



NEUROSCIENCE INSTITUTE CAVALIERI OTTOLENGHI  
Regione Gonzole, 10 - 10043 Orbassano (Turin - Italy)  
phone.: +390116706617 fax.: +390112366617

**Progetti relativi all'Atrofia Muscolare Spinale in corso di studio presso il  
Laboratorio di "Sviluppo e patologia del cervello" del Prof. Vercelli e della  
Prof.ssa Boido (Istituto di Neuroscienze della Fondazione Cavalieri Ottolenghi,  
NICO, Orbassano, TO)**

ATROFIA MUSCOLARE SPINALE

L'atrofia muscolare spinale (SMA) è una grave malattia neuromuscolare dell'infanzia, con un'incidenza di circa 1 su 6.000-10.000 nati vivi (sono stimati circa 21.000 bambini malati in Europa e 2.500 in Italia, di cui circa 100 in Piemonte). Si tratta della più comune malattia genetica fatale in età pediatrica. Le cellule colpite sono i motoneuroni, cellule nervose presenti nel midollo spinale in grado di trasmettere gli impulsi motori ai muscoli scheletrici e di farli contrarre: la loro morte determina la progressiva compromissione ed atrofia dei muscoli. Tuttavia, è ormai riconosciuto che malattia possa influenzare negativamente anche il funzionamento di altri organi, come il cuore, il pancreas ed il pancreas.

La SMA è dovuta alla mutazione/delezione del gene SMN1 (gene per la sopravvivenza dei motoneuroni): negli esseri umani, ci sono due geni SMN, la forma telomerica SMN1 che codifica per una proteina ubiquitaria (full-length SMN o FL-SMN), e il suo omologo centromerico SMN2 che per lo più genera una proteina tronca ( $\Delta 7$ -SMN), che non è funzionale (Lorson et al., 1999). In caso di SMA dunque diminuisce la quantità di proteina funzionante, la cui produzione viene a dipendere unicamente dal gene SMN2.

A seconda della quantità di proteina SMN funzionale disponibile, i bambini hanno differenti problemi motori. Nella SMA I non riescono a mettersi in stazione eretta ed hanno gravi problemi di respirazione e deglutizione, tanto da usare degli ausili meccanici.

Nella SMA II, cominciano a gattonare/camminare, ma ben presto i muscoli vanno incontro ad atrofia e necessitano di ausili per la deambulazione: non sono in grado di mantenere la stazione

eretta, tanto da dover subire interventi di fissazione della colonna vertebrale. Solo nelle forme più lievi (SMA III) i soggetti colpiti possono riuscire a camminare con un sostegno, nonostante la debolezza muscolare.

	SMN2 copy number	Disease onset	Highest motor function achieved	Clinical features	Average survival
Type I (severe; Werdnig-Hoffmann disease)	1-2	0-6 months	Never sit unaided	Hypotonia; symmetrical flaccid paralysis; limited head control; poor spontaneous motility; tongue fasciculation; respiratory distress	<2 years
Type II (intermediate)	3	7-18 months	Sit; Never stand unaided	Tremors of upper extremities; deep tendon reflex lack; joint contractures; kyphoscoliosis; masticatory muscle weakness	10-40 years
Type III (mild; Kugelberg-Welander disease)	3-4	>18 months	Stand and walk (depending on the disease severity)	Muscular weakness (depending on the disease severity)	Adult
Type IV (adult)	>4	20-30 years	Walk unaided	No relevant motor symptoms; no respiratory and nutritional problems	Adult

Fig. 1 – Classificazione delle forme di SMA (da Boido e Vercelli, 2016)

Sono oggi disponibili tre trattamenti SMN-dipendenti per i pazienti (Spinraza, Zolgensma, Evrysdi). Spinraza (Nusinersen) è stato il primo farmaco ad essere stato approvato dalla Food and Drug Administration (FDA) e dall’Agenzia Europea per i Medicinali (EMA). È prodotto dall’azienda Biogen. È un oligonucleotide antisenso (ASO) con la funzione di indurre l’espressione della proteina FL-SMN, agendo su SMN2 ed aumentando la produzione della proteina contenente 3 l’esone 7 (FL-SMN). Viene somministrato per via intratecale. Zolgensma (Onasemnogene Apeparvovec/AVXS-101) è stato approvato dall’FDA nel 2019 e dall’EMA nel 2020. È prodotto dall’azienda Novartis. Si tratta di una terapia genica: infatti, Zolgensma è usato per sostituire il gene SMN1, che risulta mancante, grazie all’uso di un adenovirus. Viene somministrato per via endovenosa. Evrysdi (Risdiplam) è prodotto dall’azienda Roche ed è stato approvato nel 2020 dall’FDA e nel 2021 da EMA per il trattamento dei pazienti SMA a partire dall’età di due mesi. Come Nusinersen, Risdiplam induce un aumento dell’espressione di FL-SMN, agendo su SMN2. Risdiplam può essere somministrato quotidianamente per via orale.

Tali terapie SMN-dipendenti risultano estremamente efficaci, soprattutto se somministrate precocemente, ma hanno ancora numerosi limiti: i) invasività della via di somministrazione (Spinraza), ii) effetti collaterali più o meno gravi, iii) costi elevati, iv) effetti a lungo termine ancora sconosciuti e possibile tossicità indotta da sovraespressione di SMN a lungo termine, v) mancata considerazione dei bersagli indipendenti da SMN, vi) efficacia limitata nei pazienti più lievi o trattati tardivamente. Ciò giustifica la continua ricerca nella comprensione dei meccanismi cellulari e molecolari alla base della patologia e nello sviluppo di terapie sempre più efficaci e/o complementari.

