

ROZTROUŠENÁ SKLERÓZA: ZÁNĚT NEBO NEURODEGENERACE?

doc. MUDr. Eva Havrdová, CSc.

Neurologická klinika 1. LF UK a VFN Praha

Představy o patogenezi roztroušené sklerózy (RS) řadu let oscilují mezi větším důrazem na zánětlivé nebo degenerativní změny. Vzájemný vztah zánětu a degenerace není sice definitivně vyřešen, poškození axonů nejen v souvislosti se zánětem se však ukazuje jako nezvratný fakt v časných fázích RS a vede k jednoznačné změně terapeutického postupu u RS. Chybí sice vysoce účinné léky určené k ochraně axonů, ukazuje se však, že léky určené k omezení zánětu mohou mít i neuroprotektivní efekt jako je tomu u glatiramer acetátu.

Klíčová slova: roztroušená skleróza, zánět, degenerativní změny, glatiramer acetát.

Neurol. pro praxi, 2007; 2: 99–101

Seznam zkratk

EAE – experimentální autoimunitní encefalomyelitida

GA – glatiramer acetát

MBP – myelinový bazický protein

PLP – proteolipid protein

RS – roztroušená skleróza

Úvod

Představy o patogenezi roztroušené sklerózy se vyvíjely od jejího popisu v polovině 19. století a zdaleka nejsou u konce.

Ačkoli systematický popis choroby tak, jako pokus spojit lokalizaci makroskopických lézí s jejich klinickými projevy, náleží po právu J. M. Charcotovi, patologický popis předcházela a je spojen se jmény J. Cruveilhiera, G. T. Valentinera a R. Carswella. Hned od počátku bylo jasné, že se nejedná pouze o chorobu postihující myelin. Otto Marburg popisuje roku 1906, že v každé lézi je určitá míra axonální ztráty. I kulatobuněčný infiltrát a účast makrofágů na demyelinizační lézi byly popsány již E. Rindfleischem (1863), J. M. Charcotem (1868), J. Babinským (1885) a O. Marburgem (1906).

Přestože zánětlivé změny byly dobře popsány, nebylo jasné, zda je zánět primární či sekundární. Ačkoli první hypotéza byla přijímána častěji, někteří považovali RS za onemocnění astrocytů (E. Müller, 1904). Dalším kontroverzním tématem bylo, zda je zánětlivý útok buněčný, či zda jde o solubilní toxin přímo ničící myelinové pochvy. Není bez zajímavosti, že tato dvě kontroverzní témata si udržela aktuálnost až do současné doby (8).

Zánět

V posledních desetiletích převládaly představy, že imunopatogeneze RS je zprostředkována převážně CD4+ lymfocyty. Bylo to dáno především přijetím experimentální autoimunitní encefalomyelitidy (EAE) jako hlavního modelu, od něhož jsou odvozovány naše patogenetické představy o RS (první pokus

o vyvolání akutní diseminované encefalomyelitidy provedl T. M. Rivers v r. 1933 – dlouho však trvalo, než byl dán tento experimentální model do souvislosti s RS).

EAE lze vyvolat mnoha antigeny, nejčastěji jsou však používány MBP (myelinový bazický protein), PLP (proteolipid protein) a MOG (s myelinem asociovaný glykoprotein). Onemocnění je zprostředkováno Th1 CD4+ lymfocyty, které rozpoznávají encefalitogenní epitopy těchto proteinů. V mozkové tkáni pokusných zvířat nacházíme tak jako u RS perivaskulární infiltráty odpovídající gadolinium-enhancujícím lézím na T1 vážených obrazech pacientů s RS (obrázek 1).

Axonální ztráta

Díky práci týmu profesora Trappa bylo v r. 1997 znovuobjeveno a vizualizováno axonální postižení u RS jako logický podklad trvalé invalidity (13). Transsekce axonů korelovala v akutních lézích s mírou zánětu, byla nižší v aktivních lemech chronických plaků, ale byla přítomna i v tzv. normálně vypadajících bílých hmotě.

