

Progetto Genoma 21: una strada verso la scoperta di nuovi approcci terapeutici per i bambini con trisomia 21 (sindrome di Down)



Laboratorio di Genomica



Dipartimento di Scienze Biomediche e Neuromotorie
Sede Operativa di Istologia, Embriologia e Biologia Applicata
Università di Bologna

Aprile 2024

*"La troveremo. E' impossibile che non riusciamo a trovarla.
E' una impresa intellettuale meno difficile che spedire un uomo sulla Luna.
Se trovo come guarire la trisomia 21, allora si aprirà la strada verso la guarigione di tutte le altre
malattie di origine genetica."*

Progetto Genoma 21: una strada verso la scoperta di nuovi approcci terapeutici per i bambini con trisomia 21 (sindrome di Down)

1. Premessa

La sindrome di Down (sdD) è una condizione genetica caratterizzata dalla presenza di un cromosoma 21 in più nelle cellule delle persone con tale sindrome.

È la più frequente anomalia genetica dell'uomo (1 su 400 concepiti e 1 su 700 nati vivi).

Questa anomalia cromosomica causa una "sindrome", cioè un insieme di "tratti" descritti per la prima volta nel 1866 dal medico inglese John L. Down (da cui il nome della sindrome) e che si possono manifestare con combinazioni e grado di severità variabili.

Alcune caratteristiche comuni sono occhi "a mandorla", radice del naso appiattita, bassa statura. La disabilità intellettiva, seppure in grado variabile, è la condizione sempre presente nelle persone con sdD e coinvolge soprattutto la sfera del linguaggio e del pensiero simbolico, mentre è nota la loro capacità di suscitare intorno a sé un clima di intensità affettiva più grande del normale.

Nel 1959 il Prof. Jérôme Lejeune e Coll. hanno dimostrato che la causa della sindrome è la trisomia 21, ossia una mutazione genetica che comporta la presenza di un cromosoma 21 in tre copie (invece delle normali due) nelle cellule delle persone con sdD (Lejeune et al. 1959).

Il filone di ricerca sulla trisomia 21 è stato portato all'Università di Bologna dalla Prof.ssa Maria Zannotti, ora in pensione, che alla fine degli anni '60 fu allieva a Parigi del Prof. Lejeune. Le ricerche vengono ora portate avanti dal gruppo da lei creato e ora guidato dal Prof. Pierluigi Strippoli.



Parigi, 1969 - La Prof.ssa Maria Zannotti (la seconda da destra) in riunione con il gruppo del Prof. Jérôme Lejeune (seduto al centro).

Lo studio è stato avviato in collaborazione con i referenti clinici Prof. Guido Cocchi (dal 2014 al 2019, anno del pensionamento) e Dott.ssa Chiara Locatelli (dal 2019), **Unità Operativa di Neonatologia** del Policlinico Sant'Orsola-Malpighi, Bologna ed è stato approvato dal Comitato Etico del Policlinico stesso.

Il progetto costituisce, a nostra conoscenza, la più ampia ricerca scientifica clinico-sperimentale sulla sindrome di Down condotta in Italia e mirata alla individuazione di una cura per la disabilità intellettiva causata dalla presenza di un cromosoma 21 in più. Il progetto riguarda al momento **280 bambini** con trisomia 21, con ricadute possibili su tutte le persone con trisomia 21 (38.000 solo in Italia), che è la più frequente anomalia genetica dell'uomo.

Stiamo studiando in dettaglio la regione critica del cromosoma 21 associata alla sindrome di Down e il metaboloma (l'insieme dei metaboliti) di modelli cellulari trisomici e di bambini con la sindrome che saranno anche sottoposti a valutazione clinica e cognitiva accurata. La mole di dati così ottenuti e correlati tra loro sarà utile per individuare specifiche reazioni metaboliche alterate che potrebbero diventare efficaci bersagli terapeutici per la cura della disabilità intellettiva della sindrome di Down.

