

*Aleksandra Paż, Urszula Fiszer, Jacek Zaborski,
Andrzej Członkowski, Anna Członkowska*

Analiza zależności między odchyleniami w zakresie profilu cząsteczek adhezyjnych leukocytów krwi obwodowej a innymi parametrami stanu klinicznego u chorych na stwardnienie rozsiane

Katedra i Zakład Farmakologii Doświadczalnej i Klinicznej Akademii Medycznej w Warszawie
II Klinika Neurologiczna Instytutu Psychiatrii i Neurologii w Warszawie

Streszczenie

Celem pracy było określenie zależności między profilem cząsteczek adhezyjnych limfocytów i granulocytów krwi obwodowej a wynikami obrazowania mózgu metodą rezonansu magnetycznego (MRI), stopniem niewydolności ruchowej i wskaźnikiem progresji u chorych na stwardnienie rozsiane (s.r.) o przebiegu nawracająco-zwalniającym lub wtórnie postępującym. U chorych z nowymi zmianami w badaniu MRI, stwierdzono dodatnią korelację między ilością plak ulegających wzmocnieniu po podaniu środka kontrastowego w obrazach zależnych od T₁ a odsetkiem granulocytów CD11b⁺CD18⁺. W grupie chorych z nawracająco-zwalniającą postacią s.r. stwierdzono istotną dodatnią korelację między ekspresją antygenu CD44 na limfocytach i wskaźnikiem progresji. Przedstawione wyniki wskazują na istnienie zależności między ekspresją cząsteczek adhezyjnych na leukocytach a innymi parametrami klinicznej oceny aktywności choroby.

Summary

The aim of the present study was to determine the relationships between profile of adhesion molecules of peripheral blood leukocytes, and MRI, the physical disability, or the progression rate in patients with relapsing-remitting or secondary progressive form of MS. In patients with new lesions detected by brain MRI, we have observed a positive correlation between the number of T₁ Gd-enhancing lesions and percentage CD11b⁺CD18⁺ granulocytes in peripheral blood. In our analysis the progression rate was also positively correlated with the expression of CD44 antigen on lymphocytes in patients with relapsing-remitting form of MS. Our findings suggest the relation between expression of adhesion molecules on leukocytes and the clinical status of MS patients.

Wprowadzenie

Przyjmując, że stwardnienie rozsiane (s.r.) jest narządowo swoistą chorobą autoimmunologiczną ośrodkowego układu nerwowego (OUN), u podłoża której leżą zaburzenia prawidłowej odpowiedzi immunologicznej, wydaje się oczywiste podjęcie poszukiwań immunologicznych markerów odzwierciedlających aktywność procesu chorobowego u chorych na s.r., umożliwiających prognozowanie dalszego przebiegu choroby czy wreszcie reagujących na zastosowane leczenie immunomodulacyjne (Martin i in., 1995, Sommer i in., 1997). Poszukiwania te

u chorych na s.r. obejmują badania zmian w zakresie subpopulacji krążących limfocytów, syntezy i uwalniania cytokin, ekspresji rozpuszczalnych receptorów dla cytokin, cząsteczek adhezyjnych, chemokin, immunoglobulin, wolnych i lekkich łańcuchów, markerów aktywacji makrofagów, dopełniacza, produktów rozpadu mieliny, ekspresji metaloproteinaz i wiele innych (Hohlfeld R., 1997, Giovannoni i in. 1998, Laman i in., 1998). Chociaż nie udało się dotychczas znaleźć specyficznego dla s.r. wskaźnika immunologicznego, niektórzy autorzy wykazali korelację pewnych markerów zaburzeń immunologicznych z klinicznymi wskaźnikami aktywności choroby (Giovannoni i in., 1996, Hartung i in., 1995, Rieckmann i in., 1995, Rieckmann i in., 1997, Trojano i in., 1996).

Badanie obrazowe mózgu i rdzenia kręgowego za pomocą rezonansu magnetycznego (MRI) jest obecnie jednym z ważniejszych paraklinicznych wskaźników aktywności choroby u osób z s.r. (Barkhof i in., 1997, Filippi i in., 1995, Miller i in., 1996, Whitaker i in., 1995). Dziś nie budzi wątpliwości konieczność przeprowadzania poszukiwań markerów aktywności choroby, również immunologicznych, w kontekście wyników badania MRI (Giovannoni i in., 1998).

