

Multiple sclerosis – new treatment options and hope for the future

Stwardnienie rozsiane – nowe możliwości leczenia nadzieją na przyszłość

Agnieszka Morel¹, Elżbieta Miller^{2,3}, Joanna Saluk^{1,4}

ABSTRACT

Multiple sclerosis (MS) is a chronic disease of the central nervous system, which a million people are currently suffering from. It is a heterogeneous autoimmune disease with variable clinical courses, a diverse pathophysiological

picture which can lead to disturbances in the neurotransmission processes. MS has been known for over a hundred years, and yet the direct cause of the development of the disease is still unknown. Current therapies slow down the progression of MS; however, no effective causal treatment has been developed so far. Do recently new treatment methods constitute hope for the future and will they provide a more effective therapy? Finally, will they increase chances of complete recovery? The purpose of this paper is to present innovative therapies of MS, with special emphasis on injection therapy (interferon β , glatiramer acetate, natalizumab) to reduce inflammatory foci via modulation of the immune system as well as reduction in the frequency of relapses of the disease, limiting the occurrence of severe relapses, delaying disease progress (interferon β , natalizumab), slowing down MS progress by inducing specific suppressor T-cells and inhibiting specific effector T-cells (glatiramer acetate). The necessity of frequent injections is quite uncomfortable for patients with MS; therefore, oral therapy plays an important role as it is best tolerated by patients and it guarantees better therapeutic compliance. The most important first-line oral treatment in MS and include: teriflunomide, dimethyl fumarate, and the second-line treatment – fingolimod. The therapy with the stem cell bandages is recognized as a promising therapeutic method for the patients with secondary progressive form of multiple sclerosis. Pharmacogenetic profiling increases efficacy, reduces toxicity of the drugs and is responsible for the selection of the drugs that are individually customized to a given patient. Cryotherapy, in turn, supports physical therapy and improves the patient's overall functioning.



Received 27.08.2014
Accepted 3.03.2015

AFFILIATIONS / AFILIACJE

- 1 Instytut Biochemii Ogólnej Uniwersytetu Łódzkiego, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska
- 2 III Szpital Miejski im. dr. Karola Jonschera w Łodzi, Oddział Rehabilitacji Neurologicznej
- 3 Katedra Rehabilitacji Uniwersytetu Medycznego, Zakład Medycyny Fizykalnej
- 4 Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Analityki Medycznej Akademii Medycznej we Wrocławiu, Zakład Toksykologii

KEYWORDS

- multiple sclerosis
- neurodegeneration
- pharmacogenetics
- cryotherapy

SŁOWA KLUCZOWE

- stwardnienie rozsiane
- neurodegeneracja
- farmakogenetyka
- krioterapia

CORRESPONDENCE ADDRESS / ADRES DO KORESPONDENCJI

Agnieszka Morel
Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Katedra
Biochemii Ogólnej, ul. Pomorska 141/143, 90-236 Łódź
phone: +48693 829398, email: a_g_a@o2.pl

STRESZCZENIE

Stwardnienie rozsiane (SM) jest przewlekłą chorobą ośrodkowego układu nerwowego, na którą aktualnie cierpi milion ludzi. Jest heterogenną chorobą autoimmunologiczną o zmiennym przebiegu klinicznym i zróżnicowanym obrazie patofizjologicznym, prowadzącą do zaburzeń procesów neuroprzebiegu. SM znane jest od ponad stu lat, a bezpośrednia przyczyna rozwoju choroby w dalszym ciągu pozostaje nieznana. Obecnie stosowane terapie pozwoliły spowolnić postęp choroby, jednakże dotychczas nie opracowano skutecznego leczenia przyczynowego. Czy pojawiające się ostatnio nowe możliwości leczenia są nadzieją na przyszłość, czy pozwolą na skuteczniejsze leczenie? Wreszcie – czy zwiększą szanse na całkowite wyzdrowienie? Celem niniejszej pracy jest przedstawienie nowatorskich terapii SM, wśród których na szczególną uwagę zasługuje terapia iniekcyjna (interferon β , octan glatirameru, natalizumab), mająca na celu redukcję ognisk zapalnych poprzez modulację układu immunologicznego, jak

również zmniejszanie częstości rzutów choroby, ograniczanie występowania ciężkich rzutów, opóźnianie postępu choroby (interferon β , natalizumab), spowalnianie postępu SM poprzez indukcję swoistych limfocytów T supresorowych oraz hamowanie swoistych limfocytów T efektorowych (octan glatirameru). Konieczność częstego wykonywania iniekcji jest dość niekomfortowa dla pacjentów z SM, dlatego istotną rolę odgrywa terapia doustna, najbardziej akceptowana przez chorych i gwarantująca lepsze respektowanie zaleceń terapeutycznych. Najważniejszymi doustnymi lekami I rzutu w SM są: teriflunomid, fumaran dimetylu, zaś II rzutu – fingolimod. Za obiecującą metodę leczenia pacjentów z wtórnie postępującą postacią stwardnienia rozsianego uważa się terapię z zastosowaniem komórek macierzystych oraz plastrów. Profilowanie farmakogenetyczne zwiększa skuteczność, zmniejsza toksyczność leków oraz odpowiada za dobór leków w sposób indywidualnie dopasowany do danego pacjenta. Z kolei krioterapia wspomaga fizjoterapię oraz poprawia funkcjonowanie chorego.

General characteristics of multiple sclerosis

Multiple sclerosis (Latin: *sclerosis multiplex*, MS) is an inflammatory and demyelinating disease of the central nervous system (CNS).

Clinical classification of MS differentiates in the following forms of the disease: relapsing-remitting (RRMS), secondary progressive (SPMS) and primary progressive (PPMS), which includes progressive relapsing form (PRMS) (Miller et al. 2011). Relapsing-remitting form is the most common form of MS, and it includes as much as 80% of patients. In this form of disease, proinflammatory mediators, including oxidative stress factors, plays an important role. This form is characterized by the occurrence of relapses, which is associated with significant neurological defect and improvement between relapses, i.e. a period of partial or total remission (Selmaj and Losy 2007; Miller et al. 2011).

After approximately 10–20 years, the majority of cases of relapsing-remitting form of MS transforms into the secondary progressive form of the disease, which is characterized by slow and irreversible neurological worsening. The primary progressive type of the disease occurs in a lower number of patients (15% of patients) and it relates mainly to the patients with late onset of the disease, i.e. after the age of 50 years. Primary progressive MS is progressing from the beginning and there are no periods of remission. The process of axon loss is extremely intensive, and the activity of the inflammatory process is lower (Miller et al. 2011).

Neuroaxonal degeneration correlated with the degree of disability and atrophy of the brain and the spinal cord

are dominating not only in primary progressive, but also in secondary progressive form of the disease (Selmaj 2005).

Pathogenesis and etiology of the disease

Etiology of MS is not well known. Genetic, environmental, and infectious factors as well as the diet are probable causes of the disease (Ascherio et al. 2010; Konikowska and Regulska-Ilow 2014; Miller 2012). Autoimmune theory constitutes one of possible mechanisms of the disease pathogenesis. According to this theory, existence of inadequate reaction of the immune system to action of environmental factors is recognized as the main cause of MS development (Embry 2010). However, it is known that clinical symptoms of this disease result from active process of inflammation, demyelination and axon damaging (Miller 2012; Tully and Shi 2013). Alternative theories regarding MS genesis include: dysplastic neuroglia development, viral infections (latent retrovirus infection) or vascular theory of Dr. Paolo Zamboni (Chaudhuri and Behan 2005).

MS is a disease, which is characterized by demyelination of the white matter fibres caused by disintegration of the myelin sheath as a result of damage to the soluble, basic protein of the myelin referred to as MBP (*myelin oligodendrocyte glycoprotein*) as well as disturbance in the blood-brain barrier [BBB] and leukocyte infiltration in the CNS (D'Aversa et al. 2013). Inflammatory infiltrations mainly include T-cells – MHC (major histocompatibility complex) class I molecules, but CD8

T-cells are dominating. Also B-cells and blood cells (leucocytes, erythrocytes and platelets) are present, but they are much less numerous than T-cells (Lassmann 2013; Lassmann and van Horssen 2011). The development of large merged demyelinating plaques not only in the white matter, but also in the grey matter is the most characteristic brain lesion in persons suffering from MS.

According to the immune theory, pathogenesis of MS is characterized by infiltration of thymus-dependant T-cells, penetrating through the BBB into the CNS (Nath et al. 2009). According to the generally accepted paradigm, the main role in pathomechanism of MS, from among T-cells, is played by CD4⁺ and CD8⁺ T helper, which are specific towards myelin antigens, PLP (proteolipid protein), MAG (myelin associated glycoprotein) and MBP. CD4⁺ T-cell fraction initiates and propagates the autoimmune response against the CNS, involving cellular and humoral effectors in attack against myelin, oligodendrocytes and neurons. CD8⁺ belongs to important factors involved in CNS damaging. It has been proven that destruction of axons within demyelination foci is much better correlated with concentration of CD8⁺ lymphocytes and macrophages than it is with CD4⁺ lymphocytes (Losy 2009).

In recent years, subpopulation of Th cells was discovered – Th17 producing IL-17 (*interleukin*), which is an important mediator in the development of autoimmune inflammation of the CNS. Examinations of the brain tissue performed *post mortem* in patients suffering from MS proved that there were intensified signs of IL-17 in lymphocytes and in glial cells located in paravascular infiltrations within active demyelinating plaques. In 2008, Italian scientists, who were studying signs of IL-17 in lymphocytes of the peripheral blood in individuals suffering from various clinical forms of MS, observed that the production of IL-17 increases in an acute phase and remission of MS. However, in secondary progressive MS, which is characterized by constant progress, it does not exceed the values determined in healthy individuals. High signs of IL-17 and IL-22 receptors were observed on the cells of the cerebral vessel endothelium located in the demyelinating plaques. Through them, IL-17 and IL-22 contribute to damaging the connections between these cells, which are not only *in vivo* but also *in vitro*. A characteristic feature of Th17 lymphocytes is their easy penetration through the BBB, which leads to the release of granzyme B, proteolytic protein released from stimulated lymphocytes within the course of inflammatory reaction, which is toxic to neurons (Juszczak and Głabiński 2009).

After the activation of auto-reactive T-cells circulating in the body, they adhere to the surface of the endothelium. In the next phase, their stable bonding with the endothelium took place as well as penetration into the CNS, where they undertake clonal expansion. During this phase, metalloproteinases, chemokines and adhesive molecules (integrins, selectins) play a very important

role. After penetration of the T-cells into the CNS, their reactivation takes place using microglial cells of the brain, dendritic cells, monocytes and macrophages (Losy 2009; Nath et al. 2009). T-cells penetrating BBB mainly secrete proinflammatory cytokines: TNF- α (*tumor necrosis factor*), IFN- γ (*interferon gamma*), IL-2, IL-12, IL-15, IL-18, and chemokines, proteolytic enzymes, complement elements, and they generate reactive oxygen and nitrogen species ROS/RNS, which are dangerous mediators of local cytotoxic inflammatory reactions, contributing to the development of demyelination foci and axonal damages in the CNS. Cytokines with anti-inflammatory properties, such as: TGF- β (*transforming growth factor*), IL-4, and IL-10, are detected in the areas of demyelinating foci within the periods of the disease remission. Cytokines with proinflammatory properties stimulate macrophages and the process of astrocytes proliferation; they activate microglial cells and, on the surface of endothelium, they increase the expression of the adhesive molecules as well as stimulate chemokine production. Macrophages and antibodies directed against antigens present within myelin stimulated by cytokines disturb the function of the myelin sheath. Autoantigen opsonization caused by antibodies leads to their phagocytosis (by macrophages) and to the creation of immune complexes activating the complement system (Lubina-Dąbrowska et al. 2013; Losy 2009; Nath et al. 2009; Ross et al. 2012; Tutaj and Szczepanik 2006). Activation of thymus-dependant T-cells is also supported by high expression of MHC class II antigens observed in the cerebral microvascular circulation and in demyelinating foci in individuals suffering from MS and to a lesser extent in MHC class I antigens present in inflammatory cells, glial cells and neurons (Lassmann 2013; Lassmann and Horssen 2011). Moreover, increased signs of adhesive molecules were observed in the regions of the demyelinating foci, i.e. VCAM-1 (*vascular cell adhesion molecule*), ICAM-1 (*intercellular adhesion molecule*) and E-selectin. These molecules, after binding to corresponding ligands, are responsible for infiltration of the T-cells through the wall of the blood vessels into the cerebral structures (Lubina-Dąbrowska et al. 2013; Losy 2009).

Within the course of MS, T-cells are characterized by increased signs of receptors for chemokines. Especially a high concentration of chemokines IP-10 (CXCL10), MIG (CXCL9) and RANTES (*regulated upon activation normal T-cell expressed and secreted*) is observed in the cerebrospinal fluid in individuals suffering from MS. Chemokines which participate in the MS pathogenesis in two ways: as specific chemotactic migration triggers, that they are responsible for the migration of lymphocytes; also, they increase activation and differentiation of thymus-dependant T-cells as well as production of cytokines (Tutaj and Szczepanik 2006).

A special role in MS pathogenesis is attributed to enzymes damaging BBB – metalloproteinases, facilitating

penetration of the lymphocytes into the CNS, activating TNF α , participating in the occurrence of demyelinating foci and in degradation of the basic protein myelin, which is a part of the myelin sheath (Kurzepa et al. 2005; Losy 2009; Mirshafiey et al. 2013).

The cells contributing to MS pathogenesis also include dendritic cells (DC) producing proinflammatory cytokines, such as TNF- α , IL-6 and IL-12 (Tutaj and Szczepanik 2006).

In addition, abnormal regulation of the apoptosis process also plays an important role in immunopathology of MS. Due to the disturbed processes of apoptosis, there is no elimination of cytotoxic T-cells penetrating through the BBB, which consequently leads to the loss of oligodendrocytes in the CNS.