Come risultato più importante, stiamo sottoponendo ad approvazione una sperimentazione clinica volta a verificare se l'**acido 5-metiltetraidrofolico** (forma attiva della Vitamina B9 o acido folico) possa **migliorare lo sviluppo psicomotorio e le abilità cognitive dei bambini con sindrome di Down.**

Nel 2019 abbiamo scritto il capitolo sulla genetica e genomica della sindrome di Down in un nuovo libro internazionale dedicato alla sindrome, riepilogando il lavoro svolto dal Prof. Lejeune in merito, ed esponendo i nostri principali risultati:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2211609519300016>

https://books.google.it/books?id=dtitDwAAQBAJ&pg=PA1&hl=it&source=gbs_toc_r&cad=3 - v=onepage&q&f=false

2. Risultati raggiunti all'Aprile 2024

2.1 MAPPE DI ESPRESSIONE DEI GENI UMANI

Abbiamo creato **mappe trascrizionali** quantitative del cervello, dell'ippocampo, delle cellule del sangue, del cuore e della tiroide per studiare l'attività dei geni umani, in particolare del cromosoma 21, in tessuti nei quali si manifestano gli effetti della trisomia 21. Abbiamo pubblicato in merito 6 articoli su riviste scientifiche internazionali:

2014 <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25185649>

2016 <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26108741>

2014 <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25476127>

2017 <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27345625>

2017 <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28923001>

2018 <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29740474>

Nel 2021 abbiamo pubblicato una mappa del trascrittoma del sangue di bambini con trisomia 21 ottenuta utilizzando la tecnica dell'RNA-Seq, in collaborazione con il MAGI's Lab di Trento:

2021 <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33933170/>

2.2 REGIONE CRITICA PER LA SINDROME DI DOWN SUL CROMOSOMA 21

Abbiamo rianalizzato tutti i casi pubblicati di trisomia 21 parziale ai fini della identificazione, sul cromosoma 21 umano, della **regione critica** responsabile della **sindrome di Down** e in particolare associata alla disabilità intellettiva. I risultati identificano e delimitano tale regione e sono stati pubblicati il 22 Aprile 2016 su *Human Molecular Genetics*:

2016 <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27106104/>

Nel 2019 e nel 2022 sono stati pubblicati altri due nostri articoli che presentano lo studio di rispettivamente 10 e 4 nuovi casi di trisomia 21 parziale, indipendentemente dal primo articolo pubblicato in merito nel 2016. I nuovi risultati confermano la rilevanza della "regione critica"

per la diagnosi di sdD, per cui ad oggi non troviamo alcuna eccezione alla regola secondo la quale in assenza di tre copie di questa particolare regione "altamente ristretta", che costituisce meno di un millesimo del cromosoma 21, non vi è diagnosi di sindrome di Down. Questo in linea con l'idea del Prof. Lejeune che sul cromosoma 21 vi siano pochi geni "colpevoli", e molti "innocenti":

2019 <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/31237416>

2022 <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36544206/>

La "regione critica" da noi identificata sul cromosoma 21 è presente solo nell'uomo e nello scimpanzè, e fino al 2021 è stata considerata silente (non attiva) e questo rende difficile comprendere la sua funzione e la sua relazione con le caratteristiche della sdD. Tuttavia, l'8 Dicembre del 2021 è stata pubblicata su *Frontiers in Genetics* la nostra analisi di tale regione che dimostra che essa è in realtà attiva e sue sequenze si trovano espresse nei trascritti di almeno due geni:

2021 <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34956324/>

Infine, abbiamo identificato anche la "regione critica" associata alla presenza di cardiopatie congenite nella sindrome di Down:

2017 <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28648597>

2.3 ALTERAZIONI DEL METABOLISMO NELLA SINDROME DI DOWN

Abbiamo raccolto campioni di sangue e/o di urina, ad oggi, da 280 bambini con sdD e da 78 soggetti di controllo. È stato così possibile costituire una **banca di campioni biologici** (plasma, DNA, RNA e urina).

