervoso centrale. Questa comorbidità è sempre bidirezionale, con i pazienti emicranici più frequentemente affetti da comorbidità, così come l'emicrania è frequentemente in comorbidità con la patologia in esame (Altamura et al., 2021). Le varie comorbidità possibili e i relativi meccanismi fisiopatologici condivisi possono essere riassunti come segue:

- I pazienti con emicrania, specialmente con aura, presentano un aumentato rischio a lungo termine di eventi cardiovascolari e cerebrovascolari. Sia la disfunzione endoteliale che lo stato pro-infiammatorio, sotto l'ombrello della cosiddetta attivazione endoteliale, collegano la malattia vascolare all'emicrania. Una peculiare espressione di geni legati ai tessuti vascolari e muscolari lisci, come quelli rivelati dagli studi GWAS (Gormley et al., 2016) e la co-occorrenza dell'emicrania con disturbi mitocondriali possono collegare la patologia emicranica con i disturbi vascolari. Tuttavia, acquisite o geneticamente determinate anomalie strutturali e funzionali all'interno del tronco cerebrale possono anche contribuire ad una anomala regolazione dell'accoppiamento neurovascolare che in congiunzione con il rilascio di peptidi vasoattivi come CGRP, PACAP e NO può modificare l'autoregolazione del calibro dei vasi e predisporre alla comorbidità.
- L'emicrania condivide una comorbidità bidirezionale con la sindrome metabolica, di cui fanno parte l'iperinsulinemia, il diabete e l'obesità (Rainero et al., 2018). La prevalenza dell'emicrania sembra essere inferiore nei pazienti con diabete di tipo 1, mentre la prevalenza del diabete di tipo 2 sembra essere inferiore nelle persone con emicrania. I pazienti con emicrania sono a più alto rischio di sviluppare ipotiroidismo e viceversa. Ulteriori studi sono necessari per capire la sequenza causale delle relazioni (predisposizione di base condivisa, causalità diretta o indiretta) tra emicrania, malattie metaboliche ed endocrine. Questi studi potrebbero aprire nuove strade interessanti nella prevenzione dell'emicrania.



- La frequenza dell'epilessia tra le persone con emicrania e la prevalenza di emicrania tra i pazienti con epilessia è superiore a quella della popolazione generale (Parisi et al., 2013). Una disritmia talamocorticale dovuta ad anomalie morfofunzionali del tronco encefalico, in combinazione con uno stato di diseccitabilità corticale può giocare un ruolo nell'associazione tra le due patologie. Le varianti genetiche di suscettibilità comuni, principalmente coinvolte nella neurotrasmissione glutamatergica e nella plasticità sinaptica, possono collegare l'emicrania e l'epilessia. Inoltre, il fenomeno della cortical spreading depression (CSD) e la presenza di un focus epilettico possono facilitarsi a vicenda, con la CSD che può contribuire alla diffusione della crisi epilettica.
- C'è ampia letteratura sull'associazione tra disturbi psichiatrici ed emicrania, come ad esempio con il disturbo depressivo maggiore (MDD), il disturbo bipolare, il disturbo post-traumatico da stress ed i disturbi d'ansia. Meccanismi condivisi di comorbidità potrebbero essere l'attività di squilibrio anatomico e neurochimico dei nuclei monoaminergici (5-HTergici, dopaminergici) del tronco encefalico, l'alterazione dell'asse ipotalamo-ipofisi-surrene, la disfunzione della rete "neurolimbica", una diatesi infiammatoria comune, ovviamente in presenza di determinanti genetici comuni.
- Molti studi hanno confermato l'alta prevalenza della fibromialgia (FM) tra i pazienti con emicrania e, viceversa, i pazienti con FM soffrono comunemente di emicrania cronica e cefalea di tipo tensivo cronica (De Tommaso et al., 2011). Sono necessarie ulteriori ricerche per capire perché l'emicrania episodica a bassa frequenza, come l'emicrania con aura, raramente condividono questa comorbidità. Il legame fisiopatologico comune potrebbe essere il meccanismo di sensibilizzazione centrale che può stabilirsi come risultato della plasticità sinaptica del sistema nervoso somatosensoriale in risposta a diverse cause, come quelle infiammatorie o di danno neuronale. Come per le altre comorbidità dell'emicrania, la genetica può predisporre a cambiamenti plastici corticali somatosensoriali che sottendono il processo di sensibilizzazione centrale (Di Lorenzo et al., 2015, 2012).
- Una grande quantità di dati epidemiologici mostra un'alta comorbidità bidirezionale tra i disturbi del sonno e l'emicrania, specialmente quando sono più frequenti e gravi



(Dodick et al., 2003). La privazione di sonno e una forza variabile del sistema neurobiologico del risveglio possono essere tra i vari fattori causali di un attacco di emicrania e della sua cronicizzazione (Della Marca et al., 2006). Il disturbo della respirazione durante il sonno, la sindrome delle gambe senza riposo, la narcolessia e le parasonnie sono tutti disturbi del sonno che possono associarsi all'emicrania. Diverse strutture sottocortico-corticali possono essere coinvolte nel meccanismo bidirezionale della comorbidità, come l'ipotalamo, il tronco encefalico e i circuiti talamo-corticali. I sistemi neurotrasmettitoriali certamente più coinvolti sono quelli orexinergici, serotoninergici e dopaminergici. Non si può escludere un coinvolgimento del sistema nervoso autonomo.

- Anche nel caso dei disturbi del tratto gastrointestinale alcuni autori hanno trovato chiare prove di comorbidità bidirezionale con l'emicrania. La parodontite, la malattia da reflusso gastroesofageo, l'infezione da *Helicobacter Pylori*, i disturbi del fegato, la celiachia, la sindrome dell'intestino irritabile, le malattie infiammatorie intestinali e la stipsi sono tutte frequentemente associate all'emicrania. Il rapporto meccanicistico tra l'emicrania e le malattie gastrointestinali include uno squilibrio del sistema nervoso autonomo, una maggiore attività del sistema delle citochine infiammatorie intestinali e uno squilibrio microbico intestinale. Sono necessari futuri studi randomizzati e controllati verso placebo per valutare l'efficacia clinica e la sicurezza dei probiotici nel trattamento di pazienti con emicrania.

- Come per altre comorbidità, i disturbi immunologici e autoimmuni e l'emicrania si influenzano fortemente a vicenda. Diverse malattie immunologiche autoimmuni durante le fasi attive possono esacerbare l'emicrania e l'emicrania può contribuire ad abbassare la qualità della vita del paziente se non adeguatamente trattata. Per esempio, l'emicrania è un sintomo rilevante nella sclerosi multipla soprattutto nelle prime fasi della malattia. Il possibile legame tra il lupus eritematoso sistemico e l'emicrania non è stato chiarito e quindi la comparsa di cefalea nei pazienti con lupus nella maggior parte dei casi non richiede di per sé ulteriori indagini. L'emicrania dovrebbe essere ricercata nei disturbi atopici compreso l'asma.

Nel complesso, possiamo sostenere che i meccanismi bidirezionali che probabilmente sono alla base di questa vasta comorbidità tra emicrania ed altre manifestazioni mediche sono molteplici. I fattori genetici non modificabili sono probabilmente i



protagonisti, con più geni che giocano un ruolo in diversi ambiti come la neurotrasmissione, la plasticità sinaptica, la regolazione del dolore, la funzione vascolare e il metabolismo energetico. Su questa base genetica, fattori additivi modificabili, come quelli che possono disturbare il normale equilibrio omeostatico cerebrale (disregolazione emotiva, alterazioni del ritmo sonno-veglia, regimi alimentari scorretti che possono aumentare il peso corporeo, squilibri ormonali, alterazioni muscolo-scheletriche, ritmi di lavoro anomali e abuso di sostanze) possono anche giocare un ruolo importante sia nel fissare la soglia ciclica dell'emicrania che nel favorire altre condizioni mediche. La combinazione variabile di diseccitabilità dei loop talamo-corticali, di stato pro-infiammatorio transitorio o persistente di più organi e di bisogni energetici sproporzionati indotti e promossi dalle patologie comorbide additive, possono essere fattori meccanici causativi dell'attivazione di un ampio e diffuso sistema difensivo che include il sistema trigemino-vascolare in connessione con il sistema neuroendocrino ipotalamico. Quest'ultimo, attraverso i neuroni afferenti primari estrinseci vagali e spinali, è coinvolto nel coordinamento delle risposte comportamentali appropriate agli stimoli potenzialmente pericolosi per il sistema nervoso (Grafe et al., 2017; James et al., 2017). Il prodotto finale dell'attivazione di questo sistema difensivo è lo scatenamento dell'attacco di emicrania, che fa scattare l'allarme. Quindi, inserito in un sistema cibernetico come quello che è l'organismo umano, il dolore emicranico può essere considerato la valvola di sfogo che mantiene il sistema in equilibrio stabile e impedisce l'eccessivo esaurimento delle riserve energetiche. Su questa linea di pensiero, questa potrebbe essere considerata una strategia evolutiva del nostro cervello per cercare di ristabilire una condizione di normalità e invogliare o costringere il paziente alla ricerca del riposo, all'evitamento della sovrastimolazione sensoriale, all'astensione da cibo, bevande e altri comportamenti potenzialmente minacciosi ed emotivamente angoscianti che potrebbero continuare a compromettere il soggetto nella sua totalità. Questa strategia del cervello è progettata per mantenere la sua omeostasi regolando i bisogni omeostatici, come la normale eccitabilità sottocorticale, l'equilibrio energetico, l'osmoregolazione e la risposta emotiva (Coppola et al., 2021).

Questo implica che il trattamento dell'emicrania deve sempre prevedere un approccio multidisciplinare, volto a identificare e, se necessario, eliminare i possibili fattori di rischio e di comorbidità. Ciò significa necessariamente che si deve intervenire il più presto possibile nella vita, sia da bambini che da adulti quando l'emicrania è ancora



episodica. Questo al fine di evitare l'evoluzione verso una forma cronica prima e verso la resistenza farmacologica poi. Tale processo educativo-comportamentale potrebbe favorire non solo la risposta ai farmaci per l'attacco e la profilassi, ma potrebbe anche permettere di adattare meglio la terapia al singolo paziente.

Bibliografia

1. Altamura C, Corbelli I, de Tommaso M, Di Lorenzo C, Di Lorenzo G, Di Renzo A, et al. Pathophysiological Bases of Comorbidity in Migraine. *Front Hum Neurosci* 2021;15:640574. <https://doi.org/10.3389/fnhum.2021.640574>.
2. Coppola G, Pierelli F, Schoenen J, Wang S-J, Chen W-T. *Neurophysiological Model of Migraine Pathophysiology: Bringing the Past into the Future*, Springer, Cham; 2021, p. 223–36. https://doi.org/10.1007/978-3-030-56538-1_17.
3. Dodick DW, Eross EJ, Parish JM. Clinical, anatomical, and physiologic relationship between sleep and headache. *Headache* 2003;43:282–92. <https://doi.org/10.1046/j.1526-4610.2003.03055.x>.
4. Gormley P, Anttila V, Winsvold BS, Palta P, Esko T, Pers TH, et al. Meta-analysis of 375,000 individuals identifies 38 susceptibility loci for migraine. *Nat Genet* 2016;48:856–66. <https://doi.org/10.1038/ng.3598>.
5. Grafe LA, Eacret D, Luz S, Gotter AL, Renger JJ, Winrow CJ, et al. Orexin 2 receptor regulation of the hypothalamic–pituitary–adrenal (HPA) response to acute and repeated stress. *Neuroscience* 2017;348:313–23. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2017.02.038>.
6. James MH, Campbell EJ, Dayas C V. Role of the Orexin/ Hypocretin System in Stress-Related Psychiatric Disorders. *Curr. Top. Behav. Neurosci.*, vol. 33, 2017, p. 197–219. https://doi.org/10.1007/7854_2016_56.
7. Di Lorenzo C, Coppola G, Currà A, Grieco G, Santorelli FM, Lepre C, et al. Cortical response to somatosensory stimulation in medication overuse headache patients is influenced by angiotensin converting enzyme (ACE) I/D genetic polymorphism. *Cephalalgia* 2012;32:1189–97. <https://doi.org/10.1177/0333102412461890>. Di Lorenzo C, Coppola G, Grieco G, Santorelli FM, Pascale E, Pierelli F. O041. GRIA3 (glutamate receptor, ionotropic, ampa 3) gene polymorphism influences cortical response to somatosensory stimulation in medication-overuse headache (MOH) patients. *J Headache Pain* 2015;16:A49. <https://doi.org/10.1186/1129-2377-16-S1-A49>.
8. Della Marca G, Vollono C, Rubino M, Di Trapani G, Mariotti P, Tonali PA. Dysfunction of arousal systems in sleep-related migraine without aura. *Cephalalgia* 2006;26:857–64. <https://doi.org/10.1046/j.1468-2982.2002.00350.x-i1>.



9. Parisi P, Striano P, Verrotti A, Villa MP, Belcastro V. What have we learned about ictal epileptic headache? A review of well-documented cases. *Seizure* 2013;22:253–8. <https://doi.org/10.1016/j.seizure.2013.01.013>.
10. Rainero I, Govone F, Gai A, Vacca A, Rubino E. Is Migraine Primarily a Metaboloendocrine Disorder? *Curr Pain Headache Rep* 2018;22. <https://doi.org/10.1007/s11916-018-0691-7>.
11. De Tommaso M, Federici A, Serpino C, Vecchio E, Franco G, Sardaro M, et al. Clinical features of headache patients with fibromyalgia comorbidity. *J Headache Pain* 2011;12:629–38. <https://doi.org/10.1007/s10194-011-0377-6>.
11. De Tommaso M, Federici A, Serpino C, Vecchio E, Franco G, Sardaro M, et al. Clinical features of headache patients with fibromyalgia comorbidity. *J Headache Pain* 2011;12:629–38. <https://doi.org/10.1007/s10194-011-0377-6>.



SONNO E INFIAMMAZIONE

UNA BREVE RIFLESSIONE SUI RAPPORTI FRA SONNO, INFIAMMAZIONE E SISTEMA IMMUNITARIO

Vincenzo De Stefano, Internista, Cardiologo, Direttore Centro Synthesis, Medicina Clinica Integrata

Il sonno è una complessa funzione neurobiologica, apparentemente momento di pausa e riposo di molte funzioni. In realtà è una fase di intensa attività psico-neuro-endocrina.

Nel 1985 Fagioli e Salzarulo definivano il sonno come “uno stato dell’organismo caratterizzato da una ridotta reattività agli stimoli ambientali che comporta una sospensione dell’attività relazionale (rapporti con l’ambiente) e modificazione dello stato di coscienza: esso si instaura autonomamente e periodicamente, si autolimita nel tempo ed è reversibile”.

In realtà il sonno è programmato e regolato da numerose proteine sinaptiche fosforilate/fosforilabili e rappresenta una fase di intensa attività regolatrice e omeostatica.

I disturbi del sonno sono associati a un aumento di incidenza di numerose patologie: psichiatriche, metaboliche, cardiocircolatorie, immunitarie e infiammatorie.

Sonno, infiammazione e sistema immunitario: quale relazione?

I disturbi del sonno sono associati al rischio di malattie infiammatorie e mortalità per tutte le cause.

Molti studi hanno correlato e quantificato le modificazioni dei principali indici infiammatori ai disturbi del sonno e alla durata del sonno. Vi sono dimostrazioni sempre più numerose che l’insonnia contribuisce in modo indipendente al rischio di malattie infettive e infiammatorie.

Ci sono legami tra il sonno e il sistema immunitario innato, data la sostanziale evidenza epidemiologica che i disturbi del sonno (cioè insonnia, scarsa qualità del sonno e/o sonno insufficiente) contribuiscano al rischio di malattie infiammatorie.



I principali studi su sonno e infiammazione si concentrano sulla valutazione della **PCR** e della **IL-6**, due dei principali indici e determinanti infiammatori, correlati a molteplici condizioni patologiche. Spesso è stato valutato anche il TNF-alfa.

Negli studi, la durata del sonno normale è stata considerata quella di 7-8 ore. Quindi il sonno breve è stato definito come < 7 ore per notte e il sonno lungo è stato definito come > 8 ore per notte. Sono stati fatti anche studi con manipolazione sperimentale della durata del sonno per una notte o più notti, analizzando il sangue al mattino.

Complessivamente, quando tutti i metodi di valutazione sono stati combinati, i disturbi del sonno sono stati associati a livelli più elevati di **PCR** e con livelli più elevati di **IL-6**. Per il TNF-alfa non sono state evidenziate variazioni.

Va messo in evidenza che anche la eccessiva durata del sonno, > 8 ore, è stata associata ad incrementi degli indici di infiammazione: sono stati rilevati livelli più elevati di **PCR** e di **IL-6** ma non di TNF-alfa.

Vi è un numero crescente di prove che i disturbi del sonno sono associati al rischio di malattie infiammatorie e alla mortalità per tutte le cause, verosimilmente a causa degli effetti dei disturbi del sonno sui meccanismi infiammatori.

Sono state trovate maggiori correlazioni tra i disturbi del sonno e **IL-6** rispetto a quelle con **PCR**. Si pensa che i disturbi del sonno inducano primariamente aumenti di **IL-6** che a sua volta induce aumenti di PCR. Pertanto l'aumento della PCR potrebbe essere dovuto a disturbi del sonno più persistenti e gravi.

Gli effetti dei disturbi del sonno sull'infiammazione non sono associati all'età e le correlazioni sono comparabili negli uomini e nelle donne, sebbene qualche studio di alta qualità abbia mostrato che le donne, rispetto agli uomini, possono essere più vulnerabili agli effetti dei disturbi del sonno e mostrano maggiori aumenti di PCR e IL-6.

Complessivamente questi risultati hanno implicazioni per la comprensione del profilo di rischio differenziale per i disturbi infiammatori tra i sessi. Ad esempio, i sintomi soggettivi del sonno disturbato sono associati a un rischio maggiore di malattie cardiovascolari nelle donne rispetto agli uomini.

Nella valutazione degli estremi della durata del sonno, la lunga durata del sonno, ma non la breve durata, è stata associata ad aumenti di PCR e ad aumenti di IL-6.

Anche l'accorciamento della durata del sonno, mediante privazione sperimentale, non è stato associato ad aumento di PCR o IL-6.

È interessante notare che le associazioni tra la durata del sonno e l'infiammazione sono parallele ai risultati che collegano il sonno e la mortalità.



I meccanismi che potrebbero spiegare le associazioni tra disturbi del sonno e infiammazione sono relativamente inesplorati. Il sonno influenza due sistemi effettori primari, l'asse ipotalamo-ipofisi-surrene (HPA) e il sistema nervoso simpatico (SNS), che insieme spostano il profilo di espressione genica basale verso una maggiore inclinazione proinfiammatoria. L'attivazione della segnalazione β -adrenergica induce aumenti di NF- κ B, espressione genica infiammatoria, produzione di citochine proinfiammatorie e marcatori di infiammazione sistemica. Dato che il normale sonno notturno è associato a un calo dell'attività simpatica, l'attivazione della via dell'effettore simpatico è un meccanismo biologicamente plausibile per spiegare le associazioni tra disturbi del sonno, breve durata del sonno e aumento dei marker di infiammazione. L'associazione tra sonno prolungato e infiammazione può essere il risultato di comorbilità sottostanti, che non sono state completamente controllate. Considerando che nessuno studio ha valutato sistematicamente se livelli elevati di infiammazione mediano l'associazione tra disturbi del sonno e malattie cardiovascolari o altre malattie che hanno una componente infiammatoria tra cui cancro e depressione, numerosi dati mostrano che i disturbi del sonno, così come gli estremi della durata del sonno, sono collegati a molteplici morbilità e alla mortalità. I disturbi del sonno e la lunga durata del sonno dovrebbero essere considerati fattori di rischio comportamentali aggiuntivi per l'infiammazione, che possono essere modificati attraverso trattamenti mirati ai comportamenti del sonno. In effetti, è stato scoperto che il trattamento dell'insonnia riduce l'infiammazione e, insieme alla dieta e all'attività fisica, rappresentano una terza componente nella promozione della salute del sonno.

Bibliografia

Irwin MR: Sleep and inflammation: partners in sickness and in health. *Nat Rev Immunol*. 2019 Nov;19(11):702-71

Irwin MR, Olmstead R, Carroll JE: Sleep Disturbance, sleep duration, and inflammation: A Systematic Review and Meta-Analysis of Cohort Studies and Experimental sleep Deprivation. *Biol Psychiatry*. 2016 Jul 1;80(1):40-52

Irwin MR, Vitiello MV: Implications of sleep disturbance and inflammation for Alzheimer's disease dementia. *Lancet Neurol*. 2019 Mar;18(3):296



Besedovsky L, Lange T, Haack M: The Sleep-Immune Crosstalk in Health and Disease. *Physiol Rev.* 2019 Jul 1;99(3):1325-1380

Atrooz F, Salim S: Sleep deprivation, oxidative stress and inflammation. *Adv Protein Chem Struct Biol.* 2020;119:309-336

Dolsen MR, Crosswell AD, Prather AA: Links Between Stress, Sleep and Inflammation: Are there Sex Differences? *Curr Psychiatry Rep.* 2019 Feb 7;21(2):8

Irwin MR, Opp MR: Sleep Health: Reciprocal Regulation of Sleep and Innate Immunity. *Neuropsychopharmacology.* 2017 Jan;42(1):129-155



ADUCANUMAB

LUCI E OMBRE SUL NUOVO FARMACO APPROVATO DALLA FDA CONTRO L'ALZHEIMER

Sofia Verderosa, medico, Centro ANEMOS, Nocera Inferiore (SA)

Parte I – Le luci

Un faro di speranza si accende all'orizzonte per i tanti pazienti affetti da malattia di Alzheimer, una condizione che costituisce un enorme problema di salute pubblica. Nel 2016 erano stati stimati 600.000 casi solo in Italia, a cui si aggiungono 3 milioni di persone coinvolte in vario modo nella difficile assistenza a tali pazienti.

Aducanumab (nome commerciale Aduhelm) è frutto della ricerca della multinazionale bio-tecnologica Biogen e presenterebbe come carattere innovativo il fatto che trattasi del primo a focalizzarsi non solo sui sintomi bensì sul decorso della malattia nelle sue fasi iniziali, rallentandola.

In data 7 giugno 2021, la Food and Drug Administration (FDA) – l'ente statunitense che si occupa di verificare efficacia e sicurezza dei farmaci – ha approvato il farmaco in via accelerata, con vivo entusiasmo dalla comunità scientifica internazionale se si considera che tutte le sperimentazioni in merito sono fallite: nel 2019 si contavano oltre 200 studi clinici con esito negativo o abbandonati.

Purtuttavia va detto che l'approvazione è stata conferita nonostante il parere sfavorevole pressoché unanime (dieci voti contrari e uno incerto, su undici) della commissione scientifica indipendente convocata dall'FDA, in merito ai dati contraddittori derivati dagli studi clinici.

Per tale motivo, il via libera è stato subordinato all'impegno da parte di Biogen a condurre nuovi studi clinici che ne dimostrino i benefici, senza i quali il farmaco potrebbe essere ritirato in un successivo momento.

Che cos'è Aducanumab

È un anticorpo monoclonale IgG1 umano anti-A β specifico per oligomeri β -amiloidi e fibrille implicati nella patogenesi dell'Alzheimer (AD). Secondo l'ipotesi della cascata amiloide, la tossicità correlata ai depositi della proteina β -amiloide (A β) è la prima causa di disfunzione sinaptica e della conseguente neuro-degenerazione nella malattia di Alzheimer.



Lo studio

Nel 2016, un gruppo di ricercatori di Biogen, capitanati da Jeff Sevigny e Ping Chiao, annunciano alla comunità scientifica che Aducanumab è in grado di ridurre le placche di beta-amiloide, rimuovendone o ostacolandone l'accumulo: un risultato eccezionale anche se preliminare, trattandosi di studi preclinici e clinici di fase 1, tale da guadagnarsi la copertina della rivista *Nature*.

Lo studio in doppio cieco ha esaminato sicurezza, tollerabilità, farmacocinetica e farmacodinamica di iniezioni a cadenza mensile di Aducanumab in pazienti con prodromi o affetti da "mild AD". All'inizio dello studio essi presentavano placche di amiloide A β confermate da indagini effettuate tramite PET.

Da ottobre 2012 a gennaio 2014 sono stati esaminati 165 casi con diagnosi clinica di AD a cui sono state somministrate iniezioni mensili di Aducanumab o placebo alle dosi di 1,3,6,10 mgkg⁻¹ per un anno.

Si è osservato che il trattamento con Aducanumab dopo 54 settimane riduce le placche di A β come dimostrato da PET seriate (Vedi figura 1) mentre i pazienti che hanno ricevuto placebo non hanno mostrato cambiamenti.

Sicurezza e tollerabilità

Gli effetti avversi più comuni riscontrati sono stati edema cerebrale, emicrania, infezioni del tratto urinario e infezioni delle vie respiratorie superiori. Nessun paziente è stato ospedalizzato per questi sintomi.

Risultati

In definitiva, questo studio ha dimostrato che in un periodo di tempo di 54 sett., Aducanumab penetra all'interno dell'encefalo e diminuisce le placche di A β in pazienti con AD in maniera dose e tempo-dipendente.

Se consideriamo che le placche di A β sono espressione di un processo di accumulo durato almeno 20 anni nei pazienti selezionati per il suddetto studio, questi risultati sono molto incoraggianti perchè frutto di un trattamento durato relativamente poco, vale a dire un anno.

I dati clinici e preclinici confermano che la somministrazione di Aducanumab modifica in maniera significativa la malattia: non solo riduce le placche extraneuronali di A β ma soprattutto conferisce benefici clinici.

Fine parte I



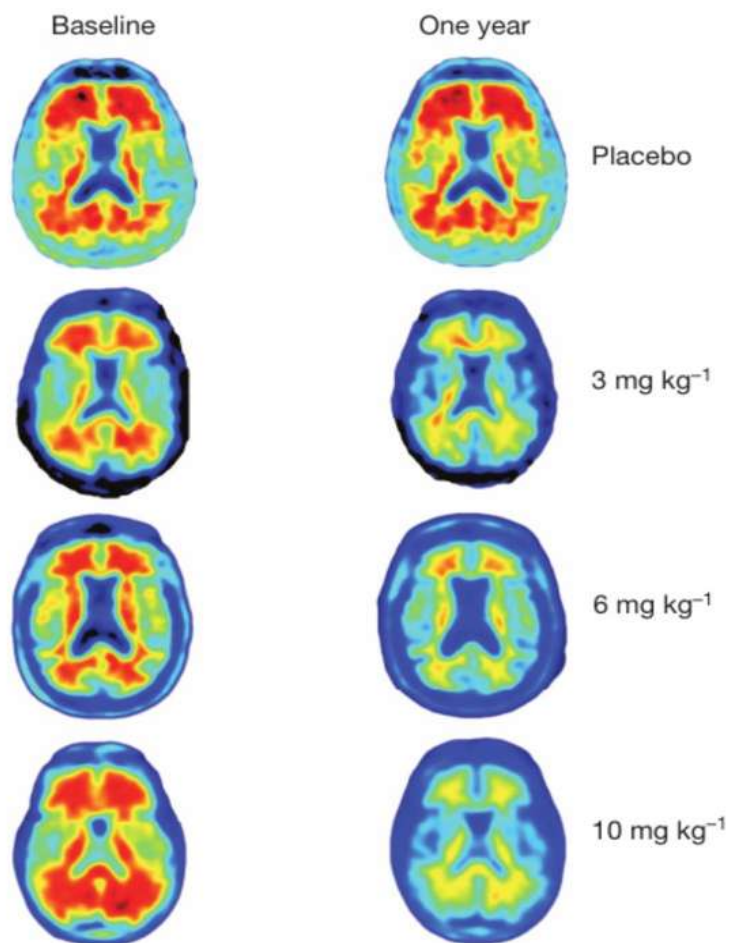


Figure 1 | Amyloid plaque reduction with aducanumab: example amyloid PET images at baseline and week 54.

Bibliografia essenziale

1. Alzheimer's Association National Office, 225 N. Michigan Ave., Fl. 17, Chicago, IL 60601
2. Sevigny J, Chiao P, Bussière T, et al. L'anticorpo aducanumab riduce le placche A β nella malattia di Alzheimer. *Nature*. 2016; 537 (7618): 50-56



RUBRICA: LA LEGGE NELLA MEDICINA a cura di Vincenzo Galatro

La rubrica affronta tematiche sulla Responsabilità medico-sanitaria e sulla Medicina Legale, argomenti che interessano la salute e la sanità, oggetto di normative e disciplinati dalla legge. Commenti e interpretazioni normative sulla base della più accreditata dottrina e aggiornata giurisprudenza.

La trattazione affronta le più importanti ed attuali questioni relative alla tutela legale del diritto alla salute, al diritto sanitario e alla responsabilità medico-sanitaria (Responsabilità medica civile e penale, responsabilità del medico strutturato e dell'ente ospedaliero, danno alla salute e danno da perdita di chance, responsabilità omissiva, violazione del consenso informato, responsabilità medica di équipe, ecc.), riportando i maggiori orientamenti teorici e giurisprudenziali in materia di responsabilità medica e sanitaria.



Vincenzo Galatro è docente e ricercatore presso Università in Italia e all'estero, ha svolto attività di ricerca e di divulgazione scientifica, a livello nazionale e internazionale, intervistato dai più importanti *mass media* e ospite in programmi e trasmissioni radiofoniche e televisive della RAI.

Avvocato, Digital Lawyer, Consulente Legale, Negoziatore e Mediatore Professionista abilitato (Ministero della Giustizia), specializzato in Bioetica, Neurobioetica, Psicologia Legale e Forense, Psicologia della Salute, Neuroscienze Cognitive, Diritto Sanitario e Responsabilità Medica e Sanitaria, *Alternative Dispute Resolution* (ADR) e Mediazione in ambito Medico-Sanitario.

LA RESPONSABILITÀ CIVILE DEL MEDICO: IL NUOVO SISTEMA BINARIO DI RESPONSABILITÀ TRA MEDICO E STRUTTURA SANITARIA (PARTE II)

Guida sulla responsabilità medico-sanitaria, aggiornata alla riforma Gelli-Bianco (L. n. 24/2017).

L'inquadramento sistematico della responsabilità medico-sanitaria è stato definitivamente tracciato dalla recente legge n. 24/2017 (legge Gelli-Bianco).

Prima di tale intervento normativo, la natura della responsabilità civile medica è stata, per lungo tempo, uno degli aspetti più problematici e controversi della responsabilità dell'esercente le professioni sanitarie.



La responsabilità civile del medico può configurarsi come una responsabilità contrattuale o extracontrattuale.

In linea di principio, la responsabilità medica è di tipo contrattuale quando tra il medico ed il paziente esiste un rapporto obbligatorio pregresso.

Più precisamente, la responsabilità contrattuale nasce quando medico e paziente stipulano tra loro un contratto: per cui, nel rapporto contrattuale il medico – obbligato a fornire una determinata prestazione – assume la veste di debitore; mentre il paziente – che ha il diritto di ricevere la prestazione a fronte di corrispettivo – assume le vesti del creditore.

Viceversa, la responsabilità extracontrattuale del medico rileva nelle ipotesi in cui non si sia precedentemente instaurato un rapporto contrattuale con l'assistito, come ad esempio accade quando l'intervento sanitario sia richiesto nei casi d'urgenza, ed il paziente sia momentaneamente in uno stato che gli impedisce di avere piena coscienza.



Fig. 1 - Le fonti della responsabilità civile medico-sanitaria.



La responsabilità contrattuale trova la sua fonte giuridica nel contratto ed è collocata nell'art. 1218 del codice civile, laddove viene asserito che «il debitore che non esegue esattamente la prestazione dovuta è tenuto al risarcimento del danno, se non prova che l'inadempimento o il ritardo è stato determinato da impossibilità della prestazione da causa a lui non imputabile».

La responsabilità extracontrattuale invece, prevista dall'art. 2043 del codice civile, affonda le proprie radici nella commissione di un illecito e, in particolare, a livello codicistico viene statuito che «qualunque fatto doloso o colposo, che cagiona ad altri un danno ingiusto, obbliga colui che ha commesso il fatto a risarcire il danno».

La collocazione della condotta diagnostica e terapeutica del sanitario nell'ambito della responsabilità contrattuale o della responsabilità extracontrattuale (o aquiliana) oltre, ovviamente, a sottolineare una precipua differenziazione della fonte da cui sorge l'obbligazione, determina una serie di conseguenze già in parte analizzate, soprattutto in termini di onere probatorio e di termine prescrizione: l'azione risarcitoria, infatti, in caso di responsabilità contrattuale, è soggetta al termine di prescrizione di dieci anni; viceversa, in caso di responsabilità extracontrattuale, l'azione risarcitoria è soggetta al termine di prescrizione di cinque anni.

Per quanto riguarda la distribuzione dell'onus probandi:

- a) nella responsabilità contrattuale l'onere della prova ricade sul soggetto inadempiente l'obbligazione, dovendo dimostrare, con maggior aggravio, che l'inadempimento non è dipeso da causa a lui imputabile, mentre il soggetto danneggiato dall'altrui inadempimento dovrà esclusivamente allegare il titolo da cui discende l'obbligazione inadempita o adempiuta malamente.
- b) nella responsabilità extracontrattuale, invece, l'onere della prova è maggiormente sbilanciato a sfavore del soggetto danneggiato, essendo gravato della dimostrazione probatoria dell'esistenza dell'illecito, dell'evento dannoso, del nesso eziologico che lega l'illecito all'evento lesivo, e per concludere, dell'elemento soggettivo.

Ciò che emerge è che la responsabilità contrattuale ha una disciplina di maggior favore nei confronti della parte danneggiata (paziente) dall'altrui inadempimento, potendo dimostrare con maggiore facilità il danno patito ed avendo un lasso di tempo più ampio per agire in giudizio.



La giurisprudenza ammette la possibilità di concorso tra la responsabilità contrattuale e quella extracontrattuale nell'ipotesi in cui un medesimo comportamento consista a un tempo nell'inadempimento di un'obbligazione e nella lesione di un diritto primario, come quello alla vita, alla salute e all'incolumità personale.

Per quanto concerne la responsabilità del sanitario esercente la professione medica, la *querelle* sulla natura della responsabilità civile del medico ha portato spesso la giurisprudenza di merito e di legittimità a pronunciare orientamenti contrastanti nel tentativo estremo di colmare i vuoti normativi.

Le incertezze relative all'inquadramento giuridico della responsabilità civile medico-sanitaria sono state dovute al mancato intervento del legislatore, ragion per cui la disciplina della responsabilità medica, sia civile che penale, per lungo tempo è stata rimessa ad una serie di orientamenti giurisprudenziali mutevoli e non sempre così chiari e dirimenti. Infatti, nel tentativo di colmare il lacunoso impianto normativo, molto spesso la giurisprudenza era giunta a pronunciare orientamenti diversi e contrastanti.

