

HETEROGENITATEA RĂSPUNSULUI IMUN ȘI EVOLUȚIA CLINICĂ A PACIENȚILOR CU SCLEROZĂ MULTIPLĂ TRATAȚI PESTE O DECADEĂ CU INTERFERON BETA

Student doctorand: Bărcuțean Laura Iulia

Coordonator de doctorat: Prof. Univ. Dr. Bălașa Rodica

Scleroza multiplă (SM) este una dintre cele mai frecvente boli neurologice ce reprezintă o cauză majoră de invaliditate non-traumatică a adultului tânăr. Este o patologie cronică, inflamatorie, imun-mediată și degenerativă a SNC ce combină mecanisme complexe ale inițierii și întreținerii fenomenelor de demielinizare axonală cu fenomene neurodegenerative la nivelul parenchimului cerebral și măduvei spinării.

Etiologia sa multifactorială este și în zilele noastre subiectul a numeroase cercetări. Până la ora actuală, doar trei factori au fost presupuși direct incriminați în riscul de a dezvolta SM: seropozitivitatea pentru virusul Ebstein Barr, istoricul de mononucleoză infecțioasă și fumatul. Acești factori, împreună cu nivelul seric scăzut al vitaminei D pe fondul unui teren genetic susceptibil pot fi cheia declanșării răspunsurilor imune responsabile de mecanismele inflamatorii și degenerative.

Asocierea proceselor inflamatorii și neurodegenerative reprezintă baza fiziopatologiei SM. Astfel, inflamația precoce ce reprezintă factorul declanșator al evenimentelor demielinizante stă la baza versantului inflamator ce evoluează invers proporțional cu neurodegenerarea, independent. Grație studiilor lui Compston (2006) și Leray (2010), evoluția fiziopatologică recunoaște două stadii: primul, ce precoce, dependent de inflamație focală și cel de-al doilea, tardiv, dependent de inflamație reziduală și neurodegenerare, independent de precursorul. Numeroase controverse există totuși la ora actuală cu privire la relația dintre acestea. Ipoteza outside – in stipulează faptul că inflamația este procesul ce antrenează toate mecanismele distrucției neuronale prin activarea periferică a limfocitelor T și pătrunderea acestora în SNC, respectiv ipoteza inside – out, unde procesele neurodegenerative sunt pivotale la debut și sunt întreținute prin acțiunea mecanismelor inflamatorii. Elementele suportive pentru ipoteza inside-out se regăsesc în studii asupra efectelor terapiilor imunomodulatoare ce își dovedesc eficiența în faza inflamatorie, activă a SM, cu efecte modeste sau nule în faza progresivă.

Imunopatogenia SM este rezultatul complex al imunității înnăscute și a imunității adaptative. Agenții imunității înnăscute sunt reprezentați de celulele dendritice (CD), celulele NK (Natural Killer) și populația de celule rezidente macrofage a SNC. Imunitatea dobândită este mediată prin intermediul celulelor T CD4+ și CD8+, respectiv prin expresia limfocitelor B. Activarea și diferențierea specifică a limfocitelor T naive este coordonată la periferie către activitatea celulelor dendritice (CD), celule prezentatoare de antigeni (CPA). Acestea se întâlnesc în mod tipic la nivelul tegumentelor și în alte zone ce se află în contact cu mediul extern, cu funcție de preluare a antigenilor, ulterior transport către ganglionii limfatici. La acest nivel, vor lua contact cu limfocitele T naive și vor promova imunitatea antigen-specifică, sau contrar, toleranța imună. Limfocitele T naive, în urma activării periferice, sub influența factorilor de transcripție sub influența unei game variate de citokine, se vor diferenția în celule T efectoare: Th1 rol proinflamator, Th2 rol antiinflamator și Th17 rol proinflamator, cu rol în identificarea și asanarea agentului patogen recunoscut ca și non-self, respectiv în celule T reglatoare (Treg), cu rol în medierea discriminării self/non-self. Cronologic, primul eveniment este reprezentat de activarea periferică a limfocitelor T, la nivelul țesuturilor limfoide, sub influența CPA. Susceptibilitatea celulelor limfoide de a reacționa la antigenii prezentați este mediată de timus, prin selecția negativă a celulelor T puternic autoreactive, în vederea prevenirii procesului de autoimunizare. Însă o categorie separată de celule T a fost descrisă la indivizii predispuși să dezvolte SM ca fiind mai sensibilă în fața reacției încrucișate cu antigenii mielinici, fapt ce îi conferă un înalt potențial proinflamator.

