

# Neuroimunologie

**Imunitní systém zasahuje do většiny dějů odehrávajících se v lidském těle, a proto také imunologie jako věda zasahuje do všech oblastí medicínských věd. Postupně vznikají nová odvětví propojující imunologii s gastroenterologií, nefrologií, endokrinologií a dalšími oblastmi. Jedním z velmi rychle se rozvíjejících oborů je neuroimunologie.**

**Neuroimunologie** byla po dlouhou dobu téměř synonymem pro studium roztroušené sklerózy (RS), zánětlivého onemocnění lidské nervové soustavy. Řada otázek hlavně v etiopatogenezi RS a dalších „klasických“ neuroimunologických chorob (imunitně podmíněné poruchy nervosvalového přenosu, autoimunitní postižení periferních nervů) nebyla dosud plně vyřešena. Na druhé straně se objevily a stále se objevují nové důkazy o podílu imunitního systému v patogenezi dalších neurologických onemocnění. Aguzzi (1) shrnuje výsledky prací týkajících se nových kandidátů na neuroimunologické choroby.

Dlouho neexistoval důkaz vztahu imunitního systému a spongiformní encefalopatie, nebyla prokázána zánětlivá infiltrace a detekovány protilátky proti prionovému proteinu. Na druhé straně ale dochází k akumulaci prionů v lymfatických orgánech a vývoj onemocnění je ovlivněn různými imunodeficitními stavy. Postupně byla prokázána úloha přirozené (komplement) i adaptivní imunity v rozvoji prionového onemocnění.

Dalším postižením nervové soustavy, které nyní začíná být považováno za neuroimunologické, je Alzheimerova nemoc, kde je navzdory řadě závažných vedlejších účinků prokazována účinnost vakcinace proti A $\beta$  peptidu. V neposlední řadě je

plňována dalšími daty: v CNS není přítomný klasický antigen prezentující buňky (dendritické buňky), parenchymální buňky CNS konstitučně neexprimují MHC I. ani II. třídy, v CNS nejsou přítomné lymfatické cévy. Všechna tato poznání vedla k názoru, že CNS je imunoprivilegovaný orgán, ohraničený endoteliální hematoencefalickou bariérou a epiteliální hematomikrovou bariérou. V posledních letech bylo prokázáno, že za určitých okolností dochází k odhojení cizího štěpu v CNS, byla zde prokázána možnost reakce oddálené buněčné přecitlivělosti. Centrální i periferní nervový systém není již považovaný za imunologicky privilegovaný, ale za imunologicky odlišný, což je dáno anatomickou a histochemickou odlišností nervové tkáně. Za normálních okolností hematoencefalická bariéra nepropouští cirkulující elementy imunitního systému, relativní nedostatek MHC molekul exprimovaných konstitučně na nervových buňkách omezuje lokální T buněčnou reaktivitu a také nebyla nalezena lymfatická drenáž, kterou by se antigeny z CNS dostávaly do různých imunitních kompartmentů v periférii. (6)

Studium možnosti rozvoje autoimunitních reakcí v nervovém systému vedlo k vyřešení řady otázek o jeho imunologic-

## Roztroušená skleróza je *autoimunitní onemocnění*

potřeba zmínit paraneoplastické neurodegenerativní syndromy, zvláště pro možnost laboratorní diagnostiky těchto stavů v imunologických laboratořích – stanovení tzv. paraneoplastických autoprotilátek. Rozvoj neuroimunologie umožnilo až prolomení jednoho z imunologických dogmat, protože nervový systém býval dříve považovaný za imunologicky privilegovanou tkáň, nedotknutelnou pro reakce imunitního systému. V posledních letech se hlavně díky studiu RS zcela změnil názor na vztah imunitního systému a CNS.

### Vztah CNS a imunitního systému

Poznání sira Petera Medawara z roku 1948 o tom, že v mozkové tkáni nedochází k rejekci cizího štěpu, byla postupně do-

plňována dalšími daty: v CNS není přítomný klasický antigen prezentující buňky (dendritické buňky), parenchymální buňky CNS konstitučně neexprimují MHC I. ani II. třídy, v CNS nejsou přítomné lymfatické cévy. Všechna tato poznání vedla k názoru, že CNS je imunoprivilegovaný orgán, ohraničený endoteliální hematoencefalickou bariérou a epiteliální hematomikrovou bariérou. V posledních letech bylo prokázáno, že za určitých okolností dochází k odhojení cizího štěpu v CNS, byla zde prokázána možnost reakce oddálené buněčné přecitlivělosti. Centrální i periferní nervový systém není již považovaný za imunologicky privilegovaný, ale za imunologicky odlišný, což je dáno anatomickou a histochemickou odlišností nervové tkáně. Za normálních okolností hematoencefalická bariéra nepropouští cirkulující elementy imunitního systému, relativní nedostatek MHC molekul exprimovaných konstitučně na nervových buňkách omezuje lokální T buněčnou reaktivitu a také nebyla nalezena lymfatická drenáž, kterou by se antigeny z CNS dostávaly do různých imunitních kompartmentů v periférii. (6)



