

IMUNOPATOGENÉZA MYASTHENIA GRAVIS A LAMBERTOVHO— EATONOVHO MYASTHENICKÉHO SYNDRÓMU

LISÝ L.

IMMUNOPATHOGENESIS OF MYASTHENIA GRAVIS AND LAMBERT— EATON MYASTHENIC SYNDROME

Myasthenia gravis (MG) and Lambert—Eaton myasthenic syndrome (LEMS) are autoimmune diseases manifestant a disorder of neuromuscular transmission. In MG, the autoimmune process is directed against the postsynaptic part whereas in LEMS, it is focused at the presynaptic part of this connection. Current immunological studies have confirmed the polyclonal and heterogenous characters of the autoimmune process. In patient with MG, the presence of antibodies against various epitopes of acetylcholine receptor, as well as against other muscular fiber protein (e.g. ryanodine receptor, titin, myosin, etc.) were confirmed. Patients with LEMS yielded antibodies against the proteins of various types of voltage-dependent calcium channels located in the presynaptic part of the motor nerve ending, as well as those against synaptotagmin. These findings indicate the necessity of a more complex immunological examination of patients in order to clarify both variability of clinical picture and prospective planning of specific immunotherapy. (Tab. 4, Fig. 3, Ref. 25.)

Key words: immunopathogenesis, myasthenia gravis, Lambert—Eaton myasthenic syndrome.

Bratisl Lek Listy 1997, 98: 217–220

Myasthenia gravis (MG) a Lambertov—Eatonov myastenický syndróm (LEMS) sú autoimunitné ochorenia prejavujúce sa poruchou nervovosvalovej transmisie. Pri MG je autoimunitný proces zameraný na postsynaptickú časť a pri LEMS na presynaptickú časť tohto spojenia. Doterajšie imunologické štúdie potvrdili polyklomový a heterogénny charakter autoimunitného procesu. U pacientov s MG sa zistila prítomnosť protilátok nielen proti rôznym epitopom acetylcholinového receptora, ale aj proti ďalším proteínom svalového vlákna (ryanodínový receptor, titín, myozín a iné). U pacientov s LEMS sa zistili aj protilátky proti proteínom rôznych typov napäťovo závislých kalciových kanálov nachádzajúcich sa v presynaptickej časti zakončenia motorického nervu, ako aj synaptotagmínu. Tieto zistenia poukazujú na potrebu vykonávania komplexnejšieho imunologického vyšetrenia týchto pacientov za účelom objasnenia variabilnosti klinického obrazu a perspektívneho plánovania špecifickej imunoterapie. (Tab. 4, obr. 3, lit. 25.)

Kľúčové slová: imunopatogenéza, myasthenia gravis, Lambertov—Eatonov myastenický syndróm.

