

Esclerosis múltiple

Antiguas observaciones, nuevas hipótesis, futuras perspectivas

Esclerosis múltiple (EM) es una enfermedad inflamatoria y desmielinizante del sistema nervioso central (SNC), cuya etiología ha sido atribuida clásicamente a un fenómeno autoinmune¹. Si bien afecta individuos de todas las edades, la mayor parte de los pacientes desarrollan los primeros síntomas de la enfermedad entre los 20 y 40 años. Aproximadamente 85% de los enfermos inicialmente experimentan un curso con brotes y remisiones (BR) caracterizado por la presencia de discapacidad neurológica reversible que se presenta en forma de múltiples episodios. Luego de aproximadamente 10 años de evolución de la enfermedad, un 50% de estos pacientes presentan gradual progresión de su discapacidad con síntomas neurológicos irreversibles. Esta forma clínica es llamada secundaria progresiva (SP).

La presencia de desmielinización e infiltrados perivasculares inflamatorios son los hallazgos histopatológicos más característicos de la EM. Sin embargo, la mayor parte de las lesiones contienen también variables grados de astrogliosis reactiva, actividad fagocítica, pérdida de oligodendrocitos (OL) y daño axonal. De manera adicional, existe una respuesta local de los progenitores de OL y, al menos en estadios iniciales, puede observarse cierto grado de remielinización². De esta forma, la histopatología de EM es compleja y algunas de sus características pueden variar en el tiempo en lesiones individuales.

El compromiso axonal en EM fue descrito desde los estudios anatomopatológicos de Charcot en el siglo XIX³. Sin embargo, en el pasado este hallazgo ha merecido sólo atención en el contexto de cuadros de marcada agresividad o bien como un componente de lesiones crónicas inactivas, en etapa avanzada de la enfermedad. Recientes estudios han jerarquizado el daño axonal como un importante y temprano componente en las lesiones de EM, sugiriendo que el compromiso axonal representa la principal causa de discapacidad irreversible en pacientes con EM⁴. El acumulo de la proteína precursora de amiloide (APP) ha sido demostrado en lesiones recientes de EM, así como en el borde de lesiones crónicas⁵. Dado que APP es detectada sólo en axones con compromiso del transporte axonal rápido, estos hallazgos proveen evidencia de una alteración en la función del axón, la cual se manifiesta dentro de lesiones inflamatorias. Estudios morfológicos subsecuentes utilizando microscopia confocal permitieron identificar y cuantificar en áreas de desmielinización la presencia de lesiones terminales axonales de formato ovoide características de transección axonal⁴. Estos estudios confirmaron que el fenómeno de daño axonal está presente en estadios tempranos de la enfermedad y que la densidad de axones dañados correlaciona con el grado de actividad inflamatoria de lesiones activas. De manera adicional, estudios anatomopatológicos *post-mortem* han mostrado evidencia de degeneración axonal en áreas de sustancia blanca que aparecen normales en estudios convencionales de resonancia magnética nuclear (RMN) o en exámenes histológicos de rutina utilizando tinciones con *luxol fast blue*⁶, posiblemente debido a un fenómeno de degeneración walleriana de las proyecciones axonales que han perdido el contacto con sus orígenes como consecuencia del proceso de transección.

*Este Editorial está basado en el trabajo que mereció el Premio Cossio entregado en el I Congreso Conjunto de Sociedades Biomédicas, Mar del Plata, 20 de noviembre de 2004.

