

Received: 2012.02.13
Accepted: 2012.08.09
Published: 2012.10.22

Potencjalne czynniki patogenne w stwardnieniu rozsianym (SM)

Potential pathogens in multiple sclerosis (MS)

Mariola Zawada

Instytut Genetyki Człowieka Polskiej Akademii Nauk w Poznaniu

Streszczenie

Stwardnienie rozsiane jest chorobą neuroimmunologiczną, w której jeszcze nie udało się zidentyfikować czynnika etiologicznego. Etiologia SM jest złożona i może się wiązać z wieloma różnymi czynnikami działającymi jednocześnie lub kaskadowo, prowadząc do rozwoju choroby. Przyczyn rozwoju choroby poszukuje się wśród czynników genetycznych związanych z układem HLA, genami dla receptorów komórek T (TCR), czy też endogennymi retrowirusami obecnymi w ludzkim genomie (HERV). Badane są także czynniki środowiskowe, takie jak infekcje bakteryjne, grzybicze czy też wirusowe, a ponadto analizowany jest potencjalny udział witaminy D w patogenezie choroby. W pracy przedstawiono aktualny stan wiedzy dotyczący potencjalnych czynników uczestniczących w etiopatogenezie stwardnienia rozsianego.

Słowa kluczowe:

stwardnienie rozsiane • bakterie • wirusy • grzyby • HERV • witamina D • TCR • HLA

Summary

Multiple sclerosis is a neuroimmunological disease in which etiologic agents have not been identified yet. The etiology of MS is complex in its nature and may involve many different agents acting simultaneously or in a cascade manner leading to the development of the disease. The causes of MS development were sought among the factors associated with *HLA* and *TCR* genes and human endogenous retroviruses (HERV). Environmental factors such as bacterial, fungal and viral infections as well as potential participation of vitamin D in the pathogenesis of the disease have also been examined. The current state of knowledge concerning potential factors participating in the etiopathogenesis of multiple sclerosis has been reviewed in this paper.

Key words:

multiple sclerosis • bacteria • viruses • HERV • vitamin D • TCR • HLA

Full-text PDF:

<http://www.phmd.pl/fulltxt.php?ICID=1015041>

Word count:

6792

Tables:

–

Figures:

–

References:

101

Adres autorki:

dr Mariola Zawada, Instytut Genetyki Człowieka, Polskiej Akademii Nauk, ul. Strzeszyńska 32, 60-479 Poznań;
e-mail: mzawada@man.poznan.pl

Wykaz skrótów:

AMS – SM o ostrym przebiegu (acute multiple sclerosis); **Apa I** – polimorfizm w genie receptora witaminy D (VDR – vitamin D receptor); **BiP** – białko (binding immunoglobulin protein), znane także jako białko GRP-78 lub białko szoku cieplnego 5 HSPA5, zlokalizowane w reticulum endoplazmatycznym, wiąże nowo zsyntetyzowane białka, utrzymując je w stanie kompetentnym do dalszych etapów składania i oligomeryzacji; **BSM-I** – polimorfizm w genie receptora witaminy D (VDR-vitamin D receptor); **CD103** – integryna (cluster of differentiation 103), zwana także integryną alfa E (ITGAE); **CD103 DCs** – komórki dendrytyczne (DCs-dendritic cells) wykazujące ekspresję integryny CD103; **CFA** – kompletny adiuwant Freund'a (complete Freund adjuvant), zawiera prątki gruźlicy; **CHOP** – białko, znane jako CCAAT/enhancer-binding protein (C/EBP), epsilon oraz CEBPE, jest białkiem proapoptotycznym, wiąże się jako homodimer do określonych regionów regulatorowych DNA; **CRA** – adiuwant zawierający bakterie *Citrobacter rodentium* (*C. rodentium* adjuvant); **CSF** – płyn mózgowo-rdzeniowy (cerebrospinal fluid); **CD58** – gen kodujący białko CD58, zwane także LFA-3 (lymphocyte function-associated antigen 3), białko jest cząsteczką adhezyjną ulegającą ekspresji na komórkach prezentujących antygen (APC – antigen presenting cells), zwłaszcza na makrofagach; **CLEC16A** – gen kodujący białko CLEC16A (C-type lectin domain family 16), które ulega silnej ekspresji w limfocytach B, komórkach NK oraz dendrocytach; **DR2a, DR2b** – allele haplotypu DR2 głównego kompleksu zgodności tkankowej II (MHC II); **EAE** – eksperymentalne autoimmunologiczne zapalenie mózgu i rdzenia, model zwierzęcy SM (experimental allergic encephalomyelitis); **EBV** – wirus Epsteina-Barr (Epstein-Barr virus); **ENV** – białko otoczki, produkt genu retrowirusowego env; **ER stress** – stres retikulum endoplazmatycznego (endoplasmic reticulum stress); **Foxp3(+)(reg)** – komórki regulatorowe T wykazujące ekspresję genu Foxp3 (Forkhead box P3); **Fok-1** – polimorfizm genu receptora witaminy D, wpływający na funkcjonowanie białka receptorowego i systemu immunologicznego, wykazano znaczenie tego polimorfizmu dla funkcjonowania i metabolizmu witaminy D; **GWAS** – genome-wide association study; **HHV-6** – ludzki herpeswirus typu 6 (human herpesvirus 6); **HHV-7** – ludzki herpeswirus typu 7 (human herpesvirus 7); **HSV** – wirus opryszczki pospolitej (herpes simplex virus); **HERV** – ludzkie endogenne retrowirusy (human endogenous retroviruses); **IFN** – interferon; **IMSGC** – Międzynarodowe Konsorcjum Genetyki Stwardnienia Rozsianego (International Multiple Sclerosis Genetics Consortium); **IL** – interleukina; **LTR** – długie terminalne powtórzenia (long terminal repeat); **MAP** – prątki *Mycobacterium avium* subspecies paratuberculosis; **MAP2694** – białko MAP; **MBP** – podstawowe białko mieliny (myelin basic protein); **MSRV** – retrowirus (multiple sclerosis-associated retrovirus); **NIND** – niezapalne choroby neurologiczne (non-inflammatory neurological diseases); **NOS2** – gen (nitric oxide synthase 2); **OIND** – inne zapalne choroby neurologiczne (other inflammatory neurological diseases); **ORFs** – otwarte ramki odczytu (open reading frames); **OUN** – ośrodkowy układ nerwowy; **PBMCs** – jednojądrzaste komórki krwi obwodowej (peripheral blood mononuclear cells); **PPMS** – pierwotnie postępująca postać SM (primary progressive multiple sclerosis); **PSA** – polisacharyd kapsydowy A wytwarzany przez bakterie; **RVP** – wytwarzanie retrowirusowych cząsteczek (retrowirus particle production); **RT** – enzym odwrotna transkryptaza (reverse transcriptase); **RRSM** – nawracająco-ustępująca postać SM (relapsing-remitting multiple sclerosis); **SEA** – enterotoksyna A wydzielana przez gronkowca złocistego (staphylococcal enterotoxin A); **SM** – stwardnienie rozsiane (sclerosis multiplex); **SMS** – SM o stabilnym przebiegu (stable multiple sclerosis); **SNP** – polimorfizm pojedynczego nukleotydu (single nucleotide polymorphism); **SPMS** – wtórnie postępująca postać SM (secondary-progressive multiple sclerosis); **TNF- α** – czynnik martwicy nowotworu α (tumor necrosis factor- α); **Th1, Th17** – subpopulacje limfocytów pomocniczych Th (T helper cells); **TRIM5** – tripartite motif containing 5 gene. Białko kodowane przez ten gen wchodzi w skład rodziny trzyczęściowych motywów (TRIM); **Taq-I** – polimorfizm w genie receptora witaminy D (VDR – vitamin D receptor); **TLR4** – receptor (Toll-like receptor 4); **VZV** – wirus ospy wietrznej i półpaśca (varicella zoster virus); **VDR** – receptor witaminy D (vitamin D receptor); **XBP-1** – czynnik transkrypcyjny regulujący ekspresję genów istotnych dla właściwego funkcjonowania systemu immunologicznego oraz w komórkowej odpowiedzi na stres (X-box binding protein 1).

AUTOIMMUNIZACJA W STWARDNIENIU ROZSIANYM

Powszechnie uważa się, że do rozwoju stwardnienia rozsianego dochodzi w wyniku zaburzenia kontroli i równowagi

adaptacyjnej odpowiedzi immunologicznej. Wiadomo, że w patofizjologii wielu chorób neurologicznych uczestniczą komórki B wytwarzając autoprzeciwciała, cytokiny lub poprzez działanie komórki prezentującej antygen, co

prowadzi do aktywacji komórek T. I właśnie ten moment uważa się za krytyczny w stwardnieniu rozsianym oraz kilku innych chorobach neurologicznych [12].

Dużą rolę w rozwoju SM przypisuje się swoistym dla białek mieliny autoreaktywnym komórkom T CD4(+) dwójakiego typu, albo wytwarzającym interferon gamma (IFN-gamma), albo interleukinę 17 (IL-17). Aktywność tych subpopulacji komórek T CD4(+) w obrębie centralnego układu nerwowego może wpływać na patologię i kliniczny przebieg choroby [18]. Komórki T CD4(+)Th1 wydzielają w czasie toczącego się procesu autoimmunizacyjnego prozapalne cytokiny, takie jak TNF-alfa. Autoreaktywne komórki T pośredniczą we wczesnych etapach pojawiania się nowych uszkodzeń związanych z SM, działając przeciwko antygenom mieliny. W badaniach na modelach zwierzęcych oraz w przypadku pacjentów z SM wykazano, że limfocyty T pomocnicze o fenotypie Th17 także biorą udział w rozwoju SM [45]. Wytwarzają głównie IL-17 oraz indukują proces autoimmunizacji. Czynniki rozróżniające komórki Th17 mają powiązanie z indukcją regulatorowych komórek T - Foxp3(+) [3].

Wyniki badań wskazują także na rolę regulatorowych komórek T CD8(+) w rozwoju choroby [45]. Patogenna funkcja została przypisana komórkom CD8(+) z powodu ich licznej obecności w obrębie zmian w SM. Ważne funkcje regulatorowe komórek T CD8(+) przedstawiono w badaniach nad EAE (experimental allergic encephalomyelitis) na modelu zwierzęcym i SM u człowieka, w których wykazano, że komórki T CD8(+) swoiste dla białek mieliny mogą wpływać na autoimmunogeność w ośrodkowym układzie nerwowym (OUN) [18,101].

