

A. Schenone • A. Zicca • A. Cadoni

## Terapia del danno assonale nelle neuropatie periferiche

**Riassunto** La crescita ed il trofismo dell'assone dipendono dall'integrità anatomica e molecolare del neurone e dal reciproco scambio di informazioni fra l'assone stesso e la cellula di Schwann. La sofferenza assonale nelle neuropatie periferiche può quindi essere dovuta ad un meccanismo di danno tossico-metabolico dell'assone o della cellula nervosa, a traumi diretti dell'assone, a difetti del trasporto assonale o essere secondaria ad una primitiva patologia della cellula di Schwann, come si verifica nelle neuropatie demielinizzanti. I meccanismi ritenuti più importanti nel mediare il danno dell'assone sono la disorganizzazione dei canali ionici, la liberazione di glutammato e la produzione di ossido nitrico, la carenza di fattori neurotrofici, l'alterazione del trasporto assonale, la sofferenza mitocondriale, l'azione tossica diretta di citochine proinfiammatorie e l'alterata espressione di proteine che mediano i rapporti glia-assone. Molte molecole sono pertanto potenzialmente efficaci nel trattamento o nella prevenzione del danno assonale. Fra queste ricordiamo i fattori neurotrofici

[*nerve growth factor* (NGF), *neurotrophin-3* (NT-3), *ciliary neurotrophic factor* (CNTF)], alcuni farmaci antiepilettici (gabapentin, lamotrigina, topiramato), gli antagonisti dei canali del Na (ralfinamide) e dei canali del Ca, gli antiossidanti (acido  $\alpha$ -lipoico, vitamina C), e infine alcune molecole con meccanismi di azione complessi (eritropoietina, L-acetyl carnitina).

**Parole chiave** Assone • Atrofia assonale • Neuropatia • Neuroprotezione • Terapia

### Introduzione e meccanismi del danno assonale

Le proprietà dell'assone sono fondamentali per il corretto funzionamento neuronale. In base all'assenza o presenza di avvolgimento mielinico e alle loro dimensioni, gli assoni conducono più o meno velocemente l'impulso nervoso. Il ruolo della mielina nella conduzione saltatoria e delle cellule gliali che formano mielina – le cellule di Schwann nel sistema nervoso periferico (SNP) – nel sostenere il trofismo dell'assone è ormai ben conosciuto [1]. Un danno qualsiasi dell'assone si riflette quindi in maniera significativa sulla funzione nervosa e sulla trasmissione dell'impulso.

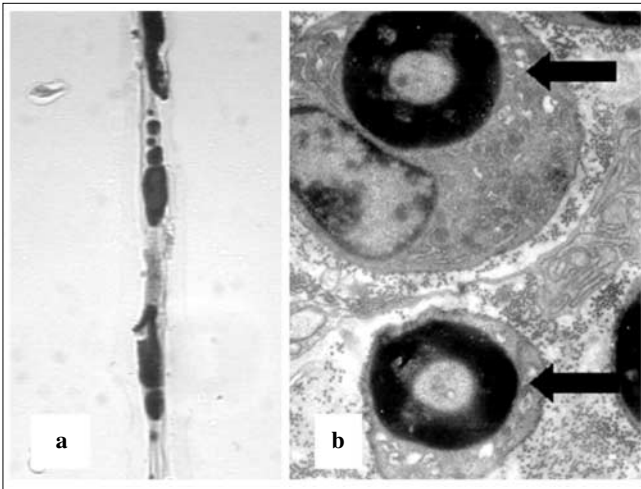
La patologia assonale può essere primitiva, se il meccanismo patogenetico agisce direttamente sull'assone, o secondaria, se riflette un danno della cellula gliale o della mielina. Ciò vale sia per il sistema nervoso periferico, che per il sistema nervoso centrale (SNC). Diverse sono le cause responsabili di un danno assonale primitivo. Fra queste ricordiamo i traumi diretti della fibra nervosa, la patologia tossico-metabolica come ad esempio il diabete mellito o gli effetti dei farmaci chemioterapici antitumorali, l'ischemia del nervo come accade nelle vasculiti del SNP e la liberazione di citochine proinfiammatorie che si verifica in caso di neuropatie disimmuni. Il prototipo neu-

A. Schenone (✉) • A. Zicca  
Dipartimento di Neuroscienze, Oftalmologia e Genetica  
Università degli Studi di Genova  
Via De Toni 5, I-16132 Genova, Italia  
e-mail: aschenone@neurologia.unige.it