Abbiamo analizzato per la prima volta il profilo metabolomico del plasma e delle urine nella sdD. Il primo articolo è stato pubblicato il 14 Febbraio 2018 su *Scientific Reports*, dimostrando che nella sdD ci sono anomalie specifiche del metabolismo. Un nuovo articolo sul profilo metabolomico nel plasma è stato pubblicato il 26 Giugno 2020 su *Scientific Reports*, confermando in una casistica più ampia che nella sdD ci sono anomalie specifiche del metabolismo, al momento non correlabili con il grado di disabilità intellettiva:

2018 <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29445163>

2020 <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32591596/>

Anche alcune frazioni del plasma sanguigno contenenti microRNA hanno rivelato specifiche differenze rispetto ai bambini senza il cromosoma in più, come mostrato in un articolo pubblicato in collaborazione con l'Università di Brescia sulla rivista *International Journal of Molecular Medicine*:

2019 <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/31017260>

Nel 2021 abbiamo pubblicato, sempre su *Scientific Reports*, risultati che mostrano specifiche relazioni tra il **ciclo dei monocarboni** (di cui fa parte il ciclo dell'**acido folico**) e le abilità cognitive nei bambini con sindrome di Down:

2021 <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33608632/>

Nel 2022 abbiamo pubblicato su *Frontiers in Medicine* l'osservazione che alcune alterazioni del **ciclo dei monocarboni**, che comprende il **ciclo dell'acido folico (Vitamina B9)**, presenti nei **bambini con trisomia 21** sono correlate al **numero di cromosomi 21**, ponendo con questo risultato le basi per una sperimentazione clinica che tenda a **riequilibrare i metaboliti del ciclo dei monocarboni e dell'acido folico al fine di verificare se ciò migliori lo sviluppo psicomotorio e le abilità cognitive dei bambini con trisomia 21**.

L'importanza di questi aspetti metabolici nei bambini con trisomia 21 è stata confermata dallo studio del trimetilsulfonio urinario, aumentato nel rapporto 3:2, e dalla rassegna della letteratura biomedica relativamente alla S-Adenosil-Metionina e S-Adenosil-Omocisteina, anch'esse presenti in rapporti alterati nella sindrome di Down.

2022 <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36530924/>

2024 <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/38266970/>

2024 <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/38353465/>

I **dati cognitivi** raccolti grazie alla collaborazione con l'Università di Padova hanno permesso al gruppo della Prof.ssa Silvia Lanfranchi di studiare: la relazione tra acquisizione della principali tappe di sviluppo dei bambini con sdD e abilità cognitive; le funzioni esecutive e adattive nei bambini con sdD; i differenti tipi di profili cognitivi nei bambini ed adolescenti con sdD; la relazione tra i segni di Jackson, una serie di segni di cui abbiamo confermato la utilità per la diagnosi clinica di sdD, e il risultato dei test cognitivi, *smontando lo stereotipo secondo cui le caratteristiche fisiche sono predittive del grado di disabilità intellettiva*.

I relativi articoli sono stati pubblicati su riviste internazionali nel 2021-2024:

2021 <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34069813/>

2021 <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34750907/>

2022 <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35121796/>

2022 <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35210468/>

2024 <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/38141379/>

2.4 MODELLI CELLULARI PER LO STUDIO DELLA TRISOMIA 21

L'utilizzo di un **modello cellulare (fibroblasti trisomici ed euploidi)** ha consentito di verificare gli effetti delle varie forme di folati sulla azione antiproliferativa del metotressato (MTX), un agente antifolico al quale le cellule delle persone con sdD sono ipersensibili. Questi dati potranno essere interpretati nell'ambito di un modello del metabolismo specifico per la trisomia 21, avendo dimostrato che le **differenti forme di acido folico** non sono equivalenti per quanto riguarda gli effetti sulla crescita cellulare.

L'articolo è stato pubblicato nel 2019 sul *Journal of Cellular Physiology*:

2019 <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30667057>

2.5 ASPETTI CLINICI NEI BAMBINI CON SINDROME DI DOWN

Il momento della **comunicazione** ai genitori, prima o dopo la nascita, che **il loro bambino ha la sindrome di Down** è molto delicato, tuttavia a tutt'oggi viene spesso posta scarsa attenzione alla modalità di presentazione dei risultati dei test e alle conseguenze per la famiglia. Per questo, il nostro gruppo ha pubblicato il primo articolo che illustra in modo completo come affrontare questo passaggio, illustrando la competenza e le attenzioni necessarie, e sottolineando la necessità di presentare anche i punti di forza del bambino.

