

## **Riassunti di articoli relativi a farmacoterapie in modelli murini di sindrome di Down pubblicati nel periodo da 01/01/2020 a 30/11/2021**

Traduzione e commenti: a cura di Renata Bartesaghi, Università di Bologna

### **1.**

Pharmaceuticals (Basel). 2021 Nov 17;14(11):1170. doi: 10.3390/ph14111170.

#### **Novel DYRK1A Inhibitor Rescues Learning and Memory Deficits in a Mouse Model of Down Syndrome.**

Stensen W(1)(2), Rothweiler U(1)(2), Engh RA(1), Stasko MR(3), Bederman I(3), Costa ACS(3), Fugelli A(2), Svendsen JSM(1)(2).

Author information:

(1)Department of Chemistry, UiT, The Arctic University of Norway, 9037 Tromsø, Norway.

(2)Pharmasum Therapeutics AS, Gaustadalleen 21, 0349 Oslo, Norway.

(3)Departments of Pediatrics, Psychiatry, Macromolecular Science and Engineering, Case Western Reserve University, 11100 Euclid Avenue, Cleveland, OH 44106, USA.

Down syndrome (DS) is a complex genetic disorder associated with substantial physical, cognitive, and behavioral challenges. Due to better treatment options for the physical co-morbidities of DS, the life expectancy of individuals with DS is beginning to approach that of the general population. However, the cognitive deficits seen in individuals with DS still cannot be addressed pharmacologically. In young individuals with DS, the level of intellectual disability varies from mild to severe, but cognitive ability generally decreases with increasing age, and all individuals with DS have early onset Alzheimer's disease (AD) pathology by the age of 40. The present study introduces a novel inhibitor for the protein kinase DYRK1A, a key controlling kinase whose encoding gene is located on chromosome 21. The novel inhibitor is well characterized for use in mouse models and thus represents a valuable tool compound for further DYRK1A research.

#### ***Un nuovo inibitore di DYRK1A contrasta i deficit di apprendimento e memoria in un modello murino di sindrome di Down.***

*La sindrome di Down (DS) è una malattia genetica complessa associata a notevoli difficoltà fisiche, cognitive e comportamentali. Grazie a migliori opzioni di trattamento per le comorbidità fisiche della DS, l'aspettativa di vita degli individui con DS sta cominciando ad avvicinarsi a quella della popolazione generale. Tuttavia, i deficit cognitivi osservati negli individui con DS non possono attualmente essere affrontati farmacologicamente. Nei giovani individui con DS, il livello di disabilità intellettiva varia da lieve a grave, ma la capacità cognitiva generalmente diminuisce con l'aumentare dell'età e tutti gli individui con DS presentano la patologia della malattia di Alzheimer (AD) ad esordio precoce all'età di 40 anni. Il presente studio introduce un nuovo inibitore per la proteina chinasi DYRK1A, una chinasi chiave, il cui gene codificante si trova sul cromosoma 21. L'uso di questo nuovo inibitore è ben caratterizzato in modelli murini e rappresenta, quindi, un prezioso strumento per ulteriori ricerche su DYRK1A.*

## COMMENTO

Il gene DYRK1A è considerato uno dei geni triplicati più fortemente coinvolti nelle alterazioni cerebrali associate alla sindrome di Down. In questo studio gli autori esplorano gli effetti di una nuova molecola (PST-001) disegnata per inibire selettivamente DYRK1A. Tale molecola può essere assunta oralmente, penetra nel cervello e non risulta tossica. I risultati mostrano che topi Ts65Dn adulti trattati con questa molecola vanno incontro ad un ripristino dei difetti di apprendimento e memoria. Questo studio è promettente, ma ancora ad un livello preliminare. Saranno necessari altri studi per una migliore caratterizzazione degli effetti di questa molecola nei tessuti corporei e nel cervello e per stabilire se gli effetti benefici sulle funzioni cognitive nel topo Ts65Dn sono realmente attribuibili alla inibizione di DYRK1A.

## 2.

Front Aging Neurosci. 2021 Oct 6;13:723046. doi: 10.3389/fnagi.2021.723046. eCollection 2021.

### **Maternal Choline Supplementation as a Potential Therapy for Down Syndrome: Assessment of Effects Throughout the Lifespan.**

Powers BE(1)(2), Velazquez R(3)(4)(5), Strawderman MS(1), Ginsberg SD(6)(7)(8)(9), Mufson EJ(10), Strupp BJ(1)(3).

Author information:

(1)Division of Nutritional Sciences, Cornell University, Ithaca, NY, United States.

(2)Edward Hines Jr. VA Hospital, Hines, IL, United States.

(3)Department of Psychology, Cornell University, Ithaca, NY, United States.

(4)Arizona State University-Banner Neurodegenerative Disease Research Center, Biodesign Institute, Arizona State University, Tempe, AZ, United States.

(5)School of Life Sciences, Arizona State University, Tempe, AZ, United States.

(6)Center for Dementia Research, Nathan Kline Institute, Orangeburg, NY, United States.

(7)Department of Psychiatry, New York University Grossman School of Medicine, New York, NY, United States.

(8)Department Neuroscience and Physiology, New York University Grossman School of Medicine, New York, NY, United States.

(9)New York University Neuroscience Institute, New York University Grossman School of Medicine, New York, NY, United States.

(10)Departments of Translational Neuroscience and Neurology, Barrow Neurological Institute, St. Joseph's Medical Center, Phoenix, AZ, United States.

Maternal choline supplementation (MCS) has emerged as a promising therapy to lessen the cognitive and affective dysfunction associated with Down syndrome (DS). Choline is an essential nutrient, especially important during pregnancy due to its wide-ranging ontogenetic roles. Using the Ts65Dn mouse model of DS, our group has demonstrated that supplementing the maternal diet with additional choline (4-5 × standard levels) during pregnancy and lactation improves spatial cognition, attention, and emotion regulation in the adult offspring. The behavioral benefits were associated with a rescue of septohippocampal circuit atrophy. These results have been replicated

across a series of independent studies, although the magnitude of the cognitive benefit has varied. We hypothesized that this was due, at least in part, to differences in the age of the subjects at the time of testing. Here, we present new data that compares the effects of MCS on the attentional function of adult Ts65Dn offspring, which began testing at two different ages (6 vs. 12 months of age). These data replicate and extend the results of our previous reports, showing a clear pattern indicating that MCS has beneficial effects in Ts65Dn offspring throughout life, but that the magnitude of the benefit (relative to non-supplemented offspring) diminishes with aging, possibly because of the onset of Alzheimer's disease-like neuropathology. In light of growing evidence that increased maternal choline intake during pregnancy is beneficial to the cognitive and affective functioning of all offspring (e.g., neurotypical and DS), the addition of this nutrient to a prenatal vitamin regimen would be predicted to have population-wide benefits and provide early intervention for fetuses with DS, notably including babies born to mothers unaware that they are carrying a fetus with DS.

***L'integrazione materna con colina quale potenziale terapia per la sindrome di Down: valutazione degli effetti nel corso della vita.***

*L'integrazione della dieta materna con colina (MCS) è emersa come terapia promettente per ridurre la disfunzione cognitiva ed affettiva associate alla sindrome di Down (DS). La colina è un nutriente essenziale, particolarmente importante durante la gravidanza in virtù dei suoi ruoli ontogenetici ad ampio raggio. Utilizzando il modello murino Ts65Dn di DS, il nostro gruppo ha dimostrato che l'integrazione della dieta materna con colina (4-5 × livelli standard) durante la gravidanza e l'allattamento migliora la cognizione spaziale, l'attenzione e la regolazione delle emozioni nella prole adulta. I benefici comportamentali sono risultati associati ad un recupero dell'atrofia del circuito setto-ippocampale. Questi risultati sono stati replicati in una serie di studi indipendenti, sebbene l'entità del beneficio cognitivo sia risultata variabile. Abbiamo ipotizzato che ciò fosse dovuto, almeno in parte, alle differenze di età dei soggetti al momento del test. Qui, presentiamo nuovi dati che confrontano gli effetti della MCS sulla funzione attentionale della prole Ts65Dn adulta, testata a due diverse età (6 e 12 mesi di età). Questi dati replicano ed estendono i risultati dei nostri precedenti articoli, mostrando che la MCS ha effetti benefici sulla prole Ts65Dn per tutta la vita, ma che l'entità del beneficio (rispetto alla prole non trattata) diminuisce con l'invecchiamento, probabilmente a causa dell'insorgenza di neuropatologia simile alla malattia di Alzheimer. Alla luce della crescente evidenza che l'aumento dell'assunzione di colina materna durante la gravidanza è benefico per il funzionamento cognitivo e affettivo della prole (sia neurotipica sia con DS), è prevedibile che l'aggiunta di questo nutriente ad un regime vitaminico prenatale possa avere effetti benefici sulla popolazione generale e possa rappresentare un intervento precoce per i feti con DS, in particolare per i bambini nati da madri ignare di avere un feto con DS.*

**COMMENTO**

La colina, un nutriente fondamentale per le normali funzioni corporee e la salute umana, viene assunta principalmente attraverso la dieta. La disponibilità di colina in gravidanza è cruciale per lo sviluppo del feto. La colina è un precursore della fosfatidilcolina e della sfingomieline, due componenti critici delle membrane lipidiche neuronali (e non neuronali) ed è essenziale per la

biosintesi dell'acetilcolina, un neurotrasmettitore che regola la proliferazione, la differenziazione, la migrazione, la plasticità e la formazione delle sinapsi neuronali. Questo studio è il proseguimento di studi precedenti mirati a saggiare l'efficacia della colina durante la gestazione sullo sviluppo cerebrale nel modello Ts65Dn di sindrome di Down. Questo studio esamina l'efficacia dell'integrazione della dieta materna con colina nel periodo prenatale e nel corso dell'allattamento sulle capacità cognitive del topo Ts65Dn in due momenti specifici della vita adulta, 6 e 12 mesi. Lo studio dimostra effetti a lungo termine positivi ad entrambe le età, sebbene gli effetti benefici si attenuino con l'invecchiamento (12 mesi). I risultati sono molto interessanti in quanto dimostrano che integrare la dieta materna con colina extra durante la gravidanza è un intervento ad alto beneficio e a basso rischio che è in grado di ridurre la disfunzione cognitiva nella sindrome di Down.

### 3.

Mol Ther. 2021 Oct 6;29(10):3072-3092. doi: 10.1016/j.ymthe.2021.05.023. Epub 2021 May 29.

#### **Restoring neuronal chloride homeostasis with anti-NKCC1 gene therapy rescues cognitive deficits in a mouse model of Down syndrome.**

Parrini M(1), Naskar S(1), Alberti M(1), Colombi I(1), Morelli G(1), Rocchi A(2), Nanni M(1), Piccardi F(3), Charles S(4), Ronzitti G(4), Mingozzi F(4), Contestabile A(5), Cancedda L(6).

Author information:

(1)Brain Development and Disease Laboratory, Istituto Italiano di Tecnologia, 16163 Genoa, Italy.

(2)Center for Synaptic Neuroscience and Technology, Istituto Italiano di Tecnologia, 16132 Genoa, Italy; IRCSS Ospedale Policlinico San Martino, 16132 Genoa, Italy.

(3)Animal Facility, Istituto Italiano di Tecnologia, 16163 Genoa, Italy.

(4)Genethon, 91000 Evry, France; Paris-Saclay University, University Evry, Inserm, Integrare research unit UMR\_S951, 91000 Evry, France.

(5)Brain Development and Disease Laboratory, Istituto Italiano di Tecnologia, 16163 Genoa, Italy. Electronic address: andrea.contestabile@iit.it.

(6)Brain Development and Disease Laboratory, Istituto Italiano di Tecnologia, 16163 Genoa, Italy; Dulbecco Telethon Institute, 00185 Rome, Italy. Electronic address: laura.cancedda@iit.it.

