

Univerzita Pardubice
Fakulta Chemicko-technologická

Role astrocytů při roztroušené skleróze

Bakalářská práce

2023

Alžběta Němcová

Univerzita Pardubice
Fakulta chemicko-technologická
Akademický rok: 2021/2022

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení: **Alžběta Němcová**
Osobní číslo: **C19691**
Studijní program: **B3912 Speciální chemicko-biologické obory**
Studijní obor: **Zdravotní laborant**
Téma práce: **Role astrocytů při roztroušené skleróze**
Téma práce anglicky: **Role Of Astrocytes In Multiple Sclerosis**
Zadávací katedra: **Katedra biologických a biochemických věd**

Zásady pro vypracování

Vypracujte rešerši z odborné literatury zaměřenou na úlohu astrocytů při patogenezi roztroušené sklerózy. Které složky imunitního systému a mechanismy se účastní imunopatogeneze onemocnění? Zpracujte charakteristiku astrocytů, vysvětlete, jak jsou zapojeny do poškozujících i reparačních procesů imunopatologického zánětu v CNS. Vyhledejte, za existuje možnost jejich využití v léčebném procesu.

Rozsah pracovní zprávy: **25 s.**
Rozsah grafických prací: **dle potřeby**
Forma zpracování bakalářské práce: **tištěná**

Seznam doporučené literatury:

Podle pokynů vedoucího bakalářské práce.

Vedoucí bakalářské práce: **Mgr. Marcela Slováková, Ph.D.**
Katedra biologických a biochemických věd

Datum zadání bakalářské práce: **18. prosince 2021**

Termín odevzdání bakalářské práce: **1. července 2022**

prof. Ing. Petr Kalenda, CSc. v.r.
děkan

L.S.

prof. Mgr. Roman Kandár, Ph.D. v.r.
vedoucí katedry

V Pardubicích dne 28. února 2022

Prohlašuji:

Práci s názvem Role astrocytů při roztroušené skleróze jsem vypracovala samostatně. Veškeré literární prameny a informace, které jsem v práci využila, jsou uvedeny v seznamu použité literatury.

Byla jsem seznámena s tím, že na moji práci se vztahují práva a povinnosti vyplývající ze zákona č. 121/2000 Sb., o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon), ve znění pozdějších předpisů, zejména se skutečností, že Univerzita Pardubice má právo na uzavření licenční smlouvy o užití této práce jako školní díla podle § 60 odst. 1 autorského zákona, a s tím, že pokud dojde k užití této práce mnou nebo bude poskytnuta licence o užití jinému subjektu, je Univerzita Pardubice oprávněna ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložila, a to podle okolností až do jejich skutečné výše.

Beru na vědomí, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb., o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších předpisů, a směrnicí Univerzity Pardubice č. 7/2019 Pravidla pro odevzdání, zveřejnění a formální úpravu závěrečných prací, ve znění pozdějších dodatků, bude práce zveřejněna prostřednictvím Digitální knihovny Univerzity Pardubice.

V Pardubicích dne 30.6.2023

Alžběta Němcová v.r. 2023

PODĚKOVÁNÍ

Touto cestou bych ráda poděkovala Mgr. Marcele Slovákové, Ph.D. za odborné vedení, cenné rady, ochotu a vstřícnost při psaní mé bakalářské práce. Také bych chtěla poděkovat své rodině, především svému manželovi a sestře za jejich podporu a trpělivost po dobu psaní bakalářské práce a během celého mého studia.

ANOTACE

Práce se zabývá úlohou astrocytů v patogenezi roztroušené sklerózy. Část práce popisuje imunopatogenezi roztroušené sklerózy. Druhá část práce se věnuje astrocytům, a to popisu jejich stavby a jednotlivých funkcí. V práci je popsáno i možné terapeutické využití astrocytů.

KLÍČOVÁ SLOVA

roztroušená skleróza, imunopatogeneze, astrocyty, astroglióza

TITLE

Role Of Astrocytes In Multiple Sclerosis

ANNOTATION

This bachelor thesis focuses on the role of astrocytes in the pathogenesis of multiple sclerosis. Part of the thesis describes multiple sclerosis, including its immunopathogenesis. The second part of the work is devoted to astrocytes, namely the description of their structures and individual functions. The work also includes the possible therapeutic use of astrocytes.

KEYWORDS

multiple sclerosis, immunopathogenesis, astrocytes, astrogliosis

OBSAH

Úvod.....	10
1 Roztroušená skleróza	11
1.1 Klasifikace roztroušené sklerózy	11
1.2 Imunopatogeneze roztroušené sklerózy	12
1.2.1 T lymfocyty.....	13
1.2.2 B lymfocyty	15
1.3 Symptomy roztroušené sklerózy	17
1.4 Diagnostika roztroušené sklerózy	17
1.5 Léčba roztroušené sklerózy.....	18
2 Anatomie nervové soustavy	21
2.1 Stavba a funkce myelinu	21
2.2 Hematoencefalická bariéra – stavba a funkce	22
3 Astrocyty.....	25
3.1 Gliální fibrilární kyselý protein.....	26
3.2 Fyziologická funkce astrocytů	27
3.3 Aktivace astrocytů.....	28
4 Role astrocytů při roztroušené skleróze.....	30
4.1 Poškození hematoencefalické bariéry	31
4.2 Funkce astrocytů v zánětlivých lézích	32
4.3 Reaktivní astroglióza.....	33
4.4 Neuroprotektivní funkce astrocytů.....	34
4.5 Terapeutický potenciál astrocytů	36
Závěr	37

SEZNAM ZKRATEK

ATP	Adenosintrifosfát
BDNF	Mozkový neurotrofický faktor (brain-derived neurotrophic factor)
BM	Bazální membrána
CIS	Klinicky izolovaný syndrom (clinically isolated syndrome)
CNS	Centrální nervový systém
GDNF	Neurotrofický faktor odvozený z gliových buněk (glial cell line-derived neurotrophic factor)
GFAP	Gliální fibrilární kyselý protein (glial fibrillary acidic protein)
GM-CSF	Růstový faktor pro monocyty a granulocyty (granulocyte-macrophage colony-stimulating factor)
IFN	Interferon
IL	Interleukin
MAG	Glykoprotein asociovaný s myelinem (myelin-associated glycoprotein)
MBP	Myelinový bazický protein
MOG	Myelinový oligodendrocytový glykoprotein (myelin oligodendrocyte glycoprotein)
NFIA	Nukleární faktor I A (nuclear factor I A)
NGF	Nervový růstový faktor (nerve growth factor)
NMDA	N-methyl-D-aspartátové receptory
PLP	Proteolipidový protein
PP	Primárně progresivní forma (primary progressive)
PR	Relabující progresivní forma (progressive-relapsing)
RNS	Reaktivní formy dusíku (reactive nitrogen species)
ROS	Reaktivní formy kyslíku (reactive oxygen species)
RR	Relaps remitentní (relapsing-remitting)
RS	Roztroušená skleróza
SHH	Protein Sonic Hedgehog
SP	Sekundárně progresivní forma (secondary progressive)
TGF	Transformující růstový faktor (transforming growth factor)
TNF	Tumor nekrotizující faktor (tumor necrosis factor)
VCAM	Vaskulární buněčná adhezivní molekula (vascular cell adhesion molecule)

SEZNAM OBRÁZKŮ

Obrázek 1:Efektorové T lymfocyty v CNS	14
Obrázek 2: Vznik autoreaktivního B lymfocytu.....	16
Obrázek 3: Stavba hematoencefalické bariéry.....	23
Obrázek 4: Astrocyty	25
Obrázek 5: Funkce astrocytů za fyziologického a zánětlivého stavu	30
Obrázek 6: Neuroprotektivní funkce astrocytů.....	35

Úvod

Roztroušená skleróza je závažné autoimunitní neurodegenerativní onemocnění. Postihuje zejména mladé osoby ve věku zhruba 20-40 let a mnohem častěji je diagnostikována ženám. Pacientů s roztroušenou sklerózou každým rokem přibývá i přesto, že je imunopatogeneze tohoto onemocnění dobře prozkoumána a objasněna.

Imunopatogeneze roztroušené sklerózy je komplexní proces, ve kterém je zahrnuta řada imunitních i neimunitních buněk a molekul, které produkují. Také astrocyty se ukazují jako klíčová součást roztroušené sklerózy. Z posledních zpráv vyplývá, že vykazují značnou diverzitu jak v morfologii, tak ve funkcích. Astrocyty se na patogenezi roztroušené sklerózy podílejí samy a zároveň svým působením ovlivňují funkce dalších buněk. Všechny tyto vzájemné interakce jsou v současné době zkoumány z důvodu návrhu nových léčebných strategií, ve kterých by astrocyty mohly hrát roli. Především jde o snahu využít neuroprotektivních funkcí astrocytů.

Cílem této práce je popsat roztroušenou sklerózu včetně její imunopatogeneze, všeobecně popsat astrocyty a jejich fyziologické funkce a poté se zaměřit na jejich zánětlivé a protizánětlivé funkce. Závěr práce je věnován možnému terapeutickému potenciálu astrocytů.

1 Roztroušená skleróza

Roztroušená skleróza (RS) je autoimunitní neurodegenerativní onemocnění postihující centrální nervový systém (CNS). Způsobuje demyelinizaci neuronů a postupnou ztrátu axonů. V důsledku toho dochází k postupnému nárůstu invalidity pacienta a ke snížení kvality jeho života [1, 2].

RS se objevuje nejčastěji mezi 20.-40. rokem života pacienta a mnohem častěji jsou postiženy ženy. Prevalence tohoto onemocnění se každým rokem zvětšuje, což může být způsobeno lepší diagnostikou [3].

Příčina vzniku tohoto onemocnění není zcela známá. Při rozvoji RS jde o souhru několika faktorů, a to z oblasti enviromentální a genetické. Mezi hlavní enviromentální faktory patří nízká hladina vitamínu D, kouření, obezita nebo infekce virem Epstein-Barrové, což bude vysvětleno později. Z genetických faktorů bylo zjištěno více než 200 variant genů, které mohou přispívat k rozvoji nemoci. Za nejvýznamnější se považuje haplotyp HLA DRB1*15:01, kdy nositel této kombinace má třikrát vyšší šanci na vznik RS než osoba, která tento haplotyp nemá [4, 2].

1.1 Klasifikace roztroušené sklerózy

Onemocnění se projevuje mnoha rozmanitými symptomy i samotným průběhem, podle kterého se dělí na několik typů. Jde o klinicky izolovaný syndrom, relaps remitentní, sekundárně progresivní, primárně progresivní a relabující progresivní formu [1].

Klinicky izolovaný syndrom (CIS) je charakterizován jako první klinická příhoda neboli ataka. Atakou rozumíme vznik nového neurologického problému nebo zhoršení již existujícího. Tento stav musí trvat déle než 24 hodin a nesmí být doprovázen infekcí a horečkou. CIS může po nějaké době přejít definitivně do klinické RS [1, 5].

Relaps remitentní forma RS (RR-RS) je nejběžnějším typem. Postihuje až 85 % pacientů. Tato forma je charakterizována střídáním atak nemoci a následující remisí. V době remise může dojít k úplnému vymezení symptomů, které vznikly nebo můžou některé potíže přetrvávat. V průběhu této formy dochází k postupné kumulaci obtíží a ke zhoršování stavu pacienta. RR-RS může časem přejít do další fáze onemocnění, a to do sekundárně progresivní formy [6, 7].

Do sekundárně progresivní formy (SP-RS) přejde většina neléčených pacientů zhruba za 19 let od začátku onemocnění. Tato forma se vyznačuje postupující progresí onemocnění. Ataky se vyskytují pouze ojediněle nebo zcela chybí [5, 6].

Primárně progresivní formou (PP-RS) trpí zhruba 10-20 % diagnostikovaných pacientů. U této formy dochází k postupné progresi onemocnění hned od začátku a chybí zde střídání relapsů s remisemi. Tato forma se vyskytuje častěji u pacientů starších 40 let [5, 7].

Posledním typem RS je relabující progresivní forma (PR-RS). Jde v podstatě o primárně progresivní formu, ale ojediněle se zde vyskytují relapsy [5].

1.2 Imunopatogeneze roztroušené sklerózy

Roztroušená skleróza se řadí mezi autoimunitní onemocnění, což znamená, že buňky imunitního systému rozpoznávají vlastní tkáň těla jako cizí a škodlivé. V tomto případě je imunitní systém namířen proti vlastnímu myelinu, který je ničen [8].

Myelin je proteinový obal nervových vláken tvořený oligodendrocyty. Zajišťuje lepší a rychlejší vedení nervového vzruchu [9, 10]. Mezi myelinové proteiny se řadí například myelinový bazický protein (MBP), myelinový proteolipidový protein (PLP), glykoprotein asociovaný s myelinem (MAG) nebo myelinový oligodendrocytový glykoprotein (MOG). Hlavním cílem pro aktivované lymfocyty je MBP a MOG [11].