Da diversi anni, presso il **Neuroscience Institute Cavalieri Ottolenghi (NICO)** di Orbassano (TO), il gruppo del Prof. Vercelli e della Prof.ssa Boido (<http://www.nico.ottolenghi.unito.it/index.php/it/brain-development-and-disease>) studia la SMA, utilizzando modelli in vitro (colture cellulari di neuroni corticali, fibroblasti e mioblasti) ed in vivo (topo SMN delta7, modello di SMA severa) della malattia, al fine di indagare i meccanismi patogenetici della SMA e sviluppare nuove strategie terapeutiche. Negli ultimi anni, i nostri sforzi si sono concentrati nello studio 1) dei meccanismi molecolari, cellulari e subcellulari con cui i motoneuroni degenerano e muoiono, 2) di molecole che possano rallentare la morte dei motoneuroni e proteggerli e 3) di trattamenti in grado di prevenire l'atrofia dei muscoli che caratterizza la malattia.

L'**Associazione Girotondo Onlus** è stata fondamentale finanziatore delle nostre ricerche e, grazie al suo sostegno, abbiamo potuto ottenere importanti risultati come dimostrato nelle pubblicazioni qui sotto elencate.

Riassumiamo qui le principali pubblicazioni del gruppo sul tema:

- Rasà DM\*, Stanga S\*, Santonicola P, Mazzarella N, Camera A, Matino I, Zampi G, Boido M, Di Schiavi E, Vercelli A. *10H-Phenothiazine exerts beneficial effects in spinal muscular atrophy in vitro and in vivo models. Accettato su Scientific Reports.*
- Hassan A, di Vito R, Caretto A, Nuzzo T, D'Amico A, Panicucci C, Bruno C, Bertini E, Vercelli A, Boido M, Errico F, Pellizzoni L, Usiello A. *Nusinersen corrects L-arginine deficiency in the cerebrospinal fluid of patients with severe spinal muscular atrophy. Neurobiol Dis. 2025 Oct 1;214:107046. doi: 10.1016/j.nbd.2025.107046.*
- Virla F, Turano E, Scambi I, Schiaffino L, Boido M\*, Mariotti R\*. *Administration of adipose-derived stem cells extracellular vesicles in a murine model of spinal muscular atrophy: effects of a new potential therapeutic strategy. Stem Cell Res Ther. 2024 Apr 1;15(1):94. doi: 10.1186/s13287-024-03693-5.*
- Boido M, Gesmundo I, Caretto A, Pedrolli F, Schellino R, Leone S, Cai R, Sha W, Ghigo E, Schally AV, Vercelli A, Granata R. *Agonist of growth hormone-releasing hormone improves the disease features of spinal muscular atrophy mice. Proc Natl Acad Sci U S A. 2023 Jan 10;120(2):e2216814120. doi: 10.1073/pnas.2216814120. (<https://www.nico.ottolenghi.unito.it/Ricerca/News-ricerca/Una-nuova-molecola-che-rallenta-la-progressione-della-SMA-l-Atrofia-Muscolare-Spinale> ; <https://www.youtube.com/watch?v=E7Z-AbLCOvY&t=2s> )*
- Menduti G\*, Mamchaoui K, Martinat C, Artero R, Konieczny P, Boido M. *Moxifloxacin rescues SMA phenotypes in patient-derived cells and animal model. Cell Mol Life Sci. 2022 Jul 22;79(8):441. (<https://www.nico.ottolenghi.unito.it/Ricerca/News-ricerca/Riposizionamento-dei-farmaci-la-moxifloxacina-un-antibiotico-potrebbe-fermare-la-SMA>)*
- Boido M, De Amicis E, Mareschi K, Fagioli F, Vercelli A. *Organotypic spinal cord cultures: An in vitro 3D model to preliminary screen treatments for spinal muscular atrophy. Eur J Histochem. 2021 Nov 4;65(s1):3294.*
- Stanga S, Boido M, Kienlen-Campard P. *How to Build and to Protect the Neuromuscular Junction: The Role of the Glial Cell Line-Derived Neurotrophic Factor. Int J Mol Sci. 2020 Dec 24;22(1):136.*
- Menduti G, Rasà DM, Stanga S, Boido M. *Drug Screening and Drug Repositioning as Promising Therapeutic Approaches for Spinal Muscular Atrophy Treatment. Front Pharmacol. 2020 Nov 12;11:592234.*