Příčiny zničení axonů nejsou dosud objasněny, ale v laboratorních podmínkách byly zjištěny různé mechanismy (10). Nepochybným se jeví toxický nadměrný influx kalcia do demyelinizovaného axonu, nedostatečné odstraňování glutamátu v místě léze (glutamátová excitotoxicita), ale také přímý útok imunitních buněk – CD8+ cytotoxických lymfocytů, které rozpoznávají demyelinizovaný axon, který nevede elektrický vzruch (9).

Zánět versus degenerace

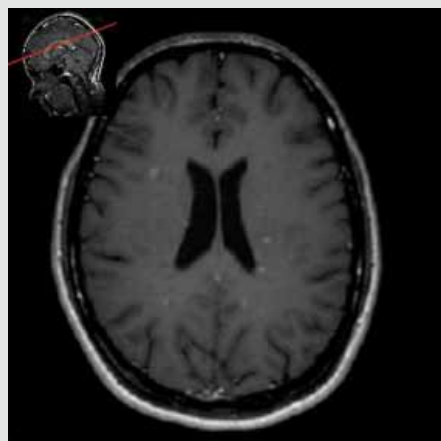
Vzhledem k tomu, že mnoho let byla pozornost obrácena k pomocným CD4+ lymfocytům, nebyla úloha cytotoxických lymfocytů dlouho správně zhodnocena. V současnosti je jasné, že tyto lymfocyty infiltrují mozek pacientů s RS v hojně míře a účastní se jak zánětlivé, tak neurodegenerativní složky patogeneze.

Mozek byl dlouho považován za imunoprivilegovaný orgán, ale exprese MHC molekul I. třídy se objevuje jak na endoteliálních buňkách mozkových cév, tak na perivaskulárních makrofázích i na mikroglia. Tato exprese je zvýšena vlivem některých cytokinů, především interferonu gama. Hojná exprese MHC I molekul byla nalezena především v lézích RS i jejich okolí.

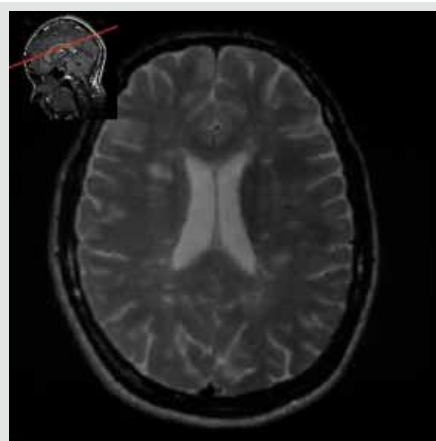
Nervové vlákno za normálních okolností MHC I molekuly na svém povrchu neexprimuje. Akutně demyelinizovaný axon však ano. Tím se stane viditelným pro cytotoxické CD8+ lymfocyty, které po vazbě na tuto MHC I molekulu produkují perforiny, látky schopné rozšířit póry v membráně axonu. Do axonu pak proudí extracelulární tekutina, která vede k prasknutí nervového vlákna (9).

Řadu let se také tradovalo, že ve tkáni CNS chybí lymfatická drenáž, a proto nemohou být antigeny CNS zpracovány klasickými antigen-prezentujícími buňkami – dendritickými buňkami. Ukázalo se však, že intracerebrálně injikované antigeny se dostávají podél cév v meningách i mozkovém parenchymu do krčních uzlin. Navíc perivaskulární prostory mening i parenchymu CNS obsahují populaci myeloidních buněk, která je schopna plnohodnotné prezentace antigenu v CNS (11). Klasické dendritické buňky, které mechanismem endocytózy přenášejí antigen do uzlin, unikaly v CNS dlouho pozornosti. Jsou však přítomny v normálních meningách, chorioidálním plexu i mozkomíšním moku (7). Antigen-specifické CD8+ lymfocyty jsou primovány v krčních a lumbálních uzlinách, zde získávají aktivovaný fenotyp, který jim umožňuje vstup do CNS. Procesu této aktivace mohou napomáhat pomocné T buňky, které zabrání vytvoření tolerance na prezentované antigeny. CD8+ lymfocyty vstupují do mozkové tkáně za pomoci exprese ligandu pro P-selektin (PSLG-1). Adhezivní molekula P-selektin je konstitučně přítomná na drobných cévách chorioidálního plexu, který se tak stává ideálním místem pro přestup aktivovaných paměťových buněk do CNS. Ty se po rozpoznání „svého“