The results of proteolytic enzymes, cytokines and ROS/RNS include damage to not only axons within active demyelination foci, but also to the damage of apparently normal white matter. The progressing damage of axons within inactive demyelination foci also contributes to the clinical progress of the disease (Losy 2009).

T-cells, especially T-helper cells, Th1 and Th17, constitute the basic cells of the immune system, managing immunopathological processes. The regulatory T-cells (Treg) include two populations, i.e. natural population (B-cells, NK cells (*natural killer*), NKT cells (*natural killer*

T-cells) and induced population (CD4 T helper) (Buc 2013). The majority of conducted studies indicate the key role, which T-cells play in pathogenesis of MS.

A multifactor of interactions between environmental factors and genetic predispositions, which lead to demyelination of axons, play an important role in MS pathogenesis. The participation of proinflammatory mediators, viral infections, and oxidative stress factors play an important role in the disease pathogenesis. Mechanisms and factors of axon demyelination have been presented in Table 1 (Losy 2009; Horrsen et al. 2011; Colca and Feinstein 2012; Kesidou et al. 2013; Lubina-Dąbrowska 2013; MENA Report 2013).

Diagnosics of MS

The diagnosis of MS is based on McDonald criteria (Table 2), which include the multifocal nature of the disease and on diagnosing *dissemination of lesions in time* (DIT) and *dissemination of lesions in space* (DIS) (Polman et al. 2011). The studies conducted by Lassmann et al., who proposed a new classification of histopathological lesions in MS, constituted a milestone in MS epidemiology. This classification differentiates 4 subtypes of demyelinating plaques (Table 3), and it is based on differences related

Table 1 Mechanisms and factors of axon damage

Mechanisms/factors of axon damage	Characteristics
Inflammatory reactions	<ul style="list-style-type: none"> Caused by penetration of T-cells (CD4+, CD8+) into the CNS, when characteristic perivascular infiltrations made of lymphocytes and macrophages occur in the brain tissue, which produce inflammatory cytokines as a result of activation. These cytokines play an important role in tissue damage because they contribute to demyelination processes. The most important are the following: TNF-α, IFN-γ and IL-2 (Losy 2009).
Immune reactions	<ul style="list-style-type: none"> Non-specific immunologic reaction caused by viral infection, when cytokines and proteases are released by the inflammatory cells damage myelin and oligodendrocytes. Autoimmune reaction in reference to the brain antigens (MBP, PLP, MAG) caused by viral infection. Encoding superantigens by suitable viruses, which stimulate clones of T-cells without participation of the major histocompatibility complex. Participation of viruses in activation of antigens of the major histocompatibility complex class II on the cells present in the CNS (Losy 2009).
Apoptosis processes	<ul style="list-style-type: none"> Abnormal regulation of apoptosis process contributes to disturbances of cytotoxic T-cells elimination and loss of oligodendrocytes with mediation of ligands inducing apoptosis: Fas and TRAIL (Losy 2009).
Oxidative stress	<ul style="list-style-type: none"> Crucial factor in MS pathogenesis, which is leading to demyelination process of axons. Peroxyinitrite – intensifying active inflammatory processes responsible for progress of the disease is an important prooxidative factor. Respiratory [<i>oxidative</i>] burst of neutrophils and increased generation of ROS and RNS – damage proteins and initiate process of lipid peroxidation. Demyelination, inflammatory process and neurodegeneration generate ROS (Horrsen et al. 2011).
Mitochondrial pathology	<ul style="list-style-type: none"> Oxygen radicals inhibit mitochondrial respiration via inhibition of enzymatic activity of pyruvate dehydrogenase and cytochrome oxidase revealing severely cytotoxic action on the nerve cells: astrocytes and oligodendrocytes, leading to demyelination process. RTF causes mitochondrial dysfunction as a result of oxidative phosphorylation, leading to reduced production of ATP and blocking transport in axons. Decreased amount of ATP disturbs process of synaptic information transfer from the body of the cells to the nerve cells, therefore contributing to progressing pathology of MS (Colca and Feinstein 2012; Kesidou et al. 2013; Lubina-Dąbrowska 2013; MENA report, 2013).

to structure and location of the plaque, expression of myelin proteins as well as types of damage to the myelin sheath (Stasiołek et al. 2005; Miljkovic and Spasojević 2013).

Laboratory evaluations, such as visual evoked potentials or magnetic resonance imaging (Table 4) are mainly designed in order to support MS diagnosis. However, if the clinical diagnostics is not sufficient, they may constitute criterion necessary for diagnosis (McDonald et al. 2001; Siger 2008; Fox et al. 2011; Członkowska 2012; Marcus et al. 2013).

Pharmacology in MS

Strategies in MS treatment

Escalation therapy

Regimen of the escalation therapy is the most common and the most accepted therapeutic strategy in relapsing-remitting forms of multiple sclerosis. In escalation therapy, treatment begins with the administration of

Table 2 McDonald criteria (modified by Polman in 2010); (Polman et al. 2011)

First criterion
Establishing the following elements in clinical symptoms of MS:
<ul style="list-style-type: none"> • ≥ 2 relapses of the disease disseminated in time with neurological symptoms
or
<ul style="list-style-type: none"> • 2 relapses of the disease, including 1 relapse established by examining person and 1 relapse in medical history
This criterion does not include the necessity to perform any additional evaluations.
Second criterion
Establishing the following elements in clinical symptoms of MS:
<ul style="list-style-type: none"> • ≥ 2 relapses of the disease disseminated in time, in situation, when neurological symptoms indicate the same location of the focus
Additional evaluations are required in order to diagnose MS. In this case, MRI evaluation is reliable, which indicates presence of lesion disseminated in space (establishing at least 1 demyelinating lesion in sequence with long relaxation time T2), in at least two out of four locations typical for MS (periventricular, juxtacortical, infratentorial or in spinal cord) or waiting for another relapse in different location.
Third criterion
Establishing the following elements in clinical symptoms of MS:
1 relapse of the disease, but with symptoms coming from ≥ 2 different locations
Required additional evaluations include MRI establishing simultaneous presence of asymptomatic lesion enhancing after administration of gadolinium and lesion(s), which are not contrast-enhancing in evaluation performed at any time after relapse or establishing new focus(foci) in T2-weighted images and/or contrast-enhancing lesion in control MRI evaluation or establishing occurrence of another relapse.
Fourth criterion
Establishing the following elements in clinical symptoms of MS:
<ul style="list-style-type: none"> • 1 relapse originating from 1 focus
Required additional evaluation:
<ul style="list-style-type: none"> • in MRI evaluation in order to establish dissemination of lesions in space; it is required to establish the presence of ≥ 1 foci in T2-weighted images in at least two out of four locations typical for MS or waiting for another relapse in a different location; • in order to establish dissemination of lesions in time, it is required to establish simultaneous presence of asymptomatic lesion(s) enhancing after administration of gadolinium and lesion(s), which are not contrast-enhancing, at any time after relapse or establishing new focus(foci) and/or contrast-enhanced lesion in T2-weighted images at any time after relapse or establishing new focus(foci) and/or contrast-enhancing lesion in T2-weighted images in the next MRI evaluation at any time after relapse or waiting for the second relapse of the disease.

Table 3 Classification of the plaques according to Lassmann et al. (Stasiołek et al. 2005; Miljkovic and Spasojević 2013)

Types of plaques	Characteristics
I and II	<ul style="list-style-type: none"> • Well-contoured areas of active demyelination grouped around the small venous vessels (intensive infiltration of macrophages, damage of oligodendrocytes) • Inactive areas with remyelination processes and oligodendrocyte regeneration • Reduced density of axons • Presence of deposits of active components of the complement and immunoglobulins, which is characteristic only and exclusively for type II of the plaques
III	<ul style="list-style-type: none"> • No strict association with small venous vessel • No clear border with healthy tissue, occurrence of changes in expression of myelin proteins and morphology of oligodendrocytes (process of apoptosis) • Advanced inflammatory lesions in endothelium in tiny vessels, which additionally support ischemic background
IV	<ul style="list-style-type: none"> • Observed in patients with chronic form of MS, who reveal no immune response • Characterized by the occurrence of irreversible damage and irreversible loss of oligodendrocytes • No remyelination process and no oligodendrocyte regeneration are observed in this type of plaques

drugs with the highest efficacy to safety ratio, so the main role is played by immunomodulatory drugs of the first-line treatment: interferon β and glatiramer acetate. The drugs of the second-line treatment (mitoxantrone, natalizumab) are used in case of failure or obtaining only partial effect (Rejdak 2010).

Induction therapy

Induction therapy is used in those patients, who revealed to have a very high activity of the disease as well as a rapid increase in neurological defect. In this therapy, the drugs with significantly stronger immunosuppressive effect are used but, at the same time, with an increased risk of intolerance (mitoxantrone) accompanied by continued immunomodulatory treatment (Rejdak 2010).

Based on long-term observations, it was established that the currently used treatment methods only moderately inhibit increasing irreversible neurological defects. For this reason, there is a need to search for new therapeutic methods and increase their efficacy as well as the therapy personalization, i.e. the therapy customized for the needs of specific populations of patients (Rejdak 2010).

Treatment

No effective treatment method for patients with MS has been developed so far. It still includes symptomatic treatment, slowing down the progress of the disease and preventing it from worsening. Currently, the treatment of MS is designated by route of administration as an injection therapy, oral therapy and intravenous infusion therapy (Table 5). Another designation includes

immunomodulatory treatment affecting the course of the disease, i.e. first-, second-, and third-line treatment (Table 5).

Stem cells and MS

The cells produced in bone marrow reveal the ability to self-regenerate and differentiate into specialized cells, performing precisely defined functions. The stem cells include embryonic stem cells, i.e. totipotent stem cells and pluripotent stem cells, and non-embryonic [adult] stem cells as well as multipotent stem cells differentiating into tissues, the organs within one of three germ layers (ectoderm, endoderm, and mesoderm). Somatic stem cells – tissue-oriented – are present in the human organism immediately after birth. These cells demonstrate the ability of cells to regenerate within a given tissue, for instance a nervous tissue, a skin tissue, a hematopoietic tissue or a muscle tissue. The discovery of undifferentiated, proliferatively active neural stem cells in a mature brain constitutes a breakthrough in contemporary neurobiology (Machaliński 2008).

The central nervous system is a structure, which shows that there is a limited ability of regeneration of tissues lost in slowly progressing, degenerative neurological diseases, such as MS, Parkinson's disease, Alzheimer's disease or Huntington's disease, or in patients after acute injuries, such as stroke. Although the mature brain has some reserve of stem cells, it is not sufficiently large and it does not significantly contribute to the recovery of a patients' function. Transplantation of embryonic stem cells or stem cells isolated from the umbilical cord blood is a great hope for

Table 4 Laboratory evaluation in MS

1. Evaluations supporting MS diagnostics	
Visual evoked potentials	<ul style="list-style-type: none"> • This evaluation visualizes the speed of electric signals movement among receptors of vision, hearing or touch and the brain. • Electric potentials recorded after action of a suitable stimulus provides information on ability of nerve impulse transmission. • Based on occurrence of abnormal potentials, demyelinating foci are diagnosed. • Non-invasive imaging method for the brain function (Członkowska 2012; Marcus et al. 2013).
2. Evaluations for ruling out other causes of observed clinical symptoms or lesions in the white matter	
Imaging diagnostics: magnetic resonance imaging (MRI)	<ul style="list-style-type: none"> • Non-invasive and highly objective technique evaluating damages of the nervous system in patients with MS, constituting the main parameter for MS diagnosis according to McDonald criteria. • Barkhof and then Tintore proposed strict criteria of MRI evaluations in MS diagnostics, which were recommended by the International Expert Panel as the most sensitive and specific criteria indicating the demyelinating process. <p>Criterion 1:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Presence of 1 contrast-enhanced lesion or 9 hyperintensive lesions on T2-weighted images (lesions are darker than surrounding tissue) in case of no contrast-enhanced lesion <p>Criterion 2:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Establishing at least 1 lesion in juxtacortical location <p>Criterion 3:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Establishing at least 1 lesion in infratentorial location <p>Criterion 4:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Presence of at least 3 lesions in periventricular location (McDonald et al. 2001; Siger 2008; Fox et al. 2011)