Demyelinizace ve spojitosti s RS byla poprvé pozorována v roce 1969 [12]. Kromě ztráty myelinu dochází také k poškození již zmíněných oligodendrocytů. V místě poškození vzniká zánětlivé ložisko, vzniká astroglióza a může dojít až k úplné ztrátě axonů. Astroglióza je gliová jizva v místě poškození, kterou tvoří aktivované astrocyty. K jejich aktivaci dochází působením prozánětlivých cytokinů a dalších molekul [9, 10].

Patogeneze RS je komplexní děj, který zahrnuje zánětlivé i protizánětlivé procesy. Původně byl CNS považován za imunoprivilegovaný, což znamenalo, že neexistuje imunitní dozor nad CNS. Předpokládalo se, že buňky imunitního systému nemohou prostoupit skrz hematoencefalickou bariéru z periferní krve do CNS. Tento předpoklad byl v posledních letech vyvrácen a bylo zjištěno, že buňky mohou do CNS pronikat i za fyziologických podmínek. Pro imunopatogenezi RS byly donedávna považovány za zcela klíčové T-lymfocyty, ale v současné době nelze opomíjet ani vliv B-lymfocytů [10, 13].

Pro vznik a rozvoj RS musí dojít k porušení autotolerance imunitního systému, zejména u T-lymfocytů. Tato tolerance je za normálních podmínek zajištěna během vývoje T lymfocytů v thymu, a to pomocí pozitivní a negativní selekce. K porušení této tolerance dochází v lymfatických uzlinách a zapotřebí je buňka prezentující antigen, a to dendritická buňka nebo makrofág [8, 10, 14].

1.2.1 T lymfocyty

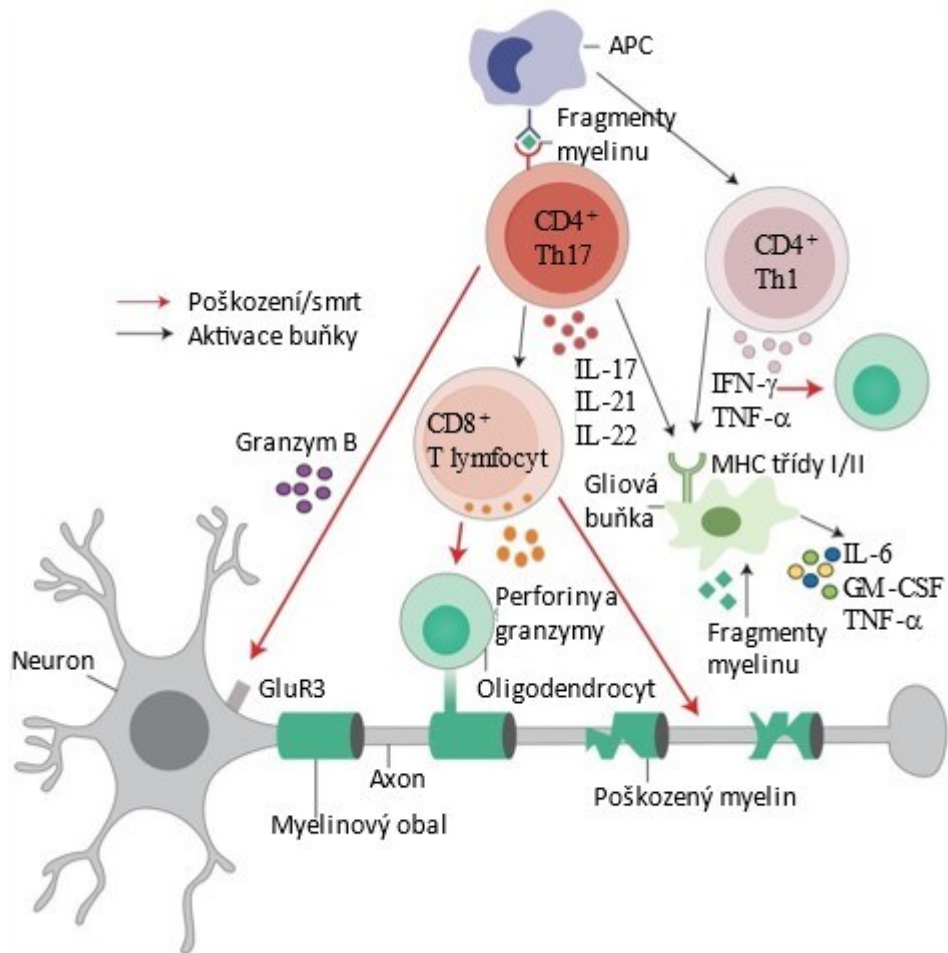
T lymfocyty jsou složkou specifické imunity, zajišťují buněčnou imunitu. Jejich úkolem je rozpoznat antigen a zničit jej. T lymfocyty můžeme rozdělit do dvou skupin na základě jejich povrchových znaků. Jedna skupina jsou cytotoxické T lymfocyty neboli Tc lymfocyty, které mají na svém povrchu znak CD8. Druhou skupinou jsou pomocné Th lymfocyty, které nesou na povrchu znak CD4 [8, 10].

V případě RS se na patogenezi v největší míře podílejí aktivované autoreaktivní CD4+ T lymfocyty, které jsou namířené proti MBP. Tento protein je součástí myelinového obalu nervových vláken. Jak konkrétně k této aktivaci a poruše tolerance dochází zatím stále není jasné. Je však předpokládáno, že klíčovým mechanismem mohou být tzv. molekulární mimikry. Antigen-prezentující buňka na svém povrchu předkládá určitý antigen, v tomto případě protein, který je podobný MBP. Nejčastěji bývá s tímto jevem spojován virus Epstein-Barrové, lidský herpesvirus 6, ale také například bakterie *Chlamydia Pneumoniae* [4, 15].

Aktivované lymfocyty prostupují skrz hematoencefalickou bariéru. Při tomto ději dochází k interakci mezi vaskulární buněčnou adhezní molekulou 1 (VCAM) nacházející se na povrchu buněk kapilár a pozdním antigenem 4 (VLA-4) na T lymfocytu. Celý proces přestupu je podpořen a usnadněn řadou dalších adhezivních molekul a chemokinů. Dále je důležitá přítomnost proteolytických enzymů, konkrétně matrixových metaloproteáz. T lymfocyty uvnitř CNS mohou být reaktivovány především za pomoci dendritických buněk a makrofágů. Takto reaktivované T lymfocyty mají schopnost tvořit a vylučovat cytokiny podílející se na zánětlivé reakci v mozkové tkáni [4, 10].

Aktivované CD4+ T lymfocyty produkují cytokiny na základě toho, do jaké buněčné populace se diferencují. Th1 lymfocyty produkují prozánětlivé cytokiny, a to interferon γ (IFN- γ), interleukin 2 (IL-2) a tumor nekrotizující faktor α (TNF- α). Th2 lymfocyty působí opačným způsobem než Th1 lymfocyty. Th2 lymfocyty produkují IL-4, IL-10 a IL-13, které jsou protizánětlivé a inhibují působení Th1 lymfocytů. Dále se na zánětlivé reakci podílejí

Th17 lymfocyty, které vylučují především IL-17 a IL-23 a působí také zánětlivě (Obrázek 1) [4, 10, 11].



Obrázek 1: Efektorové T lymfocyty v CNS, převzato a upraveno z [16]

Mezi CD4+ T lymfocyty se řadí také regulační T lymfocyty neboli Treg. Ty mají na patogenezi RS také vliv díky svým imunomodulačním schopnostem. Treg produkují protizánětlivé cytokiny jako například IL-10 nebo transformující růstový faktor β (TGF- β) a zároveň mohou zabránovat vzniku autoagresivních forem T i B lymfocytů. U regulačních T lymfocytů bylo navíc prokázáno, že je jejich počet snížen v období aktivity nemoci, a naopak zvýšen v období remise, což má také svůj podíl na rozvoji patogeneze RS [11]

Na patogenezi RS se podílejí také aktivované CD8+ lymfocyty. Ty mají cytotoxické funkce a dokážou přímo ničit cílovou buňku pomocí granzymů a perforinů z jejich granul. Cílí na antigeny předkládané pomocí molekul MHC I, které jsou vlivem zánětu exprimovány

buňkami v CNS ve zvýšené míře. Kromě tohoto přímého poškození struktur CNS produkují CD8+ lymfocyty také prozánětlivé cytokiny, například IL-17 nebo IFN- γ [4, 16, 17, 18].

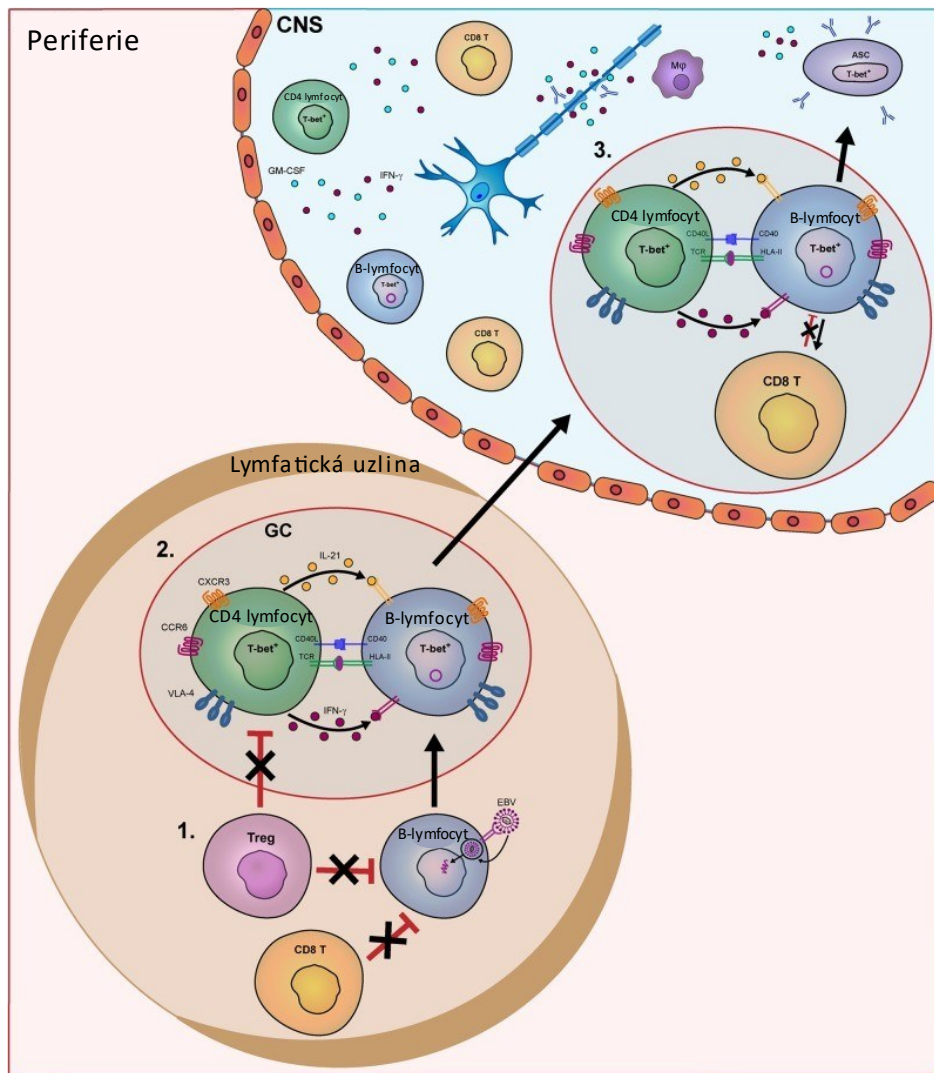
Aktivované T lymfocyty ovlivňují přímo neurony, ale také další složky CNS. Pomocí uvedených prozánětlivých cytokinů regulují funkci oligodendrocytů, astrocytů nebo mikroglíí [19].

1.2.2 B lymfocyty

B lymfocyty jsou produkovány v kostní dřeni a dále vyzrávají v sekundárních lymfatických orgánech. Na svém povrchu exprimují znak CD20 a stejně jako T lymfocyty jsou součástí specifické imunity a zajišťují protilátkovou imunitu. B lymfocyty se po přímém setkání s antigenem přeměňují na plazmatické a paměťové buňky. Plazmatické buňky produkují protilátky [10].