A common feature of diverse brain disorders is the alteration of GABA-mediated inhibition because of aberrant, intracellular chloride homeostasis induced by changes in the expression and/or function of chloride transporters. Notably, pharmacological inhibition of the chloride importer NKCC1 is able to rescue brain-related core deficits in animal models of these pathologies and in some human clinical studies. Here, we show that reducing NKCC1 expression by RNA interference in the Ts65Dn mouse model of Down syndrome (DS) restores intracellular chloride concentration, efficacy of gamma-aminobutyric acid (GABA)-mediated inhibition, and neuronal network dynamics in vitro and ex vivo. Importantly, adeno-associated virus (AAV)-mediated, neuron-specific NKCC1 knockdown in vivo rescues cognitive deficits in diverse behavioral tasks in Ts65Dn animals. Our results highlight a mechanistic link between NKCC1 expression and behavioral abnormalities in DS mice and establish a molecular target for new therapeutic approaches, including gene therapy, to treat brain disorders characterized by neuronal chloride imbalance.

### ***Il ripristino dell'omeostasi del cloruro neuronale con una terapia genica anti-NKCC1 contrasta i deficit cognitivi in un modello murino di sindrome di Down.***

*Una caratteristica comune di diversi disturbi cerebrali è l'alterazione dell'inibizione mediata dal GABA, causata da una aberrante omeostasi del cloro intracellulare indotta da cambiamenti nell'espressione e/o nella funzione dei trasportatori del cloro. E' importante notare che l'inibizione farmacologica dell'importatore di cloruro NKCC1 si è rivelata in grado di recuperare deficit cerebrali in modelli animali di patologie cerebrali ed anche in alcuni studi clinici sull'uomo. Qui mostriamo che la riduzione dell'espressione di NKCC1 mediante interferenza dell'RNA nel modello murino Ts65Dn di sindrome di Down (DS) ripristina la concentrazione di cloruro intracellulare, l'efficacia dell'inibizione mediata dall'acido gamma amino butirrico (GABA) e le dinamiche di reti neuronali in vitro ed ex vivo. È importante sottolineare che il knockdown di NKCC1 neuronale in vivo, tramite adenovirus (AAV), ripristina i deficit cognitivi in vari compiti comportamentali nel topo Ts65Dn. I nostri risultati evidenziano un legame meccanicistico tra l'espressione di NKCC1 e le anomalie comportamentali nei topi DS e stabiliscono un bersaglio molecolare per nuovi approcci terapeutici, inclusa una terapia genica, per il trattamento di disturbi cerebrali caratterizzati da squilibrio neuronale di cloruro.*

#### **COMMENTO**

Studi precedenti avevano dimostrato che nella sindrome di Down l'attività degli interneuroni inibitori, che usano come neurotrasmettitore l'acido gamma amino butirrico (GABA), è alterata a causa di uno squilibrio nella concentrazione dello ione cloro intracellulare. Questo studio dimostra che l'inibizione del trasportatore del cloro all'interno della cellula in vitro ed in vivo, nel modello Ts65Dn, è in grado di ripristinare la concentrazione intracellulare di cloro, la trasmissione mediata dal GABA e le funzioni cognitive. Questo studio fornisce una dimostrazione che il trasportatore del cloro nella cellula può rappresentare una molecola bersaglio importante per approcci terapeutici finora inesplorati. Tuttavia, lo studio è per ora una prova di principio, in quanto gli approcci utilizzati non sono allo stato attuale praticabili nell'uomo.

#### **4.**

### **Design, Synthesis, In Vitro and In Vivo Characterization of Selective NKCC1 Inhibitors for the Treatment of Core Symptoms in Down Syndrome.**

Borgogno M(1), Savardi A(2)(3), Manigrasso J(1), Turci A(2)(4), Portioli C(1)(2), Ottonello G(5), Bertozzi SM(5), Armirotti A(5), Contestabile A(2), Cancedda L(2)(3), De Vivo M(1).

Author information:

(1)Molecular Modeling and Drug Discovery Laboratory, Istituto Italiano di Tecnologia, via Morego, 30, 16163 Genoa, Italy.

(2)Brain Development and Disease Laboratory, Istituto Italiano di Tecnologia, via Morego, 30, 16163 Genoa, Italy.

(3)Dulbecco Telethon Institute, 38123 Rome, Italy.

(4)Università degli Studi di Genova, via Balbi, 5, 16126 Genoa, Italy.

(5)Analytical Chemistry Facility, Istituto Italiano di Tecnologia, via Morego, 30, 16163 Genoa, Italy.

Intracellular chloride concentration  $[Cl^-]_i$  is defective in several neurological disorders. In neurons,  $[Cl^-]_i$  is mainly regulated by the action of the  $Na^+-K^+-Cl^-$  importer NKCC1 and the  $K^+-Cl^-$  exporter KCC2. Recently, we have reported the discovery of ARN23746 as the lead candidate of a novel class of selective inhibitors of NKCC1. Importantly, ARN23746 is able to rescue core symptoms of Down syndrome (DS) and autism in mouse models. Here, we describe the discovery and extensive characterization of this chemical class of selective NKCC1 inhibitors, with focus on ARN23746 and other promising derivatives. In particular, we present compound 40 (ARN24092) as a backup/follow-up lead with in vivo efficacy in a mouse model of DS. These results further strengthen the potential of this new class of compounds for the treatment of core symptoms of brain disorders characterized by the defective NKCC1/KCC2 expression ratio.

***Progettazione, sintesi, caratterizzazione in vitro e in vivo di inibitori selettivi di NKCC1 per il trattamento dei sintomi principali della sindrome di Down.***

*La concentrazione intracellulare di cloruro  $[Cl^-]_i$  è difettosa in diversi disturbi neurologici. Nei neuroni,  $[Cl^-]_i$  è principalmente regolato dall'azione dell'importatore di  $Na^+-K^+-Cl^-$  NKCC1 e dell'esportatore di  $K^+-Cl^-$  KCC2. Recentemente, abbiamo pubblicato la scoperta di ARN23746 come candidato principale di una nuova classe di inibitori selettivi di NKCC1. È importante sottolineare che ARN23746 è in grado di migliorare i sintomi principali della sindrome di Down (DS) e dell'autismo in modelli murini. Qui descriviamo un'ampia caratterizzazione di questa classe chimica di inibitori selettivi di NKCC1, con particolare riferimento ad ARN23746 e ad altri promettenti derivati. In particolare, presentiamo il composto 40 (ARN24092) come "composto guida" backup/follow-up dotato di efficacia in vivo in un modello murino di DS. Questi risultati rafforzano ulteriormente il potenziale di questa nuova classe di composti per il trattamento dei sintomi principali di disturbi cerebrali caratterizzati da un difettoso rapporto di espressione NKCC1/KCC2.*

**COMMENTO**

Sulla base della dimostrazione dell'importanza del sistema di trasporto del cloro nella cellula nella patogenesi della trasmissione GABAergica e delle alterazioni funzionali cerebrali nella sindrome di Down, questo studio, principalmente di carattere biochimico/farmacologico, ha caratterizzato in maniera approfondita una classe di inibitori di tale sistema di trasporto ed ha identificato un composto (ARN24092) di tale classe dotato di efficacia in vivo, nel topo Ts65Dn. Sulla base di questi risultati, il composto identificato potrebbe essere una promettente molecola per la sindrome di Down e per patologie con alterazioni del trasporto del cloro, in quanto è in grado di correggere la concentrazione intracellulare di cloro. È da notare che ARN24092 non causa gli effetti diuretici del bumetanide, una molecola precedentemente testata quale inibitore del trasportatore del cloro, e pertanto il suo uso risulta più sicuro. Gli autori prevedono studi futuri che permetteranno di caratterizzare ulteriormente le azioni di ARN24092 in vivo e la sua efficacia terapeutica.

## 5.

Front Pharmacol. 2021 Apr 15;12:613211. doi: 10.3389/fphar.2021.613211. eCollection 2021.

### **Bexarotene Impairs Cognition and Produces Hypothyroidism in a Mouse Model of Down Syndrome and Alzheimer's Disease.**

Vidal V(1), Puente A(1), García-Cerro S(1)(2), García Unzueta MT(3), Rueda N(1), Riancho J(4)(5)(6), Martínez-Cué C(1).

Author information:

(1)Department of Physiology and Pharmacology, Faculty of Medicine, University of Cantabria, Santander, Spain.

(2)CIBERSAM, Madrid, Spain.

(3)Department of Clinical Biochemistry, University Hospital Marques de Valdecilla-IDIVAL, Santander, Spain.

(4)Neurology Service, Hospital Sierrallana-IDIVAL, Torrelavega, Spain.

(5)Department of Medicine and Psychiatry, University of Cantabria, Santander, Spain.

(6)CIBERNED, Madrid, Spain.

All individuals with Down syndrome (DS) eventually develop Alzheimer's disease (AD) neuropathology, including neurodegeneration, increases in  $\beta$ -amyloid ( $A\beta$ ) expression, and aggregation and neurofibrillary tangles, between the third and fourth decade of their lives. There is currently no effective treatment to prevent AD neuropathology and the associated cognitive degeneration in DS patients. Due to evidence that the accumulation of  $A\beta$  aggregates in the brain produces the neurodegenerative cascade characteristic of AD, many strategies which promote the clearance of  $A\beta$  peptides have been assessed as potential therapeutics for this disease. Bexarotene, a member of a subclass of retinoids that selectively activates retinoid receptors, modulates several pathways essential for cognitive performance and  $A\beta$  clearance. Consequently, bexarotene might be a good candidate to treat AD-associated neuropathology. However, the effects of bexarotene treatment in AD remain controversial. In the present study, we aimed to elucidate whether chronic bexarotene treatment administered to the most commonly used murine model of DS, the Ts65Dn (TS) mouse could reduce  $A\beta$  expression in their brains and improve their cognitive abilities. Chronic administration of bexarotene to aged TS mice and their CO littermates for 9 weeks diminished the reference, working, and spatial learning and memory of TS mice, and the spatial memory of CO mice in the Morris water maze. This treatment also produced marked hypoactivity in the plus maze, open field, and hole board tests in TS mice, and in the open field and hole board tests in CO mice. Administration of bexarotene reduced the expression of  $A\beta$ 1-40, but not of  $A\beta$ 1-42, in the hippocampi of TS mice. Finally, bexarotene increased Thyroid-stimulating hormone levels in TS mice and reduced Thyroid-stimulating hormone levels in CO mice, while animals of both karyotypes displayed reduced thyroxine levels after bexarotene administration. The bexarotene-induced hypothyroidism could be responsible for the hypoactivity of TS and CO mice and their diminished performance in the Morris water maze. Together, these results do not provide support for the use of bexarotene as a potential treatment of AD neuropathology in the DS population.