Table 5 Methods of MS treatment

INJECTION THERAPY		
Interferons beta (INFβ: INFβ-1b, INFβ-1a)		
The following patients are qualified:		
<ul style="list-style-type: none"> • Patients in various stages of the disease and with various intensities of its course; • Patients diagnosed so-called clinically definite ms according to criteria of McDonald et al., i.e. patients with relapsing form of MS, mainly in the initial stage of the disease with maintained motor abilities (in the Kurtzke EDSS <3.5 points); • Patients of a young age, revealing symptoms of neurological deficit, with 2 relapses/year; • Patients with mild neurological deficits, patients with the first relapse of recently diagnosed ms and without neurological deficit, and individuals with a few tiny damages and so-called black holes visualized in MRI evaluation, and women with retrobulbar optic neuritis and insignificant sensory symptoms from the beginning of MS; • Patients with the disease duration of more than 10 years and with motor deficits and with sphincter disorders (also including persons with poor prognosis); (Maciejek 2010). 		
Glatiramer acetate (GA)		
<ul style="list-style-type: none"> • Synthetic polymer of amino acids, containing mixture of L-glutamic acid, L-lysine, L-alanine and L-tyrosine. • It is involved in cross-reaction with MBP at humoral and cellular level. • It binds with MCHC II molecule on the surface of the cells presenting the antigen, and it induces specific suppressor T-cells and inhibits specific effector T-cells, which slows down progress of MS. • It is used as the drug in the first-line treatment or in case of failure or intolerance of INFβ, which forces discontinuation of therapy. • Commonly used as safe and effective agent. • The most common side effects of using GA include skin rash (19%), nausea (15%), dyspnea (14%), chest pain (13%), anxiety (13%), infections (30%) and injection site reactions (27–49%). • Treatment with GA is also aimed at reduction in accumulation of the black holes, which result from irreversible damage of the myelin sheath of the axon. • It is characterized by good and long-term clinical efficacy, with approximately 30 percent decrease in annual number of relapses and optimum safety profile (Caporro et al. 2014). 		
ORAL THERAPY		
Dimethyl fumarate (BG-12)		
<ul style="list-style-type: none"> • The mechanism of this action is associated with the chemical modification of Keap1 – a repressor protein. As a result of this process, stabilization of Nrf2 transcription factor and its transport into the nucleus that consequently leads to activation of the cytoprotective and antioxidative pathway cascade. • Inhibition in transmission of proinflammatory signals depending on NF-κappaB transcription factor causes suppression of proinflammatory response and induction of anti-inflammatory cytokines. • Phillips et al. in the 3rd phase studies in patients with RRMS demonstrated that administration of dimethyl fumarate led to reduction of annual number of relapses by approximately 44–53% and reduction of occurrence of the new lesions in T sequences in MRI evaluation by 71–85% (Phillips and Fox 2013). • Gold et al. proven that dimethyl fumarate reduced the disease relapses by approximately 50% comparing to placebo (Gold et al. 2014). • Efficacy of therapy with dimethyl fumarate in MS treatment was demonstrated in two 3rd phase studies (DEFINE and CONFIRM) (Nuzzo et al. 2014). Dimethyl fumarate in the 2nd phase studies demonstrated beneficial effect on reduction of activity during relapses and lowered number of emerged active lesions visualized in MRI evaluations. • It connects high efficacy, beneficial safety profile, and oral administration constitutes comfortable therapeutic option for patients suffering from RRMS (Nicholas et al. 2014). 		
Teriflunomide		
<ul style="list-style-type: none"> • It is active metabolite of the drug used in long-term treatment of rheumatoid arthritis – leflunomide, metabolized <i>in vivo</i>. • Mechanism of its activation includes reversible inhibition of activity of dihydroorotate dehydrogenase, an enzyme present in mitochondria and required for <i>de novo</i> biosynthesis of pyrimidine, which is necessary for DNA replication process. • It selectively and reversibly inhibits synthesis of pyrimidine, which contributes to blocking activation and proliferation of stimulated lymphocytes (T and B cells). • It reduces the disease relapses and postpones progress of disability (Bar-Or et al. 2014). 		
Fingolimod		
<ul style="list-style-type: none"> • Fingolimod, recently registered drug used in treatment of RRMS, is very promising oral drug modifying course of the disease. • This agonist of sphingosyl-1-phosphate (S1P) receptor reveals ~60% efficacy in reduction of the diseases relapses and postponing disability in MS (Gasperini and Ruggieri 2012). • Besides anti-inflammatory properties, it supports remyelination in the CNS by direct interaction with oligodendrocytes (Brinkmann 2009). • Due to modulation of S1P1 receptor occurring on the lymphocytes, it prevents lymphatic tissue from free leaving of the lymphocytes, which contributed to decrease of the inflow of autoaggressive T-cells into the CNS, where they cause inflammation and tissue damage (Lubina-Dąbrowska et al. 2013). 		
INTRAVENOUS INFUSIONS		
Natalizumab		
<ul style="list-style-type: none"> • Innovative mechanism of its action includes blocking lymphocytic α4β1-integrin (VLA-4) receptor preventing its binding with the adhesive molecule (VCAM-1) located in the endothelium of the cerebral vessels, which prevents from penetration of the lymphocytes via BBB (Selmaj and Losy 2007). • It demonstrates higher efficacy, which is ~60%, in limiting frequency of relapses comparing to other drugs revealing immunomodulatory properties, the efficacy of which is estimated at ~30%. • Despite good efficacy, this drug causes dangerous complications, including i.a. progressive multifocal leukoencephalopathy (PML) associated with opportunistic infection with oncogenic JC virus (Rudick and Pazura 2008). 		
DRUGS MODULATING COURSE OF THE DISEASE		
First-line treatment	Second-line treatment	Third-line treatment
<ul style="list-style-type: none"> • INF β • Glatiramer acetate • Teriflunomide 	<ul style="list-style-type: none"> • Fingolimod • Natalizumab 	<ul style="list-style-type: none"> • Decizumab <ul style="list-style-type: none"> • Directed against CD25 antigens • Preliminary studies indicate good safety profile and tolerance profile of the drug as well as clinical efficacy evaluated in w MRI in RRMS not only in monotherapy, but also in combination with IFN-β (Loleit et al. 2014) • Alemtuzumab <ul style="list-style-type: none"> • Humanized monoclonal antibody against cd-52 antigens present on the t-cells and monocytes • It leads to inhibition in occurrence of the disease relapses and reduction in degree of disability of patients • It was demonstrated that it reveals higher efficacy comparing to inf β-1a in reduction of the disease relapses and disability progress (Mori 2014) • Cladribine <ul style="list-style-type: none"> • It contributes to disturbance in synthesis of lymphocytic DNA • It acts in order to reduce number of relapses and demyelination foci • Trials are still conducted on doses and route of administration (Minagar 2013)

neurodegenerative diseases, which has been a challenge for scientists for years. During the last decade, the promising effects of CNS tissue regeneration were obtained using stem cells in animal models of MS, Parkinson's disease, Huntington's disease and Alzheimer's disease.

The therapy made use of autologous mesenchymal stem cells and is recognized as promising in patients with secondary progressive forms of multiple sclerosis (Machaliński 2008; Ross and Akimov 2014).

Scientists from Cambridge demonstrated the neuroprotective effects of stem cells, which is influenced by the paracrine mechanism. The studies were performed with the participation of patients with secondary progressive forms of multiple sclerosis with ocular symptoms, whom the mesenchymal stem cells were isolated from and who received transplants of their own previously purified stem cells. The most important, however, is the fact that the scientists did not observe any serious adverse effects. The patients revealed improvements in visual parameters, including improvements in visual acuity and an increase of the optic nerve area. The effects of treatment on the colour vision, field of view, volume of the macula lutea or the thickness of the retinal nerve fibre layer were not observed (Connick et al. 2012).

Also Greek scientists (Fassas and Mancardi 2008) obtained promising effects in the treatment of aggressive forms of MS. The scientists performed transplantation of the stem cells in patients with rapidly progressing MS, evaluated in EDSS score as 6 points (patients moving with the use of a walking stick or walking on crutches), who were previously treated with other methods, but the effect was poor. After the completed therapy, the condition of some patients improved as much that they were qualified to the group with one point less. This effect maintained over 2 years. Moreover, it was observed that pathological lesions in the brain of the patients occurred significantly less rarely and they were less intensive.

The presented results are promising, but this therapy cannot be used on a regular basis because it is currently under investigation. However, its use should be seriously concerned in life-saving circumstances in individuals with an aggressive and malignant course of the disease (Machaliński 2008).

The regeneration of damaged CNS structures is the most difficult challenge for the scientists, but also in this area, there is some hope for significant progress in development of therapy with stem cells.

Crucial studies are also conducted by the team of scientists from the University of Rochester, who developed an innovative method of MS treatment with the use of stem cells that are not originating from embryos and the umbilical cord blood, but from human skin cells, which are finally transformed with the use of induced pluripotent stem cells (iPS) into the oligodendrocyte progenitor cells (OPC). Oligodendrocytes are the cells, which are necessary for development of myelin in the

brain and in the spinal cord. The most important fact is that iPS may be isolated from each type of mature cells. Therefore, creating progenitor cells, which regenerate myelin sheaths, seems to be significantly easier. This translates into great hope for the patients with MS as well as for individuals suffering from other neurodegenerative diseases (Chen et al. 2014).

Nanoparticles and MS

An innovative method with the use of biodegradable nanoparticles, whose use does not affect total efficiency of the immune system, was developed by scientists from Chicago. The studies performed on laboratory rodents by Hunter et al. (2014) included attaching myelin antigens to biodegradable nanoparticles, which after intravenous administration penetrated into the spleen, where they were absorbed by macrophages. Macrophages presented received antigens on their surface, which were perceived by the organism as normal protein created as a result of degradation of natural cells of the organism. Hence, the scientists induced antigen tolerance for myelin by the inhibition of T-cells and increased the number of regulatory T-cells, reducing an adverse immunologic response. For this reason, inhibition related to only the part of the immune system responsible for the attack own myelin sheaths and, at the same time, the whole immune system was not impaired. Finally, the studies showed that the injection of the new drug to the laboratory animals prevented the disease from relapsing for about 100 days, which would correspond to a few years in humans (Singh et al. 2012; Hunter et al. 2014).

Pharmacogenetics and MS

In the face of common problems referring to various reactions to the drugs in different patients, which contributed to therapeutic failures in treatment of MS, pharmacogenetics, i.e. the science related to an individual response of the organism to the drugs, may constitute a promising search direction supporting MS treatment. Individual response resulted from genetic variability, was defined for the first time in 1959 by Dr. Friedrich Vogel. The purpose of the pharmacogenetic studies is to increase the efficacy and minimize toxicity of the immunomodulatory drugs as well as the selection of the drugs in such a manner, which is individually customized to a given patient. Therefore, development of the genetic tests, which would enable the efficacy of a specific drug to be predicted before its use, is one of the most important practical applications of pharmacogenetics. Unfortunately, the most crucial obstacle for routine use of pharmacogenetic evaluations in clinical practice is their relatively high cost.

Standard pharmacogenetic analyses would contribute to limiting the number of patients necessary for conducting early phases of clinical studies for a new drug, which would reduce their costs and bring scientists closer to the results.

Using information included in the genetic code in order to select individual therapy for each patient is undoubtedly a very important direction in contemporary medicine, despite the fact that it requires further studies and an introduction of methods used in molecular biology to everyday diagnostics. It is very likely that pharmacogenetics and other modern fields of studies, e.g. pharmacoproteomics, may result in reduction of treatment costs (related to drug reimbursement) in the near future, which would undoubtedly be beneficial not only for the patient, but also for the budget of the health services (Lipińska et al. 2013). In the pharmacogenetic studies conducted in 2008 by Lisa van Baarsen et al. on 126 genes originating from individuals with MS, no differences were observed in expressions of genes after administration of INF 1b and INF 1a. Thus, it was proven that differences between these preparations in terms of their efficacy are unknown and often undetectable. These studies brought about the introduction of standardization in treatment with INF, and they helped to strengthen the efficacy of the drug before its use. At the same time, the same studies demonstrated that the behaviour of genes following administration of INF is diverse in respective patients suffering from MS (van Baarsen 2008). It confirms the need to conduct further pharmacogenetic studies on customizing therapy for the patient based on individual responses of the patient to treatment, drug tolerance or acceptable routes of the drug administration.

Whole-body cryotherapy – the procedure supporting the function of patients suffering from MS

Cryotherapeutic procedures, mainly the whole-body cryotherapy (WBCT), are innovative proposals in MS treatment. A poor tolerance of hyperthermal procedures was observed in the patients with demyelinating diseases, so an idea arose to use hypothermia in persons with MS. It was proven in patients with MS that intensification of the fatigue syndrome, muscle weakness, and worsening of quality of life occur if the organism is overheated or after use of hyperthermia (Grahm et al. 2008). Cryotherapy involves lowering the temperature of the body surface over a period of no longer than 3 minutes (Pruszkowska et al. 2009). This non-invasive treatment method does not lead to tissue destruction and, what is most important, it does not lower the temperature of the internal organs. It contributes to the cooling of superficial tissues and it causes mild changes in microcirculation. This procedure is recognized as completely safe (Bleakly et al. 2014).

The purpose of cryotherapeutic procedures is to create and use physiological, systemic reactions of the organism to the cold, which supports background therapy and rehabilitation of patients with MS (Brojek and Warzocha 2006). During cryotherapy, which takes place in a special room cooled down with fluid nitrogen to the temperature ranging from -100°C to -120°C , a short-term, i.e. from 2 to 3 minutes, cooling down of the whole body is effected. At the beginning of the whole-body cryotherapy, cooling lasts 2 minutes and it takes place at a temperature of -110°C . At the end of the procedure series, cooling lasts up to 3 minutes and takes place in the temperature of -120°C (Miller et al. 2010a). Whole-body cryostimulation is a more and more commonly used method in therapy of neurological diseases because it lowers muscle tone (analgesic action) and it provides anti-depressant effects. In addition, cryotherapy also positively influences efficacy of kinezytherapy used in individuals suffering from MS because extremely low temperatures significantly eliminate the muscle tone. It is a result of slowing down of neurotransmissions and the reduction of reactivity of the peripheral sensory nerve endings, partial block of the motor endplate and γ -motor neurons as well as muscle tone receptors: in tendons – Golgi apparatus, in muscles – muscle spindles. After the simultaneous use of a series of cryostimulation procedures and the process of muscle relaxation, an increase in the muscle strength is observed as well as subjective analgesia, which is maintained even over a few months (Miller 2010; Suszko 2003).

The whole-body cryotherapy used in individuals suffering from MS supersedes procedures of cooling the body in temperatures of $6-10^{\circ}\text{C}$, used as symptomatic treatment, contributing to the functional improvement of the patient (Gilgun-Sherki et al. 2004).

The whole-body cryotherapy is the only procedure supporting physical therapy, which purpose is to improve motor abilities in persons with MS. It was proven that the use of the whole-body cryotherapy together with rehabilitation is safe and effective supporting therapy for individuals suffering from MS (Munger and Ascherio 2007).

Bandages in treatment of multiple sclerosis

This method includes the placement of a bandage containing three myelin proteins on the skin, and it is one of the most recent and very promising methods of MS treatment. The results presented by Selmaj et al. indicate that this new method, which is still under investigation, inhibits pathological lesions in the brain, reduces the number of disease relapses, which contributes to the improvement of the patients' condition. During studies conducted with the participation of 30 patients, it was demonstrated that myelin antigens stimulate creation of the dendritic cells, which – during the movement to the

lymph nodes – from the very beginning teach the autoaggressive lymphocytes about how to recognize myelin proteins as the body's own. Based on the studies with the use of magnetic resonance, it was proven that after one year, reduction of pathological lesions in the brain lowered the frequency of MS relapses and an improvement in clinical conditions was observed in patients with placed bandages with myelin proteins. No side effects of this therapy have been observed so far, which are the most likely the results from this initiative. Bandages, by lowering the activity of the immune system exclusively in reference to myelin components, maintain its other functions. All other drugs used in the therapy inhibit functions of the immune system, which results in the reduced defensive abilities of the immune system (Walczak et al. 2013).

