

L'encefalopatia epilettica e dello sviluppo correlata a SYNGAP1: una malattia genetica rara

Dr. Gian Marco Giobbio, medico psichiatra – Direttore medico Centro Sant'Ambrogio e Sacro Cuore di Gesù – Fatebenefratelli -; Associazione Famiglie SYNGAP1 Italia

Stato dell'arte

Il cervello rappresenta il centro del sistema nervoso ed è l'organo più complesso del corpo. Tutte le attività quotidiane sono regolate dall'attività cerebrale: la capacità di prendere decisioni, la memoria, le emozioni, i rapporti sociali, dipendono unicamente dal suo buon funzionamento. Il cervello permette all'individuo di comunicare, di fare calcoli matematici, di utilizzare diversi linguaggi, di apprezzare musica, rappresentazioni teatrali o sportive, di leggere, di organizzare e pianificare la propria vita e di immaginare. Alla base del buon funzionamento del sistema nervoso centrale vi è un normale sviluppo cerebrale favorito da esperienze sensoriali, cognitive ed emotive che modellano la formazione e il raffinamento delle sinapsi cerebrali su cui poggia tutta la connessione. Oggi sappiamo che una alterazione del funzionamento delle spine dendritiche e della struttura dei circuiti neuronali è una delle principali cause di disabilità intellettiva e dei disturbi dello spettro autistico. Gli studi derivanti da modelli animali suggeriscono che proprio le mutazioni a carico dei geni che codificano le proteine regolatorie delle funzioni sinaptiche sono principalmente responsabili dei disturbi del neurosviluppo. Una quota rilevante delle sinapsi delle spine dendritiche utilizza il glutammato come mediatore eccitatorio, sostanza utilizzata nel sistema nervoso centrale per attivare particolari recettori detti NMDAR. La proteina SYNGAP è una componente a valle del complesso recettoriale NMDAR con la funzione di regolare negativamente il sistema.

La sindrome da mutazione del gene SYNGAP1, denominata anche ritardo mentale autosomico dominante 5 (MRD5) o encefalopatia epilettica e dello sviluppo correlata a SYNGAP1 è una patologia identificata solo negli ultimi anni e caratterizzata da deficit cognitivo moderato/severo, disturbi dello spettro autistico, epilessia e numerose anomalie comportamentali associate quali disturbo del sonno, dell'alimentazione, del linguaggio e motorio. L'origine del disturbo è legata ad una modificazione genetica che impedisce la normale produzione della proteina SYNGAP primariamente coinvolta nel regolare la plasticità sinaptica.

La proteina SYNGAP agisce da potente regolatore della trasmissione del segnale biochimico nei neuroni e svolge ruoli critici nella loro funzione. E' stata identificata per la prima volta nel 1998 (Chen et al., 1998 ; Kim et al., 1998) e da allora è stato ampiamente dimostrato come essa svolga un importante ruolo nella plasticità neuronale e risulti fondamentale per lo sviluppo delle normali funzioni cognitive. Sebbene la struttura e la funzione biochimica di questa proteina siano state ben caratterizzate, resta da raggiungere una comprensione univoca sul suo ruolo nella sinapsi nella funzione neuronale.

La proteina SYNGAP è espressa principalmente nel cervello, ma è presente in bassa concentrazione anche in altri tessuti, inclusi polmoni, reni e testicoli (Chen et al., 1998). All'interno del cervello, la sua espressione è più alta nelle strutture del proencefalo, tra cui la corteccia, l'ippocampo e il bulbo olfattivo

La mutazione del gene SYNGAP che causa disabilità intellettiva e disturbi dello spettro autistico, è strettamente legata ad una alterazione nella regolazione delle funzioni sinaptiche. Fino a pochi anni orsono non era chiaro quale fosse il meccanismo neurofisiologico che causava disabilità intellettiva

nei soggetti affetti da mutazione Syngap1. Attraverso lo studio di modelli animali è stato dimostrato che la riduzione del 50% dei livelli di Syngap1 è sufficiente a determinare un incremento significativo nelle anomalie delle spine dendritiche durante le fasi precoci dello sviluppo del cervello con la conseguenza di generare un deficit di funzionamento cognitivo e sociale del soggetto.

Le proteine SYNGAP mediano diverse funzioni cellulari (Llamosas et al., 2020 ; Kilinc et al., 2018 ; Gamache et al., 2020) tra le quali quella meglio studiata riguarda la regolazione della struttura e della funzione delle sinapsi eccitatorie localizzate sui neuroni del proencefalo. In queste sinapsi, la maggiore concentrazione di questa proteina si osserva nell'ambito di complessi proteici che comprendono famiglie di proteine associate alla sinapsi (SAP) (Kim et al., 1998 ; Chen et al., 1998). All'interno di questi complessi, le proteine SYNGAP svolgono la funzione di regolatori del segnale mediato dai recettori per il glutammato limitando l'espressione delle sinapsi eccitatorie. (Ozkan et al., 2014 ; Araki et al., 2015). Una aploinsufficienza della proteina SYNGAP nei neuroni umani e nei roditori provoca una iperattività delle sinapsi eccitatorie durante lo sviluppo precoce del cervello e si ipotizza che questo meccanismo sia alla base della compromissione del funzionamento cognitivo (Llamosas et al., 2020 ; Clement et al., 2012 ; Clement et al., 2013). SYNGAP regola inoltre l'arborizzazione dendritica e la ridotta espressione della proteina SYNGAP ne compromette lo sviluppo (Llamosas et al., 2020 ; Aceti et al., 2015 ; Michaelson et al., 2018). In particolare si osserva come alcuni neuroni siano sottoposti a morfogenesi dendritica precoce (Llamosas et al., 2020 ; Aceti et al., 2015), mentre altri mostrano una morfogenesi stentata (Michaelson et al., 2018).

