

LEPIEJ POZNAĆ, BY LEPIEJ LECZYĆ – ZWIERZĘCE MODELE STWARDNIENIA ROZSIANEGO

Monika Jankowska, Irena Nalepa (Kraków)

Streszczenie

Stwardnienie rozsiane jako neurodegeneracyjna choroba o podłożu autoimmunologicznym wciąż jest dla nas niejasna w swoim patomechanizmie i etiologii oraz bardzo złożona w swoim przebiegu. Nawarstwienie wielu pytań oraz brak możliwości bezpośredniego badania i wdrażania innowacyjnych rozwiązań w ramach terapii tego schorzenia u pacjentów nakłada na nas konieczność zdobywania informacji z wykorzystaniem różnych modeli doświadczalnych tej choroby. Zwierzęce modele doświadczalne pozostają niestety jedyną, cenną i niedającą się całkowicie zastąpić możliwością zdobywania informacji i uzyskiwania postępu w pracach nad schorzeniami ośrodkowego układu nerwowego (OUN). Dzięki doświadczalnym modelom możemy lepiej poznać patogenezę stwardnienia rozsianego, procesu demielinizacji i stanu zapalnego w obrębie mózgu oraz jego konsekwencji ogólnoustrojowych, a zatem możemy rozwijać lepsze i skuteczniejsze metody farmakologicznego leczenia tej choroby.

Abstract

As an autoimmune-related neurodegenerative disorder, multiple sclerosis remains still unclear in its pathomechanism and etiology and very complex in its course. Accumulation of many questions and the inability of performing direct research and implementation of innovative solutions in the treatment of this disease in patients, imposes on us the necessity of acquiring information using a variety of experimental models. Animal experimental models are unfortunately the only one, valuable and not able to be replaced possibility of gathering information and achieving progress on diseases of central nervous system (CNS). Using the experimental models of multiple sclerosis, we can better understand its pathogenesis, the process of demyelination and inflammation in the brain including its systemic consequences. Therefore we can develop improved and more effective methods of pharmacological treatment for this disease.

Stwardnienie rozsiane

Stwardnienie rozsiane (łac. *sclerosis multiplex*, SM) jest uogólnioną chorobą zwyrodnieniową mózgu i rdzenia kręgowego, w której w wyniku procesu zapalnego dochodzi do demielinizacji (por. Tab. 1) i uszkodzenia aksonów oraz do ubytku neuronów i zaników w obrębie tkanki mózgu [19]. Pierwsze wzmianki o tej chorobie pojawiały się już w XIV wieku, ale dopiero w 1868 roku Jean-Martin Charcot dokonał opisu SM, przedstawiając korelację między cechami klinicznymi i zmianami patologicznymi badanymi pośmiertnie. On też pierwszy sformułował triadę diagnozowania SM: oczopląs, mowa skandowana i drżenie zamiarowe – nazywane od jego nazwiska triadą Charcota [1].

Na świecie liczba chorych na SM przekracza 2,5 mln osób. Polska należy do krajów o wysokiej częstotliwości występowania tego schorzenia, gdyż

zapadalność wynosi od 45 do 92 osób na 100 000 mieszkańców, co pozwala oszacować obecną liczbę chorych nawet na poziomie 50 tysięcy osób. Warto odnotowania przesłanką jest powiązanie zachorowalności z szerokością geograficzną. Otóż wyższy wskaźnik zapadalności na SM obserwuje się w krajach klimatu chłodnego i umiarkowanego (Europa Północna i USA), niż w strefie zwrotnikowej i podzwrotnikowej. Jednak jak dotąd nie udało się udowodnić potencjalnej roli tego czynnika jako składowej etiologii SM (por. Tab. 1). Kolejną cechą szczególną dotyczącą tej choroby neurologicznej jest to, że dotyczy głównie osoby młode, w latach największej produktywności zawodowej, czyli między 20 a 40 rokiem życia. SM stanowi tym samym problem przede wszystkim zdrowotny, ale i społeczny. Schorzenie to częściej dotyczy kobiet (2:1) i rzadko jest spotykane u dzieci (dziecięca postać SM) i osób po 50 roku życia (późna postać SM). Szacuje się, że choroba ta

skraca naturalny czas przeżycia średnio o 6-7 lat [8].

SM opisywana jest jako schorzenie heterogenne, czyli bez typowego schematu przebiegu klinicznego. W zależności od lokalizacji uszkodzonego obszaru w OUN, mogą występować, zwykle niejednocześnie, takie objawy jak: zaburzenia widzenia, problemy z utrzymaniem równowagi, niedowłady, zaburzenia mowy i napięcia mięśni, męczliwość, zawroty głowy, nadwrażliwość cieplna i zaburzenia percepcji. Nierzadko spotykane są też zaburzenia emocjonalne, a depresja dotyka około 60% pacjentów z SM. Schorzenie to może występować w czterech postaciach klinicznych: (1) postać remitująco-nawracająca / rzuty-remisje (ang. *relapsing-remitting*, RR), (2) postać wtórnie postępująca (ang. *secondary progressive*, SP), (3) postać pierwotnie postępująca (ang. *primary progressive*, PP) oraz (4) postać postępująco-nawracająca / postępująca z rzutami (ang. *progressive-relapsing*, PR). U 85-90% pacjentów postać RR występuje na początku schorzenia i przebiega z rzutami, po których następują okresy remisji (por. Tab. 1). Postać SP w początkowym etapie przebiega z rzutami, po czym następuje stała progresja choroby. Postać PP charakteryzuje się stałym postępowaniem choroby od początku jej trwania, i podobnie jak postać PR, występuje stosunkowo rzadko [10, 13].

