

# Remyelinizace u roztroušené sklerózy mozkomíšní, neuroprotektivní potenciál glatiramer acetátu a laquinimodu

doc. MUDr. Pavel Štourač, Ph.D.

Neurologická klinika MU a FN Brno

Glatiramer acetát a laquinimod jsou účinné přípravky pro léčbu roztroušené sklerózy mozkomíšní. Glatiramer acetát a laquinimod vykazují významné účinky nejen protizánětlivé, ale zejména účinky reparační, jakými jsou remyelinizace a neuroprotektce.

**Klíčová slova:** glatiramer acetát, laquinimod, remyelinizace, neuroprotektce.

## Remyelination in multiple sclerosis, neuroprotective potential of glatiramer acetate and laquinimode

Glatiramer acetate and laquinimode are effective drugs for the treatment of multiple sclerosis. Glatiramer acetate and laquinimode exert significant not only anti-inflammatory effects but also important effects on remyelination and neuroprotection.

**Key words:** glatiramer acetate, laquinimode, remyelination, neuroprotection.

Roztroušená skleróza mozkomíšní (RS) je chronické onemocnění centrálního nervového systému s heterogenním patologickým postižením nervové tkáně. Kromě zánětu a demyelinizace nacházíme rozsáhlé axonální a neuronální postižení. Nejčastěji se objevuje atakovitý průběh onemocnění, následovaný sekundárně – chronicko-progresivní fází a přibližně v 15 % případů začíná onemocnění primárně chronicko-progresivním průběhem. U tohoto typu onemocnění předpokládáme poněkud odlišnou patologii (Lassmann et al., 2012). Etiologie onemocnění je neznámá, předpokládá se interakce faktorů zevního prostředí; EBV infekce (Epstein-Barr virus) (Ascherio et al., 2007), deficit vitamínu D (Ascherio et al., 2010) a genetické riziko vázané na hlavní histokompatibilní systém třídy II (HLA – DR, HLA – DQ) a některé geny mimo tento systém například gen pro IL-2 receptor a interferon gamma (IFN- $\gamma$ ). V rozsáhlých genetických studiích bylo určeno asi 50 genových oblastí spojených se zvýšeným rizikem výskytu RS (Gourraud et al., 2012). Imunitní reakce ve-

de k destrukci myelinových obalů a následně ke vzniku charakteristické sklerotické demyelinizované léze – plaky. Tyto léze – plaky jsou tvořeny patologickými jevy, jako jsou zánět, demyelinizace, ztráta oligodendrocytů a různý stupeň úbytku axonů (Kuhlmann et al., 2008). Astrocytární aktivace následně vede ke vzniku gliové jizvy. Difuzní molekulárně buněčné změny v tzv. normálně vyhlížející bílé hmotě mozku jsou součástí patologického obrazu roztroušené sklerózy (Zeis et al., 2008). Kortikální demyelinizace se vyskytuje v progresivní fázi roztroušené sklerózy a výrazně koreluje s disabilitou a kognitivním postižením (Geurts et al., 2008). Roztroušená skleróza byla dříve považována za zánětlivou demyelinizační onemocnění, kde axonální struktury nebyly významně postiženy a demyelinizace byla považována za rozhodující faktor pro průběh onemocnění. V posledních letech se ukázalo, že neurodegenerace charakterizovaná trvalým zánikem nervových struktur hraje velmi důležitou roli v patogenezi roztroušené sklerózy. Neuronální postižení zahr-

nuje celou škálu morfologických změn od postižení dendritického větvení až po zánik axonů, neuronů a gliových buněk (Siffrin et al., 2010). Difuzní mozková atrofie a progresivní axonální a neuronální ztráta jsou považovány za klíčové aspekty vedoucí k trvalému neurologickému deficitu u pacientů s roztroušenou sklerózou zejména v chronicko-progresivní fázi onemocnění (Trapp et al., 2008). Zda je neurodegenerace u roztroušené sklerózy nezávislý patologický proces nebo zda je důsledkem zánětu, je předmětem přetrvávající kontroverze. Významné postižení neuronálních struktur se objevuje již v počátku onemocnění včetně oblastí normálně vyhlížející bílé a šedé hmoty mozku. To naznačuje, že zánět a neurodegenerace jsou alespoň částečně nezávislé procesy (Herz et al., 2010). Na druhé straně buněčné komponenty imunitního systému, lymfocyty, aktivované makrofágy a mikroglie jsou přítomny v těsné blízkosti degenerujících axonů a neuronů, což zase nasvědčuje tomu, že neurodegenerace je důsledkem zánětu. V současnosti převažuje