L'articolo è stato pubblicato nel 2023 sulla rivista internazionale *Italian Journal of Pediatrics*:

2023 <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36759877/>

Usando tecniche di analisi dei dati mediante Intelligenza Artificiale, abbiamo studiato sistematicamente 109 caratteristiche cliniche in 106 soggetti con trisomia 21, identificando alcuni aspetti associati alla disabilità intellettiva, come i livelli di Vitamina B12 o lo stato immunitario, suggerendo che debbano essere monitorati clinicamente:

2023 <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37810082/>

3. Nuovi Obiettivi 2024

3.1 Sperimentazione clinica per validare l'ipotesi che un riequilibrio del **ciclo dei monocarboni** possa influenzare positivamente lo sviluppo psicomotorio e le abilità cognitive dei bambini con sdD. La domanda di sperimentazione è in corso di preparazione per essere sottoposta al Comitato Etico competente.

3.2 Caratterizzazione della regione altamente ristretta critica per la sindrome di Down (*Highly Restricted Down Syndrome Critical Region*, HR-DSCR). Grazie ad una collaborazione internazionale avviata con il gruppo del Prof. Patrick Harrison, University College Cork, Irlanda, e con il gruppo dei Proff. Niklas Dahl e Jens Schuster, Università di Uppsala, Svezia, verrà eliminata in maniera selettiva la HR-DSCR mediante il sistema CRISPR/Cas9 per studiare le alterazioni imputabili a questa regione, in particolare quelle metaboliche relative al ciclo dell'acido folico.

I metaboliti rilasciati dalle cellule nel loro terreno di coltura saranno poi dosati con saggi **ELISA** oppure mediante analisi metabolomiche di Risonanza Magnetica Nucleare (NMR), in collaborazione con il gruppo della Prof.ssa Paola Turano, Università di Firenze.

I metodi sperimentali sono descritti in dettaglio nell'articolo da noi pubblicato che descrive il Progetto e nei riferimenti bibliografici ivi citati:

<http://www.spp-j.com/spp/1-1/spp.2013.12R0005/>

"Tutta la difficoltà della ricerca è come scoprire il musicista discorde, perché l'orchestra della vita ha circa cinquantamila musicisti"
(Jérôme Lejeune)

4. Curriculum vitae del responsabile scientifico - Prof. Pierluigi Strippoli

Pierluigi Strippoli è professore associato di Biologia applicata presso la Università di Bologna, dove insegna attualmente Genetica nel Corso di Laurea in Medicina e Chirurgia e Genomica in quello in Biotecnologie Mediche (*Medical Biotechnology*).

Presso la stessa sede è alla guida del Laboratorio di Genomica del Dipartimento di Scienze Biomediche e Neuromotorie (DIBINEM).

Ha applicato l'uso di tecniche di genetica molecolare e di genomica allo studio delle malattie del sangue, del cancro del colon-retto e della trisomia 21, ideando e realizzando alcuni strumenti originali di biologia computazionale per l'analisi del genoma umano e pubblicando 86 articoli su riviste scientifiche internazionali.

Negli ultimi anni il Prof. Strippoli ha lanciato uno studio sistematico della sindrome di Down basato sulla integrazione di dati clinici, biochimici, genetici e bioinformatici, seguendo il pensiero scientifico del Prof. Jérôme Lejeune allo scopo di identificare nuove possibilità di cura per la disabilità intellettiva associata a questa forma di trisomia.

Il curriculum completo è reperibile presso questo sito web istituzionale:

<https://www.unibo.it/sitoweb/pierluigi.strippoli/cv>

5. Gruppo di ricerca

L'Unità Operativa che coordina la ricerca opera nel Laboratorio di Genomica del DIBINEM - Dipartimento di Scienze Biomediche e Neuromotorie (Direttrice: Prof.ssa Lucia Manzoli), Sede Operativa di Istologia, Embriologia e Biologia Applicata, Università di Bologna.