În urma activării, limfocitele TCD4+ vor părăsi ganglionii limfatici, vor intra în circulația sanguină iar la nivelul SNC vor traversa (BHE). Țesutul cerebral este privilegiat de acțiunea sistemului imun, însă în SM, limfocitele T activate vor pătrunde în parenchimul cerebral prin alterarea funcției BHE. Acestea se vor alinia adiacent BHE și vor secreta citokine proinflamatorii precum IFN γ și TNF α , ce vor stimula expresia moleculelor de adeziune ICAM-1 și VCAM-1, urmând a traversa joncțiunile strânse dintre celulele endoteliale adiacente capilarelor sanguine, prin modularea proteinelor componente. Ultimul obstacol este reprezentat de glia limitans, bariera formată dintr-o membrană bazală și prelungiri astrocitare. La nivelul SNC, limfocitele vor fi reactivate de către CPA locale și, prin secreția de citokine proinflamatorii (IFN γ , IL-17, TNF α) vor activa microglia, perpetuând permeabilizarea BHE și recrutarea altor celule inflamatorii, precum celulele NK și limfocite B. Rezultatul va fi un proces inflamator complex,

rezultat al interacțiunii dintre citokine, anticorpi, proteaze (ex. MMP-9), mediatori toxici precum SRO și glutamat, ce vor duce la inițierea proceselor de demielinizare.

Abordarea farmacologică a SM recunoaște trei planuri congruente: tratamentul recurențelor, tratamentul simptomatic și tratamentul imunomodulator. Interferonul beta-1b (IFNβ1b) a fost primul tratament imunomodulator aprobat de către pentru tratamentul SM formă RR în 1993, în urma unui studiu dublu-orb, placebo controlat asupra a 372 pacienți cu SMRR ce au beneficiat de tratament injectabil subcutanat cu IFNβ1b 50mcg la fiecare două zile, IFNβ1b 250mcg zilnic sau placebo. Eficiența sa dovedită asupra progresiei dizabilității, a ratei recurențelor și a evoluției pacienților a fost de necontestat, urmând a fi aprobat în 1999 și pentru tratamentul SMSP.

Mecanismul de acțiune al IFNβ în SM nu a fost complet elucidat. Prin reducerea numărului CD mieloide de la nivelul sângelui periferic, precum și prin scăderea producției de IFNγ, scade activitatea CPA ce consecutiv inhibă activarea limfocitelor T. Inhibiția MHC II la periferie, prin modularea moleculelor costimulatorii precum CD80 și CD28 de la nivelul CPA, scade capacitatea de activare periferică a limfocitelor T. Unul dintre cele mai importante efecte indirecte se regăsește la nivel umoral, prin inhibiția citokinelor proinflamatorii și stimularea citokinelor antiinflamatorii, modulând răspunsul imun de la un Th1 spre un Th2. Numeroase studii s-au centrat asupra efectelor în vitro și în vivo a IFNβ. Studiile în vitro au demonstrat că IFNβ, prin modularea CD, a limfocitelor B și T, previne diferențierea spre linia puternic pro-inflamatorie Th17 prin inhibiția directă a citokinelor IL-1β, IL-23 și TGF-β și promovează concomitent secreția de citokine antiinflamatorii precum IL-27 și IL-10. Nivelurile serice crescute ale IL-17 s-au corelat cu un răspuns suboptim la terapia cu IFNβ.

Având în vedere heterogenitatea răspunsului imun al pacienților cu SM precum și mecanismele intricate ale inflamației și demielinizării, studiul de față și-a propus identificarea caracteristicilor clinice și imunologice ale pacienților cu SM tratați o perioadă mai lungă de 10 ani cu IFNβ1b.

Primul studiu a abordat corelațiile dintre nivelurile serice ale citokinelor pro și antiinflamatorii cu aspectele clinice ale pacienților: durata dizabilității, EDSS, rata anuală a recurențelor (RAR) respectiv identificarea particularităților bazate pe sexe, în scopul evaluării posibilității ca acești biomarkeri să poată fi utilizați pe viitor ca și biomarkeri ai răspunsului la tratament. Astfel am inclus 70 de pacienți diagnosticați cu SM ce au urmat tratament peste 10 ani cu IFNβ1b în cadrul Centrului Regional de Scleroză Multiplă din Târgu Mureș, Clinica Neurologie 1, ce au fost evaluați clinic neurologic și paraclinic pe baza unui panel pre-mixat pentru 15 citokine, Bioplex Pro Human Th17 Cytokine Panel, prin metoda de testare multiplex xMAP.

Concluziile primului studiu întăresc indicația de a administra IFNβ1b la pacienții cu evoluție clinică favorabilă, scăzând semnificativ RAR. Citokinele majore implicate în patogeneza SM, IL-10 și IL-17F nu au dovedit corelații semnificative majore, datorită faptului că acestea sunt exprimate în stadiile inițiale ale bolii. Nivelurile serice de TNFα indică un risc mai crescut de acumulare al dizabilității iar IL-6 își dovedește activ rolul inflamator, fiind îndeaproape corelată cu RAR.

