

## **Dal ruolo dell'alfa-lattoalbumina nell'epilessia a nuovi orizzonti.**

Paolo Mainardi

Nonostante l'elevato numero di farmaci oggi a disposizione, diverse patologie sono difficilmente curabili, pertanto sono necessarie nuove idee, nuovi modelli. Per quanto riguarda l'epilessia lo riportano gli stessi Leppik, past president dell'ILAE, e Loscher.[1]

Negli anni '90 si è assistito al ribaltamento del ruolo della serotonina cerebrale, da pro-convulsiva ad anticonvulsiva,[2,3,4] alla quale viene riconosciuto il ruolo di mantenere isolati eventuali neuroni malfunzionanti. [5] Concetto molto importante in quanto mostra come la manifestazione epilettica sia maggiormente dovuta ad una ridotta capacità delle funzioni di controllo del cervello, piuttosto che al danno di per se.

Aumentare, quindi, il controllo cerebrale, quindi la serotonina, consente di rendere meno probabile la manifestazione di crisi, in altre parole di aumentare la soglia convulsiva, anche in presenza di danni strutturali e funzionali. [6]

La sintesi cerebrale di serotonina dipende dalla quantità del suo precursore, l'amminoacido essenziale triptofano, captata dal cervello, o, meglio, dal rapporto tra la sua concentrazione plasmatica e quella degli altri amminoacidi che competono per lo stesso trasportatore alla BBB, i Large Neutral Amino Acids (LNAAs: Tyr, Val, Met, Ile, Leu, Phe e Trp). Aumentare il rapporto plasmatico  $R_{\text{Trp/LNAAs}}$  consente di aumentare la captazione cerebrale di triptofano e quindi la sintesi cerebrale di serotonina.[7]

Assunzioni orali di triptofano non sono in grado di aumentare il suo livello plasmatico, in quanto non è riconosciuto come nutriente dall'intestino, il 75% della dose orale è escreta con le feci. [8]

Invece assunzioni orali di proteine sono maggiormente capaci di aumentare i livelli ematici degli amminoacidi che le compongono, [9] in particolare le sieroproteine che non precipitando nell'ambiente acido dello stomaco vengono rapidamente demolite a peptidi che passano liberamente la membrana intestinale. Nel sangue continua la loro demolizione ad amminoacidi liberi.

Assunzioni orali di sieroproteine portano al maggiore aumento dei livelli ematici degli amminoacidi rispetto a proteine e, per ultimi, amminoacidi liberi.

Il modo migliore per aumentare il rapporto plasmatico  $R_{\text{trp/LNAAs}}$  è assumere una sieroproteina ricca di triptofano e povera degli altri LNAAs, come l'alfa-lattoalbumina. Questo rapporto plasmatico è una misura indiretta della disponibilità cerebrale di serotonina. [10]

I risultati dei primi studi sperimentali mediante somministrazioni ORALI di alfa-lattoalbumina, mostrarono le capacità anticonvulsive di questa sieroproteina. [11,12]

In particolare nel primo studio si dimostra capace, anche, di controllare entrambi i tipi di crisi indotte nell'animale da Pilocarpina. Questo agente epilettogenico produce crisi immediate (acute), come molte altre molecole, ma l'animale rimane epilettico a vita (croniche), costituendo così il modello ottimale della farmacoresistenza.

L'alfa-lattoalbumina è la prima e credo ancora unica molecola capace di controllare entrambe queste crisi.

Principalmente per questo risultato è entrata nei programmi di screening nuovi farmaci dell'NIH (USA).

Il secondo studio dimostra come dopo 2 settimane di somministrazioni orali quotidiane di alfa-lattoalbumina, l'animale audiogenico (modificato geneticamente per avere crisi in seguito a stimolazione acustica) rimane protetto da crisi per almeno un mese dalla sospensione del trattamento. Segno evidente che il meccanismo d'azione non è quello di "spegnere" le crisi, ma di aumentare la soglia convulsiva, quindi di aumentare i meccanismi endogeni di autoriparazione cerebrale in grado di mantenere isolati i neuroni malfunzionanti.

