

## Biomarkery w stwardnieniu rozsianym

### Biomarkers in multiple sclerosis

Zespół Badawczo-Lecznicy Chorób Neuroimmunologicznych Instytutu Medycyny Doświadczalnej i Klinicznej im. Mirosława Mossakowskiego PAN

Correspondence to: Zespół Badawczo-Lecznicy Chorób Neuroimmunologicznych Instytutu Medycyny Doświadczalnej i Klinicznej im. Mirosława Mossakowskiego PAN, ul. Przybyszewskiego 49, 60-355 Poznań, tel.: 061 869 15 65, tel. kom.: 0 602 245 703, e-mail: mwender@amp.edu.pl

Praca finansowana ze środków własnych

#### Streszczenie

Przeprowadzono krytyczną analizę stanu badań w zakresie poszukiwania optymalnych markerów w stwardnieniu rozsianym. W wielu przypadkach wystarczy analiza kliniczna i obraz tomografii rezonansu magnetycznego. W razie wątpliwości wiele wnosi badanie płynu mózgowo-rdzeniowego, podwyższony wskaźnik IgG wskazujący na syntezę tego białka wewnątrz przestrzeni płynowych oraz obecność prążków oligoklonalnych IgG. Nadal jednak trwają poszukiwania bardziej swoistych biomarkerów. Mimo swego znaczenia dla poznania patogenezы choroby jak dotychczas nie wszystkie próby są uwzględnione w przyjętych kryteriach diagnostycznych. W płynie mózgowo-rdzeniowym odnotowuje się podwyższony poziom białka zasadowego jako wyraz procesu demielinizacyjnego oraz podwyższony poziom przeciwciał rozpoznających białka mieliny. Wzrost miana przeciwciał w surowicy ma niewielką wartość diagnostyczną wobec dużych różnic w częstości ich występowania, podobnie jak wzrost poziomu niektórych cytokin, chemokin i molekuł adhezyjnych. To samo dotyczy odsetkowych wartości antygenów powierzchniowych komórek jednojądrzastych krwi. Biomarkery próbuje się wykorzystywać do rokowania co do postępu choroby. Bardzo ważnym kierunkiem badawczym jest próba odpowiedzi na pytanie, czy można określić markery genetyczne decydujące o pozytywnym wyniku lub braku odpowiedzi terapeutycznej przy stosowaniu leków immunosupresyjnych i immunomodulacyjnych. Pozytywne wyniki w tym zakresie stanowiąc będą istotny postęp w terapii stwardnienia rozsianego.

**Słowa kluczowe:** stwardnienie rozsiane, biomarkery, cytokiny, chemokiny, farmakogenetyka, przeciwciała antymielinowe

#### Summary

The critical analysis of current status in the search of optimal biomarkers in multiple sclerosis was performed. In many cases the clinical as well as MRI patterns are sufficient for the diagnosis. In dubious cases the impact of CSF studies is necessary demonstrating an increase of IgG index indicating an intrathecal production of this proteins as well as the presence of oligoclonal IgG bands. The intensive search for more specific biomarkers continues. However, till now the results are far from satisfactory ones and are not included into the accepted diagnostic tests. Nevertheless, the studies are of a great value for understanding of the disease pathomechanism. The increase of MBP level in the CSF represents a marker of demyelination. An increase in titres of antibodies recognizing myelin proteins manifests no diagnostic value due to significant level differences, similarly as the increase in expression of some cytokines, chemokines and adhesion molecules. The same concerns the relative percentage of superficial antigens of blood mononuclears. Biomarkers tested as predictors of disease progress have a greater future. A very important scientific problem involves the question if it is possible to find genetic markers, which could predict a positive or negative therapeutic response to immunomodulatory or immunosuppressive drugs. Such markers would signify a great advantage in the therapy of multiple sclerosis.

**Key words:** multiple sclerosis, biomarkers, cytokines, chemokines, pharmacogenetics, antimyelin antibodies

## WSTĘP

Szeroko zakrojone badania prowadzone w wielu ośrodkach naukowych całego świata zmierzają do znalezienia optymalnych markerów w stwardnieniu rozsianym. Z klinicznego punktu widzenia rozpoznanie choroby oparte jest na stwierdzeniu zmian w istocie białej mózgowia i rdzenia kręgowego, rozrzuconych w czasie i przestrzeni. Trudności diagnostyczne może powodować różnorodność objawów i postaci stwardnienia rozsianego, co podnosi rolę testów paraklinicznych: neuroobrazowania przy pomocy tomografii rezonansu magnetycznego oraz biomarkerów, głównie immunologicznych płynu mózgowo-rdzeniowego, krwi oraz – w bardzo ograniczonym zakresie – w moczu. Tomografia rezonansu magnetycznego jest niezwykle przydatna w wykrywaniu i ocenie zmian w istocie białej. Przy zastosowaniu wzmocnienia kontrastem (gadolina) ocenia się aktywność procesu chorobowego, najlepiej w korelacji ze zmianami w poziomie biomarkerów. Wartość obrazu jest jednak ograniczona u osób starszych (już od 45. roku życia). Dlatego też u wielu chorych z podejrzeniem stwardnienia rozsianego, a także w przypadkach o przewlekłym przebiegu choroby lub w sytuacji, gdy obraz rezonansu magnetycznego nasuwa wątpliwości w różnicowaniu z ogniskami naczyniopochodnymi, badania biomarkerów mają dużą wartość praktyczną w diagnostyce choroby. Badanie biomarkerów próbuje się również wykorzystać podczas przewidywania przebiegu choroby, zwłaszcza do oceny, czy należy spodziewać się przejścia postaci z okresami rzutów i remisji w fazę przewlekłą postępującą. Próbuje się to ocenić przez analizę stopnia uszkodzenia poszczególnych składników tkanki nerwowej: mieliny i aksonu<sup>(1)</sup>. Nowym kierunkiem zastosowania biomarkerów wydaje się niezwykle perspektywiczna próba wyboru dla pacjentów terapii immunomodulacyjnej, w zależności od wyników badania. Jest to kierunek przyszłościowy w stosunku do zawodnych i mało sprecyzowanych kryteriów klinicznych<sup>(2,3)</sup>. Kontrowersyjna wydaje się z kolei próba wykorzystania biomarkerów do oceny podatności na zachorowanie na stwardnienie rozsiane, a więc ocena ryzyka jeszcze przed wystąpieniem pierwszych objawów klinicznych choroby. Oczywiście, sytuacja jest całkowicie odmienna w zespole izolowanych objawów neurologicznych (CIS).