Summary

Multiple sclerosis is an autoimmune disease, which mainly occurs in young people between the ages of 20 to 40 years. It is a disease which lasts for a lifetime from the moment of the onset of the first clinical symptoms. It is one of the most common causes of increasing disability. Despite the advances in knowledge about MS, the etiology of this disease remains unknown.

The current available methods of therapy prevent relapses from occurring, relieve their effects and limit their incidence. There is, however, no effective, scientifically proven treatment method, which would slow down the progress of MS. The most common therapeutic methods used in MS include first of all the escalation therapy, which includes administration of the immunomodulatory drugs at the beginning as the first-line treatment (interferon β , glatiramer acetate) in the form of injections. In the second-line treatment, drugs (mitoxantrone, natalizumab) are used in case of failure. Further,

the induction therapy is used, which includes continued immunomodulatory treatment but, at the same time, other drugs are administered, which reveal significantly stronger immunosuppressive effects and an increased risk of intolerance (mitoxantrone) (Rejdak 2010; Selmaj 2010). Currently, besides the drugs administered in the form of injections, oral drugs are also available within the first-line treatment (teriflunomide, dimethyl fumarate) and the second-line treatment (fingolimod), which is initiated the new stage in MS therapy.

Using stem cells as well as biodegradable nanoparticles, considering their cheap production and standardization, is a step towards popularization of this therapy and the availability of newly invented methods of MS treatment (Machaliński 2008; Singh et al. 2012).

The whole-body cryotherapy may be a promising method of supporting the treatment of patients suffering from MS, especially in chronic periods, which – besides the effects of symptomatic treatment – reveals neuroprotective properties (Miller 2010).

The development of the pharmacogenetic profiling may contribute to improvement in treatment efficacy and reduction in toxicity of the existing drugs (Lipińska et al. 2013).

One of the most recent methods of MS treatment, which is still under investigation, is the transdermal method, which includes placement of the special bandage with myelin proteins. Based on previously conducted studies, it was demonstrated that this therapy reduces the disease activity by approximately 70% as well as the number of inflammatory foci in the brain. Inhibition of the disability progress was also observed. The additional advantage of this method refers to its complete safety, which results from the functioning of these bandages. They may turn out to be an extremely beneficial method in MS treatment, perhaps in the near future (Walczak et al. 2013). ■

Ogólna charakterystyka stwardnienia rozlanego

Stwardnienie rozlane (łac. *sclerosis multiplex*, SM) jest zapalno-demielinizacyjną chorobą ośrodkowego układu nerwowego (OUN).

W klasyfikacji klinicznej SM wyróżnia się następujące postaci: rzutowo-remisyjną (ang. *relapsing-remitting*; RR SM), wtórnie przewlekłą (ang. *secondary progressive*; SP SM) oraz pierwotnie przewlekłą (ang. *primary progressive*; PP SM), w której wyróżnia się postać rzutowo-przewlekłą (ang. *progressive relapsing*; PR SM) (Miller i wsp. 2011). Rzewo-remisyjna postać to najczęściej występująca forma SM, dotycząca aż 80% chorych. W tej postaci choroby udział mediatorów prz zapalnych, w tym

czynników stresu oksydacyjnego, odgrywa istotną rolę. Postać ta charakteryzuje się występowaniem rzutów choroby związanych ze znacznym ubytkiem neurologicznym, pomiędzy którymi następuje poprawa – okres remisji częściowej lub też całkowitej (Selmaj i Losy 2007; Miller i wsp. 2011).

Większość przypadków rzutowo-remisyjnej postaci SM po około 10–20 latach przechodzi w postać wtórnie przewlekłą choroby, cechującą się powolnym i nieodwracalnym pogorszeniem neurologicznym. Typ pierwotnie przewlekły choroby występuje u mniejszej liczby pacjentów (15% chorych) i dotyczy głównie tych chorych, u których początek choroby ujawnił się w późniejszym wieku, po około 50 r.ż. Pierwotnie przewlekłe SM od samego

początku ma charakter postępujący i nie występują okresy remisji. Proces utraty aksonów jest bardzo nasilony, a aktywność procesów zapalnych – mniejsza (Miller i wsp. 2011).

Zarówno w pierwotnie przewlekłej, jak i wtórnie przewlekłej postaci choroby dominują zwyrodnienia neuroaksonalne korelujące ze stopniem niepełnosprawności oraz atrofią mózgu i rdzenia kręgowego (Selmaj 2005).

Patogeneza i etiologia choroby

Etiologia SM nie jest do końca poznana. Przyczyn choroby upatruje się w czynnikach genetycznych, środowiskowych, infekcyjnych oraz sposobie odżywiania się (Ascherio i wsp. 2010; Konikowska i Regulska-Iłow 2014; Miller 2012). Teoria autoimmunologiczna stanowi jeden z prawdopodobnych mechanizmów patogenezy choroby. Za główną przyczynę rozwoju SM uznaje ona istnienie nieadekwatnej reakcji układu immunologicznego na działanie czynników środowiskowych (Embry 2010). Wiadomo natomiast, że kliniczne objawy tej choroby są wynikiem toczącego się procesu zapalnego, demielinizacji oraz niszczenia aksonów (Miller 2012; Tully i Shi 2013). Do alternatywnych teorii na temat genezy SM należą: dysplastyczny rozwój gleju, infekcje wirusowe (utajone zakażenie retrowirusowe) czy naczyniowa teoria dr. Paola Zamboniego (Chaudhuri i Behan 2005).

SM to choroba charakteryzująca się demielinizacją włókien istoty białej spowodowaną rozpadem otoczki mielinowej, w wyniku uszkodzenia rozpuszczalnego, zasadowego białka mielininy MBP (ang. *myelin oligodendrocyte glycoprotein*), jak również zaburzeniem bariery krew-mózg BBB oraz naciekami leukocytarnymi do OUN (D'Aversa i wsp. 2013). Nacieki zapalne zawierają przede wszystkim limfocyty T – dominują cząsteczki głównego układu zgodności tkankowej MHC klasy I (ang. *major histocompatibility complex*) komórek T CD8. Obecne są także komórki B oraz elementy morfotyczne krwi (leukocyty, erytrocyty i płytki krwi), które występują w znacznie mniejszych ilościach w porównaniu z ilością komórek T (Lassmann 2013; Lassmann i van Horssen 2011). Tworzenie się dużych zlewających zdmielinizowanych blaszek zarówno w istocie białej, jak i szarej jest najbardziej charakterystyczną zmianą w mózgu osób chorych na SM.

Patogeneza SM, według teorii immunologicznej, charakteryzuje się naciekiem grasiczozależnych limfocytów T, przenikających przez BBB do OUN (Nath i wsp. 2009). Zgodnie z powszechnie przyjętym paradygmatem, główną rolę w patomechanizmie SM, spośród limfocytów T, odgrywają limfocyty pomocnicze CD4+ (T helper – Th) oraz CD8+ swoiste wobec antygenów mielininy PLP (ang. *proteolipid protein*, białko

proteolipidowe mielininy), MAG (ang. *myelin associated glycoprotein*, glikoproteina mielininy i oligodendrocytów) i MBP. Frakcja CD4+ limfocytów T inicjuje oraz propaguje odpowiedź autoimmunologiczną przeciwko OUN, angażując komórkowe oraz humoralne efekторы do ataku skierowanego przeciwko mielinie, oligodendrocytom oraz neuronom. CD8+ należą do ważnych czynników zaangażowanych w uszkodzanie OUN. Udowodniono, że destrukcja aksonów w obrębie ognisk demielinizacyjnych skorelowana jest znacznie lepiej ze stężeniem limfocytów CD8+ i makrofagów aniżeli limfocytów CD4+ (Losy 2009).

W ostatnich latach odkryto subpopulację limfocytów Th – Th17 wytwarzających IL-17 (ang. *interleukin*), stanowiącą istotny mediator w powstawaniu autoimmunizacyjnego zapalenia OUN. Badania przeprowadzone *post mortem* tkanki mózgowej chorych na SM dowiodły nasilonej ekspresji IL-17 w limfocytach oraz komórkach glejowych umiejscowionych w naciekach okołonaczyniowych w obrębie aktywnych płytek demielinizacyjnych. W 2008 roku włoscy naukowcy badając ekspresję IL-17 w limfocytach krwi obwodowej osób chorujących na różne postaci kliniczne SM, zaobserwowali, że wytwarzanie IL-17 zwiększa się w fazie ostrej oraz remisji SM, zaś w postaci wtórnie postępującej SM, charakteryzującej się stałą progresją, nie przekracza ono wartości stwierdzonych u ludzi zdrowych. Wysoka ekspresja dla receptorów IL-17 oraz IL-22 została zaobserwowana na komórkach śródbłonna naczyń mózgowych w obrębie płytek demielinizacyjnych. Za ich pośrednictwem IL-17 oraz IL-22 przyczyniają się do niszczenia połączeń pomiędzy tymi komórkami zarówno *in vivo* jak i *in vitro*. Cechą charakterystyczną limfocytów Th17 jest łatwość ich do przenikania przez BBB, co prowadzi do uwalniania granzymu B, proteolitycznego białka uwalnianego z pobudzonych limfocytów w przebiegu reakcji zapalnej, które działa toksycznie na neurony (Juszczak i Głąbiński 2009).

Po aktywacji autoreaktywnych, krążących w organizmie limfocytów T dochodzi do ich przylegania do powierzchni śródbłonna. W następnej fazie następuje stabilne ich związanie ze śródbłonkiem oraz przenikanie do OUN, gdzie ulegają klonalnej ekspansji. W tej fazie bardzo ważną rolę odgrywają metaloproteazy, chemokiny oraz cząsteczki adhezyjne (integryny, selektyny). Po wnikięciu limfocytów T do OUN dochodzi do ich reaktywacji przy pomocy komórek mikrogleju mózgu, komórek dendrytycznych, monocytów oraz makrofagów (Losy 2009; Nath i wsp. 2009). Przenikające BBB limfocyty T wydzielają przede wszystkim prozapalne cytokiny: TNF- α (ang. *tumor necrosis factor*), IFN- γ (ang. *interferon gamma*), IL-2, IL-12, IL-15, IL-18, oraz chemokiny, enzymy proteolityczne, składniki dopełniacza, jak również generują reaktywne formy tlenu i azotu RFT/RFA, będące groźnymi mediatorami lokalnej cytotoksycznej reakcji zapalnej, przyczyniające się do powstawania ognisk

demielinizacji i uszkodzeń aksonalnych w OUN. Cytokiny posiadające właściwości przeciwzapalne, takie jak: TGF- β (ang. *transforming growth factor*), IL-4, IL-10 wykrywane są w rejonach ognisk demielinizacyjnych w okresach remisji choroby. Cytokiny o właściwościach prozapalnych pobudzają makrofagi oraz proces proliferacji astrocytów, aktywują komórki mikrogleju, na powierzchni śródbłonna zwiększają ekspresję cząsteczek adhezyjnych, jak również stymulują produkcję chemokin. Stymulowane przez cytokiny makrofagi i przeciwciała skierowane przeciwko antygenom obecnym w obrębie mieliny zaburzają funkcję osłonek mielinowych. Wywołana przez przeciwciała opsonizacja autoantygenów prowadzi do ich fagocytozy (przez makrofagi) oraz do tworzenia kompleksów immunologicznych, aktywujących układ dopełniacza (Lubina-Dąbrowska i wsp. 2013; Losy 2009; Nath i wsp. 2009; Ross i wsp. 2012; Tutaj i Szczepanik 2006). Aktywacji grasiczozależnych limfocytów T sprzyja także wysoka ekspresja antygenów MHC klasy II obserwowana w naczyniach mikrokrążenia mózgu oraz w ogniskach demielinizacyjnych osób chorych na SM oraz w mniejszym stopniu antygenów MHC klasy I obecnych w komórkach zapalnych, komórkach glejowych i neuronach (Lassmann 2013; Lassmann i Horssen 2011). Ponadto, w regionach ognisk demielinizacyjnych zaobserwowano zwiększoną ekspresję cząsteczek adhezyjnych: VCAM-1 (ang. *vascular cell adhesion molecule*), ICAM-1 (ang. *intercellular adhesion molecule*) oraz E-selektyny. Cząsteczki te po połączeniu z odpowiednimi dla nich ligandami odpowiadają za przenikanie limfocytów T przez ścianę naczyń krwionośnych do struktur mózgowych (Lubina-Dąbrowska i wsp. 2013; Losy 2009).

W przebiegu SM limfocyty T charakteryzują się zwiększoną ekspresją receptorów dla chemokin. Szczególnie wysokie stężenia chemokin IP-10 (CXCL10), MIG (CXCL9), RANTES (ang. *regulated upon activation normal T-cell expressed and secreted*) obserwuje się w płynie mózgowo-rdzeniowym osób chorych na SM. Chemokiny w dwojaki sposób uczestniczą w patogenezie SM: jako swoiste chemoatraktanty odpowiadają za migrację limfocytów, ponadto wzmagają aktywację i różnicowanie grasiczozależnych limfocytów T, jak również wytwarzanie cytokin (Tutaj i Szczepanik 2006).

Szczególną rolę w patogenezie SM przypisuje się enzymom uszkadzającym BBB – metaloproteazom, ułatwiającym przechodzenie limfocytów do OUN, aktywującym TNF- α , uczestniczącym w powstawaniu ognisk demielinizacji oraz w degradacji białka zasadowego mieliny będącego elementem osłonki mielinowej (Kurzepa i wsp. 2005; Losy 2009; Mirshafiey i wsp. 2013).