Bratisl. lek. Listy, 98, 1997, č. 4, s. 217–220

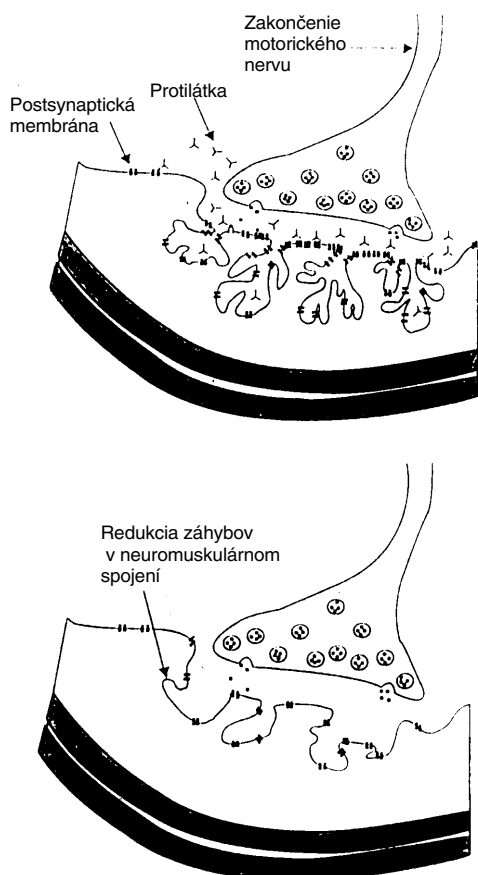
Myasthenia gravis (MG) a Lambertov—Eatonov myastenický syndróm (LEMS) sú autoimunitné ochorenia prejavujúce sa rýchlou unaviteľnosťou a slabosťou skeletových svalov. Pri oboch ochoreniach je autoimunitným procesom postihnutá oblasť nervovosvalového spojenia. Pri MG je to jeho postsynaptická časť a pri LEMS presynaptická časť. Imunologické mechanizmy, ako aj klinický a elektrofyziologický obraz týchto dvoch ochorení sa odlišuje, a preto sa im budem venovať oddelene. Zriedkavo sa môžu oba typy autoimunitného postihnutia vyskytnúť súčasne u toho istého pacienta a v tomto prípade možno hovoriť o takzvanom „over-lap syndrome“.

Myasthenia gravis

O autoimunitných mechanizmoch vzniku MG sa uvažovalo už roku 1960 (Strauss a spol., 1960, Simpson, 1960). Strauss a spol. zistili v tomto roku prítomnosť protilátok proti striatonálnym proteínom svalových vlákien v sére pacientov postihnutých MG. K potvrdeniu autoimunitnej hypotézy ochorenia došlo až po objavení toxínov blokujúcich nikotínový typ acetylcholinového receptora (AChR) (Lee, 1972). Následne sa zistil znížený počet AChR v nervovosvalovom spojení pacientov s MG (Fambrough a spol., 1973) (obr. 1) a vytvoril sa experimentálny model MG (Patrick a Lindstrom, 1973, Heilbronn a spol., 1975). Protilátky proti AChR sa zistili u väčšiny pacientov s MG (Almon a spol., 1974, Lindstrom a spol., 1976). To, že MG vzniká na základe autoimunitných mechanizmov podporujú tak experimentálne (tab. 1), ako aj klinické (tab. 2) pozorovania. Tak v experimentálnych modeloch, ako aj pri ľudskej MG protilátky proti AChR

Neurologická klinika Inštitútu pre ďalšie vzdelávanie v zdravotníctve v Bratislave

Neurological Clinic, Institute for Education in the Health Care, Bratislava
Address for correspondence: L. Lisý, MD, Neurologická klinika IVZ, NsP Ružinov, Ružinovská 6, 826 06 Bratislava, Slovakia.



Obr. 1. Ultraštruktúrne zmeny v nervosvalovom spojení pacientov s myasthenia gravis. Hore: protilátky proti acetylcholinovým receptorom prepájajú susedné receptory, čo vedie k internalizácii a degradácii receptorov a k poškodeniu postsynaptickej membrány. Dole: konečným následkom je zníženie počtu acetylcholinových receptorov a záhybov v postsynaptickej membráne.

Fig. 1. Ultrastructural changes at the neuromuscular junction in patients with myasthenia gravis. Top of figure: antibodies against acetylcholine receptor crosslink adjacent receptors resulting in internalization and degradation of the receptors and damage to the postsynaptic membrane. Bottom of figure: the ultimate effect is simplification of the junctional folds and reduced numbers of acetylcholine receptors.