### BIĄŁKA PŁYNU MÓZGOWO-RDZENIOWEGO

Do złotych standardów rozpoznawczych stwardnienia rozsianego należy od lat wysoki wskaźnik IgG, wskazujący na syntezę tego białka wewnątrz przestrzeni płynowych oraz obecność prążków oligoklonalnych IgG. Zmiany te stwierdza się w około 90% dorosłych przypadków stwardnienia rozsianego. W dziecięcym i młodzieżowym stwardnieniu rozsianym powyższe odchylenia płynowe występują jedynie u połowy chorych<sup>(4)</sup>. Bez względu na wzrost poziomu IgG ma mniejsze znaczenie diagnostyczne. Występuje jedynie u połowy chorych we wczesnym okresie choroby. Bardziej czułym wskaźnikiem niż ocena ogólnego poziomu IgG jest badanie podklas IgG, mianowicie wskaźnika IgG1 i IgG3<sup>(5)</sup>. Pomimo dużej czułości

powyższych badań nie są one w pełni swoiste, ponieważ podobne zmiany mogą występować również w innych chorobach zapalnych układu nerwowego. Leczenie sterydami wpływa na obniżenie produkcji IgG, wyrażające się obniżeniem wskaźnika IgG. Nie prowadzi jednak do zanikania prążków oligoklonalnych IgG<sup>(6)</sup>.

Nasuwa się zasadnicze pytanie: jaki antygen lub antygeny są odpowiedzialne za te zjawiska immunologiczne? Wśród czynników zewnętrznych podkreśla się domniemaną rolę szeregu retrowirusów, a jako domniemane autoantygeny determinujące reakcje wymienia się białko zasadowe mieliny (MBP), białko proteolipidu mieliny (PLP) oraz glikoproteinę mielina-oligodendroglej (MOG). Być może również podobne znaczenie ma małe białko szoku cieplnego ( $\alpha\beta$ -krystalina) czy egzotoksyczne paciorkowce, działające jako superantygen. Badania przeprowadzone na poziomie genomu wskazują, że geny kodujące immunoglobuliny odznaczają się wielką restryktywnością w czynnych segmentach genu oraz wysoką częstością mutacji w sekwencjach kodujących region wyznaczający komplementarność<sup>(7)</sup>. Wyniki tych badań prowadzą do wniosku, że synteza immunoglobulin i pobudzenie komórek B w stwardnieniu rozsianym nie są tylko następstwem nieswoistej reakcji, ale wynikiem odpowiedzi na antygen powiązany z mechanizmem immunologicznym choroby.

W płynie mózgowo-rdzeniowym w stwardnieniu rozsianym występuje wzrost poziomu białka zasadowego mieliny, podobnie jak lekkiego białka neurofilamentów i kwaśnego białka włóknien glejowych<sup>(8)</sup>. Przy zastosowaniu współczesnych metod elektroforezy, częściowo w połączeniu ze spektroskopią masową, wykazano jakościowe zmiany białek płynu mózgowo-rdzeniowego w stwardnieniu rozsianym, sugerujące dotknięcie włóknien mieliniowych, zarówno w postaci rozwiniętej choroby, jak i w klinicznie izolowanym zespole (CIS). Jak podkreślają Rithidech i wsp., zmiany te spotyka się również w dziecięcym stwardnieniu rozsianym<sup>(9)</sup>. Mogą one stanowić ze względu na swą czułość ważny moment diagnostyczny, bardziej swoisty niż wzrost IgG i obecność prążków oligoklonalnych.

### PRZECIWCIAŁA JAKO MARKERY BIOLOGICZNE

W płynie mózgowo-rdzeniowym i w surowicy pacjentów chorych na stwardnienie rozsiane wykrywa się cały szereg przeciwciał. Najczęściej są to przeciwciała rozpoznające białko zasadowe mieliny (MBP), białko proteolipidu mieliny (PLP), glikoproteinę związaną z mielina (MAC), glikoproteinę mielina-oligodendroglej (MOG), białko swoiste oligodendrocytów (OSP), 2',3'-cykliczną 3'-fosfodiasterazę nukleotydów (CNP) i transaldolazę (TAL). Wykryto również szereg przeciwciał antywirusowych, w tym tak rozpowszechnionych, jak grypy i paragrypy. Według Jaśkiewicz epitopy dla przeciwciał o swoistości anti-MBP, anti-MOG oraz anti-OSP pokrywają się częściowo z encefalitogennymi epitopami rozpoznawanymi przez limfocyty T, a stwierdzonymi u chorych na stwardnienie rozsiane<sup>(10)</sup>. Wartość diagnostyczna tych badań nie jest duża, zwłaszcza badań przeciwciał w surowicy, wobec bardzo