- Schellino R, Boido M, Vercelli A. *The Dual Nature of Onuf's Nucleus: Neuroanatomical Features and Peculiarities, in Health and Disease.* *Front Neuroanat.* 2020 Sep 4;14:572013.
- Stanga S, Caretto A, Boido M, Vercelli A. *Mitochondrial Dysfunctions: A Red Thread across Neurodegenerative Diseases.* *Int J Mol Sci.* 2020 May 25;21(10):3719. doi: 10.3390/ijms21103719. PMID: 32466216; PMCID: PMC7279270.
- Boido M, Butenko O, Filippo C, Schellino R, Vrijbloed JW, Fariello RG, Vercelli A. *A new protein curbs the hypertrophic effect of myostatin inhibition, adding remarkable endurance to motor performance in mice.* *PLoS One.* 2020 Mar 11;15(3):e0228653. doi: 10.1371/journal.pone.0228653. PMID: 32160187; PMCID:PMC7065788.
- Schellino R, Boido M, Vercelli A. *JNK Signaling Pathway Involvement in Spinal Cord Neuron Development and Death.* *Cells.* 2019 Dec 5;8(12):1576. doi:10.3390/cells8121576. PMID: 31817379; PMCID: PMC6953032.
- Piras A, Boido M. *Autophagy inhibition: a new therapeutic target in spinal muscular atrophy.* *Neural Regen Res.* 2018 May;13(5):813-814.
- Schellino R, Boido M, Borsello T, Vercelli A. *Pharmacological c-JunNH(2)-Terminal Kinase (JNK) Pathway Inhibition Reduces Severity of Spinal Muscular Atrophy Disease in Mice.* *Front Mol Neurosci.* 2018 Sep 4;11:308.
- Boido M, De Amicis E, Valsecchi V, Trevisan M, Ala U, Ruegg MA, Hettwer S, Vercelli A. *Increasing Agrin Function Antagonizes Muscle Atrophy and Motor Impairment in Spinal Muscular Atrophy.* *Front Cell Neurosci.* 2018 Jan 30;12:17.
- Piras A, Schiaffino L, Boido M, Valsecchi V, Guglielmotto M, De Amicis E, Puyal J, Garcera A, Tamagno E, Soler RM, Vercelli A. *Inhibition of autophagy delays motoneuron degeneration and extends lifespan in a mouse model of spinal muscular atrophy.* *Cell Death Dis.* 2017 Dec 20;8(12):3223.
- Boido M, Vercelli A. *Neuromuscular Junctions as Key Contributors and Therapeutic Targets in Spinal Muscular Atrophy.* *Front Neuroanat.* 2016 Feb 3;10:6. doi: 10.3389/fnana.2016.00006. eCollection 2016.
- Valsecchi V, Boido M, De Amicis E, Piras A, Vercelli A. *Expression of Muscle-Specific MiRNA 206 in the Progression of Disease in a Murine SMA Model.* *PLoS One.* 2015 Jun 1;10(6):e0128560. doi: 10.1371/journal.pone.0128560.
- d'Errico P, Boido M, Piras A, Valsecchi V, De Amicis E, Locatelli D, Capra S, Vagni F, Vercelli A, Battaglia G. *Selective vulnerability of spinal and cortical motor neuron subpopulations in delta7 SMA mice.* *PLoS One.* 2013 Dec 6;8(12):e82654. doi: 10.1371/journal.pone.0082654.

Nell'insieme, tali pubblicazioni hanno permesso di fare luce sui meccanismi che causano la morte dei motoneuroni coinvolti nella neurodegenerazione che caratterizza la malattia, e possano rappresentare due nuovi bersagli terapeutici. Inoltre, abbiamo contribuito a chiarire che la SMA, seppur classicamente classificata come una malattia del motoneurone, abbia in realtà una patogenesi ben più complessa, ed in particolare il muscolo e la corteccia cerebrale possa rappresentare un ulteriore bersaglio della patologia. Abbiamo quindi testato nuove molecole i) capaci di incrementare la produzione di SMN (mediante un approccio di "riposizionamento farmacologico") oppure ii) da usare come terapia complementare agli attuali trattamenti disponibili, al fine di potenziare l'innervazione muscolare e contrastare efficacemente l'atrofia, o rallentare la neurodegenerazione in maniera SMN-indipendente.

Il sostegno dell'Associazione Girotondo Onlus è stato anche fondamentale per porre le basi scientifiche per l'ottenimento di importanti finanziamenti (Telethon italiano e francese, SMA Europe, Cure SMA), per studiare alcuni aspetti della patogenesi della SMA e testare possibili trattamenti (si veda oltre).

Sulla base di queste premesse, intendiamo proseguire le nostre ricerche, studiando in maniera ancora più approfondita il ruolo di SMN e le alterazioni cellulari che caratterizzano la malattia, ed identificando nuovi approcci terapeutici.

Gli studi proposti saranno realizzati nell'Istituto di Neuroscienze della Fondazione Cavalieri Ottolenghi (NICO) di Orbassano (TO) (<http://www.nico.ottolenghi.unito.it/ita>). I laboratori del NICO coprono una superficie di circa 4000 metri quadri e sono forniti di strumentazioni d'avanguardia. Il laboratorio di microscopia è dotato, tra gli altri, di due microscopi confocali, un microscopio a due fotoni, un microscopio light sheet, ed un microscopio elettronico 3D. Il laboratorio di biologia molecolare comprende un sistema semi-automatico per la purificazione di acidi nucleici, tre macchine per RT-PCR, strumenti per l'estrazione e l'analisi di DNA, RNA e proteine.