Obrázek 1a. Gadolinium vychytávající léze u pacienta s remitentní RS. T1W obraz



Obrázek 1b. Tatáž vrstva při vyšetření v modu T2W. Gadolinium napomáhá určení aktuálně aktivních zánětlivých lézí



antigenů množí, klonálně expandují a jsou připraveny zahájit proti zdroji tohoto antigenu imunitní útok. Reaktivace je samozřejmě závislá na přítomnosti kostimulačních molekul. Produkce prozánětlivých cytokinů jako je interferon gama a lymfotoksin, je zásadní pro vývoj léze v CNS. Ačkoli CD8+ lymfocyty je v krvi oproti CD4+ lymfocytům přítomna přibližně polovina, v akutních plakách převyšuje množství CD8+ buněk CD4+ lymfocyty 3–10krát.

Do začátku 90. let byly neurony považovány za rezistentní proti útoku lymfocytů. Dnes víme, že IFNgama vede na axonech k expresi MHC molekul I. třídy a velmi pevné vazbě CD8+ lymfocytů, jejichž množství v lézi koreluje s množstvím zničených axonů (na rozdíl od počtu pomocných T lymfocytů).

Úloha cytotoxických CD8+ lymfocytů zůstala tak dlouho nerozpoznána zřejmě proto, že CD8+ buňky byly považovány hlavně za supresorické a jejich tlumivá funkce rozpoznána v periferní krvi RS pacientů jako nedostatečná. Doposud se podařilo charakterizovat tuto subpopulaci pouze jako skupinu buněk, které nenesou na svém povrchu molekulu CD28. Jinak je to populace stále spíše záhadná.

Naproti tomu jsou regulační CD4+ T lymfocyty dnes daleko lépe charakterizovány – hojnou expresí molekuly CD25 na svém povrchu a molekuly Foxp3 intracelulárně. I jejich funkční vlastnosti jsou zřejmě u pacientů s RS nedostatečné. Stejně tak selhávají podněty k apoptóze zánětlivých buněk. Zánětlivý proces, který je za normálních okolností zpětnovazebně řízen více procesy, tak zřejmě selhává v několika krocích, což vysvětluje jak variabilitu, tak tíži choroby u individuálního pacienta.

Degenerace axonů u RS si ponechává stále řadu tajemství. Lze najít práce, v nichž se objevuje intaktní myelinová pochva, uvnitř které chybí axon (3). Stejně tak byly publikovány případy, kde pacienti zemřeli v souvislosti s časnou atakou RS a nalezeny byly apoptotické oligodendrocyty bez zánětlivé reakce (2). Podle profesora Lassmanna však neexistuje

destrukce axonů u RS bez přítomnosti zánětu. Klasické neurodegenerativní choroby odlišuje i rozdílná anamneza pozvolna progredující symptomatologie, při níž trvá i diagnostika většinou daleko déle než u RS.

Glatiramer acetát ve světle dosavadních poznatků

Ztráta axonů je ve výzkumu terapeutických postupů u RS stálou výzvou. Lze sice předpokládat, že časným protizánětlivým zásahem lze oddálit neregulující invaliditu, ale efekt dosud dostupných léků není vyhovující a dostatečný. To lze dokumentovat postupující atrofii nervové tkáně i u léčených pacientů. Neuroprotektivní strategie jsou proto žádoucí, a zatím bohužel zcela nedostatečné. Veškeré snahy o ovlivnění iontových kanálů, odvozené od léčby epilepsie či prevence křečů po subarachnoidálním krvácení, byly u RS neúspěšné.

Glatiramer acetát (GA) je molekula uměle vytvořená jako náhodný kopolymer 4 aminokyselin, které se nejčastěji opakují v myelinovém bazickém proteinu. Původním cílem bylo mít antigen, použitelný pro vyvolání EAE, což se ukázalo nemožným, neboť tento kopolymer je zcela neencefalitogenní. Výzkum ukázal, že tato látka je schopna vést k přepnutí imunitního systému z Th1 odpovědi na Th2. GA vykonává svůj účinek díky vazbě na MHC molekuly na povrchu antigen-prezentujících buněk. Je namísto antigenu rozpoznán GA-specifickými T lymfocyty, které získávají na základě převodu signálu tímto rozpoznáním fenotyp Th2 populace. Th2 CD4+ lymfocyty aktivované glatiramerem acetátem expandují, přestupují hematoencefalickou bariéru a vstupují do CNS, kde svými protizánětlivými cytokiny působí utlumení zánětlivé aktivity. To však není jejich jediná funkce.

