

PROSPETTIVE TERAPEUTICHE NELLA DISTROFIA MUSCOLARE DI DUCHENNE

Future prospects for Duchenne Muscular Dystrophy

M. Pane
F. Bianco
G. Vasco
E. Mercuri

Istituto di Neuropsichiatria Infantile, Università Cattolica del Sacro Cuore, Policlinico Universitario "A. Gemelli", Roma

RIASSUNTO

Al momento attuale non esiste nessuna terapia disponibile in grado di curare la Distrofia Muscolare di Duchenne. Vengono riportati i progressi più significativi nella ricerca effettuati negli ultimi anni dalle terapie più sperimentali con approcci terapeutici più complessi quali la terapia genica e le cellule staminali, all'impiego di farmaci 'sintomatici' usati per cercare di migliorare funzione e forza muscolare, come gli steroidi.

SUMMARY

So far no cure has been found for Duchenne Muscular Dystrophy. We report the newest advances in therapy from more complex approaches, as exon skipping or stem cells, to the use of symptomatic drugs such as steroids used in clinical practice to improve muscular function and strength.

Negli ultimi anni sono stati fatti significativi progressi nella ricerca di terapie nell'ambito delle malattie neuromuscolari. Sebbene al momento non esista ancora una vera e propria cura sono stati fatti importanti passi avanti in termini di aiuto farmacologico sia per aumentare forza e funzione muscolare e sia per rallentare l'evoluzione dei segni clinici. Le terapie variano da farmaci di uso corrente, come gli steroidi, ad approcci terapeutici più complessi quali la terapia genica e le cellule staminali. In questo capitolo tratteremo brevemente i vari approcci, fornendo informazioni sullo stato dell'arte delle terapie già disponibili e di quelle in fase di sperimentazione.

CORTICOSTEROIDI

I farmaci più usati nella Distrofia Muscolare di Duchenne, da oramai oltre 30 anni, sono senza dubbio i corticosteroidi. Fin dai lavori di Drachman e Siegel del 1974, diversi Autori hanno suggerito che i corticosteroidi sono in grado di migliorare la forza e/o la funzione muscolare¹.

Il prednisone è stato fino agli anni '90 il farmaco più utilizzato negli studi in letteratura. Mentre nei primi lavori veniva somministrato ad alte dosi, diversi studi alla fine degli anni '80 hanno suggerito che si potesse ottenere una risposta terapeutica anche a dosi minori e veniva pertanto consigliato un regime di 0,75 mg/kg^{2,3}. Nonostante il basso dosaggio, l'uso a lungo termine del farmaco a 0,75 mg/kg ha mostrato ancora la comparsa di effetti collaterali, soprattutto in termini di aumento ponderale. È stato pertanto suggerito di usare la stessa dose ma con un regime intermittente, alternando 10 giorni di farmaco e 20 giorni di sospensione oppure 10 giorni di farmaco e 10 giorni di sospensione^{4,5}. I risultati ottenuti mostravano tutti un incremento della forza e della funzione a breve termine e alcuni lavori degli ultimissimi

PAROLE CHIAVE

Distrofia Muscolare di Duchenne - Exon skipping - Cellule staminali

KEY WORDS

Duchenne Muscular Dystrophy - Exon skipping - Stem cells

anni hanno mostrato dei risultati notevoli anche a lungo termine.

Riguardo il timing, ovvero quando intraprendere la terapia, in molti di questi studi il prednisone veniva generalmente somministrato quando i bambini iniziavano a presentare problemi di forza e/o una chiara perdita di funzione.

Non esiste, tuttavia, ancora un consenso universale su quali siano l'età ideale per iniziare, il tipo di corticosteroide da impiegare e a quale regime impiegarlo.

Prednisone e deflazacort, dati a dosi simili, producono effetti terapeutici simili ma con un diverso rischio di effetti collaterali: il prednisone ha un rischio maggiore di provocare aumento di peso, mentre pazienti trattati con deflazacort presentano un rischio maggiore di sviluppare cataratta⁶⁻⁸. Biggar e collaboratori nel 2006 hanno utilizzato il deflazacort alla dose di 0,9 mg/kg a somministrazione quotidiana confermando l'efficacia degli steroidi nell'aumentare la forza muscolare e nel ritardare l'età a cui perdono la deambulazione. Il regime quotidiano di terapia sembra, infatti, essere il più efficace nel tempo sia in termini di minori effetti collaterali che di salute generale e stato funzionale⁹⁻¹¹.

