

Neuroimmunologia di base e meccanismi patogenetici della SM: a che punto siamo?

Giulia Mallucci

Centro di Ricerca Interdipartimentale per la Sclerosi Multipla (CRISM), IRCCS Fondazione Mondino, Pavia

Introduzione

La sclerosi multipla (SM) è una malattia infiammatoria demielinizzante del sistema nervoso centrale (SNC) che determina progressiva disabilità a carico delle funzioni motorie, sensitive, cerebellari e cognitive.

Secondo la più recente classificazione, clinicamente la malattia si manifesta in due forme: “SM con ricadute” oppure “SM progressiva”.

Questi due fenotipi sono ulteriormente caratterizzati in base all'attività clinica e/o radiologica di malattia e alla progressione della disabilità^[1]. I meccanismi alla base dell'eterogeneità clinica della SM non sono ancora completamente noti, tuttavia si ritiene che i diversi *pattern* clinici^[2] rappresentino differenti fasi dello stesso processo patologico^[3,4].

Pertanto, la corretta comprensione del ruolo delle diverse cellule del sistema immunitario, delle cellule gliali e dei neuroni coinvolti nelle lesioni demielinizzanti è fondamentale per capire i meccanismi della SM e per sviluppare terapie mirate per le diverse fasi di questa malattia.

Lesioni demielinizzanti

Le lesioni tipiche della SM sono caratterizzate da infiammazione, demielinizzazione e neurodegenerazione; sono disseminate sia nella sostanza bianca (SB) sia nella sostanza grigia (SG) del SNC e differiscono significativamente tra i pazienti per numero, dimensione e sede^[5].

Macroscopicamente le lesioni della SB sono ovalari e localizzate principalmente sul nervo ottico, in sede periventricolare, juxtacorticale e nella fossa cranica posteriore. Microscopicamente, in base allo stato di attivazione dei macrofagi e della degradazione della mielina, le lesioni si distinguono in: i) infiammatorie attive, ii) *smoldering*, iii) *shadow* e iv) inattive^[6]. Le lesioni della SG, che sono ora facilmente visualizzabili con metodiche avanzate di risonanza magnetica, si localizzano prevalentemente a livello del giro del cingolo, della corteccia frontale, temporale e insulare^[7], nel cervelletto^[8] e nell'ippocampo^[9]. Poiché le lesioni corticali sono state inizialmente analizzate esclusivamente nei pazienti con forme progressive di SM, a lungo si è ritenuto che questo tipo di lesioni fosse

scarsamente infiammatorio; tuttavia studi più recenti e condotti anche su pazienti con forme di SM con ricadute hanno mostrato la presenza di un diffuso infiltrato infiammatorio^[10]. Le lesioni della SG sono classificate in quattro tipi in base alla loro localizzazione: leucocorticali, intracorticali, subpiali tipo III e subpiali tipo IV^[11,12].

Infiammazione

La prima componente delle lesioni tipiche della SM è l'infiammazione e di seguito sono riassunti i meccanismi del sistema immunitario acquisito e innato coinvolti nel processo patogenetico.

Sistema immunitario acquisito

Sebbene non sia ancora chiaro cosa determini l'attivazione del sistema immunitario^[13], è proprio la complessa e coordinata attivazione dei linfociti T ciò che determina e guida l'evoluzione della SM. In sintesi, i linfociti T attivati a livello periferico raggiungono il SNC grazie all'espressione di molecole d'adesione che riconoscono precisi determinanti a livello della barriera ematoencefali-