### ***Il bexarotene compromette le capacità cognitive e produce ipotiroidismo in un modello murino di sindrome di Down e malattia di Alzheimer.***

*Tutti gli individui con sindrome di Down (DS) alla fine sviluppano tra la terza e la quarta decade di vita la neuropatologia della malattia di Alzheimer (AD), che include neurodegenerazione, aumento dell'espressione e aggregazione di beta-amiloide ( $A\beta$ ) e grovigli neurofibrillari. Attualmente non esiste un trattamento efficace per prevenire la neuropatologia dell'AD e l'associato degrado cognitivo nei pazienti con DS. In considerazione di evidenze che l'accumulo di aggregati di  $A\beta$  nel cervello produce la cascata neurodegenerativa caratteristica dell'AD, molte strategie che promuovono la clearance dei peptidi  $A\beta$  sono state valutate come potenziali terapie per questa malattia. Il bexarotene, un membro di una sottoclasse di retinoidi che attiva selettivamente i recettori dei retinoidi, modula diversi percorsi essenziali per le prestazioni cognitive e la clearance dell' $A\beta$ . Di conseguenza, il bexarotene potrebbe essere un buon candidato per il trattamento della neuropatologia associata all'AD. Tuttavia, gli effetti del trattamento con bexarotene nell'AD rimangono controversi. Nel presente studio, abbiamo cercato di chiarire se un trattamento cronico con bexarotene nel modello murino più comunemente usato di DS, il topo Ts65Dn (TS), sia in grado di ridurre l'espressione cerebrale di  $A\beta$  e migliorare le capacità cognitive. La somministrazione cronica di bexarotene a topi TS anziani e alla loro controparte CO, di controllo, per 9 settimane ha ridotto la memoria di riferimento, la memoria di lavoro, l'apprendimento e la memoria di tipo spaziale nei topi TS e la memoria spaziale nei topi CO, valutati tramite il labirinto acquatico di Morris. Il trattamento ha anche prodotto una marcata ipoattività nei test plus maze, open field e hole board nei topi TS, e nei test open field e hole board nei topi CO. La somministrazione di bexarotene ha ridotto l'espressione di  $A\beta$ 1-40, ma non di  $A\beta$ 1-42, nell'ippocampo dei topi TS. Infine, il bexarotene ha aumentato i livelli di ormone stimolante la tiroide nei topi TS e ha ridotto i livelli di ormone stimolante la tiroide nei topi CO. Inoltre, gli animali di entrambi i cariotipi hanno mostrato ridotti livelli di tiroxina dopo somministrazione di bexarotene. L'ipotiroidismo indotto dal bexarotene potrebbe essere responsabile dell'ipoattività dei topi TS e CO e delle loro prestazioni ridotte nel labirinto acquatico di Morris. Nel loro insieme questi risultati non forniscono supporto per l'uso del bexarotene come potenziale trattamento della neuropatologia dell'AD nella popolazione con DS.*

#### **COMMENTO**

Il bexarotene è un retinoide sintetico. Attraverso la formazione di legami selettivi, il farmaco attiva recettori intracellulari dei retinoidi i quali regolano l'espressione di geni che controllano la differenziazione e la crescita delle cellule. Questo farmaco, già approvato come terapia anticancro negli Stati Uniti e in Europa, sembra poter contrastare lo stadio preliminare della reazione a catena tossica che conduce alla morte delle cellule cerebrali nella malattia di Alzheimer, sebbene i risultati sugli effetti del bexarotene siano discordanti. Questo studio ha cercato di stabilire se effettivamente il bexarotene contrasta i danni cerebrali associati allo sviluppo della patologia di Alzheimer, utilizzando topi Ts65Dn di età avanzata. I risultati mostrano che questo trattamento non solo non migliora, ma perfino peggiora le funzioni cognitive nel topo Ts65Dn. Il trattamento inoltre riduce i livelli di ormone tiroideo nei topi Ts65Dn, inducendo pertanto una condizione di ipotiroidismo. Questo studio dimostra chiaramente che il bexarotene non può rappresentare un potenziale trattamento per la patologia di Alzheimer nella sindrome di Down.

6.

Sci Rep. 2021 Mar 18;11(1):6300. doi: 10.1038/s41598-021-85284-5.

**The flavonoid 7,8-DHF fosters prenatal brain proliferation potency in a mouse model of Down syndrome.**

Stagni F(1), Uguagliati B(2), Emili M(2), Giacomini A(2), Bartesaghi R(3), Guidi S(4).

Author information:

(1)Department for Life Quality Studies, University of Bologna, Rimini, Italy.

(2)Department of Biomedical and Neuromotor Sciences, Physiology Building, University of Bologna, Piazza di Porta San Donato 2, 40126, Bologna, BO, Italy.

(3)Department of Biomedical and Neuromotor Sciences, Physiology Building, University of Bologna, Piazza di Porta San Donato 2, 40126, Bologna, BO, Italy. renata.bartesaghi@unibo.it.

(4)Department of Biomedical and Neuromotor Sciences, Physiology Building, University of Bologna, Piazza di Porta San Donato 2, 40126, Bologna, BO, Italy. sandra.guidi3@unibo.it.

Neurogenesis impairment is a key determinant of intellectual disability in Down syndrome (DS), a genetic pathology due to triplication of chromosome 21. Since neurogenesis ceases after birth, apart in the hippocampus and olfactory bulb, the only means to tackle the problem of neurogenesis impairment in DS at its root is to intervene during gestation. A few studies in DS mouse models show that this is possible, although the drugs used may raise caveats in terms of safety. We previously found that neonatal treatment with 7,8-dihydroxyflavone (7,8-DHF), a flavonoid present in plants, restores hippocampal neurogenesis in the Ts65Dn model of DS. The goal of the current study was to establish whether prenatal treatment with 7,8-DHF improves/restores overall brain proliferation potency. Pregnant Ts65Dn females received 7,8-DHF from embryonic day 10 until delivery. On postnatal day 2 (P2) the pups were injected with BrdU and were killed after either 2 h or 52-60 days (P52-60). Evaluation of the number of proliferating (BrdU+) cells in various forebrain neurogenic niches of P2 mice showed that in treated Ts65Dn mice proliferation potency was improved or even restored in most of the examined regions, including the hippocampus. Quantification of the surviving BrdU+ cells in the dentate gyrus of P52-60 mice showed no difference between treated and untreated Ts65Dn mice. At P52-60, however, treated Ts65Dn mice exhibited a larger number of granule cells in comparison with their untreated counterparts, although their number did not reach that of euploid mice. Results show that 7,8-DHF has a widespread impact on prenatal proliferation potency in Ts65Dn mice and exerts mild long-term effects. It remains to be established whether treatment extending into the neonatal period can lead to an improvement in brain development that is retained in adulthood.

***Il flavonoide 7,8-DHF favorisce la potenza proliferativa cerebrale nel periodo prenatale in un modello murino di sindrome di Down.***

*La compromissione della neurogenesi è un determinante chiave della disabilità intellettiva nella sindrome di Down (DS), una patologia genetica dovuta alla triplicazione del cromosoma 21. Poiché la neurogenesi cessa dopo la nascita, a parte l'ippocampo e il bulbo olfattivo, l'unico mezzo per*

*affrontare il problema della compromissione della neurogenesi nella DS alla radice è intervenire durante la gestazione. Alcuni studi su modelli murini di DS mostrano che ciò è possibile, sebbene i farmaci utilizzati possano sollevare qualche riserva in termini di sicurezza. In precedenza, avevamo scoperto che il trattamento neonatale con 7,8-diidrossiflavone (7,8-DHF), un flavonoide presente nelle piante, ripristina la neurogenesi ippocampale nel modello Ts65Dn di DS. L'obiettivo del presente studio è stato quello di stabilire se il trattamento prenatale con 7,8-DHF ha un effetto positivo generalizzato sulla potenza proliferativa cerebrale. Femmine gravide Ts65Dn hanno ricevuto 7,8-DHF dal 10° giorno embrionale fino al parto. Il secondo giorno postnatale (P2) i cuccioli sono stati iniettati con BrdU e sono stati uccisi dopo 2 ore o dopo 52-60 giorni (P52-60). La valutazione del numero di cellule proliferanti (BrdU+) in varie nicchie neurogeniche del prosencefalo nei topi P2 ha mostrato che nei topi Ts65Dn trattati la potenza proliferativa era migliorata o addirittura ripristinata nella maggior parte delle regioni esaminate, compreso l'ippocampo. La quantificazione delle cellule BrdU+ sopravvissute nel giro dentato dei topi P52-60 non ha mostrato differenze tra i topi Ts65Dn trattati e non trattati. A P52-60, tuttavia, i topi Ts65Dn trattati mostravano un numero maggiore di cellule granulari rispetto alle loro controparti non trattate, sebbene il loro numero non fosse pari a quello dei topi euploidi. I risultati mostrano che il 7,8-DHF ha un effetto ampiamente distribuito sulla potenza proliferativa prenatale nei topi Ts65Dn ed esercita lievi effetti a lungo termine. Resta da stabilire se un trattamento che si estenda nel periodo neonatale possa portare a un miglioramento dello sviluppo cerebrale che si mantiene nell'età adulta.*

#### COMMENTO

Questo studio è la prosecuzione di uno studio precedente nel quale era stato dimostrato che il trattamento nel primo periodo postnatale con il flavonoide 7,8-DHF ripristina lo sviluppo ippocampale e le funzioni di memoria ippocampo-dipendenti nel modello Ts65Dn di sindrome di Down. In considerazione del fatto che la maggior parte dei neuroni viene generata prenatalmente, questo studio ha cercato di stabilire se sia possibile migliorare lo sviluppo di tutto il cervello con un trattamento prenatale. Lo studio dimostra un effetto generalizzato sulla neurogenesi in numerose aree cerebrali, indicando che è possibile migliorare/ripristinare la neurogenesi in un modello di sindrome di Down con una sostanza naturale. Tuttavia, la maggior parte degli effetti neuroanatomici scompare quando i topi raggiungono 52-60 giorni di età. La scomparsa (o riduzione) di effetti neuroanatomici a lungo termine sembra essere una caratteristica di trattamenti con sostanze naturali nel periodo prenatale o primo periodo postnatale, sebbene trattamenti in queste fasi precoci della vita possano riportare ad un miglioramento a lungo termine delle funzioni cognitive (si vedano i riassunti n. 13-15). Pertanto, sarebbe interessante stabilire se anche il trattamento prenatale con 7,8-DHF si traduca in un effetto a lungo termine sulle funzioni cognitive, pur in assenza di palesi miglioramenti neuroanatomici. In caso affermativo, questo aumenterebbe la rosa di molecole naturali e di profilo sicuro per possibili terapie precoci per le persone con sindrome di Down.

#### 7.

Phytomedicine. 2021 Nov;92:153695. doi: 10.1016/j.phymed.2021.153695. Epub 2021 Aug 1.

**Aristolactam BIII, a naturally derived DYRK1A inhibitor, rescues Down syndrome-related phenotypes.**

Choi M(1), Kim AK(2), Ham Y(3), Lee JY(4), Kim D(3), Yang A(1), Jo MJ(1), Yoon E(4), Heo JN(4), Han SB(5), Ki MH(6), Lee KS(2), Cho S(7).

Author information:

(1)Natural Medicine Research Center, Korea Research Institute of Bioscience and Biotechnology (KRIBB), 30 Yeongudanji-ro, Ochang-eup, Cheongwon-gu, Cheongju-si, Chungbuk 28116, Republic of Korea; College of Pharmacy, Chungbuk National University, 30-1 Yeonje-ri, Osong-eup, Heungduk-gu, Cheongju-si, Chungbuk 28644, Republic of Korea.

(2)Bionanotechnology Research Center, Korea Research Institute of Bioscience and Biotechnology, 125 Gwahak-ro, Yuseong-gu, Daejeon 34141, Republic of Korea.

(3)Natural Medicine Research Center, Korea Research Institute of Bioscience and Biotechnology (KRIBB), 30 Yeongudanji-ro, Ochang-eup, Cheongwon-gu, Cheongju-si, Chungbuk 28116, Republic of Korea; Department of Biomolecular Science, KRIBB School of Bioscience, Korea University of Science and Technology, 217, Gajeong-ro, Yuseong-gu, Daejeon 34113, Republic of Korea.

(4)Therapeutics and Biotechnology Division, Korea Research Institute of Chemical Technology, 141 Gajeong-ro, Jang-dong, Yuseong-gu, Daejeon 34114, Republic of Korea.

(5)College of Pharmacy, Chungbuk National University, 30-1 Yeonje-ri, Osong-eup, Heungduk-gu, Cheongju-si, Chungbuk 28644, Republic of Korea.

(6)Center Research Institute, Samjin Pharm. Co., Ltd., 16, Daewangpangyo-ro 712 beon-gil, Bundang-gu, Seongnam-si, Gyeonggi 13488, Republic of Korea.