In particolare si occuperanno stabilmente di questo progetto:

Nome e cognome	Laurea	Ruolo
Pierluigi Strippoli	Medicina e Chirurgia	Professore Associato
Lorenza Vitale	Medicina e Chirurgia	Professoressa Associata
Maria Chiara Pelleri	Biotechnologie	Professoressa Associata
Maria Caracausi	Biotechnologie	Professoressa Associata
Allison Piovesan	Biotechnologie	Professoressa Associata
Francesca Antonaros	Biotechnologie	Ricercatrice a Tempo Determinato-A
Beatrice Vione	Biotechnologie	Dottoranda di Ricerca (DIBINEM)
Giuseppe Ramacieri	Medicina e Chirurgia	Dottorando di Ricerca (DIMEC)
Francesca Catapano	<i>Genetics Counsellors</i>	Dottoranda di Ricerca (DIMEC)
Michela Cicilloni	Biologia della Salute	Dottoranda di Ricerca (DIBINEM)
Pietro Paradisi	Medicina e Chirurgia	Borsista Giovane Laureato

Il referente clinico della ricerca, che succede al Prof. Guido Cocchi in seguito al suo pensionamento, è la Dott.ssa Chiara Locatelli (Unità Operativa di Neonatologia diretta dal Prof. Luigi Corvaglia, Policlinico S.Orsola-Malpighi).

Ci avvarremo inoltre della collaborazione della Prof.ssa Maria Zannotti, già Professoressa associata di Biologia Applicata presso l'Università di Bologna e attualmente in pensione.

6. Collaborazioni internazionali e nazionali attive sul Progetto

Prof.ssa Silvia Lanfranchi, Prof. Renzo Vianello
Dott.sse Chiara Onnivello, Francesca Pulina, Chiara Marcolin
Dipartimento di Psicologia dello Sviluppo e della Socializzazione, Università di Padova, Padova

Prof. Patrick Harrison
Physiology Department, University College Cork, Cork, Irlanda

Prof. Niklas Dahl - Prof. Jens Schuster
Department of Immunology, Genetics and Pathology - Medical Genetics and Genomics
Università di Uppsala, Svezia

Prof.ssa Paola Turano
Centro di Risonanze Magnetiche (CERM), Università di Firenze, Firenze

7. Finanziamenti

Per il biennio **2024 - 2025**, sulla base dei nuovi obiettivi sopra indicati, prevediamo una spesa di **120.000 Euro/anno** (**75.000 Euro/anno** per tre borse di studio o assegni di ricerca e **45.000 Euro/anno** per le spese del Laboratorio).

La seguente suddivisione tra le varie voci di spesa (esclusi gli strumenti inventariabili) è solo indicativa (variabile nel dettaglio a seconda delle esigenze sperimentali emerse nel corso della ricerca):

Biologia Molecolare/ Spese Accessorie	
Plastiche e reagenti di laboratorio	3.500,00
Puntali, provette	2.500,00
Reagenti per PCR, gel e purificazione del DNA	3.500,00
Reagenti per clonaggio in vivo	3.000,00
RNA e cDNA	3.500,00
Reagenti per Northern-blot	2.500,00
Reagenti per "Real-Time" PCR	2.500,00
Reagenti per colture cellulari e saggi ELISA dei folati	14.000,00
Hardware/software per analisi dati	3.000,00
Spese di pubblicazione dei risultati	4.000,00
Spese per missioni/collaborazioni [Partecipazioni a congressi e riunioni di lavoro, organizzazione di seminari]	3.000,00
Totale per un anno	45.000,00

Tutte le donazioni al Laboratorio di Genomica saranno utilizzate per:

1. Finanziare i giovani ricercatori (borsisti, studenti di dottorato, ricercatori post-dottorato e contrattisti) che lavorano sul Progetto.

2. Acquistare materiali, reagenti, strumenti e servizi necessari al lavoro sperimentale e sostenere alcune **spese** generali di ricerca (pubblicazioni, missioni ecc.).

8. Bibliografia

Antonaros F, Olivucci G, Cicchini E, Ramacieri G, Pelleri MC, Vitale L, Strippoli P, Locatelli C, Cocchi G, Piovesan A, Caracausi M. MTHFR C677T polymorphism analysis: [A simple, effective restriction enzyme-based method improving previous protocols](#). Mol Genet Genomic Med., 7:e628, 2019.