W poprzednim badaniu, stosując metodę cytometrii przepływowej, przeprowadzono analizę profilu immunologicznego leukocytów krwi obwodowej u chorych na s.r. (Paż i in., 1999). Zbadano szeroki panel antygenów powierzchniowych na limfocytach i granulocytach. U chorych na s.r. stwierdzono zwiększoną ekspresję cząsteczek CD54 i CD44 na limfocytach oraz większy odsetek limfocytów CD54⁺ i CD11a⁺CD54⁺. Wykryto także istotne zwiększenie ekspresji antygenów CD11a, CD18 i CD54 na granulocytach oraz większy odsetek granulocytów CD11b⁺CD18⁺. Celem obecnej pracy była odpowiedź na pytanie czy zmiany w zakresie ekspresji antygenów powierzchniowych na leukocytach krwi obwodowej u chorych na s.r. pozostają w relacji ze stopniem niewydolności ruchowej, wskaźnikiem progresji czy wynikami obrazowania MRI.

Material i metoda

W badaniu uczestniczyło 29 chorych ambulatoryjnych (21 kobiet i 8 mężczyzn) z klinicznie pewnym lub z laboratoryjnie potwierdzonym pewnym s.r. (Poser i in., 1983). Średnia wieku w grupie wynosiła 32,6 lat (95% przedział ufności /CI/ 29,8–35,4). U 22 chorych rozpoznano nawracająco-zwalniającą postać s.r., a u 7 osób – wtórnie postępującą postać s.r. Średni czas trwania choroby wynosił 4,3 lata (95%CI 3,1–5,5). U 22 osób czas trwania choroby wynosił ≤5 lat a u 7 osób był >5 lat. U żadnego chorego nie stwierdzono objawów innej choroby neurologicznej. Protokół badania został zatwierdzony przez Komisję Bioetyczną Instytutu Psychiatrii i Neurologii w Warszawie.

Oceny stanu klinicznego chorych na s.r. dokonano przeprowadzając w tym samym dniu analizę immunofenotypu leukocytów krwi obwodowej, badanie MRI mózgu (w tym badanie MRI po dożylnym podaniu środka cieniującego Gd-DTPA /kompleks gadolinu z kwasem pentetenowym/) oraz określając stopień niewydolności ruchowej według skali EDSS (Kurtzke JF., 1983). Średni

stopień niewydolności ruchowej według EDSS Kurtzkego wynosił 3,18 (95% CI 2,9–3,5) stopnia. Wskaźnik progresji obliczano jako stosunek stopień niewydolności ruchowej według EDSS w momencie włączenia do badania i czasu trwania choroby w latach (od momentu wystąpienia pierwszych objawów do dnia włączenia do badania) (Poser i in., 1982, Verjans i in., 1983). Średnia wartość wskaźnika progresji wynosiła 1,17 (95% CI 0,85–1,49).

Analiza cytometryczna

Analiza cytometryczna została przeprowadzona metodą trójkolorowej cytometrii przepływowej przy użyciu aparatu Cytoron-Absolute firmy Ortho Diagnostic. Szczegóły dotyczące procedury barwienia przedstawiono w uprzednio opublikowanej pracy (Paż i in., 1999). Do analizy danych stosowano program komputerowy Immunocant II.

Wyniki prezentowano jako odsetek limfocytów lub granulocytów wykazujących obecność na swojej powierzchni określonych antygenów oraz jako stopień nasilenia ekspresji tych antygenów. Ekspresja badanych antygenów była oceniana przy użyciu średniej intensywności fluorescencji (Mean Fluorescence Intensity – MFI) oraz przy pomocy wskaźnika względnej fluorescencji (Relative Fluorescence Index – RFI). RFI obliczano jako iloraz średniej intensywności fluorescencji komórek barwionych odpowiednimi przeciwciałami sprzężonymi z określonymi fluorochromami i średniej intensywności fluorescencji komórek barwionych przeciwciałami kontrolnymi tego samego izotypu co przeciwciało użyte do barwienia, sprzężonymi z odpowiednimi fluorochromami.