GA-specifické CD4+ Th2 lymfocyty jsou schopny produkce BDNF (brain derived neurotrophic factor) (1). BDNF je tak jako jiné neurotrofní faktory po-

řebný nejen při vývoji CNS, ale i pro běžné přežití neuronů a především pro přežití v situaci imunitního útoku. Samy zánětlivé buňky jsou schopny produkce neurotrofních faktorů (což vede ke spekulacím o pozitivní roli zánětu samotného). Tato teorie má však jeden zásadní problém. Zánět sice zpětnovazebně utlumuje sám sebe (alespoň v situaci normálně fungujícího imunitního systému) a vede k nastartování reparace poškozené tkáně, ale pokud by zde tento patologický zánět nebyl přítomen, tato reakce by nebyla nutná, navíc bohužel u pacientů s RS není tato zpětnovazebně nastartovaná reakce většinou dostatečná (úspěšná je zřejmě u velmi zřídka pozorované benigní RS).

BDNF působí vazbou na dva receptory: trkB a p75. Pro neuroprotektivní aktivitu je nutný přenos signálem přes receptor trkB. Jeho nepřítomnost a vazba pouze na p75 vede k apoptóze cílového neuronu (6). Samotná přítomnost BDNF ve tkáni tedy není dostatečná a rozhodující. To ještě více komplikuje terapeutické možnosti.

Naštěstí u mnoha pacientů s RS je reálným důsledkem léčby GA nejen omezení zánětlivé reakce, ale také určitá ochrana nervových vláken. Lze ji doložit snížením počtu tzv. „černých děr“ vznikajících z akutních zánětlivých lézí (5).

Samy zánětlivé buňky mohou hrát duální roli v zánětlivé lézi. Platí to nejen o lymfocytech. Mikroglie může hrát jak pozitivní roli při „úklidu“ zničeného myelinu (čím více je ho přítomno v lézi, tím menší je pravděpodobnost remyelinizace), ale může expresí molekuly CD40L získat vlastnosti antigen-prezentující buňky, která naopak dalšímu rozpadu tkáně napomáhá náborem dalších klonů T lymfocytů (12). Zda se mikroglie aktivuje směrem k přirozenému fenotypu fagocytující buňky nebo k fenotypu antigen-prezentující buňky, záleží na typu aktivace (virové a bakteriální antigeny, myelinové antigeny, beta-amyloid).

GA však potlačuje aktivaci dendritických buněk i monocytů (in vitro i in vivo). Projevuje se to snížením produkce tumor nekrotizujícího faktoru alfa a exprese aktivačních molekul těchto buněk (14).

V nedávné době byl zjištěn ještě další možný mechanismus účinku. Je to vznik GA-specifických supresorických/cytotoxických CD8+ T lymfocytů. Jejich funkcí je likvidace CD4+ buněk, které byly předtím aktivovány prezentací antigenu v HLA-E molekule. Tak může být modulována při léčbě GA imunitní odpověď in vivo (4).

Již několik let lze ve výzkumu RS pozorovat snahy najít farmakogenomické markery, které by nám mohly včas ozřejmit, kteří pacienti mohou z dané léčby nejvíce profitovat. Klinická zkušenost jasně ukazuje, že jsou pacienti, kteří na některý z léků první volby reagují skvěle, část jich odpoví-

dá částečným efektem a jiní zcela selhávají. Je to způsobeno genetickou variabilitou, která některým dovoluje odpovědět na signál způsobený lékem aktivací příslušných genů, které jsou zodpovědné za vykonání efektu, jiným ne. Znalost těchto mechanismů před zahájením léčby nebo na jejím začátku by přineslo nejen značné ekonomické úspory, ale především by nedošlo ke ztrátě času u pacientů neadekvátně léčených. V současné klinické praxi lze posoudit neúčinnost léčby nejdříve za 6–12 měsíců.