Un aspect interesant a fost descoperirea co-modulării dintre sCD40L și IL-31 a deschis porțile unor noi ipoteze ale cercetării. Interrelația dintre aceste două citokine, sCD40L cu proprietăți proinflamatorii și IL-31, cu rol presupus antiinflamator a mai fost descrisă o singură dată în literatură de către Guerrero-Garcia et al (2018), când s-a propus posibilitatea utilizării nivelurilor serice reduse ale IL-31 ca și biomarkeri favorabili la pacienții sub tratament imunomodulator. Această co-modulare a fost descrisă la pacienții cu formă RR, în timp ce în studiul nostru s-a dovedit a exista și la pacienții cu formă SP.

Diferențele răspunsului imun pe sexe ale pacienților cu SM sunt de importanța actuală. Astfel, în urma analizei profilului imun, am observat faptul că TNFα este un marker al inflamației exprimat atât la populația de sex feminin, cât și de sex masculin. Pentru sexul feminin, biomarkeri cu o specificitate mai mare pot fi IL-17F și TNFα, iar pentru sexul masculin IL-6 și TNFα. IL-25, datorită polimorfismului său dependent de secvențele exonice poate reprezenta un indicator al neurodegenerării la pacienții de sex masculin.

Cea de-a doua parte a tezei prezente și-a propus identificarea caracterelor clinice ale pacienților și aprecierea dizabilității precum și a factorilor de prognostic pozitiv/negativ, respectiv cercetarea conceptului de SM benignă (SM-B) prin prisma unui lot de pacienți ce prezintă un scor de dizabilitate minim după mai mult de 10 ani de evoluție. Aceștia din urmă au fost evaluați pe baza profilului serologic, al capacității ambulatorii: testul T25FW ce cuantifică viteza de deplasare, cogniția: Symbol Digit Modalities Test și depresia, respectiv anxietatea prin intermediul chestionarului Hamilton.

Astfel, am dovedit reducerea acumulării dizabilității în urma menținerii terapiei cu IFN β 1b pe o perioadă lungă de timp. Vârsta tânără la debut (30ani) a fost un indicator de prognostic favorabil respectiv inițierea tratamentului la vârste tinere este recomandată prin prisma profitării de conceptul de fereastră optimă terapeutică. IFN β 1b nu influențează în mod direct progresia în faza SP a bolii însă reduce persistența activității inflamatorii (RAR) cu efecte benefice asupra acumulării de dizabilitate. Debutul prin simptome motorii este asociat cu o progresie mai drastică a dizabilității, în timp ce debutul prin simptome din partea TC se asociază cu o evoluție mai bună.

Pacienții din lotul cu formă presupusă SM-B au prezentat următorii indicatori favorabili: sexul feminin, vârsta mai tânără la debut, debut prin simptome senzitive, nevrită optică sau afectarea trunchiului cerebral, prin diplopie. La acești pacienți s-au identificat corelații pozitive între IL-17 și IL-10 ce sugerează persistența activității inflamatorii dar cu niveluri serice suficiente de IL-10 ce pot indica ori un răspuns ideal la terapia cu IFN β 1b, ori un substrat imunopatogen aparte. Asocierea pozitivă dintre IL-10 și durata bolii sugerează pe de altă parte că pacienții incluși sunt responderi ideali ai terapiei cu IFN β 1b sau contrar, nivele bazale serice ridicate de IL-10 ce au favorizat evoluția benignă a bolii. IL-6 își menține specificitatea, fiind corelată pozitiv cu RAR. Analiza cogniției prin SDMT poate demasca prezența precoce a declinului cognitiv, însă studii suplimentare sunt necesare pentru standardizarea valorilor testelor și urmărirea în evoluție.

Unicitatea lotului studiat stă în posibilitatea de urmărire actuală a acestor pacienți și un număr important de studii ce includ criterii imagistice, biologice și serologice ce se află în desfășurare nu numai la nivel internațional, dar și în centrul nostru. Disponibilitatea biomarkerilor clinici este în curs de completare cu markeri ai inflamației, subiectul primei părți a acestei lucrări, însă adevărata provocare este reprezentată de identificarea markerilor de neurodegenerare și progresie.

Lucrarea de față, la ora actuală, este printre puținele studii din literatură ce îmbină profilul imun împreună cu caracteristicile clinice ale pacienților cu o evoluție lungă a bolii, tratați cu IFN β 1b pe o perioadă mai lungă de 10 ani. Rezultatele aduc informații practice care pot fi utilizate de către clinicianul neurolog în practica cotidiană și deschid porțile numeroaselor oportunități de cercetare nu doar asupra profilului imun influențat de imunomodulatoare, dar și asupra perspectivei cursului clinic al pacienților.

Recunoașterea mecanismelor implicate și aplicarea lor la nivel individual reprezintă viitorul tratamentelor moderne personalizate ale SM.