La letteratura scientifica pubblicata in merito alla mutazione SYNGAP1 nell'uomo, è assai recente. Il primo lavoro (Hamban et al 2009), pubblicato sulla prestigiosa rivista scientifica The new England Journal of Medicine, data 2009. Gli autori hanno osservato come numerose forme di ritardo mentale fossero associate ad anomalie nella morfologia delle spine dendritiche e come questa evidenza suggerisse che un'alterazione delle vie nervose che coinvolgesse la plasticità neuronale potesse essere una via comune del disturbo. L'attenzione si è dunque focalizzata sulla proteina SYNGAP in quanto a) primariamente coinvolta nelle vie di trasmissione dei segnali collegati ai recettori delle spine dendritiche eccitatorie e b) in relazione all'osservazione delle disfunzioni cognitive in modelli animali con mutazione eterozigote nel gene SYNGAP1. Il primo studio (Hamdan et al, 2009) è stato effettuato su 94 soggetti affetti da ritardo mentale. L'amplificazione della regione che codifica per la proteina SYNGAP ha permesso di individuare 3 pazienti con mutazioni dell'area esaminata, mutazioni definite "de novo" in quanto non presenti nei familiari di primo grado dei pazienti studiati. Era nata una nuova patologia: la sindrome da mutazione del gene SYNGAP1. I tre pazienti con le mutazioni de novo, la cui età variava da 4 a 11 anni, avevano profili clinici simili che, come vedremo in seguito, rappresentano le caratteristiche tipiche di questi pazienti. Sono tutti nati da genitori non consanguinei dopo gravidanza e parto descritti come normali. Il loro sviluppo era caratterizzato da ritardo globale e ipotonia, con un ritardo nell'acquisizione della demambulazione (in media ai 2 anni di età). Le scale psicometriche mostravano profili coerenti con un ritardo mentale da moderato a grave in tutti i pazienti. Le interazioni sociali non verbali erano all'interno del range di normalità. In un paziente veniva rilevata la presenza di strabismo. Questo primo studio evidenziava che approssimativamente il 3% di tutti i pazienti con ritardo mentale non sindromico mostravano una mutazione de novo del gene SYNGAP1.

L'identificazione della specifica mutazione genetica alla base della malattia ha aperto la strada allo studio dei soggetti affetti da mutazione SYNGAP1. Gli studi successivi hanno posto attenzione all'identificazione delle principali caratteristiche cliniche dei questi soggetti. A.C.V. Krepischi et al. nel 2010 pubblica i dati di un ragazzo con mutazione SYNGAP1 descrivendo alcuni tratti caratteristici: ritardo nello sviluppo motorio, ritardo mentale, iperattività con deficit dell'attenzione,

gravi difficoltà nel linguaggio, faccia allungata, fronte alta, padiglioni auricolari ipoplastici, pseudo-criptorchidismo, generale iperestensibilità delle articolazioni, piega palmare singola, piede piatto. Sin da questo primo studio appariva evidente l'assenza di anomalie cerebrali strutturali evidenziabili all'analisi tomografica.

Nel 2011 F.F Hamdam studia il DNA di soggetti affetti da disabilità intellettiva nella forma non sindromica, ovvero soggetti privi di peculiari caratteristiche morfologiche o metaboliche. Il lavoro rappresenta un'evoluzione del primo storico lavoro effettuato nel 2009. In questa seconda ricerca sono stati analizzati 69 soggetti affetti da ritardo mentale, 20 dei quali affetti anche da disturbi dello spettro autistico. L'analisi genetica dimostrava una mutazione de novo SYNGAP1 in 3 pazienti affetti da disabilità intellettiva non sindromica. Questo dato si aggiungeva agli altri tre soggetti con mutazione SYNGAP1 identificati nel precedente studio. Il dato appare sorprendente se messo in relazione al campione di controllo: 570 individui in cui non è stata identificata alcuna mutazione. Gli autori concludevano indicando come la perdita di un allele SYNGAP1, sufficiente a danneggiare la plasticità delle sinapsi in modelli animali, è verosimilmente in grado di danneggiare il funzionamento anche del cervello umano. Il fenotipo (ovvero le caratteristiche morfologiche e funzionali derivanti dall'espressione del genotipo) dei soggetti affetti da mutazione SYNGAP1 evidenziato in questo studio erano: disabilità intellettiva moderata/severa, presenza di epilessia in due soggetti su tre e presenza un disturbo dello spettro autistico in un soggetto. Gli autori concludevano suggerendo la necessità di una analisi genetica approfondita con la ricerca di mutazioni SYNGAP1 in tutti i casi di disabilità intellettiva moderata/severa non sindromica con o senza epilessia associata. Lo studio ipotizzava inoltre la possibile correlazione tra mutazione SYNGAP1 e autismo.

Un ulteriore passaggio nell'identificazione della sintomatologia tipica correlata alla mutazione SYNGAP1 la si trova nella breve comunicazione del 2011 sulla rivista Epilessia, in cui gli autori (Klitten et al.) discutono il tema della relazione tra SYNGAP1 ed epilessia attraverso l'analisi dei casi sin lì pubblicati: gli autori evidenziano la presenza in 6 casi sui 9 pubblicati di varie forme di epilessia ipotizzando dunque un possibile ruolo della mutazione SYNGAP1 nella patogenesi dell'epilessia.

Nel 2012 il gruppo di ricerca che fa capo al Prof. Gavin Rumbaugh pubblica un articolo (Clement et al 2012) che indaga per la prima volta il meccanismo che collega la mutazione SYNGAP1 alle modificazioni patologiche delle funzioni sinaptiche e come questo possa compromettere il funzionamento cognitivo. Attraverso lo studio di modelli animali caratterizzati da mutazione SYNGAP1 lo studio metteva in evidenza come il disturbo era caratterizzato dalla precoce maturazione delle spine sinaptiche dendritiche. La maturazione prematura delle spine sinaptiche amplificava l'eccitabilità in particolare nell'ippocampo e come questo fosse strettamente correlato allo sviluppo di anomalie comportamentali. Di particolare interesse era l'evidenza che l'induzione della mutazione SYNGAP1 dopo la chiusura della finestra temporale di sviluppo dell'ippocampo determinava un minimo impatto sulla funzione delle spine sinaptiche, mentre il ripristino del gene normale negli animali adulti non migliorava il comportamento e la cognitivtà. Questi dati suggeriscono per la prima volta che la proteina SYNGAP agisce con un meccanismo preciso in una determinata fase dello sviluppo cerebrale ed è un elemento critico determinante per lo sviluppo cognitivo.