(7)Natural Medicine Research Center, Korea Research Institute of Bioscience and Biotechnology (KRIBB), 30 Yeongudanji-ro, Ochang-eup, Cheongwon-gu, Cheongju-si, Chungbuk 28116, Republic of Korea; Department of Biomolecular Science, KRIBB School of Bioscience, Korea University of Science and Technology, 217, Gajeong-ro, Yuseong-gu, Daejeon 34113, Republic of Korea. Electronic address: sungchan@kribb.re.kr.

**BACKGROUND:** Dual-specificity tyrosine phosphorylation-regulated kinase 1A (DYRK1A) is a significant pathogenic factor in Down syndrome (DS), wherein DYRK1A is overexpressed by 1.5-fold because of trisomy of human chromosome 21. Thus, DYRK1A inhibition is considered a therapeutic strategy to modify the disease.

**PURPOSE:** This study aims to identify a novel DYRK1A inhibitor and validate its therapeutic potential in DS-related pathological conditions.

**STUDY DESIGN:** In order to identify a novel DYRK1A inhibitor, we carried out two-step screening: a structure-based virtual screening of > 300,000 chemical library (first step) and cell-based nuclear factor of activated T-cells (NFAT)-response element (RE) promoter assay (second step). Primary hits were evaluated for their DYRK1A inhibitory activity using in vitro kinase assay and Tau phosphorylation in mammalian cells. Confirmed hit was further evaluated in pathological conditions including DYRK1A-overexpressing fibroblasts, flies, and mice.

**RESULTS:** We identified aristolactam BIII, a natural product derived from herbal plants, as a novel DYRK1A inhibitor. It potently inhibited the kinase activity of DYRK1A in vitro (IC<sub>50</sub> = 9.67 nM) and effectively suppressed DYRK1A-mediated hyperphosphorylation of Tau in

mammalian cells. Aristolactam BIII rescued the proliferative defects of DYRK1A transgenic (TG) mouse-derived fibroblasts and neurological and phenotypic defects of DS-like Drosophila models. Oral administration of aristolactam BIII acutely suppressed Tau hyperphosphorylation in the brain of DYRK1A TG mice. In the open field test, aristolactam BIII significantly ameliorated the exploratory behavioral deficit of DYRK1A TG mice.

**CONCLUSION:** Our work revealed that aristolactam BIII as a novel DYRK1A inhibitor rescues DS phenotypes in cells and in vivo and suggested its therapeutic potential for the treatment of DYRK1A-related diseases.

### ***L'aristolattame BIII, un inibitore di DYRK1A di derivazione naturale, contrasta i fenotipi correlati alla sindrome di Down.***

**BACKGROUND:** La chinasi 1A regolata dalla fosforilazione della tirosina a doppia specificità (DYRK1A) è un fattore patogeno significativo nella sindrome di Down (DS), nella quale DYRK1A è sovra espresso di 1,5 volte a causa della trisomia del cromosoma umano 21. Pertanto, l'inibizione di DYRK1A è considerata una strategia terapeutica per modificare la malattia.

**SCOPO:** Questo studio è mirato ad identificare un nuovo inibitore di DYRK1A e convalidare il suo potenziale terapeutico in condizioni patologiche legate alla DS.

**DISEGNO DELLO STUDIO:** Al fine di identificare un nuovo inibitore di DYRK1A, abbiamo effettuato uno screening in due fasi: uno screening virtuale, basato sulla struttura, di una libreria chimica di più di 300.000 molecole (primo passaggio) e un saggio cellulare del promotore dell'elemento di risposta (RE) del fattore nucleare cellulare delle cellule T attivate (NFAT) (seconda fase). Gli hits primari sono stati valutati per la loro attività inibitoria di DYRK1A utilizzando un test di chinasi in vitro e in base alla fosforilazione della proteina Tau in cellule di mammifero. L'hit confermato è stato ulteriormente valutato in condizioni patologiche che includono fibroblasti, mosche e topi con sovraespressione di DYRK1A.

**RISULTATI:** Abbiamo identificato l'aristolattame BIII, un prodotto naturale derivato da piante erbacee, come nuovo inibitore di DYRK1A. Esso inibisce potentemente l'attività chinasi di DYRK1A in vitro ( $IC_{50} = 9,67 \text{ nM}$ ) e sopprime efficacemente l'iperfosforilazione della Tau mediata da DYRK1A in cellule di mammifero. L'aristolattame BIII corregge i difetti proliferativi di fibroblasti derivati dal topo transgenico (TG) DYRK1A e i difetti neurologici e fenotipici di modelli di Drosophila simili alla DS. La somministrazione orale di aristolattame BIII sopprime acutamente l'iperfosforilazione della Tau nel cervello di topi TG DYRK1A. Nel test in campo aperto, l'aristolattame BIII migliora significativamente il deficit comportamentale esplorativo dei topi TG DYRK1A.

**CONCLUSIONE:** Il nostro lavoro dimostra che l'aristolattame BIII, un nuovo inibitore di DYRK1A, ripristina i fenotipi della DS nelle cellule ed in vivo e suggerisce il suo potenziale terapeutico per il trattamento delle malattie correlate a DYRK1A.

### **COMMENTO**

Poiché il gene triplicato DYRK1A risulta svolgere un ruolo chiave nelle alterazioni cerebrali della sindrome di Down, incluso lo sviluppo della patologia di Alzheimer, vari laboratori stanno cercando di identificare inibitori di DYRK1A al fine di proporre terapie per la sindrome di Down. Questo studio dimostra che l'aristolattame III è un potente inibitore di DYRK1A. Dimostra inoltre che il

trattamento di un topo transgenico DYRK1A (un topo in cui è stato triplicato il gene DYRK1A per imitare la sua triplicazione nella sindrome di Down) con aristolattame BIII riduce la fosforilazione della proteina Tau (un evento critico nella patologia di Alzheimer) e migliora le prestazioni cognitive. Gli aristolattami sono metaboliti dell'acido aristolochico, contenuto nell'Aristolochia, una pianta erbacea medicinale, utilizzata da secoli nella medicina tradizionale asiatica. Va notato però che l'acido aristolochico, può essere carcinogenico per l'uomo e può causare danni renali. La FDA (Food and Drug Administration) ha emesso un avviso di allerta sull'uso di integratori alimentari, contenenti acido aristolochico. Sebbene questo studio non riporti effetti avversi del metabolita aristolattame BIII, questo studio va considerato con molta cautela e i risultati rappresentano più una dimostrazione di principio che una possibile proposta terapeutica, per lo meno allo stato attuale.

## 8.

Alzheimers Dement. 2021 Feb;17(2):271-292. doi: 10.1002/alz.12185. Epub 2020 Sep 25.

**Targeting increased levels of APP in Down syndrome: Posiphen-mediated reductions in APP and its products reverse endosomal phenotypes in the Ts65Dn mouse model.**

Chen XQ(1), Salehi A(2), Pearn ML(3)(4), Overk C(1), Nguyen PD(1), Kleschevnikov AM(1), Maccacchini M(5), Mobley WC(1).

Author information:

(1)Department of Neurosciences, University of California San Diego, La Jolla, California, USA.

(2)Department of Psychiatry & Behavioral Sciences, Stanford Medical School, Palo Alto, California, USA.

(3)Department of Anesthesiology, University of California San Diego, School of Medicine, La Jolla, California, USA.

(4)V.A. San Diego Healthcare System, San Diego, California, USA.

(5)Annovis Bio Inc., Berwyn, Pennsylvania, USA.

**OBJECTIVE:** Recent clinical trials targeting amyloid beta ( $A\beta$ ) and tau in Alzheimer's disease (AD) have yet to demonstrate efficacy. Reviewing the hypotheses for AD pathogenesis and defining possible links between them may enhance insights into both upstream initiating events and downstream mechanisms, thereby promoting discovery of novel treatments. Evidence that in Down syndrome (DS), a population markedly predisposed to develop early onset AD, increased APP gene dose is necessary for both AD neuropathology and dementia points to normalization of the levels of the amyloid precursor protein (APP) and its products as a route to further define AD pathogenesis and discovering novel treatments.

**BACKGROUND:** AD and DS share several characteristic manifestations. DS is caused by trisomy of whole or part of chromosome 21; this chromosome contains about 233 protein-coding genes, including APP. Recent evidence points to a defining role for increased expression of the gene for APP and for its 99 amino acid C-terminal fragment (C99, also known as  $\beta$ -CTF) in dysregulating the endosomal/lysosomal system. The latter is critical for normal cellular function and in neurons for transmitting neurotrophic signals.

**NEW/UPDATED HYPOTHESIS:** We hypothesize that the increase in APP gene dose in DS initiates a process in which increased levels of full-length APP (fl-APP) and its products, including  $\beta$ -CTF and possibly A $\beta$  peptides (A $\beta$ 42 and A $\beta$ 40), drive AD pathogenesis through an endosome-dependent mechanism(s), which compromises transport of neurotrophic signals. To test this hypothesis, we carried out studies in the Ts65Dn mouse model of DS and examined the effects of Posiphen, an orally available small molecule shown in prior studies to reduce fl-APP. In vitro, Posiphen lowered fl-APP and its C-terminal fragments, reversed Rab5 hyperactivation and early endosome enlargement, and restored retrograde transport of neurotrophin signaling. In vivo, Posiphen treatment (50 mg/kg/d, 26 days, intraperitoneal [i.p.]) of Ts65Dn mice was well tolerated and demonstrated no adverse effects in behavior. Treatment resulted in normalization of the levels of fl-APP, C-terminal fragments and small reductions in A $\beta$  species, restoration to normal levels of Rab5 activity, reduced phosphorylated tau (p-tau), and reversed deficits in TrkB (tropomyosin receptor kinase B) activation and in the Akt (protein kinase B [PKB]), ERK (extracellular signal-regulated kinase), and CREB (cAMP response element-binding protein) signaling pathways. Remarkably, Posiphen treatment also restored the level of choline acetyltransferase protein to 2N levels. These findings support the APP gene dose hypothesis, point to the need for additional studies to explore the mechanisms by which increased APP gene expression acts to increase the risk for AD in DS, and to possible utility of treatments to normalize the levels of APP and its products for preventing AD in those with DS.

**MAJOR CHALLENGES FOR THE HYPOTHESIS:** Important unanswered questions are: (1) When should one intervene in those with DS; (2) would an APP-based strategy have untoward consequences on possible adaptive changes induced by chronically increased APP gene dose; (3) do other genes present on chromosome 21, or on other chromosomes whose expression is dysregulated in DS, contribute to AD pathogenesis; and (4) can one model strategies that combine the use of an APP-based treatment with those directed at other AD phenotypes including p-tau and inflammation.

**LINKAGE TO OTHER MAJOR THEORIES:** The APP gene dose hypothesis interfaces with the amyloid cascade hypothesis of AD as well as with the genetic and cell biological observations that support it. Moreover, upregulation of fl-APP protein and products may drive downstream events that dysregulate tau homeostasis and inflammatory responses that contribute to propagation of AD pathogenesis.

***L'aumento dei livelli di APP come bersaglio nella sindrome di Down: la riduzione di APP e dei suoi prodotti mediata da Posiphen inverte i fenotipi endosomiali nel modello murino Ts65Dn.***

***OBIETTIVO:*** Recenti studi clinici indirizzati alla beta-amiloide (A $\beta$ ) e alla tau nella patologia di Alzheimer (AD) non hanno ancora dimostrato la loro efficacia. Una revisione critica delle ipotesi sulla patogenesi dell'AD e una definizione di possibili collegamenti tra di esse potrebbe migliorare le conoscenze sia sugli eventi iniziali, a monte, sia sui meccanismi a valle, favorendo in tal modo la scoperta di nuovi trattamenti. La dimostrazione che nella sindrome di Down (DS), costituita da una popolazione marcatamente predisposta a sviluppare l'AD ad esordio precoce, è necessaria una dose elevata del gene APP sia per la neuropatologia dell'AD che per la demenza, suggerisce che la

normalizzazione dei livelli della proteina precursore dell'amiloide (APP) e dei suoi prodotti possa rappresentare un mezzo per meglio chiarire la patogenesi dell'AD e scoprire nuovi trattamenti.