ca (BEE). In particolare, dapprima una glicoproteina presente a livello linfocitario (*P-selectin glycoprotein ligand 1* - PSGL-1) riconosce la P-selectina espressa sulle cellule endoteliali. Questo legame non è in grado di fissare tenacemente i linfociti all'endotelio, ma li rallenta, determinando un movimento di "rolling" dei linfociti sulle cellule endoteliali. Successivamente interviene il legame tra l'integrina-4 alfa (*Very Late Antigen 4* - VLA-4), presente sui linfociti, e la molecola di adesione vascolare (*Vascular Adhesion Molecule 1* - VCAM-1), a livello dell'endotelio, che ancora saldamente i linfociti all'endotelio e permette loro un movimento paracellulare tra gli endotelioцити, con diapedesi e superamento della BEE. Anche il legame tra l'LFA-1 (*Lymphocyte Function-associated Antigen*) e la molecola di adesione intercellulare (*InterCellular Adhesion Molecule 1* - ICAM-1) a livello dell'endotelio media la traslocazione dei linfociti. Questo processo di diapedesi interessa prima lo spazio subaracnoideo e, in un secondo momento, quello perivascolare a livello cerebrale. La successiva riattivazione dei linfociti T avviene a livello subaracnoideo. A livello cerebrale, avviene poi il riconoscimento da parte dei linfociti degli auto-antigeni mielinici, presentati da macrofagi e microglia. L'innesco della risposta autoimmunitaria comporta un aumento della permeabilità della BEE, con il conseguente richiamo di nuove cellule infiammatorie dalla periferia, mediato da chemochine

quali CCL5 (*Chemokine Ligand 5*) e MIP-1 alfa (*Macrophage Inflammatory Protein 1 alfa*). Ciò determina un allargamento del processo infiammatorio, con il coinvolgimento di altri tipi cellulari, tra cui linfociti T CD8⁺ citotossici, linfociti B, macrofagi, microglia ed astrociti.

I differenti sottotipi cellulari T che partecipano alla risposta infiammatoria immunomediata caratteristica della SM hanno ruoli diversi. In breve, i linfociti CD4⁺ effettori, T helper (Th), hanno ruoli diversi a seconda del loro fenotipo; la polarizzazione Th1 determina una funzione pro-infiammatoria, mentre la polarizzazione Th2 determina un ruolo anti-infiammatorio. La polarizzazione Th1 è favorita dall'interleuchina (IL)12 ed è caratterizzata dal rilascio di IFN-gamma, TNF-alfa, TNF-beta e IL2. Il fenotipo Th2 è invece promosso dall'IL4 ed è caratterizzato dal rilascio di citochine anti-infiammatorie che includono IL3, IL4, IL5, IL6, IL10 e IL 13 e TGF-beta^[14,15]. Oltre alle cellule Th1 e Th2, nella patogenesi della SM sono coinvolte anche le cellule Th17, pro-infiammatorie, che secernono prevalentemente IL17, IL22, IL21, IL9 e TNF-alfa. La polarizzazione verso il Th17 dipende da diversi fattori, ma per la sua differenziazione ed espansione è essenziale la presenza di IL23^[16]. I linfociti CD8⁺ citotossici sono invece noti per essere i principali costituenti nelle placche infiammatorie e giocano un ruolo principale nel danno assonale e nella morte degli oligodendrociti^[17]

e probabilmente, inoltre, sembra che contribuiscano a incrementare la permeabilità della BEE^[18]. L'equilibrio tra le cellule effettrici Th e gli altri sottotipi T (in particolare le cellule T regolatorie, *Treg*) è fondamentale nell'evoluzione della SM^[19].

Le *Treg* naturali sono essenziali per il controllo dell'autoimmunità poiché mediano la tolleranza immunologica verso gli antigeni *self*. Le *Treg* acquisite, invece, esercitano la loro funzione immunosoppressiva attraverso il rilascio di IL10 e TGF-beta. Chiaramente, entrambe le popolazioni *Treg* giocano un ruolo fondamentale nel mantenere l'omeostasi immunitaria e influenzano significativamente il processo disimmune durante la SM. Evidenze cliniche mostrano che i meccanismi iniziali della malattia potrebbero essere attribuiti a una ridotta funzione delle cellule *Treg*^[20].

Infine sono numerose le evidenze che mostrano un ruolo chiave delle cellule B e degli anticorpi nello sviluppo della SM^[21]. In breve, le cellule B esercitano multiple funzioni pro-infiammatorie e regolatorie a livello della patogenesi della SM che includono la loro differenziazione in plasma cellule e la produzione di Ig che possono processare gli antigeni per l'attivazione delle cellule T e/o per la fagocitosi macrofagica; agiscono come cellule presentanti gli antigeni (APC) per i linfociti T autoreattivi, infine rilasciano sia citochine pro-infiammatorie (ad es. IL6, IL12, TNF), sia citochine anti-infiammatorie (ad es. IL10)^[22].