Wyniki uzyskane u chorych na s.r. porównano z rezultatami badania przeprowadzonego w grupie kontrolnej (29 osób dobranych pod względem wieku i płci – 20 zdrowych ochotników oraz 9 chorych z innymi chorobami

Tabela 1. Cząsteczki adhezyjne na limfocytach u chorych na s.r. i w grupie kontrolnej

Cząsteczka adhezyjna	Chorzy na s.r. n=28	Kontrola n=29	Poziom istotności p ⁴
CD54 ⁺¹	9,60 (±2,60)	8,31 (±2,66)	0,03
CD54 ⁺²	85,02 (±4,53)	77,53 (±2,96)	0,000001
CD11a ⁺ CD54 ⁺¹	8,88 (±2,49)	7,65 (±2,93)	0,04
CD44 ⁺³	3,08 (±0,27)	2,89 (±0,31)	0,01

Wyniki przedstawiono jako średnie i odchylenia standardowe od średniej

¹ odsetek (%) limfocytów;

² średnia intensywność fluorescencji (MFI);

³ wskaźnik względnej fluorescencji (RFI);

⁴ Mann-Whitney U test.

Tabela 2. Cząsteczki adhezyjne na granulocytach u chorych na s.r. i w grupie kontrolnej

Cząsteczki adhezyjne	Chorzy na s.r. n=25	Kontrola n=28	Poziom istotności p ⁴
CD11a ⁺¹	2,45 (±0,19)	2,26 (±0,20)	0,002
CD18 ⁺¹	2,79 (±0,25)	2,58 (±0,26)	0,005
CD54 ⁺²	94,43 (±20,55)	78,59 (±7,44)	0,02
CD11b ⁺ CD18 ⁺³	99,79 (±0,18)	99,46 (±0,76)	0,03

Wyniki przedstawiono jako średnie i odchylenia standardowe od średniej

¹ wskaźnik względnej fluorescencji (RFI);

² średnia intensywność fluorescencji (MFI);

³ odsetek (%) granulocytów;

⁴ Mann-Whitney U test.

neurologicznymi). Spośród szerokiego zakresu analizowanych antygenów, istotne różnice między chorymi na s.r. i grupą kontrolną dotyczyły jedynie ekspresji antygenów CD54 i CD44 na limfocytach, odsetka limfocytów CD54⁺ i CD11a⁺CD54⁺, ekspresji antygenów CD11a, CD18 i CD54 na granulocytach oraz odsetka granulocytów CD11b⁺CD18⁺ (tabela 1 i 2) (Paź i in., 1999). Wartości wymienionych parametrów wzięto pod uwagę w analizie zależności z wynikami innych badań klinicznych i MRI.

Badanie mózgu metodą rezonansu magnetycznego (MRI)

MRI mózgu przeprowadzono według standardowego protokołu. Obrazowanie zależne od czasu relaksacji T₁ (SE 600/20, grubość warstwy 5 mm, matryca 256 × 192 do 256, FOV 25,6) przeprowadzono przed i 5 minut po dożylnym podaniu środka cieniującego Gd-DTPA (kompleks gadolinu z kwasem pentetenowym) w dawce 0,2 ml/kg m.c. Przed wstrzyknięciem Gd-DTPA uzyskiwano także obrazy zależne od T₂ (SE 2500/40 i 2500/90, matryca 256 × 192 do 256, FOV 25,6 mm).

Analiza ilościowa uzyskanych obrazów została przeprowadzona w Instytucie Diagnostyki Radiologicznej przy University Hospital w Bazylei (Szwajcaria). Do analizy wykorzystano wielkość zmian uzyskanych w obrazach zależnych od T₂ oraz ilość plak ulegających wzmocnieniu po podaniu środka kontrastowego (w obrazach zależnych od T₁). Średnia ilość zmian ulegających wzmocnieniu po podaniu środka kontrastowego uzyskiwanych w obrazach zależnych od T₁, wynosi 4,17 (zakres 0–38) a średnia całkowita objętość zmian uzyskanych w obrazach zależnych od T₂ wynosi 14 103,51 mm³ (zakres 647,7–32551,3 mm³). U 13 chorych nie stwierdzono nowych zmian ulegających wzmocnieniu po podaniu środka kontrastowego uzyskiwanych w obrazach zależnych od T₁.

Analiza statystyczna

Analizę zależności badanych parametrów z innymi kryteriami oceny stanu klinicznego chorych na s.r., przeprowadzono stosując test Pearsona. $P \leq 0,05$ uznano za istotne statystycznie. Do obliczeń wykorzystano program komputerowy Statistica for Windows.

Wyniki

Gdy analizowano całą grupę chorych na s.r. (29 osób), nie znaleziono istotnej statystycznie zależności między poziomem ekspresji badanych antygenów, a wynikami badań określającymi stan neurologiczny chorych.