KORESPONDENČNÍ ADRESA AUTORA:

doc. MUDr. Pavel Štourač, Ph.D., pstourac@fnbrno.cz  
Neurologická klinika MU a FN Brno, Jihlavská 20, 625 00 Brno

Cit. zkr: Neurol. praxi 2016; 17(1): 60–62

Článek přijat redakcí: 20. 12. 2015

Článek přijat k publikaci: 4. 2. 2016

**Tab. 1.** Imunomodulační a neuroprotektivní účinky GA u RS a EAE (Aharoni, 2014)

Periferní Imunomodulace	
Alterace nespecifické (vrožené) imunitní odpovědi	Inhibiční efekt na monocyty, snížená tvorba TNF- $\alpha$ a IL-12, zvýšená tvorba IL-10 a TGF- $\beta$ , stimulace Th2 protizánětlivé odpovědi
Antagonismus k T buněčnému receptoru	Inhibice specifické T buněčné reaktivity vůči epitopu 82–100 MBP
Kompetice s MHC systémem	Vazba na MHC II molekuly a blokáce vazby s myelinovými antigeny
Modifikace T-lymfocytů	Indukce specifických Th2/3 lymfocytů, které produkují zvýšené množství IL-4, IL-5, IL-10 a TGF- $\beta$ cytokinů Zvýšení počtu T regulačních lymfocytů, aktivace transkripčního faktoru Foxp3 Redukce Th17 lymfocytů a jejich transkripčního faktoru RORYt Zlepšení regulační funkce CD8+ T lymfocytů
Modifikace B-lymfocytů	Tvorba protilátek s pozitivním účinkem, nikoliv neutralizační aktivitou, zvýšení tvorby protizánětlivých cytokinů např. IL-10, snížení počtu chemokinových receptorů
Imunomodulace v CNS	
Sekrece protizánětlivých cytokinů	GA – specifické Th2/3 lymfocyty přestupují hematoencefalickou bariéru a tvoří „in situ“ protizánětlivé cytokiny Tvorba IL-10 a TGF- $\beta$ rezidentními astrocyty a mikroglíí Redukce exprese IFN- $\gamma$
Th 17 a T regulační lymfocyty	Snížení Th 17 lymfocytů Zvýšení T regulačních lymfocytů
Neuroprotektce	
Zvýšení tvorby neurotrofních faktorů	GA specifické T lymfocyty exprimují BDNF v mozku, normalizace tvorby BDNF, NT-3, NT-4, IGF-1, IGF-2
Snížení poškození CNS	Prevence demyelinizace, uchování retinálních gangliových buněk, omezení ztráty motorických neuronů, uchování integrity tkáně CNS při měření MRI, MTR a DTI. Snížení tvorby „black holes“. Zvýšení poměru NAA/Cr
Remyelinizace	Zesílení remyelinizace, zvýšení proliferace, maturace a přežívání oligodendrocytárních progenitorů a jejich akumulace v lézích
Neurogeneze	Zvýšení proliferace, migrace a diferenciacie neuronálních progenitorových buněk a jejich migrace do lézí

MTR – magnetization transfer ratio (magnetizační transfer); BDNF – brain derived neurotrophic factor (mozkový neurotrofní faktor); MRI – magnetic resonance imaging (zobrazování magnetickou rezonancí); NAA/Cr – N-acetyl-aspartate/creatine (poměr N-acetyl-aspartát/ kreatinin); DTI – diffusion tensor imaging (difúzně vážený obraz)

názor, že hlavní mechanismus změny je představen zánětem, na jehož pozadí se objevuje neurodegenerace (Frischer et al., 2009).

Glatiramer acetát (GA) (Copaxone) je imunomodulační lék používaný v léčbě atakovité formy roztroušené sklerózy a izolovaného klinického syndromu. Jedná se o Copolymer 1 sestávající z L – alaninu, L – lyzinu, L – glutamové kyseliny a L – tyrozinu v molárním poměru 4,2 : 3,4 : 1,4 : 1,0 a v experimentu byl prokázán jeho léčebný účinek v animálních modelech EAE (experimentální alergická encefalomyelitida) (Teitelbaum et al., 1997). GA má velmi dobrý bezpečnostní profil a dlouhodobě prokázané klinické účinky u pacientů s roztroušenou sklerózou léčených tímto preparátem. Jedná se cca 30% redukci počtu relapsů a snížení počtu zánětlivých lézí při