Różnorodność obrazu klinicznego, jak i nietypowy przebieg SM, od wielu lat stanowią postawę do poddawania w wątpliwość jednolitość nozologiczną (por. Tab. 1) tej jednostki chorobowej. Wstępnie wyodrębniono cztery typy demielinizacji wskazujące na odmienne mechanizmy patogenetyczne SM, których jednak nie udało się potwierdzić ani skorelować z przebiegiem klinicznym. Obecnie rzekome heterogenne typy SM są uznane jedynie za fazy w ewolucji tego samego procesu patofizjologicznego, być może częściowo modyfikowanego przez czynniki genetyczne [12, 19].

Teorie dotyczące etiologii SM

W przebiegu SM mamy do czynienia z dwoma podstawowymi patologicznymi procesami w OUN – stanem zapalnym i neurodegeneracją. Zapalenie jest reprezentowane przez mielinowoswoiste limfocyty T skierowane przeciwko białku mieliny własnego układu nerwowego. Neurodegeneracja zaś jest powiązana ze śmiercią oligodendrocytów (por. Tab. 1) w procesie demielinizacyjnym, z wtórnym uszkodzeniem aksonów. Prawdopodobnie oba procesy zachodzą niezależnie od siebie i wciąż nie określono, który z nich inicjuje chorobę.

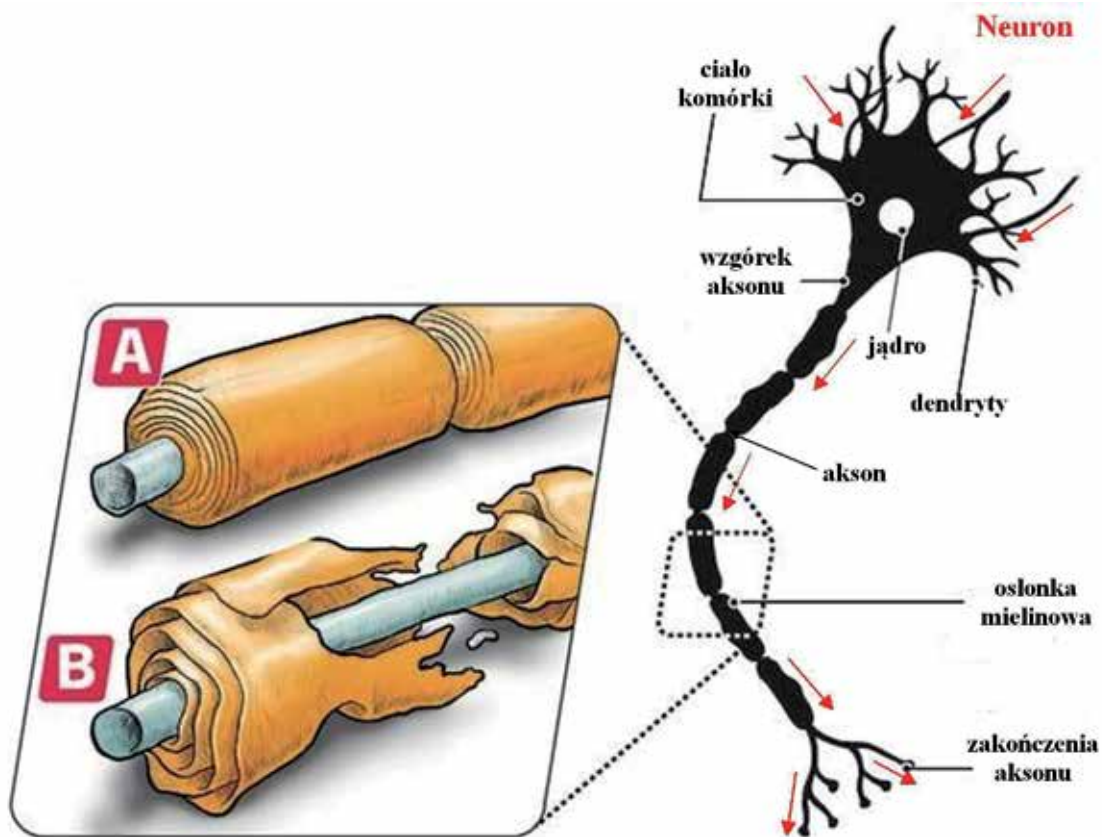
Kluczową rolę w etiologii SM odgrywiają włókna nerwowe, osłaniane i izolowane przez mielinę,