A. Cadoni  
Dipartimento di Medicina Sperimentale  
Università degli Studi di Genova, Italia

ropatologico della sofferenza assonale da danno diretto è la degenerazione walleriana (Fig. 1). Con questo termine si intendono i fenomeni degenerativi dell'assone e della mielina, che si sviluppano entro 48 ore dalla completa sezione dell'assone, distalmente alla sede di lesione; la guaina mielinica si segmenta in ovoidi che diventano sempre più piccoli e maggiormente separati gli uni dagli altri, l'assone si assottiglia e si frammenta fino a scomparire. Distalmente alla sede di lesione, le cellule di Schwann iniziano a proliferare formando le cosiddette "bande di Büngner" che costituiscono alla base della rigenerazione dell'assone, che inizia già 24 ore dopo la transezione. L'entità della rigenerazione nervosa dipende dall'integrità delle cellule di Schwann e delle guaine del nervo (epinevrrio e perinevrrio), e dalla distanza della sede di lesione dal corpo cellulare. Un quadro neuropatologico di degenerazione simil-walleriana si può avere anche a seguito di demielinizzazione acuta e grave.

Più spesso, tuttavia, la compromissione dell'assone nelle malattie demielinizzanti è secondaria ad una perdita cronica di mielina e si manifesta sul piano neuropatologico come una atrofia assonale (Fig. 1). In questo caso il diametro assonale si riduce significativamente e la densità dei neurofilamenti (NF) aumenta insieme ad una defosforilazione dei NF stessi. La riduzione del diametro assonale, l'aumento di densità dei NF e il loro stato defosforilato sono intimamente collegati. Infatti, è stato dimostrato recentemente che, in corso di polineuropatia demielinizzante con anticorpi anti-*myelin associated glycoprotein* (MAG), la riduzione del diametro assonale corrisponde ad una diminuita distanza fra i NF più vicini [2]. È inoltre noto che la corretta disposizione e spaziatura dei NF nell'assone dipende dallo stato di fosforilazione dei NF stessi [3].



**Fig. 1a** Esame delle singole fibre: osmio tetrossido. Una singola fibra preparata al microscopio da dissezione appare in fase di degenerazione walleriana. **b** Microscopia elettronica: citrato di Pb e acetato di uranile. Due fibre mielinizzate mostrano assone di diametro ridotto rispetto allo spessore mielinico con aumento della densità dei neurofilamenti, espressione di atrofia assonale

L'esperienza clinica suggerisce che la gravità dei sintomi nelle neuropatie periferiche demielinizzanti acquisite o ereditarie è dovuta soprattutto all'entità del danno assonale e ciò, a maggior ragione, vale per le neuropatie assonali primitive (traumatiche, ischemiche, infiammatorie, metaboliche e tossiche).

A dimostrazione di questo, nella neuropatia demielinizzante ereditaria a tipo Charcot-Marie-Tooth 1A (CMT1A), dovuta ad una duplicazione del gene che codifica per la proteina mielinica di 22 kD (*pmp22*), l'entità della compromissione clinica non correla con il rallentamento della VC ma con la gravità del danno assonale [4]. Un'atrofia assonale secondaria è stata altresì descritta in altre forme di polineuropatia demielinizzante acquisita, ad esempio a genesi disimmune, o ereditaria. La ricerca in questo senso è anche stata significativamente stimolata dalla disponibilità di modelli animali o *in vitro* di neuropatie periferiche ereditarie o acquisite, che sviluppano anche danno assonale [5-7], e dalla presenza di molecole con potenziale effetto neuroprotettivo come i fattori neurotrofici (NGF, NT-3, CNTF), alcuni antiepilettici (gabapentin, lamotrigina o topiramato), gli antagonisti dei canali del Na (ralfinamide) e dei canali del Ca, gli antiossidanti (acido  $\alpha$ -lipoico, vitamina C), la eritropoietina e la L-acetyl carnitina (LAC).

È assai probabile che l'azione neuroprotettiva di queste molecole interferisca con il meccanismo (diretto o secondario) del danno assonale, ma sia indipendente dalla causa specifica di questo. La maggior parte di esse sono state sperimentate in malattie del SNP caratterizzate da sofferenza assonale diretta (neuropatia diabetica, neuropatie tossiche, neuropatie traumatiche, neuropatie ischemiche). Vista l'importanza del danno assonale secondario nel determinare il grado di invalidità in caso di neuropatia demielinizzante cronica, rimane, in ogni caso, veramente interessante valutare in futuro l'impatto terapeutico di queste molecole anche in queste condizioni.

### Terapia del danno assonale

Come detto diversi gruppi di molecole possono essere teoricamente efficaci nel prevenire o curare il danno diretto o secondario dell'assone.