vyšetření magnetickou rezonancí. U pacientů s RS a u pacientů s klinicky izolovaným syndromem je působení GA spojeno se zachováním nervové tkáně, prokázané měřením mozkové atrofie nekonvenčními magneticko-rezonančními technikami (Comi et al., 2001). Včasně zahájení léčby je z hlediska dlouhodobých výsledků účinnější než zahájení pozdější. GA má unikátní mechanismy působení na základě působení vysokého počtu polypeptidových epitopů. Tyto zahrnují množství imunomodulační účinky, jako jsou kompetice GA s vazebnými místy hlavního histokompatibilního systému, antagonismus s T buněčnými receptory, ovlivnění dendritických buněk, monocytů a B lymfocytů směrem k protizánětlivé odpovědi, indukci Th2/3 subpopulace lymfocytů a snížení Th1 a Th17 prozánětlivých lymfocytár-

ních subpopulací. Léčba GA má neuroprotektivní a reparační účinky na nervovou tkáň, dochází ke tvorbě neuroprotektivních faktorů, k redukcii poškození myelinu a neuronu a k remyelinizaci a neurogenezi v animálních experimentech.

## Glatiramer acetát a neuroprotektce

Neuroprotektce je definována jako působení, které má za následek ochranu a regeneraci tkáně nervového systému, struktury a funkce jeho buněk. Mnohé nálezy týkající se působení GA na nervový systém prokazují jeho neuroprotektivní účinky (Arnon et al., 2009).

Zvýšení koncentrace neurotrofních faktorů. GA působí na imunokompetentní buňky tak, že vede ke zvýšení koncentrace BDNF (brain derived neurotrophic factor) v modelu EAE. Obdobně byla zjištěna zvýšená koncentrace dalších neurotrofních faktorů u myši léčených GA, např. neurotrofinu – NT3, NT4 a inzulin – růstového faktoru (insulin-like growth factor 1,2 (Aharoni et al., 2005). Tyto neurotrofní faktory hrají důležitou roli v neurogenezi, kde podporují axonální růst, remyelinizaci a regeneraci (Riley, 2004). Předpokládá se, že GA zvyšuje hladinu těchto neurotrofních faktorů dokonce v chronické fázi onemocnění, kdy je jejich tvorba výrazně poškozena. GA dále redukuje rozsah tkáňového poškození v modelu EAE. Reparační procesy jsou závislé na přítomnosti progenitorových buněk, jako jsou buněčné progenitory oligodendrocytů a neuronálních progenitorů. Tyto progenitory musí být stimulovány k proliferaci, migraci a diferenciaci zejména v místech výchozího poškození tkáně nervového systému.

## Glatiramer acetát a remyelinizace

Způsob, jakým GA ovlivňuje remyelinizaci, je připisován zvýšené proliferaci a přežívání oligodendrocytárních progenitorových buněk a jejich migraci do míst postižení, kde se podílí na remyelinizaci „in situ“ (Lessmann et al., 2003). Dále léčba GA transformuje morfologii oligodendrocytárních progenitorových buněk do diferencovanějších stupňů směrem k myelin produkujícím buňkám (Aharoni, 2008). Významné zvýšení progenitorových oligodendrocytů a jejich proliferace a účinek GA na postnatální myelinizaci je potencován zvýšenou tvorbou IGF-1 a BDNF. Zajímavým poznatkem je experimentálně ověřená skutečnost, že některé exony v genu pro myelin bazický protein jsou aktivovány obdobných

způsobem, jak je tomu při embryonálním vývoji, tedy remyelinizace za patologických podmínek probíhá na molekulárně-biologické úrovni identicky jako během embryonálního vývoje (Jordan et al., 1989). Z pohledu klinické účinnosti a bezpečnosti je GA lék prověřený 20letou zkušeností v klinické praxi a je zajímavý svým unikátním mechanismem působení zahrnujícím protizánětlivé a neuroprotektivní účinky.

## Laquinimode

Laquinimode (LQ) je malá molekula quinoline-3-carboxamid s prokázaným účinkem v léčbě atakovitě formy roztroušené sklerózy mozkomíšní. Jedná se o derivát původně testované molekuly roquinimexu, léku, který byl testován ve II. fázi klinického hodnocení, avšak pro nepříznivý bezpečnostní profil bylo testování ukončeno (Jonsson et al., 2004). V preklinických studiích bylo prokázáno, že LQ má protizánětlivou aktivitu, omezuje demyelinizaci a zabraňuje axonální ztrátě (Bruck et al., 2011). V klinickém hodnocení Allegro byl LQ podáván perorálně v dávce 0,6 mg denně a měl pozitivní účinek na redukci atak a pozitivní účinek na progresi disability. V parametrech vyšetření nukleární magnetickou rezonancí byla prokázána redukce v počtu gadolinium-enhancujících lézí a v redukci počtu

nových nebo zvětšujících se T2-hyperintenzních lézí a v případě mozkové atrofie redukce o 35 % v porovnání s placebo skupinou (Comi et al., 2012).