Sistema immunitario innato

Recentemente, nei pazienti affetti da SM sono stati osservati *cluster* di microglia attivata a livello del SNC in assenza di alterazione della BEE, demielinizzazione, danno assonale e/o attivazione delle cellule T^[23]. Proprio l'assenza del danno della BEE supporterebbe la controversa ipotesi che la SM sia dovuta ad un'anomala attivazione del sistema immunitario innato intrinseco del SNC^[24].

Sebbene l'argomento sia dibattuto, attualmente si sa che queste lesioni non sono esclusive delle forme precoci di malattia e che la loro evoluzione è regolata da processi neurodegenerativi/protettivi orchestrati dall'attivazione di microglia/macrofagi. Il ruolo dei macrofagi dipende, infatti, dalla loro capacità di assumere distinti stati di attivazione:

- i) attivazione pro-infiammatoria tipo M1, che si associa con la difesa, la citotossicità, il rilascio di citochine pro-infiammatorie, e radicali liberi;
- ii) attivazione anti-infiammatoria tipo M2 che si caratterizza per un'aumentata capacità angiogenica, rilascio di citochine anti-infiammatorie, di fattori di crescita e di fattori neuroprotettivi^[25, 26].

Demielinizzazione

La seconda componente delle lesioni tipiche della SM è la demielinizzazione. Di seguito sono sintetizzati i vari meccanismi implicati nella demielinizzazione della SB e della SG.

Demielinizzazione della SB

I meccanismi che determinano la demielinizzazione nella SB sono molteplici; microscopicamente questi meccanismi determinano quattro distinti *pattern* lesionali i quali sono eterogenei inter-soggetto e omogenei intra-soggetto^[27].

In sintesi, nel *pattern* tipo I e II la demielinizzazione è dovuta a un danno primario della mielina, mentre nel *pattern* tipo III e IV la demielinizzazione si verifica in seguito a un danno primario dell'oligodendrocita.

Nel dettaglio, il danno diretto della mielina è dovuto al rilascio di fattori tossici (tipo TNF-alfa) prodotti dai macrofagi attivati (tipo I)^[28-30] o dall'immunità umorale (tipo II)^[2, 31]. Il danno primario a livello dell'oligodendrocita potrebbe invece essere dovuto a molteplici meccanismi che sono meno chiari e includono danno mitocondriale primario dell'oligodendrocita (tipo III)^[32], ma anche rilascio di fattori tossici per l'oligodendrocita da parte dei macrofagi attivati (tipo IV)^[2].

È importante tuttavia ricordare che, nelle fasi precoci della SM, le lesioni demielinizzanti sono caratterizzate da ripetuti fenomeni di de- e rimielinizzazione che portano alla produzione di fogli di mielina più sottili e più corti^[33].

Studi *post-mortem* suggeriscono inoltre che la capacità di rimielinizzazione sia legata, oltre che dalla localizzazione delle lesioni^[34] (lesioni della SB profonda e delle lesioni corticali sono più soggette alla rimielinizzazione rispetto alle lesioni

periventricolari), anche all'efficace attivazione del sistema immunitario^[35] che guiderebbe il processo riparativo, promuovendo quindi l'adeguata attivazione dei precursori degli oligodendrociti, il loro reclutamento e infine la loro differenziazione^[36].

Demielinizzazione della SG

Le lesioni demielinizzanti della SG si verificano precocemente nel corso della SM, spesso precedono le classiche lesioni della SB e, sebbene siano più numerose nei pazienti con deficit cognitivo e/o epilessia, esse sono diffuse in tutti i pazienti con SM^[37, 38]. I meccanismi che determinano la formazione di questo tipo di lesioni non sono completamente chiari, tuttavia è stato osservato che le lesioni della SG oltre a svilupparsi in contiguità con aree danneggiate della SB si possono sviluppare anche in aree corticali che non sono anatomicamente correlate con aree danneggiate della SB^[39]. L'osservazione che queste lesioni siano topograficamente legate a infiltrati infiammatori meningei induce a supporre che proprio gli infiltrati infiammatori meningei rilascino fattori solubili che diffondono all'adiacente corteccia e che inducono direttamente o indirettamente la formazione della lesione^[40]. Inoltre, data la presenza delle cellule B nelle lesioni demielinizzanti, è probabile anche il loro coinvolgimento nello sviluppo e nell'evoluzione di queste lesioni.

