

Demyelinizace a remyelinizace v CNS

MUDr. Pavel Hradílek, Ph.D.

MS centrum, Neurologická klinika FN Ostrava

Autor shrnuje současné poznatky o demyelinizaci a remyelinizaci v CNS se zaměřením na patofyziologické jevy, které tyto procesy podmiňují. Ukazuje nové možnosti magneticko-rezonančního zobrazení demyelinizované a remyelinizované mozkové a míšní tkáně. Přináší současný pohled na léčebné možnosti podpory remyelinizace v tkáni postižené demyelinizačním procesem.

Klíčová slova: myelin, centrální nervový systém, demyelinizace, remyelinizace, roztroušená skleróza.

Demyelination and remyelination in CNS

Author summarizes recent knowledge about demyelination and remyelination in the central nervous system with intention to pathophysiological phenomena, which determine these processes. New MRI methods enabling images of demyelinated and remyelinated brain and spinal cord tissue are shown. Author brings contemporary therapeutic options of support of remyelination in tissue affected with demyelinating process.

Key words: myelin, central nervous system, demyelination, remyelination, multiple sclerosis.

Neurol. pro praxi 2010; 11(4): 256–259

Seznam zkratk

CNS – centrální nervový systém

RS – roztroušená skleróza

IL – interleukin

TNF – tumor necrosis factor

TCR – T-cell receptor

MHC II – hlavní histokompatibilní komplex třídy II

NO – oxid dusnatý

iNOS – inducibilní NO syntáza, enzym, který generuje NO nezávisle na koncentraci intracelulárního vápníku

PDGF – platelet derived growth factor

MRI – magnetic resonance imaging

MTR – magnetization transfer ratio

Myelinizace, funkce myelinu

Myelinizace nervových vláken je zcela zásadní pro rychlost vedení nervového vzruchu, a to jak v centrálním, tak i periferním nervovém systému. Obecně platí, že čím je silnější myelinová pochva, tím větší je rychlost přenosu vzruchu příslušným nervem. Zatímco v periferním nervovém systému jsou za proces myelinogenezy zodpovědné Schwannovy buňky, v centrálním nervovém systému to jsou oligodendrocyty (Maršala, 1985). Proces myelinizace, který začíná již ve fetálním období a je zcela ukončen až s dospělostí daného jedince, neprobíhá v různých částech organismu rovnoměrně. Nervy a nervové dráhy mají své vlastní časové vzorce, které závisí na stupni jejich funkční zralosti. Tvorba myelinu pokračuje paralelně s růstem axonu, dokud tento není ukončen. Velká senzitivní a senzorická vlákna myelinizují dříve, motorická později (Williams et al., 1989). Kromě urychlení

vedení vzruchu spočívá význam myelinu i v tom, že chrání a podporuje integritu axonu, a to nejen mechanicky, ale i produkcí trofických faktorů.

Demyelinizace v CNS, patofyziologie poškození oligodendrocytů u RS

Demyelinizace představuje relativně častý patologický proces v CNS. Nejčastějším a nejvýznamnějším onemocněním, které souvisí s procesem centrální demyelinizace, je roztroušená skleróza mozkomíšní. Je nutno si uvědomit, že proces demyelinizace u RS začíná již na periférii, a to aktivací periferních T-lymfocytů. K aktivaci imunitních buněk mimo CNS dochází na základě rozpoznání antigenních peptidů receptory na povrchu CD4+ lymfocytů (TCR) a jejich následné prezentaci tzv. antigen-prezentujícími buňkami v kontextu molekul MHC II (Havrdová, 2002). T-lymfocyty, aby mohly realizovat své prozánětlivé a ve svém důsledku destruktivní působení vůči strukturám CNS, musí proniknout přes hematoencefalickou bariéru. Schopnost jejich průniku pak závisí na stavu jejich aktivace a schopnosti odpovídat na cytokinové a chemo-kinové signály, které jim umožní přilnutí k cévní stěně a nakonec i prostup hematoencefalickou bariérou. Zánětlivý infiltrát v aktivních lézích RS tvoří převážně perivaskulární nakupení CD4+ a CD8+ T-lymfocytů, monocytů a B-lymfocytů a v centru léze většinou zahrnuje i makrofágy (Hafler et al., 2005). Zatímco T-lymfocyty mohou způsobit poškození struktur CNS jak přímo, tak i nepřímo, aktivace mikroglie a makrofágů vede k takovému poškození prostřednictvím uvolnění toxických působků, které indukují apoptózu,