Kresba: Michelangelo Buonarroti

Dalším problémem při řešení otázky vztahu imunitního systému a CNS je otázka prezentace antigenů. Buňky nervového systému téměř neexprimují MHC antigeny a nenacházejí se zde dendritické buňky jako buňky antigen prezentující. Bylo ale prokázáno, že mikroglie po aktivaci prezentuje MHC II. i I. třídy a perivaskulární makrofág plní funkci antigen prezentující buňky. Stále je však diskutována otázka vlastního poškození nervových buněk při autoimunitním zánětu. Astrocyty, oligodendrocyty a neurony neexprimují MHC molekuly, a proto je nepravděpodobné jejich přímé poškození T lymfocyty, což je velmi potřebné při napadení neuronů virem. Tím, že virové antigeny nejsou prezentovány spolu s MHC I. třídy, jsou pro cytotoxické T lymfocyty „neviditelné“ a nejsou jimi lyzovány. Diferenciované neurony, které již nejsou schopny obnovy, jsou tak zachovány. Neurony ale nejsou pro imunitní systém zcela „neviditelné“, protože je rozpoznávají protilátky a cytokiny a po aktivaci exprimují adhezivní molekuly.

## Genetické pozadí spolurozhoduje

V poslední době je částečně zpochybněna i jejich neschopnost exprese MHC molekul. Jiná situace je na periférii, kdy Schwannovy buňky jasně exprimují MHC II. třídy, a mohou se tedy stát terčovými buňkami při demyelinizačních nemocech periferního nervového systému.

### Roztroušená skleróza

Roztroušená skleróza mozkomíšni je chronické zánětlivé onemocnění centrálního nervového systému, které vede jak k demyelinizaci nervových vláken, tak k jejich přímé ztrátě. RS je nejčastější příčinou invalidity mladších věkových skupin z neurologické příčiny v našich zeměpisných šířkách. Je dnes již jednoznačně řazena mezi tzv. autoimunitní onemocnění, přičemž cílovými antigeny pro autoimunitní reakce jsou antigeny myelinové pochvy, obalující vlákna centrálního nervového systému.

Genetické pozadí nemoci zřejmě spolurozhoduje o typu onemocnění. Nejčastějším typem nemoci je u 80–85% pacientů zpočátku remitentní RS, kdy onemocnění probíhá v atakách a remisích. Polovina těchto nemocných přejde již během prvních deseti let průběhu nemoci do stadia sekundární chronické progresy s pozvolným nárůstem neurologického deficitu (postižení), který je již nezvratný. Relabující-progredující forma je charakterizována nárůstem neurologického deficitu i mezi relapsy, a je tedy prognosticky nepříznivá. Forma primární chronické progresy postihuje asi 10–15% pacientů a je charakterizována pozvolným nárůstem neurologického deficitu, především spastické paraparézy (obrny) dolních končetin.

Základním charakteristickým znakem RS je fokální demyelinizace, zánětlivá reakce za přítomnosti T lymfocytů, méně

B lymfocytů a výrazné makrofágo/mikrogliové aktivace. Studie za pomoci nukleomagnetické rezonance prokazují, že vzniku většiny lézí předchází fokální porušení hematoencefalické bariéry u pacientů geneticky predisponovaných pro toto onemocnění. Tyto údaje by ukazovaly na to, že RS je primárně Th1 mediované onemocnění se sekundárním zapojením makrofágů a následnou myelinovou destrukcí. Tuto teorii podporuje i vazba RS na některé haplotypy MHC II. třídy.