Według niektórych autorów czynnikiem ułatwiającym aktywację reaktywnych komórek T i zainicjowanie odpowiedzi autoimmunizacyjnej w SM może być degeneracja receptora TCR. Degeneracja receptora określana także jako elastyczność w rozpoznawaniu antygeny może odgrywać fizjologiczną rolę w selekcji grasiczej (zabezpieczającej przed autoimmunizacją skierowaną przeciwko własnym komórkom) oraz w rozwoju różnorodnych TCR i ochrony przed infekcjami. Zarówno Zhang i wsp. [100], jak i Markovic-Plese [40] uważają, że taka degeneracja, zbytnia elastyczność receptora TCR może także odgrywać rolę w indukcji chorób autoimmunizacyjnych. Allele haplotypu DR2 – głównego kompleksu zgodności tkankowej II (MHC II), a mianowicie DR2a (DRB5*0101) i DR2b (DRB1*1501) są genami związanymi ze wzrostem ryzyka SM w populacji kaukaskiej. Wiązanie peptydu do cząsteczki MHC jest nieodzowne do rozpoznania przez receptory komórek T, dzięki czemu odpowiedź komórek T CD4+ jest ograniczona przez swoiste cząsteczki DR kompleksu MHC klasy II. Aby doprowadzić do selektywnego rozrostu i scharakteryzowania ograniczonych przez cząsteczki DR2 komórek T ze zdegenerowanymi receptorami, autorzy zaprojektowali mieszaninę białek przymocowanych do DR2 MHC klasy II, które preferencyjnie wiązały się do cząsteczek prezentujących antygen DR2a i DR2b (DR2-APM – anchored peptide mixtures). Autorzy przypuszczają, że z powodu niskiego stężenia poszczególnych peptydów użytych do doświadczenia tylko komórki T ze zdegenerowanym receptorem (TCR(deg)) proliferują w odpowiedzi na mieszaninę białek. Autorzy na podstawie znacznie większej liczby komórek TCR reaktywnych

na DR2-APM u pacjentów z SM niż u osób zdrowych sugerują, że mogą one odgrywać rolę w odpowiedzi autoimmunizacyjnej w SM. Niedawne badania wskazują, że astrocyty mogą także odgrywać aktywną rolę w chorobach zapalnych ośrodkowego układu nerwowego, takich jak stwardnienie rozsiane. Astrocyty, podobnie jak i inne komórki glejowe wspierają funkcjonowanie neuronów w prawidłowych warunkach oraz ograniczają proces zapalny w ośrodkowym układzie nerwowym podczas regeneracji aksonów i oligodendrocytów. Jednak wykazują one zdolność do wzmocnienia odpowiedzi immunologicznej i zahamowania naprawy mieliny. Ten szczególnie wpływ astrocytów na patogenezę i ograniczenie zapalnych procesów demielinizacyjnych jest zależny od licznych czynników, m.in. takich jak etap choroby, interakcje z innymi typami komórek oraz czynnikami, które wpływają na ich aktywację i sprawiają, że komórki te odgrywają złożoną rolę w regulacji autoimmunizacji ośrodkowego układu nerwowego [50].

Leitner [33] wskazał na możliwy istotny wpływ neuroendokryny na proces mielinizacji i znaczenie dla patogenezы stwardnienia rozsianego. Wiadomo, że hormony steroidowe znane jako neurosteroidy są syntetyzowane w centralnym układzie nerwowym człowieka i działają miejscowo na tkankę glejową i neuronalną. Pochodne progesteronu wydają się odgrywać rolę czynników biorących udział w powolnym, ale ciągłym procesie budowania mieliny w mózgu dorosłego człowieka. Według autora obniżenie wytwarzania czynników biorących udział w budowie mieliny może prowadzić do formowania strukturalnie zmienionej i mniej stabilnej osłonki, czego wynikiem są patologiczne zmiany demielinizacyjne obserwowane w istocie białej w SM. Zmieniony skład proteiny mielinoj, zredukowana zawartość mieliny i wzrost wrażliwości osłonki mielinoj poprzedza formowanie się zapalne zmiany i klinicznego początku choroby. Heterogenne ogniskowe reakcje autozapalne przyczyniają się do klinicznych symptomów choroby. Neurosteroidy wpływają na skład proteinowy mieliny i doprowadzają do odnowienia mieliny, ale ich udział w tym procesie wydaje się bardzo ograniczony w mózgu pacjentów z SM. Prezentowany model patogenezы SM zakłada, że szerząca się demielinizacja w mózgu dorosłego człowieka poprzedza i indukuje ogniskową odpowiedź immunologiczną na różne składniki mieliny [33].

CZYNNIKI ŚRODOWISKOWE

Uważa się, że czynniki środowiskowe mogą mieć duże znaczenie w rozwoju stwardnienia rozsianego. Wśród czynników zewnętrznych najczęściej łączonych z patogenezą SM są infekcje bakteryjne, wirusowe, grzybicze, lokalizacja geograficzna oraz niedobór witaminy D.

Infekcje centralnego układu nerwowego mogą wywoływać glejowe i autoimmunizacyjne odpowiedzi, jednak związek infekcji z patogenezą stwardnienia rozsianego jest nadal niewyjaśniony. Są prace, w których sugeruje się udział czynników infekcyjnych w mechanizmie patogennym prowadzącym do rozwoju SM, ale ich rola wymaga jeszcze wyjaśnienia. Podejrzewa się jednoczesny udział infekcji i innych czynników, takich jak trauma, deficyt żywieniowy, deficyt światła słonecznego, rozregulowanie układu immunologicznego i wrażliwość na toksyny u genetycznie podatnych osób.

Wciąż trwa dyskusja nad bezpośrednim udziałem różnych czynników infekcyjnych w patogenezie stwardnienia rozsianego, ewentualnie ich udziałem w narastaniu objawów choroby lub współwystępowanie innych chorób u pacjentów. Ze względu na wieloogniskowość choroby są duże trudności w leczeniu pacjentów jedną metodą terapeutyczną, a leczenie jest raczej nastawione na kontrolowanie i łagodzenie symptomów, niż na przyczyny choroby i jej postępujący przebieg. Ważne jest, aby ustalić, czy infekcje mogą być zdarzeniem poprzedzającym rozwój SM [42].

Infekcje

Już od dawna podejrzewano, że infekcje wirusowe i/lub bakteryjne mogą stanowić czynnik sprzyjający rozwojowi stwardnienia rozsianego. Dotychczas nie przedstawiono przekonujących dowodów czy i jak wiele różnych infekcji może odgrywać rolę w rozwoju SM.

Zdaniem wielu autorów wyjaśnieniem autoimmunizacyjnej odpowiedzi, jaką obserwujemy w SM na infekcje bakteryjne i wirusowe, może być zjawisko molekularnej mimikry. W zjawisku tym antygen gospodarza jest rozpoznawany jako obcy ze względu na identyczność z antygenem obcym (czynnikiem środowiskowym), co w konsekwencji prowadzi do rozwoju choroby [34]. Trudno jest zidentyfikować peptydy drobnoustrojów, które aktywują autoreaktywne komórki T [96,98]. Wciąż nie do końca jest zrozumiałym związek między odpowiedzią immunologiczną na własne antygeny, a chorobą autoimmunizacyjną.

Bakterie

Sugeruje się, że bakterie i ich produkty mogą wywoływać silną odpowiedź immunologiczną i mieć związek z rozwojem stwardnienia rozsianego. Jednak mimo wielu prac poświęconych tym zależnościom nie udało się dotychczas przedstawić satysfakcjonujących dowodów na możliwy udział infekcji bakteryjnych w patogenezie SM. Badano rolę niepatogennych prątków w eksperymentalnym autoimmunologicznym zapaleniu mózgu i rdzenia (EAE), przebiegającym z fazami rzutów i remisji oraz obserwowano mobilizację reaktywnych komórek T ośrodkowego układu nerwowego u myszy [55]. Poszukiwania czynnika bakteryjnego, który na zasadzie molekularnej mimikry mógłby powodować aktywację autoreaktywnych komórek T i w następstwie rozwój choroby, wskazują na peptyd wspólny dla większości bakterii. Peptyd ten może indukować u myszy z wszczepionymi ludzkimi genami chorobę podobną do SM w wyniku reakcji krzyżowej z receptorem komórki T, który z kolei rozpoznaje peptyd z podstawowego białka mieliny, kandydata na autoantygen [21].

Opisano wiele bakterii, które potencjalnie mogą mieć związek z SM. Wśród nich wymieniane są *Chlamydia pneumoniae*, należące do riketsji. Chociaż bakterie te występują powszechnie w populacjach ludzkich nie powodują chorób u nosicieli, to jednak czasami na skutek nieznanych jeszcze przyczyn mogą nabrać cech patogenności [17]. Wcześniej Woessner i wsp. [97] uznali, że związek przyczynowy między infekcją bakteriami *C. pneumoniae*, a SM wydaje się mało prawdopodobny, ponieważ nie wykazano różnic w długookresowym leczeniu roksytromycyną w porównaniu z placebo także zastosowanym w leczeniu.

Weryfikowano rzeczywisty udział bakterii *Chlamydia pneumoniae* w SM poprzez ocenę jej swoistej intratekalnej humoralnej odpowiedzi immunologicznej. Badano stężenie IgG przeciwko bakterii w płynie mózgowo-rdzeniowym pacjentów w różnych stadiach SM: RR (relapsing-remitting/nawracająco-ustępująca), SP (secondary progressive/wtórnie postępująca) i PP (primary progressive/pierwotnie postępująca). Jak się okazało, IgG było syntetyzowane w odpowiedzi na *C. pneumoniae* nawet w niższym odsetku pacjentów z SM, niż u pacjentów z grupy kontrolnej z innymi zapalnymi chorobami neurologicznymi (OIND – other inflammatory neurological diseases). Jak sugeruje się, intratekalne wytwarzanie IgG przeciwko *C. pneumoniae* stanowi część humoralnej polireaktywności wywołanej przez chroniczne zapalenie mózgu w SM. Intratekalne uwalnianie oligoklonalnych IgG swoistych dla *C. pneumoniae* może wystąpić u pacjentów z progresywną postacią SM, u których uporczywa infekcja mózgu może odgrywać patogenną rolę [15]. W innych badaniach wykryto DNA i transkrypty mRNA bakterii *C. pneumoniae* w płynie mózgowo-rdzeniowym (CSF) i jednojądrzastych komórkach krwi obwodowej (PBMCs) w 64,2% pacjentów z RR SM (relapsing-remitting MS), podczas gdy tylko 3 kontrole na 19, którymi byli pacjenci z innymi zapalnymi (OIND – other inflammatory neurological diseases) i niezapalnymi (NIND – non-inflammatory neurological diseases) chorobami neurologicznymi, były pozytywne pod względem *C. pneumoniae*. Autorzy sugerują także, że istnieje możliwa asocjacja między *C. pneumoniae*, a organizmem podobnym do *Chlamydia*, infekującym organizm jako kofaktor w rozwoju SM [10]. Z badań *in vitro* wynika, że *Chlamydia* mogą infekować komórki układu immunologicznego co najmniej w niewielkim stopniu. Infekcje te mogą zmienić funkcje immunologiczne komórki w taki sposób, który promuje utrzymywanie się bakterii w zainfekowanym organizmie i przyczynia się do progresji chorób chronicznie zapalnych [4].

Z rozwojem chorób autoimmunologicznych związane są także lipidy – ufosforylowane dihydroceramidy, pochodzące z bakterii *Porphyromonas gingivalis* i innych bakterii powszechnie występujących w przewodzie pokarmowym, które mogą nasilać zjawisko autoimmunogenności u nosiciela. Wykazano, że lipidy te działają prozapalnie na ludzkie fibroblasty *in vitro*. W celu zbadania ich wpływu na immunogenność użyto ufosforylowanych dihydroceramidów na myszach ze zwierzęcym modelem SM (EAE – experimental allergic encephalomyelitis). Okazało się, że badane lipidy, a zwłaszcza frakcja PE DHC (phosphoethanolamine dihydroceramide) w sposób znaczący nasila objawy EAE u myszy charakteryzujących się brakiem naturalnych komórek zabójczych T (natural killer T cells), ale nie wywołuje nasilenia EAE u myszy z upośledzonym receptorem TLR2 (Toll-like receptor 2), a *in vitro* indukuje wydzielanie IL-6 przez komórki dendrytyczne w sposób zależny od TLR2. Wreszcie zastosowanie u myszy z EAE frakcji PE DHC wiąże się ze zmniejszającym się odsetkiem komórek T Foxp3+ sugerując, że ufosforylowane dihydroceramidy mogą wpływać na regulację odpowiedzi immunologicznej. Ogólnie, wyniki badań prowadzonych przez Nichols i wsp. [54] sugerują, że ufosforylowane dihydroceramidy pochodzące z bakterii działają jako ligandy TLR2 i mogą odgrywać rolę w ludzkich chorobach autoimmunizacyjnych.