Nei successivi anni si sono moltiplicati studi, spesso case report, volti a meglio tipizzare la sindrome SYNGAP1 e a studiare i meccanismi patologici attraverso cui induce la polimorfa sintomatologia manifestata dai pazienti.

Lo studio multicentrico comparso sul Journal Medical of Genetics nel 2016 coordinato dal Prof Cyril Mignot (Mignot et al 2016) approfondisce le correlazioni genotipiche e fenotipiche associate alla malattia di SYNGAP1 attraverso lo studio ed il sequenziamento dell'esoma SYNGAP1 in ben 251

pazienti affetti da disturbo del neurosviluppo identificando 17 soggetti con una mutazione SYNGAP1. In questi soggetti la prima manifestazione clinica del disturbo era rappresentata dal ritardo nello sviluppo neuromotorio; successivamente si evidenziava la disabilità intellettiva che, in 8 soggetti, appariva associata a sintomi dello spettro autistico. Altre frequenti caratteristiche erano l'ipotonìa e l'instabilità nella marcia. La quasi totalità dei casi mostrava epilessia caratterizzata da cadute del capo o movimenti di flessione della testa dovute a scosse miocloniche o atoniche. In metà dei soggetti le crisi si dimostravano farmacoresistenti.

In Texas nel 2018 si tiene la prima conferenza internazionale sulla malattia SYNGAP1 (Weldon M et al). È stata l'occasione per mettere a confronto tutti i portatori di interessi: le famiglie, i ricercatori i clinici ed i politici. Dal punto di vista clinico veniva sottolineato come la letteratura scientifica sull'argomento sottostimasse la prevalenza di epilessia dei soggetti affetti da mutazione patologica del gene SYNGAP1 che probabilmente è presente nella quasi totalità dei pazienti. La discussione di gruppo ha inoltre evidenziato come altri due fenotipi piuttosto comuni fossero sottostimati: la presenza di disturbi nell'elaborazione sensoriale e la propensione a mettere in atto comportamenti a rischio come salire e lanciarsi dall'alto. Per quanto riguarda la prospettiva biologica è emersa chiaramente la necessità di ulteriori ricerche per meglio comprendere il ruolo neurobiologico del gene SYNGAP1. Dalla prospettiva dei familiari è stata sottolineata la necessità di sviluppare un registro dei pazienti come primo step per poter avviare uno studio sull'evoluzione naturale della patologia.

Nel 2019 (Vlaskamp DRM et al.) viene pubblicato uno studio multicentrico coordinato dalla professoressa Sheffer del Centro per l'epilessia del Dipartimento di Medicina dell'Università di Melbourne che analizza le manifestazioni epilettiche di un gruppo numeroso di soggetti (n=57) affetti mutazione SYNGAP1. Focus dello studio erano le caratteristiche delle manifestazioni epilettiche. La ricerca oltre a confermare la presenza di crisi epilettiche nella quasi totalità dei soggetti (56 su 57), ha identificato anche un pattern particolare presente in alta percentuale nei soggetti tanto da delineare una nuova sindrome che combina epilessia caratterizzata da miocloni palpebrali con assenze e epilessia con crisi mioclonico astasiche caratterizzate da improvvisa perdita del tono muscolare, associata a una proiezione in avanti o indietro del corpo, che può provocare cadute. Altra osservazione di rilievo è che in circa ¼ dei pazienti le crisi erano scatenate dall'attività motoria oro buccale connessa all'alimentazione

Un primo studio aneddótico di farmacoterapia su un soggetto adulto (32 aa) affetto da mutazione SYNGAP1 pubblicato da Edwin H. Cook nel 2019 descrive gli effetti della lovastatina (farmaco appartenente alla famiglia delle statine, utilizzato per ridurre il colesterolo nel sangue) sulle manifestazioni cliniche del disturbo. I genitori hanno segnalato un maggiore interesse per l'ambiente associato a riduzione dell'iperattività e miglioramento nella concentrazione senza perdita di piacere nelle sue attività preferite. Sempre su questo tema una lettera all'editor di *Neuropediatrics* a prima firma del prof. Gerhard Kluger riporta i risultati di un follow-up sull'effetto a breve termine della rosuvastatina (altra statina al pari della lovastatina) sull'elettroencefalografia (EEG) e sulle convulsioni in una paziente di 20 anni con epilessia associata a SYNGAP1. Lo studio che ha utilizzato un monitoraggio continuo dell'EEG per 52 ore ha analizzato i risultati della somministrazione di rosuvastatina al dosaggio di 5 mg per tre mesi evidenziando una durata più breve delle scariche. Questi risultati erano in linea con quanto osservato dalla paziente e dai suoi genitori secondo cui le crisi miocloniche a casa durante la fase di trattamento con statine erano lievi e si verificavano meno frequentemente rispetto alla fase di pretrattamento. Gli autori concludevano suggerendo la necessità di un ulteriore studio dell'uso di statine nel trattamento per le convulsioni nei pazienti con SYNGAP1. Tra le ipotesi del funzionamento delle statine gli autori suggerivano la loro efficacia nell'antagonizzare l'iperattivazione Ras-Raf-MEK-ERK tipica dei pazienti con mutazione SYNGAP1.

Nel 2019 viene condotto uno studio di follow up (A. Jimenez-Gomez,) della durata di 6 anni allo scopo di comprendere l'evoluzione nel tempo della malattia. La valutazione dell'evoluzione dello sviluppo neurologico negli individui con varianti patologiche di SYNGAP1 ha rivelato che le manifestazioni possono essere assai varie e vanno da una compromissione moderata a grave. Lo studio ha evidenziato una correlazione tra un ritmo dominante posteriore lento all'EEG e la progressione dello sviluppo delle funzioni primarie in particolare del linguaggio, fornendo un possibile biomarcatore prognostico.