Úloha autoreaktivních T lymfocytů (CD4+ i CD8+) proti jednomu či více antigenům v rozvoji demyelinizačního onemocnění CNS byla jasně prokázána. Pacienti s RS i zdravé kontroly mají obdobné počty T lymfocytů reagujících s myelinovými antigeny,

## Poznání reakcí se odráží v terapii

ale v této reakci byly prokázány kvalitativní rozdíly. Myelin reaktivní T lymfocyty od pacientů s RS mají paměťový nebo aktivační fenotyp, zatímco u zdravých byl prokázán naivní fenotyp. (5) Rozdíly v produkovaných cytokinech a specifických chemokinových receptorech prokazují, že myelinreaktivní T lymfocyty nemocných RS jsou více zánětlivé. (4, 7) U nemocných s remitentní formou RS bylo nalezeno i mnohem vyšší zastoupení CD8+ myelin specifických T lymfocytů než u kontrol nebo nemocných RS se sekundárně progresivní formou nemoci. (12) Autoreaktivní T lymfocyty produkující Th1 spektrum cytokinů byly izolovány z krve nemocných RS a jejich výskyt byl vyšší než u kontrol, kde byla spíše prokazována Th2 mediovaná odpověď. (4)

Zánětlivá reakce je u RS provázena zvýšením Th1 cytokinů – IL-2, IFN- $\gamma$  a TNF- $\alpha$ , prokázané i v likvoru. Také exprese chemokinových receptorů je kompatibilní s Th1 mediovaným procesem. CCR5 a CXCR3 jsou hojně zastoupeny v lézích a periferní krvi pacientů s RS. Makrofágy a reaktivní astrocyty v RS lézích produkují  $\alpha$  chemokiny – IP-10 a Mig.

Migrace buněk je u RS pacientů zvýšena jako odpověď na RANTES a MIP1 $\alpha$ , ale ne na jiné chemokiny. Populace migrujících T lymfocytů je Th1/Th0 a jejich chemoaktrakce mediovaná RANTES a MIP1 $\alpha$  je způsobená zvýšenou expresí CCR5 a může být blokována antiCCR5 mAb. Všechny tyto poznatky ale nedostačují pro potvrzení teorie Th1 mediovaného poškození u RS a v poslední době je tato teorie částečně zpochybňována, zvláště na základě pokusů o ovlivnění vývoje onemocnění přesmykem do Th2.

Pokus o terapeuticky navozený přesmyk do Th2 byl úspěšný pouze u zvířecího modelu RS – experimentální alergické encefalomyelitidy (EAE), která je jedním z neúspěšnějších zvířecích modelů pro studium autoimunitních onemocnění. Klasická EAE je indukována u vnímavého kmene zvířat (např. krys Lewis) imunizací antigeny myelinu a Freundova adjuvans. Onemocnění je většinou jednofázové se spontánní remisí a je u něj splněna i pod-



Kresba: Michelangelo Buonarroti

mínka pro definici autoimunitního onemocnění – přenos na jiné zvíře pomocí CD4 myelin specifických T lymfocytů. Tyto pomocné buňky patří k Th1 populaci a produkují IL-2, IFN- $\gamma$  a TNF- $\alpha$ . Byl prokázán terapeutický přínos zablokováním TNF- $\alpha$  polarizace T lymfocytů na Th2 populaci u EAE (ne však u člověka).

Tento experimentální model se tedy zdál jako jasně Th1 mediované onemocnění. Pokusy na IFN knockout myši ale ukázaly, že onemocnění EAE je těžší než u divokých kmenů, a naopak poškození genu pro IL-4 onemocnění neovlivní. Studie s TNF- $\alpha$  byly nejednoznačné.

Dalším poznatkem svědčícím proti výhradně Th1 mediovanému onemocnění je přítomnost i jiných buněk v lézích. Množství CD8+ lymfocytů zde převyšuje počet CD4+ buněk, navíc jsou lokalizovány v místě léze, na rozdíl od CD4+, které jsou lokalizovány spíše perivaskulárně. Bylo prokázáno, že CD8+ jsou zde více klonálně expandované než CD4+ a axonální destrukce koreluje více s CD8+ T lymfocyty a makrofágy než s CD4+ buňkami. Byla studována účast Th2 buněk v tomto autoimunitním procesu. Pacienti s RS mají protilátky proti myelioligodendrocytovému glykoproteinu (MOG) a myelin bazickému proteinu (MBP).