#### Fattori neurotrofici o neurotrofine

Si tratta di macromolecole polipeptidiche, solubili, a prevalente distribuzione extracellulare, che influenzano proliferazione, crescita e differenziazione di selezionate popolazioni neuronali, attraverso un meccanismo di interazione con recettori specifici, e vengono prodotte dai tessuti

bersaglio (ad esempio, il muscolo), captati dall'assone, internalizzati e trasportati in senso retrogrado verso il corpo cellulare ove esplicano la loro azione [8]. Esistono pertanto i presupposti sperimentali per utilizzare tali fattori nella terapia neuroprotettiva. Fra le neurotrofine ricordiamo il NGF, il *brain derived neurotrophic factor* (BDNF), il NT-3, la neurotrofina 4/5 (NT-4/5), l'*insulin like growth factor I* (IGF-I) e il CNTF. Una terapia con fattori neurotrofici dovrebbe porsi diversi obiettivi:

1. compensare un possibile deficit di una neurotrofina che sia coinvolto nella patogenesi della neuropatia, come ipotizzabile nella neuropatia diabetica [9];
2. rallentare l'evoluzione della malattia agendo sulle vie biochimiche coinvolte nella cascata neurodegenerativa;
3. aumentare il meccanismo fisiologico di rigenerazione assonale.

Sulla base di questi presupposti sono stati utilizzati NGF, IGF-I, NT-3 e CNTF in diverse neuropatie sperimentali (diabetica, da farmaci antiblastici, traumatica) con risultati incoraggianti. Purtroppo il trasferimento di queste esperienze alla terapia delle neuropatie umane, ad esempio il trattamento della neuropatia diabetica o da HIV con NGF, ha dato risultati per il momento insoddisfacenti [10].

#### Farmaci antiepilettici e inibitori dei canali ionici

Il razionale per l'uso di farmaci antiepilettici a scopo neuroprotettivo e per prevenire o curare la sofferenza assonale diretta o secondaria, risiede nella capacità di alcuni di essi di bloccare i canali del Na o del Ca. Infatti, è noto che, fra i vari meccanismi fisiopatologici che sottendono al danno assonale, sono compresi l'aumentato flusso di ioni Ca all'interno dell'assone stesso e la disorganizzazione dei canali del Na che, anziché essere concentrati al nodo di Ranvier, come accade in condizioni normali, in caso di demielinizzazione si distribuiscono lungo l'intero internodo privo di mielina [4].

Fra gli antiepilettici, che possono più proficuamente avere effetto neuroprotettivo [11], ricordiamo:

1. la lamotrigina, che blocca i canali del Na voltaggio-sensibili e che è stata utilizzata nella terapia della neuropatia diabetica dolorosa;
2. il gabapentin, che si lega alla subunità  $\alpha 2\delta$  di un canale del Ca e potenzialmente inibisce l'ingresso di ioni Ca nell'assone, e il cui effetto antidolorifico in diverse forme di dolore neuropatico è ben noto;
3. il topiramato, che, oltre a possedere un effetto GABAergico, sembra inibire un canale del Ca.

A livello sperimentale sono stati poi usati, nella prevenzione del danno assonale, molecole a specifico effetto bloccante i canali del Ca (bepiridil, nitrendipina) e del Na (flecainide, ralfinamide) [12, 13].

#### Antiossidanti

Fra questi ricordiamo l'acido  $\alpha$ -lipoico, il cui effetto antiossidante è ben noto, e che è stato utilizzato nella terapia del danno assonale nella neuropatia diabetica e nelle neuropatie tossiche da cisplatino [14, 15].

#### Eritropoietina

Questa molecola è stata originariamente identificata come una citochina prodotta nel rene e attiva sulla produzione di globuli rossi. Successivamente sono stati scoperti recettori per la eritropoietina sui neuroni ed è quindi stato ipotizzato un suo effetto neuroprotettivo [16]. A dimostrazione di ciò è stato poi osservato che l'eritropoietina migliora il danno assonale indotto da ischemia, stress ossidativo e nitroossidativo, trauma, tossicità da farmaci, patologia disimmune e infettivo infiammatoria (HIV) [16]. Sono inoltre in corso *trials* terapeutici con eritropoietina nella neuropatia diabetica.

#### L-acetyl-carnitina (LAC)

La LAC è membro di una famiglia di carnitine, che hanno un ruolo essenziale nel metabolismo intermedio. Diversi sono i meccanismi di azione di LAC che possono giustificare un suo effetto neuroprotettivo [17, 18]. Fra questi ricordiamo la sua attività antiossidante, la capacità di aumentare l'espressione di NGF e l'affinità della neurotrofina per i suoi recettori, l'effetto facilitante il trasporto di acidi grassi liberi a lunga catena attraverso la membrana mitocondriale e l'azione come donatore di gruppi acetilici nella glicolisi ossidativa. In effetti risultati promettenti sono stati ottenuti, nella pratica clinica, utilizzando LAC nella prevenzione del danno assonale in caso di neuropatia diabetica, neuropatia HIV-correlata, neuropatie tossiche da chemioterapici e neuropatie acute [17–20].