Wiadomo, że układ pokarmowy ssaków zasiedlają wysoce heterogenne populacje drobnoustrojów. Mikroby jelitowe lub „mikrobiota” determinują rozwój populacji mikrobowych i systemu immunologicznego do stworzenia zrównoważonego układu nazywanego „mikrobiomem”. Zmiany w mikrobiomie jelitowym mogą doprowadzić do rozregulowania odpowiedzi immunologicznej nie tylko w jelitach, ale także oddalonych miejscach organizmu. Obserwacje poczynione ostatnio w badaniach nad EAE sugerują, że zmiana niektórych populacji bakterii obecnych w jelitach może prowadzić do choroby prozapalnej, która może spowodować rozwój chorób autoimmunizacyjnych, zwłaszcza stwardnienia rozsianego. Jednak populacje naturalnie występujących bakterii i ich produkty, gdy są obecne w zdrowym organizmie, mogą chronić przed zapaleniem w obrębie centralnego układu nerwowego [61]. Jak Ochoa-Repáraz i wsp. [62] zauważyli, zmiana mikroflory jelitowej po doustnym leczeniu antybiotykiem może wpływać regulującą na EAE i być może na SM. Zaobserwowano, że zmiany te mogą wpływać na populację komórek Foxp3(+) T(reg), które regulują demielinizację w zwierzęcym eksperymentalnym autoimmunologicznym zapaleniu. Opisano związek bakterii komensalnych, tj. występujących prawidłowo w ludzkim organizmie, z procesem demielinizacji w centralnym układzie nerwowym. Na przykładzie bakterii beztlenowych z gatunku *Bacteroides fragilis* wykazano, że wytwarzany przez nie kapsydowy polisacharyd A (PSA) może chronić przed EAE. Zaobserwowano, że rekolonizacja dzikim szczepem *B. fragilis* podtrzymywała odporność na EAE, podczas gdy szczep *B. fragilis* z niedostatkami polisacharydu A przywracał podatność na EAE. Zwiększona liczba komórek Foxp3(+)T(reg) w szyjnych węzłach chłonnych była obserwowana po jelitowej rekolonizacji w każdym z obu wariantów *B. fragilis*. Komórki CD4(+)T *ex vivo* uzyskane od myszy poddanych działaniu *B. fragilis* typu dzikiego, miały znacznie zwiększone tempo przekształcania w komórki Foxp3(+)T(reg) wytwarzające IL-10 i ochraniające przed chorobą. Autorzy wykazali, że kapsułki polisacharydu A *B. fragilis* mogą ochraniać przed chorobą demielinizacyjną ośrodkowego układu nerwowego w modelu EAE. Podanie doustne oczyszczonego preparatu PSA chroniło mysz przed EAE zarówno profilaktycznie, jak i terapeutycznie. Podawanie PSA wzmacniało ekspresję integryny CD103 przez komórki dendrytyczne (CD103 DCs), ulegające akumulacji w szyjnych węzłach chłonnych. Ekspozycja naiwnych komórek dendrytycznych (DCs) na PSA indukowała przemianę naiwnych komórek CD4(+)T w komórki FoxP3(+)Treg wytwarzające IL-10. Zniesienie funkcji ochronnej przed EAE następowało u myszy z niedoborem IL-10. Uzyskane wyniki mogą sugerować pewną rolę bakterii komensalnych wykazujących ekspresję polisacharydu A, a zwłaszcza *B. fragilis*, w ochronie przeciwko demielinizacji ośrodkowego układu nerwowego w EAE i być może także w stwardnieniu rozsianym [63].

Ciekawych wyników dostarczyły badania Smitha i wsp. [84], którzy zastąpili adiuwant Freund (CFA), zawierający prątki gruźlicy wywołujące odpowiedź immunologiczną za pośrednictwem komórek Th1 prowadząc do indukcji EAE, adiuwantem zawierającym bakterie *Citrobacter rodentium* (CRA), które indukują odpowiedź komórek Th17 zależną od IL-23. Badania miały na celu sprawdzenie, czy zamiana czynnika infekcyjnego spowoduje indukowanie

EAE z innymi objawami. Okazało się, że myszy immunizowane z użyciem adiuwantu CRA rozwinęły klasyczne objawy EAE, podobnie do myszy immunizowanych za pomocą CFA, jednakże choroba miała łagodniejszy przebieg z późniejszym początkiem schorzenia i wolniejszym postępem niż w przypadku immunizacji CFA. Profil obwodowych cytokin wykazał podobną liczbę komórek Th1, jak i Th17 dla obu rodzajów immunizowanych myszy, tj. CFA i CRA. Jednocześnie zaobserwowano znaczną redukcję liczby komórek Th1 i Th17 w centralnym układzie nerwowym myszy immunizowanych za pomocą CRA [84].

W innych badaniach znaleziono DNA prątków z gatunku *Mycobacterium avium* subspecies paratuberculosis (MAP) u 42% pacjentów z obszaru Sardynii oraz stwierdzono wyjątkowo wysoką humoralną odpowiedź immunologiczną przeciwko białku MAP (MAP2694). Podejrzewa się, że MAP mógłby być jednym z czynników wyzwalających SM u podatnych osób, zgodnie z teorią molekularnej mimikry [11].

Zdaniem niektórych autorów powszechnie znany gronkowiec złocisty – *Staphylococcus aureus* może być także powiązany z SM. Zauważono, że bakteria może wytwarzać superantygeny aktywujące nieswoiste komórki CD4(+) potencjalnie reaktywne na podstawowe białko mieliny. Badania miały na celu zbadanie asocjacji między osobami chorymi na SM, a bakteriami *Staphylococcus aureus* wytwarzającymi superantygeny. Przebadano osoby zdrowe, chorych z SM, którzy nie doświadczyli rzutu choroby w ciągu ostatnich 6 miesięcy (grupa stabilnych SM) oraz chorych z rzutami w ciągu ostatnich 30 dni (grupa z pogarszającym się SM). Okazało się, że wśród osób z gronkowcem złocistym występowanie SEA (enterotoksyna A wydzielana przez gronkowca złocistego) było znacząco częstsze w grupie pacjentów z postępującym SM. Zasugerowano, że skrining pacjentów na obecność gronkowca złocistego wytwarzającego toksynę może być użytecznym markerem nasilania się choroby SM [48].

Grzyby

Zaskakująco spójny związek między SM a toksynami grzybiczymi zaobserwowali Purzycki i Shain [73]. Stwierdzili oni, że pewne patogenne grzyby umiejscowione w tkankach innych niż nerwowa uwalniają toksyny, które atakują i niszczą astrocyty i oligodendrocyty ośrodkowego układu nerwowego. Bez tych komórek gębowych mielina ulega stopniowej degradacji, co daje początek chorobie. Autorzy zasugerowali, że w przypadku toksyn grzybiczych w SM możliwe jest zaproponowanie efektywnych leków [73].

Badano także związek infekcji drożdżami *Candida* ze stwardnieniem rozsianym. Analizowano obecność przeciwciał przeciwko różnym gatunkom drożdży (*C. famata*, *albicans*, *parapsilosis*, *glabrata*). Wszystkie gatunki grzybów znaleziono zarówno u części pacjentów z SM, jak również u osób w grupie kontrolnej. Jednak w przypadku każdego gatunku drożdże występowały u większej liczby pacjentów z SM, tj. 37–47,5% niż u osób stanowiących kontrolę, tj. 12,5–21,3%. Sugeruje się, że infekcje gatunkami *Candida* mogą być związane z rosnącym prawdopodobieństwem wystąpienia stwardnienia rozsianego [6].

Wirusy

Mikrobiom człowieka jest złożony z naturalnie występujących i patogennych mikroorganizmów, które wywierają różnorodny wpływ zarówno w miejscu infekcji, jak i w bardziej odległych tkankach organizmu poprzez mechanizmy związane z układem immunologicznym. Podczas gdy często zakłada się, że czynniki infekcyjne są patogenne, ich efekty mogą być także korzystne dla gospodarza w dłuższym okresie czasu, w zależności od wieku i typu ekspozycji na immunogen/patogen. Power i wsp. [71] uważają, że mikrobiom człowieka ma potencjalny wpływ na przyszłą diagnostykę i terapię w SM.

Ji i wsp. [25] zwrócili uwagę na załamanie tolerancji komórek T CD8(+) na podstawowe białko mieliny (MBP) i indukowanie autoimmunizacji na skutek infekcji wirusem, który nie wykazywał ekspresji epitopów reagujących krzyżowo z MBP i jednocześnie nie podlegał przypadkowej aktywacji. Wirus aktywował komórki T wykazujące ekspresję dwoistych receptorów komórek T, które rozpoznawały zarówno białko MBP, jak i antygeny wirusowe. Autorzy wnioskują, że komórki T wykazujące ekspresję dwoistego TCR odgrywają ważną rolę w autoimmunizacji i sugerują mechanizm, poprzez który infekcja wirusowa może wyzwolić autoimmunizację w grupie zainfekowanych osób.

Przez wiele lat sugerowano udział różnych wirusów w wywoływaniu odpowiedzi immunologicznej prowadzącej do powstania plak demielinizacyjnych i rozwoju SM. Wśród kandydatów wirusowych związanych z rozwojem SM najczęściej wymienia się ludzki herpes wirus 6 (HHV-6), wirus Epsteina-Barr (EBV), wirus ospy wietrznej i półpaśca (VZV) oraz ludzkie endogenne retrowirusy (HERV) [94].

Wciąż niejednoznaczna jest rola ludzkiego wirusa herpes 6 (HHV-6) w rozwoju SM. U pacjentów z SM stwierdzono wysokie miano przeciwciał przeciwko temu wirusowi. DNA HHV-6 występuje zarówno we krwi, jak i płynie mózgowo-rdzeniowym pacjentów [75]. W badaniach Nora-Krukle i wsp. [58] oceniano związek między reaktywacją wirusa HHV-6 i HHV-7 a aktywnością stwardnienia rozsianego, a także wytwarzaniem IL-12 i czynnika martwicy nowotworu α (TNF- α). Porównano częstość wirerii w osoczu i obecność wirusowego mRNA w komórkach jednojądrzastych krwi obwodowej u pacjentów SM z rzutami i remisjami (RR MS) oraz wtórnie postępującym SM (SP MS) z klinicznymi objawami choroby. Próbkę osocza z utrzymującą się ukrytą infekcją wirusami HHV-6 i HHV-7 badano w czasie rzutów i remisji/względnej remisji. Wykryto reaktywację wirusa HHV-6 u 4 z 7 pacjentów RRMS i 4 z 7 pacjentów SPMS. Natomiast reaktywację HHV-7 zidentyfikowano w 3 z 7 RRMS i 1 z 7 pacjentów SPMS (wszyscy pacjenci na etapie rzutu choroby). Transkrypcję mRNA HHV-6 wykryto u 2 z 3 pacjentów RRMS bez wirerii w rzucie. U pacjentów RRMS i SPMS w rzucie z aktywną infekcją HHV-6 i HHV-7 stężenia IL-12 i TNF- α były znacząco większe, niż u tych z ukrytą infekcją wirusową. Na podstawie uzyskanych wyników autorzy sugerują, że reaktywacja HHV-6 i HHV-7 może być związana z pogorszeniem SM poprzez aktywację subpopulacji limfocytów Th1.

Kolejnym wirusem od lat związanym z SM jest wirus Epsteina-Barr. Sugeruje się, że infekcja wirusem EBV

poprzedza rozwój SM, o czym mógłby świadczyć serologiczny dowód wcześniejszej ekspozycji na wirus EBV u dzieci z SM. Wyższe miano przeciwciał i odpowiedź komórek T na wirusa u pacjentów z SM w porównaniu ze zdrowymi nosicielami EBV wskazują na możliwość ciągłej wirusowej reaktywacji. Są także pewne dowody świadczące o tym, że wirus EBV mógłby doprowadzić do zniesienia tolerancji immunologicznej na antygeny mieliny w wyniku mimikry molekularnej. Ze względu na obecność komórek B zainfekowanych wirusem EBV w mózgu pacjentów podejrzewa się, że te nieprawidłowości związane z komórkami B w mózgu i rdzeniu kręgowym oraz immunopatologia wywołana przez komórki T są w stwardnieniu rozsianym konsekwencją bezustannej dysregulacji spowodowanej przez infekcję wirusem EBV [78]. Istnieją dowody na to, że osoby z SM z dużym prawdopodobieństwem przeszły wcześniej mononukleozę, tj. miały pierwotną infekcję wirusem EBV, a wyższe miano swoistych przeciwciał przeciw EBV są związane z zwiększonym ryzykiem rozwoju SM. Podwyższone poziomy tych przeciwciał są wykrywane wiele lat przed początkiem SM [36].