In particolare, sempre la giurisprudenza di merito e di legittimità – ma anche la dottrina maggioritaria – tendeva a ricondurre la responsabilità della struttura medica nell'alveo della responsabilità contrattuale in forza dell'obbligazione sorta tra la struttura sanitaria ed il paziente che stipulavano pattiziamente un contratto, detto anche "contratto di ospitalità". Il medico, invece, scelto dalla struttura per effettuare la prestazione sanitaria al paziente, essendo del tutto estraneo alla venuta in essere del contratto, in caso di malpractice medica, non poteva essere ricondotto ad una responsabilità contrattuale ma solamente, *ex art. 2043* del codice civile, ad una responsabilità extracontrattuale o aquiliana. Ciò ovviamente dove non fosse intervenuta *ab origine* una pattuizione individuale tra paziente e sanitario; in questo caso la responsabilità medica veniva ricondotta giocoforza alla responsabilità contrattuale, allineandosi a quella della struttura medica.



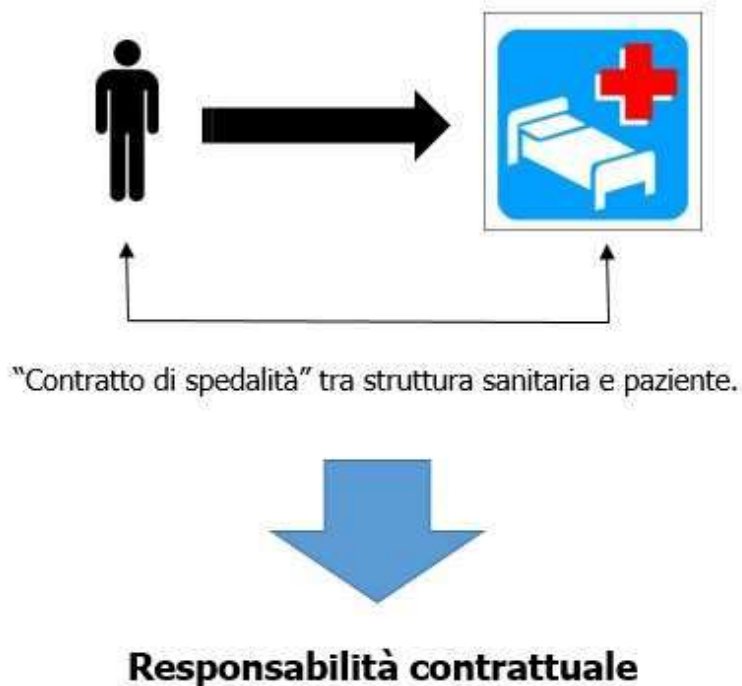


Fig. 2 - La responsabilità della struttura medica.

Per ricondurre la responsabilità civile del medico al regime giuridico della responsabilità contrattuale, ex art. 1218 del codice civile, si faceva spesso riferimento al rapporto contrattuale di fatto o da contatto sociale (detto anche "contatto sociale qualificato"), una sorta di obbligazione contrattuale che trae origine non dal fatto negoziale, ma dal mero contatto tra medico e paziente. Di conseguenza, venivano attribuiti al medico specifici obblighi di protezione nei confronti del paziente, la cui violazione imponeva il risarcimento del danno nelle forme dell'art. 1218 del codice civile.

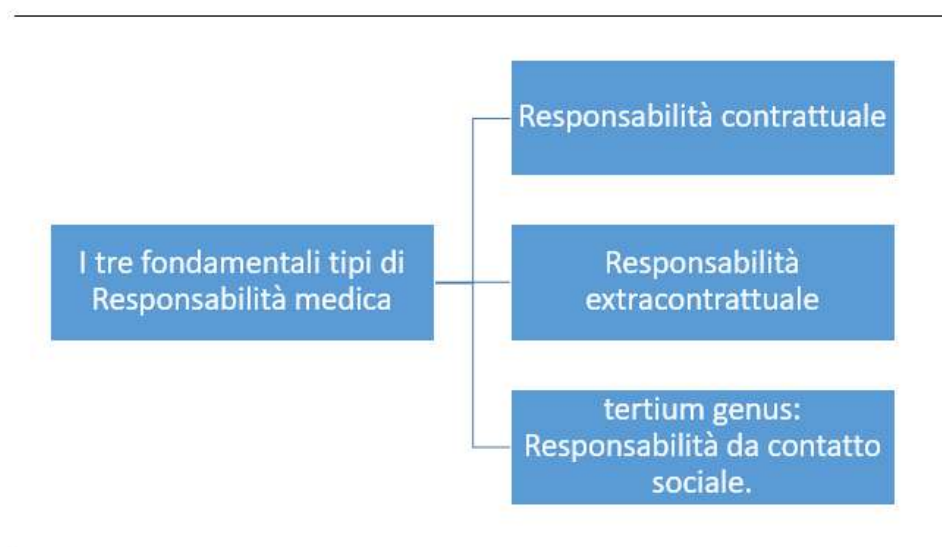
L'assetto giurisprudenziale, che in origine prevedeva la responsabilità contrattuale nei confronti della struttura medica e la responsabilità aquiliana nei confronti del medico, fu radicalmente stravolto proprio dalla storica sentenza della **Suprema Corte di Cassazione a Sezioni Unite n. 589/99**, che ha predisposto per ambedue le figure, struttura sanitaria e medico esercente, la responsabilità contrattuale.

Come appena accennato, fu escogitato, al fine di ricondurre nell'alveo della responsabilità contrattuale quella del sanitario esercente la professione medica, il cosiddetto istituto del **"contatto sociale"** ossia *latu sensu* una sorta di contratto atipico non scritto che viene in essere dal contatto tra il medico ed il paziente e dall'affidamento che quest'ultimo ripone nel medico e nella cura terapeutica predisposta. Più che una nuova tipologia di contratto, la figura del contatto sociale è un *escamotage* giuridica sorta al solo fine di ricondurre ed applicare alla responsabilità del medico le regole statuite ex art. 1218 del codice civile.

Dunque, secondo tale impostazione, al paziente spetterà allegare in giudizio il mero inadempimento dell'obbligazione generata da contatto sociale mentre il medico, a suo discarico, dovrà provare il corretto adempimento della prestazione sanitaria oppure l'inadempimento come mero effetto di una causa ad esso non imputabile ed ascrivibile.

<

Fig. 3 - I tre fondamentali tipi di responsabilità civile del medico.



Tale orientamento rimase costante per la giurisprudenza di merito e di legittimità sino all'avvento del **Decreto-Legge Balduzzi (D.L. n. 158/12)** convertito, con modificazioni, in Legge l'8 Novembre 2012 (**Legge n. 189/12**), che nel nuovo art. 3, così come modificato, predisponesse espressamente che «l'esercente la professione sanitaria che nello svolgimento della propria attività si attiene a linee guida e buone pratiche accreditate dalla comunità scientifica non risponde penalmente per colpa lieve. In tali casi resta comunque fermo l'obbligo di cui all'articolo 2043 del codice civile».

Tale richiamo all'art. 2043 c.c., e quindi ad una natura aquiliana della responsabilità del sanitario, tuttavia non intaccò l'orientamento giurisprudenziale già formatosi, proprio perché ritenuto dalla giurisprudenza di legittimità un mero rinvio atecnico, che nulla ha a che vedere con la vera accezione di responsabilità extracontrattuale. La giurisprudenza, difatti, ha sempre inteso tale riferimento all'art. 2043 c.c. sulla responsabilità extracontrattuale come un richiamo alla più generica responsabilità civile, *ragion per cui* il sanitario esercente la professione medica dovrà continuare, secondo tale orientamento, ad essere assoggettata alla responsabilità contrattuale *ex art. 1218* del codice civile, al pari della responsabilità della struttura medica. Completa il quadro normativo della responsabilità civile del medico – in chiave attenuante – l'applicazione dell'art. 2236 del codice civile, secondo cui “se la prestazione implica la soluzione di problemi tecnici di speciale difficoltà, il prestatore d'opera non risponde dei danni, se non in caso di dolo o colpa grave”.

Tale norma impone al giudice di valutare la condotta del sanitario tenendo conto delle peculiari difficoltà del caso concreto, dello stato emergenziale e della limitatezza di risorse e/o strumenti messi a disposizione del medico. Tuttavia, una tale limitazione, attiene esclusivamente le condotte connotate da imperizia, con esclusione dell'imprudenza e della negligenza.





Fig. 4 - Responsabilità medica e problemi tecnici di particolare difficoltà.

Per quanto concerne, invece, il regime giuridico della **responsabilità della struttura sanitaria**, il rapporto tra medico e struttura ospedaliera è stato ricondotto, dalla giurisprudenza di legittimità, ad “[...] *un autonomo e tipico contratto a prestazioni corrispettive (da taluni definito contratto di ospedalità, da altri contratto di assistenza sanitaria) al quale si applicano le regole ordinarie sull’inadempimento fissate dall’art. 1218 c.c.*” (Cass. Civ. SS.UU., n. 577, 20 novembre 2007).

L’annosa questione della natura giuridica della responsabilità medica – affrontata dapprima con l’avvio della stagione riformatrice della responsabilità medica, avvenuto nel 2012 con il decreto legge n. 158 (c.d. decreto Balduzzi), senza tuttavia grandi esiti – e poi stata successivamente affrontata e risolta a seguito della recente emanazione della legge Gelli-Bianco (legge n. 24/2017): infatti, grazie al nuovo impianto normativo, i connotati della responsabilità civile del sanitario sono stati definiti in maniera chiara e differente, tracciando un doppio binario di responsabilità, a seconda che la responsabilità per un determinato danno debba essere ascritta a coloro

che operano presso una struttura sanitaria (a qualsiasi titolo) o alla struttura sanitaria, sia essa privata che pubblica.

**Decreto legge n. 158/2012 (c.d. decreto Balduzzi),
convertito in Legge n. 189/12**

“Disposizioni urgenti per promuovere lo sviluppo
del Paese mediante un più alto livello di tutela della salute”



Legge n. 24/2017 (legge Gelli-Bianco)

“Disposizioni in materia di sicurezza delle cure e della persona assistita,
nonché in materia di responsabilità professionale
degli esercenti le professioni sanitarie”.

Fig. 5 - Le tappe legislative della riforma della sanità e della responsabilità medica.

Il legislatore, attraverso questa legge di riforma (legge 8 marzo 2017, n. 24), recante *“Disposizioni in materia di sicurezza delle cure e della persona assistita, nonché in materia di responsabilità professionale degli esercenti le professioni sanitarie”*, disciplina fondamentali aspetti del ruolo e delle funzioni del medico, principalmente *con l'intento di prevenire il rischio clinico, ridurre il contenzioso sulla responsabilità medica, arginare la fuga delle assicurazioni dal settore sanitario e contenere gli ingenti costi della cosiddetta medicina difensiva*, che da sempre ha gravato sui conti del sistema sanitario nazionale.

In particolare, la legge Gelli-Bianco (L. 27/2017), con riferimento alla natura della responsabilità delle strutture sanitarie e del personale medico-sanitario, all'art. 7, rubricato «Responsabilità della struttura e dell'esercente la professione sanitaria» stabilisce quanto segue: «la struttura sanitaria o sociosanitaria pubblica o privata che, nell'adempimento della propria obbligazione, si avvalga dell'opera di esercenti la



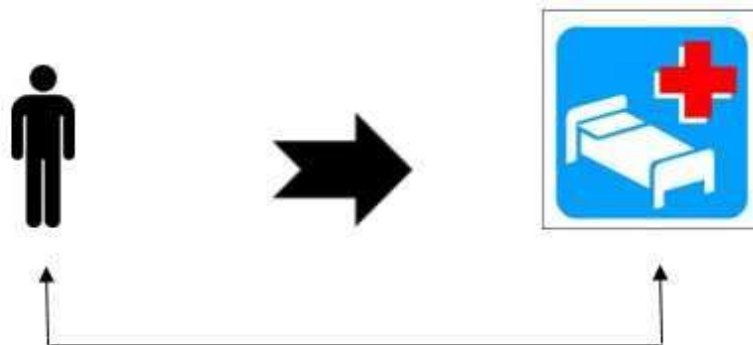
professione sanitaria, anche se scelti dal paziente e ancorché non dipendenti della struttura stessa, risponde, ai sensi degli articoli 1218 e 1228 del codice civile, delle loro condotte dolose o colpose».

Tale disposizione normativa sembra aver accolto e codificato gli orientamenti giurisprudenziali precedenti, confermando, infatti, la natura contrattuale della responsabilità civile della struttura sanitaria.

Il comma 2 aggiunge, inoltre, che «la disposizione di cui al comma 1 si applica anche alle prestazioni sanitarie svolte in regime di libera professione intramuraria ovvero nell'ambito di attività di sperimentazione e di ricerca clinica ovvero in regime di convenzione con il Servizio sanitario nazionale nonché attraverso la telemedicina».

Tale norma rappresenta l'elemento di maggior novità della nuova riforma della responsabilità medica, relativamente all'ambito civile.

Dal dettato normativo dell'art. 7 emerge chiaramente un sistema a doppio binario della responsabilità civile medica: l'esercente le professioni sanitarie che esercita la propria attività a qualsiasi titolo all'interno della struttura sanitaria, risponderà della propria condotta ex art. 2043; invece la struttura ospedaliera risponderà dei danni cagionati dal medico ex art. 1218, quindi a titolo di responsabilità contrattuale.



"Contratto di ospedalità" tra medico e paziente.



Responsabilità contrattuale



Responsabilità extracontrattuale (o aquiliana)

Fig. 6 - Il sistema a doppio binario della nuova responsabilità medica: struttura sanitaria (responsabilità civile contrattuale), medico (responsabilità civile extracontrattuale).

Tale regime differenziato comporta delle notevoli differenze, come già accennato, sul piano dell'onere probatorio e del termine prescrizione. Nel caso dell'esercente le professioni sanitarie, che risponderà a titolo extracontrattuale della sua condotta, dovrà essere il paziente a dimostrare l'intero danno subito, essendo altresì obbligato a rispettare il termine prescrizione quinquennale ex art. 2947 del codice civile. Viceversa, la responsabilità della struttura sanitaria, posta nell'alveo della responsabilità contrattuale, soggiace a regole diverse: in tal caso l'onere della prova è posto a carico della struttura sanitaria, dovendo, il paziente, dimostrare solamente la prova del titolo contrattuale e dell'inadempimento; inoltre il termine dell'azione sarà quello ordinario, cioè quello decennale previsto dall'art. 2046 del codice civile.

Evidenti sono, in ultima istanza, gli scopi che il legislatore intende perseguire mediante una tale disciplina. Differenziare le posizioni risarcitorie della struttura sanitaria e del medico, in tal caso, ha come effetto quello di trasferire gran parte del rischio sulla struttura sanitaria, consentendo al medico di esercitare la propria professione con maggiore tranquillità, nell'ottica di arginare il fenomeno della cosiddetta "medicina difensiva".



La novella legislativa delinea, quindi, un modello di responsabilità medica così articolato:

- a) un modello di responsabilità contrattuale della struttura sanitaria, la quale risponde nei casi in cui l'inadempimento riguardi obbligazioni proprie dell'ente, nonché nei casi in cui l'inadempimento sia dipeso da un fatto del personale medico e paramedico che svolge la propria prestazione all'interno della struttura;
- b) un modello di responsabilità aquiliana per il medico dipendente. Il medesimo art. 7 infatti, al comma 3, precisa che "l'esercente la professione sanitaria di cui ai commi 1 e 2 risponde del proprio operato ai sensi dell'articolo 2043 del codice civile". La norma, però, esclude in modo espresso dal regime di cui all'art. 2043 del codice civile l'ipotesi in cui il medico «abbia agito nell'adempimento di obbligazione contrattuale assunta con il paziente».

Dunque, laddove non vi sia un'obbligazione sorta da contratto tra paziente e medico, quest'ultimo risponderà sempre per responsabilità extracontrattuale.

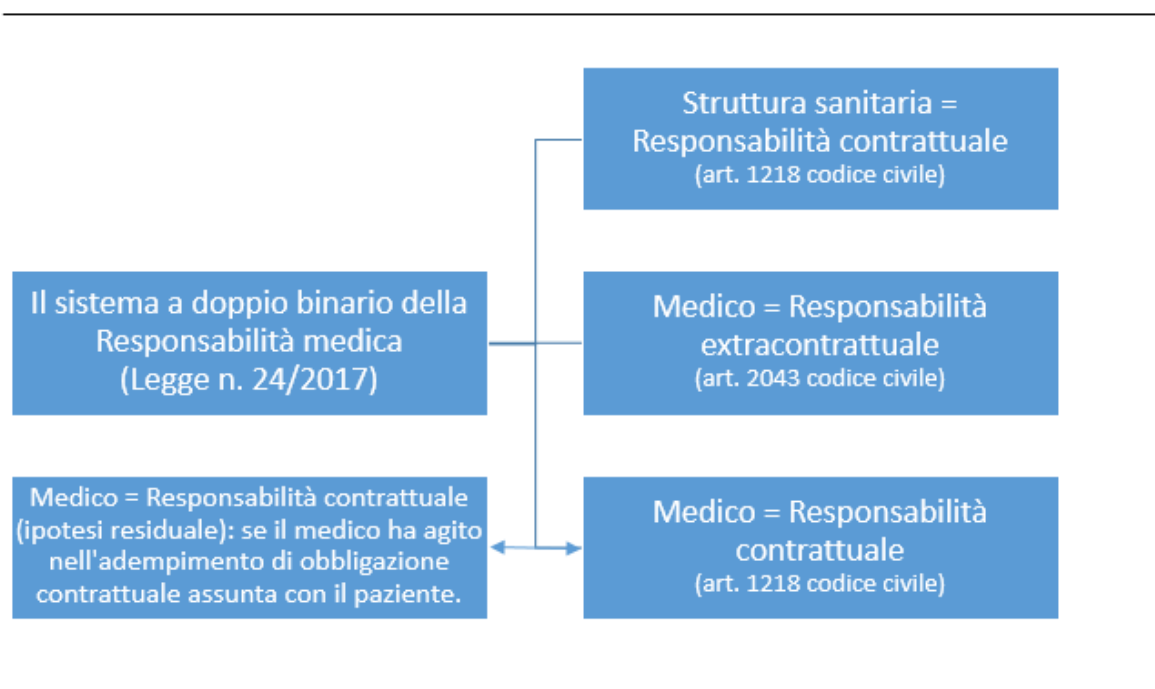


Fig. 7 - Il sistema a doppio binario della Responsabilità medica secondo la legge Gelli-Bianco (L. n. 24/2017).



La legge Gelli-Bianco ha avuto il ruolo di sancire e codificare una netta separazione tra responsabilità contrattuale della struttura sanitaria e responsabilità extracontrattuale o aquiliana del medico, fugando i principali dubbi sulla natura giuridica della responsabilità medica ed uniformando le interpretazioni giurisprudenziali in materia. Nel prossimo contributo, cercheremo di chiarire meglio i dettami e il significato normativo della legge, secondo un'interpretazione sistematica delle disposizioni normative, per poter trovare la giusta soluzione ermeneutica nel momento in cui è necessario applicare la legge e renderla operativa.

BIBLIOGRAFIA

1. AA.VV., Problemi di responsabilità sanitaria, Giuffrè Editore, 2007.
2. AA.VV., La responsabilità medica - Questioni processuali, Giuffrè, 2010.
3. Alpa G., La responsabilità civile, in Trattato di diritto civile, IV, Milano, 1999.
4. Angelici M., Principi di diritto sanitario, vol. I, Parte generale, Milano, 1974.
5. Bianca C.M., Diritto Civile - La responsabilità civile, V, Giuffrè Editore, Milano, 2012.
6. Bilancetti M., La responsabilità penale e civile del medico, Padova, Cedam, 2006.
7. Blaiotta R., La causalità ed i suoi limiti: il contesto della professione medica, in Cass. pen., 2002, 181 ss.
8. Cafaggi F., voce « Responsabilità del professionista », in Digesto IV ed., Disc. priv., sez. civ., XVII, Torino, Utet, 1998, 181 ss.
9. Cattaneo G., La responsabilità del professionista, Giuffrè Editore, Milano, 1958.
10. Catorini P., Bioetica, Metodo ed elementi di base per affrontare problemi clinici, Masson, Mi, 2000.
11. Chindemi D., Responsabilità del medico e della struttura sanitaria pubblica e privata, Altalex Editore, 2018.
12. Cinotti R., La gestione del rischio nelle organizzazioni sanitarie, Pensiero Scient. Ed., Roma, 2004.
13. De Matteis R., Responsabilità e servizi sanitari. Modelli e funzioni, Padova, Cedam, 2007.
14. Fiandaca G., Musco E., Diritto penale, Parte generale, 5° ed., Bologna, 2007.
15. Galatro V., La procedura civile. Manuale operativo, Maggioli Editore, 2008.
16. Galatro V., Diritto processuale civile, Maggioli Editore, 2008.
17. Galatro V., Rapporti tra azione civile e penale: prescrizione ed effetti civili, Altalex Editore, 2009.



18. Galatro V., Come risolvere i problemi legali, Mind Edizioni, Milano, 2013.
19. Galatro V., Il nuovo processo civile di cognizione, di esecuzione e cautelare, Edizioni giuridiche Esselibri - Simone, 2006.
20. Galatro V., Consulenza tecnica preventiva ai fini della composizione di una lite e reclamo, Altalex Editore, 2008.
21. Galatro V., La responsabilità medica, sanitaria e odontoiatrica, in Trattato sulla Responsabilità Sanitaria, Medica e Odontoiatrica, Sistemi di Alternative Dispute Resolution e Mediazione delle controversie legali; Direzione Scientifica ed Editoriale: Prof. Avv. Vincenzo Galatro, Bologna, vol. I, 2014.
22. Galatro V., La responsabilità civile, in Trattato sulla Responsabilità Sanitaria, Medica e Odontoiatrica, Sistemi di Alternative Dispute Resolution e Mediazione delle controversie legali; Direzione Scientifica ed Editoriale: Prof. Avv. Vincenzo Galatro, Bologna, vol. I, p. 3 e ss., 2014.
23. Galatro V., Il rapporto di causalità, in Trattato sulla Responsabilità Sanitaria, Medica e Odontoiatrica, Sistemi di Alternative Dispute Resolution e Mediazione delle controversie legali; Direzione Scientifica ed Editoriale: Prof. Avv. Vincenzo Galatro, Bologna, vol. I, p. 29 e ss., 2014.
24. Galatro V., La colpa professionale, in Trattato sulla Responsabilità Sanitaria, Medica e Odontoiatrica, Sistemi di Alternative Dispute Resolution e Mediazione delle controversie legali; Direzione Scientifica ed Editoriale: Prof. Avv. Vincenzo Galatro, Bologna, vol. I, p. 47 e ss., 2014.
25. Galatro V., L'errore nell'attività medico-sanitaria, in Trattato sulla Responsabilità Sanitaria, Medica e Odontoiatrica, Sistemi di Alternative Dispute Resolution e Mediazione delle controversie legali; Direzione Scientifica ed Editoriale: Prof. Avv. Vincenzo Galatro, Bologna, vol. I, p. 71 e ss., 2014.
26. Galatro V., Processi di gestione del rischio e della sicurezza, in Trattato sulla Responsabilità Sanitaria, Medica e Odontoiatrica, Sistemi di Alternative Dispute Resolution e Mediazione delle controversie legali; Direzione Scientifica ed Editoriale: Prof. Avv. Vincenzo Galatro, Bologna, vol. I, p. 76 e ss., 2014.
27. Galatro V., Il diritto alla salute e la responsabilità medico-sanitaria, in Trattato sulla Responsabilità Sanitaria, Medica e Odontoiatrica, Sistemi di Alternative Dispute Resolution e Mediazione delle controversie legali; Direzione Scientifica ed Editoriale: Prof. Avv. Vincenzo Galatro, Bologna, vol. I, p. 99 e ss., 2014.
28. Galatro V. La responsabilità medica, sanitaria e odontoiatrica: principi, legislazione, giurisprudenza, Roma, 2015.



29. Galatro V., Il diritto alla salute come bene fondamentale dell'individuo, in La legge nella Medicina, Argomenti e materiali delle interviste radiofoniche e televisive a cura del Dr. Prof. V. Galatro, a.a. 2013-2015.
30. Galatro V., La responsabilità medica dopo la legge n. 189/2012, di conversione del decreto legge 13 settembre 2012, n. 158 (c.d. Decreto Balduzzi), in La legge nella Medicina, Argomenti e materiali delle interviste radiofoniche e televisive a cura del Dr. Prof. V. Galatro, a.a. 2013-2015.
31. Galatro V., Gli illeciti nelle attività mediche e sanitarie, in La legge nella Medicina, Argomenti e materiali delle interviste radiofoniche e televisive a cura del Dr. Prof. V. Galatro, a.a. 2013-2015.
32. Galatro V., L'errore medico, in La legge nella Medicina, Argomenti e materiali delle interviste radiofoniche e televisive a cura del Dr. Prof. V. Galatro, a.a. 2013-2015.
33. Galatro V., I gradi della colpa medica, in La legge nella Medicina, Argomenti e materiali delle interviste radiofoniche e televisive, a cura del Dr. Prof. V. Galatro, a.a. 2013-2015.
34. Galatro V., La colpa professionale in ambito medico-sanitario, in La legge nella Medicina, Argomenti e materiali delle interviste radiofoniche e televisive a cura del Dr. Prof. V. Galatro, a.a. 2013-2015.
35. V. Galatro, La responsabilità sanitaria, in La legge nella Medicina, Argomenti e materiali delle interviste radiofoniche e televisive a cura del Dr. Prof. V. Galatro, a.a. 2013-2015.
36. V. Galatro, Il danno alla salute, in La legge nella Medicina, Argomenti e materiali delle interviste radiofoniche e televisive a cura del Dr. Prof. V. Galatro, a.a. 2013-2015.
37. V. Galatro, La responsabilità civile del medico, in La responsabilità medica, sanitaria e odontoiatrica: principi, legislazione, giurisprudenza, Roma, 2015.
38. V. Galatro, La responsabilità penale del medico, in La responsabilità medica, sanitaria e odontoiatrica: principi, legislazione, giurisprudenza, Roma, 2015.
39. V. Galatro, Il danno nella medicina, in La responsabilità medica, sanitaria e odontoiatrica: principi, legislazione, giurisprudenza, Roma, 2015.
40. Mantovani F., Diritto Penale, Parte generale, Cedam, 2015.
41. Reason J., Human Error, Cambridge University Press, Edizione italiana: L'errore umano, Il Mulino, Bologna, 1990.
42. Rossetti M., Responsabilità medica, colpa ed onere della prova, Dir. e Formazione, 2001, pag. 627.



PER UN'ANTROPOLOGIA DEL SACRO

QUATTRO VIRTU' PER COMBATTERE IL COVID

Dai dati di un'indagine on line su "quali Santi pregheresti" per combattere il Covid è possibile rintracciare un elenco di valori che possono fornire energia e speranza durante e dopo la pandemia.

Franco Salerno, antropologo e scrittore

Introduzione

Stiamo vivendo un tempo malato, in cui la pandemia ha avvinto le nostre vite e le nostre menti. Abbiamo sofferto fin dentro la carne del cuore e nei meandri del nostro inconscio. Non sappiamo quando e fino a che punto potremo dichiararci definitivamente guariti. Abbiamo cercato come comunità mondiale di usare lo strumento più forte della nostra storia di esseri pensanti: la scienza, che ha dovuto affrontare un nemico invisibile e sconosciuto. Non meraviglia pertanto il fatto che molti siano disposti a far ricorso anche alla fede e a votarsi ai Santi, epifania di un Altrove, che spesso ci dà la forza di resistere al Male.

Giunge, pertanto, congruente con i nostri tempi la ricerca di tre studiosi, Antonio Perciaccante, Alessia Coralli e Philippe Charlier, che hanno pubblicato un sondaggio-studio su 1158 adulti, italiani e francesi, consultabile on line su "Science Direct". L'indagine è stata basata sulle risposte fornite, tra il 21 e il 26 agosto 2020, su Facebook e Twitter alla domanda "Quale santo pregheresti per combattere un'infezione da Covid?".

Abbiamo ritenuto utile per la nostra indagine avvalerci di questa interessante graduatoria, scegliendo, nel lungo elenco dei Santi indicati, i primi quattro (partendo dal quarto e giungendo al primo). Ecco i nomi (tra parentesi il numero di preferenze): Sant'Antonio Abate (89), San Sebastiano (95), San Rocco (268) e Santa Rita (558). La nostra indagine, sviluppata nel presente articolo, parte da questi dati e prosegue poi in modo autonomo, tracciando gli elementi peculiari del culto di ognuno di questi



Santi, al fine di fare emergere da esso un valore fondante (potremmo dire una "virtù"), capace di infondere forza e speranza ai credenti e ai non credenti.

Sant'Antonio Abate: la positivizzazione del Negativo

Iniziamo la nostra indagine antropologica da Sant'Antonio Abate, che nella ricerca su Santi e Covid è al quarto posto. La storia del Santo la traiamo da una "Vita di Antonio", scritta in greco forse intorno al 357 da Atanasio e tradotta in latino nel 388 da Evagrio di Antiochia. Antonio è un nobile egiziano, nato a Coma, in Egitto, verso il 250; convertitosi al Cristianesimo, si ritira, per condurre una vita ascetica, prima in una tomba, poi sulla cima di un monte. Qui viene tentato dal demonio, che gli si presenta sotto forma di maiale.

Complesso e interessante è il simbolismo iconografico del culto antoniano. Esso è caratterizzato dal segno del "tau", dal fuoco e dal maiale. La forza del "tau" (lettera greca che corrisponde alla "t" e indica la struttura del bastone a cui si appoggia il Santo) rappresenta la saldezza della fede nella premonizione della vita futura. Invece, il fuoco si collega al rito di accensione dei fuochi, che, diffuso in tutto il Meridione, serviva per allontanare le influenze invernali e la paura nei confronti dei morti, che si riteneva che non si avvicinassero alle fiamme.

Ancora più interessante è il significato del maiale. Quest' animale, ci ricorda Ernesto de Martino, è considerato nel folklore mediterraneo come uno dei "responsabili delle passioni vegetali": infatti, poiché gli antichi consideravano la mietitura una violenza fatta a una divinità presente nel grano, riversavano la colpa del delitto su un maiale, che, vittima incolpevole, veniva punito ed ucciso.



Probabilmente con il tempo questo gesto cruento è stato sostituito, nell'area campana, da una vendita all'asta di un maiale consacrato al Santo.

La rapida diffusione del culto di Sant'Antonio è dovuta alla sua fama di taumaturgo riguardo alla peste, allo scorbuto e soprattutto all'*herpes zoster* (chiamato comunemente "fuoco di Sant'Antonio"), una fastidiosa malattia della pelle diffusa in Europa agli inizi del Millennio. Per curarla, i frati antoniani istituiscono nell'XI sec. un Ordine ospedaliero, che, agendo con una fitta rete di priorati e lazzaretti, si dedica alla cura di vari mali dermatologici e di infezioni da virus con il grasso di maiale.

Il nesso con il mondo dei morti è evidente a Portico (Ce), dove la tradizione attesta l'esecuzione per fini apotropai -su un carro costruito in onore del Santo- della cosiddetta "musica dei morti", che veniva realizzata percuotendo botti, barili e falci con delle bacchette di legno. Un rituale analogo, che richiama la matrice contadina del ritualismo antoniano, è quello antichissimo dei Carri folklorici di Macerata Campania (Ce), dove tini e ferraglie venivano percossi con battacchi dal suono assordante, a cui si univa quello delle orchestre o "battuglie".

Ma la santità antoniana contempla anche la gioia o addirittura lo scherzo, come si evince da questa strana storiella da noi raccolta a Cicciano (Na). Essa narra di una vecchietta, che, adirata contro il Santo Abate perché non le procura il cibo per il suo maiale, prende a bastonate la statua del Taumaturgo, che, però, sorridendo se la porta in cielo. Ebbene, in questo mito popolare vi è tutta un'arcana sapienza: da un lato, Antonio diviene vittima incolpevole come l'antico maiale (che non è più il diavolo) e, dall'altro, la Santità viene smitizzata. Certo, non si era mai visto un Santo preso a bastonate come un briccone, egli che ha riservato al diavolo, come sostiene Alfonso Maria di Nola, scherzi da briccone, per demistificarne la potenza! Come si vede, siamo al primo livello: la positivizzazione del negativo.

San Sebastiano: la sopportazione del male fisico

San Sebastiano (al terzo posto nel sondaggio Covid), nato a Narbona nel 256 e morto a Roma il 20 gennaio 288, è stato un tribuno militare romano, divenuto martire per aver difeso e testimoniato la fede cristiana (in greco "màrtyr" significa sia "testimone" che "martire").

Il giovane militare, forte del suo ruolo prestigioso, si adoperava per sostenere la causa dei cristiani incarcerati. Emblematico fu il caso di due giovani cristiani, Marco e



Marcelliano, arrestati su ordine del prefetto. Il padre, spinto dall'amore verso i figli, cercava di convincerli a desistere dalla difesa della fede a cui si erano convertiti.



Mentre Sebastiano parlava con loro, il suo viso fu inondato da una luce, che spinse la moglie del capo della cancelleria imperiale a chiedere a Sebastiano la grazia per sua figlia, muta da sei anni. Grazia, questa, che si verificò in seguito ad un segno di croce fatto dal giovane tribuno. Questo miracolo guadagnò alla fede cristiana molti altri pagani, che furono torturati fino alla morte.

Per documentare il forte radicamento di questo Santo nell'immaginario collettivo, ci avvarremo della storia dell'arte, analizzando due capolavori, risalenti alla fine del 1400. Il primo è un dipinto (1476 circa) ad olio su tela, di Antonello da Messina. Il contesto dell'affresco è costituito da alcuni edifici, che hanno un doppio ruolo.

Da un lato, con la loro struttura, essi evidenziano la normalità della sofferenza che si iscrive in un ambiente caratterizzato dalla presenza umana. Lo sfondo è, infatti, animato da una serie di figure: due donne in alto affacciate ad una balaustra, un'altra donna con il figlio in braccio, due mercanti in conversazione e due riferimenti alla guerra (un soldato ubriaco e una coppia di armati): insomma, vari aspetti della realtà, su cui domina sovrana l'imperturbabilità del Santo, che tollera eroicamente e, potremmo dire, stoicamente il dolore (transcodificazione di un elemento della cultura antica e pagana).

Dall'altro lato, questa cornice architettonica inquadra il corpo del Martire che si accampa monumentalmente nella sua armonica grandezza.

Pochi anni dopo, un altro capolavoro ritrae il Santo durante il suo martirio. Questa volta è il magico pennello di Andrea Mantegna, che realizza un dipinto a tempera (risalente al 1481 circa), in cui l'immagine di San Sebastiano è più drammatica.