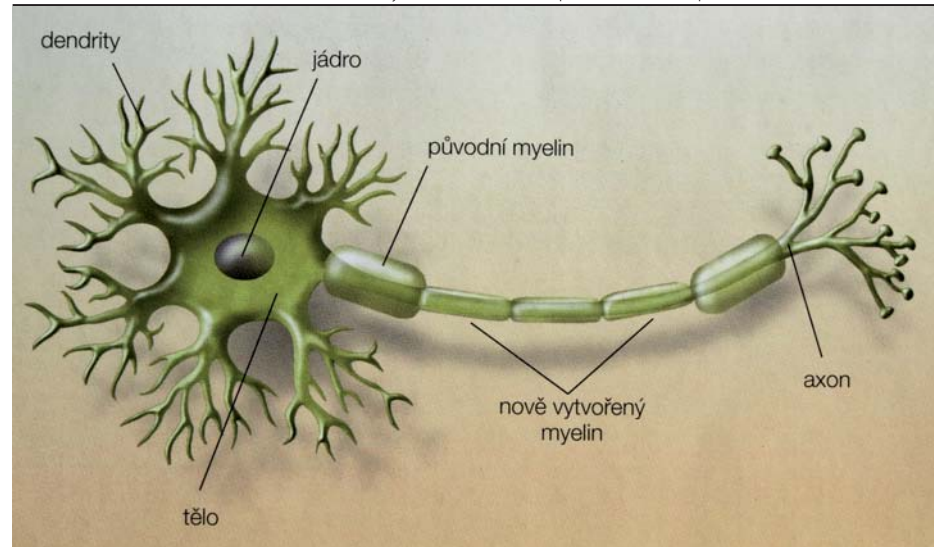
a ingesci oligodendrocytů, které již apoptóze podlehly. Mezi produkty mikroglie, které můžeme považovat ze výrazně neurotoxické, patří zejména IL-1 β , IL-6 a TNF- α , které byly nalezeny jak v centru, tak i na okrajích aktivních lézí u RS, zatímco u inaktivních lézí nalezeny nebyly. V oblasti nervových vláken postižených interakcí s těmito působky navíc dochází k excesivnímu nárůstu extracelulárního glutamátu, který je toxický právě pro oligodendrocyty. Dalším produktem aktivované mikroglie, který může přispívat k patogenezi RS, je neurotoxický NO. U pacientů s RS byla v aktivních plakách nalezena vyšší hodnota iNOS, která je produkována řadou buněčných subtypů včetně aktivovaných makrofágů a mikroglie. Další možností poškození oligodendrocytů je aktivace komplementu. Přítomnost buněk uvolňujících komplement v CNS umožňuje aktivaci klasické komplementové kaskády rezultující v lýzu oligodendrocytů a chemoatrakci makrofágů s následnou fagocytózou oligodendrocytárních fragmentů (Dhib-Jalbut, 2007). Na druhou stranu bylo v experimentu prokázáno, že terminální komplex komplementu C5b-9 je schopen chránit oligodendrocyty před apoptózou (Tegla et al., 2009). U RS můžeme rovněž pozorovat kortikální demyelinizaci. Léze kortikální šedé hmoty jsou typicky charakterizovány demyelinizovaným jádrem, které je velmi ostře ohraničeno od normálně myelinizované okolní tkáně. Kortikální demyelinizace se velmi často vyskytuje u progresivních forem nemoci. Její mechanismus není zcela přesně znám, může však mít souvislost s přítomností folikulárních struktur na meningech obsahujících B-lymfocyty, které jsou často

pozorovány zvláště v sekundárně progresivní fázi nemoci (Stadelmann a Brück, 2008).