Do komórek biorących udział w patogenezie SM należą także komórki dendrytyczne (ang. *dendritic cells*; DC) wytwarzające cytokiny prozapalne, takie jak: TNF- α , IL-6 oraz IL-12 (Tutaj i Szczepanik 2006).

Istotną rolę w immunopatologii SM odgrywa ponadto nieprawidłowa regulacja procesu apoptozy. Na skutek

zaburzonego procesu apoptozy nie dochodzi do eliminacji cytotoksycznych limfocytów T przechodzących przez BBB, co w konsekwencji prowadzi do utraty oligodendrocytów w OUN.

Rezultatem aktywności enzymów proteolitycznych, cytokin, jak również RFT/RFA jest uszkodzenie zarówno aksonów w obrębie aktywnych ognisk demielinizacji, jak i pozornie prawidłowej istoty białej. Do klinicznej progresji choroby przyczynia się także postępujące uszkodzenie aksonów w obrębie nieaktywnych ognisk demielinizacji (Losy 2009).

Limfocyty T, a w szczególności limfocyty pomocnicze Th1 oraz Th17 są podstawowymi komórkami układu odpornościowego, kierującymi procesami immunopatologicznymi. Limfocyty regulatorowe (Treg) dzielą się na dwie populacje: naturalną (komórki B, komórki NK (ang. *natural killer*), komórki NKT (ang. *natural killer T-cells*) oraz indukowaną (pomocnicze limfocyty T CD4) (Buc 2013). Większość przeprowadzonych badań wskazuje na kluczową rolę komórek T w patogenezie SM.

W patogenezie SM ważną rolę odgrywają wieloczynnikowe interakcje pomiędzy czynnikami środowiskowymi a predyspozycjami genetycznymi, doprowadzające do demielinizacji aksonów. Udział mediatorów prozapalnych, zakażeń wirusowych, czynników stresu oksydacyjnego odgrywa istotną rolę w patogenezie choroby. Mechanizmy oraz czynniki demielinizacji aksonów zostały przedstawione w tabeli 1 (Losy 2009; Horssen i wsp. 2011; Colca i Feinstein 2012; Kesidou i wsp. 2013; Lubina-Dąbrowska 2013; MENA Report 2013).

Diagnostyka SM

Diagnoza SM opiera się na kryteriach McDonalda (tabela 2), które obejmują wielogniskowość choroby, oraz na rozpoznawaniu rozprzestrzeniania zmian w czasie (ang. *dissemination of lesions in time*; DIT) i przestrzeni (ang. *dissemination of lesions in space*; DIS) (Polman i wsp. 2011). Krokiem milowym w epidemiologii SM były badania Lassmanna i wsp., którzy zaproponowali nową klasyfikację zmian histopatologicznych w SM. W podziale tym wyróżnia się 4 podtypy plak demielinizacyjnych (tabela 3), a jego podstawę stanowią różnice w zakresie struktury i umiejscowienia plaki, ekspresji białek mielinowych, a także rodzaju uszkodzeń osłonki mielinowej (Stasiołek i wps. 2005; Miljkovic i Spasojević 2013).

Badania dodatkowe, takie jak: wzrokowe potencjały wywołane, rezonans magnetyczny (tabela 4), mają przede wszystkim na celu wspomaganie diagnozy SM. Jednak w przypadku gdy diagnostyka kliniczna jest niewystarczająca, mogą one stanowić kryterium konieczne do rozpoznania (McDonald i wsp. 2001; Siger 2008; Fox i wsp. 2011; Członkowska 2012; Marcus i wsp. 2013).

Tabela 1 Mechanizmy i czynniki uszkodzeń aksonów

Mechanizmy/czynniki uszkodzeń aksonów	Charakterystyka
Reakcje zapalne	<ul style="list-style-type: none"> Wywołane przez wniknięcie limfocytów T (CD4+, CD8+) do OUN, kiedy w tkance mózgowej występują charakterystyczne nacieki okołonaczyniowe z limfocytów oraz makrofagów, wytwarzających na skutek aktywacji cytokiny prozapalne. Cytokiny te odgrywają istotną rolę w niszczeniu tkanki, gdyż przyczyniają się do procesów demielinizacyjnych. Do najważniejszych z nich zalicza się: TNF-α, IFN-γ oraz IL-2 (Losy 2009).
Reakcje immunologiczne	<ul style="list-style-type: none"> Niespecyficzna reakcja immunologiczna wywołana infekcją wirusową, podczas której cytokiny i proteazy uwalniane przez komórki zapalne uszkodzają mielinę oraz oligodendrocyty. Reakcja autoimmunologiczna w stosunku do antygenów mózgowych (MBP, PLP, MAG) wywołana infekcją wirusową. Kodowanie superantygenów przez odpowiednie wirusy, które bez udziału antygenów zgodności tkankowej stymulują klony limfocytów T. Udział wirusów w aktywacji antygenów zgodności tkankowej klasy II na komórkach obecnych w OUN (Losy 2009).
Proces apoptozy	<ul style="list-style-type: none"> Nieprawidłowa regulacja procesu apoptozy przyczynia się do zaburzeń eliminacji cytotoksycznych limfocytów T oraz utraty oligodendrocytów za pośrednictwem ligandów indukujących apoptozę: Fas i TRAIL (Losy 2009).
Stres oksydacyjny	<ul style="list-style-type: none"> Istotny czynnik w patogenezie SM, prowadzący do procesu demielinizacji aksonów. Ważnym czynnikiem prooksydacyjnym jest nadtlenoazotyn – wzmagający aktywne procesy zapalne odpowiedzialne za progresję choroby. Wybuch tlenowy neutrofilii oraz wzmoczone generowanie RFT i RFA – uszkodzają białka oraz inicjują proces peroksydacji lipidów. Demielinizacja, proces zapalny oraz neurodegeneracja generują RFT (Horrssen i wsp. 2011).
Patologia mitochondrialna	<ul style="list-style-type: none"> Rodniki tlenowe hamują oddychanie mitochondrialne poprzez inhibicję aktywności enzymatycznej dehydrogenazy pirogronianowej oraz oksydazy cytochromowej, wykazują działanie silnie cytotoksyczne na komórki nerwowe: astrocyty i oligodendrocyty, doprowadzając do procesu demielinizacji. RFT powodują dysfunkcję mitochondriów na skutek fosforylacji oksydacyjnej, doprowadzając do zmniejszonej produkcji ATP i blokując transport aksonów. Zmniejszona ilość ATP zaburza proces przekazywania informacji synaptycznej z ciała komórki do komórek nerwowych i tym samym przyczynia się do postępującej patologii SM (Colca i Feinstein 2012; Kesidou i wsp. 2013; Lubina-Dąbrowska 2013; MENA report, 2013).

Tabela 2 Kryteria McDonalda (modyfikacja Polmana z 2010 r.); (Polman i wsp. 2011)

Pierwsze kryterium
Stwierdzenie w objawach klinicznych SM:
<ul style="list-style-type: none"> ≥ 2 rzutów choroby rozsianych w czasie z objawami neurologicznymi lub 2 rzutów choroby, w tym 1 rzutu stwierdzonego przez badającego oraz 1 rzutu w wywiadzie W kryterium tym brakuje konieczności wykonywania dodatkowych badań.
Drugie kryterium
Stwierdzenie w objawach klinicznych SM:
<ul style="list-style-type: none"> ≥ 2 rzutów choroby rozsianych w czasie, w sytuacji, w której objawy neurologiczne wskazują na tę samą lokalizację ogniska Wymagane są dodatkowe badania w celu rozpoznania SM. Wiarygodny jest w tym przypadku MR wskazujący na obecność rozsianych w przestrzeni zmian (stwierdzenie minimum po 1 zmianie demielinizacyjnej w sekwencji długiego czasu relaksacji T2), w co najmniej dwóch z czterech lokalizacji typowych dla SM (okołokomorowo, podkorowo, podnamiotowo lub w rdzeniu kręgowym) lub oczekiwanie na kolejny rzut o innej lokalizacji.
Trzecie kryterium
Stwierdzenie w objawach klinicznych SM:
<ul style="list-style-type: none"> 1 rzutu choroby, ale o objawach z ≥ 2 różnych lokalizacji Wymaganymi dodatkowymi badaniami są: MR stwierdzający równoczesną obecność asymptomatycznej zmiany wzmacniającej się po podaniu gadoliny i zmian(y) niewzmacniających się w badaniu wykonanym w dowolnym czasie po rzucie lub stwierdzenie nowych ognisk w sekwencji T2 i/lub zmiany wzmacniającej się po kontraście w kontrolnym badaniu MR lub stwierdzenie wystąpienia kolejnego rzutu.
Czwarte kryterium
Stwierdzenie w objawach klinicznych SM:
<ul style="list-style-type: none"> 1 rzutu pochodzącego z 1 ogniska Wymagane badania dodatkowe: <ul style="list-style-type: none"> w badaniu MR dla stwierdzenia rozsiania zmian w przestrzeni wymagane jest wykazanie obecności ≥ 1 ogniska w sekwencji T2 w minimum dwóch z czterech lokalizacji typowych dla SM lub oczekiwanie na kolejny rzut o innej lokalizacji; dla stwierdzenia rozsiania zmian w czasie wymagane jest wykazanie równoczesnej obecności asymptomatycznej zmiany wzmacniającej się po podaniu gadoliny i zmian(y) niewzmacniających się, w dowolnym czasie po rzucie lub stwierdzenie nowych ognisk(a) i/lub zmiany wzmacniającej się po kontraście T2 w dowolnym czasie po rzucie, lub stwierdzenie nowych ognisk(a) i/lub zmiany wzmacniającej się po kontraście T2 w kolejnym badaniu MR w dowolnym czasie po rzucie, lub oczekiwanie na drugi rzut choroby.

Farmakologia w SM

Strategie w leczeniu SM

Terapia eskalacyjna

Schemat terapii eskalacyjnej jest najpowszechniejszą i najbardziej akceptowalną strategią terapeutyczną postaci rzutowo-remisyjnej stwardnienia rozsianego. W terapii eskalacyjnej leczenie pacjentów rozpoczyna się od podawania leków o najwyższym wskaźniku skuteczności i bezpieczeństwa, a więc główną rolę odgrywają tu leki immunomodulujące pierwszego rzutu: interferon β oraz octan glatirameru. Leki drugiego rzutu

(mitoksantron, natalizumab) stosowane są w przypadku niepowodzenia bądź uzyskania tylko i wyłącznie częściowego efektu (Rejda 2010).

Terapia indukcyjna

Terapia indukcyjna stosowana jest u tych pacjentów, u których zaobserwowano bardzo dużą aktywność przebiegu choroby, jak również szybkie narastanie deficytu neurologicznego. W terapii tej stosuje się leki o znacznie silniejszym efekcie immunosupresyjnym, ale jednocześnie o zwiększonym ryzyku nietolerancji (mitoksantron) z kontynuacją leczenia immunomodulującego (Rejda 2010).

Na podstawie długoterminowych obserwacji stwierdzono, że obecnie stosowane metody leczenia hamują

Tabela 3 Klasyfikacja plak według Lassmanna i wsp. (Stasiołek i wsp. 2005; Miljkovic i Spasojević 2013)

Typy plak	Charakterystyka
I i II	<ul style="list-style-type: none"> • dobrze ograniczone obszary aktywnej demielinizacji skupione wokół małych naczyń żylnych (intensywna infiltracja makrofagów, uszkodzenia oligodendrocytów) • obszary nieaktywne z procesami remielinizacji i odnowy oligodendrocytów • zmniejszenie gęstości aksonów • obecność złogów aktywnych komponentów dopełniacza oraz immunoglobulin, charakterystyczna tylko i wyłącznie dla typu II plak
III	<ul style="list-style-type: none"> • brak ścisłego związku z małym naczyniem żylnym • brak wyraźnego odgraniczenia od zdrowej tkanki • występowanie zmian ekspresji białek mielinowych i morfologii oligodendrocytów (proces apoptozy) • zaawansowane zmiany zapalne endotelium drobnych naczyń dodatkowo przemawiające za podłożem niedokrwiennym
IV	<ul style="list-style-type: none"> • zaobserwowano u pacjentów z przewlekłą postacią SM, u których występuje brak odpowiedzi immunologicznej charakteryzują się występowaniem nieodwracalnych uszkodzeń oraz nieodwracalnej utraty oligodendrocytów • w plakach tego typu nie obserwuje się procesu remielinizacji ani odnowy oligodendrocytów

Tabela 4 Badania dodatkowe SM

Badania wspomagające diagnostykę SM	
Wzrokowe potencjały wywołane	<ul style="list-style-type: none"> • Badanie to obrazuje prędkość przemieszczania się sygnałów elektrycznych pomiędzy receptorami wzroku, słuchu czy dotyku a mózgiem. • Potencjały elektryczne rejestrowane po zadziałaniu odpowiedniego bodźca dostarczają informacji o sprawności przesyłania impulsów nerwowych. • Na podstawie występowania nieprawidłowych potencjałów rozpoznaje się ogniska demielinizacji. • Nieinwazyjna metoda obrazowania funkcjonowania mózgu (Członkowska 2012; Marcus i wsp. 2013).
Badania pozwalające na wykluczenie innych przyczyn obserwowanych objawów klinicznych bądź też zmian w istocie białej	
Badania obrazowe: badania rezonansem magnetycznym (ang. magnetic resonance; MR)	<ul style="list-style-type: none"> • Nieinwazyjna i wysoce obiektywna technika oceniająca uszkodzenia układu nerwowego u chorych na SM, stanowiąca zasadniczy parametr rozpoznania SM wg kryteriów McDonald. • Barkhof, a następnie Tintore zaproponowali ściśle kryteria badań MR w diagnostyce SM, które zalekomendowane zostały przez Międzynarodowy Panel Ekspertów jako najbardziej czułe i swoiste kryteria wskazujące na proces demielinizacyjny. <p>Kryterium 1:</p> <ul style="list-style-type: none"> • obecność 1 zmiany ulegającej wzmocnieniu kontrastowemu lub 9 zmian hiperintensywnych na obrazach T2 – zależnych (zmiany są ciemniejsze od otaczającej tkanki), w przypadku braku zmian wzmocniających się <p>Kryterium 2:</p> <ul style="list-style-type: none"> • stwierdzenie przynajmniej 1 zmiany o lokalizacji podkorowej <p>Kryterium 3:</p> <ul style="list-style-type: none"> • stwierdzenie przynajmniej 1 zmiany położonej podnamiotowo <p>Kryterium 4:</p> <ul style="list-style-type: none"> • obecność co najmniej 3 zmian o lokalizacji przykomorowej (McDonald i wsp. 2001; Siger 2008; Fox i wsp. 2011)

tylko w sposób umiarkowany narastanie nieodwracalnego deficytu neurologicznego. Dlatego też istnieje potrzeba poszukiwania nowych metod terapeutycznych oraz zwiększenia ich skuteczności, a także indywidualizacji terapii – dostosowanej do potrzeb określonych populacji pacjentów (Rejda 2010).