## Laquinimod – remyelinizace a imunomodulace

Informace o imunomodulačním působení LQ jsou získány především z animálních modelů experimentální alergické encefalomyelitidy (EAE). LQ má významné protizánětlivé účinky spočívající v redukci zánětlivých buněčných komponent ovlivněním, resp. deaktivací prozánětlivých genů a naopak aktivací genů protizánětlivých. LQ dále blokuje přestup prozánětlivých T lymfocytů přes hematoencefalickou bariéru, čímž snižuje rozsah strukturálního poškození mozku a míchy. Uvedenou deaktivací dochází ke snížení prozánětlivých cytokinů, např. tumor nekrotizujícího faktoru – beta (TNF-β) a interleukinu 12 (IL-12), a současně k proporcionálnímu zvýšení protizánětlivých cytokinů TGF-β (transforming growth factor – β) a interleukinu-4 (IL-4) (Bruck et al., 2011). Bylo také prokázáno zvýšení počtu regulačních T-lymfocytů (Mishra et al., 2012). LQ dále ovlivňuje B-lymfocyty a jejich regulační vliv na T-lymfocyty. Skutečnost, že LQ zvyšuje počet T a B lymfocytů ve slezině ukazuje na spíše imunomodulační než imunosupresivní účinky (Brunmark et al., 2002).

Terapeutické účinky LQ v experimentu prokázaly pozitivní vliv i cestou remyelinizace, prodlouženým přežíváním progenitorů oligodendrocytů a snížením apoptózy oligodendrocytů. Tento pozitivní efekt remyelinizace byl po podání LQ detekován zejména na struktuře corpus callosum (Moore et al., 2013).

## Laquinimod a neuroprotektce

Léčba LQ snižuje axonální poškození v laboratorních experimentech a tento neuroprotektivní účinek je způsoben zejména stimulací tvorby neurotrofních faktorů na periferii a uvnitř nervového systému. Tato hypotéza byla testována u pacientů, kteří se zúčastnili II fáze studie LAQ /5026. Hladiny BDNF (brain derived neurotrophic factor) byly stanoveny v séru pacientů s atakovitou formou roztroušené sklerózy. Vzorky byly vyšetřeny od 200 pacientů léčených LQ nebo placebem v dávce 0,6 mg /den a kontrolovány po 3 a 9 měsících léčby. Byly stanoveny hladiny neurotrofinu-3, neurotrofinu-4 a BDNF metodou ELISA. Terapie LQ vedla k signifikantnímu ( $p < 0,01$ ) a k specifickému až 11násobnému zvýšení sérových hladin BDNF ve srovnání s placebo skupinou po 3 měsících léčby.

*Práce byla podpořena MZ-ČR –RVO (FNBr,65269705) a CEITEC MUNI.*

## LITERATURA

- Aharoni R, Eilam R, Domev H, Labunskay G, Sela M, Arnon R. The immunomodulator glatiramer acetate augments the expression of neurotrophic factors in brains of experimental autoimmune encephalomyelitis in mice. *Proc Natl Acad Sci USA* 2005; 102: 19045–19050.
- Aharoni R, Herschkovitz A, Eilam R, Blumberg-Hazan M, Sela M, Bruck W, Arnon R. Demyelination arrest and remyelination induced by glatiramer acetate treatment of experimental autoimmune encephalitis. *Proc Natl Acad Sci USA* 2008; 105: 11358–11363.
- Arnon R, Aharoni R. Neuroprotection and neurogeneration in MS and its animal model EAE effected by glatiramer acetate. *J Neurol Transm* 2009; 116: 1443–1449.
- Ascherio A, Munger KL, Simon KC. Vitamin D and multiple sclerosis. *Lancet Neurol* 2010; 9: 599–612.
- Ascherio A, Munger KL. Environmental risk factors for multiple sclerosis. Part I – The role of infection. *Ann Neurol* 2007; 61: 288–299.
- Bruck W, Wegner C. Insight into the mechanism of laquinimod action. *J Neurol Sci* 2011; 306: 173–179.
- Brunmark C, Runstrom A, Ohlsson L, Spare B, Brodin T, Astrom M, Hedlund G. The new orally active immunoregulator laquinimod (ABR-215062) effectively inhibits development and relapses of experimental autoimmune encephalomyelitis. *2002 J Neuroimmunol* 130; 163–172.
- Comi G, Filippi M, Wolinski JS. European /Canadian multicenter, double – blind, randomized, placebo-controlled study of the effects of glatiramer acetate on magnetic resonance imaging – measured disease activity and burden