Innanzitutto, il volto ha perso quella olimpica tranquillità che gli ha assegnato Antonello: è, infatti, contratto in una smorfia di dolore, anche se il Martire soffre con grande eroismo.

In secondo luogo, è svanita quell'aura di luce che ammantava il Sebastiano di Antonello, sublimandolo e proiettandolo in un Olimpo cristiano.

Mantegna, invece, si affida a un registro duro, aspro, icastico, che sottolinea ogni particolare corporeo, attraversato da un dolore lancinante: dalle rughe che scavano il volto del Santo alla tensione dei muscoli, al pannello dinamicamente gettato intorno ai fianchi del moriente.

Anche il cielo non è più raffigurato con quell'azzurro confortante di Antonello, ma è ammantato da un melanconico grigio. Il corpo del Santo, infine, è legato non al fusto di un albero, ma a due colonne vecchie e mozzate, che rendono cupamente la crisi del mondo antico, su cui si erge la compattezza della fede del Martire, che si configura come la sopportazione del male fisico: è, questa, la seconda virtù che emerge dalla presenza di San Sebastiano nell'immaginario collettivo.

San Rocco: l'eroismo del volontariato

Colui che, nell'elenco dei Santi più invocati durante il Covid, è al secondo posto, nel sondaggio dei tre studiosi succitati, è San Rocco, pellegrino e taumaturgo francese, nato a Montpellier tra il 1345 e il 1350 e morto a Voghera, nella notte tra il 15 e il 16 agosto tra il 1376 e il 1379.

Vicino agli umili e ai sofferenti, egli fu considerato, già durante la sua vita, un esemplare protettore durante le epidemie e le grandi catastrofi come i terremoti. Durante un'un'epidemia di peste, a Piacenza, rimase contagiato dal morbo (Tintoretto ci ha lasciato un dipinto, realizzato nel 1559) e, per non mettere a rischio altre persone, si autorelegò in quarantena lungo il fiume Trebbia in un luogo isolato: forse una grotta o una capanna. Dilemma, questo, significativo: anche per la nascita di Gesù le fonti parlano di una grotta (simbolo del Mistero per la sua struttura



labirintica) o di una capanna (simbolo della capacità del credente di costruire la sua vita sul modello di Cristo).

E proprio questo dilemma fa di Rocco, al pari di Sebastiano, un “imitator Christi”. Altro elemento simbolico è, nell’iconografia, la presenza del cane, che, secondo la tradizione, portava al giovane -per sostenerlo- il pane, sottraendolo al suo ricco padrone.



Talvolta, in qualche immagine, il cane lecca addirittura le piaghe del Santo.

Che cosa significa? Innanzitutto, una visione del mondo in cui la stirpe umana coopera con l’intera Natura (qui rappresentata dal cane) al risanamento dal male o dalle epidemie. In secondo luogo, il cane è un animale “psicopompo”, cioè accompagnatore dell’anima nell’Aldilà: la sua fedeltà al padrone va oltre la morte.

A Roma, dove arrivò tra il 1337 e il 1368, si verificò il suo miracolo più eclatante: la guarigione di un cardinale dalla peste, dopo che egli tracciò sulla sua fronte il segno della Croce.

Tra storia e leggenda si dipana la vita di Rocco negli ultimi anni della sua vita. A Voghera fu vittima di un equivoco, alimentato dalla fede stessa del giovane pellegrino. Arrestato come persona sospetta, durante un interrogatorio, non volle rivelare la sua identità e si dichiarò solo “un umile servitore di Cristo”. Questo silenzio fu la causa della sua incarcerazione, che si protrasse per cinque anni. Solo dopo alcuni eventi prodigiosi, fu decretata la sua libertà. La sua identità fu confermata dalla nutrice, la quale riconobbe la croce vermiglia sul petto, che Rocco fin dalla nascita portò a segno della sua santità. San Rocco è stato un fulgido esempio (siamo al terzo livello) di solidarietà umana, anticipando il concetto moderno di volontariato.



Santa Rita: la speranza della rinascita e della salvezza

Tutta fondata sulla dimensione interiore fu la vita della Santa più invocata durante la pandemia Covid: Santa Rita da Cascia, al secolo Margherita Lotti. Nata a Roccaporena nel 1381, si rivelò ben presto una persona speciale, come lo sono i grandi Santi, non per il suo potere ma per il suo carisma. Sposata con Paolo di Ferdinando di Mancino, ebbe due figli; ma il marito fu assassinato intorno al 1406. Rita riuscì ad arrivare sul luogo del delitto poco prima che il marito spirasse. Poi tre dettagli che hanno dell'incredibile. Innanzitutto nascose accuratamente la sua camicia sporca di sangue, per evitare che essa eccitasse i due figli alla vendetta; in secondo luogo, non rivelò il nome degli assassini per evitare una scia di sangue fra le famiglie del morto e dell'assassino; infine perdonò agli uccisori del marito.

Secondo la tradizione ufficiale, la sera del Venerdì Santo 18 aprile 1432 (o 30 marzo 1442, secondo un'altra ipotesi), dopo essersi ritirata in preghiera per la Passione di Gesù, ricevette una spina dalla corona del Crocifisso che si conficcò sulla sua fronte. Iniziò così il calvario delle sofferenze fisiche, che si conclusero con la morte avvenuta la notte tra il 21 e il 22 maggio dell'anno 1457. Particolare suggestivo: si narra che le campane del Monastero, quasi mosse da mani invisibili, si siano messe a suonare.



Il suo corpo riposa in una bara di vetro nella basilica di Cascia ed è ancora intatto. Durante la cerimonia di beatificazione, avvenuta nel 1627, alcuni testimoni hanno affermato di averla vista aprire gli occhi per qualche secondo. Tuttora i fedeli dicono

di avvertire un profumo di rose intorno al corpo di questa grande Taumaturga, chiamata la “Santa dei casi impossibili”.

Tre sono i dati simbolici della figura di questa Santa: la spina, la rosa e la Croce. La spina è una forma di ostacolo al raggiungimento di un compito che ci viene dato da una persona o da un piano imperscrutabile e superiore rispetto a noi. La spina circonda il fiore della rosa, la cui forma a mo’ di calice, simbolo dell’amore ivi racchiuso, ritorna nella Coppa del Sacro Graal. E una “candida rosa” è la forma in cui sono disposti i beati nel Paradiso dantesco: dunque la rosa richiama l’amore e la salvezza.

La Croce è il simbolo forte del culto di Santa Rita. La Croce, che è un simbolo ancestrale della civiltà umana, rappresenta i quattro punti cardinali: l’Est, che è il punto dove sorge il Sole, indica la vita, lo spirito e la conoscenza; il Sud, con l’alito caldo dei suoi raggi, incarna il soffio della vita; l’Ovest, che è il punto in cui tramonta il Sole, pone dinanzi agli occhi il mistero dello scivolare nell’oscurità; il Nord è l’esperienza delle tenebre e della morte momentanea, simbolo delle prove e delle difficoltà, materiali e spirituali, da cui usciamo temprati e migliorati.

Nella religione cristiana la Croce, con la morte e la resurrezione di Cristo, fu oggetto di una trasmutazione simbolica: da simbolo di infamia, in quanto strumento di tortura e di morte per i malfattori, divenne simbolo di purificazione e di resurrezione. Siamo così arrivati al quarto e ultimo livello del percorso che ci ha suggerito la Santa più invocata: il livello (a cui tutti aspiriamo) della rinascita e della salvezza.

Conclusioni

Fin qui abbiamo squadernato le vite esemplari di 4 Santi, che sono l’incarnazione di 4 valori (o virtù): la positivizzazione del Negativo, la sopportazione del male fisico, l’eroismo del volontariato e la speranza della rinascita e della salvezza. Quattro valori, che insieme delineano una visione del mondo all’insegna dell’empatia, capace di fronteggiare lo stato emotivo della pandemia del Covid, che oggi gli studiosi descrivono come “languishing”, termine coniato da Adam Grant, psicologo della University of Pennsylvania e recentemente rilanciato da Carlo Bordini sul “7-Corriere della Sera” dell’11 giugno 2021. Questo neologismo, che letteralmente significa “languire”, indica un disagio sociale, caratterizzato da un mix di “abulia, intorpidimento, stato di vuoto, chiusura di fronte al mondo”, che “ci impedisce di star bene e di rifiorire”. Usando una metafora: “come se guardassi la tua vita da un finestrino appannato”. Le cause sono da rintracciare nelle anomalie che il lockdown



ha comportato: “l’abuso delle nuove tecnologie”, “la perdita di socializzazione” e “la chiusura delle scuole e dei luoghi di ritrovo e di scambio con gli amici”, che hanno prevalso sul positivo spirito combattivo, fatto di orgoglio e di senso della identità nazionale, tipico dei primi mesi dell’emergenza. Oggi siamo sulla via della ripresa delle relazioni e degli incontri in presenza: dunque, c’è bisogno di una vera e propria concezione del mondo, suggerita da personaggi carismatici, quali i Santi, che parlano al cuore, oltre che alla mente, della gente.



LA RUBRICA: *LIBRIAMOCI*
CONSIGLIATI PER VOI

PIERO BARBANTI-EMILIO JIRILLO
MANGIA SANO CHE TI PASSA. NUTRIZIONE E MAL DI TESTA
Miti, Scienza, e novità, Ed. CIC, 2016



La cefalea è una malattia che incide profondamente sullo stato di salute e sulla qualità di vita della popolazione con un impatto sociale ed economico di notevole dimensione. Si calcola infatti che almeno il 15% della popolazione mondiale soffra di attacchi di cefalea. La tematica delle cefalee è estremamente complessa. Lo testimonia il fatto che almeno 90 sono le forme classificate e che pur a fronte di nuove e importanti avanzamenti della conoscenza, non si ha ancora un quadro completo e univoco dei meccanismi di azione che portano allo scatenamento della cefalea.

Ancora più complessa diventa la materia del rapporto tra alimentazione e mal di testa che gli autori, i Professori Barbanti e Jirillo, hanno voluto affrontare avvalendosi dell'esperienza di qualificati medici e ricercatori.

La speranza è che il libro, volutamente accattivante nel titolo e nella veste grafica, rappresenti un passaggio da una visione tolemaica (cibo come causa del mal di testa) a una visione opposta, copernicana, di cibo inteso come strumento di cura del malato di cefalea.



LA CEFALEA, UN DISTURBO INVALIDANTE CHE COLPISCE UN MILIARDO DI PERSONE

L'intervista svoltasi in occasione della XIII Giornata Nazionale delle Cefalee, celebrata il 21 maggio scorso, per la rubrica "Mi curo di te" a cura del direttore di Puglia Sanità, Antonio Soleti.

Giovanna Trevisi, neurologa territoriale, responsabile Centro cefalee e CDCD di Campi Sal.na (Le)

D. Quali sono i dati che fanno considerare la cefalea una fra le condizioni neurologiche più frequenti?

R. Si stima che nel mondo più del 10% della popolazione soffra di emicrania. Le cefalee rappresentano una fra le condizioni neurologiche più frequenti; i recenti dati ISTAT indicano che la prevalenza annuale delle cefalee nella popolazione italiana è del 29% circa.

D. Tra le varie forme di cefalea quale è quella maggiormente invalidante?

R. Esistono varie forme di cefalea, certamente fastidiose, ma, fra queste, l'Emicrania rappresenta quella più invalidante: recenti stime dell'OMS registrano più di un miliardo di emicranici nel mondo. Essa si colloca al 6° posto tra le malattie disabilitanti, mentre fra le patologie neurologiche risulta più invalidante della sclerosi multipla e dell'Alzheimer.

D. Qual è la sua prevalenza?

R. In base a dati dell'Organizzazione mondiale della sanità, la cefalea tensiva e l'emicrania rappresentano la II e la III cronicità più frequenti al mondo con percentuali rispettivamente del 20.8 % e del 14.7 %.

D. Quale la situazione in Italia?

R. In Italia in base ai dati ISTAT del 2005, l'emicrania ha una prevalenza del 7.7% ed è al IV posto fra le patologie croniche più diffuse dopo artrite/artrosi, ipertensione arteriosa e malattie allergiche.



D. *C'è differenza a seconda del sesso?*

R. La prevalenza è più elevata nel sesso femminile (10.5%) rispetto al maschile (4.7%), in entrambi i sessi massima fra i 45 ed i 54 anni.

D. *Essendo un dato ormai certo considerare la cefalea come "malattia sociale", qual è la misura della sua disabilità?*

R. I dati dell'Organizzazione Mondiale della Sanità registrano nel 2010 per l'emicrania oltre 22 milioni di anni di vita trascorsi con disabilità con un incremento del 40% rispetto al 1990. In Italia l'emicrania è al 14° posto fra le cause di anni di vita in buona salute persi, collocandosi davanti a patologie quali tumore della mammella, cirrosi epatica, cardiopatia ipertensiva, IRC, tumori dello stomaco ecc.

D. *Dai dati evidenziati, gli effetti negativi si ripercuotono sulle persone che ne risultano affette ma anche sui familiari?*

R. La cefalea ha effetti estremamente negativi sulle persone che ne soffrono sia per i sintomi dolorosi che per l'impatto sulla vita quotidiana, interessando anche coloro che se ne prendono cura come i familiari; la cefalea influisce sulla funzionalità fisica e sul benessere psicologico con ripercussioni su numerosi aspetti della vita quotidiana (attività lavorativa, vita sociale, vita familiare), effetti non dissimili da depressione, diabete, infarto anche nei periodi intercritici.

D. *Qual è il peso della sua disabilità?*

R. Uno studio pubblicato sul Journal of Headache and Pain nel 2018 ha evidenziato come l'emicrania costituisca in assoluto la condizione morbosa più disabilitante in soggetti di età inferiore ai 50 anni.

D. *La registrazione di cefalea su scala mondiale è identica in ogni parte del globo?*

R. La prevalenza è risultata relativamente bassa in Cina, Taiwan e Giappone, mentre il Nepal, Paese confinante con la Cina, ha presentato un tasso di prevalenza più elevato a livello mondiale. Sembra possa esserci correlazione tra incidenza dell'emicrania e altitudine; tuttavia, da ulteriori studi, è risultata essere una patologia diffusa in tutto il mondo ed indipendente dalle condizioni socio-economiche.



D. *L'impatto economico sarà certamente notevole, da quanto emerso?*

R. Negli Stati Uniti circa 300.000 persone rimangono a letto ogni giorno a causa delle cefalee e in Italia oltre il 50% delle persone affette da emicrania non si reca a lavoro. Si stima che ogni persona affetta perda in media 2.5 giorni per assenteismo e 4.1 giorni per ridotta produttività con un totale di 6.6 giorni l'anno. Se all'emicrania si aggiungono gli effetti delle altre forme di cefalea, il numero delle giornate di produttività perse raddoppia.

D. *Analizziamo l'impatto dell'emicrania cronica*

R. Se analizziamo l'emicrania cronica con una prevalenza, che come ricordato si attesta al 4% della popolazione adulta e in 2/3 riconosce una cefalea da abuso farmacologico, i costi socio-economici risultano evidenti. Sono presenti costi diretti per le cure mediche, costi indiretti per la riduzione e perdita di giorni di attività lavorativa e costi intangibili difficilmente quantificabili ma legati alla qualità di vita.

D. *Proviamo a quantizzare i costi sostenuti per la cefalea?*

R. Se per l'emicrania i costi incidono per meno del 10%, per le cefalee croniche complicate da abuso farmacologico si supera largamente questa percentuale. Fra i parametri responsabili dei costi diretti, influisce notevolmente l'automedicazione; nelle cefalee da abuso, quindi, un duplice intervento su un corretto inquadramento diagnostico e su un definito programma terapeutico porterebbe ad un miglioramento della qualità della vita e ad un contenimento della spesa sanitaria, grazie anche ad un auspicabile investimento in centri di alta specializzazione.

D. *Bisogna rimarcare l'importanza dei centri di specializzazione nella diagnosi e cura delle cefalee*

R. È sicuramente auspicabile un maggiore investimento nei Centri di alta specializzazione, in genere universitari a cui si ricorre per i casi di cefalee complesse, riferimento essenziale per i centri cefalee periferici territoriali ed ospedalieri.



D. *Riassumendo valutiamo i dati nel loro complesso*

R. Sommando costi diretti ed indiretti, l'emicrania incide in Italia per circa 3.5 miliardi di euro l'anno ed ogni emicranico costa 829 euro; solo il 25.5% dei pazienti si rivolge al proprio medico di base e solo il 14.7% a specialisti del settore. Se consideriamo il 4% di pazienti con emicrania cronica, la spesa annua pro capite diventa di 2648 euro. Si evince da quanto esposto la reale dimensione di una malattia sociale quale deve essere considerata l'emicrania.

D. *Acclarato come la emicrania cronica sia una patologia invalidante, responsabile del peggioramento della qualità della vita, che comporta perdita di giornate lavorative, chiedo se sia contemplata nelle tabelle ministeriali relative all'invalidità civile*

R. La regione Lombardia, tra le prime nel mondo, ha emanato un Decreto regionale dal titolo "Indicazioni operative per la valutazione delle cefalee nell'ambito dell'invalidità civile". Nonostante i problemi oggettivi causati da questa patologia, finora non si era riusciti ad ottenere il riconoscimento di invalidità, poiché trattasi di una malattia non di sicura verifica e quantificazione con riscontri strumentali. In realtà quasi sempre la diagnosi è solo clinica e basata su un adeguato periodo di osservazione e trattamento col rischio di prestarsi, quindi, a facili illeciti o abusi.



CEFALEE PRIMARIE E NEURALGIE ESSENZIALI			
0-15%	16-30%		31-46%
A)	B1)	B2)	Q
Forme episodiche a frequenza di attacchi medio-bassa e soddisfacente risposta al trattamento	Forme episodiche a frequenza di attacchi medio-alta e scarsa risposta al trattamento	Forme croniche con risposta parziale al trattamento	Forme croniche refrattarie al trattamento
1)Emicrania senza e con aura	1)Emicrania senza e con aura	1)Emicrania cronica	1)Emicrania cronica
2)Cefalea di tipo tensivo frequente	2)Cefalea di tipo tensivo	2)Cefalea cronica quotidiana con o senza uso eccessivo di analgesici	2)Cefalea cronica quotidiana con o senza uso eccessivo di analgesici
3)Cefalea a grappolo episodica	3)Cefalea a grappolo episodica	3)Cefalea a grappolo cronica	3)Cefalea a grappolo cronica
4)Emicrania parossistica episodica	4)Emicrania parossistica episodica	4)Emicrania parossistica cronica	4)Emicrania parossistica cronica
		5)SUNCT (Short-lasting unilateral neuralgia with conjunctival injection and tearing)	5)SUNCT
		6)Emicrania continua	6)Emicrania continua
		7)NDPH (New daily persistent headache)	7)NDPH
8)Neuralgia del trigemino classica ed altre neuralgie del capo	8)Neuralgia del trigemino classica ed altre neuralgie del capo	8)Neuralgia del trigemino classica ed altre neuralgie del capo	8)Neuralgia del trigemino classica ed altre neuralgie del capo

D. *La Lombardia è stata quindi la prima regione a porre il problema?*

R. Certamente ed ha attivato un Gruppo di Lavoro che, dopo aver individuato i principali quadri clinici delle cefalee primarie ed averne analizzato e rappresentato le caratteristiche di frequenza, durata ed intensità, ha realizzato la tabella che possiamo analizzare. Dalla sua analisi appare evidente che le valutazioni previste siano riduttive. Sottostimata ad esempio (max. 46%) la cefalea cronica refrattaria al trattamento che sia presente 15 e più giorni al mese, costringendo spesso il soggetto a letto e che comunque lo renda assolutamente non idoneo non solo a lavorare ma anche a svolgere le normali attività della vita quotidiana.

D. *Nelle forme più gravi si potrebbe prevedere un giudizio di inabilità?*

R. Nelle forme più gravi si potrebbe ipotizzare un giudizio di inabilità, dopo diagnosi certa della malattia, ricorrendo magari ad elementi indispensabili quali per esempio la presenza di una adeguata documentazione clinica che ne dimostri la cronicità. La tabella illustrata non ha, comunque, valore di legge, può essere



disattesa dalle Commissioni, soprattutto in quelle sedi di regioni dove non è mai stata adottata (è in vigore solo in Lombardia ed in Val d'Aosta); essa, però, è da considerarsi uno strumento utile da cui partire per una definitiva stesura.

D. *Sono stati tuttavia depositati numerosi disegni e proposte di legge per fare fronte al problema. Non staremo ad indicarli ma solo a sottolineare l'importanza che il problema cefalea venga posto all'attenzione del legislatore.*

R. La cefalea cronica è "Malattia sociale" che richiede un giusto riconoscimento sul piano legislativo. Non è inserita nell'elenco nosologico delle malattie. L'anomalia è più evidente se si considera il grande numero di Centri per la diagnosi e la cura. L'auspicio che il legislatore, a partire dalla legge Lazzarini (presentata per la prima volta nel 2012, riproposta nel 2018 alla Camera dei Deputati e finalmente divenuta legge dello Stato nel 2020), vi ponga rimedio. Sarebbe così assicurata ai malati una risposta positiva ed attesissima in grado di garantire una tutela sociale ed assicurativa al pari di tutte le altre patologie riconosciute.

D. *Qual è la risposta del territorio dove opera, alle aspettative dei pazienti cefalalgici? Devo dire che il territorio del nord Salento si distingue in questo.*

R. A Campi Sal.na opera uno dei due Centri Pugliesi che, a livello territoriale, si dedicano a questa patologia. Il Centro Cefalee di Campi Sal.na, di cui sono responsabile, è un Centro riconosciuto dalla SISC (Società Italiana per lo Studio delle Cefalee) e lavora in stretto e continuo contatto col Centro Cefalee del Policlinico di Bari. Ad esso si accede mediante una prenotazione da effettuarsi presso il CUP con richiesta del MMG o del PLS, di visita neurologica per cefalea.

D. *A quali fasce di età è rivolto?*

R. E' dedicato sia a soggetti adulti che dell'età evolutiva. Voglio sottolineare il significativo aumento, in quest'ultimo periodo pandemico, delle cefalee in età evolutiva verosimilmente correlato con l'uso eccessivo di internet. A riguardo potremmo, in un prossimo appuntamento, sviluppare tale argomento davvero molto interessante e preoccupante.

D. *Quindi, presso il Centro Cefalee di Campi Sal.na, si fa sia diagnosi che cura di cefalea.*

R. Certamente, sia l'una che l'altra. Una volta diagnosticata correttamente la forma di cefalea, anche attraverso l'uso di appositi diari, si procede alla prescrizione di cure specifiche di profilassi non solo per le forme più frequenti (emicrania e



cefalea tensiva) ma anche per quelle meno frequenti e più resistenti quali l'emicrania cronica e la cefalea da abuso di sintomatici. Si fa presente che quello di Campi è uno dei pochi Centri autorizzati (con delibera regionale dell'agosto 2020) alla prescrizione di terapie innovative quali quella con anticorpi monoclonali nelle su citate forme di cefalea. Questo, a ribadire ulteriormente, il sempre più determinante e centrale ruolo del territorio nella gestione di patologie croniche e dal risvolto sociale quale l'emicrania che, se avviata giustamente allo specialista del settore, può determinare importanti miglioramenti alla qualità della vita del soggetto cefalalgico.



UNA PARTNERSHIP AINAT-ANIRCEF

Riceviamo e volentieri pubblichiamo la lettera inviata dal prof. Piero Barbanti in merito a una collaborazione scientifica tra le due Associazioni

Roma, 31 maggio 2021

c/a Preg.mo Dott. Domenico Cassano – Presidente AINAT info@domenicocassano.it,
info@ainat.it

Caro Presidente,

chiediamo di poter formalizzare un partenariato tra ANIRCEF e AINAT per garantire una migliore interazione tra i neurologi territoriali e la nostra Società Scientifica, da 20 anni protagonista della ricerca neurologica sulle cefalee.

La crescente considerazione del problema delle cefalee, culminata con il riconoscimento della cefalea primaria cronica come malattia sociale (Legge n. 81 del 14/7/2020 – GU n.188 del 28/7/2020) e l'avvento di terapie rivoluzionarie per l'emicrania, chiede di riorganizzare l'assistenza dei pazienti, favorendo un coinvolgimento più attivo degli ambulatori territoriali.

E' giunto dunque il momento di ripensare il governo clinico delle cefalee. Non a caso, le Regioni hanno autonomamente individuato oltre 210 centri prescrittori di anticorpi monoclonali anti CGRP, un numero ben superiore rispetto ai 160 centri cefalee italiani riconosciuti da ANIRCEF e SISC.

Ciò indica la necessità di cambiare passo e mentalità, riconoscendo l'attività pluriennale dei tanti colleghi che si dedicano quotidianamente con competenza e professionalità all'attività clinica territoriale in questo settore. Crediamo fortemente che debba anche essere superata la dicotomia tra assistenza e ricerca.

A questo proposito, l'istituzione da parte di ANIRCEF del primo registro nazionale dell'emicrania in ambito mondiale (I-GRAINE, Italian miGRAINE rEgistry) rappresenta non solo un passo significativo per la ricerca applicata in sanità pubblica, ma anche un'occasione formidabile per integrare il neurologo clinico territoriale con la comunità scientifica nazionale e internazionale.

Un saluto cordiale

Prof. Piero Barbanti Presidente ANIRCEF



NEWS DAI CONVEGNI AINAT

CORSO DI PERFEZIONAMENTO SULLE DEMENZE

Dalla medicina territoriale alla diagnosi di precisione: un percorso realistico

Webinar 17-18 giugno 2021

Responsabili scientifici: *Pasquale Alfieri, Cinzia Coppola*

Tra i tanti webinar che si sono succeduti in questo periodo, segnaliamo quello recentemente organizzato dall'AINAT Campania.

Si è trattato di un corso di perfezionamento sulle demenze che ha visto la partecipazione di numerosi relatori, tra i più esperti a livello nazionale in questo campo, indicati nel programma accluso.

Obiettivo del corso è stato quello di rivendicare per gli specialisti del Territorio la capacità di fare una diagnosi di precisione, volta anche alla identificazione del substrato patogenetico sotteso.

Un susseguirsi di relazioni che hanno affrontato i momenti salienti del percorso diagnostico, dalla neuropsicologia alla medicina nucleare, non tralasciando le complesse problematiche legate alle comorbidità e alle politerapie.

Particolarmente rilevanti, sia per le tematiche trattate che per lo spessore scientifico dei relatori, le letture magistrali che hanno affrontato dei temi di grande attualità:

l'impatto del Covid sui pazienti; le caratteristiche cliniche del deterioramento cognitivo primario; il target terapeutico dell'amiloide anche alla luce dell'autorizzazione concessa dalla FDA all'utilizzo dell'aducanumab; e, per finire, il ruolo delle strutture non neuronali nella neurodegenerazione. L'evento è stato moderato con sapiente maestria dal professor Enrico Volpe e dal dottor Fausto Sorrentino.

Un altro momento che ha catalizzato l'interesse dei numerosi discenti collegati è stata la tavola rotonda che ha visto confrontarsi, sotto la regia esperta del dottor Umberto Ruggiero, politici, funzionari regionali e sindacalisti: tutti d'accordo sulla necessità di una indispensabile sburocratizzazione delle procedure prescrittive.

L'auspicio per tutti è di replicare al più presto in presenza.



IV CONGRESSO REGIONALE AINAT SICILIA 2021

AINAT SICILIA 2018/2021: TRAGUARDI RAGGIUNTI E PROGRAMMI FUTURI

Palermo, 23-25 settembre 2021, Grand Hotel Piazza Borsa

Responsabili Scientifici: Pietro Marano, Carlo Alberto Mariani

Anche quest'anno Ainat Sicilia incontra congressualmente i neurologi, e grazie alle recenti e prudenti aperture del Governo agli eventi congressuali residenziali, abbiamo deciso di organizzarlo in modalità ibrida, con la sezione residenziale fissata a Palermo. Presentiamo un programma accreditato ed articolato in quattro sessioni scientifiche, nei cui ambiti culturali governativi siamo entrati, nonostante le difficoltà e priorità dall'emergenza pandemica, per aggiungere "anche" le nostre posizioni organizzative. D'altronde, coerentemente alla mission statutaria, siamo riusciti e stiamo cercando spazi di operatività in quelle tematiche neurologiche orientate alla multidisciplinarietà ed alla costituzione di reti assistenziali funzionali per il paziente, occupandoci anche, accanto alla componente scientifica, di tutti quegli aspetti operativi "pratici", con cui il neurologo territoriale ha quotidianamente a che fare, e la cui efficiente gestione rappresenta un plus per l'assistito. La nostra partecipazione alla stesura del PDTA per la Malattia di Parkinson (patologia in cui abbiamo ottenuto dal 2019 pari potere prescrittivo dei colleghi universitari ed ospedalieri), il nostro recente inserimento nel tavolo tecnico assessoriale per le demenze, la prescrivibilità conquistata per la nostra categoria di tutti i farmaci antiepilettici, il nostro avvio di percorso di inserimento nei tavoli tecnici per le cefalee e per le malattie neuromuscolari, spiega quindi, guardando al 2020 denso di traguardi raggiunti ed in proiezione ai prossimi anni, il programma congressuale di quest'anno. Arricchito dall'inserimento tra i relatori di colleghi prestigiosi in ambito regionale e nazionale, speriamo di continuare a raccogliere consensi societari ed intersocietari, come è avvenuto di recente con la SIN, al fine di inserire la nostra figura professionale nei contesti culturali che merita.



AL DI LÀ DEL FARO. NUOVI ORIZZONTI DI CONOSCENZA IN NEUROSCIENZE

Lloyd's Baia Hotel, Vietri Sul Mare (SA), 15-16 ottobre 2021

Segreteria scientifica: *Domenico Cassano*

PRESENTAZIONE

“... non vogliate negar l'esperienza”

Gli anni recenti possono considerarsi, a ragione, un periodo aureo per l'emicrania. Basti pensare alla revisione nosografica contenuta nella terza edizione della Classificazione Internazionale delle Cefalee (ICHD-3), edita a distanza di 30 anni dalla prima; e soprattutto alla disponibilità di nuovi farmaci, altamente selettivi e di migliore efficacia, resa possibile grazie a una maggiore comprensione dei meccanismi fisiopatologici e biomolecolari che la sottendono.

Obiettivo di questo meeting è quello di fornire aggiornamenti sui nuovi strumenti diagnostici per l'inquadramento delle cefalee nonché sui più recenti trattamenti farmacologici. Uno spazio sarà dedicato alla discussione sulle possibili modalità di organizzazione ed implementazione di una rete in regione Campania che ottimizzi l'assistenza al paziente con cefalea nell'ottica delle innovazioni riguardanti il *Chronic care model*.

Saranno altresì illustrate le novità più recenti per patologie di primario interesse per il neurologo clinico, quali Parkinson, demenza, epilessia e depressione.

Immane il riferimento - come da prassi - a tematiche attinenti alle Scienze umane: un Simposio sul tema dell'umana fragilità esplorerà questa “virtù dimenticata” nelle sue principali fondazioni, etiche, esistenziali e sociali.

“Al di là del faro”: un titolo suggestivo per un evento altamente proficuo per l'aggiornamento professionale, che vede ri-uniti, in un esaltante mix, studiosi di varia formazione, umanisti, neuro-scienziati e clinici.

Parafrasando l'Ulisse dantesco, spingersi “per l'alto mare aperto” per “divenir del mondo esperto”: l'ardente invito a non doversi “negar l'esperienza”, vale a dire la conoscenza, che va sempre perseguita con slancio vitale e nobili intenti.



IN MEMORIAM

UN RICORDO DI DARIO GROSSI



IL TUO SORRISO CI MANCHERA'

Il 20 giugno scorso è venuto a mancare il prof. Dario Grossi, pochi giorni dopo aver compiuto 71 anni.

Esponente di spicco della scuola di neuropsicologia napoletana, dove si era laureato in Medicina nel 1974 e poi specializzato in Neurologia e Psichiatria. Già nel 1976 aveva organizzato il primo laboratorio di Neuropsicologia del sud Italia. Nella seconda Università di Napoli-Caserta fu prima professore associato nel 2001 e poi ordinario dall'anno seguente.

Fu direttore del Dipartimento di Psicologia dal 2012 al 2018, poi della Scuola di Specializzazione in Neuropsicologia, e dal 2013 al 2016 presidente della Società Italiana di Neuropsicologia, di cui nel 1997 era stato tra i soci fondatori.

Tra le sue tante pregevoli pubblicazioni ricordiamo quelle sull'afasia, la demenza, la aprassia, il neglect, i disturbi frontali e gli studi sul mental imagery nelle patologie e sul "clock test" e altri test di uso comune nella valutazione neuropsicologica. Spiccati interessi manifestava per gli aspetti riabilitativi dei deficit.

La sua scomparsa lascia un vuoto nel panorama scientifico e culturale, in particolare nel campo neuropsicologico.

Dario Grossi è stato sempre vicino alla nostra Associazione. Me è testimonianza la sua partecipazione in tantissimi convegni. Egli incantava la platea con un eloquio dotto e



nel contempo chiaro, accessibile anche ai non addetti ai lavori, sempre accompagnato da una battuta e un sorriso che, nel rievocare i tanti momenti, ritornano prepotenti alla memoria.

Aveva l'umiltà del vero scienziato, essendo dotato di grande competenza scientifica e professionale. Per la sua immensa signorilità e disponibilità conserveremo il suo ricordo perennemente nei nostri cuori.

Ave atque vale!

CARE MEMORIE

La nascita dell'AINAT e un ricordo del compianto Dario Grossi *Gennaro Cascone*

Tanti anni fa, il *Progetto Chronos* era da poco stato varato e in Campania si era stabilito che il neurologo, soprattutto se Territoriale, non era fondamentale per la gestione delle demenze. Ciò innescò una serie di reazioni, prima locali e poi nazionali, una delle quali sfociò nella nascita dell' AINAT. Ci furono tanti eventi sulla "cognitività" con la partecipazione di relatori di rilievo internazionale. Uno di questi è sempre rimasto al nostro fianco: parliamo di Dario Grossi, neurologo, psichiatra, ricercatore e docente universitario di neuropsicologia, che ci ha lasciati dopo aver sofferto di un male incurabile. Non posso dire di averlo conosciuto a fondo ma dalla platea ho sempre apprezzato la leggerezza e la chiarezza delle sue relazioni. Qualche anno fa a Paestum mi è capitato di moderare un dibattito in cui lui parlava di declino cognitivo, col suo solito fare semplice e nel contempo elegante. Nel ricordargli i passati incontri sulle demenze si era mostrato sinceramente riconoscente. Avevo anche pensato in passato di proporre di scrivere qualche suo contributo per "AINATnews" ma il destino ha deciso diversamente. La sua scomparsa mi fa pensare ad una foglia che si stacca dall'albero AINAT. La sua memoria evoca ricordi piacevoli... un piacere pieno di tristezza.