Oggi sappiamo che tale abilità non è associata alla serotonina, ma ad un neuropeptide, l'NPY, che è responsabile dei processi di neurogenesi e sinaptogenesi, gli strumenti con i quali il cervello realizza nuove circuitazioni per isolare i neuroni malfunzionanti. [13, 14] Infatti è riportata anche una sua azione anticonvulsiva, [15,16,17,18] sulla base delle sue azioni neuroprotettive [19], che non si limitano all'epilessia. [20]

Risulta interessante correlare questi risultati con il suo ruolo nei processi infiammatori cerebrali, [21] dato che il cronicizzarsi di una infiammazione cerebrale è riportata essere la causa patogenetica di diverse patologie neurologiche, psichiatriche e comportamentali, [22, 23] ma lo è ancora di più il correlarli con i dati che dimostrano come una infiammazione periferica possa migrare su altri organi, messi in comunicazione tra loro dalla membrana mucosale, una seconda pelle interna, [24] così come anche al cervello mediante le citochine. [25]

Infatti, è riportato che produrre una infiammazione intestinale, con un banale olio urticante, diminuisce la soglia convulsiva di animali sottoposti a modelli sperimentali. [26] L'ampio spettro d'azioni di una dieta chetogenica, ideata per l'epilessia, ma oggi proposta in diverse patologie neurologiche, comportamentali e anche oncologiche, recentemente anche nell'infertilità [27], possono essere collegate alla sua capacità di disinfiammare l'intestino. [28]

Infatti un intestino infiammato è riportato in diverse patologie neurologiche [29,30,31,32,33].

Forse il ruolo dell'infiammazione, che sempre Riazzi definisce essere il modo di comunicare tra loro degli organi è stato, in parte trascurato, relegando il neurotrasmettitore maggiormente responsabile dell'infiammazione, l'istamina, alle sole allergie.

Quando invece il primo farmaco per cui è stato coniato il termine antidepressivo è stata l'isoniazide, farmaco studiato per la cura della tubercolosi e casualmente scoperto migliorare il tono dell'umore. Essa agisce sulle di-ammino ossidasi, enzimi presenti principalmente a livello intestinale con il compito di eliminare un eccesso di istamina (una diammina) prodotta dalla decarbossilazione dell'istidina da parte della flora intestinale. Ad essa è stata preferita l'iproniazide, altro agente contro la tubercolosi, ma che agisce principalmente sulle mono-ammine ossidasi, la serotonina è una mono-ammina, ma fu subito ritirata per i suoi effetti collaterali, tra cui maggiori ideazioni di suicidio.

Un'altra classe di antidepressivi, i triciclici, sono stati anch'essi scoperti casualmente nella ricerca di nuovi farmaci antistaminici. Per l'azione antidepressiva non è stata considerata l'azione sulla istamina, ed era stata proposta la loro azione sulla noradrenalina, ma, poi, per motivi non chiari, si è mirata l'attenzione sulla serotonina, una mono-ammina, producendo farmaci con azione selettiva su di essa, gli SSRI, per i quali la FDA allerta per una maggiore ideazione di suicidi e non sono proprio privi di effetti collaterali.

Una recente meta-analisi riporta una efficacia per questi farmaci del 50%, ovvero uguale al placebo, [34] mentre un lavoro successivo dimostra che, assunti oralmente, non arrivano al cervello. [35]

Sorprende che questo risultato non sia stato precedentemente pubblicato, in quanto sicuramente noto dagli anni '60, dato che la determinazione della distribuzione tissutale è obbligatoria nella fase di registrazione di un farmaco. Questo risultato fa vacillare l'ipotesi della azione selettiva sulla ricaptazione cerebrale della serotonina, e fa capire l'inutilità di modelli sperimentali che dimostrano azioni su neuroni isolati ottenute mediante elevate concentrazioni di farmaco, non raggiungibili in vivo. Tali modelli sperimentali hanno

distolto l'attenzione dall'istamina, ovvero dalla infiammazione, ovvero dai processi comunicativi tra organi.