Role B lymfocytů v patogenezi RS byla nejprve prokázána objevem oligoklonálních pásů v mozkomíšním moku. Tento náleznypovídá o intratekální syntéze imunoglobulinů třídy IgG, jak bude vysvětleno v podkapitole věnující se diagnostice onemocnění. Dalším potvrzením významu B lymfocytů v patogenezi RS je úspěšnost léčby s anti-CD20 protilátkou [20, 21].

Stejně jako u T lymfocytů mohou vznikat autoreaktivní klony B lymfocytů. Tyto buňky jsou eliminovány negativní selekcí v kostní dřeni. Tento děj nazýváme centrální tolerancí. B lymfocyty, které projdou negativní selekcí, se dále dostávají do sekundárních lymfatických orgánů. Zde dochází k jejich dozrávání a ke spolupráci s T lymfocyty. Zároveň zde dochází k periferní toleranci B lymfocytů, což zajišťují CD8+ T lymfocyty. Na porušení této periferní tolerance se pravděpodobně také podílí virus Epstein-Barrové, který infikuje B lymfocyty a může u nich způsobit latentní infekci. To má za následek zvýšenou životnost B lymfocytů. Na takto infikované B lymfocyty působí IFN- γ a IL-21 produkovaný CD4+ T lymfocyty a vznikají patogenní B buňky (Obrázek 2) [11, 20].



Obrázek 2: Vznik autoreaktivního B lymfocytu, převzato a upraveno z [20]

B lymfocyty mají v imunopatogenezi RS hned několik funkcí. Po jejich aktivaci mohou produkovat autoprotilátky způsobující poškození CNS. Tuto lokální humorální odpověď potvrzuje to, že jsou B lymfocyty nacházeny okolo cév v místě poškozeného myelinu. Kromě protilátek produkují také řadu cytokinů, které mají vliv na další imunitní buňky a tím se podílejí na patogenezi RS. Mezi prozánětlivé cytokiny, produkované B lymfocyty, patří například IL-6, TNF- α nebo lymfotoxin α . IL-6 dále podporuje diferenciaci prozánětlivých Th1 lymfocytů [11, 20, 22].

Stejně jako u T lymfocytů existuje i u B lymfocytů jejich regulační forma. Tyto regulační B lymfocyty se označují jako Breg a stejně jako Treg mají imunomodulační schopnosti a mohou potlačovat zánět. Breg produkují protizánětlivé cytokiny IL-10 a IL-35, které se oba podílejí na inhibici diferenciaci prozánětlivých Th1 lymfocytů, a naopak podporují vznik protizánětlivých

Th2 lymfocytů. Regulační B lymfocyty dále produkují TGF- β , který také potlačuje proliferaci Th1 lymfocytů a zároveň podporuje vznik regulačních T lymfocytů. Funkcí těchto regulačních B lymfocytů by mohlo být využito pro léčbu RS [11, 22].

B lymfocyty mohou v souvislosti s patogenezí RS fungovat také jako antigen-prezentující buňky. Především paměťové B lymfocyty mohou na své receptory vázat myelinové antigeny jako MBP a MOG a ty pak předkládat T lymfocytům a tím se podílet na jejich aktivaci. Kromě toho B lymfocyty u pacienta s RS vykazují zvýšenou expresi kostimulačních molekul CD80 a CD86, které jsou nezbytné pro aktivaci a proliferaci T lymfocytů [21].

1.3 Symptomy roztroušené sklerózy

Symptomy roztroušené sklerózy mohou být velmi různorodé. V místě zánětlivé reakce imunitního systému dochází k demyelinizaci a postupně může dojít až ke ztrátě axonů. To vede ke zhoršení přenosu nervového vzruchu a tím ke vzniku symptomů. Jak se nemoc projeví, závisí na místě a rozsahu tohoto poškození mozku. Například pokud dojde ke vzniku zánětlivého ložiska v místě optické nervu, může dojít k rozvoji optické neuritidy a tím k problémům se zrakem. Zánětlivé ložisko v mozgovém kmeni může vyvolat rovnou celou řadu obtíží. Jiná ložiska zas naopak nemusí vyvolat symptomy žádné [2, 23].

Mezi nejčastější symptomy patří senzitivní poruchy, což zahrnuje například brnění nebo mravenčení části těla. Patří sem také Lhermittův příznak, který se popisuje jako projetí elektrického proudu přes páteř až do dolních končetin po předklonění hlavy [24].

RS se také často projevuje motorickými poruchami, a to problémy s chůzí, svalovou slabostí nebo ztuhlostí. Dále se mohou vyskytnout poruchy zraku jako rozmazané či dvojité vidění, bolest za okem nebo nystagmus. Často se také mohou projevit sfinkterové dysfunkce, jako časté močení nebo inkontinence.

Kromě tohoto všeho se můžou objevit také psychiatrické problémy, například deprese nebo úzkost a problémy kognitivní, třeba poruchy pozornosti. Mezi nespecifické symptomy RS se řadí také únava, která se vyskytuje u mnoha pacientů [23, 24].

1.4 Diagnostika roztroušené sklerózy

Včasná a správná diagnostika nemoci hned s výskytem prvních příznaků je velmi podstatná pro zahájení vhodné léčby a tím pro co nejlepší zachování zdraví mozku pacienta [8].

Prvním krokem diagnostiky je zhodnocení klinických obtíží pacienta. Dále se využívá vyšetření mozku magnetickou rezonancí, vyšetření mozkomíšního moku a v některých případech lze využít také evokovaných potenciálů. V současné době je diagnostika RS založena na McDonaldových kritériích, která byla stanovena původně v roce 2001 a poslední revizí prošla v roce 2017. Pro stanovení diagnózy je požadován průkaz diseminace imunopatologického procesu v prostoru a čase. Diseminace v čase ale podle poslední revize kritérií může být nahrazena přítomností oligoklonálních pásů v mozkomíšním moku oproti séru. Nález oligoklonálních pásů se může vyskytovat u více onemocnění a obecně značí chronickou imunitní aktivaci v CNS a syntézu intratekálních imunoglobulinů. V mozkomíšním moku pacientů s RS nacházíme nejčastěji protilátky třídy IgG, ale mohou se objevit také protilátky třídy IgM nebo IgA. Přítomnost oligoklonálních pásů v mozkomíšním moku vyšetřujeme pomocí izoelektrické fokusace a následného imunoblotu specifického na IgG [10, 25, 26].

Mozkomíšní mok je odebírán pomocí lumbální punkce. U pacientů s RS se v moku obvykle vyskytují dva a více oligoklonálních pásů, které se nevyskytují v séru [8, 10].

Při magnetické rezonanci dochází k zobrazení míst v mozku a míše, kde došlo k poškození myelinu. Tato místa jsou označována jako léze a jsou popisována jako T2 hyperintenzní ložiska o průměru alespoň 3 mm. Pro splnění kritéria pro diseminaci v prostoru musí být jedna a více ložisek ve dvou ze čtyř oblastí mozku. Pro splnění kritéria pro diseminaci v čase se pacientovi podává nitrožilně kontrastní látka gadolinium a poté se hodnotí léze vychytávající tuto látku.

Využití evokovaných potenciálů je v dnešní době již na ústupu, kvůli vyšetření magnetickou rezonancí, avšak pro diagnostiku zánětu zrakového nervu mají stále uplatnění zrakové evokované potenciály [8, 10, 25].

1.5 Léčba roztroušené sklerózy

Pro zlepšení průběhu RS je zcela zásadní včasné zahájení léčby. To spolu se správně zvoleným lékem může zpomalit či v některých případech úplně zastavit progresi onemocnění. Léčba RS zahrnuje léčbu akutního relapsu a využití imunomodulačních léků v období remise. Při akutním relapsu, který musí trvat více než 24 hodin, se pacientovi podává methylprednisolon, což je syntetický kortikosteroid. Podáván je obvykle intravenózně, ale může se užívat i orálně. V těle působí protizánětlivě a imunosupresivně. Další možností pro léčbu akutní ataky nemoci je plazmaferéza [25, 27, 28].

V době remise onemocnění se pro léčbu RS využívají imunomodulační léky. Ty mají schopnost potlačit nebo nějakým mechanismem modifikovat funkce imunitního systému. Jejich cílem je zlepšení zdravotního stavu pacienta tím, že redukují relapsy a zánětlivé léze na mozku pacienta. Tím mohou oddálit, případně dokonce zlepšit symptomy a invaliditu pacienta [25, 28, 29].

Ač se původně předpokládalo, že v patogenezi RS jsou nejvýznamnější T lymfocyty, léčba zaměřená čistě na ně se ukázala jako neúčinná. Mnohem účinnější jsou léky s mechanismem blokujícím adhezi a tím zabraňujícím vstupu lymfocytů do CNS. Konkrétně jde o inhibici $\alpha 4\beta 1$ integrinu, který se nachází na povrchu lymfocytů. Dále se využívá modulace S1P receptoru na lymfocytech, což jim zabraňuje opustit lymfatické orgány. S objevem zapojení B lymfocytů do patogeneze RS se využívají také anti-CD20 monoklonální protilátky, které mají za úkol snižovat počet B lymfocytů v organismu. Tato deplece B lymfocytů je spojována s možným narušením prostupu B lymfocytů z periferie do CNS. Dále dochází k redukci prezentace antigenů T lymfocytům, k ovlivnění syntézy prozánětlivých cytokinů B lymfocyty a také k redukci aktivace a diferenciaci B lymfocytů v plazmatické buňky [29, 30, 31].

Kromě těchto vyjmenovaných mechanismů účinku existují ještě další, celkem deset. Jde například o snížení exprese MHC molekul na antigen-prezentujících buňkách, snížení tvorby prozánětlivých cytokinů, a naopak zvýšení tvorby protizánětlivých cytokinů. Dále může docházet k inhibici proliferace T lymfocytů, inhibici enzymů zapojených do pyrimidinové syntézy nebo dochází k aktivaci transkripčního faktoru Nfr2 [29, 30, 31].

V současné době existuje více než 18 léků využívaných pro léčbu RS. Tyto imunomodulační léky se řadí do dvou skupin, podle jejich účinnosti. Léky první linie jsou méně účinné, mají však podstatně méně nežádoucích účinků. Mezi tyto léky se řadí například injekčně podávaný glatimer acetát nebo interferon beta. Když tyto méně účinné léky již nestačí, a i přes jejich užívání dojde k relapsu nemoci, přechází se k lékům druhé linie. Ty jsou účinnější, mají ale také více nežádoucích účinků. Mezi ně patří léky podávané orálně nebo infuzně a je jich podstatně více než léků první linie [25, 28, 29].

K léčbě RS patří také symptomatická léčba a další podpůrná léčba. Symptomatickou léčbou lze ovlivnit například únavu spojenou s RS, kognitivní funkce pacienta, sfinkterové dysfunkce, potíže s chůzí nebo bolesti a ztuhlost svalů způsobené roztroušenou sklerózou. Kromě farmakoterapie se pro zlepšení symptomů využívá také úprava životního stylu. Jde především

o snížení tělesné hmotnosti v případě potřeby, zařazení přiměřené fyzické aktivity, suplementaci vitamínu D a včasné odnaučení se kouření u kuřáků [10].

Jako podpůrná léčba RS je také již řadu let zkoumán vliv stravy na průběh onemocnění. Zatím však nebyla potvrzena žádná konkrétní dieta, která by měla schopnost zlepšovat stav onemocnění. I přesto existuje řada diet a výživových doporučení, která mají všeobecně příznivý vliv na zdraví jedince. Nejznámější z nich je například dieta podle dr. Wahlse, Swankova dieta zaměřující se na nízký příjem saturovaných tuků nebo středomořská strava [32, 33].

V posledních letech došlo také k rozvoji symptomatické léčby pomocí konopí díky jeho neuroprotektivním a imunomodulačním schopnostem. Účinky kanabinoidů jsou zprostředkovány pomocí receptorů endogenního kanabinoidního systému. Tyto receptory byly objeveny na začátku devadesátých let a jde konkrétně o receptor CB1R a CB2R. Nacházejí se především v mozku a v periferním nervovém systému, ale nalézt je můžeme také v mnoha dalších tkáních. Přípravky z konopí, nejčastěji podávané orálně nebo ve formě orálního spreje, se využívají především při bolesti a ztuhlosti svalů [34, 35].

2 Anatomie nervové soustavy

Nervovou soustavu rozdělujeme na centrální nervový systém, který tvoří mozek a hřbetní mícha a na periferní nervový systém tvořený periferními nervy, tedy svazky nervových vláken, které spojují CNS s periferií těla [36].

Základní morfologickou a funkční jednotkou nervové tkáně je neuron. Neuron je tvořen tělem a výběžky. Tělo obsahuje jádro buňky, označované jako perikaryon. Výběžky dělíme podle směru vedení vzruchu. Dendrity vedou vzruch od těla buňky a bývá jich většinou více. Axon (neurit) má buňka pouze jeden a vede vzruch od těla buňky k dalším strukturám [36].