Istnieją dowody wspierające tezę, że wirus VZV ma związek z SM. Badania epidemiologiczne z obszarów geograficznych, gdzie występowanie stwardnienia rozsianego wzrosło w ostatnich dekadach, wykazały bardzo częste występowanie ospy wietrznej i półpaśca u osób, u których później rozwinęło się SM. W badaniach laboratoryjnych znaleziono dużą liczbę VZV DNA w leukocytach i płynie mózgowo-rdzeniowym pacjentów z SM w fazie rzutu, następującego po nieobecności wirusa w czasie remisji. Powyższe obserwacje i szczególne cechy wirusa VZV, głównie scharakteryzowane przez jego neurotropizm i długi okres utajenia następujący po reaktywacji wirusa potwierdza zdaniem autorów ideę udziału wirusa VZV w etiologii SM [89].

Witamina D

Innym czynnikiem środowiskowym związanym z rozwojem stwardnienia rozsianego jest witamina D. Przez ponad wiek badano właściwości i funkcję witaminy D. Stwierdzono, że witamina D odgrywa ważną rolę w fizjologii, regulacji układu odpornościowego oraz w chorobach człowieka. Stosunkowo dobrze poznano jej funkcje związane z homeostazą wapnia i związkiem z układem kostnym.

Niedobór witaminy D już od dawna wiązano ze stwardnieniem rozsianym. Rozkład występowania SM na świecie koreluje z ekspozycją na promieniowanie słoneczne i ilością syntetyzowanej przez organizm witaminy D. Stwierdzono, że małe stężenia witaminy D u człowieka (hipowitaminoza D) wiążą się z bardzo częstym SM. Badania stężenia witaminy D w surowicy pacjentów ze stwardnieniem rozsianym wykazały, że jej niedostatek jest obecny u większości pacjentów, także w najwcześniejszych fazach choroby [69]. Wiadomo, że stwardnienie rozsiane zostało powiązane z małym stężeniem 25-hydroksywitaminy D (25(OH)D). Należy jednak zaznaczyć, że związek witaminy D z SM nie jest wyjątkowy. Podobną zależność zaobserwowano w przypadku kilku innych chorób autoimmunologicznych [88]. Długo nie było wiadomo, jakie mechanizmy molekularne odgrywają rolę w związku SM i witaminą D. Nowoczesne techniki molekularne umożliwiły ustalenie,

że działanie witaminy D może się głównie odbywać poprzez funkcjonowanie receptora witaminy D (VDR – vitamin D receptor), który jak się wydaje jest nie tylko mediatorem biologicznego działania witaminy D, ale także jest mediatorem regulacji metabolizmu samej witaminy D [7]. Badania genetyczne receptora dla biologicznie aktywnego metabolitu witaminy D dotyczą przede wszystkim analizy polimorfizmów genu VDR i poznania konsekwencji ich występowania dla funkcjonalności receptora oraz regulacji systemu immunologicznego. Wśród znalezionych polimorfizmów genu receptora witaminy D jest polimorfizm Fok-I (rs10735810), wpływający na funkcjonowanie białka receptorowego i systemu immunologicznego. Wykazano znaczenie tego polimorfizmu dla funkcjonowania i metabolizmu witaminy D, co jak się wydaje, powinno być wzięte pod uwagę w badaniach nad związkiem witaminy D i SM [86]. Analizie poddano także związek dwóch jednonukleotydowych polimorfizmów w genie VDR, tj. Apa-I (rs7975232) i Taq-I (rs731236) ze stwierdzeniem rozszanym w populacji kaukaskiej [87]. Próby powiązania obu polimorfizmów ze stężeniami 25(OH)D i 1,25(OH)(2)D w surowicy chorych z SM wykazały brak związku między nimi a chorobą w badanej populacji [87]. Badania przeprowadzone przez innych badaczy także wskazują na brak związku polimorfizmu Taq-I oraz polimorfizmu Bsm-I z ryzykiem SM w greckiej populacji [83]. W przypadku polimorfizmu Bsm-I genu VDR sprawa jest o tyle niepewna, że Niino i wsp. [57] zasugerowali wcześniej związek polimorfizmu z SM. Możliwe, że polimorfizmy genu receptora witaminy D mogą być związane z podatnością na chorobę, a allele HLA wspólnie z genem VDR mogą korelować z ryzykiem zachorowania na SM [56]. Wiadomo, że niektóre komórki układu odpornościowego wykazują ekspresję receptorów witaminy D, a witamina oraz jej analogi wywierają duży modulujący wpływ na układ odpornościowy i prawdopodobnie SM. Badania *in vitro* oraz na modelach zwierzęcych wyjaśniają interakcje zachodzące między metabolitami witaminy D, a systemem immunologicznym. Smolders i wsp. [85] sugerują, że witamina D ma wpływ na przesunięcie odpowiedzi immunologicznej bardziej w kierunku przeciwwzapalnym, szczególnie wzmacniając regulacyjną funkcjonalność komórek T. Niino [56] także powołuje się na wyniki badań, z których wynika, że witamina D oraz jej analogi blokowały rozwój zwierzęcego modelu SM (EAE).

LUZKIE ENDOGENNE RETROWIRUSY (HERV – HUMAN ENDOGENOUS RETROVIRUSES)

Endogenne retrowirusy reprezentują około 8% ludzkiego genomu i przynależą do superrodziny genetycznych elementów transpozonowych i retrotranspozonowych. Łącznie mobilne genetyczne elementy i ich liczne nieaktywne sekwencje pochodne stanowią prawie połowę ludzkiego DNA. Mimo że część mobilnych elementów genetycznych pozostaje transkrypcyjnie aktywna, to jednak większość z nich jest wyciszana przez epigenetyczne mechanizmy wyciszenia ekspresji. Pewne czynniki środowiskowe, takie jak wirusy, mogą wywołać ekspresję elementów transpozonowych i retrotranspozonowych w komórkach wrażliwych, np. w embrionalnych. Komórki te charakteryzują się ograniczoną metylacją genów i w wyniku tego są najbardziej podatne na niekontrolowaną aktywację mobilnych elementów genetycznych przez np. infekcje wirusowe.

Już od dłuższego czasu uważa się, że ludzkie endogenne retrowirusy (HERV) mogą być czynnikami sprawczymi w chorobach charakteryzujących się zapaleniem, a także aktywacją makrofagów, jak to się dzieje w SM. Christensen i wsp. [9] zwrócili uwagę, że HERV's reprezentują zarówno domniemane geny podatności, jak i domniemane patogenne wirusy w SM. Autorzy przeprowadzili badania mające na celu scharakteryzowanie retrowirusa wytwarzanego przez linie komórkowe pochodzące od pacjentów z SM i zbadanie tej asocjacji *in vivo*. Wykryto warianty sekwencji wysoce homologiczne z rodziną HERV-H. Te same sekwencje znaleziono w osoczu chorych z SM i wykazano ich brak u osób zdrowych. Zlokalizowano kopie sekwencji HERV-H w kilku regionach chromosomowych, podejrzewanych o udział w podatności na SM. Szczury immunizowane wirionami badanego retrowirusa rozwinęły swoistą odpowiedź humoralną na peptyd HERV-H wskazując, że immunogenne proteiny wirionowe są kodowane przez HERV-H. Sekwencje HERV's znaleziono także w wirionach wytwarzanych przez komórki jednojądrzaste pacjentów z SM, wyizolowane z osocza, surowicy i płynu mózgowo-rdzeniowego. Stwierdzono dwa typy sekwencji: HERV-H i HERV-W, przy czym żadna ze znanych kopii HERV-H lub HERV-W nie zawiera kompletnych ORFs (open reading frames) we wszystkich niezbędnych genach. Mimo to wiadomo, że kilka kopii ma potencjał kodujący i ulega swoistej aktywacji w SM, wywołując wytwarzanie kompletnych wirionów. Uważa się, że białka kodowane przez HERV's mogą mieć neuropatogenne działanie. Aktywujący czynnik lub czynniki w procesie skutkującym wytwarzaniem białka lub wirionu może być członkiem rodziny *Herpesviridae*. Kilka wirusów herpes, takich jak HSV-1, VZV, EBV i HHV-6 zostało powiązanych z patogennością SM [8,9].

Z badań wynika, że wirusy mają zdolność aktywowania promotorów ludzkich endogennych retrowirusów z rodziny W (HERV-W). Perron i wsp. [66] wyizolowali HERV-W RNA z krążących cząsteczek wirusowych MSRV (multiple sclerosis-associated retrovirus) od pacjentów ze stwardnieniem rozsianym. Sekwencję MSRV pol wykryto w jednojądrzastych komórkach krwi obwodowej zarówno u pacjentów z SM, jak i osób zdrowych, przy czym zaobserwowano znacznie większą liczbę kopii sekwencji MSRV pol u chorych w porównaniu z osobami zdrowymi [60,99]. Badania nad MSRV prowadziło także kilku innych badaczy, którzy powiązali wirusa MSRV z prognozowaniem w SM. Sotgiu i wsp. [90] postawili tezę, że wirus MSRV w płynie mózgowo-rdzeniowym może mieć gliotoksyczne właściwości i może się wiązać z cięższym przebiegiem SM. Autorzy sprawdzili hipotezę w grupie 15 niespokrewnionych pacjentów z SM, w tym 6 MSRV ujemnych i 9 MSRV dodatnich w czasie badania płynu mózgowo-rdzeniowego. Po trzech latach obserwacji okazało się, że pacjenci MSRV– wykazali stabilny kurs SM, podczas gdy pacjenci MSRV+ mieli progresywny przebieg SM. Sotgiu i wsp. [91] zasugerowali, że obecność MSRV w płynie mózgowo-rdzeniowym może być jednym z prognostycznych czynników u chorych z wczesnym SM do rozwoju zaawansowanego klinicznie SM. Autorzy przeprowadzili badania na grupie pacjentów z zapaleniem nerwu wzrokowego (ON – optic neuritis), aby oszacować zależność od MSRV konwersję do SM. Badania dotyczyły prognozowania stanu SM poprzez rezonans magnetyczny (MR)

i nieprawidłowości płynu mózgowo-rdzeniowego. W badaniach typu follow-up 33,3% pacjentów ON MSRV+ i 0% pacjentów ON MSRV – rozwinęło SM. Następnie 10-letnie badania follow-up potwierdziły wcześniejsze obserwacje, że obecność retrowirusa związanego ze stwardnieniem rozsianym w płynie mózgowo-rdzeniowym u pacjentów z niedawnym początkiem SM można wiązać z narastaniem objawów i wtórną progresją choroby [92].

W różnych komórkach i tkankach człowieka obserwuje się transkrypcję wielu elementów wchodzących w skład rodziny HERV-W. Nie wiadomo, czy tak stosunkowo rozpowszechniona ekspresja elementów HERV-W reprezentuje „przeciek” transkrypcyjny czy też swoistą transkrypcję zapoczątkowaną z miejsca promotorowego retrowirusa w regionie długich terminalnych powtórzeń (LTR). Elementy intronowe HERV-W z pseudogenową strukturą wykazywały silną antysensowną orientację bias w przeciwieństwie do elementów intronowych ze strukturą prowirusową i pojedynczymi LTR-ami. Elementy retrowirusowe umiejscowione w regionach intronowych wydają się ulegać ekspresji w większym stopniu, niż elementy znajdujące się w regionach intergenowych. Elementy intronowe ze strukturami prowirusowymi ulegały ekspresji w większym stopniu, niż elementy intronowe z pseudogenami lub pojedynczymi LTR-ami. Wyniki uzyskane przez autorów sugerują, że wcześniej obserwowana różnicowana i swoista tkankowo ekspresja elementów w rodzinie HERV-W jest wynikiem zarówno ukierunkowanej transkrypcji (włączając w to LTR i sekwencje wewnętrzne), jak i „nieszczelnej” transkrypcji elementów HERV-W w prawidłowych tkankach człowieka [35].