dużych różnic w częstości ich występowania, co wyraźnie wiadać w zestawieniu podanym przez Reindla i wsp.<sup>(11)</sup> Znaczne różnice w wynikach badań zdają się zależeć w dużym stopniu od zastosowanych metod laboratoryjnych. Badania autoprzeciwciał mają jednak wyraźnie wartość perspektywiczną dla rozwoju i wyboru celowanej terapii immunologicznej. Heterogenność aktywności immunologicznej w poszczególnych przypadkach determinuje bowiem konieczność wyboru indywidualizowanej terapii w stwardnieniu rozsianym. O sprawie tej mówi się od lat. Już w roku 1994 Warren i wsp. wyrazili opinię, że istnieją dwie odmienne immunologicznie postacie choroby, pierwsza powiązana antygenowo z białkiem zasadowym mieliny, a druga z białkiem proteolipidu mieliny<sup>(12)</sup>.

Ostatnio zwrócono uwagę na rozpuszczalne białko Nogo-A, inhibitor regeneracji aksonów. Obecność tego białka może być związana z brakiem aktywnej regeneracji w ośrodkowym układzie nerwowym w stwardnieniu rozsianym. Jurewicz i wsp. podali, że rozpuszczalną postać 20 kDa Nogo-A stwierdzili w 96% próbek płynu mózgowo-rdzeniowego chorych na stwardnienie rozsiane, podczas gdy w większości badanych przypadków innych chorób układu nerwowego wyniki były negatywne<sup>(13)</sup>. Stąd też wysunęli wniosek, że rozpuszczalne białko Nogo-A jest obiecującym testem diagnostycznym w stwardnieniu rozsianym. Badania te zostały zakwestionowane przez Lindseya i wsp., którzy przypuszczają, w oparciu o oznaczenia wykonane metodą *western blot*, że prążki uważane za zależne od Nogo-A są wywołane przez lekkie łańcuchy immunoglobulin<sup>(14)</sup>. Ze względu na tak zasadnicze kontrowersje dotyczące tego biomarkera zagadnienie wymaga dalszych badań. Wyniki oznaczeń antyprzeciwciał przeciw Nogo-A i receptora anty-Nogo w surowicy chorych na stwardnienie rozsiane nie różnią się w sposób przekonujący od rezultatów grupy kontrolnej<sup>(15)</sup>.

### CY TOKINY KRWI I PŁYNU MÓZGOWO-RDZENIOWEGO

Cytokiny odgrywają dużą rolę w patogenezie stwardnienia rozsianego, występując zarówno w płynie mózgowo-rdzeniowym, jak i we krwi. Stąd też próby analizy ich zawartości w stwardnieniu rozsianym – pod kątem wykorzystania jako biomarkerów diagnostycznych. Limfocyty TH1 wytwarzają cytokiny INF- $\gamma$  (interferon  $\gamma$ ), LT- $\alpha$  (limfotoksynę  $\alpha$ ), TNF- $\alpha$  (czynnik martwicy nowotworów  $\alpha$ ), IL-2 (interleukinę 2) o działaniu silnie prozapalnym. Limfocyty TH2 wytwarzają całą gamę interleukin (IL-4, IL-5, IL-10, IL-12, IL-15) o charakterze immunomodulacyjnym. Ponieważ poziom cytokin zarówno w płynie mózgowo-rdzeniowym, jak i we krwi nie jest wysoki, wyniki uzyskane przez poszczególnych badaczy są niejednoznaczne. Najbardziej zmienny wzrost w stwardnieniu rozsianym w porównaniu z innymi chorobami układu nerwowego i grupami kontrolnymi stwierdzono, badając TNF- $\alpha$ , zarówno w płynie mózgowo-rdzeniowym, jak i we krwi. Ze względu na duże różnice w poziomie między poszczególnymi przypadkami stwardnienia rozsianego wartość TNF- $\alpha$  jako biomarkera diagnostycznego nie jest duża, podobnie jak i pozostałych

wymienionych cytokin. Zestawienie sumaryczne wyników badań na temat cytokin we krwi i w płynie mózgowo-rdzeniowym w stwardnieniu rozsianym znajduje się w tabeli 1.

W przebiegu leczenia immunomodulacyjnego występują istotne zmiany w ekspresji cytokin. Można tu wymienić przykładowo jedynie kilka spośród licznych badań na ten temat. Jak stwierdzono, interferon  $\beta$ -1a już po 6 miesiącach leczenia wywołuje istotny spadek ekspresji TGF- $\alpha$  (czynnik transformacji wzrostu)<sup>(16)</sup>. Jest interesujące, że octan glatirameru wywiera wpływ obniżający na poziom interleukiny 12, czego nie obserwowano po terapii interferonem  $\beta$ -1a<sup>(17)</sup>. Wyniki te wskazują na wartość oznaczania cytokin dla wyjaśniania mechanizmu działania leków, ale droga do zastosowania praktyczno-klinicznego jest jeszcze daleka.

### CHEMOKINY I MOLEKUŁY ADHEZYJNE

Chemokiny, stanowiące wyodrębnioną podgrupę cytokin, razem z molekułami adhezyjnymi odgrywają ważną rolę w patogenezie stwardnienia rozsianego jako czynniki decydujące o migracji komórek zapalnych z obwodowego łożyska naczyniowego do ośrodkowego układu nerwowego. Zagadnienie to zostało szczegółowo przedstawione przez Bieleckiego i Głabińskiego<sup>(18)</sup>. Czy oznaczenie poziomu chemokin i molekuł adhezyjnych będzie miało znaczenie jako biomarker diagnostyczny, nie jest pewne, tym bardziej że zmiany częściowo pokrywają się z danymi stwierdzonymi w innych chorobach układu nerwowego. Dlatego też warto zacytować tylko kilka badań, które mogą mieć przyszłościowe znaczenie w rozpoznaniu stwardnienia rozsianego.