Diferentes hipótesis procuran explicar el daño axonal en el curso de EM:

a) Dada la coincidencia con la aparición de fenómenos inflamatorios el daño axonal puede producirse como consecuencia de un proceso inespecífico mediado por la acción de citocinas, enzimas proteolíticas o radicales libres producidos por células activadas del sistema inmune o células gliales; b) Existencia de una respuesta inmune específica mediada por anticuerpos o células T CD8+, similar a la que se verifica contra componentes de la mielina⁷⁻⁸; c) Excitotoxicidad mediada por glutamato⁹; d) Pérdida de factores tróficos producidos por la vaina de mielina. A favor de esta última hipótesis es posible observar degeneración axonal en distintos modelos animales de afecciones desmielinizantes causadas por mutaciones en los genes de la mielina. De igual forma animales deficientes en MAG o PLP¹⁰ (dos componentes proteicos de la vaina de mielina) presentan degeneración axonal en ausencia de fenómenos inflamatorios y desmielinización primaria.

En base a estos hallazgos es posible que el daño axonal provea una razonable explicación para la irreversibilidad de la discapacidad neurológica observada en pacientes con formas a BR que evolucionan a una forma SP. A pesar de que la pérdida de axones es abundante en lesiones inflamatorias de EM, probablemente el daño axonal al comienzo de la enfermedad no resulte responsable de la discapacidad neurológica observada en pacientes con formas BR. Soportando esta posibilidad, en autopsias de pacientes con lesiones desmielinizantes compatibles con EM y sin historia previa de síntomas neurológicos es posible observar una marcada pérdida axonal. Probablemente la fase de BR de la enfermedad represente un período de acumulación silente de daño axonal, similar al observado en otras enfermedades neurodegenerativas como la enfermedad de Parkinson o la esclerosis lateral amiotrófica. En esta etapa la recuperación funcional puede resultar como consecuencia de diferentes mecanismos: a) Resolución del proceso inflamatorio; b) Remielinización; c) Redistribución de los canales de Na⁺ a lo largo de zonas desmielinizadas del axón; d) Fenómenos de reorganización cortical que compensen los déficits existentes. Así el proceso de déficit neurológico irreversible se puede desarrollar cuando la acumulación progresiva de pérdida axonal durante la fase de BR alcanza un cierto umbral o bien cuando los mecanismos de recuperación funcional no son más efectivos.

Estudios en modelos animales y el análisis molecular de tejidos de autopsia proveniente de pacientes con EM, sugieren que además de los procesos de desmielinización y daño axonal, alteraciones en la expresión de canales iónicos pueden producir injuria neuronal o bien interferir con la normal transmisión del impulso nervioso en EM. Una distribución ectópica de canales de Ca²⁺ tipo N ha sido recientemente descrita en la membrana del axón en encefalitis alérgica experimental (EAE), un modelo animal de EM, así como en lesiones desmielinizantes en EM¹¹. Esta anormal distribución de canales iónicos, la cual fue comparable con la acumulación de APP, puede determinar un incremento en los niveles intracelulares de Ca²⁺, con la consiguiente activación de proteasas Ca²⁺ dependientes, las cuales pueden contribuir a la destrucción del citoesqueleto y consecuentemente a la injuria axonal. En acuerdo con esta hipótesis el bloqueo farmacológico de canales de Ca²⁺ puede reducir el daño axonal en la degeneración inducida por anoxia¹².

De manera similar ha sido recientemente estudiada la distribución de canales de Na⁺ en lesiones desmielinizantes¹³. En la sustancia blanca normal los canales de Na_v 1.6 se encuentran confinados a los nodos de Ranvier. Por el contrario, en lesiones desmielinizantes se evidencia una expresión difusa de dos isoformas de canales de sodio, Na_v 1.2 y Na_v 1.6. De manera adicional, estudios inmunocitoquímicos han permitido evidenciar que la isoforma Na_v 1.6 colocaliza con el canal de intercambio Na⁺/Ca²⁺ en axones que expresan APP en EM. Estos hallazgos sugieren que el incremento en la expresión de los canales Na_v 1.6 puede inducir una corriente de Na⁺ persistente, la cual podría revertir el intercambio

$\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$, conduciendo a la acumulación intraaxonal de Ca^{2+} y a la consiguiente injuria del axón. En EAE bloqueantes de los canales de Na^+ presentan efectos protectores previniendo la degeneración del axón, manteniendo la conducción axonal y mejorando la evolución clínica de los animales afectados¹⁴. Una expresión aberrante de canales de $\text{Na}_v 1.8$ también ha sido descrita en células de Purkinje del cerebelo de pacientes con EM y roedores con EAE¹⁵. La expresión de estos canales de Na^+ en neuronas que normalmente carecen de ellos, modifica la duración y frecuencia de los potenciales de acción en respuesta a estímulos despolarizantes, sugiriendo un nuevo mecanismo molecular en este tipo de lesiones.