AINAT NEWS



COMITATO DI REDAZIONE

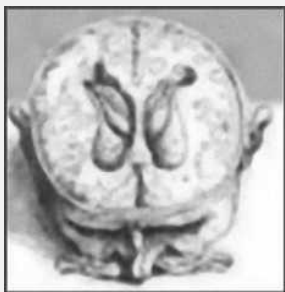
Direttore editoriale: Roberto Tramutoli

Direttore scientifico: Domenico Cassano

Redattore capo: Gennaro Cascone

Componenti: Carlo Alberto Mariani, Vincenzo Mascia, Francesco Rodolico, Renato Sambati





Allegato al N. 10 – GIUGNO 2021

AINAT*news*

PERIODICO SCIENTIFICO E DI INFORMAZIONE
DELL' ASSOCIAZIONE ITALIANA NEUROLOGI AMBULATORIALI TERRITORIALI

INSERTO SPECIALE

GEORGE HUNTINGTON: UN'EREDITÀ DI RICERCA E DI SPERANZA



DALLA DISFUNZIONE DELLA HUNTINGTINA ALLA MALATTIA DI HUNTINGTON

DOMENICO CASSANO, DANIELA CERRATO

SOMMARIO

GEORGE HUNTINGTON: UN'EREDITÀ DI RICERCA E DI SPERANZA

Un ritratto dell'uomo dietro la sindrome, gli sviluppi della ricerca

Domenico Cassano, pag. 2

DALLA DISFUNZIONE DELLA HUNTINGTINA ALLA MALATTIA DI HUNTINGTON

Daniela Cerrato, Biochimica avanzata, Scienze Biologiche, Dipartimento di Chimica e Biologia "A. Zambelli", Università degli Studi di Salerno, pag. 12

In copertina: ritratto di George Huntington nel 1895

GEORGE HUNTINGTON: UN'EREDITÀ DI RICERCA E DI SPERANZA

UN RITRATTO DELL'UOMO DIETRO LA SINDROME

Domenico Cassano

Il 9 aprile del 1850 a Long Island, un quartiere dello stato di New York (USA), nasce George Huntington. La sua è una famiglia con una ricca tradizione medica: il nonno Abe era primario di chirurgia al *Long Island Hospital*; suo padre George Lee era un medico famoso in tutta la regione, mentre suo fratello maggiore Abel divenne direttore medico della *New York Life Insurance Company*.

Nonostante soffrisse di un asma severo, George ama la caccia, la natura e i viaggi. Dotato di uno spiccato senso di osservazione, si diletta nel dipingere paesaggi e scene locali. I suoi rapporti di viaggio, pubblicati ne *Il giornale di Long Island*, testimoniano delle sue prime abilità come scrittore.

Dopo essersi iscritto al *College of Physicians and Surgeons* di New York City, si laurea in Medicina nel marzo del 1871 con una tesi sugli effetti dell'oppio. Nell'autunno dello stesso anno si trasferisce a Pomeroy (Ohio) dove apre uno studio medico.

Nell'accompagnare suo padre nell'abituale giro di visite, nota su due donne (madre e figlia) gli effetti di una "strana malattia", allora sconosciuta, che attira fortemente la sua curiosità. Comincia perciò a consultare diversi scritti di carattere medico, in primis le cartelle cliniche di suo padre e i diari di suo nonno.

Questi appunti risultano preziosi per la descrizione della malattia. In più occasioni egli esprimerà il suo debito di riconoscenza nei confronti dei suoi predecessori ammettendo che senza le loro osservazioni non avrebbe potuto scrivere i suoi articoli (Fig. 2).



Fig. 1. George Huntington all'età di 18 anni (1868)

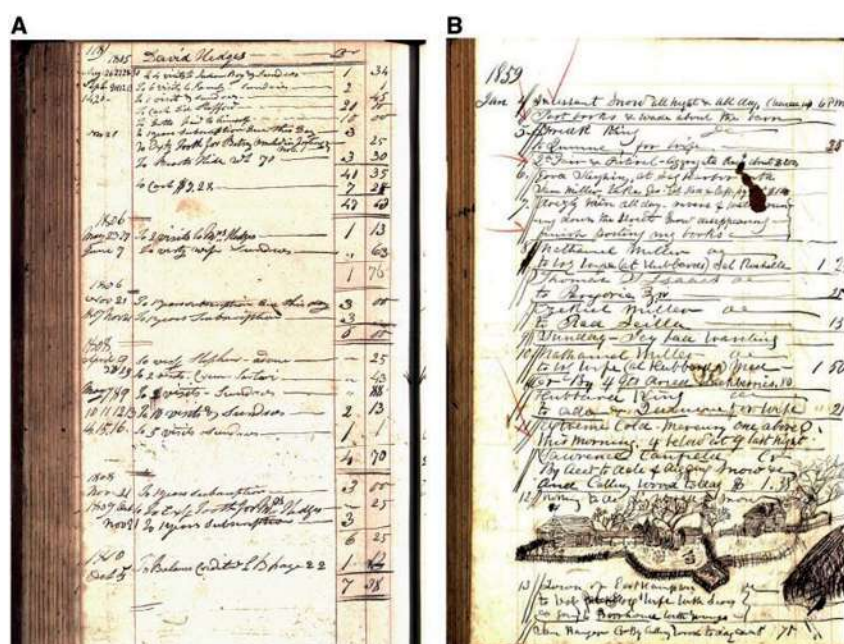


Fig. 2 – I diari medici di suo padre Abe e del nonno Abel Lee

In uno dei suoi report, George scrive: “Guidando con mio padre lungo una strada boscosa che portava da East Hampton ad Amaganset, improvvisamente ci siamo imbattuti in due donne, madre e figlia, entrambe alte, magre, quasi cadaveriche, entrambe inchinate, contorte, che facevano smorfie. Le fissavo stupito, quasi impaurito. Mio padre si fermò a parlare

con loro. In quel momento ho scoperto la mia vocazione per la Medicina. E' proprio allora che è nato il mio interesse per la malattia e vivo si è mantenuto per il resto dei miei giorni".

Nel 1872, non ancora 22enne, è invitato a presentare un articolo nella vicina Middleport presso la locale *Meigs and Middleport Academy of Medicine*. Sceglie di parlare "Sulla Chorea", perché, dopo aver osservato casi di corea infantile (di Sydenham) nella clinica come studente di medicina a New York, era rimasto colpito dalle differenze rispetto alla corea che aveva osservato "esclusivamente all'estremità orientale di Long Island", vale a dire nella sua regione.

Nel documento, George Huntington delineava tre caratteristiche predominanti di tale tipo di corea.

La prima era la sua natura ereditaria. Tuttavia, tale malattia differiva "*dalle leggi generali delle cosiddette malattie ereditarie*" in cui essa può saltare una generazione. "*Per quanto instabile e stravagante possa essere la malattia sotto altri aspetti, in questo è ferma: non salta mai una generazione, per manifestarsi di nuovo in un'altra*".

In secondo luogo, la tendenza a quella che George Huntington chiamava, nel gergo del XIX secolo, "*follia, e talvolta quella forma di follia che porta al suicidio*". "*Man mano che la malattia progredisce, la mente diventa più o meno indebolita, in molti equivale alla follia, mentre in altri mente e corpo entrambi gradualmente falliscono fino a quando la morte non li libera dalle loro sofferenze*". Descrive inoltre una mancanza di autoconsapevolezza e perdita di inibizioni da parte dei malati.

Infine, egli nota che i sintomi si manifestano generalmente nella vita adulta, il più delle volte tra i 30 e i 40 anni di età, aumentando molto gradualmente "*fino a quando ogni muscolo del corpo non viene colpito (tranne quelli involontari)*". La malattia progredisce inesorabilmente senza periodi di remissione. "*Una volta che inizia, si conclude con un'amara fine*".

Huntington ammette di non sapere nulla di tale patologia, limitandosi a offrire il suo resoconto: "*non che lo considerassi di grande importanza pratica, ma semplicemente una curiosità medica, e come tale potrebbe avere qualche interesse*". Una descrizione definita da William Osler "uno dei ritratti più concisi e accurati di una malattia, mai prima descritti" (Osler, 1983).

La corea di Huntington nel mirino di psichiatria, neurologia, genetica ed eugenetica

L'articolo di George Huntington viene pubblicato su una rivista medica di Filadelfia, *The Medical and Surgical Reporter* (Fig. 3) e riportato come breve abstract nel *Virchow e Hirsch's Yearbook of Important Medical Writings for the Year 1872*.

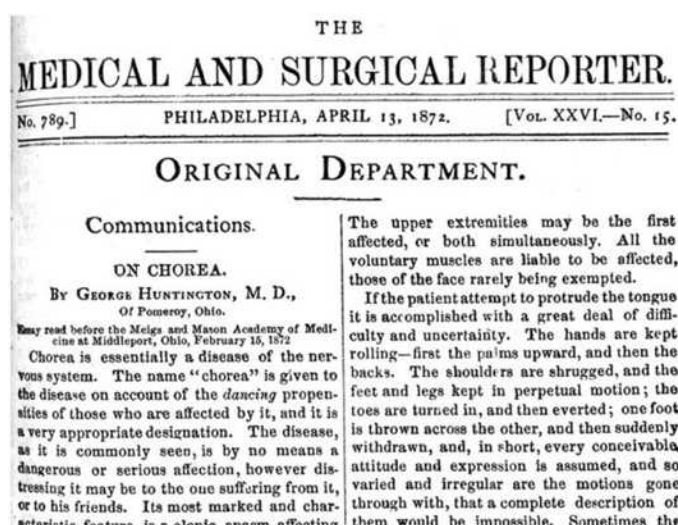


Fig. 3 – L'articolo di George Huntington "On Chorea" pubblicato nel 1872 nel journal *Medical and Surgical Reporter*. I suoi successivi discorsi davanti a varie società mediche "Sulla Corea" furono pubblicati nel *Brooklyn Medical Journal* (1895), nelle *Transazioni della Tri-State Medical Association* (1903) e nel *Journal of Nervous and Mental Disease* (1910).

Qualche anno più tardi, Camillo Golgi, eminente neuropatologo italiano, lo cita in un articolo sui vistosi cambiamenti nella corteccia e nello striato di un paziente maschio di 42 anni deceduto con corea, disturbi mentali e madre "isterica" (Golgi, 1984).

Tuttavia, col diffondersi della neurologia come specialità medica tra gli anni 1870 e 1880 e la crescente popolazione di pazienti afferenti agli ospedali psichiatrici e ai manicomi negli Stati Uniti e in Europa, i medici iniziarono a segnalare casi simili con crescente frequenza. Nel 1892 alcuni autori sostenevano addirittura che la letteratura su questo disturbo fosse "abbondante" e che la sua storia clinica fosse "molto conosciuta" (Osler, 1893; Wexler, 2008).

Alcuni nomi illustri della medicina del tempo, tra cui Charcot, considerarono 'la corea ereditaria' una variante del disturbo dell'infanzia. Per un'ironia della sorte, mentre i neurologi consideravano la corea di Huntington una

malattia neurologica per eccellenza, molti più psichiatri rispetto ai neurologi hanno di fatto visitato tali pazienti, inviati a curarsi negli istituti psichiatrici. Le numerose osservazioni che giungono da più voci enfatizzano il contrasto presentato da questo disturbo con la corea di Sydenham, inclusa la comparsa tardiva, l'inesorabile progressione e il fatto che "l'ereditarietà è una delle caratteristiche più notevoli". Tuttavia, i vari appellativi usati all'epoca per indicare la malattia evidenziavano caratteristiche diverse dall'ereditarietà: corea dell'anziano, demenza coreica, corea progressiva cronica, sebbene presto il termine corea di Huntington li sostituirà tutti (Wexler, 2008).

Progresso scientifico e cambiamento sociale

I reports sulla neuropatologia della corea negli adulti cominciarono a comparire a partire dal 1870 con i ricercatori concordi sul fatto che la lesione di fondo fosse localizzata a livello dei gangli della base, laddove lo striato - in particolare il nucleo caudato - mostrava il massimo grado di atrofia. Tuttavia, c'è stato scarso accordo sulla causa e relativamente pochi progressi per decenni.

La confluenza di diversi studi negli anni '60 ha trasformato radicalmente questo scarno panorama. In primo luogo, segnaliamo l'organizzazione di un gruppo di ricerca internazionale sulla corea di Huntington avvenuto nel 1967, in occasione del raduno di neurologi nel 1967 per la scoperta della L-Dopa nel trattamento del morbo di Parkinson. In secondo luogo, l'ascesa dei movimenti sociali negli anni '60 ha sfidato le "leggi senza cuore" della genetica e incoraggiato i membri delle famiglie con Huntington ad attivarsi attraverso la costituzione di Associazioni.

Attivisti come la nordamericana *Marjorie Guthrie*, vedova del cantautore e cantante *Woody Guthrie* (fig. 4) che morì di questa malattia nel 1967, e *Milton e Nancy Wexler*, marito e figlia di *Leonore Wexler* che pure aveva ricevuto diagnosi di tale malattia, insieme a tanti altri, sparsi in molte parti dei continenti (*Ralph Walker* in Canada, *Mauveen Jones* nel Regno Unito, *Gerrit Dommerholt* nei Paesi Bassi) e gli stessi pazienti affetti, hanno diretto i loro sforzi verso un miglioramento dell'assistenza e dato ulteriore impulso alla ricerca scientifica.



Fig. 4 – Il cantante Woody Guthrie, affetto da malattia di Huntington

Alla fine degli anni '60 e '70 si sono costituite numerose associazioni in difesa di questi pazienti in molti paesi (gruppi di auto-aiuto o organizzazioni di volontariato sanitario) che, insieme ai progressi rivoluzionari nella genetica molecolare e nelle neuroscienze, hanno ampliato l'interesse biomedico verso la malattia di Huntington. Le nuove tecnologie di mappatura genica hanno aperto la possibilità di identificare, e forse disabilitare, il gene aberrante.

In un *Centennial Symposium* del 1972 sulla malattia di Huntington, a Columbus, Ohio, vicino alla città in cui George Huntington ha presentato il suo documento fondamentale, circa 136 ricercatori e alcuni membri delle famiglie di Huntington da tutto il mondo si sono riuniti per commemorare il suo contributo e sviluppare nuove direttive per la ricerca. Da questo incontro è venuto lo slancio per un ardito progetto di collaborazione centrato su un gruppo unico di famiglie affette in Venezuela che erano state diagnosticate negli anni '50 da un medico locale, Americo Negrette (v. fig 5), autore della prima monografia pubblicata sulla malattia di Huntington (Negrette, 1963).



Fig. 5 – il medico venezuelano Americo Negrette

Attingendo alla genetica delle cellule somatiche per la mappatura dei geni, questo progetto, guidato da *Nancy Wexler*, è culminato nel 1983 con l'identificazione di un marker genetico per l'Huntington (*Gusella et al.*, 1983).

Sempre sotto la guida di *Nancy Wexler* e della *Hereditary Disease Foundation* è stato fondato l'*Huntington's Disease Collaborative Research Group* che dopo 10 anni di intensa attività ha identificato il gene responsabile della malattia di Huntington (*Huntington's Disease Collaborative Research Group*, 1993; *Wexler*, 2012) (Fig.6).

Cell, Vol. 72, 971-983, March 26, 1993, Copyright © 1993 by Cell Press

A Novel Gene Containing a Trinucleotide Repeat That Is Expanded and Unstable on Huntington's Disease Chromosomes

The Huntington's Disease Collaborative Research Group*

Summary

The Huntington's disease (HD) gene has been mapped in 4p16.3 but has eluded identification. We have used haplotype analysis of linkage disequilibrium to spotlight a small segment of 4p16.3 as the likely location of the defect. A new gene, IT15, isolated using cloned trapped exons from the target area contains a polymorphic trinucleotide repeat that is expanded and unstable on HD chromosomes. A (CAG)_n repeat longer than the normal range was observed on HD chromosomes from all 75 disease families examined, comprising a variety of ethnic backgrounds and 4p16.3 haplotypes. The (CAG)_n repeat appears to be located within the coding sequence of a predicted ~348 kd

Introduction

Huntington's disease (HD) is a progressive neurodegenerative disorder characterized by motor disturbance, cognitive loss, and psychiatric manifestations (Martin and Gusella, 1986). It is inherited in an autosomal dominant fashion and affects ~1 in 10,000 individuals in most populations of European origin (Harper et al., 1991). The hallmark of HD is a distinctive choreic movement disorder that typically has a subtle, insidious onset in the fourth to fifth decade of life and gradually worsens over a course of 10 to 20 years until death. Occasionally, HD is expressed in juveniles, typically manifesting with more severe symptoms including rigidity and a more rapid course. Juvenile onset of HD is associated with a preponderance of paternal transmission of the disease allele. The neuropathology of HD also displays a distinctive pattern, with selective loss of neurons that is most severe in the caudate and putamen. The biochemical basis for neuronal death

Fig. 6 – L'articolo che descrive l'identificazione dell'espansione della ripetizione della tripletta CAG in IT15 responsabile della malattia di Huntington. Questa scoperta è stata considerata così importante che è apparsa sulla prima pagina del The New York Times il 24 marzo 1993.

Verso la terza età della malattia di Huntington

In una regione codificante del cromosoma 4, etichettata come IT-15, il *Collaborative Research Group* individuava una ripetizione di triplette CAG espansa ritenuta responsabile nel determinismo della malattia. Il gene è stato presto ribattezzato *HTT* e il suo prodotto proteico denominato "huntingtina".

Inizia così una nuova era per la malattia di Huntington. Tutti gli sforzi dei ricercatori sono concentrati sulla comprensione del gene, studiando la proteina nelle sue forme *wild-type* e *mutanti*, chiarendo i meccanismi attraverso i quali l'huntingtina mutante (mHTT) causa la malattia e lavorando su terapie mirate alla mutazione e ai suoi effetti noti.

Huntington aveva quasi 22 anni quando presentò il suo lavoro fondamentale. Per una strana coincidenza, dopo 22 anni dalla scoperta dell'*HTT* gene, nel liquido spinale di un paziente con malattia di Huntington veniva iniettata per la prima volta una terapia con "nucleotidi non-senso". Siamo nel settembre 2015. Qualunque sia l'esito di questo primo passo provvisorio, la "terza età" della malattia di Huntington - l'era delle terapie sviluppate razionalmente mirate alla causa e alla patobiologia della malattia di Huntington - è ora a un passo dalla realizzazione.

Conclusione

Cento anni dopo la morte di George Huntington, la malattia che porta il suo nome non è più un male oscuro, di cui vergognarsi. Né va considerata una patologia di raro riscontro. Recenti studi epidemiologici hanno mostrato un tasso di prevalenza molto più alto di quanto riportato in precedenza, circa 12 per 100.000 abitanti, sebbene l'incidenza sia rimasta invariata (Evans *et al.*, 2013).

E se il morbo è ancora incurabile, di certo non è intrattabile. I farmaci possono ridurre i movimenti coreici e alleviare i sintomi psichiatrici.

Il sostegno sociale e psicologico può essere utile a migliorare la qualità di vita non solo per chi è affetto ma anche per i componenti non colpiti della famiglia, e, ancora, per chi è a rischio. Nuove tecniche *in vitro* come la diagnosi genetica della fecondazione e preimpianto (PGD) offrono maggiori opzioni per coloro che, pur a rischio, desiderano costruirsi una famiglia senza trasmettere la malattia (Bates *et al.*, 2015).

L'attivismo dei componenti la grande famiglia dei pazienti affetti da Huntington ha contribuito a ridurre l'isolamento e lo stigma sociale che da tempo si sono aggiunti alla sofferenza connaturata alla malattia.

Ma tutti questi progressi sono distribuiti in modo diseguale. Molte persone affette, non solo nei paesi poveri ma anche in quelli ricchi, non hanno accesso a questi benefici.

Sebbene sia essenziale continuare a investire nella ricerca sulle terapie modificanti la malattia, è anche fondamentale che gli interventi, le cure e i servizi esistenti siano resi accessibili a tutti coloro che ne hanno bisogno. Solo così sarà possibile non solo vincere una delle grandi sfide poste alla ricerca scientifica, ma anche realizzare quelle che sono le promesse e le aspettative di una scienza volta a lenire le umane sofferenze.

BIBLIOGRAFIA

Bates GP, Dorsey R, Gusella JF, Hayden MR, Kay C, Leavitt BR, et al. Huntington disease. *Nat Rev Dis Prim* 2015; 1: 1–21

Davenport CB, Muncey EB. Huntington's Chorea in Relation to Heredity and Eugenics. *Am J Insanity* 1916; 73: 195–222.

Evans SJW, Douglas I, Rawlins MD, Wexler NS, Tabrizi SJ, Smeeth L. Prevalence of adult Huntington's disease in the UK based on diagnoses recorded in general practice records. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2013; 84: 1156–60.

Golgi C. Sulla alterazioni degli organi centrali nervosi in uno caso di corea gesticulatoria associata ad alienazione mentale. *Riv Clin Bologna* 1874; 4: 361.

Gusella JF, Wexler NS, Conneally PM, Naylor SL, Anderson MA, Tanzi RE, et al. A polymorphic DNA marker genetically linked to Huntington's disease. *Nature* 1983; 306: 234–38.

Hans MB, Gilmore TH. Huntington's chorea and genealogical credibility. *J Nerv Ment Dis* 1969; 148: 5–17.

Harper PS. Huntington's disease: a historical background. In: *Huntington's disease*. Oxford: Oxford University Press; 2002.

Huntington G. On chorea. *Med Surg Rep* 1872; 26: 317–21.

Huntington's Disease Collaborative Research Group. A novel gene containing a trinucleotide repeat that is expanded and unstable on Huntington's disease chromosomes. *Cell* 1993; 72: 971–83.

Negrette A. Corea de Huntington: Estudio de una sola familia investigada a traves de varias generaciones. Maracaibo: Talleres Graficos, Universidad de Zulia; 1963.

Osler W. Remarks on the varieties of chronic chorea, and a report upon two families of the hereditary form, with one autopsy. *J Nerv Ment Dis* 1893; 18: 97–111.

Allegato AINAT News N. 10 – Giugno 2021

Wexler A. The woman who walked into the sea: Huntington's and the making of a genetic disease. New Haven: Yale University Press; 2008, p. 95.

Wexler NS, Rawlins MR. Prejudice in a portrayal of Huntington's disease. *Lancet* 2005; 366: 1069–70.

Wexler NS. Huntington's disease: advocacy driving science. *Annu Rev Med* 2012; 63: 1–22.

DALLA DISFUNZIONE DELLA HUNTINGTINA ALLA MALATTIA DI HUNTINGTON

Daniela Cerrato, Biochimica avanzata, Scienze Biologiche, Dipartimento di Chimica e Biologia “A. Zambelli”, Università degli Studi di Salerno

ABSTRACT

La Huntingtina (HTT) è una proteina polimorfa diventata ormai famosa, in quanto un'espansione patologica del tratto glutamminico (polyQ) nella sua regione N-terminale conduce alla devastante malattia neurodegenerativa di Huntington; una malattia rara, ad evoluzione cronica progressiva, caratterizzata prevalentemente da gravi disturbi motori, cognitivi e psichiatrici, conseguente ad una mutazione autosomica dominante nel primo esone del gene *HTT*, che codifica per la HTT, caratterizzata da oltre 35 ripetizioni anomale della tripletta CAG, che codifica per la glutammina, generando una proteina mutante espansa (mHTT). La HTT, presente in maniera ubiquitaria, sia a livello tissutale che cellulare, ed interagente con molti partner, per anni è stata considerata una proteina non dotata di una funzione cellulare chiaramente definita. L'intensa ricerca messa in atto, volta a comprendere i meccanismi molecolari alla base degli effetti dannosi correlati alla presenza dell'anomala espansione del polyQ nella HTT, nella speranza di scoprire una efficace terapia, ha evidenziato un potenziale ruolo della struttura e della funzione della proteina HTT nella specificità e gravità della patogenicità alla base della malattia di Huntington. Negli ultimi anni la ricerca, specificamente focalizzata sulla funzione della HTT wild-type, ha identificato i meccanismi cellulari e molecolari regolati dalla HTT, che potrebbero essere disfunzionali nella malattia di Huntington. Attualmente, nonostante i

numerosi progressi, ancora non è disponibile alcun trattamento efficace, se non sintomatico, per ritardare la comparsa e la progressione della malattia.

ABBREVIAZIONI

BDNF: fattore neurotrofico cerebrale

CRM1: proteina di mantenimento della regione cromosomica 1

ER: Reticolo Endoplasmatico

HAP1: proteina 1 associata alla Huntingtina

HAP40: proteina 40 associata alla Huntingtina

HIP1: proteina 1 interagente con la Huntingtina

HTT: proteina Huntingtina

mHTT: proteina Huntingtina mutante

PCM: materiale pericentriolare

PCM1: proteina del materiale pericentriolare 1

PolyQ: poliglutammina

PRD: dominio ricco di prolina

PTM: modifiche post traduzionali

ROS: specie reattive dell'ossigeno

UPS: sistema ubiquitina-proteasoma

INDICE

CAPITOLO 1, pag. 15

Proteina Huntingtina
Distribuzione cellulare e tissutale
Localizzazione subcellulare
Gene della Huntingtina
Struttura della Huntingtina
Modifiche post-traduzionali della Huntingtina_
Partner della proteina Huntingtina

CAPITOLO 2, pag. 26

Funzioni della proteina Huntingtina
Traffico vescicolare
Divisione cellulare
Ciliogenesi
Endocitosi, riciclaggio delle vescicole e traffico endosomiale
Autofagia
Regolazione trascrizionale
Sviluppo embrionale
Conservazione dei tessuti e regolazione della morfologia cellulare
Sopravvivenza cellulare
Sinapsi

CAPITOLO 3, pag. 38

Malattia o Corea di Huntington
Meccanismi patogenetici della Malattia di Huntington
Aggregazione della Huntingtina
Proteolisi della Huntingtina
Alterazione della trascrizione genica
Alterazione della autofagia
Disfunzione mitocondriale
Disfunzione astrocitaria e microgliale
Alterazione della plasticità sinaptica e della omeostasi neuronale_

CAPITOLO 4, pag. 54

Conclusioni e prospettive

CAPITOLO 1

1.1. Proteina Huntingtina

La proteina Huntingtina (HTT) è la principale responsabile, nella sua forma mutante, della Malattia di Huntington, dovuta alla presenza di un'espansione anormale di un tratto di glutammina (polyQ) nella sua sequenza N-terminale.

1.1.1. Distribuzione cellulare e tissutale

La HTT è ubiquitariamente espressa nelle cellule e nei tessuti umani e murini [Marques Sousa e Humbert, 2013], con livelli più alti nei neuroni del sistema nervoso centrale, in particolare nei grandi neuroni striatali sparsi ed in tutti i neuroni corticostriatali [Fusco et al., 1999], dove sembra localizzarsi prevalentemente nel citoplasma ed essere associata alle membrane delle vescicole [Di Figlia et al., 1995], nonché nella corteccia, nel cervelletto e nell'ippocampo.

Nei tessuti un'apparente scarsità della HTT può riflettere l'eterogeneità dei suoi livelli, con maggiore concentrazione limitata a determinati sottotipi cellulari. Nei tessuti periferici, le cellule mesenchimali esprimono poco o nulla HTT, rispetto a quelle epiteliali che ne posseggono alti livelli [Marques Sousa e Humbert, 2013].

1.1.2. Localizzazione subcellulare

La HTT è una proteina citoplasmatica, con parziale localizzazione nucleare. Nelle cellule nervose, è presente anche nei processi assonali, nelle sinapsi, nei microtubuli, nelle vescicole e in vari organelli cellulari come il reticolo endoplasmatico, il complesso di Golgi e i mitocondri.

La HTT contiene diversi segnali di localizzazione:

- un segnale di esportazione nucleare, all'estremità carbossi-terminale della proteina, dipendente dalla proteina di mantenimento della regione

cromosomica 1 (CRM1), che modula il trasporto delle proteine dal nucleo al citoplasma attraverso il complesso dei pori nucleari;

- un segnale di localizzazione nucleare e ciliare descritto nella porzione ammino-terminale (nelle posizioni 174 – 206), costituito da una o più brevi sequenze di lisine o arginine caricate positivamente, esposte sulla superficie della proteina, dipendente dalla prolina tirosina beta1/beta2 importina e interagente con la carioferina beta 2 [Desmond et al., 2012], che modula l'importazione nucleare delle proteine attraverso il complesso dei pori nucleari;
- dominio N17 (17 amminoacidi all'estremità ammino-terminale della proteina), un regolatore fondamentale della localizzazione nucleare della HTT attraverso il legame lipidico di CRM1 e del segnale di esportazione nucleare al reticolo endoplasmatico [Xia et al., 2003] ed al legame di questi alla faccia idrofoba del dominio.

La localizzazione nucleare della HTT, ma anche la sua fosforilazione, possono essere influenzati da una condizione di stress cellulare, principalmente dovuta alle specie reattive dell'ossigeno (ROS), responsabile sia dell'insorgenza della malattia di Huntington, correlata ad un maggior accumulo nucleare della HTT e della HTT mutante (mHTT), ipofosforilata alle serine 13 e 16 all'interno di N17 [Atwal et al., 2011], sia di un cambiamento della struttura alfa-elicoideale di N17 in seguito ad una maggiore fosforilazione e al targeting nucleare della HTT endogena. La localizzazione della proteina HTT dipende anche dalle modificazioni post-traduzionali di N17.

1.1.3. Gene della Huntingtina

Il gene codificante per la HTT, identificato nel 1993 e denominato *IT15*, situato sul braccio corto del cromosoma 4, è costituito da 67 esoni ed esprime due trascritti di mRNA di 10.366 bp e di 13.711 bp [Lin et al., 1993, Marques Sousa e Humbert, 2013].

Il primo esone, scarsamente conservato durante l'evoluzione, a differenza di altri esoni presenti ad es. in *Apis mellifera* o *Tribolium castaneum*, simili a quelli dei mammiferi,

contiene una tripletta CAG (citosina- adenina-guanina), incline all'espansione, che codifica per un segmento di poliglutammina.

Sebbene rappresentino solo il 2% della HTT, i frammenti codificati dall'esone 1 con l'espansione polyQ, sono sufficienti a sviluppare il fenotipo Malattia di Huntington in diversi sistemi modello [Barbaro et al., 2015; Mangiarini et al., 1996].

In caso di instabilità genetica il numero delle ripetizioni CAG può aumentare, traducendosi in un tratto polyQ responsabile dell'insorgenza della Malattia di Huntington [Andrew et al., 1993].

Nella popolazione sana, la sequenza CAG è ripetuta da 9 a 35 volte, con una media compresa tra le 17 e 20 ripetizioni. I portatori da 36 a 39 ripetizioni CAG hanno una penetranza inferiore ed una insorgenza tardiva della malattia rispetto a quelli con 40 o più ripetizioni CAG.

È stata riscontrata una forte correlazione inversa tra la lunghezza dell'espansione CAG e l'età di insorgenza dei sintomi con esordio giovanile, associato al gene che contiene 75 o più ripetizioni [Kremer et al., 1994] (Figura 1a).

Solo di recente è stato identificato lo splicing alternativo per il gene codificante per HTT, con la formazione di varianti, mancanti degli esoni 10, 12, 29, 46, o con un esone in più (41b), o che conservano una porzione di 57 bp dell'introne 28 [Hughes et al., 2014; Ruzo et al., 2015], alcune delle quali possono andare incontro, durante lo sviluppo, ad una sovraespressione, producendo frammenti della HTT patogena.

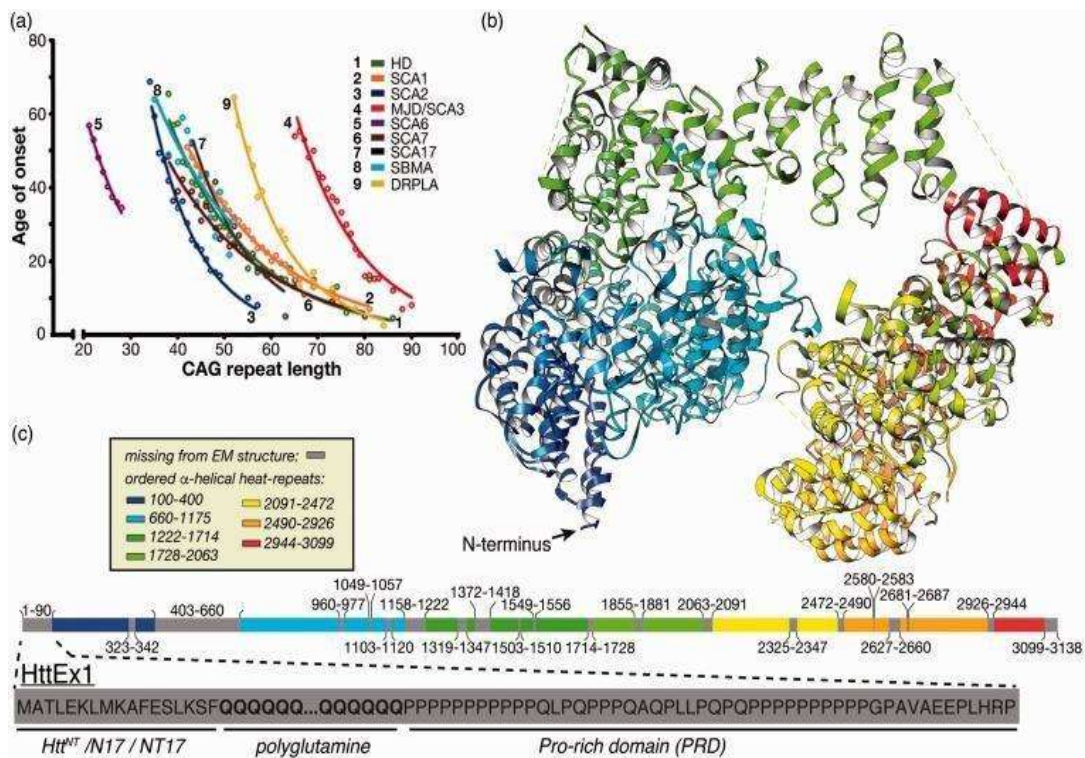


Figura 1: a) Il grafico mostra l'età di esordio della Malattia di Huntington inversamente correlata all'entità dell'espansione CAG [Kuiper et al., 2017]. b) Struttura della HTT wild-type [Guo et al., 2018]. c) Ordine delle ripetizioni dei domini HEAT formati da alfa eliche antiparallele separate in grigio da regioni non elicoidali; descrizione del gene HTT, contenente 67 esoni, che codifica per la proteina HTT; descrizione dell'estremità N-terminale tra le posizioni 1 e 90, codificata dal primo esone del gene HTT, costituita dal dominio N17, dalla regione polyQ formata da ripetizioni dell'amminoacido glutammina, e dal PRD [Matlahov e van der Wel, 2019].