Sempre nel 2019 Mudit Agarwal et al. pubblicano sulla rivista *International Journal of Developmental Neuroscience* un lavoro che indaga come la mutazione patologica del gene SYNGAP1 incida sulla genesi delle sinapsi, sulla funzione dei circuiti neurali e sulla plasticità cellulare. Le sinapsi subiscono importanti cambiamenti durante lo sviluppo grazie alla loro plasticità. La maturazione del cervello è un processo sequenziale geneticamente codificato, dipendente dal tempo, strettamente regolato da meccanismi omeostatici intrinseci e influenzato da esperienze estrinseche. La proteina SYNGAP regola negativamente il tasso di sviluppo delle sinapsi dendritiche cerebrali. L'aploinsufficienza SYNGAP1 provoca un'accelerazione aberrante delle tappe dello sviluppo neurologico (Aceti et al., 2015), portando in particolare alla perdita della plasticità che dipende dall'esperienza. Come conseguenza si osservano varie alterazioni a livello dello sviluppo neuronale in particolare per quanto riguarda la normale maturazione delle spine dendritiche: Si tratta di piccole sporgenze localizzate sui dendriti, ricche di sinapsi eccitatorie. Nel normale corso dello sviluppo, le spine immature con sinapsi silenziose sono sottili e mobili; le sinapsi funzionali mature sono associate a teste spinali spesse e stabili a forma di fungo (Bourne e Harris, 2008). Questi cambiamenti morfologici sono dovuti alla dinamica del citoscheletro formato da actina (Bhatt et al., 2009). La proteina SYNGAP previene la maturazione precoce cerebrale attraverso un meccanismo complesso che dipende dall'attività rasGAP della proteina stessa (Carlisle et al., 2008). Nel soggetto con aploinsufficienza SYNGAP1 si osserva invece una maturazione precoce che altera significativamente la morfologia sinaptica.

Gli studi condotti fino al 2019 per evidenziare gli effetti dell'aploinsufficienza SYNGAP1 sono stati limitati ai neuroni di topo e ratto. Per rispondere alla domanda in merito all'effetto sui neuroni umani della perdita di funzione collegata alla mutazione SYNGAP1, il gruppo di ricerca facente capo al prof Rambaugh ha utilizzato la tecnologia CRISPR/Cas9 per modificare l'espressione proteica SYNGAP1 nei neuroni derivata da una linea di cellule staminali umane (Creson et al 2019). La riduzione dell'espressione della proteina SynGAP ha portato alla creazione di neuroni più grandi rispetto a quelli derivati da controlli isogenici, con sinapsi eccitatorie morfologicamente più forti che esprimevano attività sinaptica sin dalle prime fasi dello sviluppo, con un aumento dell'accumulo di marcatori postsinaptici, espressione precoce dell'attività delle sinapsi, aumento della forza sinaptica eccitatoria e insorgenza precoce dell'attività della rete neurale. Gli autori concludevano che il gene SYNGAP1 regola la maturazione postmitotica dei neuroni umani, influenzando il modo in cui l'attività si sviluppa all'interno delle reti neurali nascente. Le alterazioni osservate nel processo di neurosviluppo possono contribuire all'eziologia dei disturbi SYNGAP1.

Il ruolo della proteina SYNGAP come regolatore delle funzioni neuronali è stato oggetto di una approfondita revisione grazie al lavoro di Timothy R. Gamache et al. che nel 2020 pubblicano una review dei lavori scientifici degli ultimi 20 anni. Gli autori hanno proposto un modello secondo cui la proteina SYNGAP ha sia un effetto sulla modulazione della plasticità sinaptica sia una funzione nel regolare la composizione della densità post sinaptica. Nelle conclusioni gli autori evidenziano alcuni temi ancora irrisolti quali in che misura la funzione SynGAP dipende dalla localizzazione e dall'identità strutturale della forma proteica e se le proprietà biochimiche e biofisiche di SynGAP scoperte in vitro siano valide anche in vivo.

La correlazione con specifiche forme di epilessia trova una ulteriore conferma nel 2021 quando alcuni ricercatori (Lo Barco et al., 2021) evidenziano due distinti pattern EEG, entrambi attivati dalla chiusura degli occhi. Analizzando gli EEG di 15 pazienti affetti da mutazione SYNGAP1 osservavano il pattern 1 (14/15 individui con onde delta ritmiche posteriori/diffuse) che apparivano ad occhi chiusi e persistevano fino all'apertura degli occhi (fortemente indicative di sensibilità alla fissazione) e il pattern 2 (9/15 individui) caratterizzato da scariche diffuse di polipunta e onda innescate dalla chiusura degli occhi (sensibilità alla chiusura degli occhi). La successiva analisi delle convulsioni osservate durante la registrazioni evidenziava che un'alta percentuale di queste (72%) si verificavano durante o dopo la chiusura degli occhi. Gli autori concludevano suggerendo che questo specifico pattern poteva essere di ausilio nel guidare la diagnosi genetica.

Lyons-Warren et al. (2022) hanno analizzato le modalità di elaborazione sensoriale nei soggetti con mutazione SYNGAP. Come noto le alterazioni di questa area sono una caratteristica tipica dei Disturbi dello Spettro Autistico (ASD) sia sindromici che non sindromici. Tuttavia, non è noto se le forme di autismo non sindromico, come la sindrome di Phelan-McDermid (PMD) o la disabilità intellettuale correlata a SYNGAP1 (SYNGAP1-ID), abbiano fenotipi sensoriali comuni. Comprendere le caratteristiche sensoriali di questi disturbi è importante per fornire cure adeguate e per comprendere i meccanismi sottostanti. I ricercatori, utilizzando uno strumento standardizzato, lo Short Sensory Profile-2, hanno riscontrato in entrambi i gruppi di pazienti caratteristiche sensoriali atipiche, inclusi punteggi elevati nelle aree dell'evitamento e della e attività di ricerca. Gli autori concludevano che anomalie significative dell'elaborazione sensoriale sono tipiche degli ASD sindromici e non. Le misurazioni dell'elaborazione sensoriale potrebbero fungere da utili endpoint clinici per le sperimentazioni di nuove terapie per queste popolazioni.

Sempre nel 2022 viene pubblicato il primo lavoro italiano (Lo Barco T. et al) che vede il coinvolgimento diretto dell'Associazione Italiana Famiglie SYNGAP1: attraverso una raccolta di dati provenienti dai caregiver vengono esplorati rilevanti temi legati alla gestione dei soggetti affetti da mutazione Syngap1, quali l'esito dell'epilessia, le comorbidità, le abilità della vita quotidiana, i ricoveri, i trattamenti riabilitativi, gli oneri economici e l'impatto della pandemia COVID-19 sulla malattia. All'indagine hanno partecipato i caregiver di 13 bambini e adolescenti. I dati evidenziano la presenza quasi costante di compromissione motoria fine e grossolana e un'epilessia a volte farmacoresistente caratterizzata da fenomeni tipo assenze plurigiornaliere in grado di causare periodi di regressione psicomotoria. Nella maggior parte dei casi sono segnalati problemi di alimentazione e di sonno. La maggior parte dei genitori è preoccupata per problemi di linguaggio, problemi comportamentali e mancanza di autonomia nelle attività della vita quotidiana. Viene evidenziata l'importanza nell'identificazione di strategie di comunicazione alternative, che possono influenzare positivamente il comportamento e la qualità della vita.