której uszkodzenie zaburza przekazywanie impulsów nerwowych. Mielina to substancja wytwarzana przez komórki otaczające aksony komórek nerwowych. W ośrodkowym układzie nerwowym są to oligodendrocyty, natomiast w obwodowym układzie nerwowym są to komórki Schwanna (por. Tab. 1). Głównym składnikiem osłonki mielinowej są cerebrozydy, głównie galaktozyloceramid. Związki te są zaliczane do grupy glikolipidów, gdyż składają się z cukru - galaktozy i lipidu – ceramidu. Innym składnikiem mieliny jest fosfolipid lecytyna (fosfatydylocholina). Białka stanowią około 15-30% suchej masy mieliny. Niektóre z tych białek to: zasadowe białko mieliny (ang. *myelin basic protein*, MBP), mielinowa glikoproteina oligodendrocytów (ang. *myelin oligodendrocyte glycoprotein*, MOG), glikoproteina związana z mieliną (ang. *myelin-associated glycoprotein*, MAG) i proteina proteolipidowa (ang. *proteolipid protein*, PLP). Komórki, owijając się wielokrotnie wokół aksonu, tworzą osłonkę z własnej błony komórkowej. Spełnia ona jednocześnie funkcję ochrony mechanicznej i izolatora elektrycznego aksonu. Osłonkę mielinową posiada większość długich neurytów (por. Tab. 1) w ośrodkowym układzie nerwowym oraz w nerwach rdzeniowych. W odstępach około 1 mm w obrębie przewężeń Ranviera włókna pozbawione są osłonek. Główną funkcją osłonki mielinowej jest zwiększenie prędkości, z którą impulsy przewodzone są wzdłuż zmielinizowanego włókna. Wzdłuż włókien niezmielinizowanych impulsy poruszają się w sposób ciągły, a we włóknach zmielinizowanych są przewodzone skokowo, co zdecydowanie przyspiesza przekazywanie impulsu wzdłuż aksonu. Utratę otoczki mielinowej nazywamy demielinizacją – proces ten jest charakterystyczny dla niektórych autoimmunologicznych chorób neurodegeneracyjnych, w tym dla stwardnienia rozsianego. Gdy spada ilość mieliny, przewodzenie sygnałów wzdłuż nerwu może być zaburzone, osłabione lub wręcz utracone (Ryc.1) [11].

W organizmie chorego na SM autoreaktywne limfocyty T, uczulone na składniki mieliny, mogą doprowadzać do wzrostu ekspresji chemotaktycznych cytokin i cząsteczek adhezyjnych (por. Tab. 1) oraz migracji limfocytów T i makrofagów do istoty białej OUN. Uruchomienie kaskady reakcji białek układu immunologicznego prowadzi do rozwoju ogniska zapalnego i licznych obszarów demielinizacji. Powstawanie takich obszarów może być także zainicjowane śmiercią oligodendrocytów. Czy zatem zapalenie jest pierwotną przyczyną demielinizacji czy też stanowi wtórną konsekwencję mechanizmu walki z tym procesem? (Ryc. 2) [9, 10]. Wiele zespołów naukowych badających przebieg SM poszukuje odpowiedzi na to

pytanie. O ile mechanizm postępowania choroby jest coraz lepiej poznany, o tyle sama przyczyna zachorowania wciąż pozostaje niewyjaśniona. Powyższe roz-

Pomimo obecnej w nauce od wielu lat hipotezy mikrobiologicznej etiologii SM, wciąż nie ustalono jednoznacznie konkretnych czynników dopro-



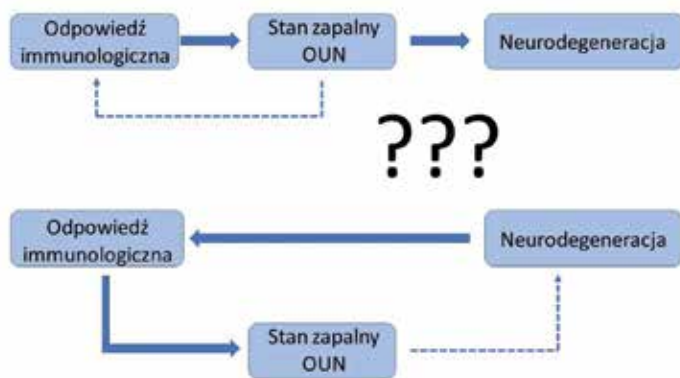
Ryc. 1. Budowa włókna nerwowego z prawidłową (A) i uszkodzoną (B) osłonką mielinową. Kierunek przepływu impulsu nerwowego zaznaczono strzałkami. Źródło: <http://archiwum.rp.pl/arttykul/943970-Miedzy-genami-i-natura.html> (zmodyfikowano).

ważania wpisują się w jedną z teorii powstawania SM – teorię immunologiczną - w której jako czynnik inicjujący rozważana jest aktywacja autoreaktywnych limfocytów T. Równie popularne są też teorie: wirusowa oraz wirusowo-immunologiczna, w których czynnikiem sprawczym miałyby być infekcja wirusowa. Ponadto na podstawie badań genomu udowodniono wpływ czynników genetycznych na występowanie SM. Dziedziczenie cząstek głównego układu zgodności tkankowej człowieka (ang. *human leukocyte antigen*, HLA; por. Tab. 1) klasy II kodowanego na chromosomie 6: HLA-DR i HLA-DQ, koreluje z 4-krotnie częstszym występowaniem tej choroby, niż w przypadku innych typów HLA. W patogenezę SM są zaangażowane także geny związane z ekspresją czynnika martwicy nowotworu (ang. *tumor necrosis factor*, TNF α), składnikami układu dopełniacza (por. Tab. 1) czy MOG [10, 17].