Kontakt mezi dvěma neurony nebo mezi neuronem a tkání se nazývá synapse. Přenos vzruchu probíhá vyloučením mediátoru do synaptické štěrbině, kde působí na membránu další buňky a pomocí elektrochemického procesu je vzruch přenesen.

Mozková hmota je rozdělena na šedou a bílou, podle převažujícího zbarvení. Šedá hmota mozková je tvořena seskupením perikaryí. Bílá hmota mozková je tvořena axony s myelinovými pochvami. Mezi neurony se nachází neuroglie. Jde o soubor buněk s různou funkcí, například podpůrnou, nutritivní, ochrannou nebo tvoří obal nervových vláken. Mezi neuroglie patří astrocyty, oligodendrocyty a mikroglie [36].

2.1 Stavba a funkce myelinu

Axony určité tloušťky mají na svém povrchu obal, myelinovou pochvu. V CNS se na jejím vzniku podílí oligodendrocyty, které se diferencují z progenitorové buňky pro oligodendrocyt. Zralé oligodendrocyty následně obklopují nervové vlákno svými četnými výběžky, produkují myelinové proteiny a tím vytváří celý myelin. Mezi myelinové proteiny patří například již zmiňovaný MBP, MAG, MOG nebo PLP. Myelin kromě proteinů obsahuje také lipidy, konkrétně velké množství nasycených mastných kyselin a dlouhým řetězcem, dále glykosfingolipidy anebo cholesterol. V případě poškození myelinu, například v důsledku RS, mají oligodendrocyty schopnost remyelinizace. Nově vzniklá myelinová pochva je však o něco kratší a tenčí, než byla ta původní [37, 38].

V periférii vytváří myelinovou pochvu Schwannovy buňky. V případě potřeby se mohou i ony podílet na remyelinizaci v mozku. Schwannovy buňky buď mohou infiltrovat do CNS z periferie nebo se mohou diferencovat ze stejné progenitorové buňky jako oligodendrocyty. Schwannovy buňky byly nalezeny u pacientů s RS v místech se silně poničeným myelinem,

případně i s náznakem nekrózy. V těchto oblastech se vyskytuje nižší množství astrocytů. To souvisí také s nedostatkem oligodendrocytů, protože je jejich diferenciace z progenitorové buňky závislá na signálech z astrocytů. Kvůli této závislosti nemůže být remyelinizace dostatečně zajištěna oligodendrocyty a musí být nahrazena Schwannovými buňkami, které mohou ve zvýšené míře infiltrovat do CNS [37].

Nejdůležitější funkcí myelinové pochvy je zajištění rychlého přenosu akčního potenciálu po axonu. To je způsobeno tím, že je myelinová pochva ve svém průběhu přerušovaná Ranvierovými zářezy. Hovoříme zde poté o tzv. saltatorním (skokovém) vedení, kdy je vzruch veden z jednoho zářezu na další. Tento typ vedení akčního potenciálu je mnohem rychlejší než vedení po nemyelinizovaném vlákně. Další funkcí myelinové pochvy je metabolická podpora axonů. Oligodendrocyty mohou produkovat laktát, který prostupuje do axonu a podílí se na tvorbě energie v podobě adenosintrifosfátu (ATP). Myelinová pochva také tvoří řadu glykolytických enzymů a enzymů Krebsova cyklu. Ty mají také schopnost podporovat katabolismus glukózy a vznik ATP [37, 38].

2.2 Hematoencefalická bariéra – stavba a funkce

Součástí CNS je hematoencefalická bariéra. Jde o strukturu oddělující mozek od zbytku těla. Působí jako fyzická bariéra a napomáhá udržovat homeostázu v CNS. Reguluje výměnu iontů, molekul, vody a buněk mezi krví a mozkiem. Také se zapojuje v odstraňování odpadních látek pryč z CNS. Dále zabraňuje prostupu různých toxinů, patogenů a imunitních buněk, čímž ochraňuje mozek před vznikem zánětu a poškozením jeho struktur. Kromě tohoto je hematoencefalická bariéra také překážkou pro léčiva [39, 40, 41].

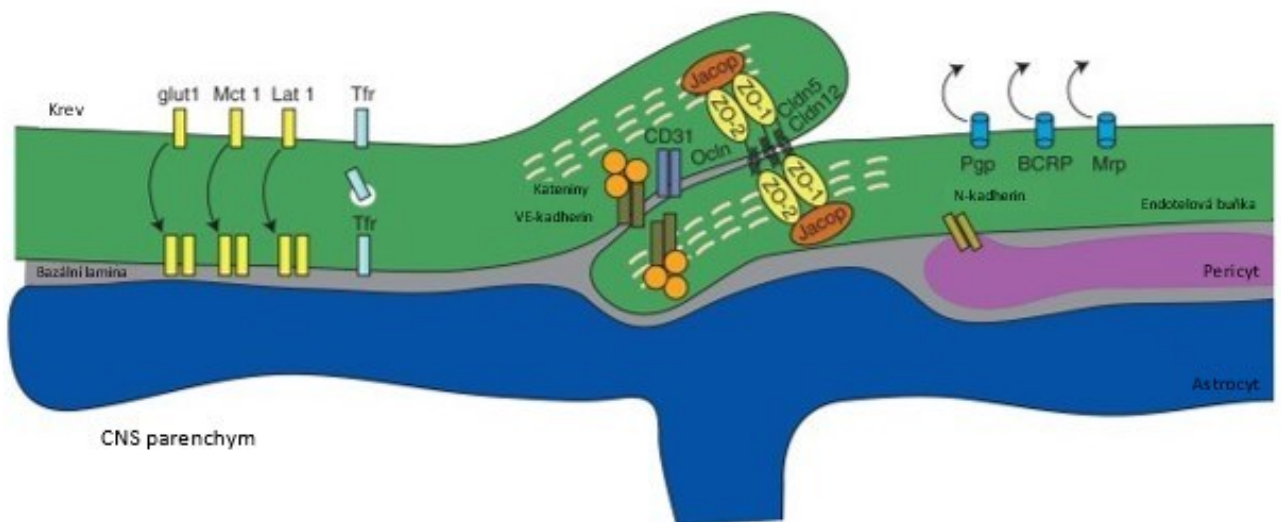
Na stavbě hematoencefalické bariéry se podílí endotelové buňky krevních kapilár v mozku. Tyto buňky jsou navzájem spojené pomocí těsných a adherentních spojů. Těsné spoje jsou tvořené především transmembránovými proteiny například okludinem, klaudinem a cytoplazmatickými proteiny. Adherentní spoje se skládají z proteinů kadherinů a kateninů [39, 41].

Endotelové buňky nacházející se v hematoencefalické bariéře obsahují mnohem více mitochondrií oproti buňkám endotelu jinde v těle. Větší obsah mitochondrií souvisí s energetickými nároky na regulaci transportu všech látek, kdy je potřeba velké množství ATP. Buňky endotelu v hematoencefalické bariéře se liší od buněk jinde v těle také tím, že exprimují

výrazně menší množství adhezních molekul pro leukocyty, čímž jim zabraňují prostupu z krve do CNS. Endotel mozkových kapilár také neobsahuje ve své stěně fenestrace [39, 40].

Endotel cév dále interaguje s dalšími buňkami, což dohromady dává komplex, který je označován jako neurovaskulární jednotka. Mezi tyto buňky patří nástěnné buňky (mural cells), které zahrnují buňky hladké svaloviny cév a pericyty. Pericyty jsou v těsném kontaktu s endotelovými buňkami a neúplně obklopují stěnu cév. Jejich výběžky jsou spojeny s endotelem pomocí adhezivního N-kadherinu. Od endotelových buněk jsou jinak odděleny společnou vnitřní bazální membránou (BM). Pericyty obsahují kontraktilní proteiny, což jim umožňuje regulovat průsvit cév a tím ovlivňovat průtok krve. Mezi jejich další funkce patří regulace angiogeneze, čímž významně ovlivňují také vývoj samotné hematoencefalické bariéry. Dále se mohou podílet na regulaci ukládání extracelulární matrix, hojení ran anebo na regulaci infiltrace imunitních buněk do CNS. Také mohou odstraňovat škodlivé metabolity pomocí jejich fagocytární funkce [39, 40].

Stěna cévy je obklopena dvěma bazálními membránami, vnitřní vaskulární a vnější parenchymální. Již zmíněná vnitřní BM je tvořená endotelovými buňkami a pericyty a vnější BM tvoří astrocyty (Obrázek 3) [39].



Obrázek 3: Stavba hematoencefalické bariéry, převzato a upraveno z [39]

Astrocyty jsou dalšími buňkami podílejícími se na stavbě neurovaskulární jednotky. Jde o hlavní typ gliové buňky a zároveň o nejhojněji zastoupenou gliovou buňku v CNS. Astrocyty mají v CNS a v neurovaskulární jednotce mnoho významných funkcí. Svými výběžky obklopují cévy a tvoří vnější BM. Dalšími výběžky se spojují s povrchem neuronů. Díky tomu mohou ovlivňovat průtok krve cévami na základě neurální aktivity. Výběžky astrocytů obsahují řadu proteinů, například dystroglykan, dystrofin a akvaporin-4, který se podílí na udržení homeostázi vody v CNS [39, 40]. Další významné funkce astrocytů budou popsány v kapitole věnující se tomuto tématu.

Hematoencefalická bariéra také interaguje s imunitními buňkami, například s perivaskulárními makrofágy a mikroglie. Perivaskulární makrofágy mohou pronikat skrz hematoencefalickou bariéru z periferie do CNS. Tam poté zajišťují imunitní dohled jako součást vrozené imunity pomocí fagocytózy buněčných zbytků. Mikroglie se také podílí na vrozené imunitě díky své fagocytární funkci. Kromě toho se mohou zapojovat do regulace při vývoji neuronů nebo při hojení ran. Mikroglie se zapojují také do získané imunity tím, že mohou působit jako antigen-předkládající buňky a předkládat myelinové antigeny T lymfocytům [39, 40].

Vrozená (nespecifická) imunita zahrnuje mechanismy, které k obraně organismu nepotřebují předchozí kontakt s antigenem. Dochází k rychlé reakci a nevzniká imunologická paměť. Nejdůležitějšími mechanismy vrozené imunity je fagocytóza a komplementová kaskáda [42, 43].

Získaná imunita (specifická) je závislá na předchozím kontaktu s antigenem. Dochází k přesné identifikaci konkrétního antigenu a její aktivaci vzniká imunologická paměť. Na specifické imunitě se podílejí lymfocyty a protilátky [42, 43].

Hematoencefalickou bariéru mohou ovlivňovat také další imunitní buňky jako například neutrofilů, T lymfocytů nebo makrofágů z krevního řečiště. V případě, že jsou tyto buňky aktivovány, mohou produkovat různé prozánětlivé cytokiny nebo reaktivní formy kyslíku (ROS). To může vést ke strukturálním a metabolickým změnám v hematoencefalické bariéře a může dojít ke zvýšení její permeability. Takto porušenou hematoencefalickou bariérou mohou pronikat imunitní buňky do CNS a vyvolat zánět. Tento proces je považován za úvodní krok patogeneze RS [39, 40, 41]. Různé mechanismy porušení hematoencefalické bariéry budou probrány v následujícím textu.

3 Astrocyty

Astrocyty jsou gliové buňky neurálního progenitorového původu. Poprvé je v 19. století popsal Ramón y Cajal, kdy jim původně byla přiřazena pouze podpůrná funkce. V posledních 20 letech byly astrocyty studovány a bylo objeveno široké spektrum jejich funkcí. Například mají význam ve vývoji a funkci synapsí, regulují průtok krve anebo se podílejí na metabolismu [44].

V lidském mozku jsou astrocyty v poměrně velkém zastoupení. Představují zhruba 20–40 % z celkového počtu buněk v mozku [45].

Jejich tvar je obvykle hvězdicovitý. Jsou tvořeny tělem a výběžky, které mají na konci gliové nožky. Obvykle je jeden výběžek připojen ke stěně kapiláry a druhý k neuronu. Jejich morfologie je však rozmanitá a záleží na funkci daného astrocytu (Obrázek 4) [43, 46].



Obrázek 4: Astrocyty [47]

Na základě tvaru astrocytů a jejich umístění v mozku je můžeme rozdělit do dvou hlavních skupin. Jde o protoplazmatické a fibrilární astrocyty. Protoplazmatické astrocyty se vyskytují především v šedé hmotě mozkové. Jejich tvar je spíše zakulacený a mají četné rozvětvené výběžky nasedající na povrch cév a synapsí. Fibrilární astrocyty se vyskytují převážně v hmotě bílé. Jejich výběžky jsou delší než výběžky protoplazmatických astrocytů a spojují cévy s Ranvierovými zářezy. Kromě těchto dvou typů existují ještě další, více specializované. Jde například o Bergmanovy gliové buňky nacházející se v mozečku nebo Müllerovy buňky v sítnici [44, 46].