Podwyższenie poziomu IL-8 (CXCL8) w surowicy chorych na stwardnienie rozsiane zostało wykazane przez Saruhana-Direskeneliego i wsp.<sup>(19)</sup> W badaniach Narikawy i wsp. stwierdzono w płynie mózgowo-rdzeniowym wartości przekraczające poziom spotykany w serii kontrolnej CXCL10 oraz CCL17 (TARC), podczas gdy poziom CCL2 był znacznie obniżony<sup>(20)</sup>. Również poziom CCL19 i CCL21 okazał się podwyższony w płynie mózgowo-rdzeniowym chorych na stwardnienie rozsiane<sup>(21)</sup>. Istotny wzrost poziomu rozpuszczalnego PECAM-1 stwierdzono w surowicy pacjentów w stwardnieniu rozsianym z dodatnimi wynikami wzmocnienia gadolinowego<sup>(22)</sup>. W surowicy i w płynie mózgowo-rdzeniowym chorych na stwardnienie rozsiane odnotowano również podwyższony poziom innej molekuły adhezyjnej – sVCAM-1 w porównaniu z grupą kontrolną<sup>(23)</sup>. Podobne wyniki uzyskano w badaniach ICAM-1<sup>(24)</sup>, a także E-selektyny (CDC2E)<sup>(25)</sup>.

### MARKERY KOMÓRKOWE

Patogeneza stwardnienia rozsianego powiązana jest z zaburzeniem równowagi części podklas komórek T, które wiążą się z syntezą cytokin o działaniu pro- i antyzapalnym. Istnieją liczne badania stwierdzające, że częstość poszczególnych podklas limfocytów T zarówno w surowicy, jak i w płynie mózgowo-rdzeniowym jest odmienna w stwardnieniu rozsianym w porównaniu z obrazem znamienym dla ludzi zdrowych.

Najbardziej znaczącym odchyleniem jest wysoka liczba komórek CD<sub>4</sub>, TCR $\alpha/\beta$  i podwyższony wskaźnik CD<sub>4</sub>/CD<sub>8</sub>. Obniżona jest liczba komórek TCR $\gamma/\delta$  oraz  $\alpha/\beta$  HLA-DR<sup>(26)</sup>. Wyniki badań Frequina i wsp., którzy stwierdzili u chorych ze stwardnieniem rozsianym, szczególnie w grupie chorych z postacią przewlekle postępującą, obniżenie odsetka komórek CD<sub>4</sub>+T w krwi obwodowej, są zupełnym wyjątkiem<sup>(27)</sup>. Bardzo ważne informacje dotyczyły badania Borsellino i wsp., którzy zaobserwowali, że obniżenie liczby komórek supresorowych CD39 koreluje dodatnio z wystąpieniem stwardnienia rozsianego<sup>(28)</sup>. Wiele danych wskazuje, że zmiany w antygenach powierzchniowych komórek T w stwardnieniu rozsianym wiążą się z zaburzeniami procesu apoptozy. Badania te nie zostały dotychczas wykorzystane jako markery diagnostyczne. Dotyczy to takich doniesień, jak Ichikawy i wsp., które wskazują, że ekspresja antygenu Fas w komórkach T krwi obwodowej jest wyższa u chorych ze stwardnieniem rozsianym, co prowadzi do zaburzenia apoptozy aktywnych komórek T<sup>(29)</sup>. Stwierdzono również<sup>(30)</sup>, że apoptoza komórek jednojądrzastych krwi obwodowej oraz w przestrzeniach płynowych jest w stwardnieniu rozsianym obniżona, przy czym aktywowane komórki T są odporne na apoptozę niezależną od Fas.

Warto przytoczyć również kilka innych doniesień, wskazujących na znaczenie odchyłeń markerów komórkowych u chorych na stwardnienie rozsiane. Komórki dendrytyczne chorych wykazują wysoką ekspresję CD1a i niską CD86<sup>(31)</sup>. Chatzimanolis i wsp. wysunęli hipotezę, że zaburzony wskaźnik limfocytów CD45RA+ ICAM-3+ może wskazywać na przedwczesną starość systemu immunologicznego w stwardnieniu rozsianym<sup>(32)</sup>.

Markery powierzchniowe składników morfotycznych krwi ulegają dużym zmianom w przebiegu terapii lekami immunomodulacyjnymi i immunosupresyjnymi, co uznane jest za jeden z wykładników ich działania. Terapia metyloprednizolonem wywiera wpływ na komórki dendrytyczne i regulatorowe komórki T<sup>(33)</sup>. Leczenie to powoduje również obniżenie produkcji IL-8 przez monocyty chorych na stwardnienie rozsiane<sup>(34)</sup>. Przyjmuje się również, że podstawowy lek immunomodulacyjny – interferon  $\beta$  wywiera wpływ dodatni na przebieg stwardnienia rozsianego przez pobudzenie ekspresji kostymulatorów molekuł CD80 i CD40 na monocytach krwi<sup>(35)</sup>.

### BIOMARKERY W MOCZU

Badania biomarkerów w moczu jako test diagnostyczny dla rozpoznania stwardnienia rozsianego nie znalazły szerszego zastosowania. Zagadnienie to jest jednak ważne, ponieważ badania te można powtarzać wielokrotnie w przebiegu choroby, dlatego też warto wskazać nawet na pojedyncze prace na ten temat.

