

CAPÍTULO 6

INMUNOPATOGENIA DE LA ESCLEROSIS MÚLTIPLE

CAMILO ARRIAGADA R., JORGE NOGALES-GAETE y ENRIQUE TERRA F.

INTRODUCCIÓN

El principal escollo al analizar la inmunopatogenia de la Esclerosis Múltiple (EM) es el desconocimiento de su etiología^{1, 4, 52, 54, 65, 72, 73, 103, 104}. El análisis epidemiológico^{26, 106} considerando la distribución geográfica, los estudios de migración de áreas de baja a alta prevalencia o viceversa, de ciertos acúmulos o epidemias de casos y de los estudios de gemelos univitelinos, bivitelinos, hermanos y parientes en general, ha llevado a la hipótesis de un agente exógeno transmisible, adquirido tempranamente en la vida de las personas predispuestas.

La posibilidad de un virus ha sido planteada desde los tiempos de Marburg⁶⁸, pero la búsqueda de agentes específicos ha sido infructuosa⁴⁹. La eventual relación de la enfermedad con infecciones virales ha sido estudiada por Ehrlich²⁷, Johnson⁴⁹, Ransohoff¹⁰⁰, Rodríguez¹⁰⁴, Sanders y Tourtellotte¹⁰⁷, Ter Meulen¹¹⁴. Carrigan et al¹⁹ describieron un caso de EM aguda por infección por herpes 6 y el hallazgo de antígenos de ese virus en oligodendrocitos ha sido reiterado¹¹⁰. Cuando recién se iniciaban las investigaciones de ultraestructura en EM⁹⁹ se comunicaron observaciones de macrófagos con inclusiones membranosas (revisadas en⁷⁸), que fueron interpretadas como paramixovirus. El análisis ulterior demostró^{94, 95} que se trataba de fragmentos fago-

citados de membrana mielínica o alteraciones inespecíficas de la cromatina⁷⁸. Surgió entonces, la posibilidad alternativa de relación inespecífica de la enfermedad con diversas infecciones virales, fundamentada⁸⁵ en la frecuente asociación de virosis respiratorias altas precediendo la aparición de brotes y la demostración de antígenos virales diversos en diferentes placas. Se postuló sobre esa base la hipótesis que los virus desencadenaban una reacción de sensibilización^{98, 100} en personas predispuestas. Se supuso^{7, 45, 48, 103, 110} que la interacción virus - sistema inmune liberaba péptidos con mimetismo molecular u homologías con estructuras del sistema nervioso central (SNC) y con las vainas mielínicas en particular y que esto gatillaba, en algunas personas, una reacción inmune de sensibilización. Las bases de la predisposición no han sido individualizadas a ciencia cierta, pero están relacionadas a una inmunorreactividad peculiar, a la que se quiere delimitar^{25, 110, 134, 135} por ciertos tipos de antígenos de histocompatibilidad HLA, relacionados con los complejos mayores de histocompatibilidad (MHC), el receptor de la célula T y la aptitud de los linfocitos⁶⁹ para producir ciertas citoquinas. La aceptación de estas formulaciones no ha sido unánime y Stewart¹¹¹ sostenía en 1983 que esos HLA probablemente marcan sólo la vecindad de uno o varios genes de predisposición aún no definidos.

MODELOS EXPERIMENTALES

La aparición de encefalomiелitis como una complicación de la vacuna antirrábica (preparada originalmente por pasaje del virus al tejido nervioso), promovió una fecunda serie de investigaciones. Rivers (citado por ⁵⁶) pudo demostrar que la enfermedad podía ser reproducida en animales de laboratorio con inyección de tejido nervioso absolutamente libre de virus y a esta entidad se le denominó encefalitis alérgica experimental (EAE). Correspondió a Freund (citado por ⁹⁵) demostrar que la adición de macerados de bacilos de Koch o de BCG (el adyuvante de Freund) al inóculo del SNC, permitía obtener la enfermedad con inoculaciones únicas. Quedaba establecido que el mecanismo patogénico era una reacción de sensibilización a algunos componentes del SNC, los que pudieron afinarse sucesivamente como extractos de sustancia blanca de mielina, de algunos de sus constituyentes mayores y finalmente como péptidos diversos con aptitud encefalitógena. Tiempo después, las investigaciones de Paterson (citado ⁵⁶) demostraron que era posible transmitir la enfermedad en animales de laboratorio merced a la transferencia endovenosa de células Th1 sensibilizadas. La encefalitis alérgica experimental se transformó en un modelo ^{56, 77, 80, 126} en el cual se pudo demostrar predisposición o resistencia variable según especies, vinculación con ciertos MHC, variadas formas clínicas en cuanto a severidad y, finalmente, como la intervención conjunta de sensibilidad celular y humoral ^{56, 59-61} podía provocar formas crónicas recurrentes y con significativa desmielinización, prácticamente idénticas a la Esclerosis Múltiple.

Según Lumsden ⁶⁵, las características patológicas centrales de la Esclerosis Múltiple son: el infiltrado hematógeno inicial,

el centraje perivenular, la discontinuidad de los cambios venosos, el carácter difusor de la noxa y la selectividad por la mielina y oligodendroglia.

Los indicios de un proceso sistémico continuado que invade el SNC por una particular puerta de entrada, son el compromiso perivascular que constituye el centro de la placa, la presentación ocasional de infiltrados perivasculares a nivel de raíces y nervios ⁸⁷, sin y con desmielinización ^{54, 87}, la comprobación ^{58, 62} de periflebitis a nivel de la retina (donde no hay mielina) y la importancia y difusión de los infiltrados meníngeos ^{1, 68, 78, 98, 100}.

Teniendo presente las semejanzas con las encefalitis para y post-infecciosas y post-vacinales ^{4, 124}, faltaría precisarse por qué en éstas entidades la alteración venosa es difusa (no discontinua como en la Esclerosis Múltiple) y por qué puede haber desproporción entre inflamación y desmielinización. En todo caso, Luchinetti et al ⁶³ dan por establecido estados intermedios con un continuum entre ADEM (Acute disseminated encephalomyelitis) y EM. La similitud con el acceso o entrada a los ganglios linfáticos, constituido por las vénulas de endotelio alto o cúbico, sugiere una relación entre el proceso inflamatorio y el tránsito de cierto tipo de linfocitos ^{72, 73, 126, 127}.

Prineas ⁹⁶ efectuó estudios cuantitativos de la población linfocitaria en especímenes de EM y encontró que además de los infiltrados perivasculares y de la infiltración parenquimatosa en la placa, existía también un aumento difuso de linfocitos perivasculares en la sustancia blanca normal ($260/\text{mm}^3$) pero no en el córtex. Los controles normales y estudios en otras afecciones neurológicas no mostraban tales hallazgos. Lumsden ⁶⁵ parecía clarividente cuando afirmaba en 1970 "hemos de visualizar a los espacios perivasculares co-

mo siendo colonizados por células linfoides inmuno-agresivas, con la aptitud de penetrar en el parénquima e iniciar la desmielinización”.

FASES EVOLUTIVAS DE LA PLACA

Rodríguez¹⁰³ esquematiza didácticamente el proceso evolutivo de la placa en el SNC en cuatro fases: de inflamación inicial (que él llama aguda), de reparación-remielinización, de reactivación ulterior y fase crónica inactiva. Caracteriza a la inflamación inicial por los infiltrados perivasculares, la expresión aumentada de los MHC de tipo I y II, la liberación de citoquinas, la alteración de la barrera hematoencefálica (BHE) y la invasión parenquimatosa por células inmunológicamente activas. Estas últimas provocan daño a la mielina y compromiso variable de los oligodendrocitos, reacción astrocitaria proliferativa y algún grado de alteración axonal. La expresión clínica correlativa, eventualmente de breve duración^{1, 47, 70, 78}, es atribuible no sólo a la desmielinización sino además⁷⁸ a la infiltración inflamatoria, al efecto bloqueante sobre la conducción axonal^{21, 22, 48, 70, 125} de ciertas citoquinas (TNF- alfa, factor bloqueador de canales de sodio e IL-1), al edema local^{1, 54} y a la presión intratisular.

En la etapa reparativa se regeneran las vainas mielínicas cuando los oligodendrocitos han sido preservados, – sea por supervivencia^{1, 2, 54, 97} o por multiplicación de células progenitoras indiferenciadas^{54, 91, 94, 95}. La condición es que la agresión inmune se haya atenuado⁹⁵ y permita a los oligodendrocitos, o a sus progenitores en maduración, realizar la función mielino-génica. Las fases inflamatorias y la reparación pueden no sólo sucederse sino también telescoparse o superponerse^{54, 95}. El proceso es muy complejo y, como hacen

notar Compston²¹ y Lassmann⁵⁵, en él pueden intervenir además citoquinas promotoras del desarrollo celular y/o protectoras como el IG-F1, la neuregulina¹⁷ el SP40 astrocitario protector del complemento, la proteína bcl 2 que protege de la apoptosis y factores adversos como la expresión en oligodendrocitos de proteínas de stress como la hsp (heat-shock protein)^{65, 70} o la alfa beta cristalina. Los acúmulos de células sin marcadores linfocitarios, astrocitarios ni oligodendrogliales, pero con el antígeno Ki67, evidencian probablemente la multiplicación de los precursores oligodendrogliales indiferenciados⁵⁴. En la etapa reparativa continúa también la reacción astrocitaria y se forma la cicatriz glial, cuya etapa final es fibrilar. En la fase crónica activa se reactiva el proceso inflamatorio^{45, 75, 92, 95} y la nueva agresión de las vainas mielínicas puede terminar por aniquilarlas, con desaparición correlativa de los oligodendrocitos^{54, 65, 87, 95}. La placa inactiva es solo una cicatriz glial y rara vez fibrogial^{55, 65, 68, 87}, pero eso no significa que el proceso esté apagado, porque desde el desconocido modulador sistémico^{65, 110, 127} puede iniciarse, con un tiempo variable⁶⁵, un nuevo ciclo con aparición de otras placas en diversos lugares del SNC. Otras alternativas a la placa perivenosa de novo, son la reactivación parcelar de una placa parcialmente remielinizada^{87, 95} o la extensión periférica de una placa con extensa desmielinización y a veces con daño axonal severo, como para configurar en la imagen por resonancia magnética (IRM) un hoyo negro^{122, 123}.

PROCESO ETIOPATOGÉNICO

Los problemas mayores son descubrir cómo se inicia el proceso a nivel sistémico¹¹⁰, cómo y por qué ocurren los cambios venulares⁶⁷ que permiten la invasión del

SNC y cómo se coordinan o se generan –a nivel perivascular–, las formas de agresión tan variadas o diferentes que pueden afectar al parénquima en diversos pacientes.