wadzących do rozwoju tego schorzenia. Mimo to perspektywa zakaźnego pochodzenia SM wciąż dla badaczy pozostaje możliwa i otwarta. Znaczne zainteresowanie skupia się na potencjalnej roli wirusa Epsteina-Barr (EBV, ludzki herpeswirus 4, HHV-4). Najnowsze badania donoszą o widocznym związku pomiędzy zachorowaniami na wywołaną przez tego wirusa mononukleozę, a zwiększoną podatnością na SM. Analizy krwi i płynu mózgowo-rdzeniowego pacjentów ze stwardnieniem rozsianym wskazują na kolejny trop w postaci koronawirusów. W kontekście SM rozpatrywane są także: ludzki herpeswirus typu 6 (HHV-6), wirus grypy czy *Chlamydia pneumoniae* [13, 17].

Tym niemniej wydaje się, iż w świecie nauki, wśród hipotez dotyczących etiologii SM największą popularność zyskała hipoteza molekularnej mimikry. Sekwencjonowanie genomu ludzkiego i genomu licznych mikroorganizmów pozwoliło wykazać, że wiele peptydów,

występujących u różnych organizmów, charakteryzują się znacznym podobieństwem sekwencji i struktury do antygenów ludzkich. W wyniku tego molekularnego podobieństwa (molekularnej mimikry) nasz układ odpornościowy może błędnie rozpoznawać własne antygeny (w tym przypadku głównie antygeny mielinowe) i traktować je jako antygeny mikroobów. W konsekwencji rozpoczyna produkcję autoreaktywnych przeciwciał w mechanizmie obronnym. Wspomniane wirusy opryszczki, grypy, odry czy wirus Epsteina-Barr posiadają geny kodujące sekwencje peptydowe naśladujące białka mieliny u ludzi. W hipotezie molekularnej mimikry sugeruje się też udział wysoce konserwatywnych (por. Tab. 1) białek szoku cieplnego (ang. *heat shock protein*, HSP). W przebiegu infekcji z podwyższeniem temperatury, a także u chorych na SM w miejscu demielinizacji, dochodzi do ich zwiększonej ekspresji. Prawdopodobną wydają się być teoria, w której wielokrotne infekcje bakteryjne/wirusowe „uczulają” nas na bakteryjne i wirusowe HSP i wywołują w naszych organizmach odpowiedź przeciwko własnym komórkom, w których doszło do ekspresji tego typu białek [10, 17].



Ryc. 2. Teorie patogenezy stwardnienia rozsianego (SM). Za: Hauser i wsp. 2006 [9] (zmodyfikowano).

Naukowcy próbujący rozwikłać zagadkę przyczyn powstawania SM sięgają po kolejne hipotezy, wymagające potwierdzenia i dodatkowych badań. Wśród nich warto wymienić zaburzenia komórkowej równowagi jonowej z powodu dysfunkcji mitochondriów i Na^+/K^+ -ATPazy. Pojawiają się też wzmianki dotyczące uszkodzeń komórkowych w ramach stresu oksydacyjnego (por. Tab. 1) wywołanego wolnymi rodnikami tlenowymi i tlenkiem azotu. Ostatnia, ciekawa hipoteza na temat etiologii SM, odnosi się do nieprawidłowości klirensu komórkowego (por. Tab.1), reprezentowanego między innymi przez system ubikwityna-proteasom (UPS), zaangażowany w utrzymanie homeostazy białka w komórkach [13].

Nawarstwienie tak wielu pytań, złożoność patomechanizmu, różnorodność objawów klinicznych oraz

ograniczone możliwości bezpośredniego badania schorzeń OUN, włącznie z SM, skutkują koniecznością zdobywania informacji z wykorzystaniem różnych modeli doświadczalnych tej choroby.

Zwierzęce modele SM

Główne kategorie zwierzęcych modeli SM to: modele genetyczne (na przykład *knockout*, opisany poniżej), chemiczne, wirusowe i zdecydowanie najbardziej rozpowszechniony model autoimmunizacyjny, czyli eksperymentalne autoimmunologiczne / alergiczne zapalenie mózgu i rdzenia (ang. *experimental autoimmune/allergic encephalomyelitis*, EAE).

Modele genetyczne

Termin myszy *knockout* odnosi się do mutantów genetycznych, u których przy pomocy modyfikacji genetycznej unieczynniono funkcjonalnie geny kodujące białka mieliny. Przykładem takiego modelu są myszy *Shiverer*, pozbawione głównego fragmentu genu kodującego białko MBP. U tych myszy dochodzi do niewłaściwej kondensacji mieliny, co uniemożliwia prawidłowe wytworzenie osłonki i prawidłowy przebieg procesu mielinizacji aksonów w obrębie ośrodkowego układu nerwowego.

Kolejnym modelem genetycznym są myszy *Rumpshaker* oraz *Jimpy*, pozbawione genów kodujących PLP. U myszy *Rumpshaker* wskutek takiej modyfikacji dochodzi do zaburzenia procesu mielinizacji, zwłaszcza u aksonów rdzenia kręgowego. Myszy *Jimpy*, podobnie jak *Shiverer*, posiadają niewłaściwie skondensowaną mielinę, fizycznie niestabilną. U tych zwierząt jedynie 1-3% aksonów jest otoczonych przez osłonki mielinowe. Dodatkowo obserwuje się zmniejszoną długość aksonów i ich obrzęk.