Il gruppo del prof. Rumbaugh (Kilinc M et al. 2022) ha approfondito come le mutazioni SYNGAP producessero differenti isoforme proteiche funzionali denominate $\alpha 1$, $\alpha 2$ o γ . Le tre forme proteiche sembrano determinare differenti effetti. Per affrontare il modo in cui l'espressione delle isoforme contribuisce alla funzione cognitiva, al comportamento e alla latenza delle crisi, sono state create tre distinte linee di topi, ciascuna con modifiche mirate. Ogni linea esprimeva una firma univoca rispetto all'espressione o alla funzione della variante della proteina SYNGAP C-terminale. I risultati ottenuti hanno dimostrato che le isoforme SYNGAP endogene con sequenze di giunzione $\alpha 1/2$ promuovono la funzione cognitiva e conferiscono protezione dalle crisi epilettiche. Gli autori concludevano che la regolazione dell'espressione o della funzione SYNGAP- α può essere una valida strategia terapeutica per migliorare ampiamente la funzione cognitiva e mitigare le convulsioni.

Kelsey M. Smith et al. (2023) supporta con ulteriori dati quanto già osservato nel 2021 da Lo Barco et al, relativamente all'alta incidenza dell'epilessia con mioclonia palpebrale (EEM), una sindrome

epilettica generalizzata caratterizzata da mioclonia palpebrale, parossismi EEG indotti dalla chiusura degli occhi e fotosensibilità, nei soggetti affetti da Syngap1. Sebbene la sindrome sia rara, i pazienti vengono spesso diagnosticati erroneamente. L'eziologia è genetica ma eterogenea con diverse varianti patologiche identificate in una minoranza di pazienti tra cui, SYNGAP1

In un recente studio esplorativo sulla qualità e quantità del sonno nei bambini affetti da patologia SYNGAP1 (Valerie Paasch et al. 2023) gli autori hanno confrontato la qualità del sonno di 64 bambini affetti dalla patologia confrontando i punteggi alla Children's Sleep Habit Questionnaire (CSHQ) con quelli dei coetanei sani, ed evidenziando valori patologici in tutte le sottoscale [13]. Obiettivo dello studio era l'identificazione di comportamenti in grado di predire i disturbi del sonno in SYNGAP1-ID. Lo studio ha dimostrato che non ci sono differenze tra soggetti SYNGAP con associati sintomi dello spettro autistico rispetto a coloro che non presentavano tali sintomi. Sono poi state analizzate le correlazioni tra attività diurna e disturbi del sonno evidenziando che i soggetti particolarmente attivi nella fascia di ore 18 – 24 mostravano maggiori punteggi nei disturbi del sonno. Tali dati suggeriscono che i disturbi del sonno possono in parte essere correlati a una difficoltà nel rallentare l'attività in preparazione al sonno. Gli autori ipotizzano che i disturbi del sonno nei soggetti affetti da patologia SYNGAP1 possono derivare da ansia, parasonnie e iperattività legate al periodo antecedente il momento di coricarsi.

Nissenkorn et al (Nissenkorn A. et al, 2023) ha pubblicato nel 2023 i dati del progetto multicentrico NETRE (Network for Therapy in Rare Epilepsies), che ha coinvolto una rete di neurologi pediatri che trattano le epilessie rare. Sono stati raccolti dati retrospettivi di pazienti con epilessia genetica, tra cui soggetti con variante genetica Syngap1, trattati con Perampanel, farmaco anticonvulsivante di nuova generazione antagonista selettivo e non competitivo dei recettori ionotropi del glutammato α -ammino-3-idrossi-5-metil-4-isossazolpropionico (AMPA) nei neuroni postsinaptici dimostrando una buona efficacia nel trattare le epilessie su base genetica. Entrambi i pazienti con SYNGAP1 erano responsivi. L'Utilizzo off label del farmaco Perampanel è stato oggetto di ulteriore studio per il trattamento dei disturbi comportamentali e del sonno collegati alla patologia Syngap. Gli autori (Gupta S. et al 2023) hanno monitorato il profilo elettroencefalografico ed i sintomi comportamentale in una bimba trattata con il farmaco evidenziando un chiaro miglioramento del sonno e della sfera cognitiva e comportamentale. Trattandosi di un case report e di un utilizzo off label i dati necessitano di ulteriori verifiche su un campione adeguato.

I progressi nel campo di terapie mirate vanno nella direzione dell'amplificazione nella produzione endogena di proteina SYNGAP. Una nuova tecnologia denominata taRNA si è dimostrata efficace nel sovraregolare la traduzione dell'RNA endogeno nella produzione della proteina insufficiente (Yang Cao et al 2023). La tecnica si è dimostrata efficace in modelli murini ed è stata convalidata amplificando l'espressione di SYNGAP1 nelle cellule derivate da un paziente. Gli autori concludono affermando che i taRNA sono in grado di sovraregolare la produzione di proteine da mRNA endogeni e possono aprire possibilità per la ricerca terapeutica sull'RNA.