Lumsden⁶⁵ estimaba que el ciclo inflamatorio de la placa abarcaba de 8 a 10 semanas. Prineas⁹⁵ precisa que dentro de ese período es difícil delimitar la duración de la agresión propiamente tal y estimaba que ella no excedería de 7 días. Una conclusión semejante a la que llega Lassmann⁵⁴, con el respaldo adicional de diversos modelos de EAE⁵⁹, destacándose por Prineas⁹⁵ que los hallazgos patológicos usuales corresponden a procesos reparativos o secundarios.

ALTERACIÓN DE LA BHE

Los estudios histopatológicos^{2-4, 55, 63, 65, 95} y la evidencia de exámenes seriados de IRM han definido^{36, 50, 75, 133} que la alteración de la BHE es la primera evidencia aparente (vide infra) en el desarrollo de una placa y que puede tener^{36, 109} variada intensidad y duración: por lo común de 2 a 4 semanas, a veces menos de 2 semanas y excepcionalmente hasta tres meses. La alteración del parénquima evidenciable en T2 aparece más tardíamente^{50, 75} o puede eventualmente no aparecer^{40, 41, 75} y el estudio espectroscópico evidencia que los peaks lipídicos (que atestiguan la desmielinización) aparecen luego de semanas, hacen cenit al mes y pueden persistir por 5 meses²³. Los estudios experimentales en encefalitis alérgica recurrente crónica (CRAE)⁴¹, evidencian que el correlato de la alteración de la BHE es la infiltración inflamatoria y específicamente la presencia de macrófagos^{40, 41}, lo cual puede ser¹¹⁰ tanto un hecho primario como secundario a la desmielinización.

De particular interés son las observaciones en IRM seriadas de Filippi³² que de-

muestran cambios focales en MTR (magnetic transfer ratio), índice de absorción de gadolinio (Gd) y de los tiempos de relajación T1-T2, en los sitios en los cuales aparecerá luego la alteración de la BHE y se constituirá una placa. El sustrato histopatológico de esos cambios no ha sido precisado y la alternativa más probable es la “maduración” de placas microscópicas que crecen. En todo caso, se demuestra que la actividad de la afección es un proceso más dilatado de lo supuesto y que las alteraciones precedentes a la demostración en T1 Gd de la rotura de la BHE son de considerable duración.

Actualmente, también por observaciones de IRM, sabemos que existen casos de actividad inflamatoria serpiginosa persistente con alteración de BHE durante meses y que esto no implica necesariamente severidad de las placas, y que en diversos modelos de EAE^{51, 54, 55, 59-61} hay alteración de BHE e infiltración inflamatoria sin desmielinización. No obstante las evidencias de que en EAE⁵⁴ y ADEM^{4, 89, 124} hay eventual disociación entre los cambios inflamatorios y la desmielinización, las observaciones en IRM de Filippi et al^{30, 31} sugieren que la mayor alteración de la BHE en las placas que se refuerzan con dosis simple versus triple dosis de Gd, implica un proceso inflamatorio más vehemente y un cambio más importante de la MTR, que indicaría alteraciones más severas de la mielina. La lógica de este razonamiento se debilita cuando consideramos que las lesiones de la Esclerosis Múltiple primaria progresiva tienen focos pequeños, con inflamación discreta (a menudo invisible al T1 Gd) y con evolución tórpida tanto de la desmielinización como del daño axonal.

La participación en la EM primaria progresiva de factores humorales antigangliósidos axonales es analizada por Schlesinger en el capítulo de EAE en este volumen.

Es pertinente recapitular^{13, 21, 40, 55, 63, 78, 110} que la BHE está formada por vasos cuyas células endoteliales tienen uniones herméticas, que los endotelios son deficientes en vesículas para el transporte, que están asentados sobre una membrana basal y pericitos a los cuales rodea una membrana limitante glial, formada fundamentalmente por los pies chupadores de los astrocitos y en una extensión aproximada de un 30%, por los macrófagos perivasculares²¹. La infiltración a través de esta compleja barrera exige^{45, 72, 73, 110, 127} un estado especial de activación de las células inflamatorias con expresión de ciertas adreínas y ligandos de superficie. En todo caso, debe destacarse¹¹ que la activación linfocitaria y el pasaje de la BHE puede ser relativamente inespecífico y que es la persistencia en el SNC la que depende de la sensibilización a antígenos locales específicos.

SEDE VENULAR DE LA MIGRACIÓN CELULAR

La migración de las células inmunológicamente activas a nivel de las vénulas post capilares se explica por la dilatación del lecho vascular, la disminución de las cargas electronegativas en el endotelio y la atenuación de las fuerzas de cizalla sobre la columna de elementos figurados⁶⁷. Un punto fundamental^{110, 127} es el desarrollo escalonado y progresivo de moléculas de adhesión entre las células inflamatorias y el endotelio vascular. El anclaje al endotelio se efectúa inicialmente por interacción de selectinas y otras glicoproteínas que permiten a las células rodar (roll-on) con cierta laxitud, para desarrollar luego integrinas y moléculas de las superfamilias de las inmunoglobulinas, que fijan las células en un punto. Ulteriormente la activación de proteasas diversas y el efecto de las

quemoquinas^{55, 66, 67, 110, 127} permite a las células la penetración a través de la pared vascular y estructuras matriciales adyacentes. De especial interés son las llamadas metaloproteinasas o gelatinasas, una de las cuales es inducida por la IL-2²² y reprimida por el interferón beta^{43, 110}. Igualmente las quemoquinas incluyen¹¹⁰ variedades específicas para los linfocitos como la IL-10 y la quemoquina CC para los monocitos.

ALTERACIÓN PERSISTENTE O DURADERA DE LA BHE

Los estudios inmunohistoquímicos de Kwon y Prineas⁵³ revelan que la alteración de la BHE no es un fenómeno transitorio en las placas de Esclerosis Múltiple, sino que constituye un cambio estable y duradero, aún en las lesiones crónicas inactivas, en las que abarca la totalidad de su extensión⁹⁵. Esta particularidad y la ampliación del espacio extracelular⁸, que caracteriza a muchas de las lesiones crónicas, crea un conjunto de condiciones favorables para la recurrencia del proceso en el mismo foco hasta alcanzar la desmielinización completa. Como en las placas crónicas las alteraciones vasculares crónicas son mínimas¹³, se reducen^{1, 65, 78, 95} a la fibrosis vascular y perivascular y no se han detectado hallazgos significativos en las moléculas de adhesión endoteliales^{110, 127}, cabe preguntarse¹³ si el factor decisivo no asienta en la membrana limitante glial. Al respecto Perrier⁸³ hacía notar en 1965 el revestimiento incompleto de los pies chupadores de los astrocitos, lo que interpretaba entonces como secuela del proceso inflamatorio inicial. La significación de los macrófagos perivasculares se hace gravitante^{16, 21, 24, 25, 40-43, 46, 96}, si se considera que las citoquinas pro inflamatorias, como el INF gama, aumentan en ellos la expresión de los MHC de tipo II y que esto implica la posibilidad

de interacción cooperativa inmediata con los linfocitos CD 4 Th1 activos^{110, 127} y la promoción de un foco inflamatorio reclutante a expensas de citoquinas y quemoquinas.

Las investigaciones de Hawkins^{40, 41} evidencian que el transporte de la molécula de Gd es un fenómeno activo y transitorio, pero que también existe transporte activo y prolongado en el tiempo de inmunoglobulinas y factores del complemento, siendo digno de mencionar que las moléculas electronegativas se fijan selectivamente en el colágeno de la matriz extracelular.

Los estudios de patología experimental⁵⁴ han demostrado que la desmielinización está condicionada al grado de activación de los macrófagos (ver más adelante) y que la intervención de factores humorales^{54, 59-61, 76, 83, 133} con anticuerpos, preferentemente contra glicolípidos de superficie en la mielina, amplifica la capacidad destructiva de los macrófagos. La presencia de linfocitos B y plasmocitos implica activar: a) los mecanismos citopatógenicos de la cascada del complemento y proteasas; b) de la fagocitosis anticuerpo dependiente; c) aumentar además la presentación de antígenos a las células T e influir en el equilibrio o balance entre Th1 y Th2, con eventual perpetuación de la actividad B local^{63, 83, 95, 96, 110, 127}.

REACCIÓN DE SENSIBILIZACIÓN A ANTÍGENOS EXTRAÑOS Y MIMETISMO MOLECULAR

Muchos investigadores^{37, 63, 65, 72, 73, 76, 98, 100, 110, 127} asumen en la EM que a nivel sistémico, la interconurrencia de una eventual infección viral gatilla una reacción de sensibilización a un antígeno extraño, lo que provoca la aparición de linfocitos CD4-Th1 antígeno-específicos y especialmente

activados, los cuales pueden resultar deletéreos en el SNC por el mecanismo del mimetismo molecular (fragmentos peptídicos supuesta o realmente idénticos a algunos componentes de la mielina).

El análisis de este mecanismo ha evidenciado³ que los linfocitos T autorreactivos a la proteína básica de mielina (BPM) obtenidos de pacientes con EM, reconocen a través de algunos receptores de la célula T (TCR), no un péptido único, sino una gama de ellos, los que pueden derivar de diferentes antígenos. El efecto de mimetismo molecular depende del procesamiento intracelular^{5, 54, 127} del antígeno por proteasas que parecen seleccionar los fragmentos que mejor calzan con la configuración MHC-TCR y que en ocasiones no contienen ni un aminoácido del péptido original. Otro mecanismo es la estimulación del TCR por superantígenos bacterianos o virales¹¹, que provoca una activación más amplia de células Th 1.

ACTIVACIÓN DE LINFOCITOS CD4-TH1 Y AUTORREACTIVIDAD

La activación de los linfocitos CD4 - Th1^{6, 7, 22, 45, 48, 104, 110} les da la aptitud de transitar, penetrar al SNC y provocar allí una inflamación, que al alterar los tejidos, expone constituyentes de la mielina y otros elementos celulares. Esto induciría la exacerbación de la inflamación local, el refuerzo de los CD4-Th1 al interactuar con las células presentadoras de antígenos (APC) y el reclutamiento continuado de linfocitos no sensibilizados incluyendo CD8, NK (natural killer) y macrófagos hematógenos, configurando una respuesta inmune policlonal, contra diversos autoantígenos.

Recientemente ha sido demostrada en pacientes con EM, la existencia en sangre y líquido cefalorraquídeo (LCR) de linfocitos con inmunorreactividad a BPM, a pro-

teína proteolipídica (PLP)^{83, 127}, a la glicoproteína mielínica oligodendrocitaria (MOG)¹³² y glicoproteína asociada a la mielina (MAG), pero eso no significa que esta inmunorreactividad sea el factor primario o iniciador del proceso.