Badania wykazały podwyższenie poziomu wolnych łańcuchów lekkich  $\kappa$  w moczu chorych na stwardnienie rozsiane, wskazując, że test może być użytecznym markerem choroby<sup>(36)</sup>, ale tylko w przypadkach o bardzo wysokim poziomie. Stwierdzono wpływ leczenia 2CDA na stężenie łańcuchów  $\kappa$  w postaci

przewlekle postępującej choroby, a także wpływ terapii dużymi dawkami Encortonu w przypadkach wczesnego stwardnienia rozsianego<sup>(37)</sup>.

### BIOMARKERY DETERMINUJĄCE POSTAĆ I POSTĘP CHOROBY

Trwają intensywne badania zmierzające do znalezienia biomarkerów determinujących przebieg choroby. Furlan i wsp. przeprowadzili analizę wieloczynnikową poziomu mRNA szeregu immunomarkerów surowicy pod kątem przebiegu stwardnienia rozsianego<sup>(38)</sup>. Badania te stanowią wyraźny postęp w poznaniu tego zagadnienia. Poziom mRNA markerów CXCR5, CCL5 i CCR3 był najwyższy w postaci pierwotnie przewlekle postępującej, podczas gdy wzrost poziomu TNF- $\alpha$ , IL-10, CXCL10 i CCR3 był znamienny dla postaci rzutowo-remisyjnej stwardnienia rozsianego. Wyższy poziom mRNA markerów TNF- $\alpha$ , IL-10, CXCL10 przy obniżeniu CCR3 charakteryzuje z kolei rzut choroby. Podobnie Scarpini i wsp. oraz Franciotta i wsp. wykazali, że poziom białka takich markerów, jak TNF- $\alpha$ , IL-10, CXCL10, w surowicy i płynie mózgowo-rdzeniowym wzrasta w aktywnej fazie choroby<sup>(39,40)</sup>. Stwierdzono także, że wysoki poziom mediatora apoptozy Fas mRNA łączy się z pomyślnym przebiegiem postaci rzutowo-remisyjnej stwardnienia rozsianego, podczas gdy wysoki poziom mediatora FasL mRNA występuje przy stosunkowo łagodnym przebiegu wtórnie postępującej postaci choroby<sup>(41)</sup>. Bardzo interesujące badania przedstawił Correal i de los Milagros Bassani Molinas, którzy wykazali, że VLA-4, LFA-1 $\alpha$  i MMP-9 odgrywają decydującą rolę w rozwoju demielinizacyjnych zmian zapalnych w okresie przejścia izolowanego zespołu klinicznego (CIS) w rozwiniętą postać choroby<sup>(42)</sup>. Wykazano także, że cytokiny wytworzone przez komórki jednojądrzaste krwi obwodowej ulegają zmianom ilościowym zależnie od aktywności choroby. Szczególnie widoczne było to w odniesieniu do komórek CD14+, co wskazuje na ich krytyczną rolę w modelowaniu odpowiedzi immunologicznej<sup>(43)</sup>.

Wyraźną współzależność z aktywnością choroby wykazują także molekuly adhezyjne zarówno w surowicy, jak i w płynie mózgowo-rdzeniowym. Wyższe wartości sVCAM-1, molekuly odgrywającej rolę w migracji aktywnych komórek T przez barierę krew-mózg, stwierdzono w surowicy i w płynie mózgowo-rdzeniowym w okresie klinicznego pogorszenia. Odnotowano także równoległość wzrostu poziomu sVCAM-1 i dodatniego wyniku wzmocnienia gadolinowego w tomografii rezonansu magnetycznego<sup>(23)</sup>. Oprócz tego istnieje zależność pomiędzy poziomem ICAM-1 w płynie mózgowo-rdzeniowym i w surowicy a pojawieniem się aktywnych ognisk w obrazie rezonansu magnetycznego u chorych na stwardnienie rozsiane<sup>(44)</sup>. Współzależność między aktywnością kliniczną choroby a poziomem ICAM-1 we krwi oraz w płynie mózgowo-rdzeniowym może świadczyć, iż ta molekula adhezyjna może być uznana za marker stanu immunologicznego chorych<sup>(45)</sup>.

Bardziej wyczerpujące omówienie znaczenia molekuł adhezyjnych jako markerów aktywności choroby można znaleźć w artykule Losego<sup>(46)</sup>.

		Surowica	Płyn mózgowo-rdzeniowy
TH1	IPN- $\gamma$ (interferon $\gamma$ )	+	+
	LT- $\alpha$ (limfotoksyna $\alpha$ )	?	?
	TNF- $\alpha$ (czynnik martwicy nowotworów $\alpha$ )	+	+
	TNF- $\alpha$ R (receptor czynnika martwicy nowotworów $\alpha$ )	?	+
	IL-2 (interleukina 2)	+	+
	IL-2R (receptor interleukiny 2)	+	+
TH2	IL-4 (interleukina 4)	+	+
	IL-10 (interleukina 10)	+	+
	TGF- $\beta$ (transformujący czynnik wzrostu $\beta$ )	+	+
+ – podwyższenie poziomu w stosunku do kontroli ? – wyniki bardzo rozbieżne			

Tabela 1. Cytokiny w surowicy krwi i w płynie mózgowo-rdzeniowym w stwardnieniu rozsianym