Johnston i wsp. [26] badali udział takich procesów jak aktywacja monocytów, rozróżnienie wpływu retrowirusowej transkrypcji i replikacji w ekspresji czterech rodzin HERV: HERV-W, HERV-K, HERV-E, i HERV-H w ludzkich monocytach i tkankach mózgu *post mortem* od pacjentów z chorobami mózgu związanymi ze wzrostem aktywności makrofagów. Analiza makrofagów i stymulowanych komórek monocytoidalnych U937 wykazała 3–9-krotny wzrost poziomu RNA endogennych retrowirusów: HERV-W, HERV-K i HERV-H. Ponadto, zwiększoną aktywność odwrotnej transkryptazy i HERV RNA wykryto w supernatancie ze stymulowanych hodowli U937. Natomiast stymulacja monocytów obniżała lub nie miała wpływu na ekspresję HERV-E. W porównaniu z kontrolami, ekspresja HERV-W i HERV-K była zwiększona w tkance mózgowej pacjentów z SM, a także pacjentów zainfekowanych wirusem HIV lub z HIV i rozwiniętą chorobą AIDS, z towarzyszącym zwiększonym poziomem czynnika TNF-alfa. Podobnie, zwiększony poziom HERV-W był wykrywany u pacjentów z chorobą Alzheimera tylko wtedy, gdy ekspresja TNF-alfa była także zwiększona. Według autorów wykrycie kilku HERV w chorobach zapalnych mózgu i zdolność do zwiększania ekspresji HERV w monocytach sugeruje, że zwiększona ekspresja tych wirusów jest raczej konsekwencją wzrostu aktywności układu immunologicznego, niż przyczyną chorób [26].

Różne grupy badaczy obserwowały wytwarzanie retrowirusowych cząsteczek (RVP – retrovirus particle production) w hodowlach komórkowych od pacjentów z SM. Wytwarzanie pojawiało się swoiście dla SM

w przeciwieństwie do zdrowych osób, lecz było prawdopodobnie wzmacniane lub aktywowane przez infekcyjny czynnik, np. herpeswirus (HSV, EBV). Niezależna molekularna analiza retrowirusowego RNA związanego z RVP ujawniła dwie różne genetycznie rodziny endogennych retrowirusowych elementów (HERV): MSRV/HERV-W i RGH/HERV-H. Jak stwierdzono, obie rodziny HERV zawierały prowirusową kopię wbudowaną w region 7q21-22 w odległości około 1kb jedna od drugiej. Inna sekwencja prowirusowa jest ułożona w obrębie genu *TCR alfa-delta* na chromosomie 14q11.2. Te dwa regiony odpowiadają genetycznym *loci*, które wcześniej zostały zidentyfikowane jako potencjalnie związane z podatnością na SM. Zwrócono również uwagę na rolę poszczególnych polimorfizmów HERV i wytwarzanie patogennych molekuł (gliotoksyna, superantygen) prawdopodobnie związanych z ekspresją retrowirusową [66].

Wiadomo, że rodzina HERV-W, a dokładnie *locus* ERVWE1 koduje kompletne białko otoczki ENV (Syncytyna 1) o silnych właściwościach immunopatogennych, aktywujące prozapalną i autoimmunologiczną reakcję poprzez interakcje z receptorem TLR4 (Toll-like receptor 4) na komórkach układu odpornościowego, doprowadzając do rozregulowania limfocytów T, podobnie jak superantygen. Zidentyfikowano siedem *loci* HERV-W env (włączając ERVWE1), które ulegają transkrypcji w jednojądrzastych komórkach krwi obwodowej (PBMCs). Podejrzewa się, że białko ENV może odgrywać rolę nie tylko w SM, ale także i w innych chorobach, gdyż wykrywano je w mózгах zmienionych chorobowo. Jak się wydaje o rozwoju SM decydują czynniki epigenetyczne kontrolujące ekspresję białek HERV-W ENV [65,67]. Uważa się, że drugim składnikiem rodziny HERV-W, który ulega aktywacji w stwardnieniu rozsianym jest wspomniany już MSRV, przy czym MSRV i ERV/WE1 są proponowanymi immunopatogennymi kofaktorami. Produkty białkowe tych sekwencji, tj. białko MSRV Env i syncytyna 1 są ze sobą powiązane i trudne do rozróżnienia. Przypuszcza się, że zarówno Syncytyna 1, jak i białko MSRV Env mogą być zaangażowane w patogenzę SM. Badania wykazały, że MSRV i ERV/WE1 ulegają ekspresji w mózgu pacjentów z SM, podczas gdy we krwi obecny jest tylko MSRV, który został uwolniony w hodowli przez komórki jednojądrzaste krwi obwodowej (PBMC – peripheral blood mononuclear cells) osób wytwarzających MSRV. Komórki te wykazywały ekspresję kompletnego genu MSRV *env*, przy braku ekspresji syncytyny 1. Poza tym liczba kopii DNA MSRV *env* była znacznie większa u pacjentów z SM, niż u zdrowych ludzi, podczas gdy liczba kopii syncytyny była niezmienną [32,39].

Saresella i wsp. [79] analizowali profile cytokin w komórkach jednojądrzastych krwi obwodowej stymulowanych białkiem otoczki MSRV (MSRV-ENV-SU) uzyskanych od 30 pacjentów z SM będących w stadium rzutów i remisji, albo z ostrą (AMS) albo stabilną (SMS) chorobą SM. Wyniki sugerują, że MSRV-ENV-SU indukuje wytwarzanie zapalnych cytokin, w tym czynnika TNF-alfa (tumor necrosis factor-alfa) i interferonu gamma u pacjentów AMS oraz IL-10, łagodzącą działanie zapalnych cytokin u pacjentów SMS. Dane te wzmacniają hipotezę wskazującą, że MSRV może brać udział w patogenzie SM [79].

Przyczyn SM upatruje się także w stresie retikulum endoplazmatycznego (ER stress – endoplasmic reticulum

stress), który jest homeostatycznym mechanizmem stosowanym przez komórkę, aby ją zaadaptować do zmian wewnątrz- i zewnątrzkomórkowych. Wiadomo, że ER stress jest ściśle powiązany z procesem zapalnym. Deslauriers i wsp. [13] założyli, że ER stress jest integralną częścią zapalenia w układzie nerwowym i przyczynia się do rozwoju chorób neurologicznych. W poautopsyjnych próbkach mózgu pacjentów z SM i pacjentów bez tej choroby stwierdzono, że wariant splicingowy genu *XBP-1* (*XBP-1* – X-box binding protein 1), a mianowicie *XBP-1/s* wystąpił w zwiększonej ilości w mózgach osób z SM i był skorelowany z ekspresją transkryptu *HERV-W env*, który koduje glikoproteinę Syncytynę 1. Zaobserwowano także indukcję genów *XBP-1/s*, *BiP* (binding immunoglobulin protein) i *NOS2* (nitric oxide synthase 2) w pierwotnych ludzkich płodowych astrocytach transferowanych za pomocą plazmidu wykazującego ekspresję syncytyny 1, przy czym proces ten był hamowany przez podanie krocyiny (crocine). Krocyina ochraniała także oligodendrocyty ekspozowane na cytotoksyczne supernatanty pochodzące z astrocytów wykazujących ekspresję syncytyny 1 i wpływającej poprzez NO (nitrogen monoxide) na oligodendrocytotoksyczność. W modelu EAE poziom transkryptów genów stresu retikulum endoplazmatycznego *XBP-1/s*, *BiP*, *PERK* (protein kinase RNA-like endoplasmic reticulum kinase) i *CHOP* (*CCAAT/enhancer-binding protein*) był zwiększony w rdzeniu kręgowym chorych myszy w porównaniu z myszami zdrowymi z jednego miotu, chociaż ekspresja *CHOP* nie była związana z fenotypem choroby EAE. Zaobserwowano, że codzienne podawanie krocyiny zahamowało stres ER [13].

Badano także rolę *HERV* w stwardnieniu rozsianym poprzez analizę DNA pacjentów z SM i zdrowych osób pod kątem związków między SM a polimorfizmami SNP. Autorzy znaleźli SNP-y w genie *TRIM5*, które były odwrotnie proporcjonalnie powiązane z chorobą. Natomiast SNP-y w pobliżu *locus* retrowirusowego *HERV-Fc1* wykazały wysoce znaczącą asocjacje z chorobą. Autorzy sugerują, że *HERV-Fc1* i *TRIM5* odgrywają rolę w etiologii SM [53].

CZYNNIKI GENETYCZNE W STWARDNIENIU ROZSIANYM

Rodzinne występowanie SM

Już od dawna zwracano uwagę na możliwość udziału czynników genetycznych w rozwoju stwardnienia rozsianego. Zaobserwowano znacznie częstsze występowanie przypadków SM u krewnych pacjentów z SM, niż u krewnych w grupie kontrolnej i populacji ogólnej, stwierdzając, że genetyczny aspekt może mieć duże znaczenie w etiologii choroby. McAlpine [43], poddał wnikliwej analizie 142 przypadki stwardnienia rozsianego, odnotowując 8 przykładów rodzinnego występowania. Wskazał na możliwość występowania czynnika dziedzicznego, który może spowodować, że dana osoba będzie bardziej podatna na chorobę. Kompleksowe opisy rodzinnych przypadków stwardnienia rozsianego można znaleźć w wielu pracach [23,37,38,46,47,70,72,93]. Wszyscy autorzy zwracali uwagę na prawdopodobny udział czynników genetycznych w rozwoju SM stwierdzając, że rodzinne występowanie stwardnienia rozsianego nie da się wyjaśnić na podstawie wspólnych dla osób chorych czynników środowiskowych.

Na potrzebę prowadzenia badań genetycznych w stwardnieniu rozsianym wskazywał Kurland [30,31]. Także Refsum sugerował, że w rozwoju stwardnienia rozsianego możliwy jest udział czynników dziedzicznych [74]. Według autora wskazywałoby na to rodzinne występowanie SM, co dalej omawia w swojej pracy przytaczając pracę McAlpine'a i wsp. [44]. Ważnym wsparciem tej sugestii jest rzadkość występowania stwardnienia rozsianego u obojga małżonków, co potwierdzili w swoich badaniach Allison i Millar [1], chociaż zacytowali tylko 2 przykłady małżeńskiego występowania SM. W badaniu prowadzonym przez McAlpine'a i wsp. [44]. obejmującym 1000 przypadków znaleziono z kolei 3 takie przykłady. Natomiast Hyllested [23] obserwował 2 przykłady w ogólnej liczbie 2681 pacjentów. Niektóre z opisanych przez Pratta i wsp. [72] rodzin są szczególnie interesujące, gdyż u rodzeństwa obserwowano postępującą rodzinną chorobę zwyrodnieniową, podczas gdy w badaniu *post mortem* stwierdzono u siostry uszkodzenia w mózgu, pniu mózgu i rdzeniu kręgowym, które są charakterystyczne dla stwardnienia rozsianego. W innej z kolei rodzinie, matka i 4 z 5 jej córek były chore, jednak w badaniu *post mortem* stwierdzono stwardnienie rozsiane u 2 córek. W trzeciej rodzinie choroba wystąpiła w trzech pokoleniach. Nie przeprowadzono sekcji zwłok, ale wyniki badań klinicznych oraz przebieg z rzutami i remisjami sugerował SM. Występowanie stwardnienia rozsianego u 3 braci z typowymi historiami i wynikami oraz autopsją u jednego z nich opisali Nayrac i wsp. [51]. Stwardnienie rozsiane u matki i 2 córek opisał Koslow [27]. Diagnoza SM została potwierdzona w badaniu *post mortem* u jednej z córek.