**BACKGROUND:** AD e DS condividono diverse manifestazioni caratteristiche. La DS è causata dalla trisomia di tutto o parte del cromosoma 21; questo cromosoma contiene circa 233 geni codificanti proteine, compreso APP. Prove recenti indicano un ruolo determinante dell'aumentata espressione del gene per APP e del suo frammento C-terminale di 99 amminoacidi (C99, noto anche come  $\beta$ -CTF) nella disregolazione del sistema endosomiale/lisosomiale. Quest'ultimo è fondamentale per la normale funzione cellulare e per la trasmissione di segnali neurotrofici nei neuroni.

**IPOTESI NUOVA/AGGIORNATA:** Ipotizziamo che l'aumento della dose del gene APP nella DS avvii un processo in cui aumentati livelli di APP a lunghezza intera (fl-APP) e dei suoi prodotti, inclusi i  $\beta$ -CTF e probabilmente i peptidi A $\beta$  (A $\beta$ 42 e A $\beta$ 40), innescano la patogenesi dell'AD attraverso un meccanismo(i) dipendente dagli endosomi, che compromette il trasporto di segnali neurotrofici. Per testare questa ipotesi, abbiamo condotto studi in un modello murino di DS, il topo Ts65Dn ed esaminato gli effetti di Posiphen, una piccola molecola disponibile per via orale, che in studi precedenti ha dimostrato di ridurre fl-APP. In vitro, Posiphen ha abbassato fl-APP e i suoi frammenti C-terminali, ha invertito l'iperattivazione di Rab5 e l'allargamento degli endosomi e ripristinato il trasporto retrogrado di neurotrofine. In vivo, il trattamento con Posiphen (50 mg/kg/die per 26 giorni, intraperitoneale [i.p.]) in topi Ts65Dn è stato ben tollerato e non ha dimostrato effetti avversi sul comportamento. Il trattamento porta alla normalizzazione dei livelli di fl-APP e dei frammenti C-terminali e riduce moderatamente le varie specie di A $\beta$ , ripristina i normali livelli di attività di Rab5, riduce la tau fosforilata (p-tau) e i deficit di attivazione di TrkB (recettore della tropomiosina chinasi B) e delle vie di segnalazione Akt (proteina chinasi B [PKB]), ERK (chinasi regolata da segnali extracellulari) e CREB (proteina legante l'elemento di risposta cAMP). Sorprendentemente, il trattamento con Posiphen ha anche ripristinato il livello della proteina colina acetiltransferasi ai livelli 2N. Questi risultati supportano l'ipotesi della dose del gene APP, indicano la necessità di ulteriori studi per esplorare i meccanismi attraverso i quali l'aumento dell'espressione genica dell'APP agisce favorendo il rischio di AD nella DS e la possibile utilità di trattamenti per normalizzare i livelli di APP e dei suoi prodotti per prevenire l'AD nelle persone con DS.

**PRINCIPALI SFIDE A TALE L'IPOTESI:** Importanti domande senza risposta sono: (1) quando si dovrebbe intervenire nelle persone con DS; (2) una strategia basata su APP potrebbe avere conseguenze spiacevoli sui possibili cambiamenti adattativi indotti dall'aumento cronico della dose del gene APP; (3) altri geni presenti sul cromosoma 21, o su altri cromosomi la cui espressione è disregolata nella DS, contribuiscono alla patogenesi dell'AD; e (4) si possono modellare strategie che combinano l'uso di un trattamento basato su APP con quelli diretti ad altri fenotipi di AD, tra cui p-tau e infiammazione.

**COLLEGAMENTO AD ALTRE TEORIE PRINCIPALI:** L'ipotesi della dose del gene APP si interfaccia con l'ipotesi della cascata dell'amiloide dell'AD, nonché con le osservazioni genetiche e biologiche cellulari che la supportano. Inoltre, la sovra regolazione della proteina fl-APP e dei suoi prodotti potrebbe innescare eventi a valle che disregolano l'omeostasi della tau e le risposte infiammatorie che contribuiscono alla propagazione della patogenesi dell'AD.

**COMMENTO**

Le persone con sindrome di Down hanno una elevata probabilità di sviluppare la patologia di Alzheimer a causa della triplicazione del gene APP. Pertanto, è importante trovare terapie per contrastare lo sviluppo della patologia di Alzheimer, che peggiora la disabilità cognitiva e può portare allo sviluppo di demenza. Questo studio, da un lato, cerca di dimostrare i meccanismi tramite i quali APP porta alla patologia di Alzheimer nelle persone con sindrome di Down e, dall'altro, cerca di stabilire se sia possibile contrastare farmacologicamente gli effetti avversi che conseguono alla espressione eccessiva di APP. A differenza di altre strategie, che agiscono a valle di APP, questo studio usa una strategia indirizzata direttamente ad APP. A tale scopo è stato usato un composto, il Posiphen, che è in grado di ridurre la formazione della proteina APP. La somministrazione di Posiphen al topo Ts65Dn adulto (quindi in una fase della vita in cui sono presenti le alterazioni dovute alla patologia di Alzheimer) corregge tutta la cascata di eventi neurochimici e neuroanatomici cerebrali associati alla malattia di Alzheimer. Questo studio è estremamente promettente, in quanto rappresenta un primo fondamentale step nel contesto di possibili trattamenti farmacologici per prevenire la patologia di Alzheimer. Sarà fondamentale stabilire le finestre temporali ottimali per il trattamento e se una riduzione dei livelli di APP tramite Posiphen sia sufficiente per migliorare le alterazioni cerebrali e cognitive dovute alla patologia di Alzheimer.

## 9.

Neuron. 2020 Dec 9;108(5):887-904.e12. doi: 10.1016/j.neuron.2020.09.010. Epub 2020 Oct 6.

### **Rescuing Over-activated Microglia Restores Cognitive Performance in Juvenile Animals of the Dp(16) Mouse Model of Down Syndrome.**

Pinto B(1), Morelli G(2), Rastogi M(2), Savardi A(2), Fumagalli A(2), Petretto A(3), Bartolucci M(3), Varea E(4), Catelani T(5), Contestabile A(2), Perlini LE(2), Cancedda L(6).

Author information:

(1)BIO@SNS, Scuola Normale Superiore, Piazza dei Cavalieri 7, 56126 Pisa, Italy; Brain Development and Disease Laboratory, Istituto Italiano di Tecnologia, via Morego 30, 16163 Genova, Italy.

(2)Brain Development and Disease Laboratory, Istituto Italiano di Tecnologia, via Morego 30, 16163 Genova, Italy.

(3)Core Facilities - Clinical Proteomics and Metabolomics, IRCCS Istituto Giannina Gaslini, Genoa, Italy.

(4)Cellular Biology Department, University of Valencia, Valencia, Spain.

(5)Electron Microscopy Facility, Istituto Italiano di Tecnologia, via Morego 30, 16163 Genova, Italy.

(6)Brain Development and Disease Laboratory, Istituto Italiano di Tecnologia, via Morego 30, 16163 Genova, Italy; Dulbecco Telethon Institute, Rome, Italy. Electronic address: laura.cancedda@iit.it.

Microglia are brain-resident immune cells and regulate mechanisms essential for cognitive functions. Down syndrome (DS), the most frequent cause of genetic intellectual disability, is caused by a supernumerary chromosome 21, containing also genes related to the immune system.

In the hippocampus of the Dp(16) mouse model of DS and DS individuals, we found activated microglia, as assessed by their morphology; activation markers; and, for DS mice, electrophysiological profile. Accordingly, we found increased pro-inflammatory cytokine levels and altered interferon signaling in Dp(16) hippocampi. DS mice also showed decreased spine density and activity of hippocampal neurons and hippocampus-dependent cognitive behavioral deficits. Depletion of defective microglia or treatment with a commonly used anti-inflammatory drug rescued the neuronal spine and activity impairments and cognitive deficits in juvenile Dp(16) mice. Our results suggest an involvement of microglia in Dp(16)-mouse cognitive deficits and identify a new potential therapeutic approach for cognitive disabilities in DS individuals.

***La normalizzazione della microglia iperattivata ripristina le prestazioni cognitive in animali giovani del modello murino Dp(16) di sindrome di Down.***

*La microglia è costituita da cellule immunitarie residenti nel cervello che possono regolare meccanismi essenziali per le funzioni cognitive. La sindrome di Down (DS), la causa più frequente di disabilità intellettiva di natura genetica, è causata da un cromosoma 21 soprannumerario, contenente anche geni legati al sistema immunitario. Nell'ippocampo del modello murino Dp(16) di DS e di individui con DS abbiamo trovato microglia attivata, come dimostrato dalle caratteristiche morfologiche, da marcatori di attivazione e, nel caso del topo DS, dal profilo elettrofisiologico. Di conseguenza, abbiamo riscontrato nell'ippocampo del topo Dp(16) un aumento dei livelli di citochine pro-infiammatorie e un'alterazione della via di segnalazione dell'interferone. I topi DS hanno anche mostrato una diminuzione della densità delle spine dendritiche e dell'attività dei neuroni ippocampali, nonché deficit in comportamenti dipendenti dall'ippocampo. L'esaurimento della microglia difettosa o il trattamento con un farmaco antinfiammatorio comunemente usato hanno ripristinato le spine neuronali e i deficit cognitivi in topi Dp(16) giovani. I nostri risultati suggeriscono un coinvolgimento della microglia nei deficit cognitivi del topo Dp(16) e identificano un nuovo potenziale approccio terapeutico per le disabilità cognitive negli individui con DS.*

**COMMENTO**

Le cellule della microglia sono una popolazione di macrofagi residenti del sistema nervoso centrale. Esse non solo sono le prime sentinelle immunitarie dell'infezione, contribuendo alle risposte immunitarie a livello locale, ma sono anche coinvolte nel mantenimento dell'omeostasi cerebrale. Dati emergenti stanno mostrando che la microglia svolge un ruolo importante nel controllo della proliferazione e differenziazione neuronale, nonché nella formazione delle connessioni sinaptiche. L'attivazione della microglia è un segno distintivo di patologia cerebrale e la sua attivazione cronica può causare danni neuronali attraverso il rilascio di molecole potenzialmente citotossiche, come le citochine pro-infiammatorie. Questo studio dimostra che nel cervello del modello Dp(16) di sindrome di Down e di individui con sindrome di Down la microglia risulta attivata. Il trattamento con un comune antinfiammatorio (paracetamolo) ripristina i difetti a carico della densità delle spine dendritiche e i difetti cognitivi nel modello di topo Dp(16) ed anche nel modello Ts65Dn e non sembra avere effetti avversi. E' noto che il paracetamolo a dosi elevate o somministrato per lungo tempo può essere tossico per il fegato. Pertanto, sebbene i risultati non possano avere al momento una applicazione immediata, essi possono essere di stimolo a studi ulteriori mirati a testare e

riproporre altri farmaci antinfiammatori per il possibile miglioramento dei deficit cognitivi legati alla sindrome di Down.

## 10.

*Am J Hum Genet.* 2020 Nov 5;107(5):911-931. doi: 10.1016/j.ajhg.2020.10.001. Epub 2020 Oct 23.  
**Apigenin as a Candidate Prenatal Treatment for Trisomy 21: Effects in Human Amniocytes and the Ts1Cje Mouse Model.**

Guedj F(1), Siegel AE(2), Pennings JLA(3), Alsebaa F(4), Massingham LJ(4), Tantravahi U(5), Bianchi DW(6).