majú polyklonový a heterogénny charakter. Navyše môže byť MG spojená s mnohými inými autoimunitnými poruchami, a preto mnohé iné protilátky možno zistiť u týchto pacientov (Biesecker, 1983). Sú to napríklad protilátky proti priečne pruhovanému svalu (50 % pacientov), tyreoglobulínu (40 %), typocytom (80 %), DNA a jadram buniek. Vyšetrovanie funkcie štítnej žľazy u pacientov s MG je veľmi dôležité. Môže sa vyskytnúť tak hyperfunkcia, ako aj hypofunkcia štítnej žľazy. Obe tieto poruchy sa zúčastňujú na zvýraznení svalovej slabosti. Antistriatonálne protilátky sa nachádzajú u väčšiny mladých pacientov (do 40 rokov) s výskytom tymómu. U starších pacientov (nad 40 rokov) je výskyt týchto protilátok častejší aj bez prítomnosti tymómu (Engel, 1986). Pomocou monoklonových protilátok proti AChR získaných z myši s experimentálnou formou MG a pacientov s MG sa podarilo identifikovať viaceré antigénové epitopy

Tab. 1. Experimentálne pozorovanie podporujúce autoimunitnú etiológiu myasthenia gravis.

Tab. 1. Experimental observation supporting the autoimmune etiology of myasthenia gravis.

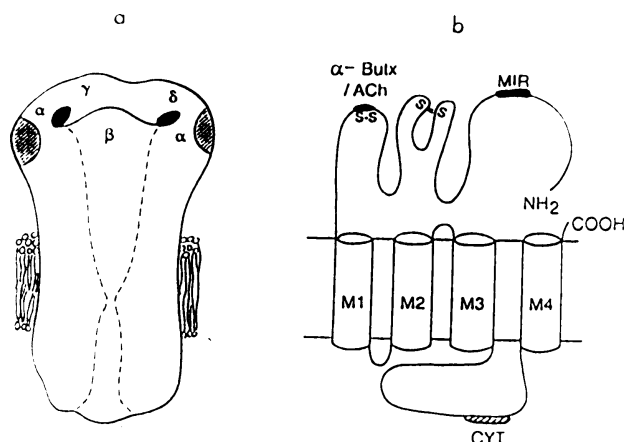
1. Výskyt myasthenia gravis podobného syndrómu u myši po injekčnom podaní IgG pacientov s myasthenia gravis (pasívny prenos protilátok)
2. Zistenie prítomnosti IgG a komplementu v postsynaptickej membráne pacientov s myasthenia gravis
3. Vyvolanie myasthenia gravis podobného syndrómu u experimentálnych zvierat imunizáciou proti acetylcholinovému receptoru

Tab. 2. Klinické pozorovania podporujúce autoimunitnú etiológiu myasthenia gravis.

Tab. 2. Clinical observations supporting the autoimmune etiology of myasthenia gravis.

1. Prítomnosť asociovaných autoimunitných ochorení (autoimunitná tyreoiditída, systémový lupus erythematosus, reumatoidná artritída) u pacientov s myasthenia gravis a ich rodinných príslušníkov
2. U detí narodených myastenickým matkám sa môže prechodne objaviť myasthenia gravis
3. Terapeutický účinok imunomodulačnej liečby (plazmaferéza, kortikosteroidy, intravenózna aplikácia IgG, tymektómia)
4. Protilátky proti acetylcholinovým receptorom sa zistia v sére približne u 80–90 % pacientov s myasthenia gravis