Przeprowadzono także analizę zależności między odchyleniami w zakresie profilu cząsteczek adhezyjnych leukocytów krwi obwodowej a zmianami w obrazie MRI, stopniem niewydolności ruchowej i wskaźnikiem progresji u chorych na s.r. podzielonych na grupy w zależności od czasu trwania choroby, obecności nowych zmian ulegających wzmocnieniu po podaniu środka kontrastowego w obrazowaniu MRI oraz w zależności od postaci s.r. Stwierdzono istotną statystycznie dodatnią korelację między wskaźnikiem progresji i ekspresją antygeny CD11a na granulocytach ($r=0,48$, $p=0,03$) u osób z czasem trwania choroby ≤ 5 lat. W grupie chorych, u których w badaniu MRI mózgu, po podaniu Gd-DTPA, stwierdzono obecność nowych zmian, zaobserwowano dodatnią korelację między ilością zmian ulegających wzmocnieniu w obrazach zależnych od T_1 , a odsetkiem granulocytów $CD11b^+CD18^+$ ($r=0,56$, $p=0,04$). Z kolei w grupie chorych bez nowych zmian w badaniu MRI mózgu, po podaniu Gd-DTPA, stwierdzono istotną statystycznie ujemną korelację między ilością stopni w skali EDSS a ekspresją antygeny CD54 na granulocytach ($r=-0,65$, $p=0,02$). Wykazano także dodatnią korelację wskaźnika progresji z ekspresją antygeny CD44 na limfocytach u chorych z nawracająco-zwalniającą postacią s.r. ($r=0,49$, $p=0,02$).

Dyskusja

Badanie MRI mózgu, zwłaszcza po podaniu Gd-DTPA jest obecnie ważną uznaną metodą określającą stopień aktywności s.r. Kliniczne objawy choroby są w niewielkim stopniu manifestacją aktywności choroby, którą w znacznie większym zakresie można zobrazować badaniem MRI (Barkhof i in., 1997, Filippi i in., 1995, Miller i in., 1996, Paty DW., 1998, Paty i in., 1998). Wyniki niektórych badań u chorych na s.r., wskazują na istnienie istotnej dodatniej korelacji między markerami immunologicznymi (zmiany w ilości komórek wydzielających Il-2, zwiększony poziom rozpuszczalnej formy ICAM-1, krążącej postaci VCAM-1 czy rozpuszczalnej L-selektyny, zmiany aktywności TNF alfa) a wynikami seryjnych badań MRI z zastosowaniem Gd-DTPA (Franciotta i in.,

1997, Giovannoni i in., 1998, Hartung i in., 1995, Kraus i in., 1998). Jednak praktyczne wykorzystanie tych doniesień w klinice s.r. okazało się trudne.

W prezentowanym badaniu u chorych z nowymi zmianami uzyskanymi po podaniu Gd-DTPA w badaniu MRI, stwierdzono istotną dodatnią korelację między ilością zmian ulegających wzmocnieniu w obrazach zależnych od T_1 i odsetkiem granulocytów $CD11b^+CD18^+$. $CD11bCD18$ (Mac-1), cząsteczka adhezyjna z podrodziny integryn, warunkuje proces przechodzenia neutrofilów z krążenia w głąb tkanek (uczestniczy w procesie przylegania neutrofilów do powierzchni komórek śródbłonna, pośredniczy w ich przechodzeniu między komórkami śródbłonna), co ma ogromne znaczenie w realizacji funkcji efektorowych układu immunologicznego (Altieri i in., 1990, Archelos i in., 1999, Diamond i in., 1993, Oppenheimer-Marks i in., 1996). Wiadomo, że neutrofile biorą udział głównie w nieswoistej odpowiedzi immunologicznej, współpracując jednak ściśle z odpowiedzią swoistą. Ich gromadzenie się w miejscu inicjowanej odpowiedzi zapalnej lub immunologicznej wynika w dużej mierze z ich mobilizacji z krążenia ogólnego w wyniku działania czynników chemotaktycznych (np. Il-8, Il-1, TNFalfa), jak również w konsekwencji zmian ekspresji różnych cząsteczek adhezyjnych (Schleiffenbaum i in., 1989). Istotną dodatnią korelacją między ilością zmian ulegających wzmocnieniu po podaniu Gd-DTPA i większym odsetkiem granulocytów $CD11b^+CD18^+$ u chorych na s.r., może świadczyć o wtórnym, do powstawania zmian w OUN, procesie aktywacji granulocytów krwi obwodowej.