Es conocido¹²⁷ que en diversas especies y en el hombre existen normalmente linfocitos autorreactivos a antígenos del SNC. Los mecanismos que podrían activarlos según Wekerle¹²⁷ son el acceso súbito a antígenos secuestrados en sede órgano-específico, la activación a nivel sistémico de células autorreactivas ignorantes por el mecanismo del mimetismo u homologías moleculares, o una perturbación en el mecanismo de contra-regulación a cargo de células CD8. Que en algunos sectores no desmielinizantes se encuentren focos de infiltración inflamatoria perivascular, aparece como una etapa previa a la desmielinización^{65, 68}, sin excluir la posibilidad⁵⁴ de que, en algunos casos, la inflamación perivascular no tenga otras consecuencias patológicas, como lo sugieren también los estudios de IRM⁷⁵. Más difíciles de explicar son las observaciones de Adams^{1, 2} que muestran depósitos perivenulares de fibrina, IgG y fracciones del complemento en ausencia de infiltración celular, todo lo cual hace suponer^{32, 131} una amplia gama de modificaciones en la permeabilidad de la BHE gatilladas sistémicamente. Esto daría cuenta del paso de proteínas plasmáticas¹ y del difuso tránsito de linfocitos en la sustancia blanca⁹⁵ precediendo a la estructuración de focos inflamatorios-desmielinizantes.

Se supone que, al menos una parte de los elementos linfocitarios, se establecen in situ y podrían mantener el proceso. No obstante, hay evidencias de que los cambios inflamatorios objetivables en IRM⁷⁹ son dependientes del nivel sistémico y que la depleción de los CD4-Th1 al administrar

CAM-Path (Ac monoclonales que supuestamente no pasan la BHE), llevando a la extinción de la actividad inflamatoria después de tres meses, subrayando el presunto rol patogénico de los linfocitos CD4 Th1. Sin embargo, esto es desacreditado por ensayos terapéuticos^{20, 22} bien reglados con anticuerpos monoclonales anti CD4 que muestran deterioro clínico, y cambios atróficos en ausencia de inflamación visible en IRM.

Bansil et al⁷ demuestran en modelos experimentales que la activación de los linfocitos T CD4-Th1 en ausencia de inflamación, debe desplegar un amplio conjunto de moléculas de adhesión para invadir el SNC. Las moléculas de adhesión en las células T incluyen LFA.1, CD2, CD28, CTL4, ICAM 1 y en las APC son ICAM 1, LFA 3, B7 - 1 ó B7 - 2, LFA 1. Para penetrar el SNC deben necesariamente^{22, 110} desplegar la integrina alfa 4-Beta 1 ó antígeno muy tardío (VLA-4), cuyo ligando es la molécula de adhesión vascular, (VCAM-1), que se sobreexpresa al desarrollarse la inflamación perivascular y que actúa en conjunto con el antígeno asociado a la función linfocitaria (LFA1) - molécula de adhesión intercelular (ICAM-1). Tsukada¹¹⁷ por su parte ha demostrado que la E selectina es un marcador importante de actividad y de alteración de la BHE.

Ransohoff¹⁰⁰ precisa que el tamaño clonal CD4 Th1 debe ser grande, que han de existir marcadores de actividad como la alfa 4 - beta 1 integrina, VL4, IL-2 y la capacidad de inducir la producción (a través de los macrófagos) del factor de necrosis tumoral alfa (TNF alfa) en sus diversas formas. La administración experimental⁶⁷ de TNF alfa induce, en secuencia y por pocas horas, la selectina P (plaquetaria), la selectina E por casi 24 horas, el ICAM-1 por varios días en tanto se mantiene constante el nivel de ICAM-2.

De acuerdo a Selmaj¹⁰⁸, el TNF alfa parece ser fundamental en abrir el acceso al SNC, lo que sugiere que el desarrollo del proceso inflamatorio exige desde el inicio la cooperación de dos o más estirpes celulares, incluyendo a los monocitos - macrófagos. Esta conclusión es avalada por los estudios de Hauser³⁸ en 16 casos necropsiados en los cuales se demuestra que los infiltrados tienen un fuerte predominio de linfocitos CD8 sobre los CD4 (aunque las proporciones son variables de 50:1 a 1:1) y que los infiltrados perivasculares que ocurren en tejido todavía sano incluyen no sólo linfocitos sino que también, macrófagos MHC II (lo cual plantea que el proceso esté orientado desde su origen ó iniciación por antígenos exógenos). Los estudios de las subpoblaciones celulares en sangre y LCR⁸¹ y en las lesiones de EM^{10, 28, 42, 115} constituyen aún un capítulo abierto⁷⁸.

INDICADORES INMUNOPATOGÉNICOS

Los mejores marcadores de actividad a nivel sistémico son en general^{9, 11, 35, 102} indicadores de actividad macrofágica, tales como el TNF alfa soluble o fijo^{102, 105} y en especial³⁵ la Neopterina urinaria, cuya excreción diaria ha sido estudiada por largos períodos mostrando una significativa correlación con interurrencias virales y rebrotes clínicos.

Estos indicadores y el estudio de las cadenas livianas Kappa-Lambda⁷⁴ prometen más información de la dinámica celular que los estudios previos en orina de BMP¹²⁸.

El importante rol de los macrófagos en el proceso de actividad de la EM, es respaldado por estudios de series clínicas en distintos momentos de la actividad de la enfermedad. En la situación de brote, consideran la expresión de RNAm para TNF

en sangre¹⁰² y la mayor actividad de la catepsina B en monocitos circulantes⁹. En la situación de remisión, se ha observado mayor producción de TGF beta y de IL-10 (citoquinas antiinflamatorias)¹⁸, y menor producción de INF gama en los linfocitos circulantes en pacientes con EM¹². Finalmente, en los rebrotes existe aumento de la producción de TNF alfa y no de INF gama¹¹⁹. Nótese que todas estas evidencias apuntan a que la actividad órgano-específica de la afección es gatillada sistémicamente.

La importancia de la activación macrofágica no significa ignorar el rol de los CD4 Th1, cuya producción de interferón gama e IL-2 son los inductores mayores de la activación macrofágica¹⁰⁵, que se expresa ulteriormente en la producción de Neopterina.

Resultan decepcionantes, sin embargo, las comunicaciones¹²⁰ que la administración de anticuerpos monoclonales (m-Ac) CA2 anti TNF en 2 pacientes provocó paradójal exacerbación de la alteración de BHE y del cuadro clínico y, a la inversa que en otros pacientes, la administración de IL-2 no exacerbó la afección¹²¹. Evidentemente faltan aún muchos detalles para entender la complejidad de la respuesta inmune en Esclerosis Múltiple.

La inmuno-agresividad tisular depende de la concurrencia de macrófagos^{2, 3, 54, 56, 87, 95, 96} y de su aptitud para infiltrar el parénquima. Ciertos modelos de EAE, como la sensibilización a MOG y proteína S-100 B⁵¹, demuestran profusas infiltraciones perivasculares y nula desmielinización por falta de macrófagos activos, las experiencias de Huitinga⁴⁶ y Brosnan^{14, 15} reiteran el apagamiento del proceso lesional parenquimatoso al depletar a los macrófagos, lo cual es concordante con las investigaciones de extinción de la actividad macrofágica con IL-13.

AMPLIACIÓN DE LA BASE SENSIBILIZANTE (DIFUSIÓN DE EPÍTOPES)

Raine⁹⁷ destaca que, efectuada la invasión del SNC, el hallazgo a ese nivel del antígeno (Ag) sensibilizante o de su homólogo o remedo molecular exacerba el proceso y provoca rápidamente la ampliación del proceso inmune por sensibilización a otros epítopes de diversas proteínas, particularmente de la mielina. Es precisamente la difusión de epítopes y la ampliación de la base sensibilizante, lo que hace ilusorio¹¹⁰ esperar que la supresión de determinadas células Alfa-Beta Ag-específicas y con un repertorio selectivo^{39, 130} de TCR (V2 Beta1) pueda tener éxito terapéutico en EM, a diferencia de lo observado⁵⁶ en EAE.

Es interesante consignar que, de acuerdo a las investigaciones de Lassmann^{54, 56} y otros, la ampliación de la base sensibilizante es un proceso que ocurre en los ganglios linfáticos, después de la migración de los macrófagos por vías linfáticas perirradiculares espinales y craneales. Esto explicaría, por inmunomodulación sistémica, la tendencia a la uniformidad del proceso patológico en las diversas placas, que de otra forma sería muy heterogéneo.

DIFUSIÓN DEL PROCESO INFLAMATORIO EN EL SNC

La amplia difusión^{1, 4, 54, 87} en el SNC y la retina^{59, 62} de los focos inflamatorios perivasculares (sin relación alguna con el supuesto blanco-mielina), es testimonio del carácter órgano-específico amplio del proceso patológico, no focalizado a una estirpe celular específica. Adams¹ ha estudiado la distribución de los linfocitos en el SNC en 10 casos seleccionados de EM y obtuvo un promedio tentativo de 583 millones de linfocitos, de los cuales, sorprendentemente, 474 estaban a nivel meníngeo frente a solo

102 en los espacios perivasculares (blanco orientados) y 7 millones en LCR, omitiendo como no significativos y difíciles de evaluar los linfocitos parenquimatosos.

En los modelos experimentales de EAE al inducirse la sensibilización o transferirse los linfocitos sensibilizados, los linfocitos perivasculares son⁹⁸ inicialmente 100% antígeno-específicos, para reducirse en pocos días a un magro 3%. Esto tiene como explicaciones posibles^{56, 127} la apoptosis de muchos linfocitos, algún grado de migración parenquimatosa y en especial la dilución por un creciente contingente de linfocitos "naive", no Ag-específicos.

La activación de un antígeno Fas por un ligando Fas es el mecanismo que desencadena la muerte programada en las diversas estirpes celulares y esto parece especialmente relevante para los linfocitos sin sensibilización específica¹¹⁰.

La relación entre APC y las CD4-Th1 (y viceversa) es muy importante. Las APC restringidas a MHC-II, procesan antígenos exógenos, presumiblemente en este caso Ag virales con eventual y fragmentaria identidad o mimetismo con antígenos del SNC; y las MHC-I procesan antígenos endógenos, como los que se liberan por la inflamación perivascular inicial. Incidentalmente los MHC-I existen no sólo en macrófagos sino también en los oligodendrocitos⁶³, y hay una sugerente relación o paralelismo entre las infiltraciones por linfocitos CD8 y MHC de tipo I⁴².