Jeszcze innym przykładem modelu genetycznego są myszy pozbawione glikoproteiny MAG, pośredniczącej w interakcji między komórkami nerwowymi a komórkami glejowymi tworzącymi mielinę. Taka mutacja skutkuje dezintegracją mieliny i zaburzeniem procesu formowania osłonek mielinowych (zwłaszcza w OUN). Dzięki wymienionym powyżej modelom możliwe jest lepsze poznanie mechanizmów powstawania mieliny, zaburzeń przekaźnictwa sygnałów nerwowych i niektórych objawów klinicznych SM [10].

Modele chemiczne

W modelach chemicznych, nakierowanych na badanie mechanizmów de- i remielinizacji, wykorzystywane

są niektóre substancje toksyczne. Domózgowe lub dosystemowe podanie takich związków chemicznych jak kuprizon (chelator miedzi), bromek etydyliny czy lizofosfatydylocholina, wywołuje uszkodzenie mieliny wskutek różnych mechanizmów.

Cechy modelu opartego o toksyczne właściwości kuprizonu różnią się w zależności od wybranego do badań gatunku zwierząt. Szczury, myszy i świnki morskie poddane działaniu tej substancji rozwijają gąbczastą encefalopatię (por. Tab. 1). W przeciwieństwie do dwóch ostatnich gatunków, szczury nie wykazują wyraźnej demielinizacji w obrębie rdzenia kręgowego. Kuprizon powoduje niszczenie osłonek mielinowych w zależności od stężenia. Dodanie 0,2% kuprizonu do pokarmu młodych myszy powoduje demielinizację struktur istoty białej w obrębie mózdzku, ciała modzelowatego i wzgórza. Celem dla tego chelatora miedzi stają się dojrzałe oligodendrocyty, ulegające apoptozie z powodu niewydolności metabolicznej w wyniku deficytu miedzi. Pozostałe typy komórek OUN pozostają niezniszczone. Szczególna wrażliwość oligodendrocytów na działanie kuprizonu nie jest do końca wyjaśniona. Po usunięciu tego związku z pokarmu, obserwuje się wystąpienie procesu remielinizacji w ciągu 3–4 tygodni. Kontynuacja podawania kuprizonu skutkuje natomiast trwałą demielinizacją i całkowitym zniszczeniem oligodendrocytów u zwierzęcia. Model oparty o podanie tego związku, ze względu na występującą remielinizację w okresie odstawienia, znajduje szerokie zastosowanie, zwłaszcza w badaniach nad przyspieszeniem mechanizmów odbudowy mieliny.

Kolejny związek, lizolecytyna, jest aktywatorem fosfolipazy A2, standardowo podawanym w iniekcji do rdzenia kręgowego w celu wywołania demielinizacji. Bezpośrednio po wstrzyknięciu lizolecytyny, w miejscu podania dochodzi do przenikania limfocytów T, B i makrofagów. Przypuszcza się, iż ta krótkotrwała infiltracja może odgrywać korzystną rolę w procesie naprawczym OUN. Kompletna remielinizacja występuje dopiero po 5–6 tygodniach. Młode osobniki poddane działaniu lizolecytyny wykazują szybki proces odbudowy mieliny. Zaś procesy naprawcze u starszych zwierząt przebiegają znacznie wolniej [5].

Demielinizacja licznych aksonów może być również wywołana przez dokomórkowe podanie bromku etydyliny, organicznego związku chemicznego, wiążącego się wewnątrz DNA. Związek ten, często używany w laboratoriach biologii molekularnej w różnych technikach badawczych dotyczących DNA, jest bardzo silnym mutagenem, i prawdopodobnie także karcynogenem i teratogenem. Wprawdzie w tym modelu możliwy jest proces remielinizacji, do którego docho-

dzi dzięki komórkom Schwanna, okazuje się jednak, iż odbudowane osłonki mielinowe są cienkie [10].

Modele wirusowe

Wirus Semliki Forest (*Semliki Forest Virus*, SFV) został wyizolowany po raz pierwszy z komara z Semliki Forest w Ugandzie i to właśnie komary są głównymi przenosicielami tego wirusa, których naturalnym miejscem występowania jest kontynent afrykański. Myszy zainfekowane wirusem SFV stanowią dobry model do badania związanej z wiekiem zjadliwości wirusa, neuroinwazyjności i patogenezы ostrego zapalenia mózgu oraz indukcji demielinizacji w OUN. Najczęściej badanymi szczepami są A7 i A7(74), odpowiednio wirulentne i niewirulentne dla dorosłych myszy. Infekcji ulegają zarówno neurony, jak i oligodendrocyty, ale nie astrocyty i tylko w marginalnym stopniu komórki opon mózgowych i spłotu naczyńnówkowego. Infekcja wirusem SFV u dorosłych myszy skutkuje demielinizacyjnym zapaleniem opon mózgowych. W obrębie mózgu noworodków mysich wirusy wszystkich szczepów rozprzestrzeniają się w znacznym tempie i szybko doprowadzają do śmierci gospodarza. Wirusy SFV cechuje neuroinwazyjność i neurotropizm, co pozwala na analizowanie drogi ich wejścia w obręb OUN i śledzenie funkcjonowania bariery krew-mózg, chociaż sam mechanizm wywołujący zaburzenia funkcji bariery krew-mózg w tym modelu wciąż pozostaje niejasny.