Sempre nel 2023 viene pubblicata sulla rivista Front Pediatr (Salcedo-Perez-Juana M. et al 2023) uno studio che correla gli indici della qualità della vita e gli aspetti psicologici delle famiglie di bimbi affetti da encefalopatie epilettiche e dello sviluppo (DEE) con varianti TSC, STXBP1 e SYNGAP1. Nello studio trasversale, a 20 genitori (10STXBP1, cinque SYNGAP1, cinque TSC) sono stati somministrati questionari sulla qualità della vita, sull'impatto sulla famiglia e sui fattori psicologici. Nello studio descrittivo qualitativo sono state condotte interviste approfondite a 18 genitori (nove STXBP1, cinque TSC, quattro SYNGAP1) utilizzando un questionario semistrutturato. È stata effettuata un'analisi tematica. I risultati dei due studi sono stati combinati mostrando somiglianze e differenze attraverso tabelle, figure, resoconti e visualizzazioni congiunte. In termini di qualità della vita, i risultati integrati sono stati coerenti nell'evidenziare l'importanza dell'interazione familiare,

anche se nella sezione qualitativa è stata evidenziata l'influenza della relazione tra i fratelli dei bambini, il rapporto con gli operatori sanitari e le difficoltà nell'ottenimento degli aiuti pubblici. In termini di impatto, i risultati integrati mostrano che la malattia ha un impatto significativo sulla famiglia; viene evidenziato l'onere finanziario e viene approfondita l'esperienza della malattia. Infine, gli aspetti psicologici, sintomi come ansia, stress e tensione, erano coerenti. La maggior parte dei partecipanti ha riferito disturbi del sonno, come identificato nel questionario, sebbene non menzionati nelle interviste.

Lo studio del fenotipo adulto dei soggetti affetti da varianti patologiche SYNGAP1 (Rong, M et al 2023), sono state recentemente studiate attraverso l'identificazione di quattordici pazienti adulti non imparentati (mediana: 21 anni, range: 18-65 anni). Dallo studio sono emerse le seguenti caratteristiche: un paziente con una delezione parziale dell'esone 3 aveva maggiori capacità di vita quotidiana e abilità sociali rispetto ad altri con varianti a singolo nucleotide; dieci pazienti su 14 (71%) avevano crisi epilettiche resistenti ai farmaci, trattati con una media di 2 farmaci anticonvulsivanti; tutti i pazienti (100%) presentavano un'elaborazione del dolore anormale. Disturbi del sonno, disturbi della comunicazione sociale e comportamenti aggressivi/autolesionistici sono stati segnalati nell'86% dei pazienti. Solo la metà degli adulti riusciva a camminare con assistenza minima o nulla. Andare in bagno era normale nel 29% e il 71% soffriva di stitichezza. Nessun paziente adulto era in grado di leggere o comprendere materiale verbale a un livello di quinta elementare o superiore. I comportamenti aggressivi/autolesionistici erano la principale causa di carico del caregiver. Il paziente più anziano aveva 65 anni; sebbene non era in grado di deambulare, da giovane aveva camminato in modo indipendente. Il 71% dei pazienti con SYNGAP1 -DEE continua ad avere convulsioni da adulto. Le comorbidità diverse dalle convulsioni, in particolare l'aggressività e i comportamenti autolesionistici, rappresentano le principali sfide gestionali negli adulti con SYNGAP1 -DEE. Solo il 50% degli adulti può deambulare con assistenza minima o nulla. Quasi tutti i pazienti adulti dipendono dai caregiver per molte attività della vita quotidiana.

Conclusioni

L'encefalopatia dello sviluppo ed epilettica correlata a SYNGAP1 fa parte delle malattie rare (incidenza inferiore a 1/1.000.000) la cui scoperta risale a pochissimi anni orsono.

Ha dei caratteri specifici quali:

- ritardo dello sviluppo, che si manifesta sin dai primi mesi di vita, associato a ipotonia;
- epilessia generalizzata, presente nella maggior parte dei casi con una sindrome epilettica distintiva, che combina mioclonia palpebrale con assenze e convulsioni mioclonico-atoniche. Possono essere presenti attacchi di caduta dovuti a mioclonia palpebrale che evolve in convulsioni mioclonico-atoniche o atoniche. Possono attivarsi crisi riflesse innescate dal cibo o dalla chiusura degli occhi;
- disabilità intellettiva da moderata a grave che diventa progressivamente evidente nella maggior parte dei casi, associata a sintomi dello spettro autistico in circa la metà dei pazienti;
- disturbi comportamentali, compreso il comportamento oppositivo e provocatorio con aggressività, autolesionismo e scoppi d'ira;
- dismorfismi facciali, tra cui sopracciglia leggermente prominenti con svasatura mediale, ipertelorismo, punta nasale piena, leggermente rivolta verso l'alto, labbro superiore ad arco di cupido, bocca ampia con diastemi dei denti superiori e mento piccolo e appuntito.
- Altre caratteristiche associate comprendono l'elevata soglia del dolore, problemi alimentari e del sonno, atassia o anomalie dell'andatura e anomalie ortopediche.

L'imaging cerebrale è generalmente normale con possibili reperti non specifici.

Questi pazienti necessitano di una gestione pluridisciplinare che tenga in considerazione le manifestazioni specifiche del disturbo. L'epilessia richiede terapia specifica con farmaci antiepilettici

e/o dieta chetogenica. A questa si associano interventi riabilitativi motori, sul linguaggio, sull'alimentazione sulle capacità espressive nonché i piani educativi individualizzati.

Per quanto riguarda la prognosi non si hanno ancora dati certi data la recente scoperta della patologia. Rimane comunque una prognosi scarsa o severa a causa del deficit intellettivo associato ai disturbi comportamentali ed alle crisi epilettiche che in molti casi risultano persistenti e resistenti alla terapia farmacologica.

Ad oggi non sono disponibili trattamenti specifici anche se si evidenzia lo sviluppo di tecniche sempre più raffinate in grado di rendere disponibile in quantità sufficienti e a livello endogeno la proteina SYNGAP

Bibliografia

Aceti M., T.K. Creson, T. Vaissiere, C. Rojas, W.-C. Huang, Y.-X. Wang, R.S. Petralia, D.T. Page, C.A. Miller, G. Rumbaugh.: Syngap1 haploinsufficiency damages a postnatal critical period of pyramidal cell structural maturation linked to cortical circuit assembly. *Biol. Psychiatry*. 77: 2015; 805– 815.

Yoichi Araki 1, Menglong Zeng 2, Mingjie Zhang 2, Richard L Huganir : Rapid dispersion of SynGAP from synaptic spines triggers AMPA receptor insertion and spine enlargement during LTP. *Neuron*. 2015 Jan 7;85(1):173-189. doi: 10.1016/j.neuron.2014.12.023.