Il progetto attuale prevede il finanziamento di una borsa di studio per una unità personale, che era già stata finanziata nell'anno precedente dalla Associazione. Nel 2024, la Fondazione Cavalieri Ottolenghi ha bandito una borsa di studio intitolata a "Piero Taverna", nell'ambito del Progetto "Nutrire i talenti per far crescere la Ricerca", promosso in collaborazione con l'Università degli Studi di Torino e cofinanziato dall'Associazione Girotondo Onlus: vincitrice del Bando è stata la dott.ssa Federica La Rocca. La dott.ssa Rocca ha svolto il proprio lavoro con impegno e competenza, contribuendo in modo significativo all'ampliamento delle nostre conoscenze sul coinvolgimento della corteccia cerebrale nella SMA: per questi motivi, si ritiene opportuno proporre il rinnovo della sua borsa di studio. Nei progetti SMA del gruppo sono inoltre coinvolte: Roberta Schellino (RTDb), Giovanna Menduti (tecnologa), Anna Caretto, Ersilia Nicorvo, Daniela Rasà, Gianna Pavarino, Francesco Zummo (dottorandi).

Nel corso dell'anno 2025, i più recenti risultati sono stati presentati in numerose conferenze: 97° Convegno SIBS (Catania, 10-13/04/2025), 21° congresso SINS (Pisa, 10-13/09/2025), 8° BraYn Conference (Torino, 29-31/10/2025), 35° congresso GISN (Torino, 28-29/11/2025).

Come d'abitudine, tutti i lavori hanno indicato tra i ringraziamenti l'Associazione Girotondo onlus.

Inoltre, la Prof.ssa Boido ha cominciato la pianificazione della 4° edizione del workshop "Motor neuron diseases: understanding the pathogenetic mechanisms to develop therapies", evento

scientifico internazionale che si terrà nel mese di novembre 2026 e che vedrà la partecipazione di ricercatori di base e clinici italiani e stranieri.

### ATTIVITA' DI RICERCA

Le attività di ricerca previste per il prossimo anno rappresentano la prosecuzione di quelle attualmente in corso, al fine di completare i progetti già avviati (punti 1-3), ma comprendono anche l'avvio di nuove linee di studio in collaborazione con nuovi gruppi di ricerca (punto 4) e che hanno ottenuto un recente finanziamento (punto 5). Come già evidenziato, relazioni sui dati ottenuti sono state presentate a diversi congressi nazionali e internazionali nel corso dell'anno.

#### 1) Caratterizzazione di alterazioni corticali in un modello murino di SMA

Nonostante la SMA sia stata tradizionalmente considerata una malattia dei motoneuroni inferiori, studi più recenti hanno evidenziato che la carenza di SMN ha un impatto anche su altre strutture, compreso il cervello, suggerendo che la SMA sia una patologia con un coinvolgimento sistemico più ampio di quanto si credesse inizialmente. Stiamo dunque valutando possibili alterazioni a livello della corteccia sensomotoria nei topi SMA. In precedenza abbiamo studiato i neuroni corticofugali e callosali dello strato V della corteccia cerebrale, evidenziando alterazioni morfologiche precoci (al giorno postnatale 5, P5) e una riduzione della densità neuronale nella fase sintomatica (P11). Considerando tali risultati, è stata successivamente esaminata la popolazione di neuroni corticotalamici dello strato VI. Le analisi di densità e morfologia, effettuate mediante traccianti fluorescenti iniettati nel talamo, non hanno mostrato differenze significative tra animali SMA $\Delta$ 7 e controlli WT.

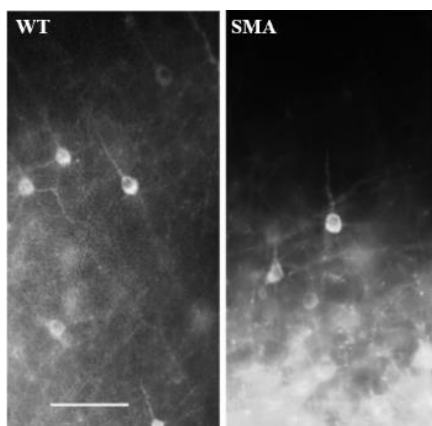


Fig. 1. L'immagine illustra le proiezioni e la morfologia dei neuroni corticotalamici localizzati nello strato VI della corteccia, analizzati mediante tracciamento retrogrado con DiI in animali WT (destra) e SMA (sinistra).

Questi dati suggeriscono che non tutti i tipi di neuroni corticali presentano la medesima sensibilità alla carenza della proteina SMN, evidenziando una vulnerabilità neuronale selettiva nella

patogenesi della SMA che ci proponiamo di valutare ulteriormente mediante future analisi (utilizzando ad es. tecniche di biologia molecolare e trascrittomica).

Nella parte successiva del progetto, ci siamo concentrati sulla valutazione di potenziali alterazioni presenti nella corteccia cerebrale degli animali SMA durante le fasi di sviluppo embrionale degli strati della corteccia cerebrale. Abbiamo preso in considerazione giorni embrionali specifici (E12, E14, E15, E17, e sono in corso le analisi ad E13) per marcare le cellule in proliferazione in momenti distinti della neurogenesi. Successivamente, abbiamo analizzato la distribuzione e il numero dei neuroni attraverso l'intera estensione della corteccia.