1.1.4. Struttura della Huntingtina

La HTT è una proteina ubiquitaria di 348 kDa, a conformazione multipla, costituita da 3144 aminoacidi.

La primissima struttura della HTT ottenuta mediante microscopia crioelettronica, a una risoluzione complessiva di 4 Å, costituisce una pietra miliare nello studio delle sue molteplici funzioni [Guo et al., 2018] (Figura 1b).

La struttura schematica di HTT è rappresentata nella Figura 2.

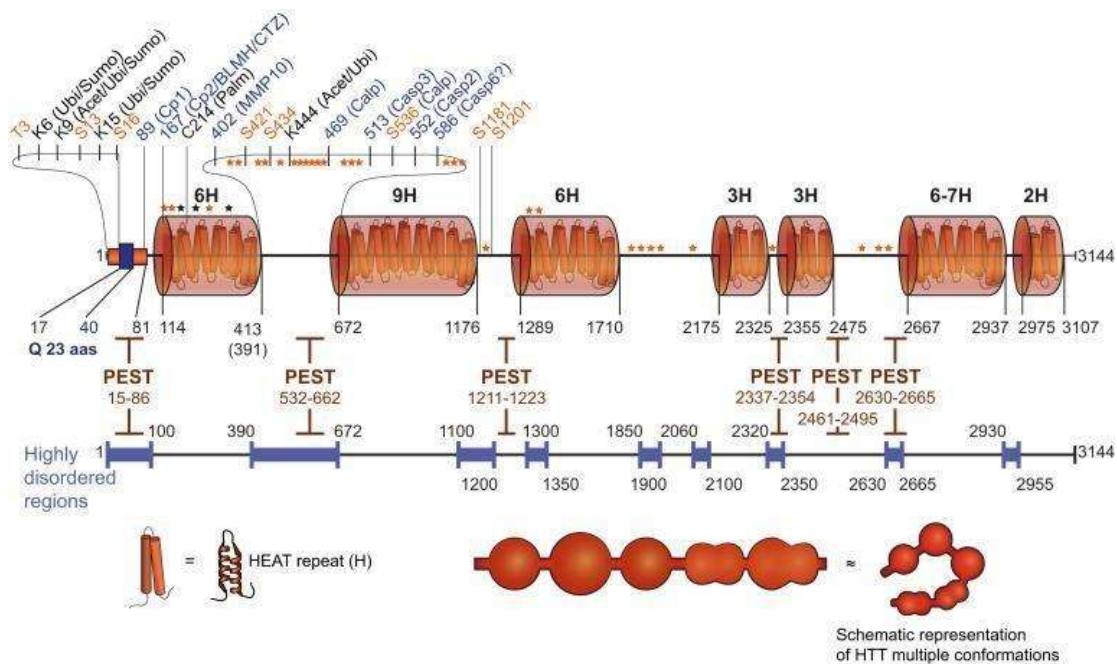


Figura 2: Schema strutturale della proteina HTT umana, con la rappresentazione in arancione dei siti di fosforilazione identificati mediante spettrometria di massa; in nero, dei siti di modifica post-traduzionale; in blu, dei siti proteolitici: Cp1, sito di scissione da proteasi sconosciuta; Cp2 / BLMH / CTZ, scissione da Bleomicina idrolasi o catepsina Z; Casp 6, sito di scissione, presente presso Asp586, all'interno della regione PEST2. Gli asterischi arancioni e neri identificano, rispettivamente, i siti di fosforilazione e acetilazione. Linearmente sono riportati dei numeri che corrispondono ai vari domini, HEAT, PEST e regioni altamente disordinate. H indica il numero di ripetizioni HEAT, organizzati in 7 domini alfa rod più grandi, separati dalle regioni disordinate. In basso: schema della HTT con sfere che corrispondono alle sequenze HEAT [Saudou e Humbert, 2016].

La HTT è costituita da una struttura polimorfa con una esclusiva coda N- terminale e sequenze multiple consenso dette HEAT. La regione N- terminale, largamente studiata, contiene il polyQ stretch, preceduto da 17 aminoacidi e seguito da un dominio ricco di prolina (PRD) (Figura 1c, Figura 2). L'espansione polyQ e il PRD si presentano polimorfici nella popolazione umana.

E' stato osservato che l'interazione della sequenza N-terminale con Tpr, una proteina dei pori nucleari coinvolta nell'esportazione nucleare, risulta ridotta dalle espansioni di poliglutamina, determinando un aumentato accumulo nucleare della HTT [Cornett et al., 2005].

La regione contenente i 17 amminoacidi N-terminali, altamente conservati nei vertebrati, meno nei protostomi [Tartari et al., 2008], costituisce un'α- elica anfipatica, importante per la ritenzione della HTT nel reticolo endoplasmatico, ed essenziale per la localizzazione subcellulare della HTT, agendo come un segnale di esportazione nucleare [Atwal et al., 2007].

Il tratto N17 svolge anche un ruolo importante nella regolazione della funzione, aggregazione, clearance e tossicità della HTT, influenzando la struttura e il comportamento del polyQ e le modifiche post-traduzionali (PTM) della proteina HTT [Atwal et al., 2011; Steffan et al., 2004].

Il dominio PRD, esclusivo nei mammiferi, possiede un'elica relativamente rigida con una conformazione piegata o diritta, che sembra avere un ruolo importante per stabilizzare la struttura del tratto polyQ [Bhattacharyya et al., 2006], per le interazioni con proteine contenenti triptofano (proteine WW) o domini Src homology 3 (SH3) [Harjes e Wanker, 2003], e nell'aggregazione e turnover della HTT [Dehay e Bertolotti, 2006; Southwell et al., 2008].

Sebbene sia fondamentale il ruolo della proteina HTT nelle interazioni proteina-proteina, la rimozione di questo dominio in vivo non produce alcun effetto sul comportamento dei topi [Neveklovska et al., 2012].

Qualche singolo Q è stato riscontrato già negli antenati dei protostomi e deuterostomi [Tartari et al., 2008]; recentemente è stato individuato nei ricci di mare un tratto NHQQ che sembra essere l'omologo funzionale della ripetizione 4Q trovata in vertebrati. Sebbene non siano ancora identificate le conseguenze sulla funzione della HTT della variabilità dell'espansione di polyQ, è stato osservato che la delezione del tratto polyQ determina nei topi una maggiore longevità, migliorando l'autofagia [Kheng et al., 2010].

È stato osservato che la coda polyQ non risulta conservata durante l'evoluzione, suggerendo un suo ruolo significativo nella modulazione fine delle funzioni della HTT wild-type [Tartari et al., 2008].

Alcuni studi hanno scoperto che HTT, a tutta lunghezza, si ripiegava con i terminali amminico e carbossilico a stretto contatto, dimostrando la dipendenza della conformazione della HTT dalla variabilità della lunghezza di polyQ, il quale può infatti

interferire con le interazioni proteina-proteina ed influire sulle PTM e sulla proteolisi [Daldin et al., 2017; Vijayvargia et al., 2016].

La struttura secondaria della regione N-terminale della proteina HTT contiene i primi 17 amminoacidi che formano una struttura alfa-elicoideale e l'espansione polyQ flessibile, che assume diverse conformazioni, tra cui α -elica, random coil e loop esteso [Kim et al., 2009]. Il resto della proteina è costituito dalla sequenza degli amminoacidi 69-3144, codificati dai restanti 66 esoni del gene *HTT*.

Questa porzione 69-3144 contiene diverse ripetizioni HEAT [Palidwor et al., 2009], formate da eliche α antiparallele separate da una regione non elicoideale (Figura 2), che si trovano, oltre che nella HTT, anche nel fattore di allungamento 3, nella proteina fosfatasi 2A e in TOR1. I domini HEAT costituiscono un nucleo idrofobico resistente alla dissociazione proteolitica [Li et al., 2006]. Nella HTT sono state riscontrate dalle 16 alle 36 ripetizioni HEAT, raggruppate in 3-5 domini alfa-rod più grandi separati da regioni disordinate (Figure 1 e 2) [Palidwor et al., 2009]. I domini di ripetizione HEAT sembrano funzionare come una struttura simile ad un solenoide che funge da impalcatura per la formazione di complessi proteici [Grinthal et al., 2010; Takano e Gusella 2002], regolando inoltre le interazioni inter- ed intra-molecolari, il traffico intracellulare e le interazioni proteina-proteina [Neuwald e Hirano, 2000].

I domini PEST, costituiti da prolina (P), acido glutammico (E), serina (S) e treonina (T), sensibili alla proteolisi, sono localizzati principalmente nelle regioni disordinate.

La regione centrale della HTT (507-1230) può legarsi ai domini N- terminali (1-506) e C-terminali (2721-3144) [Palidwor et al., 2009], o autoassociarsi per formare omodimeri. Allo stesso modo le porzioni N- terminali possono legarsi a diverse regioni C-terminali. Queste interazioni intramolecolari possono coinvolgere altri complessi proteici e vengono interrotte tramite proteolisi [El-Daher et al., 2015; Ochaba et al., 2014]. Questo suggerisce che HTT può assumere varie conformazioni tridimensionali. HTT purificata può assumere fino a 100 conformazioni strutturalmente distinguibili [Seong et al., 2010].

1.1.5. Modifiche post-traduzionali della Huntingtina

La dimensione del genoma non riflette direttamente la complessità evolutiva di un organismo.

Negli eucarioti di ordine superiore, la complessità del proteoma è molto più grande di quella del genoma corrispondente, a causa di passaggi multilivello, inclusi, ad esempio, splicing alternativo, promotori e frame di lettura aperta. Tutti questi fattori influenzano la sequenza del trascritto primario, moltiplicando enormemente il numero di possibili isoforme.

Una data sequenza proteica è profondamente alterata dalle PTM che, modificando proprietà specifiche del residuo, come la carica, idrofobicità e la possibilità di formare legame H, fungono da sintonizzatori delle proprietà proteiche che influenzano la struttura tridimensionale,

l'interazione proteina-proteina, la localizzazione, l'attività, la scissione e la stabilità delle proteine.

Le PTM di HTT sono state identificate utilizzando la spettrometria di massa, anticorpi specifici contro i siti modificati e saggi in vitro (Figura 2).

Le PTM modulano la tossicità della mHTT e le funzioni della HTT wild-type, soprattutto attraverso la clearance e l'aggregazione.

Le numerose PTM alle quali è soggetta la HTT, il cui ruolo è stato studiato ampiamente nel contesto della proteina polyQ mutante, comprendono la fosforilazione, la acetilazione, la palmitoilazione, la ubiquitinazione e la sumoilazione.

L'acetilazione della mHTT è importante per mediare la sua clearance tramite la via autofagica-lisosomiale; la HTT wild-type è acetilata a livelli più bassi [Jeong et al., 2009].

L'acetilazione degli istoni [Drazic et al., 2016; Verdin e Ott, 2015], su entrambi i gruppi N α - e N ϵ - della lisina ammino-terminale, rimuovendo la carica positiva del gruppo NH $_3^+$,

aumenta la clearance della mHTT, attraverso la via autofagica e ne riduce la tossicità nei neuroni striatali e corticali [Jeong et al., 2009].

L'acetilazione contestuale nel tratto N17 sui tre residui di lisina (K6, K9 e K15), ritarda l'aggregazione fibrillare e altera l'interazione tra N17 e membrane lipidiche [Chaibva et al., 2015, 2016].

La Nε-acetil-lisina 6, da sola è sufficiente ad invertire l'effetto riduttivo della T3 fosforilata sulla tossicità cellulare della mHTT, suggerendo un crosstalk delle PTM [Aiken et al., 2009; Chiki et al., 2017].

La fosforilazione delle proteine modula le loro caratteristiche fisico- chimiche in modo altamente regolato e specifico, ed avviene principalmente sulle catene laterali di serina, treonina, tirosina ed istidina [Humphrey et al., 2015].

La fosforilazione della mHTT in S434 o S536 riduce la proteolisi della HTT da parte rispettivamente della caspasi 3 e della calpaina [Luo et al., 2005, Schilling et al., 2006], e riduce la tossicità dell'espansione polyQ di HTT. Non si sa se questi meccanismi siano rilevanti per la regolazione delle funzioni della HTT.

La fosforilazione in S13 e S16 riduce la tossicità, promuovendo la clearance del polyQ-HTT, sia wild-type che mutante [Thompson et al., 2009], e sembra essere fondamentale per mediare la localizzazione nucleare, in quanto la sequenza del dominio N-terminale L4-F11-S16 funziona come un segnale di esportazione nucleare; un mutante che simula la fosforilazione in S16 blocca l'esportazione nucleare dipendente da CRM1 [Maiuri et al., 2013].

Le fosforilazioni/defosforilazioni in S421 e S1181/S1201 modulano il trasporto intracellulare microtubulo-dipendente degli organelli.

La fosforilazione della serina 421 da parte della protein chinasi B (Akt/PKB) e del fattore di crescita insulino-simile 1 (IGF-1), in colture primarie di neuroni striatali [Humbert et al., 2002; Rangone et al., 2004] e in vivo [Pardo et al., 2006], blocca l'attività pro-apoptica della mHTT. La fosforilazione HTT in S1181/S1201 aumenta il trasporto sia anterogrado che retrogrado, mentre la fosforilazione in S421 promuove selettivamente il trasporto anterogrado [Ben M'Barek et al., 2013].

La treonina fosforilata in posizione 3 (T3) riduce la tossicità cellulare della mHTT [Aiken et al., 2009] ed insieme a S13 e S16, partecipa alla regolazione incrociata di altre PTM [Thompson et al., 2009].

La palmitoilazione, caratterizzata da un legame covalente dell'acido grasso palmitato per lo più ai residui di cisteina, svolge un ruolo essenziale nel traffico e funzionamento della HTT [Rush et al., 2012]. Le modifiche di HTT sembrano avere un forte impatto anche sulla funzione di diverse proteine con le quali interagisce, tra le quali HIP14 e HIP14L, appartenenti alla famiglia delle palmitoil-acil transferasi (PAT) [Yanai et al., 2006]. La HTT palmitoilata su C214, la perdita della HTT e l'espansione polyQ nella HTT riducono l'attività enzimatica di HIP14 e della sua auto-palmitolazione [Huang et al., 2011; Yanai et al., 2006]. Ciò influenza l'attività PAT di HIP14 su altri substrati. La HTT, tramite HIP14 e la palmitoilazione delle proteine, comprese le stesse HTT e HIP14, potrebbe regolare il traffico intracellulare e la localizzazione sinaptica di varie proteine nei neuroni [Huang et al., 2011]. L'espansione di polyQ riduce la palmitoilazione.

Anche l'ubiquitinazione, dovuta al legame covalente di uno o più monomeri della ubiquitina, che conduce alla degradazione della proteina, e la sumoilazione, che consiste nell'aggiungere permanentemente le SUMO, piccole proteine simili alla ubiquitina, a specifici bersagli, molto spesso lisine, svolgono un ruolo modulatore della funzione della HTT [Bhat et al., 2014].

1.1.6. Partner della proteina Huntingtina

La HTT, nell'effettuazione delle sue funzioni, può interagire con numerosi partner, con la formazione di complessi molecolari, nei quali, per le sue grandi dimensioni e la sua stabilità, funge da impalcatura.

L'assemblaggio e disassemblaggio di questi complessi sono strettamente regolati nel tempo e nello spazio da proteine coinvolte nella segnalazione presenti sulla piattaforma HTT.

La ricerca di partner della HTT è incominciata immediatamente dopo la caratterizzazione del gene e della proteina.

I primi studi, utilizzando approcci di doppio ibrido (Y2H) in lievito, hanno identificato circa 40 partner, che interagiscono con HTT in diverse funzioni cellulari, tra cui trascrizione, splicing dell'RNA, endocitosi, traffico ed omeostasi cellulare [Harjes Wanker 2003].

Successivamente, attraverso la combinazione dello screening Y2H con la tecnica pulldown di affinità seguita dalla spettrometria di massa, sono stati identificati 234 partner, alcuni dei quali sono stati riconosciuti essere modificatori genetici della neurodegenerazione indotta dalla mHTT in un modello di *Drosophila* della Malattia di Huntington [Kaltenbach et al., 2007].

Altri studi progettati per confrontare e quantificare le interazioni della HTT wild-type e mutante, inclusa la proteomica quantitativa accoppiata alla purificazione per affinità tandem [Culver et al., 2012], hanno identificato in cellule striatali 349 interattori differenziali, di cui 200 più abbondanti nei complessi mutanti e 149 più abbondanti nei complessi HTT wild-type [Ratovitski et al., 2012].

Attraverso questi studi sono stati identificati più di 350 partner della HTT wild-type, molti dei quali, tuttavia, devono essere ancora validati mediante saggi di legame ed esperimenti di co-localizzazione.

CAPITOLO 2

2.1. Funzioni della proteina Huntingtina

Diverse sono le funzioni descritte a livello molecolare per la HTT wild- type, con numerosi effetti fisiologici nell'organismo in via di sviluppo e maturo.

2.1.1. Traffico vescicolare

La HTT regola il trasporto assonale e lungo i microtubuli delle vescicole, attraverso la sua capacità di legare e mantenere la gliceraldeide 3-fosfato deidrogenasi sulle vescicole, che fornisce energia localmente [Zala et al., 2013], per aumentare la velocità del loro trasporto.

La HTT coordina anche la direzionalità del trasporto attraverso la sua fosforilazione in S421 [Colin et al., 2008] mediata dalle chinasi Akt/PKB e dalla chinasi SGK (indotta dal siero e dai glucocorticoidi) [Humbert et al., 2002; Rangone et al., 2004], mentre la defosforilazione si verifica con l'attivazione della calcineurina [Pardo et al., 2006].

Sebbene l'elenco sia ancora incompleto, la HTT controlla il trasporto, lungo gli assoni e dendriti neuronali, di una varietà numerosa di organelli, sia in senso anterogrado che retrogrado, interagendo con il meccanismo del motore molecolare, sia direttamente con la dineina che indirettamente attraverso la proteina 1 associata alla HTT (HAP1) con la subunità "incollata" p150 della dinactina ed il membro della chinesina 1 KIF5C [Caviston et al., 2007] (Figura 3).

Tra gli organelli trasportati ci sono le vescicole sinaptiche dei precursori [Zala et al., 2013a], autofagosomi [Wong e Holzbauer, 2014], endosomi e lisosomi [Caviston et al., 2011; Liot et al., 2013], vescicole contenenti recettori GABA [Twelvetrees et al., 2010], vescicole contenenti il fattore neurotrofico derivato dal cervello (BDNF) [Gauthier et al., 2004], vescicole che contengono la proteina v-SNARE VAMP7 [Colin et al., 2008].

Numerose osservazioni confermano che il silenziamento della HTT wild- type riduce la motilità degli organelli, mentre una sua sovraespressione la promuove. Meno chiaro il

ruolo della HTT wild-type nel trasporto dei mitocondri [Gauthier et al., 2004; Trushina et al., 2004].

2.1.2. Divisione cellulare

La presenza della proteina HTT non è limitata ai neuroni differenziati, ma è abbondante anche nelle cellule in divisione, dove risulta localizzata ai poli del fuso mitotico, ed ai microtubuli astrali [Elias et al., 2014].

Durante la mitosi, il trasferimento della HTT ai poli del fuso, dove promuove l'accumulo di NUMA e LGN (Figura 3), avviene attraverso l'interazione con la dineina [Elias et al., 2014; Godin et al., 2010].

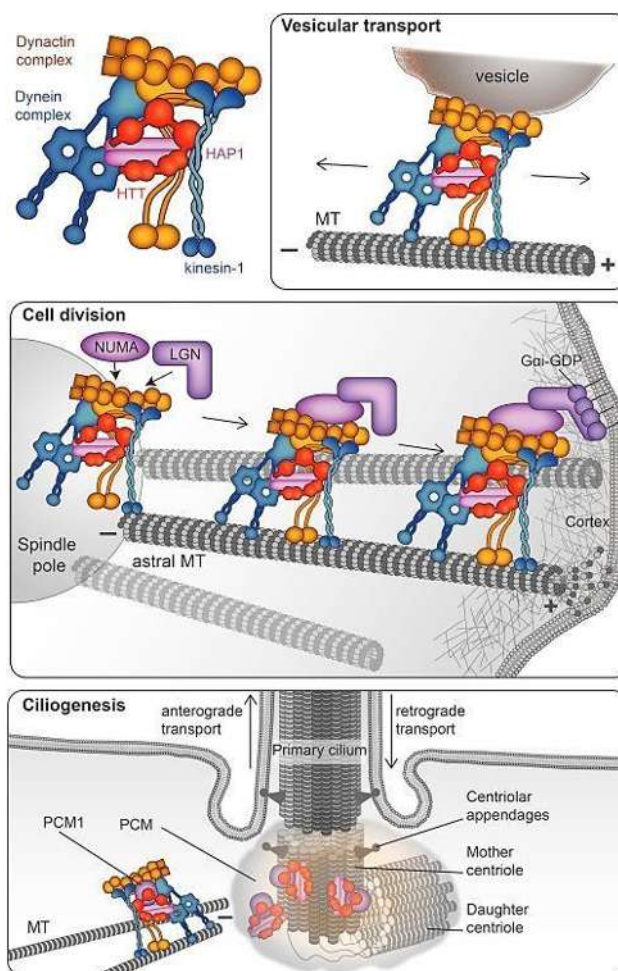


Figura 3: Lo schema rappresenta come la proteina HTT, attraverso le interazioni con il complesso di dineina e di dinactina, regola diversi processi cellulari. Nella parte

superiore la HTT, interagendo con la dineina o indirettamente attraverso la proteina HAP1 con la subunità "incollata" p150 della dinactina ed il membro della chinesina 1 KIF5C, controlla il trasporto lungo i microtubuli delle vescicole contenenti organelli, sia in direzione anterograda che retrograda. Nella parte centrale durante la mitosi, la HTT è fondamentale per l'orientamento dei poli del fuso e per la regolazione del trasporto dipendente dalla chinesina 1, dineina / dinactina / NUMA (proteina dell'apparato mitotico nucleare codificata dal gene NUMA) / LGN alla corteccia cellulare. Nella parte inferiore la HTT media il trasporto di proteine al materiale pericentriolare (PCM), dipendente da dineina / dinactina / HAP1, inclusa la proteina PCM1, fondamentale per la ciliogenesi [Saudou e Humbert, 2016].

Nelle cellule della ghiandola mammaria, HTT regola il traffico lungo i microtubuli astrali alla corteccia cellulare, dove chinesina 1, dineina, dinactina, NUMA e LGN forniscono la necessaria energia di trazione finalizzata al posizionamento del fuso mitotico [Elias et al., 2014].

2.1.3. Ciliogenesi

La HTT, presente alla base delle ciglia primarie dei neuroni, delle ciglia dei fotorecettori, e delle ciglia delle cellule multiciliate, svolge numerosi ruoli nella regolazione della ciliogenesi [Haremakei et al., 2015] (Figura 3).

È particolarmente abbondante nell'assonema delle ciglia del fotorecettore, la cui localizzazione sembra essere regolata dalla fosforilazione del segnale di esportazione nucleare presente sul dominio N-terminale [Maiuri et al., 2013].

La HTT, nelle cellule interfasiche, si associa con HAP1 e la proteina del materiale 1 pericentriolare (PCM1) al centrosoma in modo dipendente dai microtubuli [Keryer et al., 2011], regolando il trasporto di proteine, dipendente da dineina/dinactina/HAP1, al materiale pericentriolare, essenziale per la ciliogenesi.

L'assenza della HTT nelle cellule multiciliate, come le cellule ependimali nel topo, determina una ridotta ciliogenesi [Haremakei et al., 2015; Keryer et al., 2011]; mentre l'assenza della HTT nelle cellule del topo blocca la formazione del ciglio primario, compromettendo il trasporto retrogrado di PCM1.

La HTT sembra regolare il trasporto intraflagellare e la ciliogenesi anche attraverso l'interazione con HIP1, che a sua volta interagisce con Hippi, omologo umano della proteina intraflagellare IFT57 [Badano et al., 2005].

2.1.4. Endocitosi, riciclaggio delle vescicole e traffico endosomiale

La HTT regola il traffico degli endosomi, sia a livello della membrana plasmatica che della rete trans-Golgi, tramite la proteina HAP40 che si lega a Rab5 [Pal et al., 2006].

Associata ad HAP40, la HTT interagisce preferenzialmente con l'actina, riducendo la motilità degli endosomi e consentendo il loro passaggio dai microtubuli ai filamenti di actina.

La HTT può favorire il passaggio degli endosomi dai microtubuli all'actina, anche interagendo con il complesso Rab8/optineurina/miosina VI [Faber et al., 1998] e il complesso HAP1/dinactina [Engelender et al., 1997].

La HTT interagisce con diverse proteine, comprese HIP1 e HIP2, che partecipano all'endocitosi mediata dalla clatrina, supportando l'assemblaggio del rivestimento e l'invaginazione della membrana [Engqvist-Goldstein et al., 2001].

La HTT interagisce, nella fase di fissione dell'endocitosi, con la dinamina 1, attraverso entrambi i suoi domini N- e C-terminali, suggerendo un ruolo scaffolding della HTT nella sua attivazione [El-Daher et al., 2015].

La proteolisi della HTT porta all'inattivazione della dinamina 1 ed all'inibizione dell'endocitosi, misurata dall'uptake della transferrina [El-Daher et al., 2015].

La HTT, sotto forma di un complesso più ampio, contenente SH3GL3/endofillina-A3 e -B1, anfifisina e dinamina, può agire sia durante l'endocitosi che nel riciclaggio delle vescicole [Modregger et al., 2003; Sittler et al., 1998].

Il riciclaggio delle vescicole durante l'endocitosi è favorito anche dalla interazione attiva della HTT con GTPase Rab11 [Li et al., 2008].

2.1.5. Autofagia

Il coinvolgimento della HTT nella autofagia è emerso da vari studi che hanno evidenziato difetti dell'autofagia nella Malattia di Huntington [Martin et al., 2014; Steffan, 2010].

L'elevato numero di autofagosomi presenti nella malattia si accompagna, tuttavia, ad un difetto nel loro caricamento, che porta ad una ridotta capacità delle cellule di degradare le proteine e gli aggregati [Martin et al., 2014].

La HTT può regolare direttamente l'autofagia selettiva attraverso diversi meccanismi complementari.

La HTT regola il trasporto assonale retrogrado degli autofagosomi, attraverso la sua funzione di impalcatura del complesso dineina/dinactina HAPT [Wong e Holzbaur, 2014]

La HTT può regolare la dinamica degli autofagosomi, attraverso l'interazione con l'optineurina/Rab8; il silenziamento della HTT riduce l'optineurina nell'apparato di Golgi [del Toro et al., 2009].

È stata osservata una somiglianza dei domini della HTT alle proteine autofagiche del lievito Atg23, Vac8 (proteina vacuolare 8) e Atg11.

Il ruolo della HTT nell'autofagia selettiva è confermato dalla presenza al suo interno di 11 ripetizioni di interazione LC3 (LIR). Tali motivi LIR si trovano nelle proteine che interagiscono con la famiglia Atg8, tra cui p62 e optineurina, fondamentali sia per il riconoscimento del carico che per l'induzione dell'autofagia.

La funzione della HTT nell'autofagia può essere regolata anche da variazioni del numero di polyQ; l'eliminazione, nei topi, del normale allungamento Q, facilita l'autofagia e migliora la longevità [Zheng et al., 2010].

La tossicità di frammenti C-terminali generati dalla proteolisi sembra dipendere da una alterazione della autofagia [Ochaba et al., 2014].

2.1.6. Regolazione trascrizionale

La HTT wild-type, come detto in precedenza, è in gran parte localizzata nel citoplasma, ma è presente anche nel nucleo, e lega numerosi fattori di trascrizione: la proteina oncosoppressore 53 (p53) [Steffan et al., 2009]; il fattore nucleare-kB (NF-kB) [Takano e Gusella, 2002]; la proteina legante (CBP) dell'elemento di risposta cAMP (CREB) [Steffan et al., 2000]; NeuroD [Marcora et al., 2003]; la proteina di specificità-1 (SP1) [Dunah et al., 2002; Li et al., 2002].

La HTT regola l'espressione genica anche interagendo con attivatori e repressori trascrizionali: il fattore di trascrizione dell'elemento repressore 1/fattore di silenziatore restrittivo del neurone (REST/NRSF) [Zuccato et al., 2003]; l'attivatore trascrizionale ripetitivo Gln-Ala CA150 [Holbert et al., 2001]; il co-repressore nucleare (NCOR) [Yohrling et al., 2003]; il coattivatore TAFII130 [Dunah et al., 2002]; la proteina C-terminale legante il co-repressore trascrizionale (CtBP) [Kegel et al., 2002]; la proteina 2 legante metil-CpG in modelli murini e cellulari con la Malattia di Huntington, la cui interazione può modulare anche l'espressione di BDNF.

La HTT, inoltre, interagisce con i recettori nucleari: liver X receptor α (LXR α); il recettore della vitamina D (VDR); il recettore α 1 dell'ormone tiroideo (TR α 1) [Futter et al., 2009]; il recettore γ attivato dal proliferatore del perossisoma (PPAR γ).

Attraverso le suddette interazioni la HTT può promuovere o reprimere la trascrizione genica, potenziando o inibendo i fattori di trascrizione e di repressione.

Interagendo con p53 [Bae et al., 2005] la HTT influenza la trascrizione dei geni bersaglio di p53, coinvolti nel controllo del ciclo cellulare, nell'apoptosi, nelle risposte allo stress cellulare e nella riparazione del DNA.

La HTT può agire come un regolatore trascrizionale positivo per geni regolati da NRSF, essenziali per lo sviluppo e il mantenimento dei neuroni [Zuccato et al., 2003]. Un esempio è il gene del fattore neurotrofico derivato dal cervello (BDNF), il cui promotore II contiene un NRSE (neuron-restrictive silencing factor). La HTT wild-type promuove la trascrizione del BDNF mediante sequestro del REST/NRSF presente nel citoplasma, impedendogli di formare il complesso co-repressore nucleare nel sito nucleare RE1/NRSE [Zuccato et al., 2001].

Sebbene molti studi descrivano l'interferenza della mHTT con i componenti del meccanismo trascrizionale, rimane poco chiaro il modo con cui la HTT wild-type regola la trascrizione in ciascuna via.

Nel nucleo la HTT potrebbe fungere da impalcatura per i complessi trascrizionali. Essendo stato osservato un suo legame con SP1 e TAFII130, la HTT può collegare l'SP1 legato al DNA e i componenti principali del meccanismo trascrizionale basale [Dunah et al., 2002].

La HTT può fungere anche da cofattore trascrizionale [Benn et al., 2008]; si associa a promotori genici in campioni di topo e cervello umano.

La HTT regola anche il rimodellamento della cromatina; facilita l'attività catalitica dell'istone H3K27me3 del complesso repressivo polycomb 2 (PRC2), sia in vitro che in vivo [Seong et al., 2010] interagendo con due suoi componenti: Ezh2 (Enhancer of zeste 2) e Suz12 (Suppressor of zeste 12).

Anche l'arricchimento citoplasmatico ed il coinvolgimento della HTT nella regolazione della dinamica intracellulare può influire sulla trascrizione; la HTT può legare i fattori di trascrizione e regolatori e mediare il loro trasporto al nucleo. La HTT lega NeuroD tramite HAP1, facilitando l'attivazione di NeuroD mediante fosforilazione da parte della chinasi 2 a lignaggio misto (MLK2) [Marcora et al., 2003]. Considerato il ruolo di HAP1 nel traffico intracellulare, è plausibile la partecipazione del complesso HTT-HAP1 alla traslocazione nucleare di NeuroD.

2.1.7. Sviluppo embrionale

Diversi studi hanno dimostrato che HTT è essenziale per lo sviluppo embrionale.

La sua inattivazione all'esone 1 o 5 nei topi determina letalità embrionale [Duyao et al., 1995], mentre embrioni knock-out mostrano una gastrulazione difettosa.

La HTT è risultata molto importante nella formazione del sistema nervoso.

L'analisi di embrioni chimerici, in cui un numero limitato di cellule è impoverito della HTT, hanno dimostrato che la HTT è essenziale per la differenziazione dei neuroblasti nello striato, nella corteccia e nel talamo [Reiner et al., 2001].

Topi che esprimono meno del 50% della HTT normale presentano difetti nella formazione del precursore dell'epiblasto e malformazioni della corteccia e dello striato e muoiono poco dopo la nascita [White et al., 1997].

La HTT è essenziale anche per l'embriogenesi e lo sviluppo embrionale. L'inattivazione della HTT, nei progenitori gliali radianti proliferanti (RGP), durante la neurogenesi corticale embrionale, nella zona ventricolare (VZ), promuove la differenziazione dei neuroni, a scapito del loro mantenimento in uno stato proliferativo [Godin et al., 2010].

I meccanismi molecolari sottostanti coinvolgono la regolazione da parte di HTT del complesso dineina durante la mitosi e l'orientamento del fuso mitotico dei progenitori corticali in divisione [Godin et al., 2010].

Un altro studio ha suggerito che la HTT è coinvolta nella migrazione dei neuroni corticali neonati dalla zona ventricolare alla piastra corticale [Tong et al., 2011]. In questo studio, tuttavia, la HTT è stata abbattuta in tutte le cellule neuroepiteliali nella neocorteccia da RNA a forcina corta (shRNA). Pertanto i difetti di migrazione osservati potrebbero essere stati correlati al deficit della HTT nei progenitori corticali in divisione.

Un altro meccanismo mediante il quale la HTT influisce sullo sviluppo del cervello e sull'omeostasi è il controllo della biogenesi del ciglio mobile [Keryer et al., 2011].

2.1.8. Conservazione dei tessuti e regolazione della morfologia cellulare

Studi recenti, in particolare sull'epitelio mammario, costituito da uno strato basale di cellule mioepiteliali e da cellule luminali, hanno dimostrato un ruolo importante della HTT nel regolare il mantenimento dei tessuti.

La HTT è più abbondante nelle cellule che circondano il lume ed aumenta con il progredire della differenziazione [Elias et al., 2014; Elias et al., 2015].

L'esaurimento in vivo della HTT nello strato basale, riducendo il suo contenuto epiteliale, altera le proprietà di autorinnovamento dei progenitori delle cellule basali e luminali, mentre il suo esaurimento nelle cellule luminali, altera la morfogenesi duttale e la formazione del lume [Elias et al., 2014].

La conferma di un ruolo regolatore della morfogenesi epiteliale della HTT deriva dal riscontro che le cellule staminali embrionali che non esprimono HTT mostrano alterazioni nelle aderenze mediate da N-caderina, con distribuzione anomala della proteina della giunzione stretta (la Zonula occludens-1 ZO-1) [Lo Sardo et al., 2012].