Wirus Theilera (ang. *Theiler's murine encephalomyelitis virus*, TMEV), nazwany nazwiskiem autora jego pierwszej izolacji, wywołuje wirusowe zapalenie mózgu i rdzenia kręgowego u myszy. Domózgowe podanie TMEV myszom powoduje dwufazową odpowiedź chorobową. Ostra faza trwa około tygodnia, w której myszy wykazują objawy zapalenia istoty szarej mózgu i rdzenia kręgowego, a antygeny wirusa obecne są w neuronach OUN. Około miesiąc po podaniu, w rozwijającej się fazie przewlekłej, obserwowane jest nadmierne napięcie mięśni kończyn w wyniku demielinizacji w obrębie istoty białej rdzenia kręgowego. Aksony ulegają zniszczeniu, a deficyty neurologiczne akumulacji. W tej fazie antygeny wirusa mogą być zlokalizowane wewnątrz oligodendrocytów, astrocytów i makrofagów, ale nie w neuronach. Model indukowany przez TMEV został lepiej poznany i opisany, niż inne modele wirusowe, ze względu na duże podobieństwo patologii TMEV i SM. Wyjątkowość modelu TMEV wynika z indukowania zmian chorobowych o przebiegu analogicznym, jak obserwowany w postaci pierwotnie postępującej, wtórnie postępującej i remitująco-nawracającej SM. Wciąż jednak nie został całkowicie poznany dokładny mechanizm demielinizacji wywołanej przez

infekcję żywym wirusem TMEV. Co ciekawe, wirus atakuje myszy i szczury, ale tylko u myszy wywołuje chorobę demielinizacyjną. W przeciwieństwie do innych modeli wirusowych, transfer komórek immunologicznych od myszy zainfekowanych do myszy biorców, nie indukuje u tych drugich demielinizacji.

Eksperymentalny model wirusowy wywołany przez myszy koronawirus zapalenia wątroby (ang. *mouse hepatitis virus*, MHV) indukuje demielinizację u 4-6 tygodniowych myszy szczepu C57BL/6 lub Balb/c i charakteryzuje się dwufazowym przebiegiem choroby. Wirus MHV w ostrej fazie choroby powoduje zapalenie mózgu, lecz niektóre szczepy tego wirusa wywołują również zapalenie wątroby. Część szczepów MHV jest tylko hepatotropowa (MHV-2), niektóre z nich są głównie neurotropowe (JHM), podczas gdy inne (MHV-A59-S MHV i MHV-3) wykazują dwójaki tropizm. Komórkami docelowymi dla tych wirusów są neurony i oligodendrocyty. Niemniej jednak mechanizm demielinizacji w modelu indukowanym przez MHV nadal budzi kontrowersje [6].

Eksperymentalne autoimmunologiczne zapalenie mózgu i rdzenia (EAE)

Modelem zwierzęcym najbardziej przypominającym SM u ludzi jest EAE. Należy podkreślić, iż spontanicznie występowanie SM obserwuje się tylko u ludzi. Jednak do zbadania patogenezы schorzenia, opracowania metod diagnostyki i strategii terapeutycznych, nie wystarczą tylko linie komórkowe, lecz niezbędnym jest posiadanie jak najwierniejszego modelu zwierzęcego. Już pod koniec XIX wieku, w związku z podawaniem ludziom szczepionek sporządzonych z króliczych rdzeni kręgowych zakażonych wirusem wścieklizny, Louis Pasteur zauważył, że niedokładne oczyszczenie szczepionki z ksenogenicznej tkanki nerwowej powoduje neurologiczne komplikacje i indukuje zaburzenia chodu, połykania i oddychania u pacjentów. Na początku XX wieku udowodniono, że wielokrotne domięśniowe podawanie małym ekstraktów z mózgu królika prowadzi do poważnych zaburzeń neurologicznych i rozwoju obszarów demielinizacji. Następnie, w miarę rozwijania zwierzęcych modeli chorób demielinizacyjnych, wykazano, że immunizacja ssaków białkami pochodzącymi z OUN innych osobników nie indukuje bezpośrednio SM, lecz rozległe zapalenie mózgu i rdzenia kręgowego. Co więcej, okazało się, iż choroba ta może być wywoływana już po jednorazowym podaniu antygenów z tkanki mózgu, w połączeniu z adjuwantem (por. Tab. 1) w postaci zabitych prątków gruźlicy *Mycobacterium tuberculosis*.

Adjuwanty, wytwarzając prozapalne środowisko, wzmagają immunogenność, analogicznie jak to ma miejsce w przypadku infekcji bakteryjnej. Wywołana w ten sposób u myszy choroba demielinizacyjna, o dużym podobieństwie histopatologicznym do SM, określana jest jako EAE i stanowi najpowszechniejszy z doświadczalnych zwierzęcych modeli SM. Należy jednak wyjaśnić, iż termin EAE nie określa tylko jednego modelu, lecz pokrywa raczej grupę modeli o różnym fenotypie i różnym stopniu podobieństwa do SM. Różnice te zależą zasadniczo od trzech czynników: gatunku wykorzystanych zwierząt, wybranych autoantygenów oraz zróżnicowanych sposobów immunizacji [15].