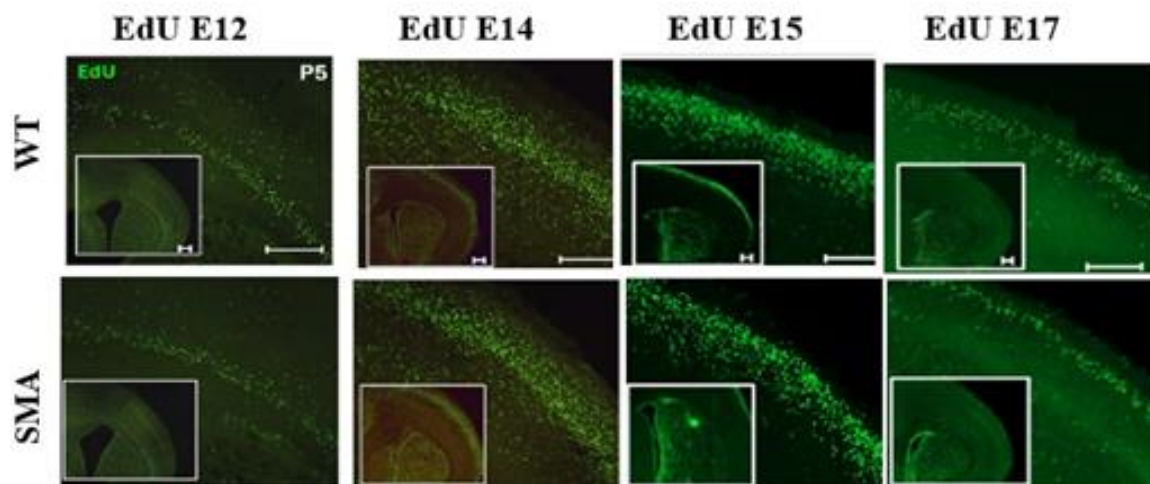


Fig 2. Immagini rappresentative delle sezioni corticali di animali WT (pannelli superiori) e SMA (pannelli inferiori), ottenute a P5 dopo la marcatura delle cellule in proliferazione in diversi stadi embrionali: E12, E14, E15 ed E17.

Le analisi stanno rivelando differenze significative tra gli animali SMA e controlli WT che risultano particolarmente evidenti per le cellule al tempo E14, periodo cruciale in cui si sta completando lo sviluppo e la stratificazione dei neuroni corticofugali.

*SINTESI DIVULGATIVA: Questa linea di ricerca sta rivelando che la corteccia cerebrale ha un ruolo chiave nella SMA. Abbiamo osservato importanti alterazioni nei neuroni che collegano la corteccia ad altre aree del cervello, mentre altre popolazioni neuronali sembrano più resistenti alla carenza della proteina SMN. Questi cambiamenti compaiono molto presto, già nelle fasi di formazione della corteccia. I risultati potranno aiutare a capire meglio come la malattia si sviluppa e ad aprire la strada all'identificazione di segnali patologici precoci e di nuovi possibili obiettivi terapeutici.*

## 2) Analisi della neurotrasmissione inibitoria nella corteccia cerebrale SMA

Abbiamo inoltre ampliato, i nostri studi sulle alterazioni della neurotrasmissione inibitoria a livello della corteccia cerebrale dei topi SMA. Mediante un approccio combinato di tecniche di imaging,

analisi molecolari e caratterizzazione elettrofisiologica della neurotrasmissione inibitoria corticale, abbiamo esaminato la segnalazione GABAergica, il metabolismo e la funzione degli interneuroni nella corteccia sensori-motoria e in co-culture primarie di neuroni e astrociti di topi SMA. Inoltre, analisi bioinformatiche e saggi biochimici sono stati condotti per valutare la modulazione dei sistemi di neurotrasmissione e quantificare metaboliti chiave nelle diverse fasi della malattia, con l'obiettivo di correlare i livelli di GABA e del suo precursore glutammina, l'espressione degli enzimi sintetici (GAD65/67) e la densità degli interneuroni positivi per Parvalbumina con la carenza di SMN. Abbiamo così identificato un'associazione significativa tra la carenza di SMN e l'alterazione della densità, morfologia e segnalazione degli interneuroni GABAergici Parvalbumina-positivi nella corteccia sensori-motoria di topi SMA in fase avanzata, con conseguente squilibrio eccitazione/inibizione che potrebbe contribuire alla vulnerabilità dei motoneuroni superiori.

*SINTESI DIVULGATIVA: Abbiamo scoperto che nella SMA la corteccia motoria non è solo “spettatrice”, ma parte attiva della malattia. Nei topi SMA, infatti, i neuroni inibitori GABAergici della corteccia mostrano alterazioni nella forma, nella densità e nella comunicazione, rompendo l'equilibrio tra segnali eccitatori e inibitori. Questo squilibrio contribuirebbe alla vulnerabilità dei motoneuroni superiori, e potenzialmente degli inferiori. Il lavoro è in revisione per la pubblicazione sulla prestigiosa rivista Cell Death & Disease.*