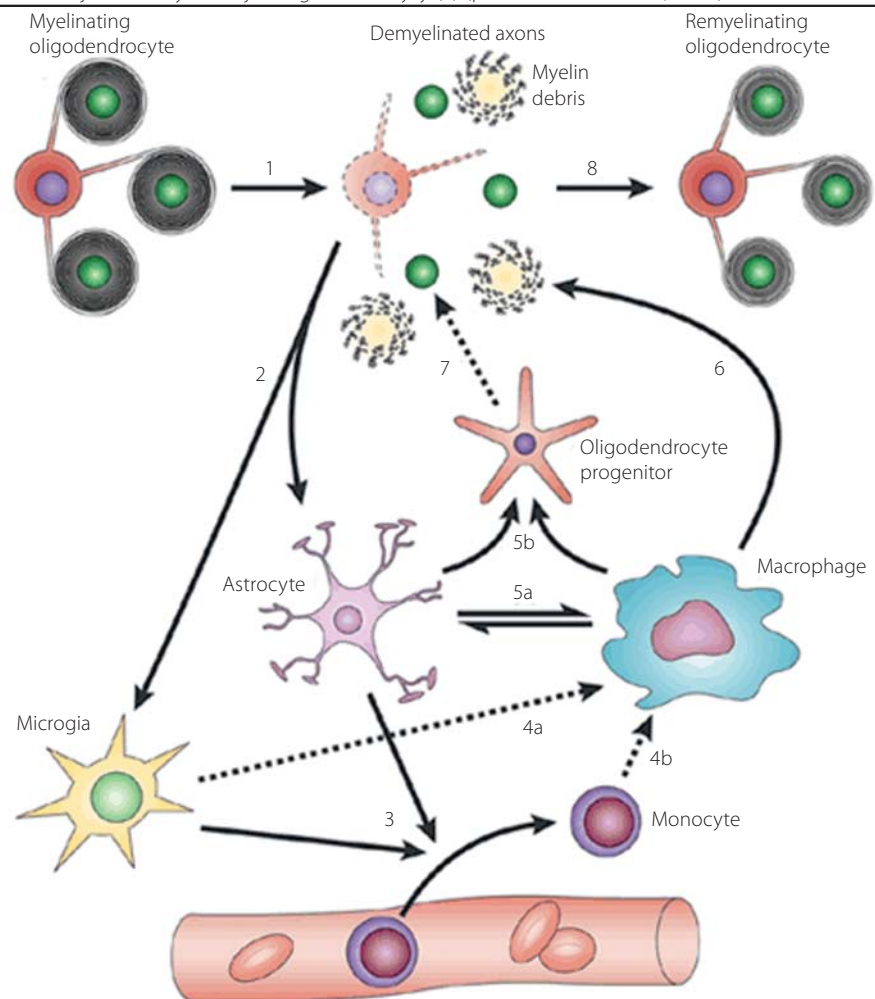
Remyelinizace v CNS – současný pohled

Remyelinizace je přirozenou regenerační odpovědí CNS na poškození nervové tkáně, při němž došlo k demyelinizaci axonů. Oligodendrocyty vytvářejí nové myelinové pochvy, které opouzdřují původně demyelinizované axony, novotvořený myelin však nedosahuje stejné šíře jako původní (obrázek 1). Význam remyelinizace spočívá především ve zlepšení vedení vzruchů nervovým vláknem. Demyelinizované axony nemohou přenášet akční potenciály saltatorně a vedení vzruchu takovými vlákny je pomalé. Kromě toho bylo zjištěno, že myelin chrání neuron tím, že produkuje trofické faktory podporující přežití příslušného axonu. Následkem zániku oligodendrocytu dochází k demyelinizaci axonu a rozpadové produkty myelinu jsou odstraňovány makrofágy, které infiltrují místo probíhající demyelinizace (mechanismy remyelinizace znázorňuje obrázek 2). V tomto místě dochází k vzájemné součinnosti mikroglie a astrocytů, které se jednak podporují ve vzájemné aktivaci a jednak obojí produkují řadu faktorů, které mohou aktivovat prekursor oligodendrocytů, které se tak mění z klidového do aktivovaného fenotypu. Toto je kritický krok v iniciaci remyelinizace. Jakmile jsou prekursor aktivní, začínají odpovídat na signály mitogenů a chemoatraktantů, které jsou produkovány mikroglíí a astrocyty, jako např. PDGF, a velmi rychle osidlují demyelinizované místo (obrázek 3). Celý proces zahrnuje změny v expresi genů kódujících receptory na povrchu buněk pro tyto intercelulární mediátory. V konečné fázi se prekursorové buňky navážou na demyelinizované axony a diferencují se v remyelinizující oligodendrocyty, které mají schopnost syntézy nové myelinové pochvy, která obalí axon (Franklin a Kotter, 2008). Faktory, které mohou fyziologicky ovlivňovat rozsah remyelinizace, jsou zejména věk a pohlaví (Li et al., 2006). Ze zvířecích modelů vyplývá, že remyelinizace klesá s věkem a to rychleji u samců. Limitujícím faktorem není ani tak množství prekursorových buněk, jako spíše defekt jejich diferenciace v oligodendrocyty (Woodruff, et al., 2008). Remyelinizace je popisována jako častý fenomén jak v akutních nebo časných (Prineas et al., 1993; Raine a Wu, 1993), tak i chronických (Prineas a Connell, 1979) lézích u pacientů s RS. Její rozsah se ale různí v závislosti na lokalizaci léze v rámci CNS. Největší rozsah remyelinizace byl zaznamenán v subkortikálních lézích, menší

Obrázek 1. Schematické znázornění remyelinizace vláken (převzato od Zapletalové, 2009)