### BIOMARKERY JAKO DETERMINANTY ZMIAN PATOLOGICZNYCH

Za standardowy marker rozpadu mieliny w stwardnieniu rozsianym uchodzi wzrost wartości białka zasadowego w płynie mózgowo-rdzeniowym. Uszkodzenie aksonów wiąże się ze zmianami poziomu N-acetyloasparaginy w płynie mózgowo-rdzeniowym oraz ze zmianami zawartości białek neurofilamentów. We wczesnym okresie stwardnienia rozsianego, jak również w izolowanym zespole klinicznym (CIS) poziom N-acetyloasparaginy nie różnił się od poziomu w grupie kontrolnej. Wraz z postępem choroby następował wzrost poziomu N-acetyloasparaginy w płynie mózgowo-rdzeniowym, podobnie jak poziomu lekkich łańcuchów neurofilamentów. Poziom ciężkich łańcuchów był również wysoki, ale nie różnił się od materiału porównawczego. Bardzo ważne było stwierdzenie wzrostu N-acetyloasparaginy w czasie konwersji CIS do rozwiniętego klinicznie stwardnienia rozsianego. Markery te dają więc wgląd w patologię aksonalną w stwardnieniu rozsianym<sup>(47)</sup>.

### BIOMARKERY GENETYCZNE JAKO DETERMINANTY WYBORU TERAPII

Nowy kierunek badawczy stanowi farmakogenetyka, której celem jest próba odpowiedzi na pytanie, czy można określić markery genetyczne decydujące o pozytywnym wyniku lub braku odpowiedzi terapeutycznej. Badania te prowadzone są na szeroką skalę w czasie prób farmakoklinicznych, jednak wyniki większości nie są jeszcze znane. Z tego powodu można przytoczyć tylko niektóre fragmentaryczne rezultaty tych badań.

W badaniach wpływu octanu glatirameru na przebieg stwardnienia rozsianego stwierdzono statystycznie istotne powiązanie pomiędzy dodatnim wpływem leku a polimorfizmem pojedynczego nukleotydu receptora  $\beta$  komórek T. Niewykluczone również, że podobne znaczenie ma polimorfizm pojedynczego polipeptydu katepsyny S, a także pięć innych genów: *MBP*, *CD86*, *Fas*, *IL1R1* i *IL12R $\beta$ 2*<sup>(48)</sup>.

Podjęto także próby powiązania wpływu terapeutycznego interferonu  $\beta$  w stwardnieniu rozsianym z markerami procesu apoptozy. Wandinger i wsp. wysunęli tezę, że TRAIL, ligand apoptozy związany z TNF może służyć jako potencjalny marker odpowiedzi terapeutycznej<sup>(49)</sup>. Zwrócono również uwagę, że oporność terapeutyczna na glukokortykosterydy w leczeniu rzutów stwardnienia rozsianego jest związana z mutacjami genu receptora dla tego leku. Dotyczy to oporności zarówno we wczesnej fazie choroby, jak i wtórnej u tych chorych, którzy w pierwszym okresie leczenia dobrze reagowali na lek. Zagadnienie to zostało szczegółowo omówione w artykule Rządewskiej-Mąkosy<sup>(50)</sup>.

### PIŚMIENNICTWO:

#### BIBLIOGRAPHY:

1. Rudick R.A., Polman C.H.: Current approaches to the identification and management of breakthrough disease in patients with multiple sclerosis. *Lancet Neurol.* 2009; 8: 545-559.
2. Ross A.P.: Strategies for optimal disease management, adherence, and outcomes in multiple sclerosis patients. *Neurology* 2008; 71 supl. 3: S1-S2.
3. Weiner H.L.: The challenge of multiple sclerosis: how do we cure a chronic heterogeneous disease? *Ann. Neurol.* 2009; 65: 239-248.
4. Zgorzalewicz M., Michałowska-Wender G., Losy J., Wender M.: Znaczenie badań wzrokowych potencjałów wywołanych i immunologicznej analizy płynu mózgowo-rdzeniowego w diagnostyce dziecięcej i młodzieńczej postaci stwardnienia rozsianego. *Przegl. Lek.* 2003; 60 supl. 1: 1-4.
5. Losy J., Michałowska-Wender G., Wender M.: Podklasy IgG1-IgG4 w płynie mózgowo-rdzeniowym i surowicy oraz ich synteza na terenie ośrodkowego układu nerwowego w stwardnieniu rozsianym. *Neurol. Neurochir. Pol.* 1992; 26: 297-303.
6. Michałowska-Wender G.: The early stage of multiple sclerosis in the light of molecular and immunological studies. *Folia Neuropathol.* 1999; 37: 273-276.
7. Jorens P.G., VanderBorghet A., Ceulemans B. i wsp.: Encephalomyelitis-associated antimyelin autoreactivity induced by streptococcal exotoxins. *Neurology* 2000; 54: 1433-1441.
8. Prince H.E.: Biomarkers for diagnosing and monitoring autoimmune diseases. *Biomarkers* 2005; 10 supl. 1: S44-S49.