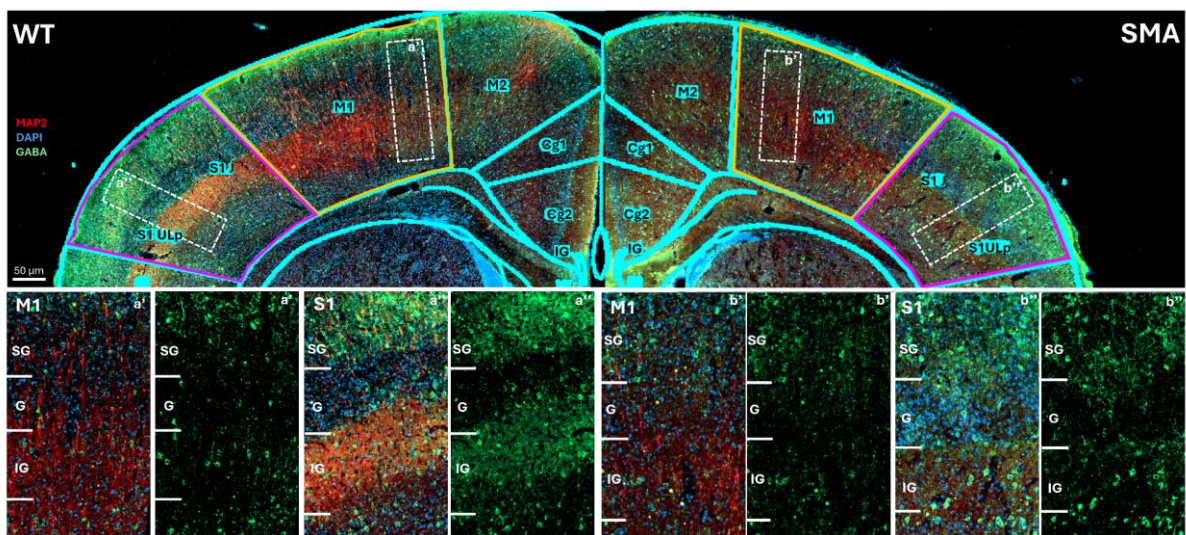


Fig. 3 – Immagini rappresentative di immunofluorescenza di sezioni cerebrali coronali co-marcate per GABA (in verde) e MAP2 (in rosso) in topi WT e SMA. I nuclei sono colorati con DAPI (blu).

### 3) Il drug repositioning per individuare nuovi trattamenti per la SMA (progetti SMA Europe e Telethon francese della prof.ssa Boido)

Il riposizionamento dei farmaci consiste nel testare in maniera sistematica farmaci per curare una patologia differente da quella per cui sono già in uso. Il “drug repositioning” ha il grande vantaggio

di ridurre fortemente tempi e costi (generalmente molto alti, ma necessari per sviluppo e sperimentazione delle molecole), dal momento che i farmaci riposizionati hanno di fatto già ottenuto le approvazioni per l'utilizzo nell'uomo e se ne conoscono effetti collaterali, dosi e tolleranza. Si possono così ridurre fortemente i tempi per passare dal bancone del laboratorio alla corsia dell'ospedale. Stiamo sfruttando questo approccio in due progetti diversi, finanziati rispettivamente da SMA Europe e Telethon francese, entrambi rinnovati per il secondo anno.

Nel primo progetto, in collaborazione con il Prof. Artero (Univ. Valencia) e la Dott.ssa Martinat (I-Stem, Parigi), la Prof.ssa Boido (insieme alla Dott.ssa Menduti) abbiamo analizzato gli effetti dell'Aloperidolo su sopravvivenza, funzione motoria, neuroprotezione e neuroinfiammazione, attraverso analisi istologiche, molecolari e di RNA-seq su midollo spinale e muscoli di topi SMA. Inoltre, abbiamo testato il farmaco in colture derivate da cellule staminali pluripotenti indotte (iPSC) di pazienti SMA, comprendenti motoneuroni e miotubi, per confermare i risultati su cellule umane. Il trattamento ha prolungato la sopravvivenza e migliorato le prestazioni motorie nei topi SMA, aumentando i livelli di SMN nel midollo spinale e nei muscoli, riducendo la perdita di motoneuroni e attenuando la neuroinfiammazione. Il farmaco ha inoltre migliorato l'integrità delle giunzioni neuromuscolari e il trofismo muscolare, suggerendo effetti benefici anche a livello periferico. Le analisi di RNA-seq hanno evidenziato ampie modifiche nello splicing, incluse quelle di trascritti regolati da SMN, indicando un incremento dell'attività funzionale. Nei modelli cellulari umani, l'aloiperidolo ha aumentato la sopravvivenza dei motoneuroni e l'espressione di SMN, sostenendo un duplice meccanismo d'azione, SMN-dipendente e neuroprotettivo. Grazie alla sua capacità di attraversare la barriera ematoencefalica e al suo uso clinico consolidato, l'aloiperidolo emerge come un promettente candidato terapeutico per la SMA, da ulteriormente ottimizzare e validare in prospettiva traslazionale.

*SINTESI DIVULGATIVA: In questo studio (attualmente in revisione nella prestigiosa rivista Experimental & Molecular Medicine) abbiamo scoperto che l'aloiperidolo, un farmaco antipsicotico già in uso clinico, può aumentare la produzione della proteina SMN, carente nella SMA. Nei topi malati il trattamento ha migliorato la sopravvivenza, la funzione motoria e ridotto l'infiammazione. Effetti simili sono stati osservati anche su cellule umane derivate da pazienti. Questi risultati aprono la strada a un possibile nuovo uso dell'aloiperidolo come terapia per la SMA. Inoltre, l'impiego dell'aloiperidolo per il trattamento della SMA è oggetto di domande di brevetto dal titolo "Haloperidol for use in the treatment of spinal muscular atrophy", di cui la Prof.ssa Boido è co-inventrice, depositate da Università di Torino, Universitat de València, CECS, INSERM Transfert e Université d'Évry – Val d'Essonne in Europa (domanda n. 22843657.2) e negli Stati Uniti (domanda n. 18/695,999), che rivendicano la priorità del PCT n. PCT/EP2022/087022.*