Agarwal M, Johnston MV, Stafstrom CE: SYNGAP1 mutations: Clinical, genetic, and pathophysiological features. *Int J Dev Neurosci*. 2019 Nov;78:65-76.

Bhat D.H. t, S. Zhang, W.-B. Gan. Dendritic spine dynamics. *Annu. Rev. Physiol*. 71: 2009; 261– 282.

Bourne J.N., K.M. Harris. Balancing structure and function at hippocampal dendritic spines. *Annu. Rev. Neurosci*. 31: 2008; 47– 67.

.

Cao Y, Liu H, Lu SS, Jones KA, Govind AP, Jeyifous O, Simmons CQ, Tabatabaei N, Green WN, Holder JL Jr, Tahmasebi S, George AL Jr, Dickinson BC.: RNA-based translation activators for targeted gene upregulation. *Nat Commun*. 2023 Oct 26;14(1):6827.

Carlisle H.J., P. Manzerra, E. Marcora, M.B. Kennedy. SynGAP regulates steady-state and activity-dependent phosphorylation of cofilin. *J. Neurosci*. 28: 2008; 13673– 13683.

Chen H.J., M. Rojas-Soto, A. Oguni, M.B. Kennedy: A synaptic Ras-GTPase activating protein (p135 SynGAP) inhibited by CaM kinase. *Neuron*, 20 (1998), pp. 895-904.

Clement JP, Aceti M, Creson TK, Ozkan ED, Shi Y, Reish NJ, Almonte AG, Miller BH, Wiltgen BJ, Miller CA, Xu X, Rumbaugh G: Pathogenic SYNGAP1 mutations impair cognitive development by disrupting maturation of dendritic spine synapses. *Cell*. 2012 Nov 9;151(4):709-723.

Cook EH, Masaki JT, Guter SJ, Najjar F: Lovastatin Treatment of a Patient with a De Novo SYNGAP1 Protein Truncating Variant. *J Child Adolesc Psychopharmacol*. 2019 May;29(4):321-322.

Creson TK, Rojas C, Hwaun E, Vaissiere T, Kilinc M, Jimenez-Gomez A, Holder JL Jr, Tang J, Colgin LL, Miller CA, Rumbaugh G: Re-expression of SynGAP protein in adulthood improves translatable measures of brain function and behavior: *Elife*. 2019 Apr 26;8:e46752.

Gamache TR, Araki Y, Haganir RL: Twenty Years of SynGAP Research: From Synapses to Cognition. *J Neurosci*. 2020 Feb 19;40(8):1596-1605.

Gupta S, Hwang Y, Ludwig N, Henry J, Kadam SD.:Case report: Off-label use of low-dose perampanel in a 25-month-old girl with a pathogenic SYNGAP1 variant. *Front Neurol*. 2023 Aug 17;14:1221161.

Hamdan FF, Gauthier J, Spiegelman D, Noreau A, Yang Y, Pellerin S, Dobrzeniecka S, Côté M, Perreau-Linck E, Carmant L, D'Anjou G, Fombonne E, Addington AM, Rapoport JL, Delisi LE, Krebs MO, Mouaffak F, Joobar R, Mottron L, Drapeau P, Marineau C, Lafrenière RG, Lacaille JC, Rouleau GA, Michaud JL: Mutations in SYNGAP1 in autosomal nonsyndromic mental retardation. Synapse to Disease Group. *N Engl J Med*. 2009 Feb 5;360(6):599-605

Hamdan FF, Daoud H, Piton A, Gauthier J, Dobrzeniecka S, Krebs MO, Joobar R, Lacaille JC, Nadeau A, Milunsky JM, Wang Z, Carmant L, Mottron L, Beauchamp MH, Rouleau GA, Michaud JL: De novo SYNGAP1 mutations in nonsyndromic intellectual disability and autism.. *Biol Psychiatry*. 2011 May 1;69(9):898-901.

Jimenez-Gomez A, Niu S, Andujar-Perez F, McQuade EA, Balasa A, Huss D, Coorg R, Quach M, Vinson S, Risen S, Holder JL Jr: Phenotypic characterization of individuals with SYNGAP1 pathogenic variants reveals a potential correlation between posterior dominant rhythm and developmental progression. *J Neurodev Disord*. 2019 Aug 8;11(1):18.

Kilinc M, Creson T, Rojas C, Aceti M, Ellegood J, Vaissiere T, Lerch JP, Rumbaugh G (2018) Species-conserved SYNGAP1 phenotypes associated with neurodevelopmental disorders. *Mol Cell Neurosci* 91:140–150.

Kilinc M, Arora V, Creson TK, Rojas C, Le AA, Lauterborn J, Wilkinson B, Hartel N, Graham N, Reich A, Gou G, Araki Y, Bayés À, Coba M, Lynch G, Miller CA, Rumbaugh G.: Endogenous Syngap1 alpha splice forms promote cognitive function and seizure protection. *Elife*. 2022 Apr 8;11:e75707.

Kim J.H., D. Liao, L.F. Lau, R.L. Haganir: SynGAP: A synaptic RasGAP that associates with the PSD-95/SAP90 protein family. *Neuron*, 20 (1998), pp. 683-691.

Klitten LL, Møller RS, Nikanorova M, Silahtaroglu A, Hjalgrim H, Tommerup N: A balanced translocation disrupts SYNGAP1 in a patient with intellectual disability, speech impairment, and epilepsy with myoclonic absences (EMA). *Epilepsia*. 2011 Dec;52(12):e190-3.

Kluger G, von Stülpnagel-Steinbeis C, Arnold S, Eschermann K, Hartlieb T: Positive Short-Term Effect of Low-Dose Rosuvastatin in a Patient with SYNGAP1-Associated Epilepsy. *neuropediatrics*. 2019 Aug;50(4):266-267.

Krepischi AC, Rosenberg C, Costa SS, Crolla JA, Huang S, Vianna-Morgante AM: A novel de novo microdeletion spanning the SYNGAP1 gene on the short arm of chromosome 6 associated with mental retardation. *Am J Med Genet A*. 2010 Sep;152A(9):2376-8.