#### Conclusioni

Il danno assonale rappresenta il meccanismo fisiopatologico principale nello sviluppo della invalidità secondaria a neuropatia periferica sia essa assonale o demielinizante. È quindi indispensabile che la ricerca clinica e di base si impegni a sviluppare modelli in vivo ed in vitro di sofferenza assonale sempre più simili alla patologia umana, al fine di identificare strategie terapeutiche innovative per la prevenzione e, auspicabilmente, la cura della assonopatia.

---

**Bibliografia**

1. Tasaki I (1982) Physiology and Electrochemistry on Nerve Fibers. Academic Press, New York, NY
2. Lunn MP, Crawford TO, Hughes RA et al (2002) Anti-myelin-associated glycoprotein antibodies alter neurofilament spacing. *Brain* 125:904–911
3. Starr R, Attema B, DeVries GH, Monteiro MJ (1996) Neurofilament phosphorylation is modulated by myelination. *J Neurosci Res* 44:328–337
4. Hanemann CO, Gabreels-Festen AA (2002) Secondary axon atrophy and neurological dysfunction in demyelinating neuropathies. *Curr Opin Neurol* 15:611–615
5. Sancho S, Magyar JP, Aguzzi A, Suterl U (1999) Distal axonopathy in peripheral nerves of PMP22-mutant mice. *Brain* 122:1563–1577
6. Nobbio L, Mancardi G, Grandis M et al (2001) PMP22 transgenic dorsal root ganglia cultures show myelin abnormalities similar to those of human CMT1A. *Ann Neurol* 50:47–55
7. Adam AM, Atkinson PF, Hall SM (1989) Chronic experimental allergic neuritis in Lewis rats. *Neuropathol Appl Neurobiol* 15:249–264
8. Windebank AJ (1993) Neuronal growth factors in the peripheral nervous system. In: Dyck PJ and Thomas PK (eds) *Peripheral Neuropathy*. WB Saunders Co, Philadelphia PA, Vol. 2, 23:377
9. Grandis M, Nobbio L, Abbruzzese M et al (2001) Insulin treatment enhances expression of IGF-I in sural nerves of diabetic patients. *Muscle Nerve* 24:622–629
10. Pradat PF (2003) Treatment of peripheral neuropathies with neurotrophic factors: animal models and clinical trials. *Rev Neurol* 159:147–161
11. Adriansen H, Plaghki L, Mathieu C et al (2005) Critical review of oral drug treatments for diabetic neuropathic pain – clinical outcomes based on efficacy and safety data from placebo-controlled and direct comparative studies. *Diabetes Metab Res Rev* 21:231–240
12. Brand-Schieber E, and Werner P (2004) Calcium channel blockers ameliorate disease in a mouse model of multiple sclerosis. *Exp Neurol* 189:5–9
13. Kapoor R, Davies M, Blaker PA, Hall S, Smith K (2003) Blockers of sodium and calcium entry protect axons from nitric oxide-mediated degeneration. *Ann Neurol* 53:174–180
14. Hahm JR, Kim B-J, Kim K-W (2004) Clinical experience with thioctacid (thiotic acid) in the treatment of distal symmetric polyneuropathy in Korean diabetic patients. *J Diab Compl* 18:79–85
15. Gedlicka C, Kornek GV, Schmid K, Scheithauer W (2003) Amelioration of docetaxel/cisplatin induced polyneuropathy by  $\alpha$ -lipoic acid. *Ann Oncol* 14:339–340
16. Lipton SA (2004) Erythropoietin for neurologic protection and diabetic neuropathy. *N Engl J Med* 350:2516–2517
17. Wilson ADH, Hart A, Brannstrom T et al (2003) Primary sensory neuronal rescue with systemic acetyl-L-carnitine following peripheral axotomy. A dose response analysis. *Br Ass Plast Surg* 56:731–739
18. Pisano C, Pratesi G, Laccabue D et al (2003). Paclitaxel and cisplatin-induced neurotoxicity: a protective role of acetyl-L-carnitine. *Clin Canc Res* 9:5756–5767
19. Maestri A, De Pasquale Ceratti A et al (2005) A pilot study on the effect of acetyl-L-carnitine in paclitaxel- and cisplatin-induced peripheral neuropathy. *Tumori* 91:135–138
20. Bianchi G, Vitali G, Caraceni A et al (2005) Symptomatic and neurophysiological of paclitaxel- or cisplatin-induced neuropathy to oral Acetyl-L-Carnitine. *European Journal of Cancer* (*in stampa*)