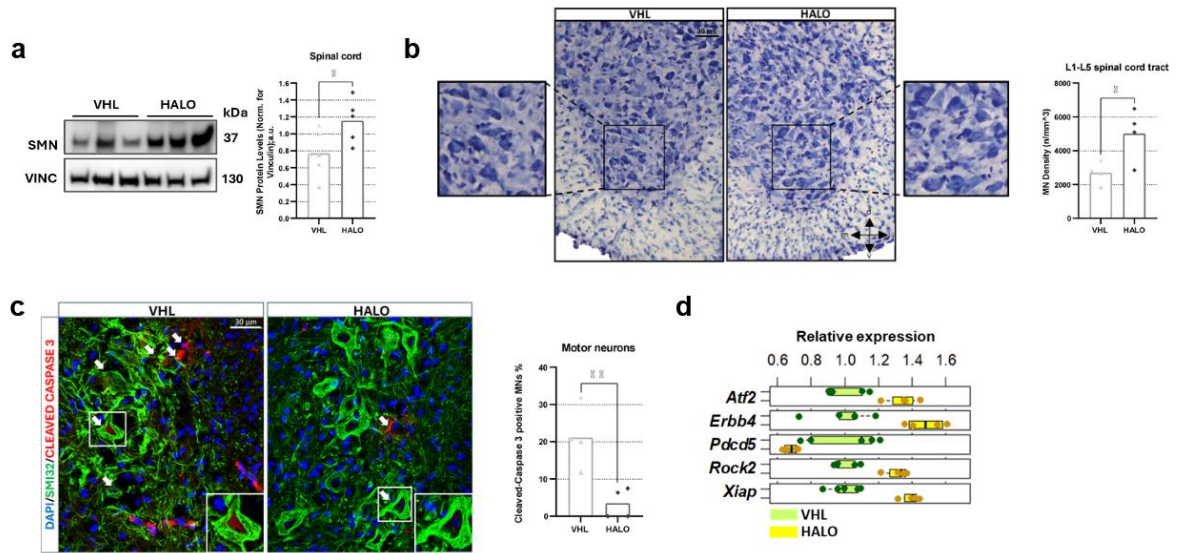


Fig. 4 – Il trattamento con aloperidolo aumenta i livelli della proteina SMN e migliora la sopravvivenza dei motoneuroni nel midollo spinale dei topi SMA $\Delta$ 7. Le analisi mostrano un incremento di SMN, una maggiore densità di motoneuroni e una riduzione delle cellule in apoptosi rispetto ai controlli. L’RNA-seq conferma inoltre la regolazione di geni legati ai processi apoptotici.

Nell’ambito del secondo progetto, in collaborazione con il Dott. Di Schiavi (CNR Napoli), abbiamo ultimato la valutazione in vitro (su neuroni, fibroblasti e cellule muscolari) altri farmaci che agiscono invece con meccanismo SMN-indipendente. Le analisi condotte ci hanno permesso di individuare un farmaco più promettente di altri, in particolare per i suoi effetti neuroprotettivi. In collaborazione con colleghi farmacologi dell’università di Torino, abbiamo individuato la via di somministrazione migliore e deciso come veicolare il farmaco in modo che possa oltrepassare la barriera ematoencefalica. Sono in corso i primi esperimenti in vivo.

Contemporaneamente, è stato accettato un lavoro su Scientific Reports in cui abbiamo validato l’utilizzo di neuroni corticali primari come modello di SMA ed inoltre abbiamo scoperto che 10H-fenotiazina esercita un’importante azione protettiva sia in vitro che nel modello di SMA in *C. elegans*, supportando il suo potenziale come nuovo candidato terapeutico.

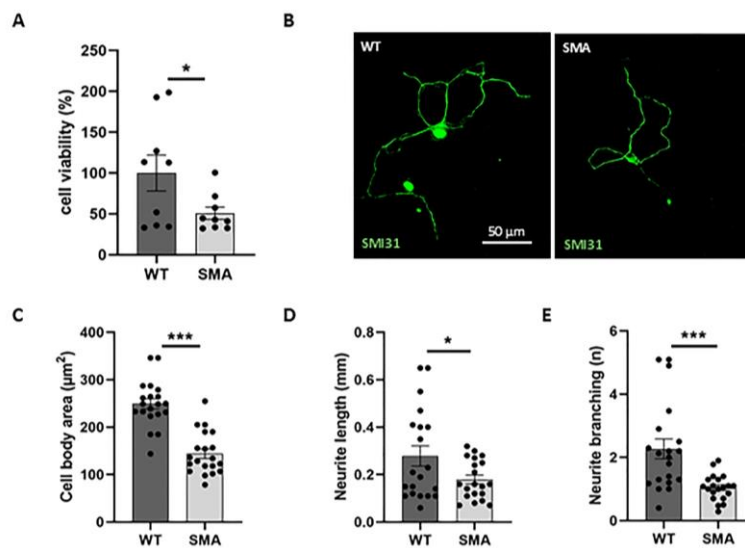


Fig. 5 – I neuroni corticali primari dei topi SMA mostrano una vitalità ridotta e alterazioni morfologiche rispetto ai controlli WT. Le analisi quantitative e le immagini immunofluorescenti confermano un fenotipo cellulare compromesso nel modello SMA.