9. Rithidech K.N., Honikel L., Milazzo M. i wsp.: Protein expression profiles in pediatric multiple sclerosis: potential biomarkers. *Mult. Scler.* 2009; 15: 455-464.
10. Jaśkiewicz E.: Epitopy na białkach mieliny rozpoznawane przez autoprzeciwiała obecne u chorych na stwardnienie rozsiane. *Postępy Hig. Med. Dośw.* 2004; 58: 472-482.
11. Reindl M., Khalil M., Berger T.: Antibodies as biological markers for pathophysiological processes in MS. *J. Neuroimmunol.* 2006; 180: 50-62.
12. Warren K.G., Catz I., Johnson E., Mielke B.: Anti-myelin basic protein and anti-proteolipid protein specific forms of multiple sclerosis. *Ann. Neurol.* 1994; 35: 280-289.
13. Jurewicz A., Matysiak M., Raine C.S., Selmaj K.: Soluble Nogo-A, an inhibitor of axonal regeneration, as a biomarker for multiple sclerosis. *Neurology* 2007; 68: 283-287.
14. Lindsey J.W., Crawford M.P., Hatfield L.M.: Soluble Nogo-A in CSF is not a useful biomarker for multiple sclerosis. *Neurology* 2008; 71: 35-37.
15. Onoue H., Satoh J.I., Ogawa M. i wsp.: Detection of anti-Nogo receptor autoantibody in the serum of multiple sclerosis and controls. *Acta Neurol. Scand.* 2007; 115: 153-160.
16. Losy J., Michalowska-Wender G.: *In vivo* effect of interferon- $\beta$  1a on interleukin-12 and TGF- $\beta$ 1 cytokines in patients with relapsing-remitting multiple sclerosis. *Acta Neurol. Scand.* 2002; 106: 44-46.
17. Losy J., Michalowska-Wender G., Wender M.: Interleukin 12 and interleukin 10 are affected differentially by treatment of multiple sclerosis with glatiramer acetate (Copaxone). *Folia Neuropathol.* 2002; 40: 173-175.
18. Bielecki B., Głabiński A.: Udział chemokin i ich receptorów w patogenezie stwardnienia rozsianego. *Aktualn. Neurol.* 2007; 7: 223-231.
19. Saruhan-Direskeneli G., Yentür S.P., Akman-Demir G. i wsp.: Cytokines and chemokines in neuro-Behçet's disease compared to multiple sclerosis and other neurological diseases. *J. Neuroimmunol.* 2003; 145: 127-134.
20. Narikawa K., Misu T., Fujihara K. i wsp.: CSF chemokine levels in relapsing neuromyelitis optica and multiple sclerosis. *J. Neuroimmunol.* 2004; 149: 182-186.
21. Pashenkov M., Söderström M., Link H.: Secondary lymphoid organ chemokines are elevated in the cerebrospinal fluid during central nervous system inflammation. *J. Neuroimmunol.* 2003; 135: 154-160.
22. Losy J., Niezgodna A., Wender M.: Increased serum levels of soluble PECAM-1 in multiple sclerosis patients with brain gadolinium-enhancing lesions. *J. Neuroimmunol.* 1999; 99: 169-172.
23. Matsuda M., Tsukada N., Miyagi K., Yanagisawa N.: Increased levels of soluble vascular cell adhesion molecule-1 (VCAM-1) in the cerebrospinal fluid and sera of patients with multiple sclerosis and human T lymphotropic virus type-1-associated myelopathy. *J. Neuroimmunol.* 1995; 59: 35-40.
24. Rieckmann P., Martin S., Weichselbraun I. i wsp.: Serial analysis of circulating adhesion molecules and TNF receptor in serum from patients with multiple sclerosis: cICAM-1 is an indicator for relapse. *Neurology* 1994; 44: 2367-2372.
25. Hartung H.P., Reiners K., Archelos J.J. i wsp.: Circulating adhesion molecules and tumor necrosis factor receptor in multiple sclerosis: correlation with magnetic resonance imaging. *Ann. Neurol.* 1995; 38: 186-193.
26. Michalowska-Wender G., Losy J., Wender M. i wsp.: Effect of immunomodulatory treatment of multiple sclerosis on lymphocyte surface immunomarkers. *Pol. J. Pharmacol.* 2003; 55: 877-880.
27. Frequin S.T., Lamers K.J., Borm G.F. i wsp.: T-cell subsets in the cerebrospinal fluid and peripheral blood of multiple sclerosis patients treated with high-dose intravenous methylprednisolone. *Acta Neurol. Scand.* 1993; 88: 80-86.
28. Borsellino G., Kleinewietfeld M., Di Mitri D. i wsp.: Expression of ectonucleotidase CD39 by Foxp3<sup>+</sup> Treg cells: hydrolysis of extracellular ATP and immune suppression. *Blood* 2007; 110: 1225-1232.
29. Ichikawa H., Ota K., Iwata M.: Increased Fas antigen on T cells in multiple sclerosis. *J. Neuroimmunol.* 1996; 71: 125-129.
30. Sharief M.K.: Impaired Fas-independent apoptosis of T lymphocytes in patients with multiple sclerosis. *J. Neuroimmunol.* 2000; 109: 236-243.
31. Huang Y.M., Kouwenhoven M., Jin Y.P. i wsp.: Dendritic cells derived from patients with multiple sclerosis show high CD1a and low CD86 expression. *Mult. Scler.* 2001; 7: 95-99.
32. Chatzimanolis N., Kraus J., Bauer R. i wsp.: CD45RA+ ICAM-3+ lymphocytes in interferon- $\beta$ 1b-treated and -untreated patients with relapsing-remitting multiple sclerosis. *Acta Neurol. Scand.* 2004; 110: 377-385.
33. Navarro J., Aristimuño C., Sánchez-Ramón S. i wsp.: Circulating dendritic cells subsets and regulatory T-cells at multiple sclerosis relapse: differential short-term changes on corticosteroids therapy. *J. Neuroimmunol.* 2006; 176: 153-161.
34. Mirowska-Guzel D.M., Kurowska K., Skierski J. i wsp.: High dose of intravenously given glucocorticosteroids decrease IL-8 production by monocytes in multiple sclerosis patients treated during relapse. *J. Neuroimmunol.* 2006; 176: 134-140.
35. Marckmann S., Wiesemann E., Hilse R. i wsp.: Interferon- $\beta$  up-regulates the expression of co-stimulatory molecules CD80, CD86 and CD40 on monocytes: significance for treatment of multiple sclerosis. *Clin. Exp. Immunol.* 2004; 138: 499-506.
36. Mehta P.D., Cook S.D., Troiano R.A., Coyle P.K.: Increased free light chains in the urine from patients with multiple sclerosis. *Neurology* 1991; 41: 540-544.
37. Michalowska-Wender G., Losy J., Tokarz-Kupczyk E. i wsp.: Wolne łańcuchy kappa w moczu w stwardnieniu rozsianym. *Neurol. Neurochir. Pol.* 1999; 33: 311-319.
38. Furlan R., Rovaris M., Martinelli Boneschi F. i wsp.: Immunological patterns identifying disease course and evolution in multiple sclerosis patients. *J. Neuroimmunol.* 2005; 165: 192-200.
39. Scarpini E., Galimberti D., Baron P. i wsp.: IP-10 and MCP-1 levels in CSF and serum from multiple sclerosis patients with different clinical subtypes of the disease. *J. Neurol. Sci.* 2002; 195: 41-46.
40. Franciotta D., Martino G., Zardini E. i wsp.: Serum and CSF levels of MCP-1 and IP-10 in multiple sclerosis patients with acute and stable disease and undergoing immunomodulatory therapies. *J. Neuroimmunol.* 2001; 115: 192-198.
41. Lopatinskaya L., Zwemmer J., Uitdehaag B. i wsp.: Mediators of apoptosis Fas and FasL, predict disability progression in multiple sclerosis over a period of 10 years. *Mult. Scler.* 2006; 12: 704-709.
42. Correale J., de los Milagros Bassani Molinas M.: Temporal variations of adhesion molecules and matrix metalloproteinases in the course of MS. *J. Neuroimmunol.* 2003; 140: 198-209.
43. Clerici M., Saresella M., Trabattoni D. i wsp.: Single-cell analysis of cytokine production shows different immune profiles in multiple sclerosis patients with active or quiescent disease. *J. Neuroimmunol.* 2001; 121: 88-101.
44. Rieckmann P., Altmann B., Riegel A. i wsp.: Soluble adhesion molecules (sVCAM-1 and sICAM-1) in cerebrospinal fluid and serum correlate with MRI activity in multiple sclerosis. *Ann. Neurol.* 1997; 41: 326-333.
45. Dore-Duffy P., Newman W., Balabanov R. i wsp.: Circulating, soluble adhesion proteins in cerebrospinal fluid and serum of patients with multiple sclerosis: correlation with clinical activity. *Ann. Neurol.* 1995; 37: 55-62.