Al constituirse el foco perivascular con CD4-Th1 inmuno agresivos, con la capacidad de atraer macrófagos, de liberar LFT (linfotoxinas) (TNF Beta), producir IL-2 e INF gama, la agresión tisular puede liberar o exponer antígenos tanto de las células inflamatorias como de la glia y de la mielina^{2, 7, 34}. Se gatillaría así la difusión de los epítopes sensibilizantes de linfocitos Th1 y B y con ello la ampliación de la respuesta

inflamatoria inicial, con atracción y acumulación local de gran cantidad de células T CD8 citotóxicas, hecho favorecido por la intensa activación endotelial que inducen las citoquinas IFN Gama, TNF alfa e IL2 .

ROL DE LAS hsp EN LA INMUNOPATOGENIA

El tipo de TCR de los CD4-Th1, importantísimo en los modelos experimentales de EAE, no está definido en EM, en la cual no se ha demostrado^{22, 39, 44, 127, 130, 132} uso selectivo de alguna variedad de receptor Alfa-Beta, aunque hay evidencias^{54, 56} que sugieren que los Th1 con receptor gamma-delta tienen, con gran probabilidad, un rol destacado en aniquilar a los oligodendrocitos alterados que exponen hsp 65. Es pertinente consignar que se han demostrado Bandas Oligoclonales (BOC) para hsp 65 en LCR de Esclerosis Múltiple y también en otras afecciones degenerativas^{33, 54}.

Las hsp son polipéptidos de amplia difusión en la escala zoológica desde virus y bacterias a las más diversas células de los organismos complejos. Regulan⁵⁴ la expresión de genes, el tráfico intracelular y liberación de proteínas y la degradación de proteínas dañadas o desnaturalizadas. Los linfocitos con receptor gama-delta de las superficies mucosas reconocen estas proteínas en virus y bacterias y se encargan de destruirlas sin restricción MHC. El hecho que estos linfocitos sean relativamente abundantes en áreas de desmielinización con oligodendrocitos expresando hsp 65 o 70, individualiza una situación de agresión inmune inespecífica a células en apremio. Igualmente se ha identificado una hsp que se denomina alfa beta cristalina, procesada por linfocitos alfa-beta, que existe tanto en los astrocitos como en los oligodendrocitos de las áreas sufriendo desmielinización activa.

Van Nort et al¹¹⁸ han demostrado que la hsp alfa-beta cristalina, se comporta como un Ag inmuno-dominante frente a los linfocitos Th1 obtenidos de los pacientes con EM, estimándose que, aunque no sea el iniciador del trastorno inmune, puede ser importante en su agravación y persistencia.

IMPORTANCIA DE LAS VÍAS COESTIMULATIVAS EN LA RELACIÓN APC-TH1

De acuerdo a las evidencias disponibles^{101, 110, 126, 127}, no basta en la relación APC-Th1 la simple estimulación a través del complejo trimolecular MHC-Ag-TCR. Deben activarse además muchos otros procesos celulares a través de la interacción de otros pares de ligandos, en especial a través de la vía coestimulativa B7 (CD80 u 86), CD 28 ó CTL4.

Actualmente las evidencias indican¹¹⁰ que la activación B7-1 se canaliza a producir células Th1, la B7-2 en cambio Th2. La activación CD 28 activa células Th2 y la del ligando CTL4 inhibe las células activadas. Sin coestimulación puede producirse^{101, 127} ignorancia, anergia o apoptosis. Con la coestimulación, en cambio, proliferación celular, generación de células efectoras y de memoria; todo esto a través de complejos procesos intracelulares que incluyen las proteínas de la familia bcl 2, TyK2, JAK-STAT¹⁰¹, siendo importante de mencionar que a partir de la unión ligando - receptor se gatillan un complejo de activaciones intracelulares de intrincada orquestación.

REGULACIÓN DEL EQUILIBRIO TH1-TH2

Las APC en interacción con los precursores celulares Th producen IL 12, que deriva o favorece la diferenciación celular

hacia el predominio Th1. Dicho precursor produce además IL-4, la cual favorece la diferenciación en Th2 cuando alcanza cierto umbral de concentración local^{101, 110}, que depende en forma imprescindible de la coestimulación CD 28. En tal caso los Th2 producen, entre otras citoquinas, IL 4-5 y 10, "represoras" de los Th1 y facilitadoras además de los linfocitos B, (eventual fuente de anticuerpos potencialmente nocivos localmente) y además elaboran la IL-13 neutralizante de los macrófagos. Este efecto antiinflamatorio en conjunto con la diferenciación y acumulación de CD8-S, productores de TGF Beta, explica la extinción o apagamiento de cualquier proceso inflamatorio. Incidentalmente¹⁸ se ha demostrado que la actividad clínica de la EM se correlaciona con baja producción de TGF beta y que en pacientes de EM tratados con Interferón beta 1a hay una significativa elevación de IL-10 en sangre y LCR, en paralelo con la evolución clínica favorable¹⁰⁶.

Wekerle^{126, 127} destaca que el azaroso equilibrio Th1-Th2 depende de la concentración circunstancial en el foco inflamatorio de las citoquinas IL-12 o 4 y/o 6 y; de la vía coestimulativa B7 1 ó 2.

PATRONES CELULARES EN LAS PLACAS

En los modelos experimentales⁹⁸ se ha demostrado que hay sitios específicos para la migración vascular de los determinados tipos celulares. Los leucocitos polimorfonucleares (PMN) vg migran por el espacio entre las células endoteliales (no debiendo atravesar membranas), los linfocitos lo hacen perpendicular a la zona biselada de unión entre las células endoteliales y deben sobrepasar 4 barreras de membranas celulares; en tanto que, los monocitos (macrófagos) cruzan lejos de la zona marginal

atravesando el citoplasma y membranas celulares endoteliales para luego acometer, como todas las estirpes celulares, las estructuras adventiciales y perivasculares. Este esquema es interesante de confrontar con los patrones celulares en las placas agudas, tempranas y tardías de esclerosis múltiple a la luz de los estudios de Lassmann⁵⁵. Destaca el hecho (ver Tabla 1) que las placas agudas (definidas como al menos parcialmente necrotizantes en estas investigaciones) tienen la máxima celularidad, que los macrófagos son en gran medida el elemento dominante, que el número de células T (CD3) sin mayor especificación es importante y que hay alguna representación de plasmocitos. En las placas tempranas con menor severidad de daño local, la celularidad es menor, predominan igualmente los macrófagos y casi no hay plasmocitos. En las placas tardías, la celularidad es aún menor pero proporcionalmente hay un aumento de plasmocitos, lo que se traduce en la proporción T/P 6 :1, aunque probablemente lo más significativo sea la relación plasmocitos / macrófagos (1:116 en placas crónicas versus 1:1216 en placas agudas). Al afinar el estudio, precisando la relación entre macrófagos activos con el marcador MRP 14, y los linfocitos B y T (CD3), Ozawa et al⁸⁴ observan que la relación entre Linfocitos B y

Tabla 1
PATRÓN CELULAR EN PLACAS DE EM
(recuento por 3 mm²)

	T	M	P	T/M	P/M
P. Aguda	900	7300	6	1:8	1:1216
P. Temprana	230	5200	0,5	1:23	—
P. Tardía	180	<3500	30	1:19	1:116

Modificado de Lassmann-Suchanek-Ozawa: 1994⁵
T:linfocitos T; M: macrófagos; P: plasmocitos.

TABLA 2
REACCION INFLAMATORIA EN
PLACAS DE EM (Recuento por 1 mm²)

	Linfo- citos T (CD3)	Linfo- citos B	Macró- fagos MRP 14	REL B/M
Placa aguda	134	2	473	1 X 237
Placa temprana	95	5	154	1 X 308
Placa tardía	56	84	167	1 X 20

Modificado de Ozawa, K 1994⁸⁴

macrófagos activos llega (Tabla 2) a 1:20 en placas tardías. Prineas y Wright ⁹⁶ en un estudio de microscopia electrónica encontraron conteos de 260 linfocitos y 178 plasmocitos perivasculares por mm³ en sustancia blanca no lesionada y de 1772 plasmocitos por mm³ en placa crónica, llegando a la conclusión que en el transcurso de la evolución el SNC de los pacientes de EM es poblado o colonizado por clones de plasmocitos de heterogeneidad restringida (como la IgG del LCR) y que se constituye así una población permanente de estas células. De esto fluye la característica de las bandas oligoclonales como un atributo estable o prolongado por años, sugiriendo que los mismos clones persisten en el SNC ^{76, 83, 90}.

ROL DE LOS MACRÓFAGOS EN LA PATOGENIA

Está bien establecido por Prineas ^{93, 95} que los macrófagos tienen en EM un rol fundamental en la desmielinización y por Kojima ⁵¹ Linington ⁵⁸⁻⁶⁰ en la EAE; aunque por sí solos ⁵⁶ sean incompetentes, requiriendo la interacción con linfocitos Th1, linfocitos B y plasmocitos ⁵⁹⁻⁶¹ y adquisición de formas especiales de actividad. La

migración y atracción de los macrófagos está relacionada con ciertas quemoquinas ^{43, 54, 56} acerca de las cuales y de sus receptores existe una creciente información, siendo dignas de mencionar ⁶⁷ la IL-8, MchP y MIP 1 alfa ó 1 beta y los receptores CCR1, CCR2 y CCR3.

Debe recordarse como hecho general¹⁰⁵, que los macrófagos disponen de MFR (manosil - fucosil - receptor para determinantes CH de células envejecidas), receptor fosfatidil - serina para células en apoptosis, receptor tipo CD 64-32 o 16 para Fc de IgG (que les permite iniciar la destrucción extracelular, la opsonización y fagocitosis). Disponen también de receptores del C3R. (tipo C3b1 - CD 11b - MAC1) y el LFA (leucocyte function antigen = CD 11A), además de CD 13, CD 15, CD 68, VLA 4 (CD 29 - CD 49d). Igualmente, es importante el contar con receptores para IL2, IL4, INF Gama y Factor Inhibidor Migración (FIM). Finalmente, pero no menos importante, los monocitos producen IL1, TNF alfa, componentes del complemento y prostaglandinas.

El interés en precisar los atributos de los macrófagos en EM tiene ya una larga historia y ha sido sistematizado en la década de los 80 por C. Adams ¹⁻³ estudiando el equipamiento enzimático y algunos marcadores de superficie. Él y sus colaboradores analizaron la actividad de las enzimas catalasa-peroxidasa, muramidasa; fosfatasas y esterasas ácidas y los marcadores HAM 56, EBM 11 y 3A5 y llegaron a la conclusión (al igual que Prineas ⁹⁶ en 1978) que los macrófagos activos y destructivos en Esclerosis Múltiple eran hematógenos y que su equipamiento enzimático y aptitudes citotóxicas eran enfriadas o empobrecidas durante la residencia en SNC, perdiendo tanto la catalasa-peroxidasa como la muramidasa y presentando acentuada disminución de las esterasas y fosfatasas ácidas. En

todo caso, se plantea que la activación macrofágica es graduada y relativamente limitada en el tiempo, que parece dependiente del reclutamiento continuado de monocitos para mantener cierto nivel de agresividad contra la mielina y que podría ser inducida inicialmente¹ por la presencia de complemento e IgG (que pueden permeabilizar los vasos antecediendo a las células).