Author information:

(1)Prenatal Genomics and Therapy Section, Medical Genomics and Metabolic Genetics Branch, National Human Genome Research Institute, National Institutes of Health, Bethesda, MD 20892, USA; Mother Infant Research Institute, Tufts Medical Center and Tufts Children's Hospital, Boston, MA 02111, USA. Electronic address: faycal.guedj@nih.gov.

(2)Prenatal Genomics and Therapy Section, Medical Genomics and Metabolic Genetics Branch, National Human Genome Research Institute, National Institutes of Health, Bethesda, MD 20892, USA; Mother Infant Research Institute, Tufts Medical Center and Tufts Children's Hospital, Boston, MA 02111, USA.

(3)Center for Health Protection, National Institute for Public Health and the Environment, Bilthoven, BA 3720, the Netherlands.

(4)Mother Infant Research Institute, Tufts Medical Center and Tufts Children's Hospital, Boston, MA 02111, USA.

(5)Department of Pathology, Women and Infants' Hospital, Providence, RI 02912, USA.

(6)Prenatal Genomics and Therapy Section, Medical Genomics and Metabolic Genetics Branch, National Human Genome Research Institute, National Institutes of Health, Bethesda, MD 20892, USA; Mother Infant Research Institute, Tufts Medical Center and Tufts Children's Hospital, Boston, MA 02111, USA. Electronic address: diana.bianchi@nih.gov.

Human fetuses with trisomy 21 (T21) have atypical brain development that is apparent sonographically in the second trimester. We hypothesize that by analyzing and integrating dysregulated gene expression and pathways common to humans with Down syndrome (DS) and mouse models we can discover novel targets for prenatal therapy. Here, we tested the safety and efficacy of apigenin, identified with this approach, in both human amniocytes from fetuses with T21 and in the Ts1Cje mouse model. In vitro, T21 cells cultured with apigenin had significantly reduced oxidative stress and improved antioxidant defense response. In vivo, apigenin treatment mixed with chow was administered prenatally to the dams and fed to the pups over their lifetimes. There was no significant increase in birth defects or pup deaths resulting from prenatal apigenin treatment. Apigenin significantly improved several developmental milestones and spatial olfactory memory in Ts1Cje neonates. In addition, we noted sex-specific effects on exploratory behavior and long-term hippocampal memory in adult mice, and males showed significantly more improvement than females. We demonstrated that the therapeutic effects of apigenin are pleiotropic, resulting

in decreased oxidative stress, activation of pro-proliferative and pro-neurogenic genes (KI67, Nestin, Sox2, and PAX6), reduction of the pro-inflammatory cytokines INFG, IL1A, and IL12P70 through the inhibition of NFκB signaling, increase of the anti-inflammatory cytokines IL10 and IL12P40, and increased expression of the angiogenic and neurotrophic factors VEGFA and IL7. These studies provide proof of principle that apigenin has multiple therapeutic targets in preclinical models of DS.

### ***L'apigenina come trattamento prenatale candidato per la trisomia 21: effetti negli amniociti umani e nel modello murino Ts1Cje.***

*I feti umani con trisomia 21 (T21) hanno uno sviluppo cerebrale atipico che risulta evidente ecograficamente nel secondo trimestre. Ipotizziamo che analizzando e integrando l'espressione genica e le vie disregolate che sono comuni agli esseri umani con sindrome di Down (DS) e ai modelli murini, possiamo scoprire nuovi bersagli per una terapia prenatale. Qui, abbiamo testato la sicurezza e l'efficacia dell'apigenina, identificata con questo approccio, sia negli amniociti umani di feti con T21 che nel modello murino Ts1Cje. In vitro, le cellule T21 coltivate in presenza di apigenina hanno ridotto significativamente lo stress ossidativo e migliorato la risposta di difesa antiossidante. In vivo, abbiamo somministrato apigenina miscelata nel cibo prenatalmente alle madri e alla prole nel corso della vita. Non vi è stato alcun aumento significativo di difetti alla nascita o decessi della prole a seguito del trattamento prenatale con apigenina. L'apigenina ha migliorato significativamente diverse pietre miliari dello sviluppo e la memoria olfattiva spaziale nei neonati Ts1Cje. Inoltre, abbiamo notato effetti specifici del sesso sul comportamento esplorativo e sulla memoria ippocampale a lungo termine nei topi adulti; i maschi hanno mostrato un miglioramento significativamente maggiore rispetto alle femmine. Abbiamo dimostrato che gli effetti terapeutici dell'apigenina sono molteplici, con conseguente diminuzione dello stress ossidativo, attivazione di geni pro-proliferativi e pro-neurogenici (KI67, Nestina, Sox2 e PAX6), riduzione delle citochine pro-infiammatorie INFG, IL1A e IL12P70, attraverso l'inibizione della via di segnalazione di NFκB, aumento delle citochine antinfiammatorie IL10 e IL12P40 e un aumento dell'espressione dei fattori angiogenici e neurotrofici VEGFA e IL7. Questi studi forniscono una prova di principio che l'apigenina ha molteplici bersagli terapeutici in modelli preclinici di DS.*

#### **COMMENTO**

L'apigenina è un flavone presente in varie piante, quali sedano e prezzemolo, che non presenta tossicità note. Ha potenti proprietà antiossidanti, antinfiammatorie e anti-apoptotiche. In questo studio sono stati esaminati i potenziali effetti terapeutici dell'apigenina in vitro, sui amniociti umani di feti con sindrome di Down e in vivo, a seguito di somministrazione prenatale nel modello murino Ts1Cje di DS. L'apigenina ha esercitato effetti positivi su numerose vie cellulari che sono disregolate nella sindrome di Down e ha migliora alcuni aspetti comportamentali in vivo, seppure abbia avuto anche effetti negativi sulla coordinazione motoria, probabilmente legati alla dose usata, relativamente alta. Questo studio fornisce tuttavia prova di principio di possibili affetti positivi dell'apigenina, somministrata prenatalmente, sullo sviluppo cerebrale nella sindrome di Down. Sono necessari studi ulteriori che esplorino più in dettaglio gli effetti di dosi diverse di apigenina nel periodo prenatale sullo sviluppo cerebrale e sulle funzioni cognitive.

## 11.

Glia. 2020 Jul;68(7):1347-1360. doi: 10.1002/glia.23779. Epub 2020 Jan 16.

### **RvE1 treatment prevents memory loss and neuroinflammation in the Ts65Dn mouse model of Down syndrome.**

Hamlett ED(1), Hjorth E(2), Ledreux A(3), Gilmore A(3), Schultzberg M(2), Granholm AC(2)(3).

Author information:

(1)Department of Pathology and Laboratory Medicine, Medical University of South Carolina, Charleston, South Carolina.

(2)Department of Neurobiology, Care Sciences and Society, Division of Neurogeriatrics, Center for Alzheimer Research, Karolinska Institutet, Stockholm, Sweden.

(3)Knoebel Institute for Healthy Aging and the Department of Biological Sciences, University of Denver, Denver, Colorado.

Inflammation can be resolved by pro-homeostatic lipids called specialized pro-resolving mediators (SPMs) upon activation of their receptors. Dysfunctional inflammatory resolution is now considered as a driver of chronic neuroinflammation and Alzheimer's disease (AD) pathogenesis. We have previously shown that SPM levels were reduced and also that SPM-binding receptors were increased in patients with AD compared to age-matched controls. Individuals with Down syndrome (DS) exhibit accelerated acquisition of AD neuropathology, dementia, and neuroinflammation at an earlier age than the general population. Beneficial effects of inducing resolution in DS have not been investigated previously. The effects of the SPM resolvin E1 (RvE1) in a DS mouse model (Ts65Dn) were investigated with regard to inflammation, neurodegeneration, and memory deficits. A moderate dose of RvE1 for 4 weeks in middle-aged Ts65Dn mice elicited a significant reduction in memory loss, along with reduced levels of serum pro-inflammatory cytokines, and reduced microglial activation in the hippocampus of Ts65Dn mice but had no effects in age-matched normosomic mice. There were no observable adverse side effects in Ts65Dn or in normosomic mice. These findings suggest that SPMs may represent a novel drug target for individuals with DS and others at risk of developing AD.

### ***Il trattamento con RvE1 previene la perdita di memoria e la neuroinfiammazione nel modello murino Ts65Dn di sindrome di Down.***

*L'infiammazione può essere risolta da lipidi pro-omeostatici, chiamati mediatori specializzati pro-risolventi (SPM), dopo attivazione dei loro recettori. Una risoluzione infiammatoria non funzionale è attualmente considerata un fattore trainante della neuroinfiammazione cronica e della patogenesi della malattia di Alzheimer (AD). Abbiamo precedentemente dimostrato che i livelli di SPM erano ridotti e che i recettori che legano gli SPM erano aumentati nei pazienti con AD rispetto ai controlli di pari età. Gli individui con sindrome di Down (DS) mostrano un'acquisizione accelerata di neuropatologia di AD, demenza e neuroinfiammazione in età più precoce rispetto alla popolazione generale. Gli effetti benefici dell'induzione della risoluzione nella DS non sono stati ancora studiati in precedenza. Abbiamo studiato gli effetti dell'SPM resolvina E1 (RvE1) in un modello murino di DS (Ts65Dn) per quanto riguarda infiammazione, neurodegenerazione e deficit di memoria. Una*

dose moderata di RvE1 per 4 settimane in topi Ts65Dn di mezza età ha provocato una significativa riduzione della perdita di memoria, insieme a livelli ridotti di citochine pro-infiammatorie seriche e ridotta attivazione della microglia nell'ippocampo dei topi Ts65Dn, ma non ha avuto effetti in topi euploidi di età corrispondente. Non ci sono stati effetti collaterali evidenti nei topi Ts65Dn e euploidi. Questi risultati suggeriscono che gli SPM possano rappresentare un nuovo bersaglio farmacologico per gli individui con DS e altri a rischio di sviluppare l'AD.

#### COMMENTO

L'infiammazione del sistema nervoso è considerata un fattore critico nello sviluppo della patologia di Alzheimer. La neuroinfiammazione può essere causata da una varietà di segnali, tra cui i metaboliti tossici che si sviluppano nel cervello nella patologia di Alzheimer. Le resolvine sono mediatori lipidici endogeni, derivati dagli acidi grassi polinsaturi (PUFA), che accelerano la risoluzione dell'infiammazione acuta. Questo studio è mirato a stabilire gli effetti della resolvina E1 (RvE1) sulla patologia dell'AD, non ancora studiati nel contesto della sindrome di Down, utilizzando il modello Ts65Dn. Lo studio dimostra che il trattamento con RvE1 migliora la perdita di memoria e vari segni di infiammazione cerebrale e non genera effetti avversi. Questi risultati rappresentano un passo importante che potrebbe condurre ad una valutazione preclinica di RvE1 come terapia per l'AD, soprattutto perché è stato dimostrato che l'infiammazione contribuisce in modo rilevante alla neuropatologia tipica della malattia di Alzheimer sia nella popolazione generale sia nella sindrome di Down.

#### 12.

Sci Rep. 2020 Jun 26;10(1):10426. doi: 10.1038/s41598-020-67133-z.

#### **Evaluation of the therapeutic potential of Epigallocatechin-3-gallate (EGCG) via oral gavage in young adult Down syndrome mice.**

Goodlett CR(1), Stringer M(1), LaCombe J(2), Patel R(2), Wallace JM(3), Roper RJ(4).

Author information:

(1)IUPUI Department of Psychology, 402 North Blackford Street, LD 124, Indianapolis, IN, 46202-3275, USA.

(2)IUPUI Department of Biology, 723 West Michigan Street; SL 306, Indianapolis, IN, 46202-3275, USA.

(3)IUPUI Department of Biomedical Engineering, 723 West Michigan Street; SL 220B, Indianapolis, IN, 46202-3275, USA.

(4)IUPUI Department of Biology, 723 West Michigan Street; SL 306, Indianapolis, IN, 46202-3275, USA. rjroper@iupui.edu.