L'istamina è contenuta nei mastociti, dal tedesco mastzellen, cellule farcite, che la rilasciano in caso di bisogno. I mastociti orchestrano la risposta immunitaria [36] e svolgono un ruolo fisiopatologico in un enorme numero di patologie, [37] dalle allergie, all'obesità, infertilità, patologie autoimmuni, arteriosclerosi, ansia, ischemia,...

Il rilascio di istamina è finalizzato a permettere a molecole antiinfiammatorie, come le citochine, di entrare dentro le cellule per svolgere il proprio ruolo, ma è riportato che l'IL-6 inibisce i processi di neurogenesi dell'ippocampo. [38]

Quindi elevati livelli di IL-6 rendono più fragile il cervello e questa ridotta capacità a ripararsi risulta rivestire un importante ruolo nelle patologie psichiatriche, incluso ADHD [39], come in quelle neurologiche dall'Alzheimer, Parkinson, autismo, [40] dove elevati livelli di IL-6 sono riportati essere la causa di danni neuroanatomici, quindi di struttura. [41] In analogia con il dato riportato da studi sui traumi cranici che mettono in evidenza come 3 giorni dopo il trauma cranico risulti collassata la membrana intestinale, [42]

a conferma della bidirezionalità della comunicazione dell'asse intestino cervello.

Così come la quantità di ulcere indotte da alcool risultano essere dose dipendenti dalla quantità di agente epilettogeno iniettato direttamente nel cervello,

1. Hung CR, Cheng JT, Shih CS. Gastric mucosal damage induced by arecoline seizure in rats. *Life Sci.* 2000 May 5; 66 (24): 2337-49.

quindi di rendere più vulnerabile all'agente stressante il sistema gastrointestinale, come un trauma cranico è in grado di causare danni di struttura alla membrana intestinale, un danno intestinale è in grado di alterare le funzioni cerebrali e di causare danni strutturali.

Inoltre una alterata attività delle citochine nella delicata fase dello sviluppo post-natale può far acquisire nuove vulnerabilità i cui sintomi si possono manifestare anche in età adulta:

2. Goines PE, Ashwood P. Cytokine dysregulation in autism spectrum disorders (ASD): possible role of the environment. *Neurotoxicol Teratol.* 2013 Mar-Apr;36:67-81

Tutto questo ci fa comprendere come l'ammalarsi non sia il risultato di una improvvisa esposizione ad un agente patogeno, ma la graduale perdita della capacità di riparare i danni che, continuamente, l'ambiente esterno ci provoca.

I sintomi che sviluppiamo dipendono unicamente dalle nostre diverse vulnerabilità, alcune ereditate geneticamente in quanto come trasmettiamo il colore degli occhi, trasmettiamo anche l'architettura cerebrale, le stesse aree fragili, o altre fragilità, altre le acquisiamo nella delicata fase dello sviluppo pre- e post-natale.

La causa comune delle patologie è l'incapacità, anche sopraggiunta, delle capacità endogene di autoriparazione, non più in grado di contenere l'infiammazione dei diversi tessuti.

Via, via che perdiamo queste potenti capacità endogene iniziamo ad ammalarci, iniziano a comparire i primi sintomi, le prime avvisaglie che stiamo iniziando a perdere la battaglia.

Ri-potenziare questi innati endogeni meccanismi rappresenta il modo migliore e più efficace di ripristinare stati di salute, mantenerli attivi rappresenta la massima prevenzione.