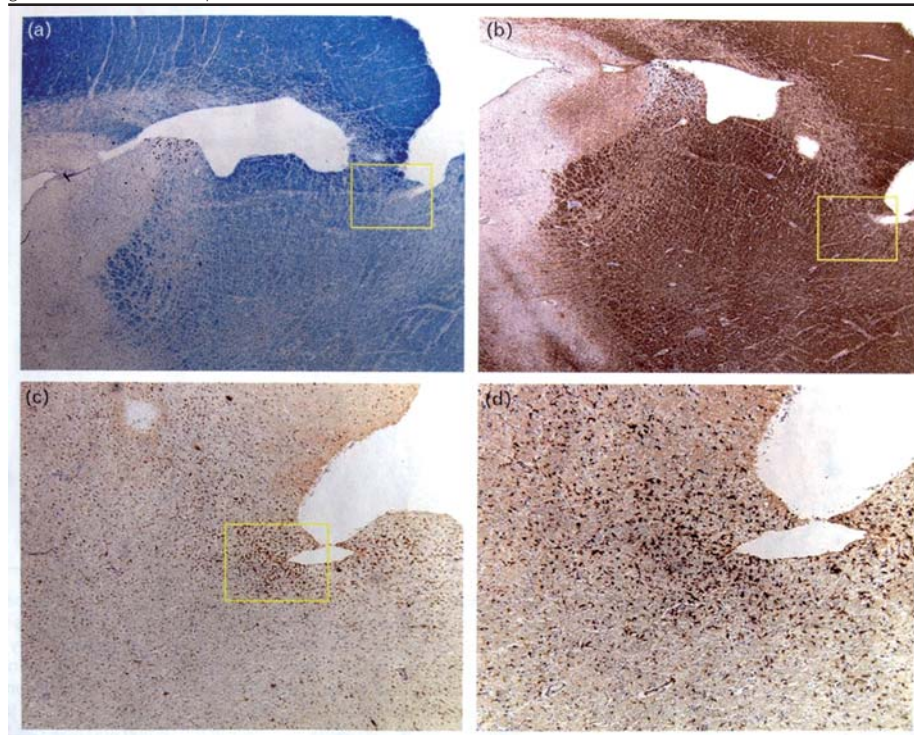


Obrázek 2. Remyelinizace představuje vzájemnou souhru a časovou souslednost celé řady dějů, jejichž dysregulace má za následek narušení celkového procesu remyelinizace. Odpovědí na vyvolávající inzult je demyelinizace myelinizovaných axonů, proces, jehož následkem se vytváří detritus myelinu (1). Dochází k aktivaci astrocytů a mikroglie (2). Tyto aktivované buňky produkují faktory, které přispívají k migraci monocytů z periferní krve do oddílu CNS (3). Mikroglie (4a) a monocyty (4b) se diferencují v makrofágy. Aktivované astrocyty a makrofágy produkují faktory, kterými se navzájem aktivují (5a). V důsledku této aktivace pak obojí produkují růstové faktory, které mají vliv na prekursor oligodendrocytů (5b). Makrofágy odstraňují detritus myelinu (6), což je výhodné pro remyelinizaci. Vlivem faktorů produkovaných astrocyty a makrofágy prekursor oligodendrocytů obalují demyelinizované axony (7) a diferencují se v remyelinizující oligodendrocyty (8) (převzato od: Franklin, 2002)



Nature Reviews / Neuroscience

Obrázek 3. a) a b) – normální barvení myelinu (obdélníkem označena preaktivní léze), c) shluk mikroglie, d) zvětšení 10× (převzato od Van der Valk a Amor 2009)



v periventrikulárních a nejmenší v mozečkových lézích, kde naopak většinou převládala naprostá demyelinizace. Vysvětlením může být různá schopnost prekurzorových buněk v různých lokalitách CNS se diferencovat v oligodendrocyty nadané schopností remyelinizace. Větší rozsah remyelinizace v subkortikálních oblastech by mohla vysvětlovat vyšší neuronální aktivita, která pravděpodobně přispívá k proliferaci prekurzorových buněk. Naopak v periventrikulárních lézích byl nalezen podstatně menší rozsah remyelinizace. Důvodem by mohla být přítomnost myelin reaktivních T-lymfocytů a protilátek účastnících se demyelinizace v mozkomíšním mozku, které mohou přestupovat do CNS přes endym, který je zvýšeně permeabilní v důsledku periventrikulárního zánětlivého procesu. Celkově lze remyelinizaci