*SINTESI DIVULGATIVA: abbiamo identificato un nuovo farmaco con un forte potenziale neuroprotettivo, potenzialmente riposizionabile per la SMA. Con i colleghi farmacologi abbiamo trovato il modo migliore per farlo arrivare al cervello e sono già iniziati i primi esperimenti sugli animali. Inoltre, un nostro studio pubblicato sulla rivista Scientific Reports mostra che la 10H-fenotiazina protegge i neuroni in modelli SMA, indicando un possibile nuovo trattamento.*

#### 4) Alterazioni del metabolismo degli amminoacidi nella SMA: nuovi biomarcatori e impatto della terapia

In collaborazione con il Prof. Usiello (Ceinge Biotecnologie Avanzate, Napoli) abbiamo avviato una nuova linea di ricerca, incentrata sullo studio il metabolismo di specifici aminoacidi coinvolti nella neurotrasmissione, per capire meglio come la carenza di SMN alteri l'equilibrio neurochimico nella SMA.

In un primo studio, abbiamo analizzato la L-arginina, un aminoacido fondamentale per la segnalazione glutamatergica e per la plasticità sinaptica. Utilizzando HPLC, abbiamo osservato una significativa riduzione dei livelli di L-arginina nel tronco encefalico e nel midollo spinale dei topi SMA sintomatici. Lo stesso difetto è stato individuato nel liquido cerebrospinale dei pazienti SMA1, mentre i pazienti con forme più lievi mostravano valori meno compromessi. Importante è che il trattamento con Nusinersen ristabilisca completamente i livelli di L-arginina nei pazienti SMA1, indicando che l'aumento di SMN corregge questo squilibrio metabolico. Questo lavoro è stato pubblicato quest'anno sulla rivista Neurobiology of Disease.

Nel secondo progetto abbiamo invece indagato la taurina, un aminoacido chiave nella neuroprotezione, nella regolazione dello stress ossidativo e nella trasmissione sinaptica. Anche in questo caso, l'HPLC ha rivelato una forte riduzione della taurina nel tronco encefalico dei topi SMA nelle fasi tardive della malattia. Tali alterazioni sono state confermate nei pazienti: i bambini con SMA1 naïve presentavano livelli di taurina significativamente più bassi rispetto ai controlli. Ancora una volta, la terapia con Nusinersen ha normalizzato la taurina nel CSF dei pazienti più gravi.

Nel complesso, i due studi dimostrano che la carenza di SMN compromette l'omeostasi di aminoacidi cruciali per la funzione neuronale e che le terapie SMN-dipendenti possono ripristinare queste alterazioni biochimiche. Ciò suggerisce un ruolo finora sottovalutato delle disfunzioni metaboliche nella patologia SMA e apre nuove prospettive per identificare biomarcatori e bersagli terapeutici aggiuntivi.

SINTESI DIVULGATIVA: Abbiamo scoperto che nella SMA alcuni aminoacidi importanti per la comunicazione e la protezione dei neuroni, come L-arginina e taurina, sono molto ridotti sia nei topi sia nei pazienti con forme gravi. Questo squilibrio potrebbe contribuire ai problemi del sistema nervoso. Il trattamento con Nusinersen è in grado di riportare questi livelli alla normalità, mostrando che la terapia può correggere alcune alterazioni chimiche legate alla malattia.

5) Epitranscrittomica e SMA: verso future terapie combinate (progetto CureSMA della prof.ssa Boido)

In collaborazione con il Dott. Rico Schieweck (Univ, Lussemburgo) e la Dott.ssa Gabriella Viero (CNR, Trento), la Prof.ssa Boido ha recentemente ottenuto un finanziamento CureSMA: in questo nuovo progetto si vuole capire come SMN regoli i programmi di espressione genica necessari al corretto funzionamento dei neuroni, così da sviluppare future terapie combinate. I colleghi hanno identificato nella metilazione dell'adenosina (m6A) una modifica dell'RNA essenziale, che dipende dalla presenza di SMN. La perdita di m6A altera vie neuronali cruciali per funzioni cognitive come l'apprendimento e potrebbe spiegare difetti residui nei pazienti trattati. Per approfondire questo legame, saranno utilizzati modelli di SMA (cellule di pazienti, linee neuronali e topi SMA) insieme ad analisi genomiche avanzate per mappare m6A ed effetti sui neuroni. Infine, verrà testato se molecole che aumentano m6A possano essere combinate con le terapie SMN per correggere meglio i difetti cellulari. L'obiettivo è proporre l'epitranscrittoma come nuovo bersaglio terapeutico per rendere più complete ed efficaci le cure della SMA.

SINTESI DIVULGATIVA: Il progetto parte dall'evidenza che le terapie attuali per la SMA permettono ai bambini di vivere più a lungo, ma mostrano che la malattia è più complessa del previsto: alcuni pazienti trattati hanno ancora difficoltà cognitive. Questo progetto studia una particolare modificazione dell'RNA, chiamata m6A, che aiuta i neuroni a funzionare correttamente e che dipende dalla presenza della proteina SMN. Quando SMN è carente, questa modificazione diminuisce e diversi processi cerebrali ne risentono. L'obiettivo è capire se ripristinare la m6A, insieme alle terapie già disponibili, possa migliorare ulteriormente i sintomi della SMA.

Torino, 24.11.2025



Marina Boido e Alessandro Vercelli

<http://www.nico.ottolenghi.unito.it/ita/Ricerca/Gruppi-di-ricerca/Sviluppo-e-patologia-del-cervello>  
Neuroscience Institute Cavalieri Ottolenghi,  
Regione Gonzole 10, 10043 Torino  
tel 0116706617/7700 fax 011/2366617