Si bien EM ha sido considerada clásicamente una enfermedad que afecta selectivamente la sustancia blanca, ha sido recientemente informada la presencia de desmielinización en la corteza cerebral y otras áreas de sustancia gris¹⁶. Numerosos axones que se originan o terminan en neuronas corticales se encuentran mielinizados y pueden afectarse durante el curso de la enfermedad. En comparación con lesiones de sustancia blanca, las lesiones corticales presentan una menor infiltración de células CD3+ y macrófagos. De manera adicional, las lesiones corticales exhiben extensa injuria neuronal representada por edema de neuritas, transección de dendritas y axones, así como un importante incremento en el número de neuronas apoptóticas en comparación con áreas de corteza mielinizada. Utilizando microscopia confocal y doble inmunomarcación es posible observar en estas lesiones una estrecha asociación entre células de la microglia y neuronas o dendritas, sugiriendo que en las lesiones corticales en EM, al igual que en otras afecciones como la enfermedad de Alzheimer, la activación de la microglia desempeña un importante papel en los fenómenos de pérdida neuronal. El compromiso de la corteza motora y sensitiva puede contribuir significativamente al deterioro funcional de los pacientes con EM. De manera adicional, en 40-65% de los pacientes con EM ha sido referido compromiso cognitivo representado por trastornos de memoria, aprendizaje y procesamiento de la información. Clásicamente estos déficits han sido atribuidos a lesiones subcorticales de la sustancia blanca. La evidencia actual de lesiones corticales en estos pacientes provee una explicación adicional para este tipo de alteraciones.

EM es una enfermedad marcadamente heterogénea en relación a su curso clínico, apariencia radiológica de las lesiones, susceptibilidad genética y respuesta terapéutica. Estudios realizados en tejidos provenientes de biopsias o necropsias de pacientes con EM revelan también una marcada heterogeneidad anatomopatológica¹⁷. Así, se han descrito cuatro patrones diferentes de desmielinización: los patrones I y II presentan pérdida de mielina con infiltración perivascular, constituida por macrófagos y células T, con relativa preservación de OL y remielinización. El patrón II es particularmente caracterizado por depósitos de IgG y complemento activado. Los patrones III y IV muestran importante daño y muerte de OL, con escasa evidencia de remielinización. Los infiltrados inflamatorios en estos casos son dominados por linfocitos T, macrófagos y células microgliales, pero las placas de desmielinización no se distribuyen alrededor de estructuras vasculares. Estos últimos 2 patrones son sugestivos de una oligodendropatía inicial con subsecuente desmielinización, reminiscente de desmielinización inducida por tóxicos o infecciones virales, más que de un proceso autoinmune. Si bien los patrones de desmielinización son heterogéneos entre diferentes pacientes, han sido homogéneos cuando se analizaron diferentes lesiones en un mismo enfermo. Es importante notar que ninguno de los casos analizados en este estudio representa una fase temprana de la enfermedad. La duración media del curso clínico antes de llegar a la biopsia fue de 9 meses, un período de tiempo prolongado si se tiene en consideración que la fase aguda de EAE ocurre 10 a 14 días después de la inducción. Contrariamente, recientes estudios evaluaron los cambios anatomopatológicos presentes en lesiones desarrolladas durante los 2-3 primeros días de una exacerbación¹⁸. Los cambios iniciales observados en las lesiones examinadas en este estudio fueron una diseminada apoptosis de OL en tejidos que exhibieron mínima infiltración

inflamatoria y fagocitosis de mielina. La muerte de OL causa una serie de modificaciones tisulares que desencadenan la respuesta inflamatoria. Así surge la posibilidad de que la respuesta inflamatoria, pueda ser secundaria a un proceso infeccioso o degenerativo primario de injuria tisular. La misma puede desencadenarse como parte de una cascada de eventos inmunes adaptativos, que representan un componente crítico en los mecanismos de reparación tisular.