Astrocyty se mohou přeměnit z nereaktivní formy A0 na formu reaktivní, a to buď na reaktivní formu A1, která je neurotoxická nebo na reaktivní formu A2, která je neuroprotektivní. Tato aktivace je způsobena prozánětlivými cytokiny a chemokiny produkovanými aktivovanými T lymfocyty a mikroglie [45]. Tato problematika bude probrána v samostatné kapitole zabývající se aktivací astrocytů.

Schopnost astrocytů zánětlivý proces buď podpořit nebo naopak potlačit je významná nejen u roztroušené sklerózy, ale také například u Parkinsonovy choroby, Alzheimerovy choroby nebo u neuropsychiatrických poruch chování [48].

Pro průkaz reaktivních astrocytů a také pro popis jejich funkcí v CNS je důležité zmínit také jejich molekulární stavbu, čemuž se věnuje následující podkapitola.

3.1 Gliální fibrilární kyselý protein

Cytoskelet astrocytů je podporován sítí intermediálních filament, kdy nejvýznamnější z nich je gliální fibrilární kyselý protein (GFAP). GFAP má 8 izoform. První objevená a zároveň nejhojněji se vyskytující je izoforma GFAP α . Nejvýznamnější z nich je však izoforma GFAP δ . Důležitou funkcí všech izoform GFAP je mechanická podpora astrocytů a hematoencefalické bariéry. Astrocyty v různých částech CNS produkují rozdílné množství GFAP, což prokazuje jejich molekulární rozmanitost [44, 49, 50].

GFAP byl poprvé objeven a izolován ze zánětlivé léze na mozku pacienta s roztroušenou sklerózou. Tento objev prokázal souvislost s tím, že se hodnoty GFAP zvyšují především při poškození mozku nebo při degeneraci mozkové tkáně. Zvýšené hodnoty nalézáme také se zvyšujícím se věkem člověka. Díky tomu se dá GFAP využít jako molekulární marker pro průkaz neurálního poškození. Hodnota GFAP se může stanovit buď v séru nebo v mozkomíšním moku za využití imunoesejí. Tato metoda však není úplně přesná. Kromě toho je GFAP nejvíce produkován reaktivními astrocyty v poškozené mozkové tkáni a astrocyty ve zdravé tkáni produkují pouze malé množství tohoto proteinu, což nemůžeme imunohistochemicky detekovat. Dále je GFAP produkován také řadou dalších buněk a orgánů i mimo CNS. Z tohoto důvodu se pro průkaz astrocytů využívají i další molekuly [44, 50].

Mezi další látky využívané jako markery pro průkaz reaktivních astrocytů se řadí například protein S100 β , který se vyskytuje v cytosolu astrocytu a váže vápenaté kationty. Dále se může využít folátový enzym aldehyddehydrogenáza 1 člen rodiny L1 (ALDH1L1), který způsobuje přeměnu NADP na NADPH. Reaktivní astrocyty lze také prokázat pomocí glutamin syntetázy

nebo glutamátových transportérů GLT-1 a GLAST, které se vyskytují v membráně astrocytů. Využit lze také například strukturální protein vimentin, který se svojí stavbou podobný GFAP [44, 49, 50].

Množství GFAP, kromě průkazu reaktivních astrocytů, může sloužit také jako ukazatel závažnosti onemocnění. Například hladina GFAP v mozkomíšním moku souvisí s různými typy RS a mohla by být užitečným ukazatelem progresu nemoci. Sérová hladina GFAP zase koreluje s mírou a závažností postižení pacienta. Tento vztah mezi sérovým GFAP a klinickými projevy nemoci by mohl být také využit pro určení následujícího průběhu RS [51].

3.2 Fyziologická funkce astrocytů

Jak již bylo zmíněno, funkce astrocytů jsou velmi různorodé. Původně byly astrocyty považovány za homogenní buněčnou populaci, která měla funkci pouze podpůrnou. Až během předchozích 20 let se zjistilo, že astrocyty mají rozmanitou strukturu a funkce, které závisí na mnoha faktorech [52].

Astrocyty jsou důležitou složkou hematoencefalické bariéry. Svými výběžky vytváří tenkou membránu zvanou *glia limitans* a společně s buňkami endotelu, neurony a pericyty tvoří neurovaskulární jednotku. *Glia limitans* podporuje integritu hematoencefalické bariéry. Zároveň funguje jako další bariéra, která zabraňuje prostupu imunitních buněk do CNS [52, 53].

Astrocyty napomáhají vytvářet synapse tím, že jsou jejich výběžky v kontaktu s presynaptickým i postsynaptickým neuronem. Zároveň produkují látky, které formaci synapse podporují, jako třeba růstový faktor TGF- β 1. Do tohoto procesu jsou zapojeny také NMDA receptory, což jsou receptory pro glutamát. Mediátorem je v tomto případě D-serin [52, 54]. Také produkují laktát, který je rovněž klíčový, a to pro regulaci excitability neuronů [55].

Astrocyty také regulují synaptický přenos signálu pomocí iontových kanálů, metabolitů a neurotransmiterů. Na svých výběžcích exprimují kanály pro K^+ nazývané Kir4.1 [55]. Ty napomáhají odstraňovat K^+ z extracelulárního prostředí a tím upravují membránový potenciál neuronů a jejich excitabilitu. Při snížené expresi těchto kanálů se K^+ zadržuje v extracelulárním prostředí a dochází k hyperexcitabilitě neuronů. Astrocyty se zapojují v udržování stálé hladiny neurotransmiteru glutamátu tím, že ho odstraňují ze synaptické štěrbině pomocí glutamátových transportérů. Při narušené expresi těchto receptorů se glutamát ve zvýšené míře uvolňuje z neuronů a zdržuje se v synaptické štěrbině. To způsobuje poškození neuronů procesem

zvaným excitotoxicita [48, 53]. Dále se podílejí na udržování vodní homeostázi v CNS prostřednictvím kanálu akvaporinu-4 [55].

Astrocyty za fyziologických podmínek uvolňují malé množství protizánětlivých cytokinů, a to TGF- β a IL-10 a exprimují Fas ligand. Tím podporují přirozeně nezápětlivé prostředí v CNS [53].

3.3 Aktivace astrocytů

Jak již bylo zmíněno, astrocyty se po jejich aktivaci mohou vyskytovat ve dvou formách. Jde o neurotoxickou formu A1 a o neuroprotektivní formu A2. Aktivace astrocytu ve fenotyp A1 probíhá pomocí prozánětlivých látek tvořených aktivovanými T lymfocyty a mikroglie. Jde především o C1q, což je složka komplementu, dále TNF- α a IL-1 α . A1 astrocyty následně způsobují zvýšenou tvorbu zánětlivých markerů jako například IL-1 β , TNF- α nebo reaktivních forem kyslíku. To má za následek narušení tvorby synapsí a poškození neuronů [45, 56].

Aktivace astrocytů ve fenotyp A2 je také zajišťován mikroglie. Tato forma astrocytu byla identifikována při analýze vzorků s ischemií a k aktivaci dochází na základě ztišení miR-21 a vlivem nukleárního faktoru NFIA. A2 astrocyty způsobují, stejně jako A1 astrocyty, zvyšování hladiny určitých látek. V tomto případě jde o neuroprotektivní faktory, které mají schopnost podpořit opravu porušených synapsí a také podporují růst a přežití neuronů. Jde například o protein PK2, chitin-like 3, sfingosinkinázu 1 nebo pentraxin 3 [45, 56].

Reaktivitu astrocytů ovlivňuje hned několik signálních cest. Jde například o signalizaci JAK/STAT3, NF- κ B, S1PR, CN a MAPK. Jaderný faktor kappa-B (NF- κ B) je spojován s neurozánětlivou reakcí u neurodegenerativních onemocnění. Řídí produkci prozánětlivých cytokinů, chemokinů, expresi adhezivních molekul nebo ROS. Také má zásadní roli při infiltraci lymfocytů do bílé hmoty v CNS, demyelinizaci a poškození neuronů [45, 53, 56].

Signální cesta receptoru sfingosin 1-fosfátu (S1PR) v astrocytech podporuje vznik astrogliózy, zánětu a poškození hematoencefalické bariéry. U roztroušené sklerózy je exprese tohoto receptoru silně zvýšena. V modelu RS u myši došlo po delecii S1PR k zlepšení průběhu onemocnění, což by mohlo mít terapeutický potenciál. To však prozatím nebylo dostatečně prozkoumáno [45, 56].

V současné době je za nejvýznamnější signální cestu, která má schopnost zahajovat aktivaci astrocytů, považována signalizace Janus kináza/STAT transkripční faktor 3 (JAK/STAT3).

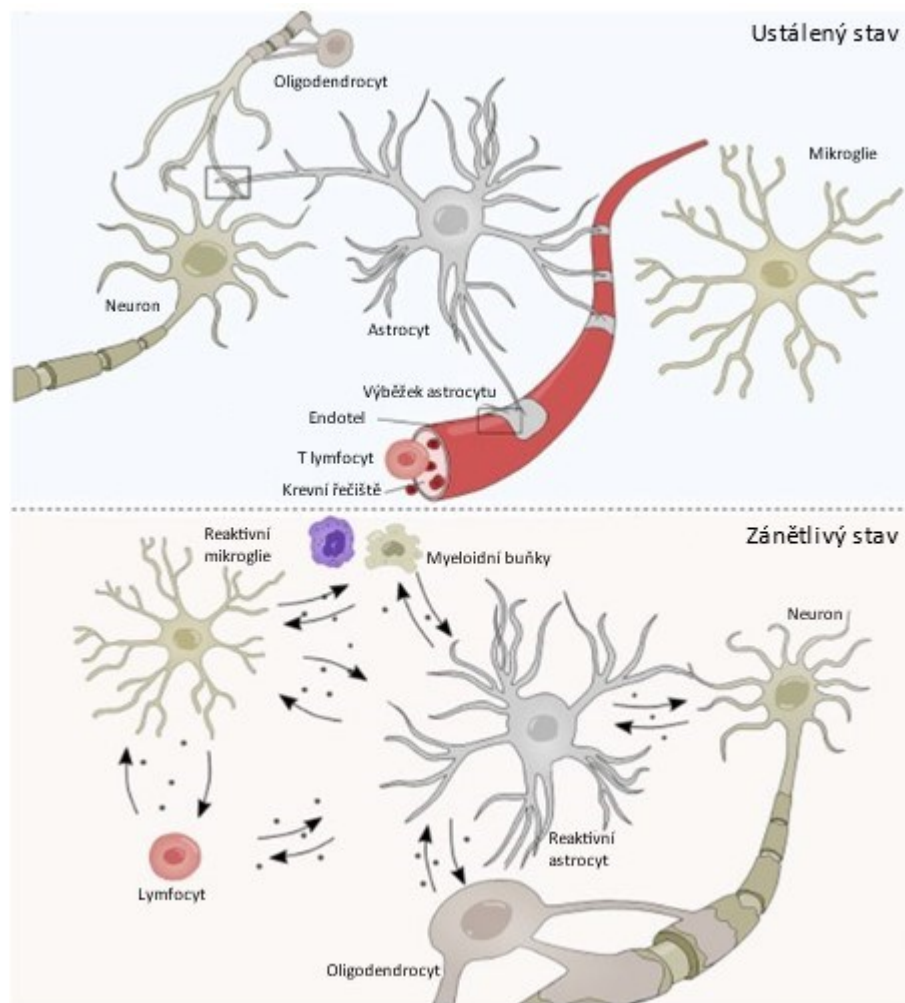
Kromě toho reguluje různé funkce astrocytů, jako například zachování myelinu, sekrece protizánětlivých cytokinů, redukce infiltrace lymfocytů do CNS nebo formaci gliové jizvy [45].

Celý proces aktivace astrocytů je složitý děj a ke vzniku konečného fenotypu aktivovaného astrocytu se jednotlivé popsané mechanismy navzájem doplňují a spolupracují [56].

4 Role astrocytů při roztroušené skleróze

Role astrocytů při RS byla prokázána již v 19. století. K průkazu došel Jean-Marie Charcot, kdy objevil astrocyty jako součást zánětlivých lézí RS [48].

Dříve se předpokládalo, že se astrocyty zánětlivé reakce v CNS přímo neúčastní a podílejí se pouze tvorbou gliové jizvy. V současné době je již však prokázáno, že se astrocyty účastní na vzniku léze v CNS mnohem dříve a mají významnou roli v patogenezi roztroušené sklerózy (Obrázek 5) [53].