Występowanie stwardnienia rozsianego u bliskich krewnych chorego na SM w wielu opisanych badaniach jest znacznie częstsze, niż wartość wynikająca z rachunku prawdopodobieństwa. Pojawiły się jednak głosy, że zwiększenie liczby wykrywanej u krewnych pacjentów z SM może być częściowo spowodowane tym, że krewni chorych na SM mogą być poddawani bardziej szczegółowemu badaniu w porównaniu ze stosowanym w ogólnej populacji.

Ciekawe obserwacje poczyniono badając grupę bliźniąt, wśród których pary bliźniąt monozygotycznych z objawami SM stanowiły niewielki odsetek w porównaniu z parami bliźniąt jednojajowych, u których takiej zgodności co do objawów SM nie wykrywano. Behnke i Gruelund sugerowali, że brak widocznego SM u jednego z bliźniąt jednojajowych może wynikać z różnicy wieku zachorowania, a zatem właściwym byłoby badanie bliźniąt po osiągnięciu wieku uznawanego za okres ujawniający chorobę [5]. Mackay i Myrianthopoulos stwierdzili pełną zgodność SM u bliźniąt jednojajowych tylko u 2 par spośród 29 par bliźniąt jednojajowych charakteryzujących się zdecydowanymi cechami SM oraz znaleźli zgodność cech SM u jednej pary z przebadanych 25 par bliźniąt dwujajowych [38]. Różnica we wskaźniku zgodności między jednojajowymi i dwujajowymi parami bliźniąt była interpretowana jako nieistotna, a zatem niestanowiąca jednoznacznych dowodów, że czynniki genetyczne odgrywają znaczącą rolę w rozwoju SM. I chociaż badanie bliźniąt nie wykazało określonego wzoru dziedziczenia SM, to jednak zwraca uwagę zwiększona częstość występowania choroby u innych członków rodziny chorych bliźniąt w porównaniu z populacją, co może sugerować działanie czynnika genetycznego predysponującego

do stwardnienia rozsianego. Od 0,99–1,62% badanych krewnych chorych bliźniaków miało SM, co stanowi 20–32,26 razy więcej, niż wskaźnik występowania choroby w populacji ogólnej [49]. Ci sami autorzy analizując 1112 krewnych bliźniąt chorych na SM zasugerowali, że dziedziczenie SM może mieć charakter autosomalny recesywny o ograniczonej penetracji. Jednocześnie zaznaczyli, że hipoteza ta nie może być traktowana jako sprawdzona lub jedyna, która wyjaśnia obserwowane przypadki. Zasugerowano, że czynniki środowiskowe, prawdopodobnie klimatyczne i geograficzne mogą odgrywać istotną rolę w supresji penetracji czynników genetycznych. Częstsze występowanie SM w strefach umiarkowanych w porównaniu z tropikami oraz brak preferencji rasowych w występowaniu SM sugeruje, że czynniki środowiskowe odgrywają rolę w rozwoju choroby [2,29,30,31].

Obecnie przyjmuje się, że 10–15% przypadków SM występuje rodzinnie [82], a współczynnik zgodności u bliźniąt jednojajowych wynosi 35%, podczas gdy u bliźniąt dwujajowych tej samej płci zaledwie 2–5% [14].

Układ zgodności tkankowej HLA a SM

Badanie całego genomu (GWAS), prowadzone przez Międzynarodowe Konsorcjum Genetyki Stwardnienia Rozsianego (IMSGC) wskazało na kilka regionów, które mogą być potencjalnie związane z SM. Szczególnie wyraźny związek zaobserwowano w przypadku genów głównego układu zgodności tkankowej klasy II, występujących na chromosomie 6p21.3 [20,80]. Porównując 1927 SNP-ów (SNP – single nucleotide polymorphism) w 1618 przypadkach SM i 3413 kontrolach europejskich rodowodów, zidentyfikowano 7 SNP-ów, które są związane z SM: HLA-DRB1*15: 01, HLA-DRB1*03: 01, HLA-A*02: 01, HLA-DRB1*04: 01, HLA-DRB1*13: 03, rs9277535 i HLA-DPB1*03: 01 [16]. Za podstawowy allel podatności na SM uważa się HLA DRB1*1501, chociaż zależność rozwoju choroby i układu HLA ma związek z populacją. I tak w populacji śródziemnomorskiej stwierdzono korelację stwardnienia rozsianego z allelami HLA DR3 oraz HLA DR4. W populacji Afroamerykanów allelem podatności uznany został HLA DRB1*1503 [41]. Natomiast haplotypy DR2: DR2a (DRB5 * 0101) i DR2b (DRB1*1501) są związane ze zwiększonym ryzykiem SM w populacji kaukaskiej [100]. W populacji polskiej zaobserwowano związek między SM a allelem HLA DQw1 oraz HLA B7 [28].

Szacuje się, że układ HLA stanowi 15–60% podłoża genetycznego stwardnienia rozsianego, co sugeruje także udział innych czynników w rozwoju choroby.

Inne geny podatności na SM

Dzięki badaniu całego genomu zidentyfikowano także i inne geny potencjalnej podatności na SM niezwiązane z układem HLA. Rubio i wsp. [77] badając 17 SNP-ów związanych z ryzykiem i opisanych przez IMSGC u 1134 australijskich przypadków SM i 1265 kontroli znaleźli 4, które uznano za związane z podatnością na chorobę. Były to KIAA0350, IL2RA, RPL5 i CD58. Następnie w kilku populacjach znaleziono także zależność między zmiennością nukleotydową w receptorze interleukiny 7 (IL7RA) oraz genie CLEC16A) a SM. W 2010 r. konsorcjum IMSGC dostarczyło nowych

danych na temat kolejnych *loci* związanych z autoreaktywną proliferacją komórek oraz podatnością na SM: IL-12A, MPHOSPH9/CDK2AP1 oraz RGS1 [24].

Wyniki uzyskiwane z projektu GWAS ważne są także z farmakogenetycznego punktu widzenia, np. w związku z odpowiedzią na leczenie interferonem beta (IFN β). Jak się wydaje geny kodujące neuroprzekaznik mogą odgrywać rolę w odpowiedzi na leki. I tak GPC5 jest genem odpowiadającym na IFN β , co zostało potwierdzone w niezależnym badaniu [22].

TCR a SM

O potencjalnym związku TCR ze stwardnieniem rozsianym dyskutowano już od dawna. W 1987 r. Rotteveel i wsp. [76] scharakteryzowali komórki T obecne w płynie mózgowo-rdzeniowym pacjentów z SM wykazując przegrupowanie w genach łańcucha β TCR, przy czym stwierdzono wówczas, że rearanżacje te nie były identyczne. Hafler i wsp. [19] przebadali przegrupowania genów dla łańcuchów β i γ TCR w płynie mózgowo-rdzeniowym pacjentów z przewlekłą progresywną postacią SM stwierdzając wyraźną oligoklonalność populacji komórek T. Oksenberg i wsp. [64] powiązali TCR α z SM i miastenią wykazując znaczące różnice w częstości polimorficznych markerów z regionu zmiennego (V) i stałego (C) łańcucha α TCR między chorymi i zdrowymi osobami. W 1991 r. zaobserwowano związek komórek TCR $\gamma\delta$ z długotrwałymi uszkodzeniami centralnego układu nerwowego w stwardnieniu rozsianym [82]. Także Nowak i wsp. [60] wykazali znaczącą rolę komórek T $\gamma\delta$ z przegrupowaniami w regionie V delta 5-J delta 1 w patogenezie SM, wskazując następną na monoolegoklonalny wzór przegrupowania w genie TCR δ na poziomie RNA wraz ze wzrostem aktywności komórek T $\gamma\delta$. Autorzy nie wykluczyli możliwości, że klonalna ekspansja tych limfocytów może być wtórną zmianą w stosunku do uszkodzeń w centralnym układzie nerwowym.

W prowadzonych badaniach wykorzystuje się analizy SNP do ustalenia asocjacji między *loci* genu TCR a SM. Dzięki temu możliwe było przeprowadzenie genotypowania dużej grupy osób powiązanych rodzinnie, w tym 1360 chorych i 1659 ich zdrowych krewnych pierwszego stopnia dla 40 markerów SNP w obrębie *locus* TCR α/δ . Autorzy zidentyfikowali 3 potencjalne *loci* w regionach zmiennym i stałym genu TCR α , co sugeruje możliwe znaczenie polimorfizmów genu TCR w podatności na SM [95].

Stwardnienie rozsiane jest bardzo złożoną chorobą, związaną z wieloma czynnikami, zarówno immunologicznymi, jak również genetycznymi i środowiskowymi. Rozwój choroby jest prawdopodobnie wynikiem jednoczesnego lub kaskadowego działania wszystkich tych czynników. Prowadzone badania analizujące każdy z tych czynników w znaczący sposób przybliżają nas do zrozumienia mechanizmów prowadzących do rozwoju choroby, jednak nadal w badaniach brakuje wspólnego mianownika, punktu który połączy wszystkie rozpatrywane aspekty badawcze w SM. Poznanie tego punktu pozwoli na pełne zrozumienie mechanizmów prowadzących do rozwoju choroby, co ułatwi opracowanie wczesnej diagnostyki i przyczyni się do prowadzenia skutecznej terapii.