Estudios recientes han demostrado la existencia de mecanismos innatos de reparación del SNC luego de la injuria¹⁹⁻²⁰. Estos mecanismos no sólo se activan durante el curso de fenómenos inflamatorios o degenerativos, sino también se hallan presentes en sujetos sanos con la finalidad de mantener la homeostasis tisular e inducir un programa de auto-reparación. Estas observaciones soportan la hipótesis de que afecciones inflamatorias crónicas o degenerativas pueden resultar por alteraciones en los mecanismos de protección y reparación, y no exclusivamente por la existencia de eventos patogénicos incontrolables. Fallas en los mecanismos de reparación pueden deberse a diversos procesos: a) Disminución de la eficacia como consecuencia del envejecimiento. Así los mecanismos de remielinización y crecimiento axonal son más efectivos en animales jóvenes; b) La enfermedad por sí misma puede afectar los mecanismos de reparación. Por ejemplo, las lesiones periventriculares observadas en EM pueden comprometer las áreas donde las células madres neuronales se ubican preferencialmente; c) Expresión aberrante y no coordinada de diferentes mecanismos de reparación que pueden interferir entre sí, disminuyendo el grado final de eficacia.

Resultados de estudios en EAE y pacientes con EM indican que las mismas moléculas o células que pueden ejercer un efecto deletéreo durante el curso de la enfermedad pueden también ejercer un rol neuroprotector, promoviendo la reparación y limitando la dispersión del daño²¹. Así por ejemplo: a) Células T encefalitogénicas pueden producir citocinas pro-inflamatorias mielinotóxicas, pero también factores neurotróficos como BDNF, NGF, o neurotrofinas 3 y 4/5, capaces de promover la proliferación y diferenciación de neuronas o células gliales; b) TNF- α , una citocina pro-inflamatoria, es mielinotóxica a través de la estimulación del receptor de TNF- α tipo I, pero también promueve mielinogénesis vía estimulación del receptor de TNF- α tipo II; c) Anticuerpos contra proteínas de la mielina pueden inducir desmielinización pero también estimular la proliferación de OL; d) Macrófagos y células microgliales participan en la destrucción de mielina actuando como efectores finales en el fenómeno de desmielinización autoinmune, pero también pueden promover remielinización a través de la fagocitosis de residuos de mielina y la secreción de citocinas anti-inflamatorias; e) IFN- γ , el prototipo de citocina pro-inflamatoria, promueve el reclutamiento de células T autorreactivas, pero también contribuye a la resolución del proceso inflamatorio induciendo la apoptosis de células T encefalitogénicas. El hecho de que bajo ciertas circunstancias los fenómenos inflamatorios puedan ser beneficiosos en la reparación del SNC, puede explicar, al menos en parte, algunos de los resultados negativos evidenciados con drogas anti-inflamatorias o inmunomoduladoras utilizadas durante el curso de enfermedades neurológicas.