AChR. Hlavná imunogénna oblasť (main immunogenic region — MIR) sa rozprestiera medzi aminokyselinami 67–76 alfapodjednotky AChR (Tzartos a spol., 1988) (obr. 2). V extracytoplazmatickej časti alfapodjednotky AChR sa našli aj ďalšie menej špecifické miesta. Pri imunizácii s denaturovaným receptorom sa tvoria hlavne protilátky proti jeho intracytoplazmatickej časti. Zistilo sa až 25 epitopov AChR. Ich najčastejší výskyt je v transmembránovej časti M3–M4 všetkých podjednotiek AChR. Väčšina protilátok vyskytujúcich sa u pacientov s myasthenia gravis je nasmerovaná k alfapodjednotke AChR. Protilátky proti AChR sú triedy IgG s predominciou podtriedy IgG1 a IgG3 (Nielsen a spol., 1985). Následná aktivácia komplementu môže byť hlavným mechanizmom v patogenéze MG. Pri použití rádioimunologickej metódy vyšetrenie (RIA) je hladina protilátok proti AChR u pacientov s MG v rozmedzí 0,2–1549 nmol/l referenčného intervalu na 95 % hladine spoľahlivosti. U kontrolných zdravých osôb sa udávajú v rozmedzí 0,0–0,4 nmol/l (Sommer, 1993). Pri akceptovaní hraničnej hladiny 0,5 nmol/l sa interval spoľahlivosti testu posúva prakticky k 100 % hladine. Falošne pozitívne výsledky (nízke titre) sa zistili u pacientov s tymómom bez MG, amyotrofickéj laterálnej sklerózy, penicilamínom liečených pacientov bez MG, po transplantácii kostnej drene, tardívnej dyskinézie, novorodencov matiek s pozitívou protilátok proti AChR, prvostupňových príbuzných pacientov s MG a monozygotných dvojčiat bez prejavov MG. Z biologického hľadiska však nemožno považovať tieto výsledky za falošne pozitívne. U pacientov s MG hladina protilátok, ako aj ich výskyt väčšinou koreluje so stupňom klinického postihnutia. Pri okulárnej forme MG sa zistila ich najnižšia hladina, ako aj najnižší výskyt. U pacientov s MG sa zistila aj reaktivita T-lymfocytov s AChR. Výskyt tejto reakcie sa preukázal až u 90 % pacientov s MG. Podarilo sa identifikovať až 23 epitopov na molekule AChR, s ktorými reagujú T-lymfocyty s prítomným DR3 povrchovým anti-



Obr. 2. Schéma acetylcholinového receptora s jeho piatimi podjednotkami. a) Jeho umiestnenie v membráne. b) Transmembránová topografia alfa-podjednotky. Hlavná imunogénna oblasť, MIR, zahŕňa úsek alfa-67 a alfa-BuTx/ACh väzbové miesto (zahŕňujúce alfa-185—186 sú umiestnené extracelulárne). Ďalšie imunogénne miesto sa zistilo v oblasti cytoplazmovej kľučky (CYT), no protilátky proti nemu nie sú schopné vyvolať in vivo ochorenie.

Fig. 2. Diagram representing the acetylcholine receptor with its five subunits. a) As it appears in the membrane. b) Transmembrane topography of the alpha-subunit. The main immunogenic region, MIR, involves alpha-67—76, and alpha-BuTx/ACh binding sites (involving alpha-185—186) are situated extracellularly. Another immunogenic region is found within the cytoplasmic loop (CYT), but antibodies directed toward this region will not be able to cause disease in vivo.

génom (Malcherek a spol., 1993). Toto zistenie môže predstavovať nový podnet k hľadaniu ciest špecifickej terapie MG. Predpokladá sa, že pri iniciácii a udržiavaní autoimunitného procesu proti AChR má významnú úlohu týmus. Tento predpoklad podporuje priaznivý terapeutický účinok tymektómie zistením výskytu pre AChR špecifických T-lymfocytov, ako aj prítomnosťou myoidných buniek produkujúcich AChR v týmusovej žľaze (Werkerle, 1993). U pacientov s MG prítomnosť tohto AChR môže viesť k vytvoreniu pre AChR špecifických T-pomocných buniek podporujúcich produkciu protilátok proti AChR B-lymfocytmi. Iná hypotéza týkajúca sa mechanizmov vzniku MG sa opiera o teóriu molekulovej podobnosti AChR s niektorým vírusovým alebo environmentálnym antigénom. Čiastočná sekvenčná identita sa napríklad zistila aj s vírusom herpes simplex typ 1 (Tsuchiya a spol., 1992).