Antonaros F, Ghini V, Pulina F, Ramacieri G, Cicchini E, Mannini E, Martelli A, Feliciello A, Lanfranchi S, Onnivello S, Vianello R, Locatelli C, Cocchi G, Pelleri MC, Vitale L, Strippoli P, Luchinat C, Turano P, Piovesan A, Caracausi M. [Plasma metabolome and cognitive skills in Down syndrome](#). Sci Rep, 10:10491, 2020.

Antonaros F, Lanfranchi S, Locatelli C, Martelli A, Olivucci G, Cicchini E, Carosi Diatricch L, Mannini E, Vione B, Feliciello A, Ramacieri G, Onnivello S, Vianello R, Vitale L, Pelleri MC, Strippoli P, Cocchi G, Pulina F, Piovesan A, Caracausi M. [One-carbon pathway and cognitive skills in children with Down syndrome](#). Sci Rep, 11:4225, 2021.

Antonaros F, Zenatelli R, Guerri G, Bertelli M, Locatelli C, Vione B, Catapano F, Gori A, Vitale L, Pelleri MC, Ramacieri G, Cocchi G, Strippoli P, Caracausi M, Piovesan A. [The transcriptome profile of human trisomy 21 blood cells](#). Hum Genomics, 15:25, 2021.

Antonaros F, Pitocco M, Abete D, Vione B, Piovesan A, Vitale L, Strippoli P, Caracausi M, Pelleri MC. [Structural Characterization of the Highly Restricted Down Syndrome Critical Region on 21q22.13: New KCNJ6 and DSCR4 Transcript Isoforms](#). Front Genet 12:770359, 2021.