Leczenie

Dotychczas nie opracowano żadnego skutecznego sposobu leczenia chorych na SM. Wciąż sprowadza się ono do leczenia objawowego, spowalniającego postęp choroby oraz zapobiegającego wystąpieniu lub pogłębieniu się inwalidztwa. Obecnie leczenie SM dzieli się – ze względu na drogę podania – na: terapię iniekcyjną, terapię dostępną i wlewy dożylnie (tabela 5). Inny podział obejmuje leczenie immunomodulujące przebieg choroby: leki I, II i III rzutu (tabela 5).

Komórki macierzyste a SM

Komórki produkowane w szpiku kostnym wykazują zdolność do samoodnowy i różnicowania się w dowolne wyspecjalizowane komórki, pełniące ściśle określone funkcje. Wyróżnia się komórki macierzyste embrionalne: totipotencjalne i pluripotencjalne; nieembrionalne oraz multipotencjalne różnicujące się w tkanki, narządy w obrębie jednego z trzech listków zarodkowych (ektodermę, mezodermę i endodermę). Komórki macierzyste somatyczne – tkankowo ukierunkowane – obecne są w organizmie człowieka zaraz po urodzeniu. Komórki te wykazują zdolność odtwarzania komórek w obrębie danej tkanki, na przykład: nerwowej, skórnej, krwiotwórczej czy mięśniowej. Odkrycie niezróżnicowanych, aktywnych proliferacyjnie nerwowych komórek macierzystych w dojrzałym mózgu stanowi przełom we współczesnej neurobiologii (Machaliński 2008).

Ośrodkowy układ nerwowy to struktura, która ma ograniczoną zdolność regeneracji tkanek utraconych w wolno postępujących, zwyrodnieniowych chorobach neurologicznych, takich jak SM, choroba Parkinsona, choroba Alzheimera czy choroba Huntingtona, bądź u pacjentów po ostrych urazach, takich jak udar mózgu. Co prawda, dojrzały mózg posiada pewną rezerwę komórek macierzystych, lecz nie jest ona dostatecznie duża i nie przyczynia się znacząco do odzyskiwania funkcji przez chorych. Ogromne nadzieje w obliczu chorób neurodegeneracyjnych, które od lat stanowią wyzwanie dla naukowców, pokłada się w przeszczepianiu komórek macierzystych płodowych lub wyizolowanych z krwi pępowinowej. W poprzedniej dekadzie uzyskano budzące nadzieje efekty regeneracji tkanek OUN za pomocą komórek macierzystych w zwierzęcych modelach choroby SM, Parkinsona, Huntingtona i Alzheimera.

Za obiecującą metodę leczenia pacjentów z wtórnie postępującą postacią stwardnienia rozsianego uważa się terapię z zastosowaniem autologicznych, mezenchymalnych komórek macierzystych (Machaliński 2008; Ross i Akimov 2014).

Naukowcy z Cambridge wykazali neuroprotektoryjny wpływ komórek macierzystych, za który odpowiedzialny jest mechanizm parakryny. Badania przeprowadzane były z udziałem chorych z wtórnie postępującą postacią SM, z objawami ze strony narządu wzrokowego, od których wyizolowano komórki mezenchymalne pnia i którym następnie wszczepiano ich własne, uprzednio oczyszczone komórki macierzyste. Co najważniejsze, naukowcy nie zaobserwowali żadnych poważnych działań niepożądanych. U chorych stwierdzono poprawę parametrów wzorkowych, w tym poprawę ostrości widzenia i zwiększenie powierzchni nerwu wzrokowego. Nie zanotowano wpływu leczenia na widzenie barw, pole widzenia, objętość plamki żółtej i grubość warstwy włókien nerwowych siatkówki (Connick i wsp. 2012).

Również greccy naukowcy (Fassas i Mancardi 2008) uzyskali obiecujące efekty w leczeniu agresywnych form SM. Badacze dokonali zabiegu przeszczepu komórek macierzystych chorym z szybko postępującym SM, ocenianym w skali EDSS na 6 punktów (chorzy poruszający się o lasce bądź o kulach), którzy wcześniej byli leczeni innymi metodami, jednakże z niewielkim skutkiem. Po zakończonej kuracji stan niektórych pacjentów poprawił się na tyle, że zakwalifikowano ich do grupy o jeden stopień niżej. Efekt ten utrzymywał się przez 2 lata. Ponadto zaobserwowano, że zmiany patologiczne w mózgu chorych pojawiały się znacznie rzadziej i odznaczały się mniejszym nasileniem.

Przedstawione wyniki są obiecujące, jednakże terapii tej nie można stosować rutynowo, gdyż obecnie jest ona w fazie badań. Niemniej jednak zastosowanie jej powinno być poważnie brane pod uwagę w sytuacji ratowania życia u osób z agresywnym i złośliwym przebiegiem choroby (Machaliński 2008).

Regeneracja uszkodzonych struktur OUN stawia przed badaczami najtrudniejsze wyzwanie, jednakże i w tym obszarze rysuje się nadzieja na znaczące postępy w rozwoju terapii komórkami macierzystymi.

Przełomowe badania prowadzi także zespół naukowców z Uniwersytetu z Rochester, który opracował nowatorski sposób walki z SM, w którym wykorzystuje się komórki macierzyste nie pochodzące z embrionów ani krwi pępowinowej, tylko z ludzkich komórek skóry, które ostatecznie przekształcają się za pomocą indukowanych pluripotencjalnych komórek macierzystych (iPS) w komórki progenitorowe oligodendrocytów (OPC). Oligodendrocyty są komórkami niezbędnymi do rozwoju mieliny w mózgu i rdzeniu kręgowym. Najistotniejszym faktem jest to, że iPS można wyizolować z każdego rodzaju dorosłych komórek, dzięki czemu wytwarzanie odbudowujących osłonki mielinowe komórek

Tabela 5 Formy leczenia SM

TERAPIA INIEKCYJNA		
Interferony beta (INFβ: INFβ-1b, INFβ-1a)		
Zakwalifikowani zostają:		
<ul style="list-style-type: none"> chorzy w różnych stadiach choroby oraz z różnym nasileniem jej przebiegu; pacjenci z rozpoznaniem tzw. klinicznie pewnym SM wg kryteriów McDonald'a i wsp., tzn. pacjenci z rzutową postacią SM, głównie w początkowym okresie choroby z zachowaną sprawnością ruchową (w skali EDSS Kurtzkiego <3,5 pkt.); chorzy w młodym wieku, posiadający objawy deficytu neurologicznego, o częstości rzutów 2/rok; chorzy z niewielkim deficytem neurologicznym, pacjenci z pierwszym rzutem świeżo rozpoznanego SM i bez deficytu w badaniach neurologicznych, osoby, u których na podstawie MR uwidoczono kilka drobnych uszkodzeń i tzw. czarnych dziur, i kobiety z pozagławkowym zapaleniem nerwu wzrokowego oraz niewielkimi objawami czuciowymi od początku SM; chorzy z czasem trwania choroby ponad 10 lat oraz z deficytami ruchowymi oraz zaburzeniami zwieraczy (w tym również osoby o niepomyślnym rokowaniu); (Maciejek 2010). 		
Octan glatirameru (ang. <i>glatiramer acetate</i>; GA)		
<ul style="list-style-type: none"> Syntetyczny polimer aminokwasów, składający się z mieszaniny kwasu L-glutaminowego, L-lizyny, L-alaniny i L-tyrozyny. Wchodzi w reakcję krzyżową z białkiem MBP mieliny na poziomie humoralnym oraz komórkowym. Wiążąc się z cząsteczką MCHC II na powierzchni komórek prezentujących antygen, indukuje swoiste limfocyty T supresorowe oraz hamuje swoiste limfocyty T efektorowe, spowalniając postęp SM. Stosuje się jako lek I rzutu bądź w przypadku niepowodzenia lub nietolerancji INFβ, wymuszającej przerwanie terapii. Powszechnie uznawany za środek bezpieczny i skuteczny. Najczęstszymi skutkami ubocznymi stosowania GA są: wysypka (19%), nudności (15%), duszność (14%), ból w klatce piersiowej (13%), lęk (13%), zakażenia (30%) i reakcje odczynowe w miejscu wstrzyknięcia (27–49%). Leczenie za pomocą GA ma również na celu zmniejszanie akumulacji czarnych dziur, stanowiących wynik nieodwracalnych uszkodzeń osłonki mielinowej aksonu. Charakteryzuje się dobrą oraz trwałą skutecznością kliniczną, z około 30-proc. zmniejszaniem rocznych częstości nawrotów oraz optymalnym profilem bezpieczeństwa (Caporrio i wsp. 2014). 		
TERAPIA DOUSTNA		
Fumaran dimetylu (ang. <i>dimethyl fumarate</i>; BG-12)		
<ul style="list-style-type: none"> Mechanizm działania związany jest z chemiczną modyfikacją Keap1 – białka represorowego. W wyniku tego procesu dochodzi do stabilizacji czynnika transkrypcyjnego Nrf2 oraz do jego transportu do jądra komórkowego, co w konsekwencji doprowadza do aktywacji kaskady szlaków cytoprotekcyjnych oraz antyoksydacyjnych. Hamowanie przekazywania zależnych od czynnika transkrypcyjnego NF-kappaB sygnałów prozapalnych powoduje supresję odpowiedzi prozapalnej oraz indukcję cytokin przeciwzapalnych. Phillips i wsp. w badaniach III fazy u chorych z RR SM wykazali, że podanie fumaranu dimetylu spowodowało zmniejszenie o ok. 44–53% rocznej częstości rzutów oraz zmniejszenie o 71–85% częstości występowania nowych zmian w sekwencjach T w badaniu MR (Phillips i Fox 2013). Gold i wsp. dowiedli, że fumaran dimetylu zmniejsza rzuty choroby o około 50% w stosunku do placebo (Gold i wsp. 2014). Skuteczność terapii fumaranem dimetylu w leczeniu SM wykazano w dwóch badaniach (DEFINE oraz CONFIRM) fazy III (Nuzzo i wsp. 2014). Fumaran dimetylu w badaniach fazy II wykazał korzystny wpływ na zmniejszanie aktywności rzutowej oraz obniżenie ilości powstających aktywnych zmian obrazowanych w badaniach MR. Łączy w sobie wysoką skuteczność, korzystny profil bezpieczeństwa, a podawanie doustne stanowi wygodną opcję terapeutyczną dla pacjentów chorych na RR SM (Nicholas i wsp. 2014). 		
Teriflunomid		
<ul style="list-style-type: none"> Jest aktywnym metabolitem leku stosowanego w długotrwałym leczeniu reumatoidalnego zapalenia stawów – leflunomidu, metabolizowanego <i>in vivo</i>. Mechanizm jego aktywacji polega na odwracalnym hamowaniu aktywności dehydrogenazy dihydroorotanu, enzymu obecnego w mitochondriach oraz wymaganego do biosyntezy pirymidyny <i>de novo</i> niezbędnej do procesu replikacji DNA. Hamuje w sposób selektywny i odwracalny syntezę pirymidyny, przyczyniając się do blokowania aktywacji oraz proliferacji stymulowanych limfocytów (komórki T i B). Zmniejsza nawroty choroby oraz opóźnia postęp niepełnosprawności (Bar-Or i wsp. 2014). 		
Fingolimod		
<ul style="list-style-type: none"> Niedawno zarejestrowany w leczeniu RRMS fingolimod jest niezwykle obiecującym doustnym lekiem modyfikującym przebieg choroby. Ten agonista receptora sfingozyno-1-fosforanu (S1P) wykazuje ~60% skuteczności w redukcji rzutów choroby oraz opóźnieniu niepełnosprawności w SM (Gasperini i Ruggieri 2012). Obok właściwości przeciwzapalnych, sprzyja remielinizacji w OUN poprzez bezpośrednią interakcję z oligodendrocytami (Brinkmann 2009). Dzięki modulacji receptora S1P1 występującego na limfocytach, uniemożliwia swobodne opuszczanie przez limfocyty tkanek limfatycznych, tym samym przyczynia się do zmniejszenia napływu autoagresywnych limfocytów T do OUN, w którym wywołują stan zapalny oraz uszkodzenia tkanek (Lubina-Dąbrowska i wsp. 2013). 		
WLEWY DOŻYLNIE		
Natalizumab		
<ul style="list-style-type: none"> Nowoczesny mechanizm jego działania polega na blokowaniu receptora limfocytarnej α4β1-integriny (VLA-4), co zapobiega jej związaniu z cząsteczką adhezyjną (VCAM-1) zlokalizowaną na śródbłonku naczyń mózgowych, tym samym uniemożliwiając przechodzenie limfocytów przez BBB (Selmaj i Losy 2007). Wykazuje większą skuteczność, bo ~60%, w ograniczaniu częstości rzutów w porównaniu z pozostałymi lekami wykazującymi właściwości immunomodulujące, których skuteczność szacuje się na ~30%. Pomimo dobrej skuteczności, lek ten wywołuje groźne powikłania, do których należy m.in.: postępująca wieloogniskowa encefalopatia (ang. <i>progressive multifocal leukoencephalopathy</i>; PML) związana z infekcją oportunistyczną onkogennym wirusem JC (Rudick i Pazura 2008). 		
LEKI MODULUJĄCE PRZEBIEG CHOROBY		
I rzutu	II rzutu	III rzutu
<ul style="list-style-type: none"> INF β octan glatirameru teriflunomid 	<ul style="list-style-type: none"> fingolimod natalizumab 	<ul style="list-style-type: none"> Declizumab skierowany przeciwko antygenom CD25 wstępne badania wskazują zarówno dobry profil bezpieczeństwa, jak i tolerancji leku oraz efektywność kliniczną ocenianą w obrazach MRI w RR SM zarówno w monoterapii, jak i w skojarzeniu z IFN-β (Loleit i wsp. 2014) Alemtuzumab humanizowane przeciwciało monoklonalne skierowane przeciwko antygenom CD-52 obecnym na limfocytach T i monocytach prowadzi do hamowania wystąpienia rzutów choroby i zmniejszania stopienia niesprawności chorych wykazano, że posiada on większą skuteczność w porównaniu z INF β-1a w redukcji rzutów choroby i postępu nieprawności (Mori 2014) Kladribina przyczynia się do zaburzenia syntezy DNA limfocytów ma na celu zmniejszenie ilości rzutów oraz ognisk demielinizacyjnych nadal prowadzone są próby nad dawkami oraz drogą podania (Minagar 2013)

progenitorowych oligodendrocytów wydaje się znacznie łatwiejsze. A to oznacza ogromną nadzieję dla chorych na SM, jak również osób cierpiących na inne choroby neurodegeneracyjne (Chen i wsp. 2014).