Las investigaciones de Prineas^{93, 95} y Lassmann^{54, 56} han enriquecido los conocimientos sobre el rol patogénico de los macrófagos. Prineas⁹⁶ individualizó en EM un patrón de fagocitosis-receptor mediada, ya aludido, y en los modelos experimentales (Ac anti MOG) se constató condicionamiento ó dependencia⁵⁹⁻⁶¹ de la desmielinización a la presencia de anticuerpos contra las glicoproteínas de la mielina y/o oligodendrocitos (Ac anti MOG), lo que operaría vía complemento u otras reacciones celulares inmunes.

La inclusión o internalización en el citoplasma de los macrófagos de fragmentos miélnicos, explica las observaciones en EM de estructuras miélnicas complejas, que inicialmente^{95, 99} fueron interpretadas como paramixovirus en investigaciones de ultraestructura.

VARIEDAD DE MECANISMOS EFECTORES INMUNOPATOGÉNICOS

Lassmann⁵⁶ ha demostrado en modelos experimentales de sensibilización CD4 Th1, como la intervención de factores humorales, amplifica el grado o magnitud de destrucción de la mielina, al igual que Brosnan¹⁵ a nivel de la retina. Lassmann et al^{56, 59} plantean como requisitos para la desmielinización mediada por anticuerpos en los modelos experimentales, que el epítotope sea accesible en superficie, que la BHE

sea permeable y que exista síntesis de anticuerpos a nivel sistémico o local.

La presencia de plasmocitos en lesiones de EM agudas y subagudas (Spatz citados por^{87, 88}) así como en las placas de EM crónica, hace presumible^{95, 127} la intervención de factores humorales a nivel local y citotoxicidad ligada al complemento. Los componentes de este último penetran^{1, 2} desde la sangre, a expensas de la persistente permeabilización de la BHE, pero pueden además producirse localmente. Lassmann et al^{54, 55} usando marcadores macrofágicos distintos (MRP 14 - y 25 F-9) a los de Adams¹ demuestra que los macrófagos hematógenos activos (MRP14) son muy predominantes en las etapas iniciales de la enfermedad, pero que subsisten aún en las fases menos activas o tardías.

Faulds y Benfield²⁹, en una revisión muy condensada, reiteran que a nivel sistémico la cadena inmunopatogénica se inicia con la interacción APC-CD4 Th1, seguida luego por la invasión del SNC por estas mismas células. Ya dentro del SNC resulta difícil precisar los eventos que ocurren a nivel perivascular y a nivel parenquimatoso, pero pueden señalarse ciertos hechos básicos relacionados con los mecanismos efectores del daño miélnico. Los CD4 - Th1 liberan LFT (TNF beta) con aptitud mielinolítica, promueven el rol APC de los macrófagos (por INF gama, mayor activación catepsina B y mayor expresión MHC), inducen liberación de IL2, producción de IL2 R y gatillan niveles altos de TNF Alfa al activar los macrófagos. Los CD8 citotóxicos, predominantes en la placa^{38, 71, 78}, tienen la aptitud de dañar las vainas miélnicas, en tanto que la proliferación de linfocitos B y la generación de plasmocitos⁸² aporta anticuerpos que, en algunos casos, multiplican o potencian el daño miélnico. Finalmente, por algún mecanismo se produce la activación de los CD8 supre-

sores que puede enfriar o extinguir el proceso.

Wisniewski¹²⁹ y Lassmann⁵⁴ han destacado la importancia del daño mielínico llamado circunstancial en los focos inflamatorios. Evidentemente el vaciamiento al espacio extracelular de la LFT (linfotóxica), fosfolipasa A (en su mayoría proteasas), hidrolasas, peptidasas, NO, TNF alfa y ROI (radicales intermediarios del oxígeno) puede dañar a la mielina, a los oligodendrocitos y aún a los astrocitos, independientemente del mecanismo que los activó originalmente, lo que no significa⁷⁸ descartar una inmunopatogenia más específica del infiltrado inflamatorio.

Hace pocas décadas se subentendía que los macrófagos⁶⁵ eran la microglia nativa del SNC. Luego a través de Prineas¹⁰¹ y Adams^{2, 3} se llegó a saber que eran los macrófagos hematógenos los que tenían el rol más importante en la Esclerosis Múltiple, sin desconocer que la microglia juega también un papel destacado. La especial relación de la microglia con los daños axonales traumáticos^{82, 112} plantea como interrogante su eventual relación con la patología axonal degenerativa en EM.

Algunos investigadores han señalado que es posible que las fases iniciales o tempranas usen diferentes mecanismos inmunopatogénicos que las etapas tardías de la enfermedad. Raine, por ejemplo, señala en relación a las moléculas de adhesión celular que en EM: en etapas agudas hay interacción ICAM-LFA y en las crónicas, las mismas moléculas y VCAM-VLA4. Investigaciones imagenológicas recientes¹¹⁶ han correlacionado la actividad de las placas (ruptura de la BHE o progresión y crecimiento) con los niveles séricos de las moléculas de adhesión intercelular y demuestran sólo relación con ICAM 1 y no con otras moléculas similares. En general las diversas citoquinas de los Linfocitos

Th1 y de los Macrófagos han demostrado alterar la BHE, pero los mejores marcadores de actividad clínica o progresión están específicamente relacionadas, como se ha reiterado antes con las citoquinas de los macrófagos¹¹⁹ TNF alfa e IL-1.

La composición celular de los focos perivasculares demuestra en general un categórico predominio de los linfocitos CD8 sobre los CD4^{10, 38}, aunque los estudios de Traugott¹¹⁵ sugieren predominio inicial de los CD4. Las interesantes experiencias de infección con virus Theiler en animales knockout (animales mutados mediante manipulación genética, con restricción de un gen que codifica una función o estructura específica) para linfocitos CD8 o CD4^{63, 104}, ponen en evidencia que en ausencia de CD4 los animales desarrollan desmielinización y alteraciones clínicas relacionadas con la actividad de los CD8 inducidos por macrófagos MHC 1.

El estudio de las citoquinas en placas de EM corrobora, en las investigaciones de Lassmann⁵⁴ y otros^{98, 100}, que a nivel perivascular hay presencia de CD4 Th1, Th2, macrófagos y CD8 supresores. Se pueden hacer conjeturas y suponer que las placas severas eventualmente necrotizantes, deben tener importante infiltración parenquimatosa, fuerte predominio Th1, muchos macrófagos muy activos, ausencia de CD8 supresores, un número variable de CD8 citotóxicos y eventualmente la participación de plasmocitos. Las placas promedio, una mezcla relativamente armónica de esas estirpes celulares, y las placas benignas o leves con fuerte representación CD8-S y tal vez deficiente activación de macrófagos. El complejo estudio de las citoquinas en relación al tipo de placas está aún en elaboración y habrá que esperar las futuras investigaciones.

PATRONES DE ALTERACIÓN DE LOS OLIGODENDROCITOS

La tecnología actual ha permitido afinar, en sucesivas investigaciones de Ozawa⁸⁴ y Lassmann⁵⁴, los patrones de repercusión inflamatoria sobre los oligodendrocitos, definiendo en las placas agudas su carácter particularmente destructivo a través de la fragmentación del DNA, evidenciando que a nivel del centro de la placa hay destrucción y muerte celular de oligodendrocitos, células T, astrocitos y macrófagos. La muerte de oligodendrocitos se encontró tanto en el centro, en la orilla de las placas y en menor grado en sustancia blanca adyacente, sugiriendo una noxa oligodendrocítica de amplia difusión. Un patrón peculiar⁶⁴ de alteración de los oligodendrocitos con desmielinización distal es la gliopatía con degeneración retrógrada.

Las placas tempranas y menos severas mostraban escasa destrucción de oligodendrocitos y las placas tardías mostraban sorprendentes diferencias de un caso a otro, siendo a veces agresivas y oligodendrocíticas y en otros casos no, sugiriendo⁶³ variedad de mecanismos inmunopatogénicos de un caso a otro. La importancia de los factores de crecimiento glial en relación a los oligodendrocitos ha sido destacada por Cannella¹⁷ y Szuchet¹¹³.

De acuerdo a Adams y Poston^{2, 3} y Prineas⁹⁵ el proceso en el centro de las placas es siempre de mayor gravedad y Prineas⁹⁴ hace énfasis y aporta evidencia que demuestra que la aparente conservación de los oligodendrocitos es una proliferación secundaria.

ROL DE LOS ASTROCITOS

El rol de los astrocitos en las placas de EM es complejo y, probablemente, de pa-

trón cambiante. Lumsden⁶⁵ interpretaba en 1970 la reacción astrocitaria en las placas como muy temprana, casi anticipándose a la desmielinización. Otros como Adams⁴, Adams¹ y Prineas⁹⁵ la estiman más tardía. Los estudios recientes con colocación in situ de IL-2 sola y con TNF alfa evidencian una fuerte alteración de los oligodendrocitos y reacción astrocitaria esclerosante con IL-1⁴³. Respecto al rol de los astrocitos en la evolución de la placa, Peters⁸⁷ mostró hace décadas que, éstos pueden participar en la fagocitosis de la mielina, incorporando lípidos sudanofílicos, que Prineas⁹⁵ supone, provienen de macrófagos destruidos y Lassmann⁵⁴ muestra la importante incorporación de IgG a los astrocitos. Los estudios de marcadores de superficie y de citoquinas demuestran que los astrocitos pueden desplegar MHC de tipo II⁵⁷ o I, que puede producir IL-1 ó IL-2, IL-6, INF gama, TNF alfa, que producen SP40 - protector del complemento y TGFB antiinflamatorio. Todo esto es compatible con múltiples roles no simultáneos, del astrocito, como los de macrófago y/o APC, de adyuvante o helper similar y de represor o supresor de la actividad inflamatoria.

La interacción de los astrocitos con otras estirpes celulares, en especial con los oligodendrocitos y células de Schwann, es muy importante para determinar las posibilidades de remielinización. Hay evidencias que indican²¹ apoyo astrocitario a la proliferación oligodendrogliar regenerativa y potencialmente mielinogénica y represión de las células de Schwann, de suerte que la aparición de un patrón periférico de mielina regenerada sólo es posible a nivel medular en zonas de entrada radicular posterior, y tal vez emergencia radicular anterior, cuando las placas son necrotizantes y han quedado sin astrocitos in situ. La importancia de los MHC I ó II de los astrocitos en el rol APC ha sido desacreditada⁵⁴ por

los estudios disponibles de ultraestructura y por la ausencia de ligandos de las vías coestimulativas.