Protilátky proti AChR zodpovedajú v konečnom dôsledku za vznik štruktúrnych zmien v nervosvalovom spojení. Možné mechanizmy, ktoré sa tu uplatňujú, sú v tabuľke 3. Približne u 15 % pacientov s myasthenia gravis sa vyskytuje tymóm. U tých pacientov sa často vyskytujú autoprotilátky proti rôznym proteínom priečne pruhovaného svalu menovite titínu, myozínu, aktínu a alfaaktínu (Aarli a spol., 1990, Williams a spol., 1990). Nedávno sa zistila aj prítomnosť protilátok proti ryanodínovému receptoru, ktorý sa nachádza v oblasti sarkoplazmatického retikula svalových vlákien. Ide o receptor s iónovým kanálom pre kalcium. Protilátky proti ryanodínovému receptoru sa našli u 50 % pacientov s MG a tymómom (Mygland, 1992). Prítomnosť týchto protilátok predurčuje ťažší priebeh ochorenia. Imunogenetické štúdie preukázali asociáciu HLA A1, B8 a DR3 s generalizovanou formou myasthenia gravis (Degli-Esposti, 1992). Pacientov

Tab. 3. Možné mechanizmy vedúce k poškodeniu nervosvalového spojenia protilátkami proti acetylcholinovým receptorom.

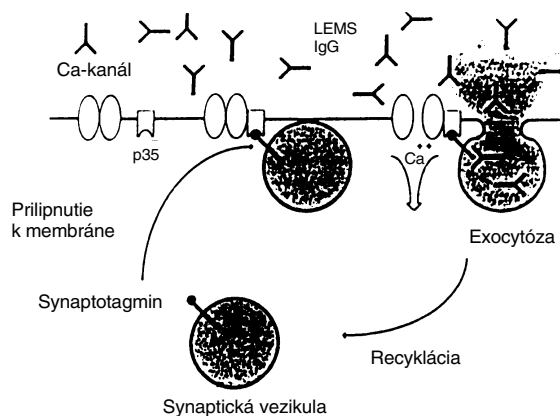
Tab. 3. Possible mechanisms for damage to the neuromuscular junction by anti-acetylcholine receptor antibody.

1. Spojenie dvoch acetylcholinových receptorov protilátkami urýchľuje degradáciu molekúl acetylcholinových receptorov
2. Komplementom sprostredkovaná deštrukcia v receptorovej oblasti nervosvalovej platničky
3. Protilátky blokujú väzbu acetylcholínu na acetylcholinový receptor

Tab. 4. Podskupiny MG.

Tab. 4. MG subgroups.

	Podskupina I	Podskupina II	Podskupina III
III	Subgroup I	Subgroup II	Subgroup III
Patológia týmusu	hyperplázia	tymóm	atrofia týmu
Thymus pathology	hyperplasy	thymom	thymus atrophy
Začiatok (roky)	40	30-60	40
Beginning (years)			
Asociácia s HLA	B8, DR3	-	B7, DR2
Asotiation with HLA			
Muži:ženy	1:3	1:1	2:1
Men:women			
Podľa Grausa a DeBaetsa (1993)			
According to Graus et DeBaets (1993)			



Obr. 3. Účasť synaptotagminu a kalciových kanálov na prilipnutí synaptických vezikúl k exocytotoxickej aktívnej zóne postsynaptickej membrány. Iné proteíny ako p35 (syntaxín) sa môžu na tomto procese spolupodúčastniť. Po exocytóze intravezikulárna časť synaptotagminu je sprístupnená IgG LEMS.

Fig. 3. The association between synaptotagmin and calcium channels could play a role in docking synaptic vesicles at exocytotoxic sites of the active zone. Other proteins such as p35 (syntaxin) may be involved in this interaction. After exocytosis the intravesicular N-terminal domain of synaptotagmin would become accessible to LEMS IgG.

s myasthenia gravis možno na základe porovnania patológie týmusu, veku, HLA-asociácie a pomeru výskytu ochorenia u oboch pohlaví rozdeliť do troch podskupín (Graus a DeBaets, 1993) (tab. 4).