Gracias a los avances en los estudios de imágenes y anatomopatológicos la historia evolutiva de la EM es actualmente mejor conocida. La presencia inicial de lesiones inflamatorias con ruptura de la barrera hemato-encefálica es evidenciada en RMN a través de lesiones que refuerzan con Gadolinium (Gd) en T1. Cada una de estas lesiones se resuelven en el término de 4-6 semanas dejando como evidencias lesiones hiperintensas demostrables en T2, las cuales se incrementan en el tiempo en aproximadamente 10% por año. Diversos estudios han demostrado que la mayor parte de estas lesiones que refuerzan son asintomáticas, y que por lo tanto el número de lesiones Gd+ exceden notablemente el número de recidivas clínicas. Por lo tanto existe un proceso patológicamente activo cuando la enfermedad se valora a través de estudios seriales de RM, a pesar de que el paciente se encuentra clínicamente estable. La persistencia de un proceso inflamatorio subclínico se encuentra asociada a un daño axonal

precoz el cual se pone de manifiesto en estudios de espectroscopia a través de la reducción de N-acetil aspartato (NAA). De manera similar a la pérdida axonal, es posible observar en pacientes con EM progresión de atrofia encefálica y espinal, la cual puede igualmente manifestarse en etapas tempranas de la enfermedad y en pacientes con leve a moderada discapacidad. Esta visión progresiva de la enfermedad tiene importantes implicancias terapéuticas. El uso de drogas inmunomoduladoras es progresivamente menos efectivo a medida que la enfermedad progresa, debido a que los mecanismos etiopatogénicos se modifican: al inicio predominan los procesos inflamatorios, mientras que en estadios avanzados hay una mayor contribución del proceso neurodegenerativo. El importante rol que desempeña la pérdida axonal en el fenómeno de progresión de la enfermedad sugiere que terapias neuroprotectoras, deberán ser consideradas para ser incluidas en el tratamiento de estos pacientes²². Sin duda, el uso de drogas capaces de regular la respuesta inmune combinadas con fármacos neuroprotectores o que promuevan el proceso de remielinización, representan alternativas de tratamiento futuras cuya eficacia requiere ser evaluada en pacientes con EM. Finalmente, el desarrollo de estrategias de tratamiento en EM deberá tener en cuenta el concepto de que "autorreactividad" no necesariamente significa patología. Por el contrario, células autorreactivas son parte del repertorio de un sistema inmune sano, y pueden ejercer funciones protectoras^{19, 21}. Conforme a ello, en el futuro se deberán cambiar los tratamientos inmunosupresores pasivos que eliminan células reguladoras, por tratamientos que activamente sean capaces de inducir nuevamente tolerancia específica.