mnohem častěji a ve větším rozsahu pozorovat v časných a akutních lézích, než v chronických, což je zřejmě způsobeno vyčerpáním prekurzorových buněk v chronických lézích opakovaně postižených atakami demyelinizace (Goldschmidt et al., 2009). Průběh remyelinizace se liší nejen mezi jednotlivými ložisky u jednoho nemocného, ale i mezi jednotlivci s RS. Důvod není zcela jasný, ale je prokazatelná absence oligodendrocytů nebo jejich prekurzorů u pomaleji a méně intenzivně remyelinizujících lézí. Zásadní rozdíl v reparačních pochodech je rovněž dán délkou trvání a fází nemoci (Zapletalová, 2009).

Remyelinizace v obraze MRI

Magnetická rezonance je nejvýznamnější zobrazovací metodou u demyelinizačních onemocnění CNS. Samotný myelin v současné době nelze přímo a specificky zobrazit pomocí MRI pro jeho velmi krátký relaxační čas (Dwyer et al., 2009). Protonová MR spektroskopie však nabízí možnost monitorovat některé patofyziologické procesy prostřednictvím jejich specifických metabolických markerů: N-acetylaspartát pro neuronální integritu (jeho pokles koreluje s mírou neurologického postižení lépe než konvenční MRI zobrazení v T-1 nebo T-2 vážených obrazech); myoinositol pro gliální proliferaci (jeho elevace koreluje s mírou neurologického postižení); kreatin pro energetický stav a hustotu buněk a cholin pro zánět, de- a remyelinizaci. I když se kreatin a cholin vyskytují ve všech typech buněk v CNS, jejich hladiny jsou nejvyšší ve zralých oligodendrocytech nebo jejich prekurzorech a astrocytech. Elevace kreatinu a cholinu takto může představovat gliální aktivitu: kombinaci zánětu, de- a remyelinizace a rovněž gliózu. Tyto změny se vyskytují nejen v lézích zobrazitelných konvenčními MRI technikami, ale i difúzně, tedy v tzv. „normálně vypadající bílé hmotě“ (Kirov et al., 2009). Důležitou metodou, která může sloužit jako praktický marker de- a remyelinizace je MTR (obrázek 4). Tato metoda využívá změnu magnetizace mezi hydrogenovými jádry semisolidních makromolekul a volných vodíkových protonů,