Nanocząsteczki a SM

Nowatorska metoda z zastosowaniem biodegradowalnych nanocząsteczek, których stosowanie nie wpływa na całkowitą wydolność układu odpornościowego, została opracowana przez naukowców z Chicago. Badania przeprowadzone na gryzoniach laboratoryjnych przez Hunter i wsp. (2014) polegały na dołączeniu antygenów mieliny do biodegradowalnych nanocząsteczek, które po dożylnym podaniu przedostawały się do śledziony, gdzie pochłaniane były przez makrofagi. Makrofagi prezentowały na swojej powierzchni otrzymane antygeny, postrzegane przez organizm jako normalne białko powstające w wyniku rozpadu naturalnych komórek organizmu. Tym samym, poprzez inhibicję limfocytów T oraz zwiększenie liczby limfocytów T regulatorowych, redukujących szkodliwą reakcję immunologiczną, badacze wyindukowali tolerancję antygenową na mielinę. Dzięki temu zabiegowi inhibicji uległa tylko ta część układu immunologicznego, która odpowiadała za atak na własne osłonki mielinowe, a jednocześnie nie został upośledzony cały układ odpornościowy. Ostatecznie badania pokazały, że wstrzyknięcie nowego leku zwierzętom laboratoryjnym zapobiegało nawrotom choroby do około 100 dni – co stanowiłoby odpowiednik kilku lat u ludzi (Singh i wsp. 2012; Hunter i wsp. 2014).

Farmakogenetyka a SM

W obliczu powszechnego problemu, jakim są odmienne u różnych chorych reakcje na leki, co przyczynia się do niepowodzeń terapeutycznych w leczeniu SM, obiecującym kierunkiem poszukiwań, wspomagającym leczenie SM, może być farmakogenetyka, nauka zajmująca się indywidualną reakcją organizmu na leki. Odpowiedź osobnicza, wynikająca ze zmienności genetycznej, została po raz pierwszy zdefiniowana w 1959 roku przez dr. Friedricha Vogela. Badania farmakogenetyczne mają na celu zwiększanie skuteczności oraz zminimalizowanie toksyczności leków immunomodulujących, jak również dobór leków w sposób indywidualnie dopasowany do danego pacjenta. Opracowywanie testów genetycznych, które pozwoliłyby przewidzieć skuteczność określonego leku przed jego zastosowaniem, jest więc jednym z najważniejszych praktycznych zastosowań farmakogenetyki. Niestety wciąż najistotniejszą przeszkodą dla rutynowego wykorzystywania badań farmakogenetycznych w praktyce klinicznej jest ich relatywnie wysoki koszt.

Standardowe analizy farmakogenetyczne mogłyby przyczynić się do ograniczania liczby chorych niezbędnych do przeprowadzania wczesnych faz badań klinicznych nowego leku, tym samym zmniejszając ich koszty i przyspieszając wyniki.

Wykorzystywanie informacji zawartej w kodzie genetycznym w celu dobrania indywidualnej terapii dla każdego pacjenta jest niewątpliwie bardzo ważnym kierunkiem współczesnej medycyny, mimo iż wymaga dalszych badań oraz wprowadzenia metod biologii molekularnej do codziennej diagnostyki. Bardzo prawdopodobne jest, że farmakogenetyka oraz inne nowoczesne dziedziny badań, np. farmakoproteomika, w niedalekiej przyszłości doprowadzić mogą do zmniejszenia kosztów leczenia (związanych z refundacją leków), co byłoby niewątpliwie korzystne zarówno dla pacjenta, jak i budżetu służby zdrowia (Lipińska i wsp. 2013). W badaniach farmakogenetycznych przeprowadzonych w 2008 roku przez Lisę ven Baarsen i wsp. na 126 genach pochodzących od osób z SM zaobserwowano brak różnic w ekspresji genów po podaniu INF 1b oraz INF 1a, i tym samym udowodniono, że różnice pomiędzy tymi preparatami pod względem ich skuteczności są nieznaczne i często niewykrywalne. Badania te pozwoliły na standaryzację leczenia INF oraz umożliwiły określenie skuteczności leku przed jego zastosowaniem. Zarazem te same badania wykazały, że ekspresja genów po podaniu INF jest różna u poszczególnych chorych na SM (van Baarsen 2008). Potwierdza to potrzebę prowadzenia dalszych badań farmakogenetycznych nad dostosowaniem terapii do pacjenta w oparciu o indywidualną reakcję chorego na leczenie, tolerancję na lek czy akceptowalny sposób podawania leku.

Krioterapia ogólnoustrojowa – zabieg wspomagający funkcjonowanie chorych na SM

Nowatorską propozycją w leczeniu SM są zabiegi krioterapii, przede wszystkim krioterapii ogólnoustrojowej (ang. *whole-body cryotherapy*; WBCT). W chorobach demielinizacyjnych zaobserwowano u chorych złą tolerancję zabiegów hipertermicznych i stąd zrodził się pomysł zastosowania hipotermii u osób ze SM. Udowodniono, że u chorych na SM do nasilania zespołu zmęczenia, osłabiania siły mięśniowej oraz pogarszania jakości życia dochodzi w momencie przegrzania organizmu bądź też po zastosowaniu hipertermii (Grahn i wsp. 2008). Krioterapia polega na obniżaniu temperatury powierzchni ciała przez czas nie dłuższy niż 3 minuty (Pruszkowska i wsp. 2009). Ta nieinwazyjna forma terapii nie powoduje destrukcji tkanek, a co najważniejsze – nie obniża temperatury narządów wewnętrznych. Przyczynia się do oziębiania tkanek powierzchniowych i wywołuje niewielkie zmiany w mikrokrążeniu. Zabieg uważa się za w pełni bezpieczny (Bleakley i wsp. 2014).

Celem zabiegów krioterapeutycznych jest wywołanie oraz wykorzystanie fizjologicznych, ogólnoustrojowych reakcji organizmu na zimno, co wspomaga leczenie podstawowe oraz rehabilitację pacjentów z SM (Brojek i Warzocha 2006). Podczas krioterapii, która odbywa się w specjalnym pomieszczeniu schładzanym ciekłym azotem do temperatury od -100°C do -120°C , dochodzi do krótkotrwałego, 2–3-minutowego, schładzania całego ciała. W początkowej fazie zabiegów krioterapii ogólnoustrojowej schładzanie całego ciała trwa 2 minuty i odbywa się w temperaturze -110°C , zaś pod koniec serii zabiegów schładzanie trwa do 3 minut i odbywa się w temperaturze -120°C (Miller i wsp. 2010a). Kriostymulacja ogólnoustrojowa jest metodą coraz częściej stosowaną w terapii schorzeń neurologicznych, ponieważ obniża napięcia mięśniowe (działanie analgetyczne) oraz daje efekty przeciwdepresyjne. Ponadto krioterapia wpływa pozytywnie także na efektywność stosowanej kinezyterapii u osób chorych na SM, ponieważ krańcowo niskie temperatury w sposób istotny znoszą napięcie mięśni. Dzieje się tak na skutek spowolnienia przewodnictwa nerwowego oraz zmniejszenia reaktywności obwodowych zakończeń czuciowych, częściowej blokady płytki motorycznej oraz γ -motoneuronów, jak również receptorów napięcia mięśni: w ścięgnach – aparatów Golgiego, w mięśniach – wrzecion nerwowo-mięśniowych. Po równoczesnym zastosowaniu serii zabiegów kriostymulacji i procesu relaksacji mięśni obserwuje się wzrost siły mięśniowej, a także subiektywną analgezję utrzymującą się nawet przez kilka miesięcy (Miller 2010; Suszko 2003).

Krioterapia ogólnoustrojowa stosowana u osób chorych na SM wypiera zabiegi mające na celu schładzanie ciała w temperaturze $6-10^{\circ}\text{C}$, stosowane jako leczenie objawowe, przyczyniające się do poprawy funkcjonalnej chorego (Gilgun-Sherki i wsp. 2004).

Krioterapia ogólnoustrojowa jest jedynie zabiegiem wspomagającym fizjoterapię, mającym na celu usprawnienie ruchowe osób z SM. Udowodniono, że stosowanie krioterapii ogólnoustrojowej wraz z rehabilitacją jest bezpieczną i skuteczną terapią wspomagającą dla osób chorych na SM (Munger i Ascherio 2007).

Plastry w walce ze stwardnieniem rozsianym

Metoda polegająca na naklejanu na skórę plastra z trzema białkami mielinowymi jest jedną z najnowszych i bardzo obiecujących metod leczenia SM. Wyniki przedstawione przez Selmaja i wsp. wskazują, że ta nowa metoda, będąca jeszcze w fazie badań, hamuje zmiany chorobowe w mózgu, zmniejsza liczbę rzutów choroby, przez co przyczynia się do poprawy stanu zdrowia pacjentów. Podczas badań przeprowadzonych z udziałem 30 pacjentów wykazano, że antygeny mielinowe stymulują powstawanie komórek dendrytycznych, które, przemieszczając się do węzłów chłonnych, uczą autoagresywne limfocyty rozpoznawania

od początku białek mielinowych jako swoich własnych. Na podstawie badań z użyciem rezonansu magnetycznego dowiedziano, że po roku czasu u pacjentów, którym naklejono plastry z białkami mielinowymi, doszło do zmniejszenia zmian chorobowych w mózgu, zmniejszenia częstości zaostrzeń SM oraz poprawy stanu klinicznego. Do tej pory nie zaobserwowano skutków ubocznych tej terapii, co wynika prawdopodobnie z mechanizmu jej działania. Plastry, zmniejszając aktywność układu odpornościowego tylko w stosunku do składników mielin, zachowują pozostałe jego funkcje. Wszystkie inne leki stosowane w terapii hamują funkcje układu odpornościowego, obniżając zdolności obronne układu odpornościowego (Walczak i wsp. 2013).

Podsumowanie

Stwardnienie rozsiane jest chorobą autoimmunologiczną, dotykającą głównie młode osoby między 20. a 40. rokiem życia. Jest stanem chorobowym trwającym przez całe życie od momentu wystąpienia pierwszych objawów klinicznych. To jedna z najczęstszych przyczyn narastającej niepełnosprawności. Mimo postępu wiedzy na temat SM, etiologia choroby pozostaje nieznana.

Dostępne obecnie terapie zapobiegają występowaniu rzutów, łagodzą ich skutki i ograniczają częstość ich występowania, nie ma jednak skutecznego, potwierdzonego naukowo sposobu leczenia, który pozwałaby spowolnić postęp SM. Do najpowszechniejszych metod terapeutycznych stosowanych w SM należą: terapia eskalacyjna, w której w pierwszej kolejności podawane są leki immunomodulujące I rzutu (interferon β , octan glatirameru) w formie iniekcji, zaś leki II rzutu (mitoksantron, natalizumab) wykorzystywane są w przypadku niepowodzenia; oraz terapia indukcyjna, w przebiegu której kontynuuje się leczenie immunomodulujące, ale równocześnie podawane są leki o znacznie silniejszym efekcie immunosupresyjnym i zwiększonym ryzyku nietolerancji (mitoksantron) (Rejda 2010; Selmaj 2010). Obecnie, obok leków podawanych w postaci iniekcji, dostępne są doustne leki I rzutu (teriflunomid, fumaran dimetylu) oraz II rzutu (fingolimod), które zapoczątkowały nowy etap w terapii SM.

Zastosowanie komórek macierzystych, jak również biodegradowalnych nanocząsteczek, zważywszy na ich tanią produkcję, a także standaryzację, jest krokiem ku popularyzacji terapii i dostępności nowo odkrytych metod leczenia SM (Machaliński 2008; Singh i wsp. 2012).

Krioterapia ogólnoustrojowa może być obiecującą metodą wspomagającą leczenie chorych na SM, zwłaszcza w okresie przewlekłym, która – obok efektów leczenia objawowego – wykazuje właściwości neuroprotektoryjne (Miller 2010).

Natomiast rozwój profilowania farmakogenetycznego może przyczynić się do poprawy skuteczności

leczenia oraz zmniejszenia toksyczności istniejących leków (Lipińska i wsp. 2013).