Llamosas Nerea,¹ Vineet Arora, Ridhima Vij, Murat Kilinc,¹ Lukasz Bijoch, Camilo Rojas,¹ Adrian Reich,⁵ Banu Priya Sridharan, Erik Willems, David R. Piper, Louis Scampavia, Timothy P. Spicer, Courtney A. Miller, J. Lloyd Holder, and Gavin Rumbaugh: SYNGAP1 Controls the Maturation of Dendrites, Synaptic Function, and Network Activity in Developing Human Neurons. *The Journal of Neuroscience*, October 7, 2020 • 40(41):7980–7994

Lo Barco T, Kaminska A, Solazzi R, Cancés C, Barcia G, Chemaly N, Fontana E, Desguerre I, Canafoglia L, Hachon Le Camus C, Losito E, Villard L, Eisermann M, Dalla Bernardina B, Villeneuve N, Nabbout R. *Clin Neurophysiol*: SYNGAP1-DEE: A visual sensitive epilepsy. 2021 Apr;132(4):841-850.

Lo Barco T, De Gaetano L, Santangelo E, Bravi T, Proietti J, Cantalupo G, Brambilla I, Darra F. SYNGAP1-related developmental and epileptic encephalopathy: The impact on daily life. *Epilepsy Behav*. 2022 Feb;127.

Lyons-Warren AM, McCormack MC, Holder JL: Sensory Processing Phenotypes in Phelan-McDermid Syndrome and SYNGAP1-Related Intellectual Disability. *Jr. Brain Sci*. 2022 Jan 20;12(2):137.

Michaelson SD, Ozkan ED, Aceti M, Maity S, Llamosas N, Weldon M, Mizrahi E, Vaissiere T, Gaffield MA, Christie JM, Holder JL Jr, Miller CA, Rumbaugh G.: SYNGAP1 heterozygosity disrupts sensory processing by reducing touch-related activity within somatosensory cortex circuits. *Nat Neurosci*. 2018 Dec;21(12):1-13.

Mignot C, von Stülpnagel C, Nava C, Ville D, Sanlaville D, Lesca G, Rastetter A, Gachet B, Marie Y, Korenke GC, Borggraeve I, Hoffmann-Zacharska D, Szczepanik E, Rudzka-Dybała M, Yiş U, Çağlayan H, Isapof A, Marey I, Panagiotakaki E, Korff C, Rossier E, Riess A, Beck-Woedl S, Rauch A, Zweier C, Hoyer J, Reis A, Mironov M, Bobylova M, Mukhin K, Hernandez-Hernandez L, Maher B, Sisodiya S, Kuhn M, Glaeser D, Weckhuysen S, Myers CT, Mefford HC, Hörtnagel K, Biskup S; (EuroEPINOMICS-RES MAE working group): Genetic and neurodevelopmental spectrum of SYNGAP1-associated intellectual disability and epilepsy. *J Med Genet*. 2016 Aug;53(8):511-22.

Nissenkorn A, Kluger G, Schubert-Bast S, Bayat A, Bobylova M, Bonanni P, Ceulemans B, Coppola A, Di Bonaventura C, Feucht M, Fuchs A, Gröppel G, Heimer G, Herdt B, Kulikova S, Mukhin K, Nicassio S, Orsini A, Panagiotou M, Pringsheim M, Puest B, Pylaeva O, Ramantani G, Tsekoura M, Ricciardelli P, Lerman Sagie T, Stark B, Striano P, van Baalen A, De Wachter M, Cerulli Irelli E, Cuccurullo C, von Stülpnagel C, Russo A.: Perampanel as precision therapy in rare genetic epilepsies. *Epilepsia*. 2023 Apr;64(4):866-874.

Ozkan ED, Creson TK, Kramár EA, Rojas C, Seese RR, Babyan AH, Shi Y, Lucero R, Xu X, Noebels JL, et al. Reduced cognition in Syngap1 mutants is caused by isolated damage within developing forebrain excitatory neurons. *Neuron*. 2014;82:1317–1333.

Paasch V, Doucoure A, Bifano M, Smith-Hicks CL.: An exploratory study of sleep quality and quantity in children with causal variants in SYNGAP1, an autism risk gene. *Sleep Med*. 2023 Jul;107:101-107.

Rong, M., MSc, Tim Benke, MD, PhD, Quratulain Zulfiqar Ali, MD, ´Angel Aledo-Serrano, MD, PhD, Allan Bayat, MD, PhD, Alessandra Rossi, MD, Orrin Devinsky, MD, Farah Qaiser, MSc, Anum S. Ali, BScN, MSc, Alfonso Fasano, MD, PhD, FAAN, Anne S. Bassett, MD, FRCPC, and Danielle M. Andrade, MD, MSc: Adult Phenotype of SYNGAP1-DEE. *Neurol Genet* 2023;9:e200105.

Salcedo-Perez-Juana M, Palacios-Ceña D, San-Martín-Gómez A, Aledo-Serrano Á, Florencio LL.: Quality of life, socioeconomic and psychological concerns in parents of children with tuberous sclerosis complex, STXBP1 and SYNGAP1 encephalopathies: a mixed method study. *Front Pediatr*. 2023 Nov 9;11:1285377

Smith KM, Wirrell EC, Andrade DM, Choi H, Trenité DK, Knupp KG, Nordli DR Jr, Riva A, Stern JM, Striano P, Thiele EA, Zawar I. A comprehensive narrative review of epilepsy with eyelid myoclonia. *Epilepsy Res*. 2023 Jul;193:107-147.

Vlaskamp DRM, Shaw BJ, Burgess R, Mei D, Montomoli M, Xie H, Myers CT, Bennett MF, XiangWei W, Williams D, Maas SM, Brooks AS, Mancini GMS, van de Laar IMBH, van Hagen JM, Ware TL, Webster RI, Malone S, Berkovic SF, Kalnins RM, Sicca F, Korenke GC, van Ravenswaaij-Arts CMA, Hildebrand MS, Mefford HC, Jiang Y, Guerrini R, Scheffer IE: SYNGAP1 encephalopathy: A distinctive generalized developmental and epileptic encephalopathy. *Neurology*. 2019 Jan 8;92(2):e96-e107.

Weldon M, Kilinc M, Lloyd Holder J Jr, Rumbaugh G.: The first international conference on SYNGAP1-related brain disorders: a stakeholder meeting of families, researchers, clinicians, and regulators. *J Neurodev Disord*. 2018 Feb 5;10(1):6.