- in patients with relapsing multiple sclerosis. *Ann Neurol* 2001; 49: 290–297.
- Comi GC, Jeffery D, Kappos L, Montalban X, Boyko A, Rocca MA, Filippi M. Placebo – Controlled Trial of Oral Laquinimode for Multiple Sclerosis. *N Engl J Med* 2012; 366: 1000–1009.
- Frischer JM, Bramow S, Dal Bianco A, Lucchinetti CF, Rauschka H, Schmidbauer M. et al. The relation between inflammation and neurodegeneration in multiple sclerosis brains. *Brain* 2009; 132: 1175–1189.
- Geurts JJ, Barkhof F. Grey matter pathology in multiple sclerosis. *Lancet Neurol* 2008; 7: 841–851.
- Gourraud PA, Harbo HF, Hauser SL, Baranzini SE. The Genetics of multiple sclerosis: an up-to-date review. *Immunol Rev* 2012; 248: 87–103.
- Herz J, Zipp F, Siffirin V. Neurodegeneration in autoimmune CNS inflammation. *Exp Neurol* 2010; 225: 9–17.
- Jönsson S, Andersson G, Fex T, Fristedt T, Hedlund G, Jansson K, Abramo L, Fritzon I, Pekarski O, Runström A, Sandin H, Thuvevsson I, Björk A. Synthesis and biological evaluation of new 1,2-dihydro-4-hydroxy-2-oxo-3 – quinolinecarboxamides for treatment of autoimmune disorders: structure – activity relationship. *J Med Chem* 2004; 47: 2075–2088.
- Jordan CA, Friedrich Jr VL, Godfraind C, Cardellechio CB, Holmes KV, Dubois-Dalcq M. Expression of viral and myelin gene transcripts in a murine CNS demyelinating disease caused by a coronavirus. *Glia* 1989; 2: 318–329.
- Kuhlmann T, Lassmann H, Bruck W. Diagnosis of inflammatory demyelination in biopsy specimens: a practical approach. *Acta Neuropathol* 2008; 115: 275–287.
- Lassmann H, van Horsen J, Mahad D. Progressive multiple sclerosis: pathology and pathogenesis. *Nat Rev Neurol* 2012; 8: 647–656.
- Lessmann V, Gottmann K, Malcangio M. Neurotrophin secretion: current facts and future prospects. *Prog Neurobiol* 2003; 69: 341–374.
- Mishra M, Wang J, Silva C, Mack M, Yong V. Kinetics of pro-inflammatory monocytes in a model of multiple sclerosis and its perturbation by laquinimod. *Am J Pathol* 181; 645–651.
- Moore S, Khalaj AJ, Yoon JH, Patel R, Hannsun G, Yoo T, Sasidhar M, Martinez-Torres L, Hayardeny L, Tiwari-Woodruff SK. Therapeutic laquinimod treatment decreases inflammation, initiates axon remyelination and improves motor deficit in a mouse model of multiple sclerosis. *Brain and Behavior* 2013; 3(6): 664–682.
- Riley CP, Cope TC, Buck CR. CNS neurotrophins are biologically active and expressed by multiple cell types. *J Mol Histol* 2004; 35: 771–783.
- Siffirin V, Vogt J, Radbruch H, Nitsch R, Zipp F. Multiple sclerosis – candidate mechanisms underlying CNS atrophy. *Trends Neurosci* 2010; 33: 202–210.
- Teitelbaum D, Arnon R, Sela M. Copolymer 1: from basic research to clinical application. *Cell Mol Life Sci* 1997; 53: 24–28.
- Trapp BD, Nave KA. Multiple sclerosis: an immune or neurodegenerative disorder? *Ann Rev Neurosci* 2008; 31: 247–269.
- Zeis T, Graumann U, Reynolds R, Schaeren-Wiemers N. Normal appearing white matter in multiple sclerosis is in a subtle balance between inflammation and neuroprotection. *Brain* 2008; 131: 288–303.