Para concluir: La EM es una afección inflamatoria desmielinizante, iniciada probablemente a nivel sistémico por un agente viral no específico, que crea cepas de linfocitos CD4-Th1 sensibilizadas y activadas, con la aptitud de invadir el SNC en compañía de monocitos, macrófagos y linfocitos CD8, provocando una inflamación que afecta a los elementos linfomonocitarios, la mielina, eventualmente a los oligodendrocitos, activa los astrocitos y puede dañar los axones. La severidad de los cambios tisulares en la placa debe estar condicionada por la proporcionalidad Th1-Th2 y el patrón de activación de los macrófagos, explicando las variedades de placas necrotizantes, edematosas, promedio, leves y parcialmente desmielinizantes.

El tempo de la afección es modulado a nivel sistémico por mecanismos desconocidos explicando muchas o pocas placas con intervalos variables. El balance de severidad de las placas y tempo de la afección determina los atributos de la enfermedad.

Queda pendiente aún la individualización del agente circunstancialmente mielinotropo y de los determinantes del tamaño de la placa, con o sin confluencia de subunidades menores, que traduce posiblemente la variable capacidad de difusión de la desconocida noxa operante, de la cual muchos seguirán sospechando como Marburg⁶⁸, que es un agente viral.

REFERENCIAS

1. Adams C. A colour atlas of multiple sclerosis and other myelin disorders. Suffolk (UK): Wolfe Medical Publications; 1989.
2. Adams C, Poston R, Buk S. Pathology histochemistry and inmunocytochemistry of lesions in acute multiple sclerosis. *J Neurol Sci* 1989;52:291-306.
3. Adams CW, Poston RN. Macrophage histology in paraffin - embedded multiple sclerosis plaques is demonstrated by the monoclonal pan-macrophage marker HAM-56: correlation with chronicity of the lesion. *Acta Neuropathol* 1990;80(2):208-11.
4. Adams R, Kubik C. The morbid anatomy of the demyelinating disease. *Am J Med* 1952;12:510-24.
5. Albert J, Inman R. Molecular mimicry and autoimmunity. *N Engl J Med* 1999;34:2068-74.
6. Arnason B. The role of cytokines in multiple sclerosis. *Neurology* 1995;45(6 Suppl 6):S54-5.
7. Bansil S, Cook SD, Rohowsky-Kochan C. Multiple sclerosis: immune mechanism and update on current therapies. *Ann Neurol* 1995;37 Suppl 1:S87-101.
8. Barnes D, Munro PM, Youl BD, Prineas JW, McDonald WI. The longstanding MS lesion. A quantitative MRI and electron microscopic study. *Brain* 1991;114(Pt 3):1271-80.
9. Bever CT, Jr., Panitch HS, Johnson KP. Increased cathepsin B activity in peripheral blood mononuclear cells of multiple sclerosis patients. *Neurology* 1994;44(4):745-8.
10. Booss J, Esiri MM, Tourtellotte WW, Mason DY. Immunohistological analysis of T lymphocyte subsets in the central nervous system in chronic progressive multiple sclerosis. *J Neurol Sci* 1983; 62(1-3):219-32.
11. Brocke S, Piercy C, Steinman L. Superantigens in demyelinating disease. *Springer Semin Immunopathol* 1996;18(1):51-6.
12. Brod SA, Khan M, Bright J, Sriram S, Marshall GD, Jr., Henninger EM, et al. Decreased CD3-mediated interferon-gamma production in relapsing-remitting multiple sclerosis. *Ann Neurol* 1995;37(4):546-9.
13. Broman T. Blood- brain barrier damage in multiple sclerosis: supravital test-observations. *Acta Neurol Scand Suppl* 1964;10:21-4.
14. Brosnan CF, Bornstein MB, Bloom BR. The effects of macrophage depletion on the clinical and pathologic expression of experimental allergic encephalomyelitis. *J Immunol* 1981; 126(2):614-20.
15. Brosnan CF, Litwak MS, Schroeder CE, Selmaj

- K, Raine CS, Arezzo JC. Preliminary studies of cytokine-induced functional effects on the visual pathways in the rabbit. *J Neuroimmunol* 1989;25(2-3):227-39.
16. Bruck W, Porada P, Poser S, Rieckmann P, Hanefeld F, Kretzschmar HA, et al. Monocyte/macrophage differentiation in early multiple sclerosis lesions. *Ann Neurol* 1995;38(5):788-96.
 17. Cannella B, Hoban CJ, GaoYL, Garcia-Arenas R, Lawson D, Marchionni M, et al. The neuregulin, glial growth factor 2, diminishes autoimmune demyelination and enhances remyelination in a chronic relapsing model for multiple sclerosis. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1998;95(17):10100-5.
 18. Cannella B, Raine CS. The adhesion molecule and cytokine profile of multiple sclerosis lesions. *Ann Neurol* 1995;37(4):424-35.
 19. Carrigan DR, Harrington D, Knox KK. Subacute leukoencephalitis caused by CNS infection with human herpesvirus-6 manifesting as acute multiple sclerosis. *Neurology* 1996;47(1):145-8.
 20. Compston A. Treatment and management of multiple sclerosis. In: Compston A, Ebers G, Lassmann H, McDonald I, Matthews B, Wekerle H, editors. *McAlpine's Multiple Sclerosis*. Third edition ed. London: Churchill Livingstone; 1998. p. 437-98.
 21. Compston A. Neurobiology of multiple sclerosis. In: Compston A, Ebers G, Lassmann H, McDonald I, Matthews B, Wekerle H, editors. *McAlpine's Multiple Sclerosis*. Third edition ed. London: Churchill Livingstone; 1998. p. 283-322.
 22. Compston D. Future options for therapies to limit damage and enhance recovery. *Seminars in Neurology* 1998;18:405-14.
 23. Davie CA, Hawkins CP, Barker GJ, Brennan A, Tofts PS, Miller DH, et al. Serial proton magnetic resonance spectroscopy in acute multiple sclerosis lesions. *Brain* 1994;117(Pt 1):49-58.
 24. Dousset V, Grossman RI, Ramer KN, Schnell MD, Young LH, Gonzalez-Scarano F et al. Experimental allergic encephalomyelitis and multiple sclerosis: lesion characterization with magnetization transfer imaging. *Radiology* 1992;182(2):483-91.
 25. Ebers G. Immunology In: Compston A, Ebers G, Lassmann H, McDonald I, Matthews B, Wekerle H, editors. *McAlpine's Multiple Sclerosis*. Third ed. London: Churchill Livingstone; 1998. p. 403-26.
 26. Ebers G, Sadovnick A. Epidemiology in multiple sclerosis. In: Paty D, Ebers G, editors. *Multiple Sclerosis*. Philadelphia: F.A. Davis Co; 1998. p. 5-28.
 27. Ehrlich GD, Glaser JB, Bryz-Gornia V, Maese J, Waldmann TA, Poiesz BJ, et al. Multiple sclerosis, retroviruses, and PCR. The HTLV-MS Working Group. *Neurology* 1991;41(3):335-43.
 28. Estes ML, Rudick RA, Barnett GH, Ransohoff RM. Stereotactic biopsy of an active multiple sclerosis lesion. Immunocytochemical analysis and neuropathologic correlation with magnetic resonance imaging. *Arch Neurol* 1990;47(12):1299-303.
 29. Faulds D, Benfield P. Interferon beta 1-b in multiple sclerosis. An initial review of its rationale for use and therapeutic potential. *Clin Immunother* 1994;1:79-87.
 30. Filippi M, Campi A, Martinelli V, Colombo B, Yousry T, Canal N, et al. Comparison of triple dose versus standard dose gadolinium-DTPA for detection of MRI enhancing lesions in patients with primary progressive multiple sclerosis. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1995;59(5):540-4.
 31. Filippi M, Capra R, Campi A, Colombo B, Prandini F, Marciano N, et al. Triple dose of gadolinium-DTPA and delayed MRI in patients with benign multiple sclerosis. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1996;60(5):526-30.
 32. Filippi M, Rocca MA, Martino G, Horsfield MA, Comi G. Magnetization transfer changes in the normal appearing white matter precede the appearance of enhancing lesions in patients with multiple sclerosis. *Ann Neurol* 1998;43(6):809-14.
 33. Gao YL, Raine CS, Brosnan CF. Humoral response to hsp 65 in multiple sclerosis and other neurologic conditions. *Neurology* 1994;44(5):941-6.
 34. Gay D, Esiri M. Blood-brain barrier damage in acute multiple sclerosis plaques. An immunocytological study. *Brain* 1991;114(Pt 1B):557-72.
 35. Giovannoni G, Lai M, Kidd D, Thorpe J, Miller DH, Thompson AJ, et al. Daily urinary