O włączenie granulocytów w patogenezę s.r. świadczy także stwierdzenie istotnej dodatniej korelacji między wskaźnikiem progresji i poziomem ekspresji antygeny CD11a na granulocytach, w grupie z czasem trwania choroby ≤ 5 lat. W analizie uwzględniającej całą grupę chorych na s.r. zaobserwowano istnienie tendencji (określonej jako $p \leq 0,1$) w zależności między wskaźnikiem progresji i poziomem ekspresji antygenów CD44, CD54 i CD11aCD54 na limfocytach. Gdy uwzględniono tylko grupę chorych z nawracająco-zwalniającą postacią s.r. stwierdzono natomiast istotną dodatnią korelację wskaźnika progresji z poziomem ekspresji antygeny CD44 na limfocytach. Kliniczny wskaźnik progresji wyraża się ilorazem stopnia niewydolności ruchowej (według skali EDSS) i liczby lat choroby. Przedstawia on przybliżoną ocenę postępu s.r. (Poser i in., 1982, Verjans i in., 1983). Istnieją natomiast doniesienia o istotnej zależności między zmianami w zakresie profilu cząsteczek adhezyjnych krwi obwodowej i stopniem niewydolności ruchowej według skali EDSS (Franciotta i in., 1997, Hartung i in., 1993, Hartung i in., 1995, Rieckmann i in., 1997).

Przedstawione rezultaty potwierdzają udział cząsteczek adhezyjnych na granulocytach i limfocytach krwi obwodowej w patogenezie s.r. Jednak badanie zależności między immunologicznymi, klinicznymi i MRI markerami aktywności s.r. nie dostarczyło jednoznacznych wyjaśnień problemu. Stwierdzone w tej analizie korelacje wskazują na istnienie związku między profilem cząsteczek adhezyjnych limfocytów i granulocytów we krwi obwodowej a klinicz-

nym stanem chorych na s.r., jednak ich praktyczne wykorzystanie wymaga dalszych badań w tym zakresie.

Badanie przeprowadzono w oparciu o grupę chorych na s.r. uczestniczących w badaniu „The European Study on Enzyme Therapy in Multiple Sclerosis” (ESEMS).

Analiza cytometryczna została przeprowadzona metodą trójkolorowej cytometrii przepływowej w Zakładzie Fizjopatologii Instytutu Hematologii i Transfuzjologii w Warszawie.

Piśmiennictwo

1. Altieri DC, Agbanyo FR, Plescia J, Ginsberg MH, Edgington TS, Plow EF.: A unique recognition site mediates the interaction of fibrinogen with leukocyte integrin Mac-1 (CD11b/CD18). *J Biol Chem* 1990; 265: 12119–12122.
2. Archelos JJ, Previtali S.C., Hartung HP.: The role of integrins in immune-mediated diseases of the nervous system. *Trends Neurosci* 1999; 22: 30–38.
3. Barkhof F, Filippi M., Miller DH, Tofts P, Kappos L, Thompson AJ.: Strategies for optimizing MRI techniques aimed at monitoring disease activity in multiple sclerosis treatment trials. *J Neurol* 1997; 244: 76–84.
4. Diamond MS, Springer TA.: A subpopulation of Mac-1 (CD11b/CD18) molecules mediates neutrophil adhesion to ICAM-1 and fibrinogen. *J Cell Biol* 1993; 120: 545–556.
5. Filippi M., Horsfield MA, Tofts PS, Barkhof F, Thompson AJ, Miller DH.: Quantitative assessment of MRI lesion load in monitoring the evolution of multiple sclerosis. *Brain* 1995; 118: 1601–1612.
6. Franciotta D, Piccolo G, Zardini E, Bergamaschi R, Cosi V.: Soluble CD8 and ICAM-1 in serum and CSF of MS patients treated with 6-methylprednisolone. *Acta Neurol Scand* 1997; 95: 275–279.
7. Giovannoni G, Thorpe JW, Kidd D.: Soluble E-selectin in multiple sclerosis: raised concentrations in patients with primary progressive disease. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1996; 60: 20–6.
8. Giovannoni G, Kieseier B, Hartung HP.: Correlating immunological and magnetic resonance imaging markers of disease activity in multiple sclerosis. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1998; 64 (suppl): S31–S36.
9. Hartung HP, Michels M., Reiners K, Seeltrayers P, Archelos JJ, Toyka KU.: Soluble ICAM-1 serum levels in multiple sclerosis and viral encephalitis. *Neurology* 1993; 43: 2331–2335.
10. Hartung HP, Reiners KH, Archelos JJ i wsp. Circulating adhesion molecules and tumor necrosis factor receptor in multiple sclerosis: correlation with magnetic resonance imaging. *Ann Neurol* 1995; 38: 186–193.
11. Hohlfeld R.: Biotechnological agents for immunotherapy of multiple sclerosis. Principles, problems and perspectives. *Brain* 1997; 120: 865–916.
12. Kraus J, Oschmann P, Engelhardt B.: Soluble and cell surface ICAM-1 as markers for disease activity in multiple sclerosis. *Acta Neurol Scand* 1998; 98: 102–109.
13. Kurtzke JF.: Rating neurologic impairment in multiple sclerosis: an expanded disability status scale (EDSS). *Neurology* 1983; 33: 1444–1452.
14. Laman JD, Thompson EJ, Kappos L.: Body fluid markers to monitor multiple sclerosis: the assay and the challenges. *Mult Scler* 1998; 4: 266–269.
15. Martin R, McFarland HF.: Immunological aspects of experimental allergic encephalomyelitis and multiple sclerosis. *Crit Rev Clin Lab Sci* 1995; 32: 121–182.
16. Miller DH, Albert PS, Barkhof F.: Guidelines for the use of magnetic resonance techniques in monitoring the treatment of multiple sclerosis. *Us National MS Society Task Force. Ann Neurol* 1996; 39: 6–16.
17. Oppenheimer-Marks N, Lipsky PE.: Adhesion molecules as targets for the treatment of autoimmune diseases. *Clin Immunol Immunopathol* 1996; 79: 203–210.