Lambertov—Eatonov myastenický syndróm (LEMS)

Ide tiež o autoimunitne podmienenú poruchu nervovosvalovej transmisie často sa vyskytujúcu v spojitosti s malobunkovým karcinómom pľúc. K poruche transmisie dochádza v presynaptickej časti nervovosvalového spojenia. Prejaví sa to defektným uvoľňovaním acetylcholínu do synaptickej štrbiny. Prítomnosť malobunkového karcinómu pľúc je spojená s iniciáciou produkcie auto-proti látok, ktoré môžu reagovať s homológnyimi cieľmi v terminálnej časti motorického nervu. Ako antigény pri LEMS sa určili dva presynaptické proteíny, a to proteín napätovo-závislého kalciového kanála a synaptickej vezikuly pomenovaný ako synaptotagmín (obr. 3). Napätovo-závislý kalciový kanál vplýva na uvoľňovanie transmittera do synaptickej štrbiny regulovaním prieniku kalcia do terminálnej presynaptickej časti motoneurónu. Preukázalo sa, že v sére pacientov s LEMS sa nachádzajú protilátky proti rôznym typom napätovo-závislých kalciových kanálov, a to N, L a podobnému P/Q-typu (Login a spol., 1987, Lennon a spol., 1993). Synaptotagmín je kalcium a fosfolipid viažúci proteín integrovaný do membrány synaptickej vezikuly. Má kľúčovú úlohu pri uvoľňovaní transmittera do synaptickej štrbiny pravdepodobne ako senzor kalcia pre exocytózu synaptických vezikúl. Potvrdenie výskytu protilátok proti synaptotagmínu v sére pacientov s LEMS, ako aj zistenie ich skříženej reaktivity poukazuje heterogenitu autoimunitného procesu v tejto oblasti (Takamori a spol., 1995). Dosiaľ sa identifikovalo päť izoforiem synaptotagmínu (Craxton a Goedert, 1995). Možno predpokladať, že pri ďalších imunologických štúdiách tohto ochorenia sa môže preukázať ešte väčšia komplexnosť autoimunitného procesu.

Literatúra

Aarli J.A., Stefansson K., Marton L.S.G., Wollmann R.L.: Patients with myasthenia gravis and thymoma have their sera IgG autoantibodies against titin. *Clin. exp. Immunol.*, 82, 1990, s. 284–289.

Almon R.R., Andrew C.G., Appel S.H.: Serum globulin in myasthenia gravis: inhibition of alpha-bungarotoxin binding to acetylcholine receptors. *Science*, 186, 1974, s. 55–57.

Biesecker G., Koffler D.: Immunology of myasthenia gravis. *Hum. Pathol.*, 14, 1983, č. 5, s. 419–423.

Craxton M., Goedert M.: Synaptotagmin V, a novel synaptotagmin isoform expressed in rat brain. *FEBS Lett.*, 361, 1995, s. 196–200.

Degli-Esposti M.A., Andreas A., Christiansen E.T., Schalke B., Albert E., Dawkins R.L.: An approach to the localization of the susceptibility genes for generalized myasthenia gravis by mapping recombinant ancestral haplotypes. *Immunogenetics*, 35, 1992, s. 335–364.

Engel A.G.: Myasthenia gravis and myasthenic syndromes. *Ann. Neurol.*, 16, 1984, s. 519–534.

Fambrough D.M., Drachman D.B., Saatyamurti S.: Neuromuscular junction in myasthenia gravis: Decreased acetylcholine receptors. *Science*, 182, 1973, s. 293–295.

Graus Y.M.F., DeBaets M.H.: Myasthenia gravis: An autoimmune response against the acetylcholine receptor. *Immunol. Res.*, 12, 1993, s. 78–100.

Heilbronn E., Mattson C., Stalberg E., Hilton Brown P.: Neurophysiological signs of myasthenia in rabbits after receptor antibody development. *J. Neurol. Sci.*, 24, 1975, s. 59–64.