Dalším důkazem je zhoršení Th1 mediované imunity při indukcí Th2, což bylo prokázáno u experimentálního modelu imunizací MOG, kdy následný přesmyk do Th2 vyvolal zhoršení. Podobný efekt byl sledován při podávání antiCD52 mAb, kdy došlo k předpokládané depleci T lymfocytů a přesmyku do Th2, ale průběh onemocnění se nezměnil. (8)

Poškození neuronů a oligodendrocytů neexprimujících MHC II. třídy není možné CD4+ T lymfocyty, a proto se hledaly další mechanismy poškození (TNF- $\alpha$ ). Mnohem vhodnějším kandidátem jsou však buňky rozeznávající antigen v kontextu MHC I. třídy, tedy CD8+ cytotoxické T lymfocyty. Bylo prokázáno, že CD8+ buňky poškozují oligodendrocyty i neurony,

## Spolupráce neurologů a imunologů má pozitivní výsledky

a v poslední době se studuje i jejich schopnost antigen specificky napadat neurity, a tím způsobit poškození axonů tak, jak to vidíme v plakách u RS. Byla potvrzena i klonální expanze CD8+ lymfocytů v plakách a likvoru. (10)

B lymfocyty s jejich produkcí myelin specifických protilátek byly již dávno považovány za důležité v patogenezi RS. Později byla jejich úloha zpochybněna a zůstal jen nevysvětlený, ale diagnosticky zásadní průkaz oligoklonálních IgG pásů v likvoru. V posledních letech je jejich úloha opět intenzivně studována s průkazem přítomnosti B buněčné odpovědi na specifický antigen v likvoru a chybění tohoto klonu v periferní krvi. (9) Studium klonální expanze B lymfocytů vede nyní ke studiím s podáváním antiCD20 monoklonální protilátky (rituximab) u nemocných s RS. V současné době, kdy je u řady imunologicky

podmíněných nemocí studována úloha regulačních buněk, byla prokázána deficece CD4+, CD25+ a CD8+ regulačních buněk u nemocných s RS. (11, 2). Studie u RS ukazují také na možnou úlohu NK-T buněk.

Demyelinizace je výsledkem destrukce oligodendrocytů. Oligodendrocyty jsou citlivé na poškození různými imunitními mechanismy zánětlivé odpovědi. Aktivované makrofágy nebo mikroglie je mohou poškodit produkcí prozánětlivých cytokinů, jako jsou TNF- $\alpha$  a IFN- $\gamma$ . Dalšími mechanismy jsou tvorba reaktivního oxygenu a nitrogenu, produkce glutamátu, aktivace komplementové kaskády a uvolnění proteolytických a lipolytických enzymů.

Poslední důkazy o poškození axonů u roztroušené sklerózy obrací naši pozornost také k neurodegeneraci a možnosti jejího ovlivnění a RS začíná být označována i jako zánětlivé neurodegenerativní onemocnění. Axonální degenerace byla prokázána v místech zánětu. Byly popsány axonální „ovoidy“, které jsou charakteristické pro nově transekané axony, a výrazná akumulace amyloid prekurzorového proteinu (APP) v místech aktivních lézí a na okrajích chronicky aktivních lézí. Tyto změny byly popsány i u pacientů s krátkou dobou nemoci. Akumulace APP koreluje s počty makrofágů a CD8+ T lymfocytů, ale ne s expresí uvažovaných mediátorů demyelinizace, jako jsou TNF- $\alpha$  a indukovatelné NO syntetázy, proto autoři tohoto pozorování uvažují o možné nezávislosti axonálního poškození a demyelinizační aktivity.

Poškození axonů CD8+ mediovanou cytotoxicitou bylo prokázáno i v buněčných kulturách a zvažuje se spíše lýza perforinem než indukce apoptózy. (3) Podle jiných autorů jsou však i jiné možnosti příčiny poškození axonů – proteolytické enzymy, cytokiny a volné radikály.

Pokroky v poznání neuroimunologických reakcí se velmi

rychle odrážejí v terapii neuroimunologických onemocnění, zvláště RS. V současné době je kromě již běžně používaných imunosupresivních léků (kortikoidy, cyklofosamid, azathioprim, mitoxantron a další) řadu let velmi úspěšně podáván interferon beta a antigen specifická terapie – glatiramer acetát. Bylo obnoveno klinicky velmi úspěšně podávání humanizované monoklonální protilátky natalizumab (anti-VLA 4) a také byla zahájena studie s podáváním monoklonální protilátky proti IL-12.

Zatím není možné, stejně tak jako u jiných autoimunitních chorob, neuroimunologická onemocnění vyléčit, ale úspěšně se daří pozastavit nebo alespoň zpomalit rozvoj těchto invalidizujících postižení mladých lidí. Přínos spolupráce neurologů a imunologů má pozitivní výsledky. (Podpořeno výzkumným záměrem MSM 0021620812) ■ Literatura: [www.sanquis.cz](http://www.sanquis.cz)