- Antonaros F, Obermayer-Pietsch B, Ramacieri G, Vione B, Locatelli C, Goessler W, Caracausi M, Lajin B. [First clinical evidence that trimethylsulfonium can serve as a biomarker for the production of the signaling molecule hydrogen sulfide](#). *Clin Chim Acta*. 554:117780, 2024.
- Baldo F, Piovesan A, Rakvin M, Ramacieri G, Locatelli C, Lanfranchi S, Onnivello S, Pulina F, Caracausi M, Antonaros F, Lombardi M, Pelleri MC. [Machine learning based analysis for intellectual disability in Down syndrome](#). *Heliyon*, 9:e19444, 2023.
- Caracausi M, Vitale L, Pelleri MC, Piovesan A, Bruno S, Strippoli P. [A quantitative transcriptome reference map of the normal human brain](#). *Neurogenetics*, 15:267-287, 2014.
- Caracausi M, Rigon V, Piovesan A, Strippoli P, Vitale L, Pelleri MC. [A quantitative transcriptome reference map of the normal human hippocampus](#). *Hippocampus*, 26:13-26, 2016.
- Caracausi M, Ghini V, Locatelli C, Mericio M, Piovesan A, Antonaros F, Pelleri MC, Vitale L, Vacca RA, Bedetti F, Mimmi MC, Luchinat C, Turano P, Strippoli P, Cocchi G. [Plasma and urinary metabolomic profiles of Down syndrome correlate with alteration of mitochondrial metabolism](#). *Sci Rep*, 8:2977, 2018.
- Caracausi M, Ramacieri G, Catapano F, Cicilloni M, Lajin B, Pelleri MC, Piovesan A, Vitale L, Locatelli C, Pirazzoli GL, Strippoli P, Antonaros F, Vione B. [The functional roles of S-adenosyl-methionine and S-adenosyl-homocysteine and their involvement in trisomy 21](#). *Biofactors*, 2024 Feb 14, doi: 10.1002/biof.2044. Online ahead of print, 2024.
- Epstein CJ. Down syndrome, trisomy 21. In: Scriver CR, Beaudet al. Sly WS, Valle D. *Metabolic Basis of Inherited Disease*. McGraw-Hill, New York, NY, 1989. Pp. 291-326.
- Gardiner K, Costa AC. The proteins of human chromosome 21. *Am J Med Genet C Semin Med Genet*, 142C:196-205, 2006.
- Gardiner KJ. Molecular basis of pharmacotherapies for cognition in Down syndrome. *Trends Pharmacol Sci*, 31:66-73, 2010.
- Gori C, Cocchi G, Corvaglia LT, Ramacieri G, Pulina F, Sperti G, Cagnazzo V, Catapano F, Strippoli P, Cordelli DM, Locatelli C. [Down Syndrome: how to communicate the diagnosis](#). *Ital J Pediatr*, 49:18, 2023.
- Korenberg JR. Down syndrome: the crucible for treating genomic imbalance. *Genet Med*, 11:617-619, 2009.
- Lejeune J, Gautier M, Turpin R. Etude des chromosomes somatiques de neuf enfants mongoliens. *C R Hebd Seances Acad Sci*, 248:1721-1722, 1959.
- Lenzi L, Facchin F, Piva F, Giulietti M, Pelleri MC, Frabetti F, Vitale L, Casadei R, Canaider S, Bortoluzzi S, Coppe A, Danieli GA, Principato G, Ferrari S, Strippoli P. TRAM (Transcriptome Mapper): database-driven creation and analysis of transcriptome maps from multiple sources. *BMC Genomics*, 12:121, 2011.
- Letourneau A, Antonarakis SE. Genomic determinants in the phenotypic variability of Down syndrome. *Prog Brain Res*, 197:15-28, 2012.
- Locatelli C, Onnivello S, Antonaros F, Feliciello A, Filoni S, Rossi S, Pulina F, Marcolin C, Vianello R, Toffalini E, Ramacieri G, Martelli A, Procaccini G, Sperti G, Caracausi M, Pelleri MC, Vitale L, Pirazzoli GL, Strippoli P, Cocchi G, Piovesan A, Lanfranchi S. [Is the Age of Developmental Milestones a Predictor for Future Development in Down Syndrome?](#) *Brain Sci*, 11:655, 2021.
- Locatelli C, Onnivello S, Gori C, Ramacieri G, Pulina F, Marcolin C, Vianello R, Vione B, Caracausi M, Pelleri MC, Vitale L, Pirazzoli GL, Cocchi G, Corvaglia L, Strippoli P, Antonaros F, Piovesan A, Lanfranchi S. [A reassessment of Jackson's checklist and identification of two Down syndrome sub-phenotypes](#). *Sci Rep*, 12:3104, 2022.
- Mégarbané A, Ravel A, Mircher C, Sturtz F, Grattau Y, Rethoré MO, Delabar JM, Mobley WC. The 50th anniversary of the discovery of trisomy 21: the past, present, and future of research and treatment of Down syndrome. *Genet Med*, 11:611-616, 2009.
- Onnivello S, Colaianni S, Pulina F, Locatelli C, Marcolin C, Ramacieri G, Antonaros F, Vione B, Piovesan A, Lanfranchi S. [Executive functions and adaptive behaviour in individuals with Down syndrome](#). *J Intellect Disabil Res*, 66:32-49, 2022.
- Onnivello S, Pulina F, Locatelli C, Marcolin C, Ramacieri G, Antonaros F, Vione B, Caracausi M, Lanfranchi S. [Cognitive profiles in children and adolescents with Down syndrome](#). *Sci Rep* 12:1936, 2022b.
- Onnivello S, Locatelli C, Pulina F, Ramacieri G, Marcolin C, Antonaros F, Vione B, Catapano F, Lanfranchi S. [Cross-sectional developmental trajectories in the adaptive functioning of children and adolescents with Down syndrome](#). *Res Dev Disabil*, 144:104641, 2024.
- Patterson D. Molecular genetic analysis of Down syndrome. *Hum Genet*, 126:195-214, 2009.