Un deficit della HTT nelle cellule staminali embrionali e nei neuroni è associato ad una ridotta quantità di mRNA delle proteine di aderenza [Strehlow et al., 2007]. È stato riscontrato che anche le cellule tumorali mammarie, con contenuto ridotto di HTT, perdono giunzioni strette, subendo una maggiore transizione epiteliale-mesenchimale [Thion et al., 2015].

Attraverso la regolazione del metabolismo, la HTT può influire anche sull'istogenesi e sull'organogenesi. La sovraespressione della HTT wild-type nei topi provoca un aumento del peso corporeo e degli organi interni, attraverso la modulazione dose-dipendente dell'espressione di IGF-1 [Pouladi et al., 2010; Van Raamsdonk et al., 2006].

2.1.9. Sopravvivenza cellulare

I primi tentativi di identificare i dettagli molecolari di come la HTT wild-type promuove la sopravvivenza, si sono concentrati sul meccanismo apoptotico.

Diversi esperimenti in linee cellulari e colture primarie di neuroni hanno dimostrato che la sovraespressione della HTT protegge i neuroni dalla morte cellulare indotta da vari

stimoli, inclusa la mHTT [Ho et al., 2001], mentre il suo esaurimento li rende vulnerabili alla morte [Zhang et al., 2006].

Anche osservazioni in vivo nel topo mostrano che la sovraespressione della HTT determina una neuroprotezione contro l'eccitotossicità e la morte cellulare [Dragatsis et al., 1998].

Un meccanismo con il quale HTT promuove la sopravvivenza cellulare è rappresentato dalla natura della connessione cortico-striatale (Figura 4). Non essendo in grado di produrre BDNF, lo striato dipende da quello fornito dalle afferenze cortico-striatali [Baquet et al., 2004]. La HTT favorisce la trascrizione di BDNF, ma anche il suo trasporto, all'interno di vescicole, lungo gli assoni e il suo rilascio alle sinapsi cortico-striatali [Gauthier et al., 2004]. A questo livello, i recettori TrkB attivati vengono endocitati e trasportati ai corpi cellulari striatali, un sistema di trasporto retrogrado, anch'esso sotto controllo della HTT e mediato da un complesso IC-IB HTT-dineina, dove attivano la segnalazione di sopravvivenza [Liot et al., 2013].

Considerato il ruolo strategico della HTT in tale processo, nel garantire sia la consegna anterograda di BDNF alle sinapsi cortico-striatali, sia il trasporto retrogrado degli endosomi BDNF-TrkB ai corpi cellulari striatali, nonché la stretta dipendenza dei neuroni striatali dal BDNF prodotto e trasportato corticalmente, non sorprende che questi neuroni siano i primi a degenerare nella Malattia di Huntington.

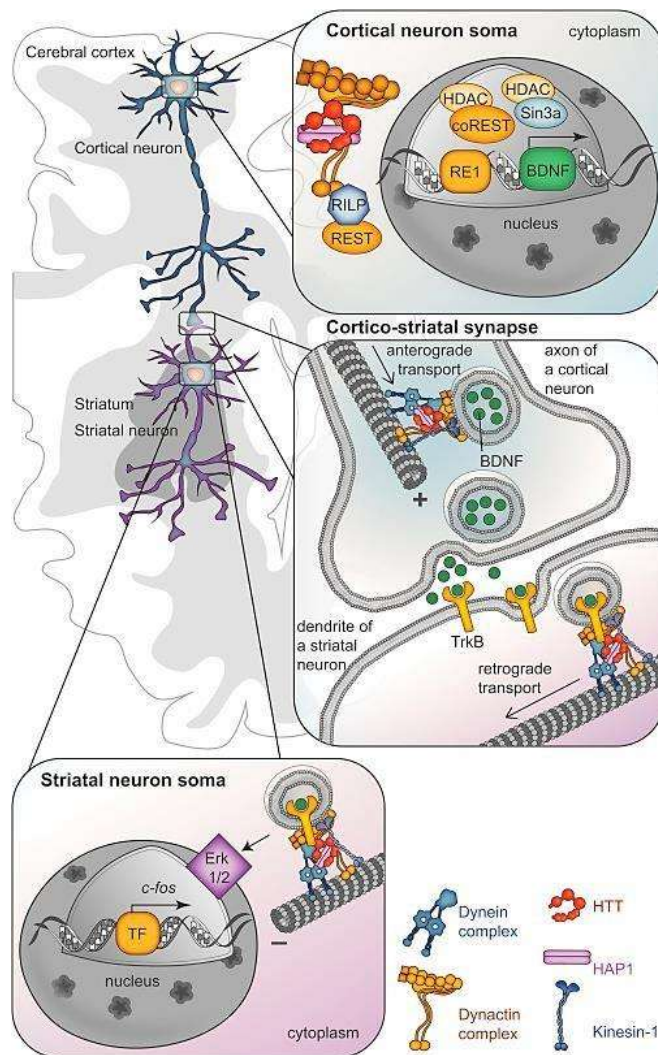


Figura 4: Il grafico mostra come la HTT regola la funzione della connessione cortico-striatale. HTT a livello della corteccia cerebrale, nel soma del neurone corticale favorisce la trascrizione di BDNF. A livello della sinapsi cortico-striatale tra l'assone dei neuroni corticali e i dendriti dei neuroni striatali promuove il trasporto assonale e la consegna di vescicole contenenti BDNF. In seguito al rilascio del BDNF alla sinapsi cortico-striatale, i recettori TrkB attivati vengono endocitati e trasportati retrogradamente ai corpi cellulari striatali, dove attivano la segnalazione di sopravvivenza [Saudou e Humbert, 2016].

È stato riscontrato, inoltre, che HTT promuove la sopravvivenza cellulare anche bloccando l'attivazione di Caspasi-3 e Caspasi-9 [Rigamonti et al., 2001; Zhang et al., 2003].

2.1.10. Sinapsi

Per molti anni è stato sconosciuto il ruolo della HTT a livello delle sinapsi. Studi recenti rilevando l'associazione della HTT a vescicole nel terminale presinaptico [Di Figlia et al., 1995], ed alla proteina di scaffolding PSD95 [Sun et al., 2001] nel materiale postsinaptico [Marcora e Kennedy, 2010], hanno suggerito che potrebbe essere necessaria per una corretta formazione delle sinapsi eccitatorie corticali e striatali [McKinstry et al., 2014].

CAPITOLO 3

3.1. Malattia o Corea di Huntington

La Corea (dal latino chorĕa o chorĕa; dal greco χορεία, danza corale) di Huntington è una malattia neurodegenerativa autosomica dominante, rara, complessa, geneticamente ereditata, ad evoluzione cronico-progressiva, caratterizzata, di solito, da una triade di sintomi motori, cognitivi e psichiatrici [Ross e Tabrizi, 2011].

I sintomi motori sono rappresentati da caratteristici movimenti a scatti, casuali ed incontrollabili (corea), con disturbi dell'andatura, ad esordio in genere precoce, e menomazioni motorie come bradicinesia e rigidità ad esordio generalmente tardivo [Dayalu e Albin, 2015; Melone et al., 2005]. I disturbi cognitivi sono rilevati fino ad un decennio prima della diagnosi, con declino correlato alla progressione della malattia, caratterizzato da rallentamento cognitivo e diminuzione sia dell'attenzione che della flessibilità mentale, che può portare fino ad uno stato di demenza.

I disturbi psichiatrici, anch'essi ad esordio precoce, comprendono ansia, depressione, riduzione delle emozioni, egocentrismo, aggressività e comportamenti compulsivi che possono causare o peggiorare alcune dipendenze, quali l'alcolismo o la ludopatia. Inoltre i pensieri ed i tentativi di suicidio sono più frequenti nei pazienti con la Malattia di Huntington rispetto alla popolazione generale [Rosenblatt 2007].

La neuropatologia della Malattia di Huntington è caratterizzata dalla disfunzione e morte dei neuroni specifici all'interno del cervello [Ross e Tabrizi, 2011], in particolare i neuroni dello striato ed i neuroni corticostriatali; l'assottigliamento della corteccia cerebrale e la riduzione dello striato iniziano un decennio prima della comparsa della sintomatologia [Aylward et al., 2011; Rosas et al., 2008].

Sebbene le alterazioni del sistema nervoso centrale siano le caratteristiche cliniche più importanti, sono presenti nella Malattia di Huntington anche disturbi metabolici ed immunitari, atrofia muscolare scheletrica, perdita di peso, insufficienza cardiaca, atrofia testicolare ed osteoporosi, molto probabilmente dovuti all'espressione onnipresente della mHTT, principale responsabile della malattia.

La malattia, come già illustrato nel capitolo 1, dipende dall'espansione anomala della tripletta CAG, che codifica per l'amminoacido glutamina, nel primo esone del gene *HTT*, situato sul braccio corto del cromosoma 4, sul locus 4p16.3, generando una mHTT espansa, contenente una sequenza anomala di glutamine, nota come tratto poliglutamminico (o tratto polyQ), superiore a 35 ripetizioni.

La Malattia di Huntington è causata da una mutazione autosomica dominante in una delle due copie (alleli) del gene *HTT*, che codifica la proteina HTT.

I pazienti con la Malattia di Huntington esprimono l'allele mutante (già sufficiente a provocare la malattia) ed un allele wild-type presente al 50% delle concentrazioni normali. I pazienti omozigoti, sebbene rari, pur mostrando la stessa età d'insorgenza della Malattia di Huntington degli eterozigoti, manifestano una progressione della malattia molto più grave [Lee et al., 2012].

La malattia, devastante, con una età media all'esordio di circa 40 anni, ed una prevalenza di 5-10 individui su 100.000 nella popolazione caucasica, colpisce sia il sesso maschile che femminile, e porta alla morte, dopo circa 20 anni dall'esordio, in molti casi, dovuta a polmonite da aspirazione fatale [van der Burg et al., 2009].

Gemelli monozigoti mostrano sintomatologia diversa, suggerendo che la malattia possa essere influenzata anche da fattori epigenetici o variazioni tessuto-specifiche nelle ripetizioni CAG, a causa dell'instabilità somatica [Georgiou et al., 1999].

Nella patogenesi della Malattia di Huntington sembra avere un ruolo significativo anche la HTT wild-type, in seguito alla perdita o alla inattivazione delle sue funzioni.

Nonostante i numerosi progressi compiuti nell'identificazione dei meccanismi molecolari che controllano la morte cellulare nella malattia, attualmente non è ancora disponibile alcun trattamento, se non sintomatico, per ritardare la comparsa o la progressione dei sintomi nei pazienti, probabilmente a causa della complessità della proteina che regola i diversi meccanismi nella cellula.

3.2. Meccanismi patogenetici della Malattia di Huntington

Numerose e varie sono le alterazioni a livello molecolare, peraltro ancora non completamente comprese, coinvolte nella patogenesi della Malattia di Huntington.

Per comprendere i meccanismi patogenetici alla base della malattia, la ricerca si è concentrata prevalentemente sull'identificazione delle conseguenze cellulari dell'espressione della mHTT, principale responsabile della malattia, in colture primarie di neuroni, in linee cellulari e modelli animali, che portano alla neurodegenerazione [Borrel-Pagès et al., 2006], e su come mHTT interferisce con le funzioni della HTT wild-type, che sono tutte alterate nei pazienti con la malattia.

Sebbene sia noto che la tossicità nella Malattia di Huntington derivi da un guadagno di funzione della mHTT, dato che l'espressione di una poliglutammina espansa è di per sé tossica, le ricerche degli ultimi anni hanno dimostrato che anche la perdita o l'inattivazione delle funzioni della HTT wild-type, promuovendo la neurodegenerazione, sono coinvolte negli eventi patologici della malattia [O' Kusky et al., 1999; Dragatsis et al., 2000].

3.2.1. Aggregazione della Huntingtina

I frammenti di HTT con polyQ espanso, codificati dall'esone 1, formano grandi aggregati insolubili, simili all'amiloide, che tendono ad autoassemblarsi in modo crescente con l'aumentare dell'allungamento di polyQ [Perutz et al., 1994].

L'aggregazione procede per polimerizzazione di crescita nucleata [Perutz e Windle 2001], portando a filamenti di poliglutammina che formano un foglietto β tenuto insieme da legami idrogeno [Perutz et al., 1994].

Gli aggregati, caratteristici della Malattia di Huntington, di origine proteolitica principalmente, ma generati anche da altri meccanismi alternativi come lo splicing

anomalo del primo esone [Sathasivam et al., 2013], sono composti da HTT mutante e wild-type e/o loro frammenti [Kazantsev et al., 1999; Busch et al., 2003], da varie proteine, tra cui l'ubiquitina [DiFiglia et al., 1997; Becher et al., 1998], subunità del proteasoma e chaperon [Cummings et al., 1998; Warrick et al., 1999], fattori di trascrizione [Huang et al., 1998; Steffan et al., 2000].

Sebbene vengano scisse sia la HTT wild-type che quella espansa, i frammenti mutanti, la cui natura può variare a seconda dei tessuti, sono correlati ad una maggiore tossicità. I frammenti corti sono molto più tossici, probabilmente a causa della loro maggiore propensione a formare aggregati [Hackam et al., 1998].

La tossicità degli aggregati può dipendere dallo stadio della malattia e dalla loro natura e localizzazione subcellulare.

Gli aggregati nucleari, meno tossici, sono associati ad un esordio giovanile della Malattia di Huntington, mentre quelli citoplasmatici, più tossici, sono tipici della malattia ad esordio nell'adulto [DiFiglia et al., 1997].

Per molto tempo si è pensato ad un collegamento diretto tra aggregazione e tossicità cellulare [Hackam et al., 1998], conseguente alla perdita di funzione delle proteine sequestrate negli aggregati, e supportato dalla correlazione tra il numero di poliglutammine con il tasso di aggregazione e l'insorgenza della malattia [Becher et al., 1998].

Tuttavia, molti studi recenti su singoli neuroni vitali, dimostrando una correlazione inversa tra l'aggregazione e la morte cellulare [Arrasate et al., 2004], ipotizzano che gli aggregati potrebbero essere casuali o addirittura protettivi nella Malattia di Huntington [Saudou et al., 1998; Kim et al., 1999] e negli altri disturbi da poliglutamina [Klement et al., 1998; Cummings et al., 1999], sequestrando specie tossiche solubili [Miller et al., 2010; Saudou et al., 1998].

Studi in vivo dimostrano che gli aggregati poliglutamminici vengono interiorizzati dallo spazio extracellulare, e si comportano come semi per la formazione del nucleo aggregante le poliglutammine solubili citoplasmatiche [Ren et al., 2009]; il loro trasferimento intercellulare avviene, come per i prioni [Gousset et al., 2009], attraverso ponti di membrana ricchi di actina che collegano le cellule [Rustom et

al., 2004]. I primi dati sul processo di aggregazione, derivanti dallo studio di peptidi polyQ autonomi, hanno dimostrato che le sequenze pure di polyQ esistono principalmente in conformazione casuale in soluzione, la cui aggregazione è guidata da un processo di nucleazione rigido, che implica la transizione coil-to- β -sheet [Chen e Wolynes, 2017].

Il nucleo polyQ, nell'assemblaggio degli aggregati, funziona come cerniera polare a forcina β strettamente imballata, indipendentemente dall'identità della sequenza fiancheggiante. Tuttavia, esistono notevoli differenze in termini di cinetica di aggregazione e morfologia finale, sottolineando il ruolo che le regioni vicine del polyQ svolgono nell'intero processo [Bugg et al., 2012].

Recenti inferenze [Lin et al., 2017] escludono un possibile polimorfismo all'interno del nucleo amiloide polyQ a foglietto β , a causa delle caratteristiche limitanti della sua struttura secondaria, come i brevi linker- β -turn. Nelle fibrille assemblate, i tratti distali sia di N17 che di PRD sono interessati da interazioni reciproche aggiuntive intermolecolari limitando la loro mobilità e l'accessibilità ai solventi.

Una nucleazione incrociata tra specie HTT wild-type e mutanti ha mostrato che polyQ espanso funziona come seme di nucleazione della HTT wild-type, indipendentemente dalla sua lunghezza, con una ridotta disponibilità della HTT wild-type [Isas et al., 2017].

Il processo di aggregazione, guidato da polyQ, è influenzato sia da N17 che da PRD, individualmente ed in combinazione, con effetti più significativi in quest'ultimo caso [Andre et al., 2017], avendo interazioni più forti con le membrane [Burke et al., 2013b; Nagarajan et al., 2014].

Il team up di N17 e di PRD si comporterebbe come un interruttore molecolare dipendente dalla lunghezza di polyQ, in grado di esercitare un controllo aggiuntivo ben oltre il contributo individuale dei suoi componenti. Il polyQ funziona inizialmente come una cerniera flessibile, consentendo ai suoi vicini di interagire; in seguito all'espansione delle ripetizioni della glutammina, la transizione coil-to- β -sheet, ostacola la flessibilità della cerniera polyQ, determinando interazioni notevolmente ridotte tra N17 e PDR [Caron et al., 2013; Kang et al., 2017].

N17 promuove la propensione di polyQ all'aggregazione, influenzando la transizione della sua struttura [Crick et al., 2013; Mishra et al., 2012], qualunque sia la lunghezza del polyQ [Chen e Wolynes, 2017].

Il miglioramento dell'aggregazione di polyQ da parte di N17 è spiegato molto bene dal modello di prossimità di Wetzel, oggi ampiamente accettato [Jayaraman et al., 2012b] (Figura 5).

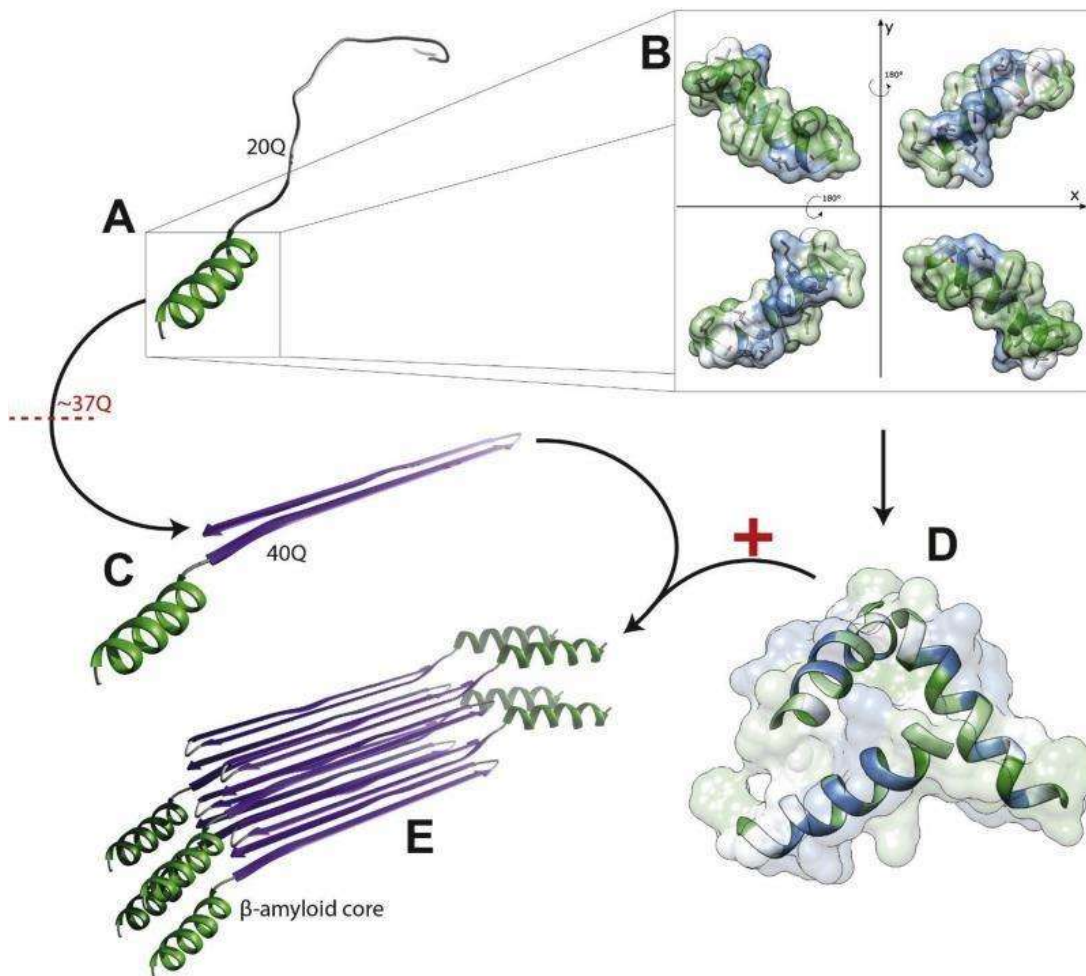


Figura 5: Illustrazione del processo di formazione del nucleo β -amiloide potenziato da N17 secondo il modello di prossimità di Wetzel. A) L' α -elica di N17 seguita dalla struttura random coil 20Q non espansa; B) Rappresentazione della scala di Kyte-Doolittle di idrofobicità (idrofila in blu, idrofoba in verde) dell'elica anfipatica di N17; C) Un numero di ripetizioni di glutammina oltre la soglia critica di 37 innescano la transizione da coil a β -sheet; D) N17 anfipatico guida la formazione del fascio di eliche che migliora sensibilmente l'aggregazione; E) I frammenti espansi PolyQ si assemblano nel nucleo β -amiloide [Caterino et al., 2018].

L'interazione intermolecolare tra α -eliche N17 anfipatiche [Kang et al., 2017; Pandey et al., 2017] (Figura 5 B), determina l'autoassociazione di fasci di α -elica N17 stabili che funzionano da semi di nucleazione (Figura 5 D). Questo processo porta in stretta prossimità tratti polyQ provenienti da diversi frammenti, migliorando le interazioni polyQ-polyQ e la transizione da random coil a foglietto β (Figura 5 E).

N17 può interferire con il processo di aggregazione, probabilmente perché i peptidi N17 privi di polyQ, nel fascio di nucleazione, introducono spazio tra i frammenti contigui

contenenti polyQ, riducendo le interazioni tra foglietti β del polyQ o aumentando la barriera energetica nella modalità della nucleazione [Jayaraman et al., 2012c; Mishra et al., 2012].

N17 a basse concentrazioni o in ambienti acquosi, dove esiste prevalentemente in conformazione non strutturata, è presente con conformazioni multiple, disordinate e transitorie, mentre una sua elevata concentrazione e la presenza di un ambiente anfipatico favoriscono il ripiegamento della elica anfipatica, elemento chiave nella progressione dell'aggregazione [Burke et al., 2013b].

N17 migliora la cinetica di aggregazione di polyQ [Pandey et al., 2017], interagendo con le membrane cellulari, in particolare quelle curve [Chaibva et al., 2014] dei mitocondri e del reticolo endoplasmatico [Atwal et al., 2007].

Il dominio ricco di prolina (PRD) riduce la propensione all'aggregazione di polyQ.

L'aggiunta o la rimozione di un piccolo peptide di poli-prolina al C- terminale del polyQ è sufficiente a rallentare o accelerare l'aggregazione, influenzando anche la tossicità e il numero di glutammine necessario per la formazione di fibrille [Andre et al., 2017].

Il PRD è capace di ripiegarsi in un'elica di poli-L-prolina di tipo II (PPII), influenzando la conformazione del polyQ a monte, probabilmente aumentando la barriera energetica della transizione di polyQ al foglietto β .

Gli anticorpi che riconoscono N17 possono interferire con l'aggregazione mediante complessazione molecolare [Butler et al., 2012]. Gli intrabodies sono anticorpi intracellulari che, testati in modo proficuo contro N17, riducono efficacemente l'aggregazione [Chen et al., 1994].

E' stato osservato che gli chaperon inibiscono l'aggregazione, promuovendo un ripiegamento proteico efficiente [Hartl et al., 2011], mentre elevate concentrazioni di HSP40, HSP70 e HSP100 inibiscono l'aggregazione indotta dalla poliglutamina e ne prevengono la tossicità [Carmichael et al., 2000].

Sulla base di risultati sperimentali, i ricercatori hanno proposto anche il misfolding proteico di conformazioni ricche di foglietto β come possibile percorso di aggregazione [Jayaraman et al.,2012c; Kokona et al., 2014a, 2014b].

E' stato rilevato, infine, anche un crosstalk, il cui meccanismo non è ancora chiaro, tra l'aggregazione della mHTT e l' α -sinucleina, componente dei corpi di Lewy nella malattia di Parkinson. La sovraespressione della α -sinucleina risulta, infatti, associata ad una maggiore aggregazione della mHTT [Furlong et al., 2000; Herrera e Outeiro, 2012], peggiorando il fenotipo della Malattia di Huntington nei modelli murini, attraverso un effetto negativo sull'autofagia [Corrochano et al., 2012]; mentre una sua riduzione risulta associata ad una diminuzione degli aggregati, con miglioramento della progressione della malattia, attraverso un aumento dell'autofagia.

3.2.2. Proteolisi della Huntingtina

La HTT subisce numerosi tagli proteolitici in diversi siti, da una varietà di proteasi, alcune delle quali ancora sconosciute, che comprendono diverse caspasi, calpaina, catepsine e la metalloproteinasi MMP10 [Gafni ed Ellerby, 2002].

I siti proteolitici, presenti sia su polyQ-HTT wild-type che mutante, sono localizzati nei domini PEST (Figura 2).

Nella malattia di Huntington è stato riscontrato un aumento specifico e caratteristico dell'attività delle proteasi, che porta alla generazione ed all'accumulo di piccoli frammenti N-terminali contenenti il tratto polyQ che traslocano nel nucleo dove causano la morte delle cellule neuronali interferendo con la trascrizione. I frammenti N-terminali polyQ, che sono tanto più tossici quanto più brevi, possono agire mediante il guadagno di meccanismi funzionali nel nucleo [Ross e Tabrizi 2011].

La proteolisi della HTT wild-type può determinare la perdita della sua funzione e la produzione di frammenti che interferiscono con i meccanismi trascrizionali ed autofagici e con l'omeostasi del reticolo endoplasmatico nel citoplasma [El-Daher et al., 2015].

La proteolisi della HTT wild-type a lunghezza intera, mai osservata in individui sani, potrebbe svolgere, quindi, un ruolo importante per cambiare le sue funzioni fisiologiche, da neuroprotettive a tossiche [El-Daher et al., 2015; Saudou e Humbert, 2016].

Le conseguenze fisiologiche della scissione della HTT wild-type rimangono ancora poco chiare.

La proteolisi della HTT wild-type e mutante genera anche frammenti C- terminali non polyQ, che sono tossici, in quanto alterano l'attività della dinamina 1 [El-Daher et al., 2015].

Sebbene la scissione interessi sia la HTT wild-type che mutante, la tossicità sembra correlata maggiormente alla presenza dei frammenti mutanti.

L'abbondanza di siti proteolitici nella HTT suggerisce che alcune scissioni producono diverse risposte fisiologiche; ad esempio la scissione della HTT, in entrambe le posizioni 586 e 552, genera un frammento 553- 586 che, miristoilato, porta alla formazione di autofagosomi e ad un aumento del processo autofagico.

La HTT è tagliata da Caspase 2 su Asp552; da Caspase 3 su Asp513 e Asp552; da Caspase 6 su Asp586 [Aharony et al., 2015].

L'osservazione, in un modello murino, ha evidenziato una ridotta tossicità della mHTT resistente a Caspase 6 [Aharony et al., 2014]. È stato scoperto, inoltre, che la concentrazione di Caspase 6 è correlata direttamente con la lunghezza delle ripetizioni CGA ed inversamente con l'età di insorgenza della malattia [Graham et al., 2010].

La scissione da calpaina e catepsina lisosomiale aumenta la tossicità [Vidoni et al., 2016]. Le calpaine 1, 5, 7 e 10 scindono la HTT, producendo nel nucleo piccoli frammenti N-terminali, che interferendo con la scissione della calpaina nei residui 469 e 536, riducono la tossicità della HTT nelle cellule [Ehrnhoefer et al., 2011; Gafni et al., 2004].

Diversi studi recenti, infine, hanno dimostrato un ruolo neuroprotettivo della Catepsina B o D [Liang et al., 2011; Vidoni et al., 2016, 2017].

3.2.3. Alterazione della trascrizione genica

La disregolazione trascrizionale, ripetutamente osservata nel cervello umano con la Malattia di Huntington post mortem ed in diversi modelli murini transgenici [Valor, 2015], è considerata un importante meccanismo patogeno nella Malattia di Huntington. Studi tramite microarray hanno evidenziato che i profili di espressione di diversi geni risultano alterati nella malattia [Luthi-Carter et al., 2000; Sipione et al., 2002].

Numerosi meccanismi possono spiegare questa espressione genica alterata, inclusa la perdita di una funzione trascrizionale della HTT.

I domini di attivazione di molti fattori di trascrizione, essendo composti da regioni ricche di glutammina, sembrano possano interferire con le poliglutammine espanse.

La mHTT interagisce con i regolatori della trascrizione, come la p53, la proteina CREB (cAMP response element-binding protein) e CBP (CREB-binding protein), coinvolta nella proliferazione e sopravvivenza cellulare [Steffan et al., 2000], PGC-1 α (peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator 1- α) necessario per il metabolismo energetico [Cui et al., 2006; Chaturvedi et al., 2010], Sp1 e il suo coattivatore TAFII130, che influenza la trascrizione di geni come il recettore della dopamina D2 [Dunah et al., 2002; Zhai et al., 2005], la cistationina gamma-liasi, l'enzima biosintetico della cisteina [Paul et al., 2014].

La maggiore suscettibilità dello striato nella Malattia di Huntington è stata attribuita ad una riduzione dei livelli di BDNF, prodotto corticalmente per promuovere la sopravvivenza dei neuroni striatali, correlata alla compromissione della sua trascrizione o del suo trasporto assonale [Zuccato et al., 2001; Gauthier et al., 2014], o del suo recettore TrkB [Liot et al., 2013].

Difetti sinaptici corticostriatali riscontrati in modelli murini sono stati attribuiti a difetti nella segnalazione di BDNF, attraverso un impatto con il recettore della neurotrofina p75 postsinaptica [Plotkin et al., 2014], che insieme a TrkB si lega al BDNF [Brito et al., 2013].

L'alterazione dell'espressione genica nella malattia potrebbe derivare anche da variazioni nel panorama epigenetico e nella regolazione degli RNA non codificanti.

Nel cervello umano con la Malattia di Huntington è stata segnalata la deregolamentazione di micro-molecole di RNA (miRNA) a singolo filamento non codificante [Johnson et al., 2008].

La HTT è stata trovata negli RNA sotto forma di corpi P [Savas et al., 2008], granuli di stress [Ratovitski et al., 2012], o granuli dendritici [Savas et al., 2010], dove sembra influenzare l'espressione proteica ad un livello post-trascrizionale.

Un primo riscontro sulla deregolamentazione della modifica dell'istone nella malattia è venuto dallo studio della CBP, un coattivatore trascrizionale con funzioni dell'istone acetiltransferasi (HAC).

Le poliglutammine espanse possono legarsi al dominio HAC della CBP, interrompendo la loro attività di acetilazione degli istoni.

La metilazione del DNA nelle regioni del promotore, che si traduce in repressione o silenziamento genico, risulta modificata in una frazione significativa dei geni alterati nella malattia, sebbene il modo in cui la mHTT la inneschi sia attualmente sconosciuto.

Uno studio a livello di genoma, nel tentativo di individuare nella malattia le modificazioni strutturali della cromatina nei geni sottoregolati, ha identificato uno specifico pattern H3K4me3, indice di cromatina attiva e di inizio della trascrizione, correlato alla disregolazione trascrizionale nel topo R6/2 e nel cervello umano con la Malattia di Huntington [Vashishtha et al., 2013].

3.2.4. Alterazione della autofagia

Sono due i principali sistemi per degradare le proteine intracellulari: il sistema ubiquitina-proteasoma (UPS) che degrada efficacemente la HTT wild-type ed il sistema autofagia-lisosoma che sembra importante nel degradare le forme mutanti espanse [Ravikumar et al 2002; Shibata et al., 2006].

Sebbene la maggior parte degli studi si sia concentrata su questi due sistemi, prevalentemente con l'intento di ridurre i livelli della mHTT, tuttavia, anche l'influenza che la mHTT può avere su di essi è stata oggetto di intensa ricerca.

I primi studi indicavano la compromissione dell'attività del proteasoma come conseguenza dell'espressione della HTT espansa [Bence et al., 2001], correlata al sequestro di suoi componenti negli aggregati [Davies et al., 1997].

Alcuni studi recenti, al contrario, non hanno osservato deficit dell'attività di UPS nella Malattia di Huntington [Bett et al., 2009].

Studi su singoli neuroni e modelli murini, nell'affrontare tale contraddizione hanno rivelato che, una compromissione iniziale di UPS è seguita dalla sua normalizzazione, che

coincide con la comparsa degli aggregati, suggerendo un meccanismo adattativo [Mitra et al., 2009; Ortega et al., 2010].

La dimostrazione recente che i proteasomi possono degradare completamente le poliglutammine espanse [Juenemann et al., 2013], insieme all'osservazione che negli aggregati, dove vengono reclutati dinamicamente, conservano la loro attività [Schipper-Krom et al., 2014b], ipotizza un ruolo molto importante di UPS nella malattia.

Sebbene sia elevato il numero di autofagosomi descritto nei modelli con la Malattia di Huntington (Kegel et al., 2000), la loro formazione non risulta influenzata né dalla HTT wild-type, né dalla mHTT [Zheng et al., 2010].

Uno sguardo più attento al processo autofagico ha rivelato che nella malattia gli autofagosomi, sebbene formati, non sono in grado di sequestrare i loro substrati in maniera ottimale [Martinez-Vicente et al., 2010].

Questa osservazione potrebbe essere spiegata dal ruolo recentemente ipotizzato della HTT wild-type come impalcatura proteica per reclutare l'apparato specifico coinvolto nel meccanismo dell'autofagia selettiva [Ochaba et al., 2014].

Nella Malattia di Huntington è stata osservata anche un'alterazione del trasporto assonale degli autofagosomi [Wong e Holzbaur, 2014], che porta ad una fusione inefficiente autofagosoma-lisosoma e ridotta degradazione del contenuto degli autofagosomi [Ravikumar et al., 2005; Jahreiss et al., 2008].

Durante il processo autofagico, il riconoscimento del carico mediato da p62, facilitato dalla HTT, risulta alterato nella malattia, con la formazione di autofagosomi vuoti [Martinez-Vicente et al., 2010].

3.2.5. Disfunzione mitocondriale

La disfunzione dei mitocondri, con conseguenti difetti nella produzione di ATP, capacità tampone del Ca²⁺ e apoptosi, risulta associata alla neurodegenerazione della Malattia di Huntington [Sawa et al., 1999; Panov et al., 2002].