EAE może mieć przebieg monofazowy, charakteryzujący się jednym atakiem choroby i następnie wyzdrowieniem, utrzymaniem objawów lub śmiercią zwierzęcia. Taki rodzaj spotykamy najczęściej u szczurów szczepu *Lewis* i myszy szczepu *SJL/J*. Wielofazowy przebieg EAE, obejmujący okresy rzutów i remisji, podobnie jak postaci nawracające SM, dotyczy myszy szczepów *SJL/SWRF1*. Taki przebieg w piśmiennictwie określany jest jako przewlekłe nawracające EAE (ang. *chronic relapsing experimental autoimmune encephalomyelitis*, ChREAE) [10]. Z kolei modele dwufazowe EAE mogą być określane jako aktywne bądź pasywne. Jeśli choroba jest indukowana podaniem antygeny wraz z adjuwantem, a faza indukcji i faza efektorowa występują u tego samego zwierzęcia, model taki określany jest jako aktywny. W fazie indukcji komórki autoreaktywne są aktywowane i namnażają się w obwodowych węzłach chłonnych. W fazie efektorowej aktywowane komórki autoreaktywne migrują do OUN i powodują autoimmunologiczne uszkodzenia i objawy kliniczne. Model EAE określany jako pasywny lub przeniesiony to taki, w którym autoreaktywne limfocyty Th, specyficzne dla antygenów mieliny, są wytwarzane w jednym zwierzęciu, zaś choroba indukowana jest u innego zwierzęcia, poprzez transfer komórek uczulonych na autoantygen z pierwszego zwierzęcia do drugiego. [6].

W patogenezie EAE, po iniekcji antygenów w postaci białek mieliny z adjuwantem, dochodzi do pobudzenia nieaktywnych u zdrowego osobnika, mielinowoswoistych autoreaktywnych limfocytów T. Limfocyty Th1 uwalniają chemokiny i cytokiny prozapalne, takie jak interferon gamma (IFN- γ), interleukina 2 (IL-2) czy czynnik martwicy nowotworu (TNF- β). Zaangażowane są również limfocyty Th2, limfocyty Tc, makrofagi, limfocyty B i prawdopodobnie komórki NK (ang. *natural killer*). Aktywacja tych mediatorów zmienia ekspresję cząsteczek

adhezyjnych na otaczających komórkach, zwiększając przepuszczalność bariery krew-mózg, w wyniku czego dochodzi do rekrutacji komórek zapalnych z krwi do OUN [10].

Lista potencjalnych zastosowań EAE w badaniach różnych procesów chorobowych, związanych z przebiegiem SM, jest długa. Przedkliniczne badania z zastosowaniem EAE mogą odpowiedzieć na różne pytania, szczególnie te odnoszące się do rozwoju procesu demielinizacji i stanu zapalnego w obrębie mózgu oraz jego rozległych i licznych konsekwencji ogólnoustrojowych, podobnych do tych występujących w przebiegu SM. (Tab. 2) [3].

Autoantygeny wywołujące EAE

EAE można wywołać przez zastosowanie różnych autoantygenów z OUN. Jednym z nich jest glikoproteina MOG, będąca głównym białkiem strukturalnym w błonie oligodendrocytów. Jest jedynym autoantygenem, który indukuje odpowiedź komórkową i humoralną zarówno u gryzoni, jak i u naczelnych. Obecność przeciwciał anti-MOG bezpośrednio świadczy o procesie demielinizacyjnym. Podobnie jak MOG, integralnym białkiem błonowym oligodendrocytów, wykorzystywanym jako autoantygen, jest proteina PLP. Indukowanie EAE z wykorzystaniem PLP139–151 jako autoantygeny u myszy SJL będzie wywoływało postać reemitująco-nawracającą EAE, podczas gdy użycie w tym samym celu glikoproteiny MOG35-55 wywoła postać postępującą w szczepach myszy C57BL. Kolejny znany autoantygen to zasadowe białko mieliny MBP, występujące w cytoplazmie oligodendrocytów. Białko to indukuje EAE u myszy szczepu SJL/J, natomiast myszy C57BL/6 są odporne na działanie tego peptydu. Za potencjalne autoantygeny w SM uznawane są związane z mieliną glikoproteina MAG oraz enzym fosfodiesteraza nukleotydomowa (ang. *cyclic nucleotide phosphodiesterase*, CNP-aza). Z kolei dla astrocytów charakterystyczne jest białko S-100. U szczurów szczepu Lewis, immunizowanych tym autoantygenem, rozwija się zapalenie mózgu z jedynie niewielkimi obszarami demielinizacyjnymi [6, 10, 15].