- Pelleri MC, Piovesan A, Caracausi M, Berardi AC, Vitale L, Strippoli P. [Integrated differential transcriptome maps of Acute Megakaryoblastic Leukemia \(AMKL\) in children with or without Down Syndrome \(DS\)](#). BMC Med Genomics, 7:63, 2014.
- Pelleri MC, Cicchini E, Locatelli C, Vitale L, Caracausi M, Piovesan A, Rocca A, Poletti G, Seri M, Strippoli P, Cocchi G. [Systematic reanalysis of partial trisomy 21 cases with or without Down syndrome suggests a small region on 21q22.13 as critical to the phenotype](#). Hum Mol Genet, 25:2525-2538, 2016.
- Pelleri MC, Gennari E, Locatelli C, Piovesan A, Caracausi M, Antonaros F, Rocca A, Donati CM, Conti L, Strippoli P, Seri M, Vitale L, Cocchi G. [Genotype-phenotype correlation for congenital heart disease in Down syndrome through analysis of partial trisomy 21 cases](#). Genomics, 109:391-400, 2017.
- Pelleri MC, Cattani C, Vitale L, Antonaros F, Strippoli P, Locatelli C, Cocchi G, Piovesan A, Caracausi M. [Integrated Quantitative Transcriptome Maps of Human Trisomy 21 Tissues and Cells](#). Front Genet, 9:125, 2018.
- Pelleri MC, Cicchini E, Petersen MB, Tranebjaerg L, Mattina T, Magini P, Antonaros F, Caracausi M, Vitale L, Locatelli C, Seri M, Strippoli P, Piovesan A, Cocchi G. [Partial trisomy 21 map: Ten cases further supporting the highly restricted Down syndrome critical region \(HR-DSCR\) on human chromosome 21](#). Mol Genet Genomic Med, 7:e797, 2019.
- Pritchard M, Reeves RH, Dierssen M, Patterson D, Gardiner KJ. Down syndrome and the genes of human chromosome 21: current knowledge and future potentials. Report on the Expert workshop on the biology of chromosome 21 genes: towards gene-phenotype correlations in Down syndrome. Washington D.C., September 28-October 1, 2007. Cytogenet Genome Res, 121:67-77, 2008.
- Roizen NJ, Patterson D. Down's syndrome. Lancet, 361:1281-1289, 2003
- Roper RJ, Reeves RH. Understanding the basis for Down syndrome phenotypes. PLoS Genet, 2:e50, 2006.
- Salvi A, Vezzoli M, Busatto S, Paolini L, Faranda T, Abeni E, Caracausi M, Antonaros F, Piovesan A, Locatelli C, Cocchi G, Alvisi G, De Petro G, Ricotta D, Bergese P, Radeghieri A. [Analysis of a nanoparticle-enriched fraction of plasma reveals miRNA candidates for Down syndrome pathogenesis](#). Int J Mol Med, 43:2303-2318, 2019.
- Sinet PM, Allard D, Lejeune J, Jerome H. Letter: Gene dosage effect in trisomy 21. Lancet, 1:276, 1975.
- Strippoli P, Pelleri MC, Caracausi M, Vitale L, Piovesan A, Locatelli C, Mimmi MC, Berardi AC, Ricotta D, Radeghieri A, Barisani D, Basik M, Monaco MC, Ghezzi A, Seri M, Cocchi G. [An integrated route to identifying new pathogenesis-based therapeutic approaches for trisomy 21 \(Down Syndrome\) following the thought of Jérôme Lejeune](#). Sci Postprint, 1:e00010, 2013.
- Strippoli P, Pelleri MC, Piovesan A, Caracausi M, Antonaros A, Vitale L. [Chapter One - Genetics and genomics of Down syndrome](#). International Review of Research in Developmental Disabilities, Academic Press, 56:1-39, 2019.
- Vione B, Ramacieri G, Zavaroni G, Piano A, La Rocca G, Caracausi M, Vitale L, Piovesan A, Gori C, Pirazzoli GL, Strippoli P, Cocchi G, Corvaglia L, Locatelli C, Pelleri MC, Antonaros F. [One-carbon pathway metabolites are altered in the plasma of subjects with Down syndrome: Relation to chromosomal dosage](#). Front Med 9:1006891, 2022.
- Vitale L, Serpieri V, Lauriola M, Piovesan A, Antonaros F, Cicchini E, Locatelli C, Cocchi G, Strippoli P, Caracausi M. [Human trisomy 21 fibroblasts rescue methotrexate toxic effect after treatment with 5-methyl-tetrahydrofolate and 5-formyl-tetrahydrofolate](#). J Cell Physiol, Jan 22, 2019.