Obrázek 5: Funkce astrocytů za fyziologického a zánětlivého stavu, převzato a upraveno z [55]

Astrocyty mají schopnost reagovat na poškození mozku. Toto poškození může být způsobeno buď úrazem nebo vlivem onemocnění napadající mozkovou tkáň. U astrocytů dochází k jejich aktivaci, změně morfologie a společně s tím také ke změně jejich funkcí. Tím, že dochází k redukci jejich homeostatických metabolických funkcí, se ve zvýšené míře exprimuje GFAP.

Ten je, jak již bylo popsáno, využíván jako marker reaktivních astrocytů a vzniku astrogliózy [52].

Vlivem vzniklého zánětu a demyelinizace v mozku mají astrocyty schopnost proliferovat a hypertrofovat. Takto hypertrofované astrocyty se vyznačují zvětšeným buněčným tělem a sníženým počtem výběžků, a tvoří hustou síť, gliovou jizvu. K vytvoření této jizvy napomáhá zvýšená exprese různých adhezních molekul, cytokinů, růstových faktorů, receptorů, enzymů anebo inhibitorů proteáz [52, 53].

Astrocyty kromě tvorby gliové jizvy samy produkují nebo zvyšují produkci mnoha faktorů. Jde například o syntézu TNF- α , IL-1 β , IL-6, růstový faktor pro monocyty a granulocyty (GM-CSF), chemokiny, nervový růstový faktor (NGF), mozkový neurotrofický faktor (BDNF) nebo vaskulární endotelový růstový faktor (VEGF). Tvorbou těchto látek podporují funkce makrofágů, mikrocytů a lymfocytů. Kromě tohoto mají astrocyty schopnost také zvyšovat expresi receptorů pro cytokiny, například GM-CSF receptor. To jim napomáhá odpovídat na cytokiny, které jsou tvořené imunitními buňkami. Astrocyty se dále mohou podílet na upregulaci mnoha genů, které jsou spojené s vrozenou i získanou imunitou, s prezentací antigenů a infiltrací lymfocytů do CNS. Se zánětlivou aktivací astrocytů souvisí také dysfunkce mitochondrií, kdy dochází ke změně v metabolismu z oxidativní fosforylace na glykolýzu [52, 53].

Kromě funkce v patogenezi RS, se astrocyty významně podílejí také na ochraně CNS a na obnově poškozené tkáně. To vychází z odlišných forem aktivovaných astrocytů. Tato protektivní funkce astrocytů by mohla znamenat vznik nových léčebných strategií, které by tento potenciál astrocytů využívaly [55].

4.1 Poškození hematoencefalické bariéry

Zánětlivá reakce v CNS je zahajována narušením struktury a funkce hematoencefalické bariéry. Toto poškození je typickým znakem roztroušené sklerózy. Za fyziologických podmínek regulují astrocyty permeabilitu hematoencefalické bariéry a tím dochází také k regulaci prostupu imunitních buněk do CNS [48, 52].

Zvýšení permeability hematoencefalické membrány je komplexní děj zahrnující několik mechanismů. Dochází zde k redukci proteinů, které tvoří těsné spoje membrány. Konkrétně jde o proteiny okcludin a klaudin. Na této redukci se podílí řada cytokinů, chemokinů, dále také matrixové metaloproteázy a ROS. Samy astrocyty produkují látky, které se přímo podílí na

snížení tvorby těchto proteinů v těsných spojkách a zároveň podporují apoptózu endoteliálních buněk. Jde například o IL-1 β , TNF, glutamát nebo oxid dusnatý (NO) [52].

Na porušení hematoencefalické bariéry se podílí také to, že při aktivaci astrocytů dochází k narušení struktury neurovaskulární jednotky a také *glia limitans*. Astrocyty odtahují své výběžky z okolí kapilár, což je podpořeno matrixovými metaloproteázami, které štěpí proteiny nacházející se mezi výběžky astrocytů a bazální membránou kapiláry [52].

Skrz takto poškozenou hematoencefalickou bariéru prostupují imunitní buňky do CNS. Tuto infiltraci imunitních buněk astrocyty dále podporují tvorbou řady chemoatraktivních cytokinů. Jde například o cytokiny CCL2, CCL20, CXCL8 a CXCL10. Tyto chemokiny se navzájem doplňují a společně mají schopnost přitahovat lymfocyty, makrofágy, dendritické buňky, bazofily a další do místa zánětu. Astrocyty dále produkují IL-6, který zvyšuje expresi adhezivních molekul na buňkách endotelu, například VCAM nebo ICAM. Tím se také podílejí na přitahování a vazbě imunitních buněk v CNS [52, 56].

Pro zachování permeability hematoencefalické membrány je klíčová signální dráha Hedgehog. Tvorba proteinu „Sonic Hedgehog“ (SHH) je u astrocytů během RS výrazně zvýšena. Tento protein podporuje celistvost hematoencefalické bariéry a zároveň podporuje diferenciaci kmenových nervových buněk směrem k neuronům a oligodendrocytům. Také má schopnost podporovat a usnadňovat tvorbu myelinu a růst axonů [48, 57, 58].

4.2 Funkce astrocytů v zánětlivých lézích

Aktivované astrocyty se významně podílejí na patogenezi lézí roztroušené sklerózy. Nacházejí se na okraji zánětlivých ložisek a zasahují také do nezanícené bílé hmoty mozkové. Tento fakt podporuje teorii, že se astrocyty mohou aktivně zapojovat do rozšiřování lézí. Také bylo zjištěno, že tyto astrocyty na okraji ložisek obsahují zbytky myelinu. Astrocyty by v souvislosti s tímto faktem, mohly fungovat také jako antigen-prezentující buňky, kdy by prezentovaly myelinové antigeny T lymfocytům. Tuto domněnku může podporovat také to, že u astrocytů v aktivních lézích dochází k expresi MHC II. třídy a kostimulačních molekul CD80 a CD86. Tato hypotéza však nebyla zatím dostatečně objasněna [52, 53].

Výskyt myelinových zbytků v astrocytech má za následek také zahájení astrocytární signalizace NF- κ B. U hypertrofovaných astrocytů také dochází k sekreci chemokinů a expresi adhezních molekul, což způsobuje přitahování a udržování lymfocytů, mikroglíí a dalších buněk v ložisku RS, jak již bylo zmíněno v předchozí podkapitole. Mikroglie pomáhá aktivovat a akumulovat

sekrecí IL-6 a lymfotoxinu α . Astrocyty mají také schopnost podporovat aktivaci CD4+ T lymfocytů na Th1 a Th17 lymfocyty, čímž zvyšují výskyt zánětu v CNS. Dále aktivují také CD8+ T lymfocyty díky sekreci IL-15. Pomocí IL-15 napomáhají také aktivaci a proliferaci B lymfocytů. Na aktivaci B lymfocytů se podílí také faktor aktivující B lymfocyty (BAFF). Tento faktor by mohl být klíčový pro patogenezi zapříčiněnou B lymfocyty [52, 53].

Další poškození mozkové tkáně v zánětlivých ložiscích RS je způsobeno vlivem narušeného metabolismu glutamátu. To je potvrzeno zvýšeným množstvím glutamátu v aktivních lézích u pacientů s RS [53].

Astrocyty jsou dále nejvýznamnějšími producenty ROS a reaktivní formy dusíku (RSN). Tato produkce je vyvolána vzniklým zánětem v CNS [52].

4.3 Reaktivní astroglióza

V místě zánětlivé léze v CNS tvoří hypertrofované astrocyty gliovou jizvu procesem zvaným astroglióza. Ta se původně považovala pouze za fyzickou bariéru, sloužící k opravě a obnově poškozeného místa. Také se věřilo, že gliová jizva zabraňuje opětovnému růstu axonů a remyelinizaci. V současné době se již ví, že astroglióza má naopak mnoho různých funkcí včetně prospěšných, jako například ochrana neuronů, oprava hematoencefalické bariéry nebo omezování zánětu v CNS. Samy astrocyty se také aktivně zapojují při regeneraci axonů pomocí neurotrofických faktorů. Astroglióza může mít samozřejmě i škodlivé účinky, a to například zhoršení zánětu nebo potlačení obnovy synapsí a axonů [55, 59, 60].

Astroglióza je proces, který zahrnuje řadu mechanismů jako například regulaci transkripce anebo biochemickou, morfologickou metabolickou a fyziologickou remodelaci. Reaktivní astroglióza se nevyskytuje pouze u roztroušené sklerózy, ale i u řady dalších onemocnění, které postihují mozkovou tkáň. Objevuje se také u úrazů mozku, dalších neurodegenerativních onemocnění, u cévní mozkové příhody a také u mikrobiálních infekcí CNS [59].

Astroglióza se může vyskytovat ve více odlišných formách. Většina z nich se však spojuje s vyšší produkcí GFAP, který je tedy marker poškození CNS. Astrocyty se shlukují v místě poškození CNS a vytvářejí prostorovou síť. Pro podporu a zpevnění této vznikající sktruktury astrocyty exprimují vláknité proteiny, a to právě zmíněný GFAP a dále vimentin a nestin [55, 61].

Jizva tvořená astrocyty v místě poškození mozku je významná pro integritu tkáně. Tvoří fyzickou bariéru, která zabraňuje prostupu dalších zánětlivých buněk do léze. Tím se podílejí na zastavení rozšíření zánětu z léze do okolní zdravé tkáně [59].

Gliová jizva nemusí být bariérou pouze pro zánětlivé imunitní buňky, ale může být překážkou také pro oligodendrocyty. Ty jsou v lézi RS nejprve vlivem zánětu odstraňovány apoptózou, kterou mohou aktivní astrocyty podporovat pomocí TNF nebo Fas ligandu. Později se oligodendrocyty do místa zánětu zase vracejí a mají zásadní význam pro remyelinizaci. Nejprve musí dojít k proliferaci progenitorové buňky pro oligodendrocyt. Následně migruje do místa, kde došlo k demyelinizaci a diferencuje ve zralý oligodendrocyt schopný tvořit myelin. Gliová jizva však může způsobit, že se progenitorové buňky nemohou dostat přímo do léze RS a zůstávají pouze na okraji ložiska. Astrocyty mohou zabraňovat remyelinizaci také sekrecí určitých látek. Například produkují kyselinu hyaluronovou, která se shromažďuje v lézi a zabraňuje vyžráním progenitorové buňky. Astrocyty dále tvoří chondroitin sulfát, který se vyskytuje na okraji léze a může zabraňovat diferenciaci a adhezi oligodendrocytu. V inhibici remyelinizace může také působit fibronectin, fibroblastový růstový faktor 2 anebo cytokiny TNF- α a IL-6. Remyelinizace je možná pouze v časných stádiích onemocnění. V pozdější fázi a v chronických zánětlivých ložiscích je již tvorba nového myelinu značně omezená [52].

4.4 Neuroprotektivní funkce astrocytů

Astrocyty kromě patologických funkcí vykazují také značné neuroprotektivní účinky. To je způsobeno odlišným aktivním fenotypem astrocytů, jak již bylo popsáno v předchozích kapitolách.