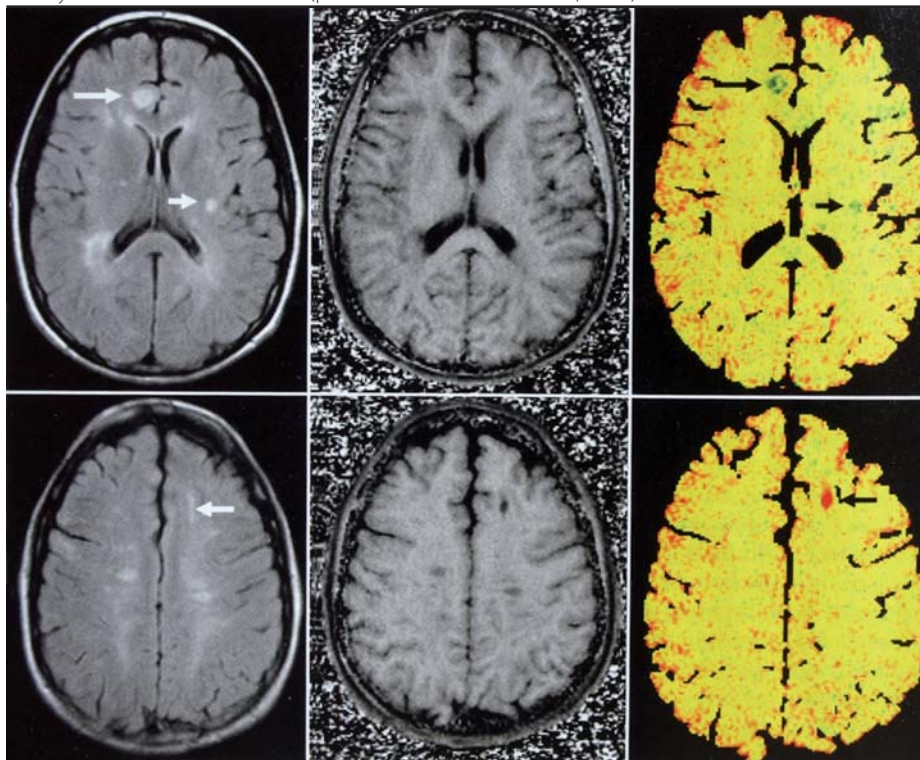
kteří umožní MR zobrazení semisolidních tkáňových komponent, jako jsou struktury myelinu. MTR výrazně klesá v aktivních lézích, a to i přesto, že jeho pokles oslabuje vliv spolupřítomného edému, naopak jeho nárůst souvisí s procesem remyelinizace. Tato metoda tak může sloužit jako marker monitorování procesu de- a remyelinizace (Giacomini et al., 2009). Pokles MTR související s demyelinizací byl popsán rovněž i v míše. Je tedy zřejmé, že atrofie míchy, ke které v rámci vývoje demyelinizačního onemocnění může dojít, je důsledkem nejen ztráty axonů, ale i myelinu. Z toho vyplývá, že pouhé změnění plochy míchy v axiálním řezu, které bylo dosud doporučováno jako klinicky relevantní marker progresu nemoci, nemůže být přímou mírou počtu axonů ve spinální míše. Do budoucna by mohla být nadějná i difúzně vážená MRI, ale je třeba stanovit její senzitivitu vůči axonální ztrátě a demyelinizaci ve spinální míše v korelaci s kvantitativními histopatologickými nálezy (Bot a Barkhof, 2009).