Sembra che la mHTT interagisca con la membrana mitocondriale esterna, determinando disfunzioni nel trasporto del Ca^{2+} [Panov et al., 2002; Choo et al., 2004], mentre interferendo con il traffico degli organelli lungo gli assoni, riduca il trasporto dei mitocondri alle sinapsi e la produzione di ATP [Orr et al., 2008].

I mitocondri sono organelli dinamici che subiscono cicli di fusione- fissione in risposta a stimoli e richieste metaboliche.

La mHTT interagisce con un regolatore centrale della fissione proteica, la proteina-1 correlata alla dinamina (Drp-1), aumentandone l'attività enzimatica e la frammentazione mitocondriale, che porta all'attivazione delle caspasi e all'apoptosi.

L'inibizione della fissione dei mitocondri da parte di inibitori selettivi di Drp-1 ritarda la morte cellulare [Youle e Karbowski 2005], rallentando la progressione della malattia in diversi modelli con la Malattia di Huntington [Guo et al., 2013].

Il trasporto di proteine nei mitocondri potrebbe essere difettoso perché la mHTT inibisce TIM23, un componente della membrana mitocondriale interna; questo difetto può contribuire alla disfunzione respiratoria ed alla morte delle cellule neuronali [Yano et al., 2014].

Anche la ridotta trascrizione dei geni mitocondriali determina diversi difetti del mitocondrio, come la repressione di PGC-1 α , un coattivatore nucleare che controlla l'espressione dei geni che regolano la biogenesi mitocondriale e la respirazione [Cui et al., 2006], o l'esaurimento dell'enzima necessario per sintetizzare la cisteina, che mantiene l'omeostasi mitocondriale [Paul et al., 2014].

Una conseguenza della disfunzione mitocondriale è la produzione anomala di specie reattive dell'ossigeno (ROS) che peggiorano il danno mitocondriale. Il danno ossidativo risulta evidente nel cervello post mortem di pazienti e modelli murini con la Malattia di Huntington [Perluigi et al., 2005]. Gli antiossidanti sono attualmente in fase di sperimentazione per ridurre i livelli dei ROS e conseguentemente l'alterazione della funzione mitocondriale.

3.2.6. Disfunzione astrocitaria e microgliale

Sebbene gli aggregati della mHTT siano prevalenti nei neuroni [Shin et al., 2005], probabilmente a causa di una mancata divisione cellulare, o di una omeostasi proteica meno efficiente [Tydlacka et al., 2008], anche le cellule gliali sono coinvolte nella patogenesi della malattia.

Una gliosi reattiva è stata osservata in molti modelli murini con la malattia [Reddy et al., 1998] e nel cervello post mortem di pazienti con la Malattia di Huntington [Myers et al., 1991; Sapp et al., 2001].

Gli astrociti, principale tipo di glia, forniscono supporto ai neuroni e consentono l'assorbimento del glutammato extracellulare, prevenendo l'eccitotossicità.

L'espressione selettiva negli astrociti della HTT N-terminale con 160Q determina nei topi lo sviluppo di sintomi neurologici tardivi, correlati a livelli ridotti del trasportatore di glutammato GLT-1 [Bradford et al., 2009], nonostante alcuna evidente degenerazione della glia o dei neuroni.

L'espressione della mHTT sia negli astrociti che nei neuroni ha peggiorato il fenotipo rispetto all'espressione nel solo neurone, confermando il ruolo dell'astroglia nella patogenesi della Malattia di Huntington [Bradford et al., 2010].

Numerosi studi hanno dimostrato l'implicazione di una neuroinfiammazione nella malattia, con aumento della secrezione di citochine e chemochine, suggerendo un ruolo attivo nella progressione della malattia, e non di semplice processo reattivo.

La HTT è espressa nelle cellule immunitarie, con attivazione della microglia autonoma e secrezione di citochine proinfiammatorie, conseguenti all'elevata trascrizione dei fattori determinanti il lignaggio mieloide PU.1 e C/EBP (CCAAT / enhancer-binding proteins) [Crotti et al., 2014].

Nel sistema immunitario periferico, la mHTT influisce anche sulle risposte infiammatorie inibendo la segnalazione NF- κ B [Trager et al., 2014].

Anche la segnalazione attraverso i recettori cannabinoidi CB2 potrebbe spiegare l'infiammazione nella malattia [Palazuelos et al., 2009; Bouchard et al., 2012].

La microglia e le cellule periferiche che esprimono la mHTT hanno mostrato una migrazione ridotta in risposta ai segnali chemiotattici [Kwan et al., 2012b].

Potrebbe contribuire alla patologia anche la secrezione alterata della chemochina CCL5 [Chou et al., 2008] o di BDNF [Wang et al., 2012], da parte degli astrociti.

Gli astrociti striatali dei modelli murini R6/2 e Q175 con la Malattia di Huntington mostrano livelli ridotti di canali Kir4.1 K⁺, che determinano un aumento del K⁺ extracellulare e dell'eccitabilità neuronale [Tong et al., 2014].

Il trapianto di midollo osseo con cellule wild-type in modelli murini con la Malattia di Huntington ha determinato il ripristino dei livelli delle citochine e chemochine, ed una regressione parziale della patologia [Kwan et al., 2012].

3.2.7. Alterazione della plasticità sinaptica e della omeostasi neuronale

Le alterazioni neuronali e sinaptiche sono eventi precoci nella Malattia di Huntington [Usdin et al., 1999]. La compromissione dell'omeostasi del neurone sarebbe dovuta ad una ridotta trascrizione di geni essenziali nella neurotrasmissione ma anche a difetti nel trasporto assonale di proteine e organelli, correlati probabilmente al sequestro negli aggregati di proteine motorie [Gunawardena et al., 2003; Trushina et al., 2004], ad un aggregato di blocco assonale [Li et al., 2001; Lee et al., 2004], o alla disfunzione della HTT wild-type [Gunawardena et al., 2003; Trushina et al., 2004].

La HTT facilita il traffico vescicolare, fungendo da impalcatura tra le vescicole, microtubuli e proteine motorie come dineine o chinesine [Caviston et al., 2007; Colin et al., 2008], una interazione mediata da HAP1 (proteina 1 associata alla HTT), che sembra alterata nella malattia [Gauthier et al., 2004; McGuire et al., 2006]. La mHTT può alterare il trasporto assonale veloce aumentando la fosforilazione dipendente da JNK3 della catena pesante di chinesina, che interrompe il suo legame ai microtubuli nei modelli cellulari ed animali con la Malattia di Huntington [Morfini et al., 2009].

Il trasporto assonale è indispensabile per garantire la trasmissione sinaptica. Nella malattia, il mancato rilascio di recettori specifici, come GABA (A) (recettore ionotropo acido γ -amminobutirrico di tipo A), o AMPA (acido α -ammino-3-idrossi-5-metil-4-isossazol-propionico), inibisce l'eccitabilità sinaptica; HAP1 funziona da impalcatura che collega tali recettori al motore chinesina KIF5, una interazione interrotta dalla mHTT

[Twelvetrees et al., 2010]. La mHTT inibisce anche il trasporto corticale ed il rilascio di BDNF [Gauthier et al., 2004], e il trasporto retrogrado nello striato del suo recettore TrkB, necessario per promuovere segnali di sopravvivenza nel corpo cellulare [Liot et al., 2013]. La morte delle cellule neuronali nella Malattia di Huntington, più evidente nello striato, sarebbe dovuta ad una eccessiva neurotrasmissione, provocata principalmente dalla stimolazione del glutammato dei recettori NMDA (N-metil-D-aspartato), attraverso un processo chiamato eccitotossicità.

Nella malattia è stata osservata anche una ridotta attività del trasportatore gliale del glutammato GLT1, che può determinare l'eccitotossicità attraverso un aumentato rilascio del glutammato o ad una sua ridotta captazione e clearance [Lievens et al., 2001]. Le alterazioni nei livelli delle subunità del recettore NMDA postsinaptico potrebbero predisporre i neuroni dello striato al danno eccitotossico [Laforet et al., 2001; Zeron et al., 2002]. Nella Malattia di Huntington, inoltre, risulta alterato sia il trasporto del recettore NMDA nei neuroni striatali [Fan et al., 2007; Marco et al., 2013], sia l'equilibrio tra l'attività sinaptica (pro-sopravvivenza) e quella dannosa extrasinaptica del recettore NMDA [Okamoto et al., 2009; Milnerwood et al., 2010].

CAPITOLO 4

4.1. Conclusioni e prospettive

Diversi meccanismi coesistenti possono partecipare alla patogenesi della Malattia di Huntington.

L'anomala espansione di polyQ, già di per sé, può determinare una funzione tossica, indipendente dal contesto proteico, spiegando il suo coinvolgimento anche in altri disturbi neurodegenerativi, comprese diverse atassie spinocerebellari.

Il meccanismo patologico più importante alla base della malattia è sicuramente correlato alla funzione tossica espletata dalla mHTT, ma anche l'alterazione della funzione della HTT wild-type, correlata alla sua perdita od inattivazione, che può manifestarsi in modo dominante, sembra avere un ruolo significativo nella patogenesi della malattia.

Studiare la funzione della HTT e come viene compromessa dall'espansione polyQ può favorire la comprensione di meccanismi patologici specifici della Malattia di Huntington.

Un esempio è rappresentato dalla peculiarità dell'alterazione della connessione cortico-striatale, molto probabilmente dovuta, almeno in parte, alla disfunzione della HTT nella regolazione del segnale BDNF- TrkB attraverso la trascrizione ed il trasporto [Baquet et al., 2004].

Conoscere la funzione e la disfunzione della HTT può permettere il riconoscimento di fasi iniziali della malattia.

La comprensione delle disfunzioni precoci della HTT, presumibilmente responsabili dei segni neurologici prodromici della malattia, è molto importante [Tabrizi et al., 2009], in quanto permette la possibilità, considerata la natura monogenetica della malattia, di strategie di trattamento mirate agli stadi presintomatici, e potrebbe condurre

all'individuazione di marcatori di progressione della malattia utilizzabili per convalidare le prime terapie neuroprotettive.

Le strategie terapeutiche emergenti, che mirano ad abbassare le concentrazioni della mHTT nei pazienti affetti dalla Malattia di Huntington, pur avendo una efficace

potenzialità, indipendentemente dagli eventi tossici, non sembrano, tuttavia, in grado di discriminare tra la HTT wild-type e mutante.

Nonostante i progressi compiuti nella caratterizzazione strutturale e biofisica della HTT, dei suoi frammenti N-terminali, della loro cinetica di aggregazione, del ruolo fondamentale dei domini N17 e PRD, oltre al polyQ, e dell’impatto dei PTM, siamo ancora nelle prime fasi, rispetto alla regolazione del suo promotore, all’identità delle sue isoforme di splicing ed il loro ruolo, alla sua espressione spaziale e temporale a livello cellulare durante lo sviluppo e nell’adulto, e se e quando la sua espressione è regolata da miRNA.

Inoltre, delle numerose PTM a cui è soggetta la HTT, poche sono state studiate ampiamente per comprendere il loro ruolo nella funzione della HTT e nella progressione della malattia.

Occorre individuare in che modo la perdita della HTT influisce sulla fisiologia cellulare ed in quali condizioni, nel tempo e nello spazio, possono essere tollerati bassi livelli sia della HTT wild-type che mutante. La ridotta attività trascrizionale del gene *HTT* wild-type è associata ad una età di insorgenza precoce della malattia [Becanovic et al., 2015]. La perdita della HTT, inoltre, è associata ad un aumento di metastasi nel contesto del cancro al seno [Thion et al., 2015].

È probabile che nella malattia, essendo cronica e lentamente evolutiva, possa verificarsi un continuo e costante accumulo di lievi alterazioni a livello cellulare e dell’organismo, fino a diventare tossiche.

In prospettiva risulta molto importante comprendere anche le funzioni e disfunzioni della HTT, legate a specifiche reti neuronali all’interno del cervello, e le modalità con cui si rapportano a specifici sintomi neurologici, psichiatrici e cognitivi.

Sebbene i sintomi neurologici siano i più visibili e drammatici, è importante conoscere il ruolo della HTT anche al di fuori del sistema nervoso.

La disfunzione della HTT sembra determinare un aumento di metastasi nei pazienti con la Malattia di Huntington, suscettibili a tumori, atrofia muscolare e scompenso cardiaco.

Sebbene sia rara, la ricerca dedica alla malattia una grande attenzione. Uno dei motivi è che la malattia possiede alcune caratteristiche che la rendono un problema terapeutico trattabile rispetto ad altre condizioni neurodegenerative.

La natura autosomica dominante consente di fare una diagnosi quasi definitiva prima della morte, di studiare e modellare accuratamente la malattia, sia in vivo che in vitro, e dimostrare una condizione patologica ragionevolmente omogenea.

In altre malattie demenziali, la diagnosi è raramente definitiva, e l'analisi post-mortem mostra spesso un mix di patologie.

La natura familiare, inoltre, consentendo di fare una diagnosi precoce, prima della comparsa dei sintomi, permette che la terapia possa iniziare prima di una grave perdita neuronale, quando ormai può essere difficile rallentare la progressione della malattia ed impossibile correggere i deficit esistenti.

Nonostante i numerosi progressi compiuti, dall'identificazione nel 1993 del gene *HTT*, nella conoscenza dei meccanismi molecolari che portano alla neurodegenerazione nella Malattia di Huntington, ad oggi ancora non è disponibile alcun trattamento valido, se non sintomatico, per ritardare la comparsa o rallentare la progressione dei sintomi nei pazienti.

Vi sono, tuttavia, diversi approcci di ricerca promettenti che si concentrano sul silenziamento genico allele-specifico, sia a livello di DNA che di mRNA.

Attualmente molto promettente viene considerata l'applicazione terapeutica nella malattia [Gagnon et al., 2010] degli oligonucleotidi, ligandi di acidi nucleici molto selettivi e ad alta affinità, che, opportunamente adattati, sembrano inibire le vie patologiche fondamentali della malattia, sfruttando l'approccio antisenso [Parekh- Olmedo et al., 2004].

Gli agenti selettivi di targeting per mRNA comprendono non solo oligonucleotidi antisenso (ASO), brevi molecole a singolo filamento di DNA, ma anche RNA interferente breve (siRNA, short interfering RNA), RNA a forcina corta (shRNA, short/small hairpin RNA) e microRNA (miRNA), che sembrano ridurre sensibilmente i livelli della *HTT*, pur evidenziando difficoltà per quanto riguarda gli effetti fuori bersaglio.

Anche i motivi a dita di zinco (zinc finger) ed il potente strumento di modifica del DNA CRISPR/Cas9 rappresentano due possibili strategie.

Il primo sembra ostacolare la trascrizione del gene *HTT*, con selettività relativamente debole.

Il secondo è una potente opzione per eseguire la correzione allele- specifica, ma gli effetti fuori bersaglio rimangono una delle principali preoccupazioni per l'applicazione clinica.

La strategia degli intrabodies, anticorpi cellulari, richiedendo la manipolazione genomica che implica sfide tecnologiche complesse, rende le sue applicazioni terapeutiche dirette ancora lontane.

Nella ricerca di strategie terapeutiche praticabili nella malattia, sono stati fatti diversi tentativi, interferendo con la formazione di α -eliche anfipatiche stabili e/o fasci di α -elica nel dominio N17.

A livello di proteine, le applicazioni pratiche basate sulla complessazione molecolare risultano ancora molto lontane.

Molte aspettative sono attualmente riposte, essendo ligandi altamente specifici, sugli aptameri, brevi DNA o RNA, a filamento singolo, identificati in vitro dall'evoluzione sistematica dei ligandi mediante arricchimento esponenziale (SELEX, Systematic Evolution of Ligands by EXponential enrichment) [Stoltenburg et al., 2007].

Gli aptameri, a causa del loro peculiare ripiegamento tridimensionale, possono riconoscere selettivamente un'ampia gamma di bersagli molecolari, come proteine, piccole molecole, ioni e persino virus o intere cellule.

Gli aptameri oligonucleotidici sono strumenti terapeutici promettenti molto selettivi, non immunogenici e non tossici, in quanto riconoscono specificamente epitopi selezionati della mHTT, e riducono le interazioni intermolecolari delle proteine e la conseguente aggregazione proteica.

L'opportunità di prendere di mira così tante specie diverse con estrema affinità e specificità, giustifica le elevate aspettative riposte su queste molecole.

Nell'ultimo decennio gli aptameri si sono affermati anche come una valida alternativa agli anticorpi, sia per applicazioni terapeutiche che diagnostiche/sensoriali [Musumeci et al., 2015].

Gli aptameri, più piccoli e meno immunogenici degli anticorpi, sono stabili in una vasta scala di pH e temperatura, e consentono un controllo reversibile del loro ripiegamento, ed una volta selezionati, possono essere prodotti ed utilizzati facilmente.

Effetti specifici degli aptameri sono stati osservati anche sull'endocitosi [Chaudhary et al., 2015].

Aptameri di RNA possono solubilizzare frammenti della mHTT, sia in vitro che nel lievito, ripristinando le normali funzioni della proteina e migliorando il funzionamento cellulare.

In presenza di aptameri, una maggiore solubilizzazione della mHTT, è stata associata ad un aumento significativo della vitalità cellulare.

La tecnica di Dynamic Light Scattering (DLS) ha mostrato che gli aptameri stabilizzano la HTT monomerica ed inibiscono la formazione di oligomeri ed aggregati di ordine superiore, rallentando l'intero processo di aggregazione [Chaudhary et al., 2015], ma non sono in grado di dissociare gli aggregati preformati.

Nonostante l'enorme potenzialità terapeutica nella malattia, derivata da una grande quantità di dati sperimentali, gli studi basati sugli aptameri, ancora rari ed allo stato iniziale, necessitano di indagini più approfondite, per descrivere meglio gli aptameri che si legano alla mHTT-target, sia dal punto di vista funzionale che strutturale, e soprattutto di esperimenti obbligatori su modelli in vivo con la Malattia di Huntington, più rilevanti, prima di ipotizzare una loro applicazione terapeutica.

A tutt'oggi non sono ancora chiare le precise basi molecolari della Malattia di Huntington, così come l'identità esatta delle specie tossiche mHTT, fondamentali per progettare future strategie terapeutiche.

BIBLIOGRAFIA

- Adegbuyiro A, Sedighi F, Pilkington AW, Groover S, Legleiter J. *Proteins containing expanded polyglutamine tracts and neurodegenerative disease*. *Biochemistry*. 2017, 56, pp. 1199-1217
- Aharony I, Ehrnhoefer D, Shruster A, Franciosi S, Hayden MR, Offen D. *A novel inhibitor of Caspase-6 provides protection against mutant huntingtin toxicity*. *J. Mol. Neurosci*. 2014, 53, S4–S4
- Aharony I, Ehrnhoefer DE, Shruster A, Qiu XF, Franciosi S, Hayden MR, Offen D. *A Huntingtin-based peptide inhibitor of caspase-6 provides protection from mutant Huntingtin-induced motor and behavioral deficits*. *Hum. Mol. Genet*. 2015, 24, pp. 2604-2614
- Aiken CT et al. *Phosphorylation of Threonine 3 implications for huntingtin aggregation and neurotoxicity*. *J. Biol. Chem*. 2009, 284, pp. 29427-29436
- Andre EA, Braatz EM, Liu JP, Zeitlin SO. *Generation and characterization of knock-in mouse models expressing versions of huntingtin with either an N17 or a combined PolyQ and proline-rich region deletion*. *J. Huntingt. Dis*. 2017, 6, pp. 47-62
- Andrew SE et al. *The relationship between trinucleotide (CAG) repeat length and clinical features of Huntington's disease*. *Nat. Genet*. 1993, 4, pp. 398-403
- Arrasate M, Mitra S, Schweitzer ES, Segal MR, Finkbeiner S. 2004. *Inclusion body formation reduces levels of mutant huntingtin and the risk of neuronal death*. *Nature* 431, 805–810
- Atwal RS, Xia J, Pinchev D, Taylor J, Epanand RM, Truant R. *Huntingtin has a membrane association signal that can modulate huntingtin aggregation, nuclear entry and toxicity*. *Hum. Mol. Genet*. 2007, 16, 2600–2615.
- Atwal RS, Desmond CR, Caron N, Maiuri T, Xia J, Sipione S, Truant R. *Kinase inhibitors modulate huntingtin cell localization and toxicity*. *Nat. Chem. Bio*. 2011, 7, 453–460.
- Aylward E.H. et al. *PREDICT-HD Investigators and Coordinators of Huntington Study Group. Longitudinal change in regional brain volumes in prodromal Huntington disease*. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry*. 2011, 82, 405-410
- Badano JL, Teslovich TM, Katsanis N. *The centrosome in human genetic disease*. *Nat. Rev. Genet*. 2005, 6, 194-205
- Bae B.I. et al. *p53 mediates cellular dysfunction and behavioral abnormalities in Huntington's disease*. *Neuron*. 2005, 47, 29-41
- Baquet ZC, Gorski JA, Jones KR. *Early striatal dendrite deficits followed by neuron loss with advanced age in the absence of anterograde cortical brain-derived neurotrophic factor*. *J. Neurosci*. 2004, 24, 4250-4258
- Barbaro BA et al. *Comparative study of naturally occurring huntingtin fragments in Drosophila points to exon 1 as the most pathogenic species in Huntington's disease*. *Hum. Mol. Genet*. 2015, 24, pp. 913-925

- Bečanović K. et al. REGISTRY Investigators of the European Huntington's Disease Network. *A SNP in the HTT promoter alters NF- κ B binding and is a bidirectional genetic modifier of Huntington disease.* Nat. Neurosci. 2015, 18, 807-816
- Becher MW, Kotzuk JA, Sharp AH, Davies SW, Bates GP, Price DL, Ross CA. *Intranuclear neuronal inclusions in Huntington's disease and dentatorubral and pallidoluysian atrophy: Correlation between the density of inclusions and IT15 CAG triplet repeat length.* Neurobiol Dis. 1998, 4, 387-397
- Ben M'Barek K, Pla P, Orvoen S, et al. *Huntingtin mediates anxiety/depression-related behaviors and hippocampal neurogenesis.* J. Neurosci. 2013, 33, 8608-8620
- Bence NF, Sampat RM, Kopito RR. 2001. *Impairment of the ubiquitin-proteasome system by protein aggregation.* Science 292, 1552–1555
- Benn C.L. et al. *Huntingtin modulates transcription, occupies gene promoters in vivo, and binds directly to DNA in a polyglutamine-dependent manner.* J. Neurosci. 2008, 28, 10720-10733
- Bett JS, Cook C, Petrucelli L, Bates GP. *The ubiquitin-proteasome reporter GFPu does not accumulate in neurons of the R6/2 transgenic mouse model of Huntington's disease.* PLoS ONE. 2009, 4, e5128
- Bhat KP, Yan S, Wang C.E, Li SH, Li XJ. *Differential ubiquitination and degradation of huntingtin fragments modulated by ubiquitin-protein ligase E3A.* Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 2014, 111, pp. 5706-5711
- Bhattacharyya A, Thakur AK, Chellgren VM, Thiagarajan G, Williams AD, Chellgren BW, Creamer TP, Wetzel R. *Oligoproline effects on polyglutamine conformation and aggregation.* J. Mol. Biol. 2006, 355, pp. 524-535
- Borrell-Pagès M, Zala D, Humbert S, Saudou F. *Huntington's disease: from huntingtin function and dysfunction to therapeutic strategies.* Cell. Mol. Life Sci. 2006, 63, 2642-2660
- Bouchard J, Truong J, Bouchard K, Dunkelberger D, Desrayaud S, Moussaoui S, Tabrizi SJ, Stella N, Muchowski PJ. 2012. *Cannabinoid receptor 2 signaling in peripheral immune cells modulates disease onset and severity in mouse models of Huntington's disease.* J Neurosci 32: 18259–18268
- Bradford J, Shin JY, Roberts M, Wang CE, Sheng G, Li S, Li XJ. *Mutant huntingtin in glial cells exacerbates neurological symptoms of Huntington disease mice.* J Biol Chem. 2010, 285, 10653–10661
- Brito V, Puigdellívol M, Giralt A, del Toro D, Alberch J, Ginés S. 2013. *Imbalance of p75(NTR)/TrkB protein expression in Huntington's disease: Implication for neuroprotective therapies.* Cell Death Dis 4, e595
- Bugg C.W., Isas J.M., Fischer T., Patterson P.H., Langen R.. *Structural features and domain organization of huntingtin fibrils.* J. Biol. Chem., 287 (2012), pp. 31739-31746
- Burke K.A., Kauffman K.J., Umbaugh C.S., Frey S.L., Legleiter J.. *The interaction of polyglutamine peptides with lipid membranes is regulated by*

flanking sequences associated with huntingtin. J. Biol. Chem. 2013, 288, pp. 14993-15005

- Busch A, Engemann S, Lurz R, Okazawa H, Lehrach H, Wanker EE. *Mutant huntingtin promotes the fibrillogenesis of wild-type huntingtin: A potential mechanism for loss of huntingtin function in Huntington's disease.* J Biol Chem. 2003, 278: 41452–41461
- Butler DC, McLear JA, Messer A. *Engineered antibody therapies to counteract mutant huntingtin and related toxic intracellular proteins.* Prog. Neurobiol. 2012, 97, pp. 190-204
- Carmichael J, Chatellier J, Woolfson A, Milstein C, Fersht AR, Rubinsztein DC. *Bacterial and yeast chaperones reduce both aggregate formation and cell death in mammalian cell models of Huntington's disease.* Proc Natl Acad Sci. 2000, 97, 9701–9705.
- Caron NS, Desmond CR, Xia JR, Truant R . *Polyglutamine domain flexibility mediates the proximity between flanking sequences in huntingtin.* Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 2013, 110, pp. 14610-14615
- Caviston JP, Ross JL, Antony SM, Tokito M, Holzbaur EL. *Huntingtin facilitates dynein/dynactin-mediated vesicle transport.* Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2007, 104, 10045-10050
- Chaibva M, Burke KA, Legleiter J. *Curvature enhances binding and aggregation of huntingtin at lipid membranes.* Biochemistry. 2014, 53, pp. 2355-2365
- Chaibva M, Arndt JR, Valentine SJ, Legleiter J. *Acetylation regulates the interaction of huntingtin with lipid membranes: implications for huntington disease.* Biophys. J. 2015,108. 254a-254a
- Chaibva M, Jawahery S, Pilkington AW 4th, Arndt JR, Sarver O, Valentine S, Matysiak S, Legleiter J. *Acetylation within the first 17 residues of huntingtin exon 1 alters aggregation and lipid binding.* Biophys. J. 2016, 111, pp. 349- 362
- Chaturvedi RK, Calingasan NY, Yang L, Hennessey T, Johri A, Beal MF. 2010. *Impairment of PGC-1 α expression, neuropathology and hepatic steatosis in a transgenic mouse model of Huntington's disease following chronic energy deprivation.* Hum Mol Genet 19, 3190–3205
- Chaudhary RK, Patel KA, Patel MK, Joshi RH, Roy I. *Inhibition of aggregation of mutant huntingtin by nucleic acid aptamers in vitro and in a yeast model of Huntington's disease.* Mol. Ther., 23 (2015), pp. 1912-1926
- Chen M.C., Wolynes PG. *Aggregation landscapes of Huntingtin exon 1 protein fragments and the critical repeat length for the onset of Huntington's disease.* Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 114 (2017), pp. 4406-4411
- Chen SY, Bagley J, Marasco WA. . *Intracellular antibodies as a new class of therapeutic molecules for gene therapy.* Hum. Gene Ther., 5 (1994), pp. 595-601
- Chiki A et al. *Mutant Exon1 huntingtin aggregation is regulated by T3 phosphorylation-induced structural changes and crosstalk between T3*

phosphorylation and acetylation at K6. Angew. Chem. Int. Ed. 2017, 56, pp. 5202-5207

- Choo YS, Johnson GVW, MacDonald M, Detloff PJ, Lesort M. 2004. *Mutant huntingtin directly increases susceptibility of mitochondria to the calcium-induced permeability transition and cytochrome c release.* Hum Mol Genet 13, 1407–1420
- Chou SY, Weng JY, Lai HL, Liao F, Sun SH, Tu PH, Dickson DW, Chern Y. 2008. *Expanded-polyglutamine huntingtin protein suppresses the secretion and production of a chemokine (CCL5/RANTES) by astrocytes.* J Neurosci 28, 3277–3290
- Colin E, Zala D, Liot G, Rangone H, Borrell-Pagès M, Li XJ, Saudou F, Humbert S. 2008. *Huntingtin phosphorylation acts as a molecular switch for anterograde/retrograde transport in neurons.* EMBO J 27, 2124–2134
- Cornett J, Cao F, Wang CE, Ross CA, Bates GP, Li SH, Li XJ. *Polyglutamine expansion of huntingtin impairs its nuclear export.* Nat Genet. 2005, 37(2),198-204.
- Corrochano S. et al. 2012. *α -Synuclein levels modulate Huntington's disease in mice.* Hum Mol Genet 21, 485–494
- Crick SL, Ruff KM, Garai K, Frieden C, Pappu RV. *Unmasking the roles of N- and C-terminal flanking sequences from exon 1 of huntingtin as modulators of polyglutamine aggregation.* Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 110 (2013), pp. 20075-20080
- Crotti A. et al. 2014. *Mutant Huntingtin promotes autonomous microglia activation via myeloid lineage-determining factors.* Nat Neurosci 17:513–521
- Cui L, Jeong H, Borovecki F, Parkhurst CN, Tanese N, Krainc D. 2006. *Transcriptional repression of PGC-1 α by mutant huntingtin leads to mitochondrial dysfunction and neurodegeneration.* Cell 127, 59–69
- Culver BP, Savas JN, Park SK, Choi JH, Zheng S, Zeitlin SO, Yates 3rd JR, Tanese N. *Proteomic analysis of wild-type and mutant huntingtin-associated proteins in mouse brains identifies unique interactions and involvement in protein synthesis.* J. Biol. Chem. 2012, 287, 21599-21614
- Cummings CJ, Mancini MA, Antalffy B, DeFranco DB, Orr HT, Zoghbi HY. *Chaperone suppression of aggregation and altered subcellular proteasome localization imply protein misfolding in SCA1.* Nat Genet. 1998, 19: 148–154
- Daldin M et al. *Polyglutamine expansion affects huntingtin conformation in multiple Huntington's disease models.* Sci. Rep. 2017, 7.
- Davies SW et al. *Formation of neuronal intranuclear inclusions underlies the neurological dysfunction in mice transgenic for the HD mutation.* Cell. 1997, 90, 537–548
- Dayalu P, Albin RL. *Huntington disease: pathogenesis and treatment.* Neurol. Clin. 2015, 33, pp. 101-114

- Dehay B, Bertolotti A. *Critical role of the proline-rich region in Huntingtin for aggregation and cytotoxicity in yeast*. J. Biol. Chem. 2006, 281, pp. 35608-35615
- Del Toro D, Alberch J, Lázaro-Diéguez F, Martín-Ibáñez R, Xifró X, Egea G, Canals JM. *Mutant huntingtin impairs post-Golgi trafficking to lysosomes by delocalizing optineurin/Rab8 complex from the Golgi apparatus*. Mol. Biol. Cell. 2009, 20, 1478-1492
- Desmond CR, Atwal RS, Xia J, Truant R. *Identification of a karyopherin $\beta 1/\beta 2$ proline-tyrosine nuclear localization signal in huntingtin protein*. J Biol Chem. 2012, 287, 39626-39633.
- DiFiglia M, Sapp E, Chase KO, Davies SW, Bates GP, Vonsattel JP, Aronin N. *Aggregation of huntingtin in neuronal intranuclear inclusions and dystrophic neurites in brain*. Science 1997, 277, 1990–1993.
- Dragatsis I, Efstratiadis A, Zeitlin S. *Mouse mutant embryos lacking huntingtin are rescued from lethality by wild-type extraembryonic tissues*. Development. 1998, 125, 1529-1539
- Drazic A, Myklebust LM, Ree R, Arnesen T. *The world of protein acetylation*. Biochim. Biophys. Acta Protein Proteomics. 2016, 1864, pp. 1372-1401
- Dunah AW et al. *Sp1 and TAFII130 transcriptional activity disrupted in early Huntington's disease*. Science. 2002, 296, 2238-2243
- Duyao MP et al. *Inactivation of the mouse Huntington's disease gene homolog Hdh*. Science. 1995, 269, 407-410
- Ehrnhoefer DE, Sutton L, Hayden MR. *Small changes, big impact: posttranslational modifications and function of huntingtin in huntington disease*. Neuroscientist. 2011, 17, pp. 475-492
- El-Daher MT et al. *Huntingtin proteolysis releases non-polyQ fragments that cause toxicity through dynamin 1 dysregulation*. EMBO J. 2015, 34, 2255- 2271
- Elias S, Thion MS, Yu H, Sousa CM, Lasgi C, Morin X, Humbert S. *Huntingtin regulates mammary stem cell division and differentiation*. Stem Cell Reports. 2014, 2, 491-506
- Elias S, McGuire J.R, Yu H, Humbert S. *Huntingtin Is Required for Epithelial Polarity through RAB11A-Mediated Apical Trafficking of PAR3-aPKC*. PLoS Biol. 2015, 13, e1002142
- Engelender S, Sharp AH, Colomer V, Tokito MK, Lanahan A, Worley P, Holzbaur EL, Ross CA. *Huntingtin-associated protein 1 (HAP1) interacts with the p150Glued subunit of dynactin*. Hum. Mol. Genet. 1997, 6, 2205-2212
- Engqvist-Goldstein AE, Warren RA, Kessels MM, Keen JH, Heuser J, Drubin DG. *The actin-binding protein Hip1R associates with clathrin during early stages of endocytosis and promotes clathrin assembly in vitro*. J. Cell Biol. 2001, 154, 1209-1223
- Faber PW, Barnes GT, Srinidhi J, Chen J, Gusella JF, MacDonald ME. *Huntingtin interacts with a family of WW domain proteins*. Hum. Mol. Genet. 1998, 7, 1463-1474