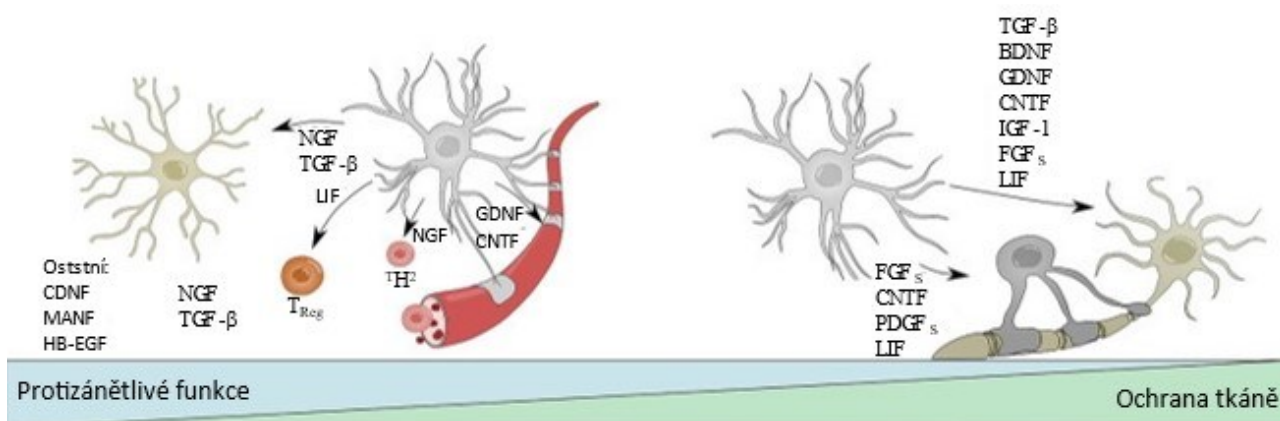
První z mechanismů astrocytů pro ochranu CNS je tvorba gliové jizvy, která funguje jako fyzická bariéra proti průniku imunitních buněk. Dále produkují řadu mediátorů, které zajišťují protektivní působení astrocytů. Například tvoří neurotrofické faktory, které jsou obecně důležité pro přežití neuronů. Jedním z těchto faktorů je mozkový neurotrofický faktor. Za fyziologických podmínek je BDNF tvořeno pouze malé množství. Vyšší produkce tohoto faktoru nastává při nějakém poškození mozku, například při úrazu, ischemii nebo také při zánětu v mozkové tkáni. Zvýšená hladina BDNF napomáhá remyelinizaci v místě zánětu. BDNF má, stejně jako samotné astrocyty, dvojitý účinek na základě toho, přes jaké receptory působí. Jedním z receptorů pro BDNF je vysokoafinitní TrkB. Signalizace pomocí tohoto receptoru zajišťuje a podporuje růst a přežití axonů. Druhým receptorem pro BDNF je

nízkoafinitní p75^{NTR}. Ten na rozdíl od receptoru TrkB podporuje apoptózu v CNS. Působení BDNF je regulováno pomocí zpětné vazby. Na nadměrnou signalizaci skrz BDNF reagují astrocyty tvorbou neurotoxického množství NO. BDNF byl také identifikován jako mediátor pro glatimer acetát, což je jeden z léků z první linie léčby využívaný pro léčbu relaps remitentní formy RS. Tento objev byl proveden v myším modelu neurodegenerace a mohl by znamenat možný terapeutický potenciál [45, 55].

Dalším neurotrofickým faktorem je nervový růstový faktor. O působení NGF se ví mnohem méně než o působení BDNF, ale účinky mají velmi podobné. Receptorem pro NGF je TrkA, díky kterému NGF také podporuje přežití neuronů. Dalším receptorem je p75^{NTR} a stejně jako u BDNF způsobuje apoptózu [55].

Dalším neurotrofickým faktorem, podílejícím se na protizánětlivé reakci astrocytů a při ochraně mozkové tkáně je neurotrofický faktor odvozený z gliových buněk (GDNF). Ten společně ještě s dalšími faktory patří do rodiny TGF- β . GDNF se kromě podpory neuronů podílí také na podpoře těsných spojů a působí také na permeabilitu hematoencefalické membrány [55].

Astrocyty dále jako odpověď na vzniklý zánět v CNS produkují protizánětlivý cytokin IL-27. Tento cytokin se ve vyšší míře také objevuje v mozkomíšním moku pacientů s RS. Dále dochází ke zvýšené tvorbě cytokinů IL-10 a IL-4. Ty, pokud jsou produkovány společně, mají rovněž protizánětlivou funkci (Obrázek 6) [57].



Obrázek 6: Neuroprotektivní funkce astrocytů, převzato a upraveno z [55]

Na regulaci prostupu imunitních buněk do CNS se astrocyty podílejí také pomocí vzájemné komunikace s endoteliálními buňkami. V tomto mechanismu se důležitá již zmiňovaná signalizace Hedgehog. Protein SHH, který astrocyty produkují během této signální dráhy,

má schopnost snižovat permeabilitu endotelu. Funkci tohoto proteinu podporuje fakt, že se ve zvýšeném množství vyskytuje v aktivních lézích RS [57].

4.5 Terapeutický potenciál astrocytů

Jak již bylo v předchozím textu párkrát naznačeno, astrocyty by mohly být novým cílem pro vznik dalších léčebných přípravků.

Z existujících léků využívaných pro léčbu RS již má několik z nich jako vedlejší funkci účinek i na astrocyty. Například dimethylfumarát má schopnost potlačit aktivaci astrocytů v prozánětlivý fenotyp. Dále fingolimod může regulovat funkce astrocytů pomocí inhibice signální dráhy NF- κ B. Glatimer acetát zas podporuje sekreci IL-10 a TGF- β astrocyty. I přes toto však zatím neexistuje lék, který by cílil výhradně na astrocyty a jejich funkce [52].

Existující terapeutické přístupy zaměřené na astrocyty jsou obecně založené na buněčné náhradě, genové terapii anebo na exogenním podávání sloučenin, které mohou indukovat neuroprotektivní funkci astrocytů. Například je navržena genová úprava astrocytů, která by podporovala jejich protektivní funkci. Bylo zjištěno, že adeno-asociovaný virus funguje jako dobrý vektor pro dodání virového genu do astrocytů. Dále se jako možná terapeutická strategie uvažuje využití epigenetického modifikátoru. To je založeno na tom, že astrocyty ve tkáni zasažené RS vykazují odlišnou expresi transkripčních faktorů, což vede k metylaci DNA a následně ke zvýšení patologického procesu v CNS. Tyto astrocyty také vykazují odlišnou expresi různých genů, které kódují vznik proteinů. Modifikací tohoto procesu by se mohlo dosáhnout úpravy patogeneze RS [55, 59].

Vzhledem k existenci buď prozánětlivých nebo naopak neuroprotektivních forem astrocytů se nabízí také možnost terapie založené na včasné přeměně astrocytů na typ A2 [45]. Dále by možný terapeutický potenciál mohl mít neurotrofický faktor BDNF, jak již bylo zmíněno. BDNF se v myším modelu neurodegenerace ukázal jako mediátor pro glatimer acetát [55].

Závěr

Cílem této práce bylo prozkoumat a popsat působení astrocytů v patogenezi roztroušené sklerózy. Původně se předpokládalo, že na patogenezi roztroušené sklerózy mají vliv především T lymfocyty. V současné době je již dobře prokázáno, že se na rozvoji tohoto onemocnění podílí další řada buněk, a to například B lymfocyty nebo právě astrocyty.

U astrocytů byla popsána značná rozmanitost v jejich morfologii na základě jejich umístění v mozku nebo jejich reaktivitě. Právě aktivace astrocytů je pro roztroušenou sklerózu klíčová, protože se mohou měnit do více forem a podle toho působit na průběh onemocnění. Je již prokázáno, že astrocyty mohou působit prozánětlivě a tím podporovat patogenezi roztroušené sklerózy. Mohou se však vyznačovat také neuroprotektivní funkcí a zánět způsobený roztroušenou sklerózou potlačovat. Tím se podílejí na zlepšení stavu onemocnění.

Celý proces aktivace astrocytů je velmi komplexní děj zahrnující mnoho proměnných kroků, kdy řada z nich stále není dostatečně objasněna. I přes to je v současné době snaha navrhovat nové léky, které by přímo cílily na funkce astrocytů. Několik možných léčebných strategií již existuje, ale celá problematika bude muset být ještě více prozkoumána.

POUŽITÁ LITERATURA

- [1] MELUZÍNOVÁ, Eva. Roztroušená skleróza. *Psychiatrie pro praxi*. 2008, 9(3), 108-111. ISSN 1803-5272. Dostupné z: <http://solen.cz/savepdfs/psy/2008/03/02.pdf>
- [2] THOMPSON, Alan J, Sergio E BARANZINI, Jeroen GEURTS, Bernhard HEMMER a Olga CICCARELLI. Multiple sclerosis. *The Lancet*. 2018, 391(10130), 1622-1636. ISSN 01406736. Dostupné z: doi:10.1016/S0140-6736(18)30481-1
- [3] KUBALA HAVRDOVÁ, Eva. Roztroušená skleróza. Ilustroval Klára ZÁPOTOCKÁ, ilustroval Veronika BRATRYCHOVÁ. Praha: Mladá fronta, 2013, str.39-74. Aeskulap. ISBN 978-80-204-3154-7.
- [4] GARG, Neeta a Thomas W. SMITH. An update on immunopathogenesis, diagnosis, and treatment of multiple sclerosis. *Brain and Behavior*. 2015, 5(9). ISSN 2162-3279. Dostupné z: doi:10.1002/brb3.362
- [5] KLINEOVA, Sylvia a Fred D. LUBLIN. Clinical Course of Multiple Sclerosis. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*. 2018, 8(9). ISSN 2157-1422. Dostupné z: doi:10.1101/cshperspect.a028928
- [6] ŠTOURACĚ, Pavel. Current diagnostics of secondary progressive form of multiple sclerosis and its treatment with siponimod. *Česká a slovenská neurologie a -* +doi:10.14735/amesnn2020364
- [7] DOSHI, Anisha a Jeremy CHATAWAY. Multiple sclerosis, a treatable disease. *Clinical Medicine*. 2016, 16(Suppl 6), s53-s59. ISSN 1470-2118. Dostupné z: doi:10.7861/clinmedicine.16-6-s53
- [8] KUBALA HAVRDOVÁ, Eva. Roztroušená skleróza v praxi. Praha: Galén, 2015, str.13-24. ISBN 978-80-7492-189-6.
- [9] HAASE, Stefanie a Ralf A. LINKER. Inflammation in multiple sclerosis. *Therapeutic Advances in Neurological Disorders*. 2021, 14. ISSN 1756-2864. Dostupné z: doi:10.1177/17562864211007687
- [10] VALIŠ, Martin a Zbyšek PAVELEK. Roztroušená skleróza pro praxi. 2. vydání. Praha: Maxdorf, 2020, str.12-42. Jessenius. ISBN 978-80-7345-672-6.
- [11] LIU, Rongzeng, Shushu DU, Lili ZHAO, et al. Autoreactive lymphocytes in multiple sclerosis: Pathogenesis and treatment target. *Frontiers in Immunology*. 2022, 13. ISSN 1664-3224. Dostupné z: doi:10.3389/fimmu.2022.996469

- [12] LEMUS, Hernan Nicolas, Arthur E. WARRINGTON a Moses RODRIGUEZ. Multiple Sclerosis. *Neurologic Clinics*. 2018, 36(1), 1-11. ISSN 07338619. Dostupné z: doi:10.1016/j.ncl.2017.08.002
- [13] KUNKL, Martina, Carola AMORMINO, Valentina TEDESCHI, Maria Teresa FIORILLO a Loretta TUOSTO. Astrocytes and Inflammatory T Helper Cells: A Dangerous Liaison in Multiple Sclerosis. *Frontiers in Immunology*. 2022, 13. ISSN 1664-3224. Dostupné z: doi:10.3389/fimmu.2022.824411
- [14] JÍLEK, Petr. *Imunologie: stručně, jasně, přehledně. 2., doplněné vydání*. Praha: Grada Publishing, 2019, str.49-51. ISBN 978-80-271-0595-3.
- [15] LAZIBAT, Ines. Multiple Sclerosis: New Aspects of Immunopathogenesis. *Acta Clinica Croatica*. 2018, 57(2). ISSN 03539466. Dostupné z: doi:10.20471/acc.2018.57.02.17
- [16] KASKOW, Belinda J. a Clare BAECHER-ALLAN. Effector T Cells in Multiple Sclerosis. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*. 2018, 8(4). ISSN 2157-1422. Dostupné z: doi:10.1101/cshperspect.a029025
- [17] SVOBODOVÁ, Monika a Pavel ŠTOURAC. Role specifické buněčné imunity v patogenezi roztroušené sklerózy se zaměřením na Th17 a Treg lymfocyty. *Česká a slovenská neurologie a neurochirurgie: časopis českých a slovenských neurologů a neurochirurgů*. Brno: Ambit Media, 2017, 80(1), 173-179. ISSN 1210-7859. Dostupné z: doi: 10.14735/amcsnn2017173
- [18] SALOU, Marion, Bryan NICOL, Alexandra GARCIA a David-Axel LAPLAUD. Involvement of CD8+ T Cells in Multiple Sclerosis. *Frontiers in Immunology*. 2015, 6. ISSN 1664-3224. Dostupné z: doi:10.3389/fimmu.2015.00604
- [19] Vazifedoust S, Esmaili Gouvarchin Ghaleh H, Khafaei M, Azemati F, Jalali Kondori B. Comprehensive Assessment of Multiple Sclerosis: From Immunotherapy and Immunopathogenesis to Predictive Biomarkers. *Iran J Pathol*. 2022 Summer;17(3):241-250. Dostupné z: doi: 10.30699/IJP.2022.541483.2755.
- [20] VAN LANGELAAR, Jamie, Liza RIJVERS, Joost SMOLDERS a Marvin M. VAN LUIJN. B and T Cells Driving Multiple Sclerosis: Identity, Mechanisms and Potential Triggers. *Frontiers in Immunology*. 2020, 11. ISSN 1664-3224. Dostupné z: doi:10.3389/fimmu.2020.00760
- [21] GHARIBI, Tohid, Zohreh BABALOO, Arezoo HOSSEINI, Farooq MAROFI, Abbas EBRAHIMI-KALAN, Saeed JAHANDIDEH a Behzad BARADARAN. The