Možnosti léčebného ovlivnění procesu remyelinizace – výhled do budoucna

Je-li diferenciací prekurzorových buněk ve vysoce funkčně specializovaný buněčný typ – oligodendrocyty – kritickou determinantou efektivity remyelinizace, pak právě hlubší porozumění tomuto procesu může otevřít cestu k novým terapeutickým cílům s možností omezení neurodegenerace a tak i kumulace ireverzibilního neurologického postižení nemocných. Studie z nedávné doby ukázaly, že remyelinizace může být dosaženo, pokud do demyelinizovaných oblastí dodáme myelinogenní nebo neurální kmenové buňky. Jejich remyelinizačního efektu může být dosaženo různými mechanismy:

1. jako imunomodulátory s produkcí solubilních faktorů
2. přímou náhradou buněk, které se v místě léze diferencují v neurální a gliové buňky se specifickými funkcemi a
3. nepřímo podporou diferenciací endogenních buněk v neurální nebo gliové buňky; detailnější porozumění těmto mechanismům by mohlo pomoci zvolit optimální a efektivnější přístup k buněčné terapii (Yang et al., 2009); z léků, které jsou zatím na našem trhu k dispozici pro léčbu RS, ukázal neurotrofní účinek s podporou obnovy myelinu glatiramer-acetát (Blanchette a Neuhaus, 2008); významný vliv na remyelinizaci byl rovněž pozorován u natalizum-

Obrázek 4. Zleva doprava – zobrazení FLAIR, MTR a voxel-wise dynamický MTR. Voxel-wise mapy ukazují oblasti MTR stability (žlutá), poklesu MTR (červená) a vzestupu MTR (zelená) v mozkové tkáni u pacienta, který se léčí pro roztroušenou sklerózu 1 rok. Nahoře: 2 T-2 léze označené šípkami korespondují se zelenými oblastmi ve voxel-wise MTR mapě (nárůst MTR) a odrážejí tak pravděpodobně obraz remyelinizace. Dole: T-2 léze označená šípkou koresponduje s červenou oblastí ve voxel-wise MTR mapě (pokles MTR) a odráží tak pravděpodobně obraz demyelinizace. Množství červených a zelených tečkovitých ložisek ve voxel-wise MTR mapě odráží pravděpodobně obraz demyelinizace a remyelinizace v mozkové tkáni (převzato od: Zivadinov et al., 2008)



abu (Zivadinov et al., 2009). V této práci byla hodnocena schopnost natalizumabu ovlivnit proces de- a remyelinizace v CNS pomocí změn MTR signálu ve srovnání s pacienty léčenými interferonem β -1a i.m. a zdravými kontrolami. Natalizumab prokázal významnou podporu remyelinizace ve srovnání s interferonem β -1a i.m. i zdravými kontrolami. Rovněž ve srovnání s interferonem β -1a i.m. stabilizoval demyelinizaci, a to nejen v lézích, ale i normálně vypadající bílé hmotě. Celkově byla větší schopnost remyelinizace pozorována u pacientů s relaps-remitentní RS, než u pacientů se sekundárně progresivní formou nemoci, a to jak u nemocných léčených natalizumabem, tak i interferonem β -1a i.m.

Literatura

1. Blanchette F, Neuhaus O. Glatiramer Acetate. Evidence for a dual mechanism of action. *J Neurol* 2008; 255(Suppl 1): 26–36.
2. Bot JCJ, Barkhof F. Spinal cord MRI in multiple sclerosis: conventional and non-conventional MRI techniques. *Neuroimag Clin N Am* 2009; 19: 81–99
3. Dhib-Jalbut S. Pathogenesis of myelin/oligodendrocyte damage in multiple sclerosis. *Neurology* 2007; 68(Suppl 3): S13–S21.
4. Dwyer M, Bergsland N, Hussein S, Durfee J, Wack D, Zivadinov R. A sensitive, noise-resistant method for identifying focal demyelination and remyelination in patients with multiple sclerosis via voxel-wise changes in magnetization transfer ratio. *J Neurol Sci* 2009; 282: 86–95.
5. Franklin RJM, Kotter MR. The biology of CNS remyelination. The key to therapeutic advances. *J Neurol* 2008; 255(Suppl 1): 19–25.
6. Giacomini PS, Levesque IR, Ribeiro L, Narayanan S, Francis SJ, Pike B, Arnold DL. Measuring demyelination and remyeli-