Le lesioni della SG sono inoltre caratterizzate da marcato danno ossidativo dovuto alla compromissione

mitocondriale negli assoni danneggiati, che è verosimilmente dovuta al rilascio di fattori tossici da parte dell'infiammazione della SB ma anche ad una compromissione intrinseca degli stessi. Infine, anche le lesioni demielinizzanti della SG sono caratterizzate dai fenomeni di rimielinizzazione che sembrano essere però più efficienti rispetto a quelli che interessano la SB.

Neurodegenerazione

La terza componente delle lesioni tipiche dalla SM è la neurodegenerazione che, sebbene inizi già nelle fasi più precoci della malattia, si manifesta clinicamente solo nelle fasi più avanzate della malattia. Tuttavia, poiché si ritiene che la neurodegenerazione sia la principale causa dell'irreversibile disabilità clinica dei pazienti con SM, è fondamentale comprenderne i meccanismi diretti e indiretti che la determinano.

Da sempre è stato enfatizzato il ruolo dell'infiammazione della SB nell'indurre una retrograda neurodegenerazione; infatti la degenerazione corticale spesso è anatomicamente collegata con lesioni demielinizzanti della SB. Il meccanismo con cui l'infiammazione determinerebbe indirettamente la neurodegenerazione

prende il nome di “ipossia virtuale” ed è sostanzialmente dovuto a uno squilibrio tra la richiesta di ossigeno e la produzione di energia da parte dei mitocondri ^[41, 42].

L'infiammazione determina demielinizzazione che a livello assonale induce una riorganizzazione dei canali per il Na^+ con conseguente aumento di Na^+ intra-assonale. Ciò risulta in un incremento di consumo di ATP per rimuovere l'eccesso di Na^+ e, nonostante il numero dei mitocondri aumenti considerevolmente come meccanismo compensatorio, essi sono danneggiati e non soddisfano il fabbisogno. Di conseguenza, l'aumento di Na^+ determina un'inversione di attività dello scambiatore $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ che quindi pompa il Na^+ fuori e il Ca^{2+} dentro il neurone. Infine, la maggiore presenza di Ca^{2+} favorisce un circolo vizioso di alterata funzione mitocondriale, ridotta produzione d'energia e compromissione del trasporto assonale. L'infiammazione, tuttavia, può anche esercitare un meccanismo neurodegenerativo diretto. Infatti i macrofagi e la microglia attivata rilasciano una pletera di sostanze che includono enzimi proteolitici, citochine, radicali liberi e prodotti dell'ossidazione che possono danneggiare l'assone ^[43].

Inoltre, sia le cellule attive del sistema immunitario sia gli astrociti producono glutammato il quale danneggia assoni, mielina e oligodendrociti ^[44]. È però plausibile che sia cause dirette sia cause indirette partecipino alla degenerazione corticale. Un'ipotesi che includerebbe entrambi i meccanismi suggerisce che l'infiammazione della SB determini degenerazione retrograda, che a sua volta induce l'attivazione della microglia nella corteccia con polarizzazione tipo M1 (pro-infiammatorio citotossico) ^[45, 46].

Infine, nelle fasi più precoci della malattia una serie di meccanismi riparativi e di compenso del danno neurale vengono attivati. Questi processi sono principalmente guidati dal sistema immunitario che, adeguatamente attivato, da un lato elimina le molecole inibitorie la crescita, dall'altro rilascia fattori di crescita.

Conclusione

Sebbene i meccanismi coinvolti nello sviluppo della SM siano ancora in fase di studio, comprendere le caratteristiche salienti dell'evoluzione delle lesioni nelle diverse aree e nelle diverse fasi della malattia è la base per lo sviluppo di terapie sempre più mirate e efficaci.