- neopterin excretion as an immunological marker of disease activity in multiple sclerosis. *Brain* 1997;120(Pt 1):1-13.
36. Giovannoni G, Lai M, Thorpe J, Kidd D, Chamoun V, Thompson AJ, et al. Longitudinal study of soluble adhesion molecules in multiple sclerosis: correlation with gadolinium enhanced magnetic resonance imaging. *Neurology* 1997; 48(6):1557-65.
 37. Hafler DA, Fox DA, Manning ME, Schlossman SF, Reinherz EL, Weiner HL. In vivo activated T lymphocytes in the peripheral blood and cerebrospinal fluid of patients with multiple sclerosis. *N Engl J Med* 1985;312(22):1405-11.
 38. Hauser SL, Bhan AK, Gilles F, Kemp M, Kerr C, Weiner HL. Immunohistochemical analysis of the cellular infiltrate in multiple sclerosis lesions. *Ann Neurol* 1986;19(6):578-87.
 39. Hawke S. T-cell receptor immunotherapy in multiple sclerosis. *Brain* 1998;121(Pt 8):1391-3.
 40. Hawkins CP, Mackenzie F, Tofts P, du Boulay EP, McDonald WI. Patterns of blood-brain barrier breakdown in inflammatory demyelination. *Brain* 1991;114(Pt 2):801-10.
 41. Hawkins CP, Munro PM, MacKenzie F, Kesseling J, Tofts PS, du Boulay EP, et al. Duration and selectivity of blood-brain barrier breakdown in chronic relapsing experimental allergic encephalomyelitis studied by gadolinium-DTPA and protein markers. *Brain* 1990;113(Pt 2):365-78.
 42. Hayashi T, Morimoto C, Burks JS, Kerr C, Hauser SL. Dual-label immunocytochemistry of the active multiple sclerosis lesion: major histocompatibility complex and activation antigens. *Ann Neurol* 1988;24(4):523-31.
 43. Heresman H, Billiau A. The effects of interferons and other cytokines in experimental autoimmune encephalomyelitis. In: Reder A, editor. *Interferon therapy of multiple sclerosis*. New York: Marcel Dekker Inc.; 1997. p. 215-44.
 44. Hillert J, Leng C, Olerup O. T-cell receptor alpha chain germline gene polymorphisms in multiple sclerosis. *Neurology* 1992;42(1):80-4.
 45. Hohlfeld R, Meinl E, Weber F, Zipp F, Schmidt S, Sotgiu S, et al. The role of autoimmune T lymphocytes in the pathogenesis of multiple sclerosis. *Neurology* 1995;45(6 Suppl 6):S33-8.
 46. Huitinga I, van Rooijen N, de Groot CJ, Uitdehaag BM, Dijkstra CD. Suppression of experimental allergic encephalomyelitis in Lewis rats after elimination of macrophages. *J Exp Med* 1990;172(4):1025-33.
 47. Hunter SF, Rodriguez M. Multiple sclerosis: a unique immunopathological syndrome of the central nervous system. *Springer Semin Immunopathol* 1995;17(1):89-105.
 48. Hunter SF, Weinshenker BG, Carter JL, Noseworthy JH. Rational clinical immunotherapy for multiple sclerosis. *Mayo Clin Proc* 1997;72(8):765-80.
 49. Johnson RT. The virology of demyelinating diseases. *Ann Neurol* 1994;36(Suppl):S54-60.
 50. Kermode AG, Tofts PS, Thompson AJ, MacManus DG, Rudge P, Kendall BE, et al. Heterogeneity of blood-brain barrier changes in multiple sclerosis: an MRI study with gadolinium-DTPA enhancement. *Neurology* 1990;40(2):229-35.
 51. Kojima K, Berger T, Lassmann H, Hinze-Selch D, Zhang Y, Gehrmann J, et al. Experimental autoimmune panencephalitis and uveoretinitis transferred to the Lewis rat by T lymphocytes specific for the S100 beta molecule, a calcium binding protein of astroglia. *J Exp Med* 1994; 180(3):817-29.
 52. Kurtzke J. Epidemiology of multiple sclerosis. In: Hallpike J, Adams C, Tourtellotte W, editors. *Multiple sclerosis: pathology, diagnosis, and management*. Baltimore: Williams & Wilkins; 1983. p. 47-96.
 53. Kwon EE, Prineas JW. Blood-brain barrier abnormalities in longstanding multiple sclerosis lesions. An immunohistochemical study. *J Neuropathol Exp Neurol* 1994;53(6):625-36.
 54. Lassmann H. Pathology of multiple sclerosis. In: Compston A, Ebers G, Lassmann H, McDonald I, Matthews B, Wekerle H, editors. *McAlpine's Multiple Sclerosis*. Third ed. London: Churchill Livingstone; 1998. p. 323-58.
 55. Lassmann H, Suchanek G, Ozawa K. Histopathology and the blood-cerebrospinal fluid barrier in multiple sclerosis. *Ann Neurol* 1994; 36(Suppl):S42-6.
 56. Lassmann H, Wekerle H. Experimental models in multiple sclerosis. In: Compston A, Ebers G,

- Lassmann H, McDonald I, Matthews B, Wekerle H, editors. *McAlpine's Multiple Sclerosis*. Third ed. London: Churchill Livingstone; 1998. p. 409-33.
57. Lee SC, Moore GR, Golenwsky G, Raine CS. Multiple sclerosis: a role for astroglia in active demyelination suggested by class II MHC expression and ultrastructural study. *J Neuropathol Exp Neurol* 1990;49(2):122-36.
 58. Lightman S, McDonald WI, Bird AC, Francis DA, Hoskins A, Batchelor JR, et al. Retinal venous sheathing in optic neuritis. Its significance for the pathogenesis of multiple sclerosis. *Brain* 1987;110(Pt 2):405-14.
 59. Lington C, Bradl M, Lassmann H, Bunner C, Vass K. Augmentation of demyelination in rat acute allergic encephalomyelitis by circulating mouse monoclonal antibodies directed against a myelin/oligodendrocyte glycoprotein. *Am J Pathol* 1988;130(3):443-54.
 60. Lington C, Engelhardt B, Kapocs G, Lassman H. Induction of persistently demyelinated lesions in the rat following the repeated adoptive transfer of encephalitogenic T cells and demyelinating antibody. *J Neuroimmunol* 1992;40(2-3):219-24.
 61. Lington C, Lassmann H. Antibody responses in chronic relapsing experimental allergic encephalomyelitis: correlation of serum demyelinating activity with antibody titre to the myelin/oligodendrocyte glycoprotein (MOG). *J Neuroimmunol* 1987;17(1):61-9.
 62. Lucarelli MJ, Pepose JS, Arnold AC, Foos RY. Immunopathologic features of retinal lesions in multiple sclerosis. *Ophthalmology* 1991;98(11):1652-6.
 63. Lucchinetti CF, Brueck W, Rodriguez M, Lassmann H. Multiple sclerosis: lessons from neuropathology. *Semin Neurol* 1998;18(3):337-49.
 64. Ludwin SK, Johnson ES. Evidence for a "dying-back" gliopathy in demyelinating disease. *Ann Neurol* 1981;9(3):301-5.
 65. Lumsden C. The neuropathology of multiple sclerosis. In: Vinken P, Bruyn G, editors. *Handbook of Clinical Neurology*. Amsterdam: North Holland; 1970. p. 217-309.
 66. Luster AD. Chemokines—chemotactic cytokines that mediate inflammation. *N Engl J Med* 1998;338(7):436-45.
 67. Male D. Cell migration and inflammation. In: Roitt I, Brostoff J, Male D, editors. *Immunology* Forth ed. London: Mosby; 1996. p. 14.2-9.
 68. Marburg O. Multiple Sklerose (Encephalomyelitis periaxialis scleroticans disseminata). In: Bumke O, Foerster O, editors. *Handbuch der Neurologie*. Berlin: Julius Springer Verlag; 1936. p. 546-671.
 69. Martino G, Filippi M, Martinelli V, Brambilla E, Comi G, Grimaldi LM. Clinical and radiologic correlates of a novel T lymphocyte gamma-interferon-activated Ca²⁺ influx in patients with relapsing-remitting multiple sclerosis. *Neurology* 1996;46(5):1416-21.
 70. McDonald I. Pathophysiology of multiple sclerosis. In: Compston A, Ebers G, Lassmann H, McDonald I, Matthews B, Wekerle H, editors. *McAlpine's Multiple Sclerosis*. Third edition ed. London: Churchill Livingstone; 1998. p. 359-78.
 71. McCallum K, Esiri MM, Tourtellotte WW, Booss J. T cell subsets in multiple sclerosis. Gradients at plaque borders and differences in nonplaque regions. *Brain* 1987;110(Pt 5):1297-308.
 72. McFarlin DE, McFarland HF. Multiple sclerosis (second of two parts). *N Engl J Med* 1982;307(20):1246-51.
 73. McFarlin DE, McFarland HF. Multiple sclerosis (first of two parts). *N Engl J Med* 1982;307(19):1183-8.
 74. Mehta PD, Cook SD, Troiano RA, Coyle PK. Increased free light chains in the urine from patients with multiple sclerosis. *Neurology* 1991;41(4):540-4.
 75. Miller DH, Rudge P, Johnson G, Kendall BE, Macmanus DG, Moseley IF, et al. Serial gadolinium enhanced magnetic resonance imaging in multiple sclerosis. *Brain* 1988;111(Pt 4):927-39.
 76. Miller JR, Burke AM, Bever CT. Occurrence of oligoclonal bands in multiple sclerosis and other CNS diseases. *Ann Neurol* 1983;13(1):53-8.
 77. Mokhtarian F, McFarlin DE, Raine CS. Adoptive transfer of myelin basic protein-sensitized T cells produces chronic relapsing demyelinating disease in mice. *Nature* 1984;309(5966):356-8.
 78. Moore G. Neuropathology and pathophysiol-

- ogy of multiple sclerosis. In: Paty D, Ebers G, editors. *Multiple Sclerosis*. Philadelphia: F.A. Davis Co; 1998. p. 257-327.
79. Moreau T, Thorpe J, Miller D, Moseley I, Hale G, Waldmann H, et al. Preliminary evidence from magnetic resonance imaging for reduction in disease activity after lymphocyte depletion in multiple sclerosis. *Lancet* 1994;344(8918):298-301.
 80. Morrissey SP, Stodal H, Zettl U, Simonis C, Jung S, Kiefer R, et al. In vivo MRI and its histological correlates in acute adoptive transfer experimental allergic encephalomyelitis. Quantification of inflammation and oedema. *Brain* 1996;119(Pt 1):239-48.
 81. Oksaranta O, Tarvonen S, Ilonen J, Poikonen K, Reunanen M, Panelius M, et al. T-cell subpopulations in the cerebrospinal fluid and peripheral blood of patients with multiple sclerosis: a follow-up study. *Neurology* 1996;47(6):1542-5.
 82. Olsson T. Cerebrospinal fluid. *Ann Neurol* 1994; 36 (suppl 1):s100-s2.
 83. Olsson T, Baig S, Hojberg B, Link H. Antimyelin basic protein and antimyelin antibody-producing cells in multiple sclerosis. *Ann Neurol* 1990;27(2):132-6.
 84. Ozawa K, Suchanek G, Bräitschopf H, Bruck W, Budka H, Jellinger K, et al. Patterns of oligodendroglia pathology in multiple sclerosis. *Brain* 1994;117(Pt 6):1311-22.
 85. Panitch HS. Influence of infection on exacerbations of multiple sclerosis. *Ann Neurol* 1994; 36:s25-s8.
 86. Perier O, Gregoire A. Electron microscopic features of multiple sclerosis lesions. *Brain* 1965; 88(5):937-52.
 87. Peters G. Multiple Sklerose. In: Scholz W, editor. *Handbuch der speziellen pathologischen anatomie und histologie*. 13 Band-Nervensystem, Bandteil, A. Berlin: Springer Verlag; 1958. p. 525-602.
 88. Peters G. Encephalomyelitis disseminata non purulenta acuta (acute multiple sklerose). In: Scholz W, editor. *Handbuch der speziellen pathologischen anatomie und histologie*. 13 Band-Nervensystem, Bandteil, A. Berlin: Springer Verlag; 1958. p. 603-29.
 89. Peterson P. Transfer of allergic encephalomyelitis in rats by means of lymph node cells. *Journal of Experimental Medicine* 1960;111:119 - 35.
 90. Prabhakar S, Kurien E, Gupta RS, Zielinski S, Freedman MS. Heat shock protein immunoreactivity in CSF: correlation with oligoclonal banding and demyelinating disease. *Neurology* 1994; 44(9):1644-8.
 91. Prineas JW, Barnard RO, Kwon EE, Sharer LR, Cho ES. Multiple sclerosis: remyelination of nascent lesions. *Ann Neurol* 1993;33(2):137-51.
 92. Prineas JW, Barnard RO, Revesz T, Kwon EE, Sharer L, Cho ES. Multiple sclerosis. Pathology of recurrent lesions. *Brain* 1993;116(Pt 3):681-93.
 93. Prineas JW, Graham JS. Multiple sclerosis: capping of surface immunoglobulin G on macrophages engaged in myelin breakdown. *Ann Neurol* 1981;10(2):149-58.
 94. Prineas JW, Kwon EE, Goldenberg PZ, Ilyas AA, Quarles RH, Benjamins JA, et al. Multiple sclerosis. Oligodendrocyte proliferation and differentiation in fresh lesions. *Lab Invest* 1989;61(5): 489-503.
 95. Prineas JW, Mc Donald W. Demyelinating diseases. In: Grahams D, Llantos P, editors. *Greenfield's Neuropathology*. London: E. Arnold; 1997. p. 815-68.
 96. Prineas JW, Wright RG. Macrophages, lymphocytes, and plasma cells in the perivascular compartment in chronic multiple sclerosis. *Lab Invest* 1978;38(4):409-21.
 97. Raine C. Demyelinating disease. In: Davis R, Roberson D, editors. *Textbook of neuropathology*. Baltimore: Williams & Wilkins; 1991. p. 535-620.
 98. Raine C. The Dale E. McFarlin memorial lecture: The immunology of the multiple sclerosis lesion. *Ann Neurol* 1994;36:s61-s72.
 99. Raine CS, Powers JM, Suzuki K. Acute multiple sclerosis. Confirmation of paramyxovirus-like intranuclear inclusions. *Arch Neurol* 1974; 30(1): 39-46.
 100. Ransohoff RM, Tuohy V, Lehmann P. The immunology of multiple sclerosis: new intricacies and new insights. *Curr Opin Neurol* 1994;7(3):242-9.
 101. Reiser H, Stadelcker MJ. Costimulatory B7 molecules in the pathogenesis of infectious and autoimmune diseases. *N Engl J Med* 1996; 335(18):1369-77.