Jak u interferonu beta, tak u glatiramer acetátu se již některé kandidátní geny rýsují. Je možné, že u GA tyto geny rozhodují i o jeho neuroprotektivním působení, tedy i o expresi receptorů pro BDNF.

Závěr

Na patogenezi RS se zcela nepochybně účastní děje zánětlivé i neurodegenerativní. Je možné, že jejich kombinace je individuálně rozdílná v závislosti na genetických faktorech i faktorech prostředí. Čím více přibývá vědeckých poznatků, tím je jasnější, že jediný

způsob, jak ovlivnit destruktivní procesy choroby, je zahájit léčebný zásah včas. Glatiramer acetát výhodně kombinuje vliv na zánětlivou složku RS i ochranu axonů v lézích.

(Fotodokumentace zapůjčena s laskavostí

prof. MUDr. Z. Seidla, CSc.,

Radiodiagnostická klinika 1. LF UK a VFN.)

doc. MUDr. Eva Havrdová, CSc.

Neurologická klinika 1. LF UK a VFN Praha

Prokopská 3, 118 00 Praha

e-mail: ehavr@lf1.cuni.cz

Literatura

1. Aharoni R, Kayhan B, Eilam R, Sela M, Arnon R. Glatiramer acetate-specific T cells in brain express T helper 2/3 cytokines and brain-derived neurotrophic factor in situ. *PNAS* 2003; 100 (42): 14157–14162.
2. Barnett MH, Prineas JW. Relapsing and remitting multiple sclerosis: Pathology of newly forming lesion. *Ann Neurol* 2004; 55: 458–468.
3. Bjartmar C, Kinkel RP, Kidd G, Rudick RA, Trap BD. Axonal loss in normal-appearing white matter with acute MS. *Neurology* 2001; 57: 1248–1252.
4. Deepani K Tennakoon, Riyaz S, Sterling B Ortega, Vijay Bho, Michael K Racke, Nitin J Karandikar. Therapeutic Induction of Regulatory, Cytotoxic CD8+ T Cells in Multiple Sclerosis. *J Immunol* 2006; 176: 7119–7129.
5. Filippi M, Rovaris M, Rocca MA, Sormani MP, Wolinsky JS, Comi G. European/Canadian Glatiramer Acetate Study Group. Glatiramer acetate reduces the proportion of new MS lesions evolving into „black holes“. *Neurology* 2001; 28/57 (4): 731–733.
6. Friedman WJ. Neurotrophins induce death of hippocampal neurons via the p75 receptor. *J Neurosci* 2000; 20 (17): 6340–6346.
7. Friese MA, Fugger L. Autoreactive CD8+ T cells in multiple sclerosis: A new target for therapy? *Brain* 2005; 128: 1747–1763.
8. Lassmann H. Multiple sclerosis pathology: Evolution of pathogenic concepts. *Brain Pathol* 2005; 15: 217–222.
9. Medana I, Martinic MA, Wekerle H, Neumann H. Transection of major histocompatibility complex class I – induced neuritis by cytotoxic T lymphocytes. *Am J Pathol* 2001; 159: 809–815.
10. Piřha J, Havrdová E. Axonální patologie u roztroušené sklerózy. *Čes a slov Neurol Neurochir* 2005; 3 (68/101): 154–158.
11. Serafini B, Rosicarelli B, Magliozzi R, Stigliano E, Aloisi F. Detection of B-cell follicles with germinal centers in meninges of patients with secondary progressive multiple sclerosis. *Brain Pathol* 2004; 14: 164–174.
12. Town T, Nikolic V, Tan J. The microglial „activation“ continuum: from innate to adaptive responses. *J Neuroinflamm* 2005; 2: 24.
13. Trapp BD, Peterson J, Ransoff RM, Rudick R, Mörk S, Bö L. Axonal transection in lesion of multiple sclerosis. *N Engl J Med* 1998; 338: 278–285.
14. Weber MS, Starck M, Wagenpfeil S, Meinl E, Hohlfeld R, Farina C. Glatiramer acetate inhibits monocyte reactivity in vitro and in vivo. *Brain* 2004; 127: 1370–1378.