Bibliografia

1. Lublin FD, Reingold SC, Cohen JA, et al. Defining the clinical course of multiple sclerosis: the 2013 revisions. *Neurology*. 2014;83(3):278-86.
2. Lucchinetti C, Brück W, Parisi J. Heterogeneity of multiple sclerosis lesions: implications for the pathogenesis of demyelination. *Ann Neurol*. 2000;47(6):707-17.
3. Trapp BD, Nave KA. Multiple sclerosis: an immune or neurodegenerative disorder? *Annu Rev Neurosci*. 2008;31:247-69.
4. Lassmann H, van Horssen J, Mahad D. Progressive multiple sclerosis: pathology and pathogenesis. *Nat Rev Neurol*. 2012;8(11):647-56.
5. Charcot. A Lecture on Rhythmical Hysterical Chorea. *Br Med J*. 1878;1(895):251-3.
6. Brück W, Sommermeier N, Bergmann M, et al. Macrophages in multiple sclerosis. *Immunobiology*. 1996;195(4-5):588-600.
7. Popescu BF, Lucchinetti CF. Meningeal and cortical grey matter pathology in multiple sclerosis. *BMC Neurol*. 2012;12:11.
8. Kutzelnigg A, Faber-Rod JC, Bauer J, et al. Widespread demyelination in the cerebellar cortex in multiple sclerosis. *Brain Pathol*. 2007;17(1):38-44.
9. Geurts JJ, Bö L, Roosendaal SD, et al. Extensive hippocampal demyelination in multiple sclerosis. *J Neuropathol Exp Neurol*. 2007;66(9):819-27.
10. Lucchinetti CF, Popescu BF, Bunyan RF, et al. Inflammatory cortical demyelination in early multiple sclerosis. *N Engl J Med*. 2011;365(23):2188-97.
11. Calabrese M, Agosta F, Rinaldi F, et al. Cortical lesions and atrophy associated with cognitive impairment in relapsing-remitting multiple sclerosis. *Arch Neurol*. 2009;66(9):1144-50.
12. Peterson JW, Bö L, Mörk S, et al. Transected neurites, apoptotic neurons, and reduced inflammation in cortical multiple sclerosis lesions. *Ann Neurol*. 2001;50(3):389-400.
13. Friese MA, Fugger L. T cells and microglia as drivers of multiple sclerosis pathology. *Brain*. 2007;130(Pt 11):2755-7.
14. Abbas AK, Murphy KM, Sher A. Functional diversity of helper T lymphocytes. *Nature*. 1996. 383(6603):787-93.
15. Murphy KM, Reiner SL. The lineage decisions of helper T cells. *Nat Rev Immunol*. 2002;2(12): 933-44.
16. Sung WS, Chen YY, Dubey A, Hunn A. Spontaneous regression of syringomyelia--review of the current aetiological theories and implications for surgery. *J Clin Neurosci*. 2008. 15(10):1185-8.
17. Johnson AJ, Suidan GL, McDole J, Pirko I. The CD8 T cell in multiple sclerosis: suppressor cell or mediator of neuropathology? *Int Rev Neurobiol*. 2007;79:73-97.
18. Johnson AJ, Mendez-Fernandez Y, Moyer AM, et al. Antigen-specific CD8+ T cells mediate a peptide-induced fatal syndrome. *J Immunol*. 2005;174(11):6854-62.
19. Sakaguchi S, Ono M, Setoguchi R, et al. Foxp3+ CD25+ CD4+ natural regulatory T cells in dominant self-tolerance and autoimmune disease. *Immunol Rev*. 2006;212:8-27.
20. Vigiotta V, Baecher-Allan C, Weiner HL, Hafler DA. Loss of functional suppression by CD4+CD25+ regulatory T cells in patients with multiple sclerosis. *J Exp Med*. 2004;199(7):971-9.
21. Hauser SL, Waubant E, Arnold DL, et al. B-cell depletion with rituximab in relapsing-remitting multiple sclerosis. *N Engl J Med*. 2008;358(7):676-88.
22. Krumbholz M, Derfuss T, Hohlfeld R, Meinl E. B cells and antibodies in multiple sclerosis pathogenesis and therapy. *Nat Rev Neurol*. 2012; 8(11):613-23.
23. van der Valk P, Amor S. Preactive lesions in multiple sclerosis. *Curr Opin Neurol*. 2009;22(3): 207-13.
24. van Noort JM, van den Elsen PJ, van Horssen J, et al. Preactive multiple sclerosis lesions offer novel clues for neuroprotective therapeutic strategies. *CNS Neurol Disord Drug Targets*. 2011; 10(1):68-81.