102. Rieckmann P, Albrecht M, Kitze B, Weber T, Tumani H, Broocks A, et al. Tumor necrosis factor-alpha messenger RNA expression in patients with relapsing-remitting multiple sclerosis is associated with disease activity *Ann Neurol* 1995;37(1):82-8.
103. Rodriguez M. Multiple sclerosis: basic concepts and hypothesis. *Mayo Clin Proc* 1989;64:570-6.
104. Rodriguez M. Multiple sclerosis: insights into molecular pathogenesis and therapy *Mayo Clin Proc* 1997;72(7):663-4.
105. Rook G. Cell - mediated immune reactions. In: Roitt I, Brostoff J, Male D, editors. *Immunology* Forth ed. London: Mosby; 1996. p. 9.1-9.15.
106. Rudick RA, Ransohoff RM, Lee JC, Pepler R, Yu M, Mathisen PM, et al. In vivo effects of interferon beta-1a on immunosuppressive cytokines in multiple sclerosis. *Neurology* 1998; 50(5):1294-300.
107. Sanders VJ, Waddell AE, Felisan SL, Li X, Conrad AJ, Tourtellotte WW. Herpes simplex virus in postmortem multiple sclerosis brain tissue. *Arch Neurol* 1996;53(2):125-33.
108. Selmaj KW, Raine CS. Experimental autoimmune encephalomyelitis: immunotherapy with anti-tumor necrosis factor antibodies and soluble tumor necrosis factor receptors. *Neurology* 1995;45(6 Suppl 6):S44-9.
109. Smith ME, Stone LA, Albert PS, Frank JA, Martin R, Armstrong M, et al. Clinical worsening in multiple sclerosis is associated with increased frequency and area of gadopentetate dimeglumine-enhancing magnetic resonance imaging lesions. *Ann Neurol* 1993;33(5):480-9.
110. Sorensen TL, Ransohoff RM. Etiology and pathogenesis of multiple sclerosis. *Semin Neurol* 1998;18(3):287-94.
111. Stewart G, Kock R. The genetics of multiple sclerosis. The HLA system and other genetic markers. In: Hallpike J, Adams C, Tourtellotte W, editors. *Multiple sclerosis: pathology, diagnosis, and management*. Baltimore: Williams & Wilkins; 1983. p. 97-128.
112. Strich S. Diffuse degeneration of the cerebral white matter in severe dementia following head injury. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1956; 19:163-85.
113. Szuchet S, Dumas M. An in-vitro approach to the study of oligodendrocytes and their involvement in multiple sclerosis. *Neurol Clin* 1983; 1(3):729-55.
114. Ter Meulen V, Stephenson J. The possible role of viral infections in multiple sclerosis and other demyelinating diseases. In: Hallpike J, Adams C, Tourtellotte W, editors. *Multiple sclerosis: pathology, diagnosis, and management*. Baltimore: Williams & Wilkins; 1983. p. 241-74.
115. Traugott U, Reinherz EL, Raine CS. Multiple sclerosis. Distribution of T cells, T cell subsets and Ia-positive macrophages in lesions of different ages. *J Neuroimmunol* 1983;4(3):201-21.
116. Trojano M, Avolio C, Simone IL, Defazio G, Manzari C, De Robertis F, et al. Soluble intercellular adhesion molecule-1 in serum and cerebrospinal fluid of clinically active relapsing-remitting multiple sclerosis: correlation with Gd-DTPA magnetic resonance imaging-enhancement and cerebrospinal fluid findings. *Neurology* 1996;47(6):1535-41.
117. Tsukada N, Miyagi K, Matsuda M, Yanagisawa N. Increased levels of circulating intercellular adhesion molecule-1 in multiple sclerosis and human T-lymphotropic virus type I-associated myelopathy. *Ann Neurol* 1993;33(6):646-9.
118. van Noort JM, van Sechel AC, Bajramovic JJ, el Ouagmiri M, Polman CH, Lassmann H, et al. The small heat-shock protein alpha B-crystallin as candidate autoantigen in multiple sclerosis. *Nature* 1995;375(6534):798-801.
119. van Oosten BW, Barkhof F, Scholten PE, von Blomberg BM, Ader HJ, Polman CH. Increased production of tumor necrosis factor alpha, and not of interferon gamma, preceding disease activity in patients with multiple sclerosis. *Arch Neurol* 1998;55(6):793-8.
120. van Oosten BW, Barkhof F, Truyen L, Boringa JB, Bertelsmann FW, von Blomberg BM, et al. Increased MRI activity and immune activation in two multiple sclerosis patients treated with the monoclonal anti-tumor necrosis factor antibody cA2. *Neurology* 1996;47(6):1531-4.
121. van Oosten BW, Uitdehaag BM, Barkhof F, Hartung HP, Wagstaff J, Polman CH. Interleukin-2 therapy does not exacerbate multiple sclerosis. *Neurology* 1997;49(2):633-4.
122. van Walderveen MA, Barkhof F, Hommes OR,

- Polman CH, Tobin H, Frequin ST, et al. Correlating MRI and clinical disease activity in multiple sclerosis: relevance of hypointense lesions on short-TR/short-TE (T1-weighted) spin-echo images. *Neurology* 1995;45(9):1684-90.
123. van Walderveen MA, Kamphorst W, Scheltens P, van Waesberghe JH, Ravid R, Valk J, et al. Histopathologic correlate of hypointense lesions on T1-weighted spin-echo MRI in multiple sclerosis. *Neurology* 1998;50(5):1282-8.
124. Walthard B, Walthard K. Encephalitis nach vaccination, variola, morbilli und varicelle. In: Scholtz W, editor. *Handbuch der speziellen pathologischen anatomie und histologie*. Berlin: Springer Verlag; 1958. p. 770-825.
125. Weinshenker BG, Wingerchuk DM, Liu Q, Bissonet AS, Schaid DJ, Sommer SS. Genetic variation in the tumor necrosis factor alpha gene and the outcome of multiple sclerosis. *Neurology* 1997;49(2):378-85.
126. Wekerle H, Kojima K, Lannes-Weira J, Lassmann H, Lington C. Animal models. *Ann Neurol* 1994;36(Suppl):S47-53.
127. Wekerle H, Lassmann H. Immunology of multiple sclerosis. In: Compston A, Ebers G, Lassmann H, McDonald I, Matthews B, Wekerle H, editors. *McAlpine's Multiple Sclerosis*. Third edition ed. London: Churchill Livingstone; 1998. p. 379-408.
128. Whitaker JN, Kachelhofer RD, Bradley EL, Burgard S, Layton BA, Reder AT, et al. Urinary myelin basic protein-like material as a correlate of the progression of multiple sclerosis. *Ann Neurol* 1995;38(4):625-32.
129. Wisniewski HM, Bloom BR. Primary demyelination as a nonspecific consequence of a cell-mediated immune reaction. *J Exp Med* 1975;141(2):346-59.
130. Wood NW, Sawcer SJ, Kellar-Wood HF, Holmans P, Clayton D, Robertson N, et al. The T cell receptor beta locus and susceptibility to multiple sclerosis. *Neurology* 1995;45(10):1859-63.
131. Woyciechowska JL, Brzosko WJ. Immunofluorescence study of brain plaques from two patients with multiple sclerosis. *Neurology* 1977;27(7):620-2.
132. Zhang Y, Burger D, Saruhan G, Jeannet M, Steck AJ. The T-lymphocyte response against myelin-associated glycoprotein and myelin basic protein in patients with multiple sclerosis. *Neurology* 1993;43(2):403-7.
133. Zhao G, Li D, Tanton B, Paty D. Assessment of activity of the individual lesions in relapsing-remitting multiple sclerosis on magnetic resonance imaging. *Ann Neurol* 1991;30:270.
134. Zipp F, Kerschensteiner M, Dornmair K, Malotka J, Schmidt S, Bender A, et al. Diversity of the anti-T-cell receptor immune response and its implications for T-cell vaccination therapy of multiple sclerosis. *Brain* 1998;121(Pt 8):1395-407.
135. Zipp F, Weber F, Huber S, Sotgiu S, Czlonskowska A, Holler E, et al. Genetic control of multiple sclerosis: increased production of lymphotoxin and tumor necrosis factor-alpha by HLA-DR2+ T cells. *Ann Neurol* 1995; 38(5): 723-30.