18. Paty DW.: Markers of disease activity in multiple sclerosis: magnetic resonance imaging. *Eur J Neurol* 1998; 5 (suppl 2):S15-S16.
19. Paty DW, McFarland H.: MR techniques to monitor the long term evolution of MS pathology and to monitor definitive clinical trials. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1998; 64 (suppl):S47-S51.
20. Paż A, Fiszer U, Zaborski J, Korlak J, Członkowski A, Członkowska A.: Phenotyping analysis of peripheral blood leukocytes in patients with multiple sclerosis. *Eur J Neurol* 1999; 6: 347-352.
21. Poser S, Bauer HJ, Poser W.: Prognosis of multiple sclerosis. Results from an epidemiological area in Germany. *Acta Neurol Scandinav* 1982; 65: 347-354.
22. Poser CM, Paty DW, Scheinberg L i wsp. New diagnostic criteria for multiple sclerosis: guidelines for research protocols. *Ann Neurol* 1983; 13: 227-231.
23. Rieckmann P, Albrecht M., Kitzke B.: Tumor necrosis factor- α messenger RNA expression in patients with relapsing-remitting multiple sclerosis is associated with disease activity. *Ann Neurol* 1995; 37: 82-8.
24. Rieckmann P, Altenhofen B, Riegel A, Baudewig J, Felgenhauer K.: Soluble adhesion molecules (sVCAM-1 and sICAM-1) in cerebrospinal fluid and serum correlate with MRI activity in multiple sclerosis. *Ann Neurol* 1997; 41: 326-33.
25. Schleiffenbaum B, Moser R, Patarroyo M., Fehr J.: The cell surface glycoprotein Mac-1 (CD11b/CD18) mediates neutrophil adhesion and modulates degranulation independently of its quantitative cell surface expression. *J Immunol* 1989; 142: 3537-3545.
26. Sommer N, Martin R.: The role of T cells and cytokines in the pathogenesis of multiple sclerosis. In: Thompson AJ, Polman C, Hohlfeld R (red.): *Multiple Sclerosis, clinical challenges and controversies*. London: Martin Dunitz Ltd., 1997: 87-108.
27. Trojano M., Avolio C, Simone IL.: Soluble intercellular-adhesion molecule-1 in serum and cerebrospinal fluid of clinically active relapsing-remitting multiple sclerosis: correlation with Gd-DTPA magnetic resonance imaging enhancement and cerebrospinal fluid findings. *Neurology* 1996; 47: 1535-41.
28. Whitaker JN, McFarland HF, Rudge P, Reingold SC.: Outcomes assessment in multiple sclerosis clinical trials: a critical analysis. *Mult Scler* 1995; 1: 37-47.
29. Verjans E, Theys P, Delmotte P, Carton H. Clinical parameters and intrathecal IgG synthesis as prognostic features in multiple sclerosis. Part I. *J Neurol* 1983; 229: 155-165.