Lee C.Y.: Chemistry and pharmacology of polypeptide toxins in snake venoms. *Ann. Rev. Pharmacol.*, 12, 1972, s. 265–280.

Lennon V.A., Kryzer T., Kriesmann G.E., Pinsky N.A., Miljanich G. a spol.: P-like Ca²⁺ channels in human cerebellum and small cell lung carcinoma bind omega-conotoxin MVIIC and are immunoprecipitable by Lambert—Eaton myasthenic syndrome (LES) IgGs that react highly with N-type Ca²⁺ channels. *Soc. Neurosci. Abstr.*, 19, 1993, s. 1753.

Lindstrom J.M., Einarson B.L., Lennon V.A., Seybold M.E.: Pathological mechanisms in experimental autoimmune myasthenia gravis I. Immunogenicity of syngeneic muscle acetylcholine receptor and quantitative extraction of receptor and antibody-receptor complexes from muscles of rats with experimental autoimmune myasthenia gravis. *J. exp. Med.*, 144, 1976, s. 726–728.

Login I.S., Kim Y.I., Judd A.M., Spangelo B.L., MacLeod R.M.: Immunoglobulins of Lambert-Eaton myasthenic syndrome. *Ann. Neurol.*, 22, 1987, s. 610–614.

Malcherek G.F., Falk O., Rotzchke H.G. a spol.: Natural peptide ligand motifs of two HLA molecules associated with myasthenia gravis. *Int. Immunol.*, 5, 1993, s. 1229–111295.

Mygland A., Tysnes O.B., Matre R., Volpe P., Aarli J.A., Gilhus N.E.: Ryanodine receptor autoantibodies in myasthenia gravis patients with a thymoma. *Ann. Neurol.*, 32, 1992, s. 589–591.

Nielsen F.C., Rodgard A., Djurup R., Somnier F., Gammeltoft S.: A triple antibody assay for the quantitation of plasma IgG subclass antibodies to acetylcholine receptors in patients with myasthenia gravis. *J. Immunol. Methods*, 83, 1985, s. 249–258.

Patrick J., Lindstrom J.M.: Autoimmune response to acetylcholine receptor. *Science*, 180, 1973, s. 871.

Simpson J.A.: Myasthenia gravis: A new hypothesis. *Scottish Med. J.*, 5, 1960, s. 419–436.

Sommier F.E., Trojaborg W.: Neurophysiological evaluation in the myasthenia gravis. A comprehensive study of a complete patient population. *Electroenceph. clin. Neurophysiol.*, 89, 1993, s. 73–87.

Strauss A.J.L., Seigel B.C., Hsu K.C. a spol.: Immunofluorescence demonstration of a muscle binding complement fixing serum globulin fractions in myasthenia gravis. *Proc. Soc. Exp. Biol.*, 105, 1960, s. 184.

Takamori M., Takahashi M., Yasukawa Y. a spol.: Antibodies to recombinant synaptotagmin and calcium channel subtypes in Lambert-Eaton myasthenic syndrome. *J. Neurol. Sci.*, 133, 1995, s. 95–101.

Tsuchiya N., Williams R.C.: Molecular mimicry — hypothesis or reality? *West J. Med.*, 157, 1992, s. 133–138.

Tzartos S.J.A., Kokla A., Walgrave S., Conti-Tronconi B.: Localization of the main immunogenic region of human acetylcholine receptor to residues 67–76 of the alpha-subunit. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 85, 1988, s. 2899–2903.

Wekerle H.: The thymus in myasthenia gravis. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 681, 1993, s. 47–55.

Williams C.L., Lennon V.A.: Thymic B-lymphocyte clones from patients with myasthenia gravis secrete monoclonal striational autoantibodies reacting with myosin, alpha-actinin or actin. *J. Exp. Med.*, 164, 1986, s. 1043–1059.

Do redakcie došlo 22.10.1996.