Al momento l'assunzione di steroidi con regime quotidiano rappresenta l'unica terapia in grado di poter variare la storia naturale della malattia, come dimostrato dal fatto che alcuni ragazzi affetti da distrofia muscolare di Duchenne riescono a deambulare autonomamente oltre i 12 anni o dalla riduzione del rischio di scoliosi e di complicanze cardiologiche. È attualmente in fase di progettazione uno studio internazionale per dimostrare su più ampia scala l'efficacia del farmaco e i dosaggi ottimali di prednisolone e deflazacort.

Exon Skipping ("salto di esone")

Grazie al "salto di esone", i ricercatori sono riusciti, inizialmente nei modelli animali, a ristabilire la produzione di distrofina che, sebbene tronca, si è dimostrata ugualmente funzionale. Questo risultato spettacolare è stato ottenuto grazie all'introduzione di molecole (oligonucleotidi antisense) capaci in modo naturale di impedire l'utilizzazione dell'esone deletato.

Le delezioni esoniche rappresentano il 70% delle possibili cause genetiche della malattia (il restante 30% è diviso tra duplicazioni e mutazioni puntiformi). Di questo 70% la quota maggiore è costituito da delezioni "out of frame" condizione, cioè, in cui non si assiste a nessuna produzione di distrofina. Il razionale dell'exon skipping è proprio quello di trasformare le delezioni da "out of frame" a delezioni "in frame" con produzione quindi di distrofina configurando quindi una situazione clinica più simile alla Distrofia Muscolare di Becker (Fig. 1).

Numerosi sono stati gli approcci a questa metodica utilizzando diverse molecole con studi di safety ed efficacia in Inghilterra, in Olanda e in Francia con risultati promettenti anche sui bambini¹²⁻¹³. A breve partirà uno studio multicentrico di Fase III che coinvolgerà anche l'Italia sullo skipping dell'esone 51 con l'intento di dimostrare che all'aumento della distrofina nel muscolo, come già evidenziato negli studi precedenti di fase I e II, corrisponde un aumento anche della funzione muscolare.

CELLULE STAMINALI

L'impiego delle cellule staminali rappresenta una delle frontiere più promettenti nell'ambito delle possibili terapie per la Distrofia Muscolare di Duchenne. Le cellule staminali sono state proposte per molte patologie e il loro uso rappresenta uno degli elementi di discussione più controverso. Un recente studio italiano ha suggerito che l'impiego di cellule etero-

Esone skippabile	Delezioni DMD trattabili
2	3-7, 3-19, 3-21
8	3-7, 4-7, 5-7, 6-7
17	12-16, 18-33, 18-41, 18-44
43	44, 44-47, 44-49, 44-51
44	14-43, 19-43, 30-43, 35-43, 36-43, 40-43, 42-43, 45, 45-54
45	12-44, 18-44, 44, 46-47, 46-48, 46-49, 46-51, 46-53, 46-55
46	21-45, 45, 47-54, 47-56
50	51, 51-53, 51-55
51	45-50, 47-50, 48-50, 49-50, 50, 52, 52-63
52	51, 53, 53-55
53	10-52, 45-52, 46-52, 47-52, 48-52, 49-52, 50-52, 52
55	45-54, 48-54
Total	12 AONs

Adattato da vanDeurik et al, Nat Med 2003

Fig. 1. Possibili delezioni skippabili.

loghe, provenienti da familiari sani, potrebbe essere utilizzato per fornire ai pazienti DMD cellule staminali in grado di differenziarsi in cellule muscolari che contengono distrofina.

Sanpaolesi e collaboratori nel 2006¹⁴ hanno condotto degli esperimenti su cellule staminali (mesoangioblasti) prelevate dai vasi sanguigni di cani sani, e venivano successivamente iniettate per via intra-arteriosa in cani Golden Retriever colpiti da Distrofia muscolare di Duchenne (i Golden Retriever rappresentano il modello animale più vicino all'uomo). Trattandosi di cellule eterologhe i cani venivano sottoposti, preventivamente, a un trattamento di immuno-soppressione a base di ciclosporina per evitare il rigetto delle cellule del donatore. Dopo alcune iniezioni consecutive, i cani distrofici hanno mantenuto e/o migliorato le performance motorie e una discreta forza muscolare; inoltre, una percentuale delle loro fibre muscolari, variabile tra il 10 ed il 70%, ha prodotto la versione normale della distrofina.

Dopo i risultati ottenuti dal trattamento di altri 3 cani e la fase di reclutamento di famiglie potenzialmente arruolabili, a breve termine inizierà uno studio pilota su 6 bambini trattati sistematicamente. Tale studio sarà volto a dimostrare che il meccanismo ottenuto nei cani resti uguale anche nella specie umana.