- Fan MMY, Fernandes HB, Zhang LYJ, Hayden MR, Raymond LA. 2007. *Altered NMDA receptor trafficking in a yeast artificial chromosome transgenic mouse model of Huntington's disease.* J Neurosci 27, 3768–3779
- Furlong RA, Narain Y, Rankin J, Wyttenbach A, Rubinsztein DC. 2000. *α -Synuclein overexpression promotes aggregation of mutant huntingtin.* Biochem J 346, 577–581
- Fusco FR et al. *Cellular localization of huntingtin in striatal and cortical neurons in rats: lack of correlation with neuronal vulnerability in Huntington's disease.* 1999, 19(4), 1189-202.
- Futter M, Diekmann H, Schoenmakers E, Sadiq O, Chatterjee K, Rubinsztein DC. *Wild-type but not mutant huntingtin modulates the transcriptional activity of liver X receptors.* J. Med. Genet. 2009, 46, 438-446
- Gafni J, Ellerby L.M. *Calpain activation in Huntington's disease.* J. Neurosci. 2002, 22, 4842-4849
- Gafni J, Hermel E, Young JE, Wellington CL, Hayden MR, Ellerby LM. *Inhibition of calpain cleavage of huntingtin reduces toxicity - accumulation of calpain/caspase fragments in the nucleus.* J. Biol. Chem. 2004, 279, pp. 20211-20220
- Gagnon K.T. et al. *Allele-selective inhibition of mutant huntingtin expression with antisense oligonucleotides targeting the expanded CAG repeat.* Biochemistry, 49 (2010), pp. 10166-10178
- Gao YG, Yan XZ, Song AX, Chang YG, Gao XC, Jiang N, Zhang Q, Hu HY. *Structural insights into the specific binding of huntingtin proline-rich region with the SH3 and WW domains.* Structure. 2006, 14, pp. 1755-1765
- Gauthier LR et al. *Huntingtin controls neurotrophic support and survival of neurons by enhancing BDNF vesicular transport along microtubules.* Cell. 2004, 118, 127-138
- Georgiou N, Bradshaw JL, Chiu E, Tudor A, O'Gorman L, Phillips JG. *Differential clinical and motor control function in a pair of monozygotic twins with Huntington's disease.* Mov Disord. 1999, 4, 320-325.
- Godin JD et al. *Huntingtin is required for mitotic spindle orientation and mammalian neurogenesis.* Neuron. 2010, 67, 392-406
- Gousset K, Schiff E, Langevin C, Marijanovic Z, Caputo A, Browman DT, Chenouard N, de Chaumont F, Martino A, Enninga J, et al. 2009. *Prions hijack tunnelling nanotubes for intercellular spread.* Nat Cell Biol 11, 328–336
- Graham RK et al. *Cleavage at the caspase-6 site is required for neuronal dysfunction and degeneration due to mutant huntingtin.* Cell. 2006, 125, pp. 1179-1191
- Graham R.K. et al. *Cleavage at the 586 amino acid Caspase-6 site in mutant huntingtin influences Caspase-6 activation in vivo.* J. Neurosci. 2010, 30, pp. 15019-15029
- Grinthal A, Adamovic I, Weiner B, Karplus M, Kleckner N. *PR65, the HEAT-repeat scaffold of phosphatase PP2A, is an elastic connector that links, force and catalysis.* Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 2010, 107, pp. 2467-2472

- Gunawardena S, Her LS, Brusch RG, Laymon RA, Niesman IR, Gordesky-Gold B, Sintasath L, Bonini NM, Goldstein LSB. 2003. *Disruption of axonal transport by loss of huntingtin or expression of pathogenic polyQ proteins in Drosophila*. Neuron 40, 25–40
- Guo Q et al. *The cryo-electron microscopy structure of huntingtin*. Nature. 2018, 555, pp. 117-120
- Haremake T, Deglincerti A, Brivanlou AH. *Huntingtin is required for ciliogenesis and neurogenesis during early Xenopus development*. Dev. Biol. 2015, 408, 305-315
- Harjes P, Wanker EE. *The hunt for huntingtin function: interaction partners tell many different stories*. Trends Biochem. Sci. 2003, 28, 425-433
- Hartl FU, Bracher A, Hayer-Hartl M. 2011. *Molecular chaperones in protein folding and proteostasis*. Nature 475: 324–332.
- Herrera F, Outeiro TF. 2012. *α -Synuclein modifies huntingtin aggregation in living cells*. FEBS Lett 586, 7–12
- Ho LW, Brown R, Maxwell M, Wyttenbach A, Rubinsztein DC. *Wild type Huntingtin reduces the cellular toxicity of mutant Huntingtin in mammalian cell models of Huntington's disease*. J. Med. Genet. 2001, 38, 450-452
- Holbert S et al. *The Gln-Ala repeat transcriptional activator CA150 interacts with huntingtin: neuropathologic and genetic evidence for a role in Huntington's disease pathogenesis*. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2001, 98, 1811-1816
- Huang K et al. *Wild-type HTT modulates the enzymatic activity of the neuronal palmitoyl transferase HIP14*. Hum. Mol. Genet. 2011, 20, 3356-3365
- Hughes AC, Mort M, Elliston L, Thomas RM, Brooks SP, Dunnett SB, Jones L. *Identification of novel alternative splicing events in the huntingtin gene and assessment of the functional consequences using structural protein homology modelling*. J. Mol. Biol. 2014, 426, 1428-1438
- Humphrey SJ, James DE, Mann M. *Protein Phosphorylation: A Major Switch Mechanism for Metabolic Regulation*. Trends Endocrinol Metab. 2015, 26(12), 676-687.
- Isas JM, Langen A, Isas MC, Pandey NK, Siemer AB. *Formation and structure of wild type huntingtin Exon-1 fibrils*. Biochemistry. 2017, 56, pp. 3579-3586
- Jahreiss L, Menzies FM, Rubinsztein DC. 2008. *The itinerary of autophagosomes: From peripheral formation to kiss-and-run fusion with lysosomes*. Traffic 9, 574–587
- Jayaraman M, Kodali R, Sahoo B, Thakur AK, Mayasundari A, Mishra R, Peterson CB, Wetzel R. *Slow amyloid nucleation via alpha-helix-rich oligomeric intermediates in short polyglutamine-containing huntingtin fragments*. J. Mol. Biol. 2012, 415, pp. 881-899
- Jeong H et al. *Acetylation targets mutant huntingtin to autophagosomes for degradation*. Cell. 2009, 137, 60-72

- Johnson R, Zuccato C, Belyaev ND, Guest DJ, Cattaneo E, Buckley NJ. 2008. *A microRNA-based gene dysregulation pathway in Huntington's disease*. *Neurobiol Dis* 29, 438–445
- Juenemann K, Schipper-Krom S, Wiemhoefer A, Kloss A, Sanz Sanz A, Reits EAJ. 2013. *Expanded polyglutamine-containing N-terminal huntingtin fragments are entirely degraded by mammalian proteasomes*. *J Biol Chem* 288, 27068–27084
- Kaltenbach LS et al. *Huntingtin interacting proteins are genetic modifiers of neurodegeneration*. *PLoS Genet*. 2007, 3, e82
- Kang H, Vazquez FX, Zhang LL, Das P, Toledo-Sherman L, Luan BQ, Levitt M, Zhou RH. *Emerging beta-sheet rich conformations in supercompact huntingtin Exon-1 mutant structures*. *J. Am. Chem. Soc.* 2017, 139, pp. 8820- 8827
- Kazantsev A, Preisinger E, Dranovsky A, Goldgaber D, Housman D. *Insoluble detergent-resistant aggregates form between pathological and nonpathological lengths of polyglutamine in mammalian cells*. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1999 Sep 28, 96(20),11404-9.
- Kegel KB et al. *Huntingtin is present in the nucleus, interacts with the transcriptional corepressor C-terminal binding protein, and represses transcription*. *J. Biol. Chem.* 2002, 277, 7466-7476
- Keryer G et al. *Ciliogenesis is regulated by a huntingtin-HAP1-PCM1 pathway and is altered in Huntington disease*. *J. Clin. Invest.* 2011, 121, 4372-4382
- Kim MW, Chelliah Y, Kim SW, Otwinowski Z, Bezprozvanny I. *Secondary structure of Huntingtin amino-terminal region*. *Structure*. 2009, 17, 1205- 1212
- Klement IA, Skinner PJ, Kaytor MD, Yi H, Hersch SM, Clark HB, Zoghbi HY, Orr HT. 1998. *Ataxin-1 nuclear localization and aggregation: Role in polyglutamine-induced disease in SCA1 transgenic mice*. *Cell* 95: 41–53
- Kokona B, Johnson KA, Fairman R. *Effect of helical flanking sequences on the morphology of polyglutamine-containing fibrils*. *Biochemistry*. 2014, 53, pp. 6747-6753
- Kokona B, Rosenthal ZP, Fairman R. *Role of the coiled-coil structural motif in polyglutamine aggregation*. *Biochemistry*. 2014, 53, pp. 6738-6746
- Kwan W. et al. 2012b. *Mutant huntingtin impairs immune cell migration in Huntington disease*. *J Clin Invest* 122, 4737–4747
- Laforet GA. et al. 2001. *Changes in cortical and striatal neurons predict behavioral and electrophysiological abnormalities in a transgenic murine model of Huntington's disease*. *J Neurosci* 21, 9112–9123
- Lee JM et al. *CAG repeat expansion in Huntington disease determines age at onset in a fully dominant fashion*. *Neurology*. 2012, 78, 690-5.
- Li H, Li SH, Yu ZX, Shelbourne P, Li XJ. *Huntingtin aggregate-associated axonal degeneration is an early pathological event in Huntington's disease mice*. *J Neurosci*. 2001, 21, 8473–8481

- Li X et al. *A function of huntingtin in guanine nucleotide exchange on Rab11*. Neuroreport. 2008, 19, 1643-1647
- Liang Q.L. , Ouyang X.S. , Schneider L. , Zhang J.H. . *Reduction of mutant huntingtin accumulation and toxicity by lysosomal cathepsins D and B in neurons*. Mol. Neurodegener., 6 (2011)
- Liévens JC, Woodman B, Mahal A, Spasic-Bosovic O, Samuel D, Kerkerian- Le Goff L, Bates GP. 2001. *Impaired glutamate uptake in the R6 Huntington's disease transgenic mice*. Neurobiol Dis 8, 807–821
- Lin B, Rommens JM, Graham RK, Kalchman M, Macdonald H, Nasir J et al. *Differential 3' polyadenylation of the huntington disease gene results in two mRNA species with variable tissue expression*. Human Molecular Genetics. 1993, 2, 1541-1545.
- Lin HK, Boatz JC, Krabbendam IE, Kodali R, Hou ZP, Wetzel R, Dolga AM, Poirier MA, van der Wel P.C.A. *Fibril polymorphism affects immobilized non- amyloid flanking domains of huntingtin exon1 rather than its polyglutamine core*. Nat. Commun. 2017, 8
- Liot G, Zala D, Pla P, Mottet G, Piel M, Saudou F. *Mutant Huntingtin alters retrograde transport of TrkB receptors in striatal dendrites*. J. Neurosci. 2013, 33, 6298-6309
- Lo Sardo V. et al. *An evolutionary recent neuroepithelial cell adhesion function of huntingtin implicates ADAM10-Ncadherin*. Nat. Neurosci. 2012, 15, 713-721
- Luo S, Vacher C, Davies JE, Rubinsztein DC. *Cdk5 phosphorylation of huntingtin reduces its cleavage by caspases: implications for mutant huntingtin toxicity*. J. Cell Biol. 2005, 169, 647-656
- Luthi-Carter R. et al. 2000. *Decreased expression of striatal signaling genes in a mouse model of Huntington's disease*. Hum Mol Genet 9, 1259–1271
- Maiuri T, Woloshansky T, Xia J, Truant R. *The huntingtin N17 domain is a multifunctional CRM1 and Ran-dependent nuclear and cilia export signal*. Hum. Mol. Genet. 2013, 22, 1383-1394
- Mangiarini L et al. *Exon 1 of the HD gene with an expanded CAG repeat is sufficient to cause a progressive neurological phenotype in transgenic mice*. Cell. 1996, 87, pp. 493-506
- Marco S. et al. 2013. *Suppressing aberrant GluN3A expression rescues synaptic and behavioral impairments in Huntington's disease models*. Nat Med 19, 1030–1038
- Marcora E, Gowan K, Lee JE. *Stimulation of NeuroD activity by huntingtin and huntingtin-associated proteins HAP1 and MLK2*. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2003, 100, 9578-9583
- Marcora E, Kennedy MB. *The Huntington's disease mutation impairs Huntingtin's role in the transport of NF-κB from the synapse to the nucleus*. Hum Mol Genet. 2010, 9, 4373–4384.
- Marques Sousa C, Humbert S. *Huntingtin: here, there, everywhere!*. J Huntingtons Dis. 2013, 2(4), 395-403.

- Martin DD, Heit RJ, Yap MC, Davidson MW, Hayden MR, Berthiaume LG. *Identification of a post-translationally myristoylated autophagy-inducing domain released by caspase cleavage of huntingtin*. Hum. Mol. Genet. 2014, 23, 3166-3179
- Martinez-Vicente M. et al. *Cargo recognition failure is responsible for inefficient autophagy in Huntington's disease*. Nat Neurosci. 2010, 13, 567–576
- McGuire JR, Rong J, Li SH, Li XJ. 2006. *Interaction of Huntingtin-associated protein-1 with kinesin light chain: Implications in intracellular trafficking in neurons*. J Biol Chem 281, 3552–3559
- McKinstry SU et al. 2014. *Huntingtin is required for normal excitatory synapse development in cortical and striatal circuits*. J Neurosci 34, 9455– 9472.
- Melone MAB, Jori FP, Peluso G. *Huntington's disease: new frontiers for molecular and cell therapy*. Curr. Drug Targets. 2005, 6, pp. 43-56
- Michalek M, Salnikov ES, Bechinger B. *Structure and topology of the huntingtin 1-17 membrane anchor by a combined solution and solid-state NMR approach*. Biophys J. 2013, 105(3), 699-710.
- Miller J, Arrasate M, Shaby B.A, Mitra S, Masliah E, Finkbeiner S. *Quantitative relationships between huntingtin levels, polyglutamine length, inclusion body formation, and neuronal death provide novel insight into huntington's disease molecular pathogenesis*. J. Neurosci. 2010, 30, 10541- 10550
- Milnerwood AJ. et al. 2010. *Early increase in extrasynaptic NMDA receptor signaling and expression contributes to phenotype onset in Huntington's disease mice*. Neuron 65, 178–190
- Mishra R. , Jayaraman M. , Roland B.P. , Landrum E. , Fullam T. , Kodali R. , Thakur A.K. , Arduini I. , Wetzel R. . *Inhibiting the nucleation of amyloid structure in a huntingtin fragment by targeting alpha-helix-rich oligomeric intermediates*. J. Mol. Biol., 415 (2012), pp. 900-917
- Mitra S, Tsvetkov AS, Finkbeiner S. 2009. *Single neuron ubiquitin- proteasome dynamics accompanying inclusion body formation in huntington disease*. J Biol Chem 284, 4398–4403
- Modregger J, Schmidt AA, Ritter B, Huttner WB, Plomann M. *Characterization of Endophilin B1b, a brain-specific membrane-associated lysophosphatidic acid acyl transferase with properties distinct from endophilin A1*. J. Biol. Chem. 2003, 278, 4160-4167
- Morfini GA. et al. 2009. *Pathogenic huntingtin inhibits fast axonal transport by activating JNK3 and phosphorylating kinesin*. Nat Neurosci 12, 864–871
- Musumeci D. , Riccardi C. , Montesarchio D. *G-quadruplex forming oligonucleotides as anti-HIV agents*. Molecules, 20 (2015), pp. 17511-17532
- Myers RH, Vonsattel JP, Paskevich PA, Kiely DK, Stevens TJ, Cupples LA, Richardson EP, Bird ED. 1991. *Decreased neuronal and increased*

oligodendroglial densities in Huntington's disease caudate nucleus. J Neuropathol Exp Neurol 50, 729–742

- Nagarajan A, Jawahery S, Matysiak S. *The effects of flanking sequences in the interaction of polyglutamine peptides with a membrane bilayer.* J. Phys. Chem. B. 2014, 118, pp. 6368-6379
- Neuwald AF, Hirano T. *HEAT repeats associated with condensins, cohesins, and other complexes involved in chromosome-related functions.* Genome Res., 2000, 10, pp. 1445-1452
- Neveklovska M, Clabough EB, Steffan JS, Zeitlin SO. *Deletion of the huntingtin proline-rich region does not significantly affect normal huntingtin function in mice.* J. Huntingtons Dis. 2012, 1, 71-87
- Ochaba J et al. *Potential function for the Huntingtin protein as a scaffold for selective autophagy.* Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2014, 111, 16889-16894
- Okamoto S. et al. *Balance between synaptic versus extrasynaptic NMDA receptor activity influences inclusions and neurotoxicity of mutant huntingtin.* Nat Med . 2009, 15, 1407–1413
- O'Kusky JR, Nasir J, Cicchetti F, Parent A, Hayden MR. *Neuronal degeneration in the basal ganglia and loss of pallido-subthalamic synapses in mice with targeted disruption of the Huntington's disease gene.* Brain Res. 1999, 818, 468–479
- Orr AL. et al. *N-terminal mutant huntingtin associates with mitochondria and impairs mitochondrial trafficking.* J Neurosci. 2008, 28, 2783–2792
- Ortega Z, Díaz-Hernández M, Maynard CJ, Hernández F, Dantuma NP, Lucas JJ. 2010. *Acute polyglutamine expression in inducible mouse model unravels ubiquitin/proteasome system impairment and permanent recovery attributable to aggregate formation.* J Neurosci 30, 3675–3688
- Pal A, Severin F, Lommer B, Shevchenko A, Zerial M. *Huntingtin-HAP40 complex is a novel Rab5 effector that regulates early endosome motility and is up-regulated in Huntington's disease.* J. Cell Biol. 2006, 172, 605-618
- Palazuelos J. et al. 2009. *Microglial CB2 cannabinoid receptors are neuroprotective in Huntington's disease excitotoxicity.* Brain J Neurol 132, 3152–3164
- Palidwor GA et al. *Detection of alpha-rod protein repeats using a neural network and application to huntingtin.* PLoS Comput. Biol. 2009, 5, e1000304
- Pandey NK, Isas J.M. , Rawat A. , Lee R.V. , Langen J. , Pandey P. , Langen R. . *The 17-residue-long N terminus in huntingtin controls step-wise aggregation in solution and on membranes via different mechanisms.* J. Biol. Chem., 293 (7) (2017), pp. 2597-2605
- Panov AV, Gutekunst CA, Leavitt BR, Hayden MR, Burke JR, Strittmatter WJ, Greenamyre JT. 2002. *Early mitochondrial calcium defects in Huntington's disease are a direct effect of polyglutamines.* Nat Neurosci 5, 731–736
- Pardo R, Colin E, Régulier E, Aebischer P, Déglon N, Humbert S, Saudou F. *Inhibition of calcineurin by FK506 protects against polyglutamine-huntingtin*

toxicity through an increase of huntingtin phosphorylation at S421.

J. Neurosci. 2006, 26, 1635-1645

- Parekh-Olmedo H, Wang J, Gusella JF, Kmiec EB. *Modified single-stranded oligonucleotides inhibit aggregate formation and toxicity induced by expanded polyglutamine.* J. Mol. Neurosci., 24 (2004), pp. 257-267
- Paul BD, Sbodio JI, Xu R, Vandiver MS, Cha JY, Snowman AM, Snyder SH. 2014. *Cystathionine γ -lyase deficiency mediates neurodegeneration in Huntington's disease.* Nature 509, 96–100
- Perluigi M, Poon HF, Maragos W, Pierce WM, Klein JB, Calabrese V, Cini C, De Marco C, Butterfield DA. 2005. *Proteomic analysis of protein expression and oxidative modification in r6/2 transgenic mice: A model of Huntington disease.* Mol Cell Proteomics 4, 1849–1861
- Perutz MF, Johnson T, Suzuki M, Finch JT. *Glutamine repeats as polar zippers: Their possible role in inherited neurodegenerative diseases.* Proc Natl Acad Sci. 1994, 91, 5355–5358
- Perutz MF, Windle AH. *Cause of neural death in neurodegenerative diseases attributable to expansion of glutamine repeats.* Nature. 2001, 412, 143–144
- Plotkin JL et al. 2014. *Impaired TrkB receptor signaling underlies corticostriatal dysfunction in Huntington's disease.* Neuron 83, 178–188
- Pouladi MA et al. *Prevention of depressive behaviour in the YAC128 mouse model of Huntington disease by mutation at residue 586 of huntingtin.* Brain. 2009, 132, 919-932
- Proskura AL, Vechkapova SO, Zapara TA, Ratuszniak AS. *Protein-protein interactions of huntingtin in the Hippocampus.* Mol. Biol. 2017, 51, pp. 647-653
- Ratovitski T, Chighladze E, Arbez N, Boronina T, Herbrich S, Cole RN, Ross CA. *Huntingtin protein interactions altered by polyglutamine expansion as determined by quantitative proteomic analysis.* Cell Cycle. 2012, 11, 2006-2021
- Ravikumar B, Duden R, Rubinsztein DC. 2002. *Aggregate-prone proteins with polyglutamine and polyalanine expansions are degraded by autophagy.* Hum Mol Genet 11, 1107–1117
- Reddy PH, Williams M, Charles V, Garrett L, Pike-Buchanan L, Whetsell WO, Miller G, Tagle DA. 1998. *Behavioural abnormalities and selective neuronal loss in HD transgenic mice expressing mutated full-length HD cDNA.* Nat Genet 20, 198–202
- Reiner A, Del Mar N, Meade CA, Yang H, Dragatsis I, Zeitlin S, Goldowitz D. *Neurons lacking huntingtin differentially colonize brain and survive in chimeric mice.* J. Neurosci. 2001, 21, 7608-7619
- Ren PH, Lauckner JE, Kachirskaia I, Heuser JE, Melki R, Kopito RR. 2009. *Cytoplasmic penetration and persistent infection of mammalian cells by polyglutamine aggregates.* Nat Cell Biol 11, 219–225

- Rigamonti D, Sipione S, Goffredo D, Zuccato C, Fossale E, Cattaneo E. *Huntingtin's neuroprotective activity occurs via inhibition of procaspase-9 processing*. J. Biol. Chem. 2001, 276, 14545-14548
- Rockabrand E et al. *The first 17 amino acids of Huntingtin modulate its sub-cellular localization, aggregation and effects on calcium homeostasis*. Hum. Mol. Genet. 2007, 16, 61-77
- Rosas H.D. Salat D.H. Lee S.Y. Zaleta A.K. Pappu V. Fischl B. Greve D. Hevelone N. Hersch S.M. *Cerebral cortex and the clinical expression of Huntington's disease: complexity and heterogeneity*. Brain. 2008, 131, 1057- 1068
- Rosenblatt A. *Neuropsychiatry of Huntington's disease*. Dialogues Clin Neurosci. 2007, 9: 191–197.
- Rosenblatt A. et al. *Familial influence on age of onset among siblings with Huntington disease*. Am J Med Genet. 2001, 105, 399–403
- Ross C.A. Tabrizi S.J. *Huntington's disease: from molecular pathogenesis to clinical treatment*. Lancet Neurol. 2011, 10, 83-98
- Rui YN et al. *Huntingtin functions as a scaffold for selective macroautophagy*. Nat. Cell Biol. 2015, 17, 262-275
- Rush DB, Leon RT, McCollum MH, Treu RW, Wei JN. *Palmitoylation and trafficking of GAD65 are impaired in a cellular model of Huntington's disease*. Biochem. J. 2012, 442, pp. 39-48
- Rustom A, Saffrich R, Markovic I, Walther P, Gerdes HH. 2004. *Nanotubular highways for intercellular organelle transport*. Science 303, 1007–1010
- Ruzo A, Ismailoglu I, Popowski M, Haremaki T, Croft GF, Deglincerti A, Brivanlou AH. *Discovery of novel isoforms of huntingtin reveals a new hominid-specific exon*. PLoS ONE. 2015, 10, e0127687
- Sapp E, Kegel KB, Aronin N, Hashikawa T, Uchiyama Y, Tohyama K, Bhide PG, Vonsattel JP, DiFiglia M. 2001. *Early and progressive accumulation of reactive microglia in the Huntington disease brain*. J Neuropathol Exp Neurol 60, 161–172
- Sathasivam K. et al. 2013. *Aberrant splicing of HTT generates the pathogenic exon 1 protein in Huntington disease*. Proc Natl Acad Sci 110, 2366–2370
- Saudou F, Humbert S. *The biology of huntingtin*. Neuron, 89 (2016), pp. 910-926
- Savas JN, Ma B, Deinhardt K, Culver BP, Restituto S, Wu L, Belasco JG, Chao MV, Tanese N. 2010. *A role for huntington disease protein in dendritic RNA granules*. J Biol Chem 285, 13142–13153.
- Sawa A, Wiegand GW, Cooper J, Margolis RL, Sharp AH, Lawler JF, Greenamyre JT, Snyder SH, Ross CA. 1999. *Increased apoptosis of Huntington disease lymphoblasts associated with repeat length-dependent mitochondrial depolarization*. Nat Med 5, 1194–1198
- Schilling B et al. *Huntingtin phosphorylation sites mapped by mass spectrometry. Modulation of cleavage and toxicity*. J Biol Chem. 2006, 281(33), 23686-23697.

- Schipper-Krom S et al. 2014b. *Dynamic recruitment of active proteasomes into polyglutamine initiated inclusion bodies*. FEBS Lett 588, 151–159
- Seong IS et al. *Huntingtin facilitates polycomb repressive complex 2*. Hum. Mol. Genet. 2010, 19, 573-583
- Shibata M, Lu T, Furuya T, Degterev A, Mizushima N, Yoshimori T, MacDonald M, Yankner B, Yuan J. 2006. *Regulation of intracellular accumulation of mutant Huntingtin by Beclin 1*. J Biol Chem 281, 14474– 14485
- Shin JY, Fang ZH, Yu ZX, Wang CE, Li SH, Li XJ. 2005. *Expression of mutant huntingtin in glial cells contributes to neuronal excitotoxicity*. J Cell Biol 171, 1001–1012
- Sipione S, Rigamonti D, Valenza M, Zuccato C, Conti L, Pritchard J, Kooperberg C, Olson JM, Cattaneo E. 2002. *Early transcriptional profiles in huntingtin-inducible striatal cells by microarray analyses*. Hum Mol Genet 11, 1953–1965
- Sittler A, Wälter S, Wedemeyer N, Hasenbank R, Scherzinger E, Eickhoff H, Bates GP, Lehrach H, Wanker EE. *SH3GL3 associates with the Huntingtin exon 1 protein and promotes the formation of polyglu-containing protein aggregates*. Mol. Cell. 1998, 2, 427-436
- Southwell AL, Khoshnan A, Dunn DE, Bugg CW, Lo DC, Patterson PH. *Intrabodies binding the proline-rich domains of mutant huntingtin increase its turnover and reduce neurotoxicity*. J Neurosci. 2008, 28(36), 9013-9020.
- Steffan et al. *SUMO modification of Huntingtin and Huntington's disease pathology*. Science. 2004, 304, pp. 100-104
- Stoltenburg R, Reinemann C, Strehlitz B. *SELEX-A (r)evolutionary method to generate high-affinity nucleic acid ligands*. Biomol. Eng., 24 (2007), pp. 381-403
- Strehlow A.N. Li J.Z. Myers R.M. *Wild-type huntingtin participates in protein trafficking between the Golgi and the extracellular space*. Hum. Mol. Genet. 2007, 16, 391-409
- Sun Y, Savanenin A, Reddy PH, Liu YF. 2001. *Polyglutamine-expanded huntingtin promotes sensitization of N-methyl-D-aspartate receptors via post-synaptic density 95*. J Biol Chem 276, 24713–24718
- Tabrizi S.J. et al. TRACK-HD investigators. *Biological and clinical manifestations of Huntington's disease in the longitudinal TRACK-HD study: cross-sectional analysis of baseline data*. Lancet Neurol. 2009, 8, 791-801
- Takano H, Gusella JF. *The predominantly HEAT-like motif structure of huntingtin and its association and coincident nuclear entry with dorsal, an NF- κ B/Rel/dorsal family transcription factor*. BMC Neurosci. 2002, 3, 15
- Tartari M, Gissi C, Lo Sardo V, et al. *Phylogenetic comparison of huntingtin homologues reveals the appearance of a primitive polyQ in sea urchin*. Mol Biol Evol. 2008, 25(2), 330-338.
- Thion MS et al. *Unraveling the Role of Huntingtin in Breast Cancer Metastasis*. J. Natl. Cancer Inst. 2015, 107, djv208

- Thompson LM, Aiken CT, Kaltenbach LS, et al. *IKK phosphorylates Huntingtin and targets it for degradation by the proteasome and lysosome*. J Cell Biol. 2009, 187, 1083-1099.
- Tong Y, Ha TJ, Liu L, Nishimoto A, Reiner A, Goldowitz D. *Spatial and temporal requirements for huntingtin (Htt) in neuronal migration and survival during brain development*. J. Neurosci. 2011, 31, 14794-14799
- Tong X. et al. *Astrocyte Kir4.1 ion channel deficits contribute to neuronal dysfunction in Huntington's disease model mice*. Nat Neurosci. 2014, 17, 694–703
- Träger U. et al. 2014. *HTT-lowering reverses Huntington's disease immune dysfunction caused by NFκB pathway dysregulation*. Brain J Neurol 137, 819–833
- Trottier Y, Biancalana V, Mandel JL. *Instability of CAG repeats in Huntington's disease: relation to parental transmission and age of onset*. J Med Genet. 1994 May, 31(5), 377-82.
- Trushina E et al. *Mutant huntingtin impairs axonal trafficking in mammalian neurons in vivo and in vitro*. Mol. Cell. Biol. 2004, 24, 8195-8209
- Twelvetrees A.E. et al. *Delivery of GABAARs to synapses is mediated by HAP1-KIF5 and disrupted by mutant huntingtin*. Neuron. 2010, 65, 53-65
- Tydlacka S, Wang CE, Wang X, Li S, Li XJ. 2008. *Differential activities of the ubiquitin-proteasome system in neurons versus glia may account for the preferential accumulation of misfolded proteins in neurons*. J Neurosci 28, 13285–13295
- Usdin MT, Shelbourne PF, Myers RM, Madison DV. 1999. *Impaired synaptic plasticity in mice carrying the Huntington's disease mutation*. Hum Mol Genet 8, 839–846
- Valor L.M. *Transcription, epigenetics and ameliorative strategies in Huntington's Disease: a genome-wide perspective*. Mol. Neurobiol. 2015, 51, 406-423
- Van Raamsdonk JM, Gibson WT, Pearson J, Murphy Z, Lu G, Leavitt BR, Hayden MR. *Body weight is modulated by levels of full-length huntingtin*. Hum. Mol. Genet. 2006, 15, 1513-1523
- Vashishtha M et al. 2013. *Targeting H3K4 trimethylation in Huntington disease*. Proc Natl Acad Sci 110, E3027–E3036
- Verdin E, Ott M. *50 years of protein acetylation: from gene regulation to epigenetics, metabolism and beyond*. Nat. Rev. Mol. Cell Biol. 2015, 16, pp. 258-264
- Vidoni C. , Follo C. , Savino M. , Melone M.A.B. , Isidoro C. *The role of cathepsin D in the pathogenesis of human neurodegenerative disorders*. Med. Res. Rev., 36 (2016), pp. 845-870. S0197-0186(17)30243-7
- Vijayvargia R, Epand R, Leitner A, et al. *Huntingtin's spherical solenoid structure enables polyglutamine tract-dependent modulation of its structure and function*. Elife. 2016, 5, e11184.

- Wang L, Lin F, Wang J, Wu J, Han R, Zhu L, Difiglia M, Qin Z. 2012. *Expression of mutant N-terminal huntingtin fragment (htt552-100Q) in astrocytes suppresses the secretion of BDNF*. Brain Res 1449, 69–82
- Warby SC, Doty CN, Graham RK, Carroll JB, Yang YZ, Singaraja RR, Overall CM, Hayden MR. *Activated caspase-6 and caspase-6-cleaved fragments of huntingtin specifically colocalize in the nucleus*. Hum. Mol. Genet. 2008, 17, 2390-2404
- Warrick JM, Chan HY, Gray-Board GL, Chai Y, Paulson HL, Bonini NM. 1999. *Suppression of polyglutamine-mediated neurodegeneration in Drosophila by the molecular chaperone HSP70*. Nat Genet 23, 425–428
- Wellington CL et al. *Caspase cleavage of mutant huntingtin precedes neurodegeneration in Huntington's disease*. J. Neurosci. 2002, 22, pp. 7862-7872
- Wexler NS et al. *Venezuelan kindreds reveal that genetic and environmental factors modulate Huntington's disease age of onset*. Proc Natl Acad Sci U S A. 2004, 101(10), 3498-3503.
- White JK, Auerbach W, Duyao MP, Vonsattel JP, Gusella JF, Joyner AL, MacDonald ME. *Huntingtin is required for neurogenesis and is not impaired by the Huntington's disease CAG expansion*. Nat. Genet. 1997, 17, 404-410
- Wong YC, Holzbaur EL. *The regulation of autophagosome dynamics by huntingtin and HAP1 is disrupted by expression of mutant huntingtin, leading to defective cargo degradation*. J. Neurosci. 2014, 34, 1293-1305
- Xia J, Lee DH, Taylor J, Vandelft M, Truant R. *Huntingtin contains a highly conserved nuclear export signal*. Hum Mol Genet. 2003, 12, 1393-403.
- Yanai A et al. *Palmitoylation of huntingtin by HIP14 is essential for its trafficking and function*. Nat. Neurosci. 2006, 9, pp. 824-831
- Yano H. et al. 2014. *Inhibition of mitochondrial protein import by mutant huntingtin*. Nat Neurosci 17, 822–831
- Yohrling GJ, Farrell LA, Hollenberg AN, Cha JH. *Mutant huntingtin increases nuclear corepressor function and enhances ligand-dependent nuclear hormone receptor activation*. Mol. Cell. Neurosci. 2003, 23, 28-38
- Youle RJ, Karbowski M. 2005. *Mitochondrial fission in apoptosis*. Nat Rev Mol Cell Biol 6, 657–663
- Zala D, Hinckelmann MV, Saudou F. *Huntingtin's function in axonal transport is conserved in Drosophila melanogaster*. PLoS ONE. 2013, 8, e60162
- Zeron MM, Hansson O, Chen N, Wellington CL, Leavitt BR, Brundin P, Hayden MR, Raymond LA. 2002. *Increased sensitivity to N-methyl-D- aspartate receptor-mediated excitotoxicity in a mouse model of Huntington's disease*. Neuron 33, 849–860
- Zhai W, Jeong H, Cui L, Krainc D, Tjian R. 2005. *In vitro analysis of huntingtin-mediated transcriptional repression reveals multiple transcription factor targets*. Cell 123, 1241–1253

- Zhang Y, Leavitt BR, van Raamsdonk JM, Dragatsis I, Goldowitz D, MacDonald ME, Hayden MR, Friedlander RM. *Huntingtin inhibits caspase-3 activation*. EMBO J. 2006, 25, 5896-5906
 - Zheng S, Clabough EB, Sarkar S, Futter M, Rubinsztein DC, Zeitlin SO. *Deletion of the huntingtin polyglutamine stretch enhances neuronal autophagy and longevity in mice*. PLoS Genet. 2010, 6, e1000838
 - Zuccato C et al. *Huntingtin interacts with REST/NRSF to modulate the transcription of NRSE-controlled neuronal genes*. Nat. Genet. 2003, 35, 76-83
-