Jedną z najnowszych form leczenia SM, będącą jeszcze w fazie badań, jest metoda transdermalna, polegająca na naklejeniu specjalnego plastra z białkami mieliny. Na podstawie dotychczas przeprowadzonych badań wykazano, że terapia ta zmniejsza aktywność choroby

o około 70%, jak również liczbę ognisk zapalnych w mózgu. Zaobserwowano także hamowanie postępu niepełnosprawności. Dodatkowym atutem tej metody jest jej całkowite bezpieczeństwo, które wynika z mechanizmu działania plastrów. Mogą one okazać się zatem niezwykle korzystną metodą w leczeniu SM być może w niedalekiej przyszłości (Walczak i wsp. 2013). ■

Conflict of interest and financial support non declared. / Nie zgłoszono konfliktu interesów oraz dofinansowania artykułu.

The work described in this article has been carried out in accordance with The Code of Ethics of the World Medical Association (Declaration of Helsinki) for experiments involving humans, EU Directive 2010/63/EU for animal experiments, and Uniform Requirements for manuscripts submitted to biomedical journals. / Treści przedstawione w artykule są zgodne z zasadami Deklaracji Helsińskiej, dyrektywami EU oraz ujednoliconymi wymaganiami dla czasopism biomedycznych.

References / Piśmiennictwo

- Ascherio A, Munger KL, Simon KC. Vitamin D and multiple sclerosis. *Lancet Neurology* 2010; 9:599–612.
- Bar-Or A, Pachner A, Menguy-Vacheron F, Kaplan J, Wiendl H. Teriflunomide and its mechanism of action in multiple sclerosis. *Drugs* 2014; 6:659–674.
- Bleakley CM, Bieuzen F, Davison GW, Costello JT. Whole-body cryotherapy: empirical evidence and theoretical perspectives. *Open Access J Sports Med* 201; 5:25–36.
- Brinkmann V. FTY720 (fingolimod) in Multiple Sclerosis: therapeutic effects in the immune and the central nervous system. *Br J Pharmacol* 2009; 158:1173–1182.
- Brojek W, Warzocha A. Krioterapia – odpowiedzi na najczęściej zadawane pytania. *Acta. Bio-Opt Inf Med* 2006; 12:108–109.
- Buc M. Role of regulatory T cells in pathogenesis and biological therapy of multiple sclerosis. *Mediators of Inflamm* 2013; 6:471–475.
- Caporro M, Disanto G, Gobbi C, Zecca C. Two decades of subcutaneous glatiramer acetate injection: current role of the standard dose, and new high-dose low-frequency glatiramer acetate in relapsing-remitting multiple sclerosis treatment. *Patient Prefer Adherence* 2014; 8:1123–1134.
- Chaudhuri A, Behan PO. Multiple sclerosis: looking beyond autoimmunity. *J R Soc Med* 2005; 7:303–306.
- Chen L, Coleman R, Leang R, Tran H, Kopf A, Walsh CM i wsp. Human neural precursor cells promote neurologic recovery in a viral model of multiple sclerosis. *Stem Cell Reports* 2014; 6:825–837.
- Colca JR, Feinstein DL. Altering mitochondrial dysfunction as an approach to treating Alzheimer's disease. *Adv Pharmacol* 2012; 64:155–176.
- Connick P, Kolappan M, Crawley C, Webber DJ, Patani R, Mitchell AW, Du MQ, Luan SL, Altmann DR, Thompson AJ, Compston A, Scott MA, Miller DH, Chandran S. Autologous mesenchymal stem cells for the treatment of secondary progressive multiple sclerosis: an open-label phase 2a proof-of-concept study. *Lancet Neurol* 2012; 2:150–156.
- Członkowska A, Śliwińska A. Stwardnienie rozsiane a zespół antyfosfolipidowy – trudności diagnostyczne. *Pol Arch Med. Wewn* 2007; 117:28–32.
- D'Aversa TG, Eugenin EA, Lopez L, Berman JW. Myelin basic protein induces inflammatory mediators from primary human endothelial cells and blood-brain barrier disruption: implications for the pathogenesis of multiple sclerosis. *Neuropathology and Applied Neurobiology* 2013; 39:270–283.
- Embry AF. Integrating CCSVI and CNS autoimmunity in a disease model for MS. *Int Angiol* 2010; 2:93–94.
- Fassas A, Mancardi GL. Autologous hemopoietic stem cells transplantation for multiple sclerosis: is it worthwhile? *Autoimmunity* 2008; 8:601–610.
- Fox RJ, Beall E, Bhattacharyya P, Chen J, Sakaie K. Advanced MRI in Multiple Sclerosis: Current Status and Future Challenges. *Neurol Clin* 2011; 2:357–380.
- Gasperini C, Ruggieri S. Development of oral agent in the treatment of multiple sclerosis: how the first available oral therapy, fingolimod will change therapeutic paradigm approach. *Drug Des Devel Ther* 2012; 6:175–186.
- Gilgun-Sherki Y, Melamed E, Offen D. The role of oxidative stress in the pathogenesis of multiple sclerosis. The need for the effective antioxidant therapy. *J Neurol* 2004; 251:261–268.
- Gold R, Giovannoni G, Phillips JT, Fox RJ, Zhang A, Meltzer L, Kurukulasuriya NC. *Mult Scler* 2014; pii: 1352458514537013.
- Grahn DA, Murray JV, Heller HC. Cooling via one hand improves physical performance in heat-sensitive individuals with multiple sclerosis: a preliminary study. *BMC Neurol* 2008; 8:14.
- Horrssen J, Writte ME, Schreibelt G, Vries HE. Radical changes in multiple sclerosis pathogenesis. *Biochim Biophys Acta* 2011; 2:141–150.
- Hunter Z, McCarthy DP, Yap WT, Harp CT, Getts DR, Shea LD, Miller SD. A biodegradable nanoparticle platform for the induction of antigen-specific immune tolerance for treatment of autoimmune disease. *ACS Nano* 2014; 3:2148–2160.
- Juszczak M, Głabiński A. Udział limfocytów Th17 w patogenezie stwardnienia rozsianego. *Postępy Hig Med. Dosw* 2009; 63:492–501.
- Kesidou E, Lagoudaki R, Touloumi O, Poulatsidou KN, Si-meonidou C. Autophagy and neurodegenerative disorders. *2013*; 24:2275–2283.
- Konikowska K, Regulska-Iłow B. The role of diet in multiple sclerosis. *Postępy Hig Med Dosw* 2014; 0:325–333.
- Kurzepa J, Bartosik-Psujek H, Suchożebrska-Jesionek D, Rejdak K, Stryjecka-Zimmer M, Stelamsiak Z. Role of matrix metalloproteinases in the pathogenesis of multiple sclerosis. *Neurol Neurochir Pol* 2005; 1:63–67.

27. Lassmann H, van Horssen J. The molecular basis of neurodegeneration in multiple sclerosis. *FEBS Lett* 2011; 585:3715–3723.
28. Lassmann H., Pathology and disease mechanisms in different stages of multiple sclerosis. *J Neurol Sci* 2013; 333:1–4.
29. Lipińska N, Kanduła Z, Rubiś B. Pharmacogenetics – an important step towards individualized therapy. *Post Farm* 2013; 1–2:5–14.
30. Loleit V, Biberacher V, Hemmer B. Current and future therapies targeting the immune system in multiple sclerosis. *Curr Pharm Biotechnol.* 2014; 3:276–296.
31. Losy J. Rola czynników immunologicznych i zapalnych w patogenezie stwardnienia rozsianego. *Pol Przegl Neurol* 2009; 4:159–165.
32. Lubina-Dąbrowska N, Stępień A, Chalimoniuk M. Aktualny stan badań nad stwardnieniem rozsianym. *Pol Mer Lek* 2013; XXXIV: 135–139.
33. Machaliński B. Nieembrionalne komórki macierzyste a regeneracja układu nerwowego. *Pol Przegl Neurol* 2008; 4:1.
34. Maciejek Z. Jak ocenić wyniki leczenia SM interferonem β ?. *Pol Przegl Neurol.* 2010; 6.
35. Marcus JF, Waubant EL. Updates on Clinically Isolated Syndrome and Diagnostic Criteria for Multiple Sclerosis. *Neurohospitalist* 2013; 2:65–80.
36. McDonald WI, Compston A, Edan G, Goodkin D, Hartung HP, Lublin FD i wsp. Recommended Diagnostic Criteria for multiple sclerosis: guidelines from the International Panel on the diagnosis of multiple sclerosis. *Ann Neurol* 2001; 50:121–127.
37. MENA Report. The molecular communication mechanism of motor neuron survival and synapse maintenance. 2013. Retrieved from <http://search.proquest.com/docview/1288924543?accountid=15099>
38. Miljković D, Spasojević I. Multiple sclerosis: molecular mechanisms and therapeutic opportunities. *Antioxid Redox Signal* 2013; 18:2286–2334.
39. Miller E, Mrowicka M, Malinowska K, Kędziora J, Majsterek I. Effects of whole body cryotherapy on oxidative stress in multiple sclerosis patients. *J Therm Biol* 2010a; 35:406–410.
40. Miller E, Mrowicka M, Malinowska K, Mrowicka J, Saluk-Juszczak J, Kędziora J. Effects of whole body cryotherapy on a total antioxidative status and activity of antioxidant enzymes in blood of depressive multiple sclerosis patients. *World J Biol Psychiatry* 2011; 3:223–227.
41. Miller E. Kriostymulacja czynnikiem wspomagającym rehabilitację u chorych na stwardnienie rozsiane z zespołem zmęczenia. *Wiad Lek* 2010; 63:41–44.
42. Miller E. Multiple sclerosis. *Adv Exp Med Biol* 2012; 724: 222–238.
43. Minager M. Current and future therapies for multiple sclerosis. *Scientifica (Cairo).* 2013; 2013:249101.
44. Mirshafiey A, Asghari B, Ghalamfarsa G, Jadidi-Niaragh F, Azizi G. The significance of matrix metalloproteinases in the immunopathogenesis and treatment of multiple sclerosis. *Sultan Qaboos Univ Med J* 2014; 1: e13–e25.
45. Mori M. Alemtuzumab, a monoclonal antibody against CD52: hopes and fears. *Brain Nerve.* 2014; 10:1179–1189.
46. Munger KL, Ascherio A. Risk factors in development of multiple sclerosis. *Exper Rev Clin Immunol* 2007; 3:739–748.
47. Nath N, Khan M, Paintlia MK, Singh I, Hoda MN, Giri S. Metformin attenuated the autoimmune disease of the central nervous system in animal models of multiple sclerosis. *J Immunol* 2009; 182:8005–8014.
48. Nicholas JA, Boster AL, Imitola J, O’Connell C, Racke MK. Design of oral agents for the management of multiple sclerosis: benefit and risk assessment for dimethyl fumarate. *Drug Des Devel Ther* 2014; 8:897–908.
49. Nuzzo L, Orlando R, Nasca C, Nicoletti F. Molecular pharmacodynamics of new oral drugs used in the treatment of multiple sclerosis. *Drug Des Devel Ther* 2014; 8:555–568.
50. Phillips JT, Fox RJ. BG-12 in multiple sclerosis. *Semin Neurol* 2013; 1:56–65.
51. Polman CH, Reingold SC, Banwell B, Clanet M, Cohen JA, Filippi M i wsp. Diagnostic criteria for multiple sclerosis: 2010 Revisions to the McDonald Criteria. *Ann Neurol* 2011; 69:292–302.
52. Pruszkowska B, Suszko R, Kopański Z, Jonek-Lewandowska J. O krioterapii historycznie i współcześnie. *Refleksoterapia* 2009; 4:43–47.
53. Rejdak K. Ryzyko związane z nowymi sposobami leczenia SM. *Pol Przegl Neurol* 2010; 6:30–31.
54. Ross AP, Halper J, Harris CJ. Assessing relapses and response to relapse treatment in patients with multiple sclerosis: a nursing perspective. *Int J MS Care* Fall 2012; 3:148–159.
55. Ross CA, Akimov SS. Human-induced pluripotent stem cells: potential for neurodegenerative diseases. *Hum Mol Genet* 2014; pii: ddu204. [Epub ahead of print].
56. Rudick RA, Panzara MA. Natalizumab for the treatment of relapsing multiple sclerosis. *Biolog* 2008; 2:189–199.
57. Selmaj K, Losy J. Neuroimmunologia Kliniczna. Czelej. 2007; 67–87.
58. Selmaj K. Stwardnienie rozsiane. Kryteria diagnostyczne i naturalny przebieg choroby. *Pol Przegl Neurol* 2005; 3:99–105.
59. Selmaj K. Doustna terapia w SM – nareszcie. *Pol Przegl Neurol.* 2010; 6:31–32.
60. Siger M. Znaczenie badania rezonansu magnetycznego w stwardnieniu rozsianym. *Pol Przegl Neurol* 2008; 4:68–69
61. Singh AV, Khare M, Gade WN, Zamboni P. Theranostic implications of nanotechnology in multiple sclerosis: a future perspective. *Autoimmune Dis* 2012; 2012:160830.
62. Stasiołek M, Mycko M, Selmaj K. Patogeneza stwardnienie rozsianego. *Pol Przegl Neurol.* 2005; 3:92–98.
63. Suszko R. Krioterapia ogólnoustrojowa. *Reh Med* 2003; 2:63–71.
64. Tully M, Shi R. New insights in the pathogenesis of multiple sclerosis – role of acrolein in neuronal and myelin damage. *Int J Mol Sci* 2013; 14:20037–20047.
65. Tutaj M, Szczepanik M. Mechanizmy regulacji odpowiedzi immunologicznej w modelu stwardnienia rozsianego u myszy. *Post Hig Med Dośw* 2006; 60:571–583.
66. van Baarsen LG, Vosslamber S, Tijssen M, Baggen JM, van der Voort LF, Killestein J i wsp. Pharmacogenomics of interferon-beta therapy in multiple sclerosis: baseline IFN signature determines pharmacological differences between patients. *PLoS One* 2008; 4: e1927.
67. Walczak A, Siger M, Ciach A, Szczepanik M, Selmaj K. Transdermal application of myelin peptides in multiple sclerosis treatment. *JAMA Neurol* 2013; 9: 1105–1109.