PIŚMIENICTWO

- [1] Allison R.S., Millar J.H.: Prevalence of disseminated sclerosis in Northern Ireland. *Ulster Med. J.*, 1954; 23(Suppl.2): 1–27
- [2] Alter M., Allison R.S., Talbert O.R., Kurland L.T.: Geographic distribution of multiple sclerosis: a comparison of prevalence in Charleston County, South Carolina, and Halifax. *World Neurol.*, 1960; 1: 55–70
- [3] Awasthi A., Murugaiyan G., Kuchroo V.K.: Interplay between effector Th17 and regulatory T cells. *J. Clin. Immunol.*, 2008; 28: 660–670
- [4] Beagley K.W., Huston W.M., Hansbro P.M., Timms P.: Chlamydial infection of immune cells: altered function and implications for disease. *Crit. Rev. Immunol.*, 2009; 29: 275–305
- [5] Behnke O., Gruelund S.: Disseminated sclerosis in a pair of identical twins. *Nord. Med.*, 1957; 57: 625–627
- [6] Benito-León J., Pisa D., Alonso R., Calleja P., Díaz-Sánchez M., Carrasco L.: Association between multiple sclerosis and *Candida* species: evidence from a case-control study. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.*, 2010; 29: 1139–1145
- [7] Berlanga-Taylor A.J., Disanto G., Ebers G.C., Ramagopalan S.V.: Vitamin D-gene interactions in multiple sclerosis. *J. Neurol. Sci.*, 2011; 311: 32–36
- [8] Christensen T.: Association of human endogenous retroviruses with multiple sclerosis and possible interactions with herpes viruses. *Rev. Med. Virol.*, 2005; 15: 179–211
- [9] Christensen T., Sørensen P.D., Hansen H.J., Møller-Larsen A.: Endogenous retroviruses in multiple sclerosis. *Ugeskr. Laeger*, 2001; 163: 297–301
- [10] Contini C., Seraceni S., Castellazzi M., Granieri E., Fainardi E.: *Chlamydia pneumoniae* DNA and mRNA transcript levels in peripheral blood mononuclear cells and cerebrospinal fluid of patients with multiple sclerosis. *Neurosci. Res.*, 2008; 62: 58–61
- [11] Cossu D., Cocco E., Paccagnini D., Masala S., Ahmed N., Frau J., Marrosu M.G., Sechi L.A.: Association of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* with multiple sclerosis in Sardinian patients. *PLoS One*, 2011; 6: e18482
- [12] Dalakas M.C.: B cells in the pathophysiology of autoimmune neurological disorders: a credible therapeutic target. *Pharmacol. Ther.*, 2006; 112: 57–70
- [13] Deslauriers A.M., Afkhami-Goli A., Paul A.M., Bhat R.K., Acharjee S., Ellestad K.K., Noorbakhsh F., Michalak M., Power C.: Neuroinflammation and endoplasmic reticulum stress are coregulated by crocin to prevent demyelination and neurodegeneration. *J. Immunol.*, 2011; 187: 4788–4799
- [14] Ebers G.C.: Genetics and multiple sclerosis: an overview. *Ann. Neurol.*, 1994; 36 (Suppl.1): S12–S14
- [15] Fainardi E., Castellazzi M., Tamborino C., Seraceni S., Tola M.R., Granieri E., Contini C.: *Chlamydia pneumoniae*-specific intrathecal oligoclonal antibody response is predominantly detected in a subset of multiple sclerosis patients with progressive forms. *J. Neurovirol.*, 2009; 15: 425–433
- [16] Field J., Browning S.R., Johnson L.J., Danoy P., Varney M.D., Tait B.D., Gandhi K.S., Charlesworth J.C., Heard R.N., Australia and New Zealand Multiple Sclerosis Genetics Consortium, Stewart G.J., Kilpatrick T.J., Foote S.J., Bahlo M., Butzkueven H., Wiley J., Booth D.R., Taylor B.V., Brown M.A., Rubio J.P., Stankovich J.: A polymorphism in the HLA-DPB1 gene is associated with susceptibility to multiple sclerosis. *PLoS One*, 2010; 5: e13454
- [17] Frykholm B.O.: On the question of infectious aetiologies for multiple sclerosis, schizophrenia and the chronic fatigue syndrome and their treatment with antibiotics. *Med. Hypotheses*, 2009; 72: 736–739
- [18] Goverman J.: Autoimmune T cell responses in the central nervous system. *Nat. Rev. Immunol.*, 2009; 9: 393–407
- [19] Hafler D.A., Dubs A.D., Lee S.J., Benjamin D., Seidman J.G., Weiner H.L.: Oligoclonal T lymphocytes in the cerebrospinal fluid of patients with multiple sclerosis. *J. Exp. Med.*, 1988; 167: 1313–1322
- [20] Haines J.L., Ter-Minassian M., Bazyk A., Gusella J.F., Kim D.J., Terwedow H., Pericak-Vance M.A., Rimmler J.B., Haynes C.S., Roses A.D., Lee A., Shaner B., Menold M., Seboun E., Fitoussi R.P., Gartioux C., Reyes C., Ribierre F., Gyapay G., Weissenbach J., Hauser S.L., Goodkin D.E., Lincoln R., Usuku K., Oksenberg J.R., et al.: A complete genomic screen for multiple sclerosis underscores a role for the major histocompatibility complex. The Multiple Sclerosis Genetics Group. *Nat. Genet.*, 1996; 13: 469–471
- [21] Harkiolaki M., Holmes S.L., Svendsen P., Gregersen J.W., Jensen L.T., McMahon R., Friese M.A., van Boxel G., Etzensperger R., Tzartos J.S., Kranc K., Sainsbury S., Harlos K., Mellins E.D., Palace J., Esiri M.M., van der Merwe P.A., Jones E.Y., Fugger L.: T cell-mediated autoimmune disease due to low-affinity crossreactivity to common microbial peptides. *Immunity*, 2009; 30: 348–357
- [22] Hoffman S., Akkad D.A.: The genetics of multiple sclerosis: an update 2010. *Mol. Cell. Probes*, 2010; 24: 237–243
- [23] Hyllested K.: Disseminated sclerosis in Denmark: prevalence and geographical distribution. Copenhagen, J. Jorgensen, 1956
- [24] International Multiple Sclerosis Genetics Consortium (IMSGC): IL12A, MPHOSPH9/CDK2AP1 and RGS1 are novel multiple sclerosis susceptibility loci. *Genes Immun.*, 2010; 11: 397–405
- [25] Ji Q., Perchet A., Goverman J.M.: Viral infection triggers central nervous system autoimmunity via activation of CD8+ T cells expressing dual TCRs. *Nat. Immunol.*, 2010; 11: 628–634
- [26] Johnston J.B., Silva C., Holden J., Warren K.G., Clark A.W., Power C.: Monocyte activation and differentiation augment human endogenous retrovirus expression: implications for inflammatory brain diseases. *Ann. Neurol.*, 2001; 50: 434–442
- [27] Koslow W.: The familial occurrence of multiple sclerosis. *Confin. Neurol.*, 1957; 17: 189–198
- [28] Kozubski W., Liberski P.P.: Choroby układu nerwowego. PZWL, 2004; 13: 380–381
- [29] Kurland L.T., Mulder D.W., Westlund K.B.: Multiple sclerosis and amyotrophic lateral sclerosis: etiologic significance of recent epidemiologic and genetic studies. *N. Engl. J. Med.*, 1955; 252: 649–653
- [30] Kurland L.T., Mulder D.W., Westlund K.B.: Multiple sclerosis and amyotrophic lateral sclerosis (concluded): etiologic significance of recent epidemiologic and genetic studies. *N. Engl. J. Med.*, 1955; 252: 697–702
- [31] Kurland L.T., Westlund K.B.: Epidemiologic factors in the etiology and prognosis of multiple sclerosis. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 1954; 58: 682–701
- [32] Laufer G., Mayer J., Mueller B.F., Mueller-Lantsch N., Ruprecht K.: Analysis of transcribed human endogenous retrovirus W env loci clarifies the origin of multiple sclerosis-associated retrovirus env sequences. *Retrovirology*, 2009; 6: 37
- [33] Leitner H.: Influence of neurosteroids on the pathogenesis of multiple sclerosis. *Med. Hypotheses*, 2010; 75: 229–234
- [34] Levin M.C., Lee S.M., Kalume F., Morcos Y., Dohan F.C.Jr., Hasty K.A., Callaway J.C., Zunt J., Desiderio D., Stuart J.M.: Autoimmunity due to molecular mimicry as a cause of neurological disease. *Nat. Med.*, 2002; 8: 509–513
- [35] Li F., Nellåker C., Yolken R.H., Karlsson H.: A systematic evaluation of expression of HERV-W elements; influence of genomic context, viral structure and orientation. *BMC Genomics*, 2011; 12: 22
- [36] Lucas R.M., Hughes A.M., Lay M.L., Ponsonby A.L., Dwyer D.E., Taylor B.V., Pender M.P.: Epstein-Barr virus and multiple sclerosis. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry*, 2011; 82: 1142–1148
- [37] Mackay R.P.: The familial occurrence of multiple sclerosis and its implications. *Res. Publ. Assoc. Res. Nerv. Ment. Dis.*, 1950; 28: 150–177
- [38] Mackay R.P., Myriantopoulos N.C.: Multiple sclerosis in twins and their relatives; preliminary report on a genetic and clinical study. *Trans. Am. Neurol. Assoc.*, 1957–1958; 82nd Meeting: 9–12; discussion 12–14
- [39] Marnett G., Poddighe L., Astone V., Delogu G., Arru G., Sotgiu S., Serra C., Dolei A.: Novel reliable real-time PCR for differential detection of MSRVenv and syncytin-1 in RNA and DNA from patients with multiple sclerosis. *J. Virol. Methods*, 2009; 161: 98–106
- [40] Markovic-Plese S.: Degenerate T-cell receptor recognition, autoreactive cells, and the autoimmune response in multiple sclerosis. *Neuroscientist*, 2009; 15: 225–231
- [41] Marrosu M.G., Murru R., Murru M.R., Costa G., Zavattari P., Whalen M., Cocco E., Mancosu C., Schirru L., Solla E., Fadda E., Melis C., Porru I., Rolesu M., Cucca F.: Dissection of the HLA association with multiple sclerosis in the founder isolated population of Sardinia. *Hum. Mol. Genet.*, 2001; 10: 2907–2916
- [42] Mazokopakis E.E., Koutras A., Starakis I., Panos G.: Pathogens and chronic or long-term neurologic disorder. *Cardiovasc. Hematol. Disord. Drug Targets*, 2011; 11: 40–52
- [43] McAlpine D.: The problem of disseminated sclerosis. *Brain*, 1946; 69: 233–250