46. Losy J.: Adhesion molecules as surrogate markers of disease activity in multiple sclerosis. *Centr. Eur. J. Immunol.* 1999; 24: 229-232.
47. Teunissen C.E., Jacobaeus E., Khademi M. i wsp.: Combination of CSF N-acetylaspartate and neurofilaments in multiple sclerosis. *Neurology* 2009; 72: 1322-1329.
48. Grossman L., Avidan N., Singer C. i wsp.: Pharmacogenetics of glatiramer acetate therapy for multiple sclerosis reveals drug-response markers. *Pharmacogenet. Genomics* 2007; 17: 657-666.
49. Wandering K.P., Lünemann J.D., Wengert O. i wsp.: TNF-related apoptosis inducing ligand (TRAIL) as a potential response marker for interferon-beta treatment in multiple sclerosis. *Lancet* 2003; 361: 2036-2043.
50. Rzażewska-Mąkosza B.: The mechanism of glucocorticoid resistance in multiple sclerosis. *Postępy Hig. Med. Dośw.* 2005; 59: 457-463.

## Konferencje poświęcone problematyce stwardnienia rozsianego

### International Symposium on Stem Cell Transplantation in Multiple Sclerosis: Sharing the Experience 5 października 2009 r., Moskwa, Rosja

Tematyka:

- Regimens of conditioning: immunoablation or immunosuppression?
  - Types of transplantation: autologous or allogenic?
    - Posttransplant immunological reconstitution
      - Side effects
- Outcome measures: clinical, imaging, patient-reported outcomes
  - Posttransplant neurorehabilitation
    - Long-term follow-up results
  - Proposal for cooperative studies

Kontakt: Tatyana Ionova

tel.: 74-954-634-923/79-627-101-711

faks: 78-124-366-112

e-mail: qlife@rambler.ru

www.stemcellms.ru

### European Charcot Foundation Symposium 2009:

#### A New Treatment Era in Multiple Sclerosis: Options, Challenges, Risks 12-14 listopada 2009 r., Lizbona, Portugalia

Kontakt: Symposium's Secretariat, European Charcot Foundation  
M. Friedrichs, Managing Director

Hoeveveld 18A, 6584 GG Molenhoek (Nijmegen area), The Netherlands

tel.: 31-24-3561954

faks: 31-24-3540920

e-mail: m.friedrichs@charcot-ms.eu

www.charcot-ms.eu

### 2010 Congress of the European Committee for Treatment and Research in Multiple Sclerosis 13-16 października 2010 r., Gothenburg, Szwecja

Kontakt: ECTRIMS Secretariat

Department of Neurology, University Hospital  
Petersgraben 4, CH-4031 Basel, Switzerland

tel.: 41-61-265-4464

faks: 41-61-265-5344

e-mail: secretariat@ectrims.eu

www.ectrims.eu/conferences