Epigallocatechin-3-gallate (EGCG) is a candidate therapeutic for Down syndrome (DS) phenotypes based on in vitro inhibition of DYRK1A, a triplicated gene product of Trisomy 21 (Ts21). Consumption of green tea extracts containing EGCG improved some cognitive and behavioral outcomes in DS mouse models and in humans with Ts21. In contrast, treatment with pure EGCG in DS mouse models did not improve neurobehavioral phenotypes. This study tested the hypothesis that 200 mg/kg/day of pure EGCG, given via oral gavage, would improve neurobehavioral and

skeletal phenotypes in the Ts65Dn DS mouse model. Serum EGCG levels post-gavage were significantly higher in trisomic mice than in euploid mice. Daily EGCG gavage treatments over three weeks resulted in growth deficits in both euploid and trisomic mice. Compared to vehicle treatment, EGCG did not significantly improve behavioral performance of Ts65Dn mice in the multivariate concentric square field, balance beam, or Morris water maze tasks, but reduced swimming speed. Furthermore, EGCG resulted in reduced cortical bone structure and strength in Ts65Dn mice. These outcomes failed to support the therapeutic potential of EGCG, and the deleterious effects on growth and skeletal phenotypes underscore the need for caution in high-dose EGCG supplements as an intervention in DS.

### **Valutazione del potenziale terapeutico della somministrazione orale di epigallocatechina-3-gallato (EGCG) in topi giovani adulti con sindrome di Down.**

*L'epigallocatechina-3-gallato (EGCG) è un candidato terapeutico per i fenotipi della sindrome di Down (DS), in considerazione dell'inibizione da essa esercitata in vitro su DYRK1A, un prodotto genico triplicato della Trisomia 21 (Ts21). Il consumo di estratti di tè verde contenenti EGCG ha migliorato alcuni aspetti cognitivi e comportamentali in modelli murini di DS e negli esseri umani con Ts21. Al contrario, il trattamento con EGCG pura in modelli murini di DS non risulta migliorare i fenotipi neurocomportamentali. Questo studio ha cercato di stabilire se 200 mg/kg/al giorno di EGCG pura, somministrata tramite sonda gastrica, possa migliorare i fenotipi neurocomportamentali e scheletrici nel modello murino Ts65Dn di DS. I livelli serici di EGCG dopo la somministrazione gastrica erano significativamente più alti nei topi trisomici rispetto ai topi euploidi. I trattamenti giornalieri con sonda gastrica di EGCG per tre settimane hanno causato deficit di crescita sia nei topi euploidi sia trisomici. Rispetto al trattamento con veicolo, l'EGCG non ha migliorato significativamente le prestazioni comportamentali dei topi Ts65Dn nel test "campo quadrato concentrico multivariato", nell'asse di equilibrio e nel test del labirinto acquatico di Morris ed ha ridotto la velocità di nuoto. Inoltre, l'EGCG ha determinato una riduzione della struttura e della forza dell'osso corticale nei topi Ts65Dn. Questi risultati non sono di sostegno al potenziale terapeutico dell'EGCG. Gli effetti deleteri sulla crescita e sui fenotipi scheletrici sottolineano la necessità di cautela nell'uso di integratori con alte dosi di EGCG come intervento nella DS.*

#### **COMMENTO**

Come è noto, estratti contenenti EGCG (oltre ad altre sostanze) risultano di qualche beneficio per le funzioni cognitive nel modello Ts65Dn e in persone con sindrome di Down. Questo studio si aggiunge ad altri dello stesso gruppo, mirati a definire l'efficacia e possibili effetti avversi dell'EGCG pura in un modello di sindrome di Down. Ancora una volta lo studio conferma non solo che la somministrazione di EGCG pura non migliora le funzioni cognitive, ma può addirittura danneggiare lo sviluppo osseo. Questo studio è stato condotto in maniera rigorosa, analogamente ad altri studi dello stesso gruppo, ed è di molta importanza in quanto suggerisce che ci voglia molta cautela nell'uso di EGCG e di integratori che contengono alte dosi di EGCG.

J Nutr. 2020 Jun 1;150(6):1631-1643. doi: 10.1093/jn/nxaa074.

**Prenatal Administration of Oleic Acid or Linolenic Acid Reduces Neuromorphological and Cognitive Alterations in Ts65dn Down Syndrome Mice.**

García-Cerro S(1), Rueda N(1), Vidal V(1), Puente A(1), Campa V(2), Lantigua S(1), Narcís O(1), Velasco A(3), Bartesaghi R(4), Martínez-Cué C(1).

Author information:

(1)Department of Physiology and Pharmacology, Faculty of Medicine, University of Cantabria, Santander, Cantabria, Spain.

(2)Institute of Molecular Biology and Biomedicine (IBTECC), Santander, Cantabria, Spain.

(3)Department of Biochemistry and Molecular Biology, Institute of Neurosciences of Castilla and Leon (INCYL), University of Salamanca, Institute of Biomedical Research of Salamanca (IBSAL), Salamanca, Spain.

(4)Department of Biomedical and Neuromotor Sciences, University of Bologna, Bologna, Italy.

**BACKGROUND:** The cognitive impairments that characterize Down syndrome (DS) have been attributed to brain hypocellularity due to neurogenesis impairment during fetal stages. Thus, enhancing prenatal neurogenesis in DS could prevent or reduce some of the neuromorphological and cognitive defects found in postnatal stages.

**OBJECTIVES:** As fatty acids play a fundamental role in morphogenesis and brain development during fetal stages, in this study, we aimed to enhance neurogenesis and the cognitive abilities of the Ts65Dn (TS) mouse model of DS by administering oleic or linolenic acid.

**METHODS:** In total, 85 pregnant TS females were subcutaneously treated from Embryonic Day (ED) 10 until Postnatal Day (PD) 2 with oleic acid (400 mg/kg), linolenic acid (500 mg/kg), or vehicle. All analyses were performed on their TS and Control (CO) male and female progeny. At PD2, we evaluated the short-term effects of the treatments on neurogenesis, cellularity, and brain weight, in 40 TS and CO pups. A total of 69 TS and CO mice were used to test the long-term effects of the prenatal treatments on cognition from PD30 to PD45, and on neurogenesis, cellularity, and synaptic markers, at PD45. Data were compared by ANOVAs.

**RESULTS:** Prenatal administration of oleic or linolenic acid increased the brain weight (+36.7% and +45%,  $P < 0.01$ ), the density of BrdU (bromodeoxyuridine)- (+80% and +115%;  $P < 0.01$ ), and DAPI (4',6-diamidino-2-phenylindole)-positive cells (+64% and +22%,  $P < 0.05$ ) of PD2 TS mice with respect to the vehicle-treated TS mice. Between PD30 and PD45, TS mice prenatally treated with oleic or linolenic acid showed better cognitive abilities (+28% and +25%,  $P < 0.01$ ) and a higher density of the postsynaptic marker PSD95 (postsynaptic density protein 95) (+65% and +44%,  $P < 0.05$ ) than the vehicle-treated TS animals.

**CONCLUSION:** The beneficial cognitive and neuromorphological effects induced by oleic or linolenic acid in TS mice suggest that they could be promising pharmacotherapies for DS-associated cognitive deficits.

***La somministrazione prenatale di acido oleico o acido linolenico riduce le alterazioni neuromorfologiche e cognitive nei topi con sindrome di Down Ts65Dn.***

**BACKGROUND:** I disturbi cognitivi che caratterizzano la sindrome di Down (DS) sono stati attribuiti all'ipocellularità cerebrale dovuta alla ridotta neurogenesi durante le fasi fetali. Pertanto, il miglioramento della neurogenesi prenatale nella DS potrebbe prevenire o ridurre alcuni dei difetti neuromorfologici e cognitivi riscontrati nelle fasi postnatali.

**OBIETTIVI:** Poiché gli acidi grassi svolgono un ruolo fondamentale nella morfogenesi e nello sviluppo del cervello durante le fasi fetali, in questo studio ci siamo proposti di migliorare la neurogenesi e le capacità cognitive del modello murino Ts65Dn (TS) di DS somministrando acido oleico o acido linolenico.

**METODI:** In totale, 85 femmine TS gravide sono state trattate per via sottocutanea dal giorno embrionale (ED) 10 fino al giorno postnatale (PD) 2 con acido oleico (400 mg/kg), acido linolenico (500 mg/kg) o veicolo. Tutte le analisi sono state eseguite sulla loro progenie maschile e femminile TS e di controllo (CO). A PD2, abbiamo valutato gli effetti a breve termine dei trattamenti su neurogenesi, cellularità e peso cerebrale in 40 cuccioli TS e CO. Un totale di 69 topi TS e CO sono stati utilizzati per testare gli effetti a lungo termine dei trattamenti prenatali sulle capacità cognitive, nel periodo da PD30 a PD45, e su neurogenesi, cellularità e marcatori sinaptici, a PD45. I dati sono stati sottoposti ad ANOVA.

**RISULTATI:** La somministrazione prenatale di acido oleico o linolenico ha aumentato il peso del cervello (+36,7% e +45%,  $P < 0,01$ ), la densità di cellule BrdU (bromodeossipuridina)-positive (+80% e +115%;  $P < 0,01$ ) e cellule DAPI (4',6-diamidino-2-fenilindolo)-positive (+64% e +22%,  $P < 0,05$ ) nei topi TS a PD2 rispetto ai topi TS trattati con veicolo. Tra PD30 e PD45, i topi TS trattati prenatalmente con acido oleico o linolenico hanno mostrato migliori capacità cognitive (+28% e +25%,  $P < 0,01$ ) e una maggiore densità del marker postsinaptico PSD95 (proteina 95 della densità postsinaptica) (+65% e +44%,  $P < 0,05$ ) rispetto agli animali TS trattati con veicolo.

**CONCLUSIONE:** Gli effetti benefici cognitivi e neuromorfologici indotti dall'acido oleico o linolenico nei topi TS suggeriscono che essi potrebbero rappresentare promettenti farmacoterapie per i deficit cognitivi associati alla DS.

#### COMMENTO

E' stato dimostrato che la somministrazione di acidi grassi nel periodo pre- e postnatale favorisce lo sviluppo del cervello. Su tale base, questo studio si è proposto di stabilire se due importanti acidi grassi, l'acido oleico e l'acido linolenico, sono in grado di migliorare lo sviluppo cerebrale nel modello murino Ts65Dn di sindrome di Down. Il trattamento con ciascuna sostanza è stato effettuato durante il periodo embrionale, un periodo cruciale per il corretto sviluppo del cervello. I risultati mostrano che nei topi neonati varie alterazioni neuroanatomiche, inclusa la neurogenesi, sono del tutto ripristinate dal trattamento prenatale sia con acido oleico sia con acido linolenico. Sebbene dopo cessazione del trattamento nei topi di 45 giorni (adolescenti/giovani adulti) siano scomparsi molti degli effetti osservati nei neonati, i topi di 45 giorni mostrano un miglioramento delle connessioni tra neuroni e il ripristino delle funzioni di apprendimento e memoria. Questo studio suggerisce che una terapia durante la gestazione con acido oleico o acido linolenico possa avere effetti benefici sul neuro sviluppo del feto con sindrome di Down e che questi effetti si possano tradurre in un miglioramento delle capacità cognitive dopo la nascita. Qualora questo studio fosse ulteriormente approfondito, i suoi risultati potrebbero ragionevolmente aprire la via a trials clinici durante la gestazione, visto il profilo sicuro delle sostanze utilizzate.

#### 14.

Nutr Neurosci. 2020 Dec 21:1-13. doi: 10.1080/1028415X.2020.1861897. Online ahead of print.

#### **Early postnatal oleic acid administration enhances synaptic development and cognitive abilities in the Ts65Dn mouse model of Down syndrome.**

Vidal V(1), García-Cerro S(1), Rueda N(1), Puente A(1), Bartesaghi R(2), Martínez-Cué C(1).