## Bibliografia

1. W. Löscher, I.E. Leppik. Critical re-evaluation of previous preclinical strategies for the discovery and the development of new antiepileptic drugs. *Epilepsy Research* 50 (2002) 17–20.
2. Albano C, Cupello A, Mainardi P, Scarrone S, Favale E. Successful treatment of epilepsy with serotonin reuptake inhibitors: proposed mechanism. *Neurochem Res.* 2006 Apr;31(4):509-14.
3. Favale E, Audenino D, Cocito L, Albano C. The anticonvulsant effect of citalopram as an indirect evidence of serotonergic impairment in human epileptogenesis. *Seizure.* 2003 Jul;12(5):316-8
4. Favale E, Rubino V, Mainardi P, Lunardi G, Albano C. Anticonvulsant effect of fluoxetine in humans. *Neurology.* 1995 Oct;45(10):1926-7.
5. Jobe PC, Browning RA. The serotonergic and noradrenergic effects of antidepressant drugs are anticonvulsant, not proconvulsant. *Epilepsy Behav.* 2005 Dec;7(4):602-19.
6. Mainardi P, Leonardi A, Albano C. Potentiation of brain serotonin activity may inhibit seizures, especially in drug-resistant epilepsy. *Med Hypotheses.* 2008;70(4):876-9.
7. M. Diksic, S. Okazawa, S. Nishizawa, M. Leyton and S. N. Young A decrease in blood tryptophan concentration produces regionally specific changes in brain serotonin synthesis in men and women: A PET study with alpha-[11C]methyl-L-tryptophan *European Neuropsychopharmacology*, Volume 12, Supplement 3, October 2002, Pages 403-404
8. Heuther G, Hajak G, Reimer A, Poeggeler B, Blämer M, Rodenbeck A, Ruther E. The metabolic fate of infused L-tryptophan in men: possible clinical implications of the accumulation of circulating tryptophan and tryptophan metabolites. *Psychopharmacology (Berl).* 1992;109(4):422-32
9. Frenhani PB, Burini RC. Mechanism of action and control in the digestion of proteins and peptides in humans. *Arq Gastroenterol.* 1999 Jul-Sep;36(3):139-47.
10. Lunardi G, Mainardi P, Rubino V, Fracassi M, Pioli F, Cultrera S, Albano C. Tryptophan and epilepsy. *Adv Exp Med Biol.* 1996;398:101-2.
11. Citraro R, Scicchitano F, De Fazio S, Raggio R, Mainardi P, Perucca E, De Sarro G, Russo E. Preclinical activity profile of  $\alpha$ -lactoalbumin, a whey protein rich in tryptophan, in rodent models of seizures and epilepsy. *Epilepsy Res.* 2011 Jun;95(1-2):60-9.
12. Russo E, Scicchitano F, Citraro R, Aiello R, Camastra C, Mainardi P, Chimirri S, Perucca E, Donato G, De Sarro G. Protective activity of  $\alpha$ -lactoalbumin (ALAC), a whey protein rich in tryptophan, in rodent models of epileptogenesis. *Neuroscience.* 2012 Dec 13;226:282-8
13. Zaben MJ, Gray WP. Neuropeptides and hippocampal neurogenesis. *Neuropeptides.* 2013 Dec;47(6):431-8.
14. Decressac M, Barker RA. Neuropeptide Y and its role in CNS disease and repair. *Exp Neurol.* 2012 Dec;238(2):265-72.
15. Vezzani A, Sperk G, Colmers WF. Neuropeptide Y: emerging evidence for a functional role in seizure modulation. *Trends Neurosci.* 1999 Jan;22(1):25-30.
16. Kovac S, Walker MC. Neuropeptides in epilepsy. *Neuropeptides.* 2013 Dec;47(6):467-75.
17. Baraban SC. Neuropeptide Y and epilepsy: recent progress, prospects and controversies. *Neuropeptides.* 2004 Aug;38(4):261-5. Review.
18. Colmers WF, El Bahh B. Neuropeptide Y and Epilepsy. *Epilepsy Curr.* 2003 Mar;3(2):53-58. PubMed PMID: 15309085
19. Xapelli S, Agasse F, Ferreira R, Silva AP, Malva JO. Neuropeptide Y as an endogenous antiepileptic, neuroprotective and pro-neurogenic peptide. *Recent Pat CNS Drug Discov.* 2006 Nov;1(3):315-24.
20. Munglani R, Hudspith MJ, Hunt SP. The therapeutic potential of neuropeptide Y. Analgesic, anxiolytic and antihypertensive. *Drugs.* 1996 Sep;52(3):371-89
21. Malva JO, Xapelli S, Baptista S, Valero J, Agasse F, Ferreira R, Silva AP. Multifaces of neuropeptide Y in the brain--neuroprotection, neurogenesis and neuroinflammation. *Neuropeptides.* 2012 Dec;46(6):299-308.