- role of B cells in the immunopathogenesis of multiple sclerosis. *Immunology*. 2020, 160(4), 325-335. ISSN 0019-2805. Dostupné z: doi:10.1111/imm.13198
- [22] ARNETH, Borros M. Impact of B cells to the pathophysiology of multiple sclerosis. *Journal of Neuroinflammation*. 2019, 16(1). ISSN 1742-2094. Dostupné z: doi:10.1186/s12974-019-1517-1
- [23] SLÁDKOVÁ, Vladimíra. Diagnostika roztroušené sklerózy, typické klinické příznaky. *Medicína pro praxi*. 2015, 12(5), 236-242. Dostupné z: <http://medicinapropraxi.cz/pdfs/med/2015/05/07.pdf>
- [24] PETRICEKS, Aldis H. a Theodore A. STERN. Assessment of Neurologic Signs and Symptoms: Establishing a Diagnosis of Multiple Sclerosis. *The Primary Care Companion For CNS Disorders*. 2021, 23(6). ISSN 2155-7780. Dostupné z: doi:10.4088/PCC.20f02871
- [25] PETERKA, Marek a Pavel POTUŽNÍK. Early diagnosis and treatment of multiple sclerosis. *Neurologie pro praxi*. 2021, 22(2), 128-131. ISSN 12131814. Dostupné z: doi:10.36290/neu.2021.003
- [26] DEISENHAMMER, Florian, Henrik ZETTERBERG, Brit FITZNER a Uwe K. ZETTL. The Cerebrospinal Fluid in Multiple Sclerosis. *Frontiers in Immunology*. 2019, 10. ISSN 1664-3224. Dostupné z: doi:10.3389/fimmu.2019.00726
- [27] OCEJO, Antonio a Ricardo CORREA. Methylprednisolone. 2022. Treasure Island: StatPearls Publishing, 2022. PMID: 31335060. Dostupné také z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK544340/>
- [28] TRAVERS, Brett S, Benjamin K-T TSANG a Joshua L BARTON. Multiple sclerosis: Diagnosis, disease-modifying therapy and prognosis. *Australian Journal of General Practice*. 2022, 51(4), 199-206. ISSN 2208794X. Dostupné z: doi:10.31128/AJGP-07-21-6103
- [29] FREEMAN, Léorah, Erin E. LONGBRAKE, Patricia K. COYLE, Barry HENDIN a Timothy VOLLMER. High-Efficacy Therapies for Treatment-Naïve Individuals with Relapsing–Remitting Multiple Sclerosis. *CNS Drugs*. 2022, 36(12), 1285-1299. ISSN 1172-7047. Dostupné z: doi:10.1007/s40263-022-00965-7
- [30] HAUSER, Stephen L. a Bruce A.C. CREE. Treatment of Multiple Sclerosis: A Review. *The American Journal of Medicine*. 2020, 133(12), 1380-1390.e2. ISSN 00029343. Dostupné z: doi:10.1016/j.amjmed.2020.05.049
- [31] PÉREZ-JELDRES, Tamara, Manuel ALVAREZ-LOBOS a Jesús RIVERA-NIEVES. Targeting Sphingosine-1-Phosphate Signaling in Immune-Mediated

- Diseases: Beyond Multiple Sclerosis. *Drugs*. 2021, 81(9), 985-1002. ISSN 0012-6667. Dostupné z: doi:10.1007/s40265-021-01528-8
- [32] ZIELIŃSKA, Magdalena a Izabela MICHONSKA. Effectiveness of various diet patterns among patients with multiple sclerosis. *Postępy Psychiatrii i Neurologii*. 2023, 32(1), 49-58. ISSN 1230-2813. Dostupné z: doi:10.5114/ppn.2023.127246
- [33] DI MAJO, Danila, Francesco CACCIABAUDO, Giulia ACCARDI, Giuditta GAMBINO, Giuseppe GIGLIA, Giuseppe FERRARO, Giuseppina CANDORE a Pierangelo SARDO. Ketogenic and Modified Mediterranean Diet as a Tool to Counteract Neuroinflammation in Multiple Sclerosis: Nutritional Suggestions. *Nutrients*. 2022, 14(12). ISSN 2072-6643. Dostupné z: doi:10.3390/nu14122384
- [34] HADDAD, Fatma, Ghadeer DOKMAK a Rafik KARAMAN. The Efficacy of Cannabis on Multiple Sclerosis-Related Symptoms. *Life*. 2022, 12(5). ISSN 2075-1729. Dostupné z: doi:10.3390/life12050682
- [35] MECHA, Miriam, Francisco J. CARRILLO-SALINAS, Ana FELIÚ, Leyre MESTRE a Carmen GUAZA. Perspectives on Cannabis-Based Therapy of Multiple Sclerosis: A Mini-Review. *Frontiers in Cellular Neuroscience*. 2020, 14. ISSN 1662-5102. Dostupné z: doi:10.3389/fncel.2020.00034
- [36] ČIHÁK, Radomír. *Anatomie 3. Třetí, upravené a doplněné vydání*. Praha: Grada, 2016, str.211-229. ISBN 978-80-247-5636-3.
- [37] KUHN, Sarah, Laura GRITTI, Daniel CROOKS a Yvonne DOMBROWSKI. Oligodendrocytes in Development, Myelin Generation and Beyond. *Cells*. 2019, 8(11). ISSN 2073-4409. Dostupné z: doi:10.3390/cells8111424
- [38] STADELMANN, Christine, Sebastian TIMMLER, Alonso BARRANTES-FREER a Mikael SIMONS. Myelin in the Central Nervous System: Structure, Function, and Pathology. *Physiological Reviews*. 2019, 99(3), 1381-1431. ISSN 0031-9333. Dostupné z: doi:10.1152/physrev.00031.2018
- [39] DANEMAN, Richard a Alexandre PRAT. The Blood–Brain Barrier. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*. 2015, 7(1). ISSN 1943-0264. Dostupné z: doi:10.1101/cshperspect.a020412
- [40] KADRY, Hossam, Behnam NOORANI a Luca CUCULLO. A blood–brain barrier overview on structure, function, impairment, and biomarkers of integrity. *Fluids and Barriers of the CNS*. 2020, 17(69). Dostupné z: doi:https://doi.org/10.1186/s12987-020-00230-3

- [41] BALASA, Rodica, Laura BARCUTEAN, Oana MOSORA a Doina MANU. Reviewing the Significance of Blood–Brain Barrier Disruption in Multiple Sclerosis Pathology and Treatment. *International Journal of Molecular Sciences*. 2021, 22(16). ISSN 1422-0067. Dostupné z: doi:10.3390/ijms22168370
- [42] TROJAN, Stanislav. *Lékařská fyziologie*. Vyd. 4., přeprac. a dopl. Praha: Grada, 2003, str.157-177. ISBN 80-247-0512-5.
- [43] KITTNAR, Otomar. *Lékařská fyziologie*. 2., přepracované a doplněné vydání. Praha: Grada Publishing, 2020, str.705-718. ISBN 978-80-247-1963-4.
- [44] GUILLAMÓN-VIVANCOS, T., U. GÓMEZ-PINEDO a J. MATÍAS-GUIU. Astrocytes in neurodegenerative diseases (I): function and molecular description. *Neurología (English Edition)*. 2015, 30(2), 119-129. ISSN 21735808. Dostupné z: doi:10.1016/j.nrleng.2014.12.005
- [45] DING, Zhi-Bin, Li-Juan SONG, Qing WANG, Gajendra KUMAR, Yu-Qing YAN a Cun-Gen MA. Astrocytes: a double-edged sword in neurodegenerative diseases. *Neural Regeneration Research*. 2021, 16(9). ISSN 1673-5374. Dostupné z: doi:10.4103/1673-5374.306064
- [46] ZHOU, Bin, Yun-Xia ZUO a Ruo-Tian JIANG. Astrocyte morphology: Diversity, plasticity, and role in neurological diseases. *CNS Neuroscience & Therapeutics*. 2019, 25(6), 665-673. ISSN 1755-5930. Dostupné z: doi:10.1111/cns.13123
- [47] Supporting Brain Cells, Astrocytes Also May Contribute to Parkinson’s Disease, Study Suggests. Florida, US: BioNews, 2020. Dostupné z: <https://parkinsonsnewstoday.com/news/supporting-brain-cells-astrocytes-contribute-parkinsons-disease-study/>
- [48] LEE, Hong-Gyun, Michael A. WHEELER a Francisco J. QUINTANA. Function and therapeutic value of astrocytes in neurological diseases. *Nature Reviews Drug Discovery*. 2022, 21(5), 339-358. ISSN 1474-1776. Dostupné z: doi:10.1038/s41573-022-00390-x
- [49] JURGA, Agnieszka M., Martyna PALECZNA, Justyna KADLUCZKA a Katarzyna Z. KUTER. Beyond the GFAP-Astrocyte Protein Markers in the Brain. *Biomolecules*. 2021, 11(9). ISSN 2218-273X. Dostupné z: doi:10.3390/biom11091361
- [50] KHAKH, Baljit S a Michael V SOFRONIEW. Diversity of astrocyte functions and phenotypes in neural circuits. *Nature Neuroscience*. 2015, 18(7), 942-952. ISSN 1097-6256. Dostupné z: doi:10.1038/nn.4043

- [51] RIVAL, Manon, Manon GALOPPIN a Eric THOUVENOT. Biological Markers in Early Multiple Sclerosis: the Paved Way for Radiologically Isolated Syndrome. *Frontiers in Immunology*. 2022, 13. ISSN 1664-3224. Dostupné z: doi:10.3389/fimmu.2022.866092
- [52] AHARONI, Rina, Raya EILAM a Ruth ARNON. Astrocytes in Multiple Sclerosis—Essential Constituents with Diverse Multifaceted Functions. *International Journal of Molecular Sciences*. 2021, 22(11). ISSN 1422-0067. Dostupné z: doi:10.3390/ijms22115904
- [53] PONATH, Gerald, Calvin PARK a David PITT. The Role of Astrocytes in Multiple Sclerosis. *Frontiers in Immunology*. 2018, 9. ISSN 1664-3224. Dostupné z: doi:10.3389/fimmu.2018.00217v
- [54] VASILE, Flora, Elena DOSSI a Nathalie ROUACH. Human astrocytes: structure and functions in the healthy brain. *Brain Structure and Function*. 2017, 22(5), 2017-2029. ISSN 1863-2653. Dostupné z: doi:10.1007/s00429-017-1383-5
- [55] LINNERBAUER, Mathias a Veit ROTHHAMMER. Protective Functions of Reactive Astrocytes Following Central Nervous System Insult. *Frontiers in Immunology*. 2020, 11. ISSN 1664-3224. Dostupné z: doi:10.3389/fimmu.2020.573256
- [56] GIOVANNONI, Federico a Francisco J. QUINTANA. The Role of Astrocytes in CNS Inflammation. *Trends in Immunology*. 2020, 41(9), 805-819. ISSN 14714906. Dostupné z: doi:10.1016/j.it.2020.07.007
- [57] RUIZ, F., S. VIGNE a C. POT. Resolution of inflammation during multiple sclerosis. *Seminars in Immunopathology*. 2019, 41(6), 711-726. ISSN 1863-2297. Dostupné z: doi:10.1007/s00281-019-00765-0
- [58] XIAO, Yifan, Yan SUN, Wei LIU, et al. HMGB1 Promotes the Release of Sonic Hedgehog From Astrocytes. *Frontiers in Immunology*. 2021, 12. ISSN 1664-3224. Dostupné z: doi:10.3389/fimmu.2021.584097
- [59] MOULSON, Aaron J., Jordan W. SQUAIR, Robin J. M. FRANKLIN, Wolfram TETZLAFF a Peggy ASSINCK. Diversity of Reactive Astrogliosis in CNS Pathology: Heterogeneity or Plasticity?. *Frontiers in Cellular Neuroscience*. 2021, 15. ISSN 1662-5102. Dostupné z: doi:10.3389/fncel.2021.703810
- [60] SOFRONIEW, Michael V. Astrocyte barriers to neurotoxic inflammation. *Nature Reviews Neuroscience*. 2015, 16(5), 249-263. ISSN 1471-003X. Dostupné z: doi:10.1038/nrn3898

- [61] CLIFFORD, Tanner, Zachary FINKEL, Brianna RODRIGUEZ, Adelina JOSEPH a Li CAI. Current Advancements in Spinal Cord Injury Research—Glial Scar Formation and Neural Regeneration. *Cells*. 2023, 12(6). ISSN 2073-4409. Dostupné z: [doi:10.3390/cells12060853](https://doi.org/10.3390/cells12060853)