Sebbene questo approccio non sia privo di rischi (in primis quello immunologico), la suddetta terapia rappresenta al momento una delle prospettive più promettenti e a più larga scala perché, posto che il meccanismo funzioni, questo potrebbe essere applicabile a tutti i pazienti indipendentemente dal tipo di mutazione del bambino.

CONCLUSIONI

Dopo decenni in cui non esistevano prospettive terapeutiche di alcun genere in grado di modificare la storia naturale della malattia, negli ultimi anni stiamo assistendo al fiorire di diversi approcci. Gli steroidi rappresentano già una realtà e se ben tollerati sono in grado di migliorare l'evoluzione della malattia e rallentarne la progressione.

Visto il potenziale terapeutico degli altri approcci più promettenti, che sono già entrati o stanno per entrare in fase di sperimentazione nei pazienti, appare quindi necessario intensificare tutti gli sforzi per tenere questi bambini e ragazzi nelle migliori condizioni possibili in modo da poter trarre vantaggio da queste terapie sperimentali.

BIBLIOGRAFIA

- ¹ Drachman DB, Toyka KV, Myer E. *Prednisone in Duchenne muscular dystrophy*. Lancet. 1974;2:1409-12.
- ² Griggs RC, Moxley RT, Mendell JR, et al. *Prednisolone in Duchenne dystrophy: a randomised trial defining the time course and dose response*. Arch Neurol 1991;48:383-8.
- ³ Griggs RC, Moxley RT, Mendell JR, et al. *Duchenne dystrophy: randomized, controlled trial of prednisone (18 months) and azathioprine (12 months)*. Neurology 1993;43:520-7.
- ⁴ Fenichel GM, Florence JM, Pestornk A, et al. *Long-term benefit from prednisolone in Duchenne muscular dystrophy*. Neurology 1991;41:1874-7.
- ⁵ Fenichel GM, Mendell JR, Moxley RT 3rd, et al. *A comparison of daily and alternate-day prednisone therapy in the treatment of Duchenne muscular dystrophy*. Arch Neurol. 1991;48:575-9.
- ⁶ Reitter B. *Deflazacort vs. prednisone in Duchenne muscular dystrophy: trends of an ongoing study*. Brain Dev 1995;17(Suppl):39-43.
- ⁷ Manzur AY, Kuntzer T, Pike M, et al. *Glucocorticoid corticosteroids for Duchenne muscular dystrophy*. Cochrane Database Syst Rev 2008;23:CD003725.
- ⁸ Moxley RT 3rd, Ashwal S, Pandya S, et al.; Quality Standards Subcommittee of the American Academy of Neurology; Practice Committee of the Child Neurology Society. *Practice parameter: corticosteroid treatment of Duchenne dystrophy: report of the Quality Standards Subcommittee of the American Academy of Neurology and the Practice Committee of the Child Neurology Society*. Neurology 2005;64:13-20.
- ⁹ Biggar WD, Gingras M, Fehlings DL, et al. *Deflazacort treatment of Duchenne muscular dystrophy*. J Pediatr 2001;138:45-50.
- ¹⁰ Biggar WD, Harris V, Alman B, et al. *Deflazacort benefits boys with Duchenne Muscular Dystrophy*. Neuromuscul Disord 2002;12:738.
- ¹¹ Biggar WD, Harris VA, Eliasoph L, et al. *Long-term benefits of deflazacort treatment for boys with Duchenne muscular dystrophy in their second decade*. Neuromuscul Disord 2006;16:249-55.
- ¹² van Deutekom JC, Janson AA, Ginjaar IB, et al. *Local dystrophin restoration with antisense oligonu-*

cleotide PRO051. *N Engl J Med* 2007;357:2677-86.

¹³ Kinali M, Arechavala-Gomez V, Feng L, et al. *Local restoration of dystrophin expression with the morpho-*

no oligomer AVI-4658 in Duchenne muscular dystrophy: a single-blind, placebo-controlled, dose-escalation, proof-of-concept study. *Lancet Neurol* 2009;8:918-28.

¹⁴ Sampaolesi M, Blot S, D'Antona G, et al. *Mesoangioblast stem cells ameliorate muscle function in dystrophic dogs.* *Nature* 2006;30:574-9.

Corrispondenza: Eugenio Mercuri, Istituto di Neuropsichiatria Infantile, Policlinico "A. Gemelli", largo A. Gemelli 8, 00168 Roma - Tel. +39 06 30155340 - E-mail: mercuri@rm.unicatt.it