- [44] McAlpine D., Compston N.D., Lumsden C.E.: Multiple Sclerosis. Edinburgh, 1955
- [45] McFarland H.F., Martin R.: Multiple sclerosis: a complicated picture of autoimmunity. *Nat. Immunol.*, 2007; 8: 913–919
- [46] Millar J.H., Allison R.S.: Familial incidence of disseminated sclerosis in Northern Ireland. *Ulster Med. J.*, 1954; 23(Suppl.2): 29–92
- [47] Muller R.: Genetic aspects of multiple sclerosis. *AMA Arch. Neurol. Psychiatry*, 1953; 70: 733–740
- [48] Mulvey M.R., Doupe M., Prout M., Leong C., Hizon R., Grossberndt A., Klowak M., Gupta A., Melanson M., Gomori A., Esfahani F., Klassen L., Frost E.E., Namaka M.: Staphylococcus aureus harbouring Enterotoxin A as a possible risk factor for multiple sclerosis exacerbations. *Mult. Scler.*, 2011; 17: 397–403
- [49] Myrianthopoulos N.C., Mackay R.P.: Multiple sclerosis in twins and their relatives: genetic analysis of family histories. *Acta Genet. Stat. Med.*, 1960; 10: 33–47
- [50] Nair A., Frederick T.J., Miller S.D.: Astrocytes in multiple sclerosis: a product of their environment. *Cell. Mol. Life Sci.*, 2008; 65: 2702–2720
- [51] Nayrac P., Bertrand I., Mollaret M., Fontan M., Rabache R.: Familial disseminated sclerosis. *Rev. Neurol.*, 1954; 91, 102–116
- [52] Newman H.W., Purdy C., Rantz L., Hill F.C. Jr.: The spirochete and multiple sclerosis. *Calif. Med.*, 1958; 89: 387–389
- [53] Nexø B.A., Christensen T., Frederiksen J., Møller-Larsen A., Oturai A.B., Villesen P., Hansen B., Nissen K.K., Laska M.J., Petersen T.S., Bonnesen S., Hedemand A., Wu T., Wang X., Zhang X., Brudek T., Maric R., Søndergaard H.B., Sellebjerg F., Brusgaard K., Kjeldbjerg A.L., Rasmussen H.B., Nielsen A.L., Nyegaard M., Petersen T., Børglum A.D., Pedersen F.S.: The etiology of multiple sclerosis: genetic evidence for the involvement of the human endogenous retrovirus HERV-Fc1. *PLoS One*, 2011; 6: e16652
- [54] Nichols F.C., Housley W.J., O’Conor C.A., Manning T., Wu S., Clark R.B.: Unique lipids from a common human bacterium represent a new class of Toll-like receptor 2 ligands capable of enhancing autoimmunity. *Am. J. Pathol.*, 2009; 175: 2430–2438
- [55] Nicolò C., Di Sante G., Migliara G., Valentini M.G., Piermattei A., Delogu G., Ria F.: Intracellular bacteria can cause EAE in SJL mice or modify self-specific T cell repertoire. *J. Neurol. Sci.*, 2011; 311: 103–106
- [56] Niino M.: Vitamin D and its immunoregulatory role in multiple sclerosis. *Drugs Today*, 2010; 46: 279–290
- [57] Niino M., Fukazawa T., Yabe I., Kikuchi S., Sasaki H., Tashiro K.: Vitamin D receptor gene polymorphism in multiple sclerosis and the association with HLA class II alleles. *J. Neurol. Sci.*, 2000; 177: 65–71
- [58] Nora-Krukke Z., Chapenko S., Logina I., Millers A., Platkajis A., Murovska M.: Human herpesvirus 6 and 7 reactivation and disease activity in multiple sclerosis. *Medicina*, 2011; 47: 527–531
- [59] Nowak J., Januszkiewicz D., Pernak M., Liweń I., Zawada M., Rembowska J., Nowicka K., Lewandowski K., Hertmanowska H., Wender M.: Multiple sclerosis-associated virus-related pol sequences found both in multiple sclerosis and healthy donors are more frequently expressed in multiple sclerosis patients. *J. Neurovirol.*, 2003; 9: 112–117
- [60] Nowak J.S., Michałowska-Wender G., Januszkiewicz D., Wender M.: Limited junctional diversity of V delta 5-J delta 1 rearrangement in multiple sclerosis patients. *Mol. Chem. Neuropathol.*, 1997; 30: 95–100
- [61] Ochoa-Repáraz J., Mielcarz D.W., Begum-Haque S., Kasper L.H.: Gut, bugs, and brain: role of commensal bacteria in the control of central nervous system disease. *Ann. Neurol.*, 2011; 69: 240–247
- [62] Ochoa-Repáraz J., Mielcarz D.W., Ditrío L.E., Burroughs A.R., Begum-Haque S., Dasgupta S., Kasper D.L., Kasper L.H.: Central nervous system demyelinating disease protection by the human commensal *Bacteroides fragilis* depends on polysaccharide A expression. *J. Immunol.*, 2010; 185: 4101–4108
- [63] Ochoa-Repáraz J., Mielcarz D.W., Wang Y., Begum-Haque S., Dasgupta S., Kasper D.L., Kasper L.H.: A polysaccharide from the human commensal *Bacteroides fragilis* protects against CNS demyelinating disease. *Mucosal Immunol.*, 2010; 3: 487–495
- [64] Oksenberg J.R., Sherritt M., Begovich A.B., Erlich H.A., Bernard C.C., Cavalli-Sforza L.L., Steinman L.: T-cell receptor V alpha and C alpha alleles associated with multiple and myasthenia gravis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1989; 86: 988–992
- [65] Perron H., Bernard C., Bertrand J.B., Lang A.B., Popa I., Sanhadji K., Portoukalian J.: Endogenous retroviral genes, Herpesviruses and gender in Multiple Sclerosis. *J. Neurol. Sci.*, 2009; 286: 65–72
- [66] Perron H., Garson J.A., Bedin F., Beseme F., Paranhos-Baccala G., Komurian-Pradel F., Mallet F., Tuke P.W., Voisset C., Blond J.L., Lalande B., Seigneurin J.M., Mandrand B.: Molecular identification of a novel retrovirus repeatedly isolated from patients with multiple sclerosis. The Collaborative Research Group on Multiple Sclerosis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1997; 94: 7583–7588
- [67] Perron H., Lang A.: The human endogenous retrovirus link between genes and environment in multiple sclerosis and in multifactorial diseases associating neuroinflammation. *Clin. Rev. Allergy Immunol.*, 2010; 39: 51–61
- [68] Perron H., Perin J.P., Rieger F., Alliel P.M.: Particle-associated retroviral RNA and tandem RGH/HERV-W copies on human chromosome 7q: possible components of a ‘chain-reaction’ triggered by infectious agents in multiple sclerosis? *J. Neurovirol.*, 2000; 6(Suppl.2): S67–S75
- [69] Pierrrot-Deseilligny C., Souberbielle J.C.: Is hypovitaminosis D one of the environmental risk factors for multiple sclerosis? *Brain*, 2010; 133: 1869–1888
- [70] Polvan N.: Familial incidence of multiple sclerosis. *Wien Z. Nervenheilkd. Grenzgeb.*, 1958; 15: 224–228
- [71] Power C., Antony J.M., Ellestad K.K., Deslauriers A., Bhat R., Noorbakhsh F.: The human microbiome in multiple sclerosis: pathogenic or protective constituents? *Can. J. Neurol. Sci.*, 2010; 37(Suppl.2): S24–S33
- [72] Pratt R.T., Compston N.D., McAlpine D.: The familial incidence of disseminated sclerosis and its significance. *Brain*, 1951; 74: 191–232
- [73] Purzycki C.B., Shain D.H.: Fungal toxins and multiple sclerosis: a compelling connection. *Brain Res. Bull.*, 2010; 82: 4–6
- [74] Refsum S.: Possible genetic factors in disseminated sclerosis. *Proc. R. Soc. Med.*, 1961; 54: 35–38
- [75] Rodríguez Carnero S., Martínez-Vázquez C., Potel Alvarellos C., Alvarez Fernández M., Prieto González J.M., Noya García M., de la Fuente Aguado J., Sopeña Argüelles B.: Lack of human herpesvirus type 6 DNA in CSF by nested PCR among patients with multiple sclerosis. *Rev. Clin. Esp.*, 2002; 202: 588–591
- [76] Rotteveel F.T., Kokkelink I., van Walbeek H.K., Polman C.H., van Dongen J.J., Lucas C.L.: Analysis of T cell receptor-gene rearrangement in T cells from the cerebrospinal fluid of patients with multiple sclerosis. *J. Neuroimmunol.*, 1987; 15: 243–249
- [77] Rubio J.P., Stankovich J., Field J., Tubridy N., Marriott M., Chapman C., Bahlo M., Perera D., Johnson L.J., Tait B.D., Varney M.D., Speed T.P., Taylor B.V., Foote S.J., Butzkueven H., Kilpatrick T.J.: Replication of KIAA0350, IL2RA, RPL5 and CD58 and CD58 as multiple sclerosis susceptibility genes in Australians. *Genes Immun.*, 2008; 9: 624–630
- [78] Salvetti M., Giovannoni G., Aloisi F.: Epstein-Barr virus and multiple sclerosis. *Curr. Opin. Neurol.*, 2009; 22: 201–206
- [79] Saresella M., Rolland A., Marventano I., Cavarretta R., Caputo D., Marche P., Perron H., Clerici M.: Multiple sclerosis-associated retroviral agent (MSRV)-stimulated cytokine production in patients with relapsing-remitting multiple sclerosis. *Mult. Scler.*, 2009; 15: 443–447
- [80] Sawcer S., Ban M., Maranian M., Yeo T.W., Compston A., Kirby A., Daly M.J., De Jager P.L., Walsh E., Lander E.S., Rioux J.D., Hafler D.A., Ivinson A., Rimmler J., Gregory S.G., Schmidt S., Pericak-Vance M.A., Akesson E., Hillert J., Datta P., Oturai A., Ryder L.P., Harbo H.F., Spurkland A., Myhr K.M., Laaksonen M., Booth D., Heard R., Stewart G., Lincoln R., Barcellos L.F., Hauser S.L., Oksenberg J.R., Kenealy S.J., Haines J.L.: International Multiple Sclerosis Genetics Consortium: A high-density screen for linkage in multiple sclerosis. *Am. J. Hum. Genet.*, 2005; 77: 454–467
- [81] Selmaj K.: Stwardnienie rozsiane. *Wyd. Med. Termedia, Poznań* 2006; 1:8; 2:11; 3:17; 5: 45–48
- [82] Selmaj K., Brosnan C.F., Raine C.S.: Colocalization of lymphocytes bearing $\gamma\delta$ T-cell receptor and heat shock protein hsp65+ oligodendrocytes in multiple sclerosis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1991; 88: 6452–6456
- [83] Sioka C., Papakonstantinou S., Markoula S., Gkartzioyi F., Georgiou A., Georgiou I., Pelidou S.H., Kyritsis A.P., Fotopoulos A.: Vitamin D receptor gene polymorphisms in multiple sclerosis patients in north-west Greece. *J. Negat. Results Biomed.*, 2011; 10: 3
- [84] Smith A.J., Liu Y., Peng H., Beers R., Racke M.K., Lovett-Racke A.E.: Comparison of a classical Th1 bacteria versus a Th17 bacteria as adjuvant in the induction of experimental autoimmune encephalomyelitis. *J. Neuroimmunol.*, 2011; 237: 33–38
- [85] Smolders J., Damoiseaux J., Menheere P., Hupperts R.: Vitamin D as an immune modulator in multiple sclerosis, a review. *J. Neuroimmunol.*, 2008; 194: 7–17

- [86] Smolders J., Damoiseaux J., Menheere P., Tervaert J.W., Hupperts R.: Fok-I vitamin D receptor gene polymorphism (rs10735810) and vitamin D metabolism in multiple sclerosis. *J. Neuroimmunol.*, 2009; 207: 117–121
- [87] Smolders J., Damoiseaux J., Menheere P., Tervaert J.W., Hupperts R.: Association study on two vitamin D receptor gene polymorphisms and vitamin D metabolites in multiple sclerosis. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 2009; 1173: 515–520
- [88] Smolders J., Peelen E., Thewissen M., Menheere P., Tervaert J.W., Hupperts R., Damoiseaux J.: The relevance of vitamin D receptor gene polymorphisms for vitamin D research in multiple sclerosis. *Autoimmun. Rev.*, 2009; 8: 621–626
- [89] Sotelo J., Corona T.: Varicella zoster virus and relapsing remitting multiple sclerosis. *Mult. Scler. Int.*, 2011; 2011: 214763
- [90] Sotgiu S., Arru G., Söderström M., Mameli G., Serra C., Dolei A.: Multiple sclerosis-associated retrovirus and optic neuritis. *Mult. Scler.*, 2006; 12: 357–359
- [91] Sotgiu S., Mameli G., Serra C., Zarbo I.R., Arru G., Dolei A.: Multiple sclerosis-associated retrovirus and progressive disability of multiple sclerosis. *Mult. Scler.*, 2010; 16: 1248–1251
- [92] Sotgiu S., Serra C., Mameli G., Pugliatti M., Rosati G., Arru G., Dolei A.: Multiple sclerosis-associated retrovirus and MS prognosis: an observational study. *Neurology*, 2002; 59: 1071–1073
- [93] Sutherland J.M.: Observations on the prevalence of multiple sclerosis in Northern Scotland. *Brain*, 1956; 79: 635–654
- [94] Tselis A.: Evidence for viral etiology of multiple sclerosis. *Semin. Neurol.*, 2011; 31: 307–316
- [95] Watson C.T., Para A.E., Lincoln M.R., Ramagopalan S.V., Orton S.M., Morrison K.M., Handunnetthi L., Handel A.E., Chao M.J., Morahan J., Sadovnick A.D., Breden F., Ebers G.C.: Revisiting the T-cell receptor alpha/delta locus and possible associations with multiple sclerosis. *Genes Immun.*, 2011; 12: 59–66
- [96] Westall F.C.: Molecular mimicry revisited: gut bacteria and multiple sclerosis. *J. Clin. Microbiol.*, 2006; 44: 2099–2104
- [97] Woessner R., Grauer M.T., Frese A., Bethke F., Ginger T., Hans A., Treib J.: Long-term antibiotic treatment with roxithromycin in patients with multiple sclerosis. *Infection*, 2006; 34: 342–344
- [98] Wucherpfennig K.W.: Structural basis of molecular mimicry. *J. Autoimmun.*, 2001; 16: 293–302
- [99] Zawada M., Liwień I., Pernak M., Januszkiewicz-Lewandowska D., Nowicka-Kujawska K., Rembowska J., Lewandowski K., Hertmanowska H., Wender M., Nowak J.: MSRV pol sequence copy number as a potential marker of multiple sclerosis. *Pol. J. Pharmacol.*, 2003; 55: 869–875
- [100] Zhang X., Tang Y., Sujkowska D., Wang J., Ramgolam V., Sospedra M., Adams J., Martin R., Pinilla C., Markovic-Plese S.: Degenerate TCR recognition and dual DR2 restriction of autoreactive T cells: implications for the initiation of the autoimmune response in multiple sclerosis. *Eur. J. Immunol.*, 2008; 38: 1297–1309
- [101] Zozulya A.L., Wiendl H.: The role of CD8 suppressors versus destructors in autoimmune central nervous system inflammation. *Hum. Immunol.*, 2008; 69: 797–804

Autorka deklaruje brak potencjalnych konfliktów interesów.