25. Biswas SK, Mantovani A. Macrophage plasticity and interaction with lymphocyte subsets: cancer as a paradigm. *Nat Immunol*. 2010;11(10):889-96.
26. Miron VE, Franklin RJ. Macrophages and CNS remyelination. *J Neurochem*. 2014;130(2):165-71.
27. Metz I, Weigand SD, Popescu BF, et al. Pathologic heterogeneity persists in early active multiple sclerosis lesions. *Ann Neurol* 2014;75(5):728-38.
28. Bitsch A, Kuhlmann T, Da Costa C, et al. Tumour necrosis factor alpha mRNA expression in early multiple sclerosis lesions: correlation with demyelinating activity and oligodendrocyte pathology. *Glia*. 2000;29(4):366-75.
29. Selmaj K, Raine CS, Cannella B, Brosnan CF. Identification of lymphotoxin and tumor necrosis factor in multiple sclerosis lesions. *J Clin Invest*. 1991;87(3):949-54.
30. Hofman FM, Hinton DR, Johnson K, Merrill JE. Tumor necrosis factor identified in multiple sclerosis brain. *J Exp Med*. 1989;170(2):607-12.
31. Genain CP, Cannella B, Hauser SL, Raine CS. Identification of autoantibodies associated with myelin damage in multiple sclerosis. *Nat Med*. 1999;5(2):170-5.
32. Fischer MT, Sharma R, Lim JL, et al. NADPH oxidase expression in active multiple sclerosis lesions in relation to oxidative tissue damage and mitochondrial injury. *Brain*. 2012;135(Pt 3):886-99.
33. Ludwin SK, Maitland M. Long-term remyelination fails to reconstitute normal thickness of central myelin sheaths. *J Neurol Sci*. 1984;64(2):193-8.
34. Patrikios P, Stadelmann C, Kutzelnigg A, et al. Remyelination is extensive in a subset of multiple sclerosis patients. *Brain*. 2006;129(Pt 12):3165-72.
35. Peruzzotti-Jametti L, Donegá M, Giusto E, et al. The role of the immune system in central nervous system plasticity after acute injury. *Neuroscience*. 2014;283:210-221.
36. Franklin RJ, Gallo V. The translational biology of remyelination: past, present, and future. *Glia*. 2014;62(11):1905-15.
37. Calabrese M, Gallo P. Magnetic resonance evidence of cortical onset of multiple sclerosis. *Mult Scler*. 2009;15(8):933-41.
38. Popescu BF, Bunyan RF, Parisi JE, et al. A case of multiple sclerosis presenting with inflammatory cortical demyelination. *Neurology*. 2011;76 (20):1705-10.
39. Bö L, Geurts JJ, van der Valk P, et al. Lack of correlation between cortical demyelination and white matter pathologic changes in multiple sclerosis. *Arch Neurol*. 2007;64(1):76-80.
40. Choi SR, Howell OW, Carassiti D, et al. Meningeal inflammation plays a role in the pathology of primary progressive multiple sclerosis. *Brain*. 2012;135(Pt 10):2925-37.
41. Trapp BD, Stys PK. Virtual hypoxia and chronic necrosis of demyelinated axons in multiple sclerosis. *Lancet Neurol*. 2009;8(3):280-91.
42. Lassmann H. Hypoxia-like tissue injury as a component of multiple sclerosis lesions. *J Neurol Sci*. 2003; 206(2):187-91.
43. Nave KA, Trapp BD. Axon-glial signaling and the glial support of axon function. *Annu Rev Neurosci*. 2008;31:535-61.
44. Matute C, Alberdi E, Domercq M, et al. The link between excitotoxic oligodendroglial death and demyelinating diseases. *Trends Neurosci* 2001;24(4):224-30.
45. Lassmann H. Cortical lesions in multiple sclerosis: inflammation versus neurodegeneration. *Brain*. 2012; 135(Pt 10):2904-5.
46. Perry VH, Nicoll JA, Holmes C. Microglia in neurodegenerative disease. *Nat Rev Neurol*. 2010;6(4):193-201.

Segreteria Organizzativa



MediMay Communication Srl
Via G. Antonelli, 47
00197 Roma
e-mail: info@medimay.it

Provider



MAPY Consulenza & Servizi Sas
Viale G. Matteotti, 1 - 50121 Firenze
e-mail: info@mapyformazione.it
Tel. 055 2342566, Fax 055 4641420

Con il supporto non condizionante di