Author information:

(1)Faculty of Medicine, Department of Physiology and Pharmacology, University of Cantabria, Santander, Spain.

(2)Department of Biomedical and Neuromotor Sciences, University of Bologna, Bologna, Italy.

**OBJECTIVES:** The brains of individuals with Down syndrome (DS) present defects in neurogenesis and synaptogenesis during prenatal and early postnatal stages that are partially responsible for their cognitive disabilities. Because oleic and linolenic fatty acids enhance neurogenesis, synaptogenesis, and cognitive abilities in rodents and humans, in this study we evaluated the ability of these compounds to restore these altered phenotypes in the Ts65Dn (TS) mouse model of DS during early postnatal stages.

**METHODS:** TS and euploid mice were treated with oleic or linolenic acid from PD3 to PD15, and the short- and long- term effects of these acids on neurogenesis and synaptogenesis were evaluated. The effects of these treatments on the cognitive abilities of TS mice during early adulthood were also evaluated.

**RESULTS:** Administration of oleic or linolenic acid did not modify cell proliferation immediately after treatment discontinuation or several weeks later. However, oleic acid increased the total number of DAPI+ cells (+ 26%), the percentage of BrdU+ cells that acquired a neural phenotype (+ 9.1%), the number of pre- (+ 29%) and post-synaptic (+ 32%) terminals and the cognitive abilities of TS mice (+ 18.1%). In contrast, linolenic acid only produced a slight cognitive improvement in TS mice. (+12.1%).

**DISCUSSION:** These results suggest that early postnatal administration of oleic acid could palliate the cognitive deficits of DS individuals.

#### ***La somministrazione di acido oleico nel primo periodo postnatale migliora lo sviluppo sinaptico e le capacità cognitive nel modello murino Ts65Dn della sindrome di Down.***

**OBIETTIVI:** Il cervello degli individui con sindrome di Down (DS) presenta difetti nella neurogenesi e nella sinaptogenesi durante le fasi prenatali e postnatali, che sono parzialmente responsabili delle loro disabilità cognitive. Poiché gli acidi grassi oleico e linolenico migliorano la neurogenesi, la sinaptogenesi e le capacità cognitive nei roditori e nell'uomo, in questo studio abbiamo valutato la capacità di questi composti di ripristinare questi fenotipi alterati nel modello murino Ts65Dn (TS) di DS durante le prime fasi postnatali.

**METODI:** Topi TS ed euploidi sono stati trattati con acido oleico o linolenico da PD3 a PD15 e sono stati valutati gli effetti a breve e lungo termine di questi acidi sulla neurogenesi e sulla

sinaptogenesi. Sono stati valutati anche gli effetti di questi trattamenti sulle capacità cognitive dei topi TS durante la prima età adulta.

**RISULTATI:** La somministrazione di acido oleico o linolenico non ha modificato la proliferazione cellulare immediatamente dopo l'interruzione del trattamento o diverse settimane dopo. Tuttavia, l'acido oleico ha aumentato il numero totale di cellule DAPI+ (+ 26%), la percentuale di cellule BrdU+ che hanno acquisito un fenotipo neuronale (+ 9,1%), il numero di terminali pre- (+ 29%) e post-sinaptici (+ 32 %) e le capacità cognitive dei topi TS (+ 18,1%). In contrasto, l'acido linolenico ha prodotto solo un leggero miglioramento cognitivo nei topi TS (+12,1%).

**DISCUSSIONE:** Questi risultati suggeriscono che la somministrazione postnatale precoce di acido oleico possa alleviare i deficit cognitivi degli individui con DS.

#### COMMENTO

Questo studio, che è collegato allo studio soprastante (n. 13), si propone di stabilire l'efficacia di un trattamento con acido oleico o acido linolenico nel periodo neonatale sullo sviluppo cerebrale nel modello murino Ts65Dn di sindrome di Down. Il trattamento con ciascuna sostanza è stato effettuato durante le prime due settimane postnatali. A differenza del trattamento prenatale, il trattamento postnatale con acido oleico o acido linolenico non determina importanti benefici neuroanatomici. Tuttavia, entrambi i trattamenti hanno effetti positivi a lungo termine, in quanto migliorano le funzioni di memoria nel topo adulto. L'effetto è maggiore a seguito di trattamento neonatale con acido oleico rispetto al trattamento con acido linolenico. Questo studio suggerisce che una terapia durante l'infanzia con acido oleico (e in misura minore, con l'acido linolenico) possa avere effetti benefici sulle capacità cognitive, che permangono dopo cessazione del trattamento. Qualora questo studio fosse ulteriormente approfondito, i suoi risultati potrebbero ragionevolmente aprire la via a trials clinici in bambini con sindrome di Down visto il profilo sicuro delle sostanze utilizzate.

#### 15.

J Nutr. 2020 Sep 1;150(9):2478-2489. doi: 10.1093/jn/nxaa207.

#### **Prenatal, but not Postnatal, Curcumin Administration Rescues Neuromorphological and Cognitive Alterations in Ts65Dn Down Syndrome Mice.**

Rueda N(1), Vidal V(1), García-Cerro S(1), Puente A(1), Campa V(2), Lantigua S(1), Narcís O(1), Bartesaghi R(3), Martínez-Cué C(1).

Author information:

(1)Department of Physiology and Pharmacology, Faculty of Medicine, University of Cantabria, Santander, Spain.

(2)Institute of Molecular Biology and Biomedicine, Santander, Cantabria, Spain.

(3)Department of Biomedical and Neuromotor Sciences, University of Bologna, Bologna, Italy.

**BACKGROUND:** The cognitive dysfunction in Down syndrome (DS) is partially caused by deficient neurogenesis during fetal stages. Curcumin enhances neurogenesis and learning and memory.

**OBJECTIVES:** We aimed to test the ability of curcumin to rescue the neuromorphological and cognitive alterations of the Ts65Dn (TS) mouse model of DS when administered prenatally or

during early postnatal stages, and to evaluate whether these effects were maintained several weeks after the treatment.

**METHODS:** To evaluate the effects of prenatal curcumin administration, 65 pregnant TS females were subcutaneously treated with curcumin (300 mg/kg) or vehicle from ED (Embryonic Day) 10 to PD (Postnatal Day) 2. All the analyses were performed on their TS and Control (CO) male and female progeny. At PD2, the changes in neurogenesis, cellularity, and brain weight were analyzed in 30 TS and CO pups. The long-term effects of prenatal curcumin were evaluated in another cohort of 44 TS and CO mice between PD30 and PD45. The neuromorphological effects of the early postnatal administration of curcumin were assessed on PD15 in 30 male and female TS and CO pups treated with curcumin (300 mg/kg) or vehicle from PD2 to PD15. The long-term neuromorphological and cognitive effects were assessed from PD60 to PD90 in 45 mice. Data was compared by ANOVAs.

**RESULTS:** Prenatal administration of curcumin increased the brain weight (+45%,  $P < 0.001$ ), the density of BrdU (bromodeoxyuridine)- (+150%,  $P < 0.001$ ) and DAPI (4',6-diamidino-2-phenylindole)- (+38%,  $P = 0.005$ ) positive cells, and produced a long-term improvement of cognition in TS (+35%,  $P = 0.007$ ) mice with respect to vehicle-treated mice. Postnatal administration of curcumin did not rescue any of the short- or long-term altered phenotypes of TS mice.

**CONCLUSION:** The beneficial effects of prenatal curcumin administration to TS mice suggest that it could be a therapeutic strategy to treat DS cognitive disabilities.

***La somministrazione prenatale, ma non postnatale, di curcumina contrasta le alterazioni neuromorfologiche e cognitive nei topi con sindrome di Down Ts65Dn.***

***BACKGROUND:*** La disfunzione cognitiva nella sindrome di Down (DS) è parzialmente causata da una neurogenesi ridotta durante le fasi fetali. La curcumina migliora la neurogenesi, l'apprendimento e la memoria.

***OBIETTIVI:*** Abbiamo voluto testare la capacità della curcumina di migliorare le alterazioni neuromorfologiche e cognitive del modello murino Ts65Dn (TS) di DS, se somministrata durante la fase prenatale o durante le prime fasi postnatali e stabilire se questi effetti si mantengono diverse settimane dopo cessazione del trattamento.

***METODI:*** Per valutare gli effetti della somministrazione prenatale di curcumina, 65 femmine TS gravide sono state trattate per via sottocutanea con curcumina (300 mg/kg) o veicolo a partire dal giorno embrionale (ED) 10 fino al giorno postnatale (PD) 2. Le analisi sono state eseguite sulla loro progenie maschile e femminile TS e di controllo (CO). A PD2 gli effetti sulla neurogenesi, cellularity e peso del cervello sono stati analizzati in 30 cuccioli TS e CO. Gli effetti a lungo termine della curcumina prenatale sono stati valutati in un'altra coorte di 44 topi TS e CO tra PD30 e PD45. Gli effetti neuromorfologici della somministrazione postnatale precoce di curcumina sono stati valutati a PD15 in 30 cuccioli maschi e femmine TS e CO trattati con curcumina (300 mg/kg) o veicolo da PD2 a PD15. Gli effetti neuromorfologici e cognitivi a lungo termine sono stati valutati da PD60 a PD90 in 45 topi. I dati sono stati confrontati tramite ANOVA.

***RISULTATI:*** La somministrazione prenatale di curcumina ha aumentato il peso del cervello (+45%,  $P < 0,001$ ), la densità di cellule BrdU (bromodeossipuridina)-positive (+150%,  $P < 0,001$ ) e DAPI (4',6-diamidino-2-fenilindolo)-positive (+38%,  $P = 0,005$ ) e ha prodotto un miglioramento a lungo termine

delle capacità cognitive nei topi TS (+35%,  $P = 0,007$ ) rispetto ai topi trattati con veicolo. La somministrazione postnatale di curcumina non ha portato al ripristino, né a breve né a lungo termine, dei fenotipi alterati nel topo TS.

**CONCLUSIONE:** Gli effetti benefici della somministrazione prenatale di curcumina ai topi TS suggeriscono che questa potrebbe essere una strategia terapeutica per trattare le disabilità cognitive della DS.

#### COMMENTO

La curcumina è un composto polifenolico vegetale estratto dalla spezia curcuma. Diversi studi hanno dimostrato che la curcumina possiede varie proprietà biologiche e farmacologiche, tra cui antiossidanti, antinfiammatorie, immunomodulanti etc. La curcumina stimola anche la proliferazione cellulare e la neurogenesi nell'ippocampo dei roditori. Su tale base lo studio si è proposto di stabilire se un trattamento prenatale oppure nel primo periodo postnatale migliora i difetti neuroanatomici e comportamentali del modello Ts65Dn di sindrome di Down. Il trattamento postnatale con curcumina risulta del tutto inefficace. Al contrario, la somministrazione prenatale di curcumina migliora il peso corporeo e cerebrale, la proliferazione cellulare e il numero di cellule ippocampali nel topo Ts65Dn neonato. Sebbene gli effetti neuroanatomici non permangano nel tempo, quanto i topi raggiungono l'età adulta, il trattamento prenatale con curcumina induce un miglioramento a lungo termine delle capacità cognitive nell'adulto. Vari clinical trials e studi nei roditori hanno dimostrato che la curcumina non ha effetti avversi, anche a dosi maggiori di quelle usate in questo studio e non ha effetti genotossici (danni dell'informazione genetica cellulare). Inoltre, la curcumina non sembra avere effetti negativi sul tasso di gravidanza, numero di embrioni vivi e morti e impianti totali nei roditori. Se studi ulteriori, mirati a stabilire in maniera sistematica possibili effetti avversi della curcumina nel periodo prenatale in modelli murini di sindrome di Down, confermeranno il profilo sicuro della curcumina, questo fitochimico potrebbe essere proposto per trials clinici come trattamento per migliorare lo sviluppo cerebrale nella sindrome di Down.