nation in acute multiple sclerosis lesion voxels. *Arch Neurol* 2009; 66: 375–381.

7. Goldschmidt T, Antel J, König FB, Brück W, Kuhlmann T. Remyelination capacity of the MS brain decreases with disease chronicity. *Neurology* 2009; 72: 1914–1921.

8. Hafler DA, Slavik JM, Anderson DE, O'Connor KC, DeJager P, Becher-Allan C. Multiple Sclerosis. *Immunol Rev* 2005; 204: 208–231.

9. Havrdová E. Roztroušená skleróza. *Triton* 2002: 114.

10. Kirov I, Patil V, Babb J, Rusinek H, Herbert J, Gonen O. MR spectroscopy indicates diffuse multiple sclerosis activity during remission. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2009; 80(12): 1330–1336.

11. Li WW, Penderis J, Zhao C, Schumacher M, Franklin RJM. Females remyelinate more efficiently than males following demyelination in the aged but not young adult CNS. *Exp Neurol* 2006; 202: 250–254.

12. Maršala J. Systematická a funkčná neuroanatómia. *Osveda* 1985: 784.

13. Prineas JW, Connell F. Remyelination in multiple sclerosis. *Ann Neurol* 1979; 5: 22–31.

14. Prineas JW, Barnard RO, Kwon EE, et al. Multiple sclerosis: remyelination of nascent lesions. *Ann Neurol* 1993; 33: 137–151.

15. Raine CS, Wu E. Multiple sclerosis: remyelination in acute lesions. *J Neuropathol Exp Neurol* 1993; 52: 199–204.

16. Stadelmann Ch, Brück W. Interplay between mechanisms of damage and repair in multiple sclerosis. *J Neurol* 2008; 255(Suppl 1): 12–18.

17. Tegla CA, Cudrici C, Rus V, Ito T, Vlaicu S, Singh A, Rus H. Neuroprotective effects of the complement terminal pathway during demyelination: implications for oligodendrocyte survival. *J Neuroimmunol* 2009; 18: 213(1–2): 3–11.

18. Williams PL, Warwick R, Dyson M, Bannister LH. Gray's anatomy, thirty-seventh edition. *Churchil Livingstone* 1989: 1600.

19. Woodruff RH, Fruttiger M, Richardson WD, Franklin RJM. Platelet-derived growth factor regulates oligodendrocyte progenitor numbers in adult CNS and their response following CNS demyelination. *Mol Cell Neurosci* 2004; 25: 252–262.

20. Yang J, Rostami A, Zhang GX. Cellular remyelination therapy in multiple sclerosis. *J Neurol Sci* 2009; 276: 1–5.

21. Zapletalová O. Léčba časných stádií roztroušené sklerózy mozkomíšni. *Remedia* 2009; 19: 198–204.

22. Zivadinov R, Dwyer MG, Bergsland N, Hussein S, Cox J, Durfee J, Nayyar N, Hojnacki D, Hashmi K, Heininen-Brown M, Chouhfeh L, Carl E, Weinstock-Guttman B. Natalizumab (Tysabri) promotes remyelination in patients with multiple sclerosis. A voxel-wise magnetization transfer imaging case-control study. *Neurology* 2009; 72(Suppl 3): A140.

MUDr. Pavel Hradílek, Ph.D.
MS centrum, Neurologická klinika FN
17. listopadu 1 790,
708 52 Ostrava-Poruba
pavel.hradilek@fno.cz