Jorge Correale

Instituto de Investigaciones Neurológicas

Dr. Raúl Carrea, FLENI

Montañeses 2325, 1428, Buenos Aires

jcorreale@fleni.org.ar

- Martin R, McFarland HF. Immunological aspects of experimental allergic encephalomyelitis and multiple sclerosis. *Crit Rev Lab Sci* 1995; 32: 121-82.
- Lassmann H. Pathology of Multiple Sclerosis. In: Compston A, Ebers G, Lassmann H, McDonald I, Matthews B, and Wekerle H (eds). *McAlpine's Multiple Sclerosis*. London: Churchill Livingstone, 1998, p 323-58.
- Charcot M. Histologie de le sclerose en plaques. *Gaz Hop* 1868; 141: 554-8.
- Trapp BD, Peterson J, Ransohoff EM, Rudick RA, Mörk S, Bö L. Axonal transection in the lesions of Multiple Sclerosis. *N Engl J Med* 1998; 338: 278-85.
- Ferguson B, Matyszak MK, Esiri MM, Perry VH. Axonal damage in acute multiple sclerosis. *Brain* 1997; 120: 393-9.
- Evangelou N, Esiri MM, Smith S, Palace J, Matthews PM. Quantitative pathological evidence of axonal loss in normal appearing white matter in Multiple Sclerosis. *Ann Neurol* 2000; 47: 391-5.
- Silber E, Semra YK, Gregson NA, Sharief MK. Patient with progressive multiple sclerosis have elevated antibodies to neurofilament subunit. *Neurology* 2002; 58: 1372-81.
- Neumann H, Medana IM, Bauer J, Lassmann H. Cytotoxic T lymphocytes in autoimmune and degenerative CNS diseases. *Trends Neurosci* 2002; 25: 313-9.
- Pitt D, Werner P, Raine CS. Glutamate excitotoxicity in a model of multiple sclerosis. *Nat Med* 2000; 6: 67-70.
- Griffiths I, Klugmann M, Anderson T, et al. Axonal swelling and degeneration in mice lacking the major proteolipid of myelin. *Science* 1998; 280: 1610-3
- Kornek B, Storch MK, Bauer J, et al. Distribution of a calcium channel subunit in dystrophic axons in multiple sclerosis and experimental autoimmune encephalomyelitis. *Brain* 2001; 124: 1114-24.
- Fern R, Ransom BR, Waxman SG. Voltage-gated calcium channels in CNS white matter: role in anoxic injury. *J Neurophysiol* 1995; 74: 369-78.
- Cramer MJ, Newcombe J, Black JA, Hartle C, Cuzner ML, Waxman SG. Molecular changes in neurons in multiple sclerosis: Altered axonal expression of Na_v 1.2 and Na_v 1.6 sodium channels and Na⁺/Ca²⁺ exchanger. *Proc Natl Acad Sci* 2004; 101: 8168-73.
- Lo AC, Saab CY, Black JA, Waxman SG. Phenytoin protects spinal cord axons and preserves axonal conduction and neurological function in a model of neuroinflammation in vivo. *J Neurophysiol* 2003; 90: 3566-71.
- Black JA, Dib-Hajj S, Baker D, Newcombe J, Cuzner ML, Waxman SG. Sensory neuron specific sodium channel SNS is abnormally expressed in the brains of mice with experimental allergic encephalomyelitis and humans

- with multiple sclerosis. *Proc Natl Acad Sci* 2000; 97: 11598-602.
16. Peterson JW, Bö L, Mörk S, Cahng A, Trapp BD. Transected neuritis, apoptotic neurons and reduced inflammation in cortical multiple sclerosis lesions. *Ann Neurol* 2001; 50: 389-400.
 17. Lucchinetti C, Brück W, Parisi J, Scheithauer B, Rodriguez M, Lassmann H. Heterogeneity of Multiple Sclerosis: Implications for the pathogenesis of demyelination. *Ann Neurol* 2000; 47: 707-17.
 18. Barnett MH, Prineas JW. Relapsing and remitting Multiple Sclerosis: Pathology of the newly forming lesions. *Ann Neurol* 2004; 55: 458-68.
 19. Kerschensteiner M, Stadelmann C, Dechant G, Wekerle H, Hohlfeld R. Neurotrophic cross-talk between the nervous and immune systems: implications for neurological diseases. *Ann Neurol* 2003; 53: 292-304.
 20. Lie DC, Song H, Colamarino SA, Ming GL, Gage FH. Neurogenesis in the adult brain: new strategies for central nervous system diseases. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 2004; 44: 399-421.
 21. Correale J, Villa A. The neuroprotective role of inflammation in nervous system injuries. *J Neurol* 2004; 251: 1304-16.
 22. Webster HF. Growth factors, lesion repair and myelin regeneration. In: Kappos L, Johnson K, Kesselring J and Radü EW (eds). *Multiple Sclerosis. Tissue destruction and repair*. London: Martin Dunitz, 2001, pp 33-40.

Chi non sa circoscrivere, non può produrre. La facoltà della produzione è scarsa o nulla in quell'ingegno, dove le altre facoltà sono troppo vaste e soprabbondano. (3 Febbraio 1829).

Quien no sabe circunscribir, no puede producir. La facultad de producir es poca o nula en aquel ingenio donde las otras facultades son demasiado vastas y sobreabundan. (3 de febrero de 1829).

Giacomo Leopardi (1798-1837)

Zibaldone di pensieri. Scelta a cura di Anna Maria Moroni. Milano: Mondadori, 1937.

I edizione Oscar classici febbraio 1983, volume secondo, p 1169