22. Vezzani A, Granata T. Brain inflammation in epilepsy: experimental and clinical evidence. *Epilepsia*. 2005; 46:1724–1743
23. Lyman M, Lloyd DG, Ji X, Vizcaychipi MP, Ma D. Neuroinflammation: The role and consequences. *Neurosci Res*. 2013 Oct 19. pii: S0168-0102(13)00225-3
24. Riazi K, Galic MA, Pittman QJ. Contributions of peripheral inflammation to seizure susceptibility: cytokines and brain excitability. *Epilepsy Res*. 2010; 89:34–42
25. Galic MA, Riazi K, Pittman QJ. Cytokines and brain excitability. *Front Neuroendocrinol*. 2012 an;33(1):116-25.
26. Riazi K, Honar H, Homayoun H, Demehri S, Bahadori M, Dehpour AR. Intestinal inflammation alters the susceptibility to pentylenetetrazole-induced seizure in mice. *J Gastroenterol Hepatol*. 2004 Mar;19(3):270-7
27. D. Kulaka, A.J. Polotskyb. Should the ketogenic diet be considered for enhancing fertility? *Maturitas* 74 (2013) 10– 13
28. Mainardi P, Albano C. Is the antiepileptic effect of the ketogenic diet due to ketones? *Med Hypotheses*. 2008;70(3):536-9.
29. Emamgholipour S, et al. Adipocytokine profile, cytokine levels and foxp3 expression in multiple sclerosis: a possible link to susceptibility and clinical course of disease. *PLoS One*. 2013 Oct 3;8(10):e76555
30. Yarchoan M, et al. Association of plasma C-reactive protein levels with the diagnosis of Alzheimer's disease. *J Neurol Sci*. 2013 Oct 15;333(1-2):9-12
31. Koyama A, O'Brien J, Weuve J, Blacker D, Metti AL, Yaffe K. The role of peripheral inflammatory markers in dementia and Alzheimer's disease: a meta-analysis. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*. 2013 Apr;68(4):433-40
32. Andican G, et al. Plasma oxidative and inflammatory markers in patients with idiopathic Parkinson's disease. *Acta Neurol Belg*. 2012 Jun;112(2):155-9.
33. Lima IV, Bastos LF, Limborço-Filho M, Fiebich BL, de Oliveira AC. Role of prostaglandins in neuroinflammatory and neurodegenerative diseases. *Mediators Inflamm*. 2012;2012:946813
34. Kirsch I, et al. *PLoS Med*. 2008 Feb;5(2):e45
35. Pinna G, Costa E, Guidotti A.. *Curr Opin Pharmacol*. 2009 Feb;9(1):24-30
36. Abraham SN, St John AL. Mast cell-orchestrated immunity to pathogens. *Nat Rev Immunol*. 2010 Jun;10(6): 440-52.
37. Anand P, Singh B, Jaggi AS, Singh N. Mast cells: an expanding pathophysiological role from allergy to other disorders. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol*. 2012 Jul;385(7):657-70
38. Monje M, Toda H, Palmer T (2003) Inflammatory blockade restores adult hippocampal neurogenesis. *Science* 302:1760–1765
39. Lagace D, Noonan M, Eisch A (2007) Hippocampal neurogenesis: a matter of survival. *Am J Psychiatry* 164:205
40. Zubarev OE, Klimenko VM. [Elevation of proinflammatory cytokines level at early age as the risk factor of neurological and mental pathology development]. *Russ Fiziol Zh Im I M Sechenova*. 2011 Oct;97(10):1048-59
41. Wei H, Alberts I, Li X. Brain IL-6 and autism. *Neuroscience*. 2013 Nov 12;252:320-5
42. Hang Ch et al, Intestinal mucosa structure after TBI. *World J Gastroenterol* 2003,9 (12) 2776-2781
- 43.