Modele zwierzęce w badaniach mechanizmu stwardnienia rozsianego – nadzieja na postęp w terapii schorzenia

Obecny stan wiedzy uzmysławia nam, że SM jest bardzo złożoną jednostką chorobową. Należy podkreślić, iż jak dotąd niestety żaden pojedynczy model zwierzęcy neurogennego zapalenia nie był zdolny do odzwierciedlenia wszystkich czynników zaangażowanych w to schorzenie u człowieka. Model EAE,

choć cieszący się największym uznaniem, nie jest w istocie tym samym stanem chorobowym co SM. Wiele dowodów sugeruje, że modele EAE nie mogą prawidłowo imitować patologii okresów postępujących, wpisanych w naturę SM. Poszczególne modele w ramach EAE różnią się między sobą, co dodatkowo utrudnia wskazanie, który z nich byłby najbardziej odpowiedni do badań z odniesieniem do SM. Co więcej, jeśli stosowane w eksperymentach zwierzęta pochodzą z szczepów wsobnych, wyłącza to z analiz ważną komponentę różnic genetycznych, spotykanych przecież w bardzo dużym stopniu w populacji ludzkiej. Naukowcy przyznają, że modele nie są doskonałym odbiciem SM i należy kierować się sporą dozą ostrożności przy ich wykorzystywaniu. Podkreślają, że służą one raczej do badania procesu zapalnego, niż pojawiającej się w stwardnieniu rozsianym neurodegeneracji. Mimo to modele zwierzęce, w tym EAE, umożliwiają wstępne badania, które dają podstawy do opracowania sposobów leczenia SM.

Wspomniana różnorodność w ramach EAE ma także swoje zalety. Dany model może precyzyjnie naśladować jakiś pojedynczy aspekt przebiegu SM, który będzie szczególnie ważny dla terapii schorzenia. Z kolei modyfikacje genomu myszy pozwalają na dokładne sprecyzowanie interesujących i potencjalnie zaangażowanych w proces chorobotwórczy cząstek, co przyspieszy proces identyfikacji prozapalnych mediatorów i mechanizmów odpowiedzialnych za zapalenie. O sukcesie przydatności EAE w dziedzinie farmakoterapii SM świadczą wprowadzone leki takie jak: Octan glatirameru, Natalizumab czy Mitoxantron. Ponadto niektóre znane i stosowane od dłuższego czasu terapie SM są ponownie oceniane na modelach EAE, w celu uzyskania lepszego wglądu w mechanizmy działania tych leków oraz ujawnienia ich, dotąd nieznanych, punktów uchwytu. Pozyskanie takiej wiedzy pozwala na opracowanie nowych leków w oparciu o podobne mechanizmy działania, a z drugiej strony przyczynia się do „poprawiania” leków już stosowanych w klinice, poprzez polepszenie ich właściwości farmakokinetycznych, takich jak absorpcja, metabolizm, dystrybucja, wchłanianie, drogi podania leku itp. W efekcie może to prowadzić do uzyskania większej efektywności leku i obniżenia wywoływanych przez lek działań niepożądanych. A to wszystko, co niezmiernie ważne, poprawiając codzienny komfort pacjenta, przyczynia się do lepszego postrzegania i przestrzegania przezeń zaleceń lekarskich (ang. *adherence*) i przekłada się na większą skuteczność terapii. Należy także pamiętać o złożoności i niejasności patomechanizmu SM oraz o braku możliwości bezpośredniego badania

Tabela 1. Słowniczek – przydatne wyjaśnienia pojęć używanych w tekście.

Adjuwant – substancja powodująca wzmocnienie poszczepiennej odpowiedzi odpornościowej na podany antygen

Chemotaktyczne cytokiny – białka wpływające na wzrost, proliferację i pobudzenie komórek biorących udział w odpowiedzi odpornościowej, posiadające zdolność do samodzielnego ruchu w odpowiedzi na kierunkowe chemiczne bodźce.

Cząsteczki adhezyjne – białka błony komórkowej umożliwiające przyleganie komórki do innej komórki lub do substancji (macierzy) międzykomórkowej.

Cząstki głównego układu zgodności tkankowej – zespół białek odpowiedzialnych za prezentację antygenów limfocytom T. Najważniejsze białka decydujące o utrzymaniu się lub odrzuceniu przeszczepu, zatem odpowiadające za zgodność tkanek dawcy i biorecy.

Czynnik martwicy nowotworu – cytokina związana z procesem zapalnym, produkowana głównie przez aktywne monocyty i makrofagi. Działa cytotoksycznie na wiele linii komórek nowotworowych (stąd nazwa) oraz komórki zakażone patogenami.

Demielinizacja – proces patologiczny układu nerwowego polegający na rozpadzie osłonek mielinowych w ośrodkowym lub obwodowym układzie nerwowym.

Etiologia – przyczyny zjawisk, procesów i chorób.

Gąbczasta encefalopatia – choroby układu nerwowego ludzi i zwierząt spowodowane nagromadzeniem nieprawidłowo pofałdowanych białek zwanych *prionami*.

Klirens komórkowy – całkowite oczyszczenie komórki z danej substancji w jednostce czasu.

Komórki Schwanna – komórki glejowe obwodowego układu nerwowego występujące w zespołach.

Konserwatywne białka – białka o niewielkich różnicach międzygatunkowych.

Myszy knockout – zwierzęta, które poprzez doświadczone modyfikacje genetyczne zostały pozbawione jakiegoś genu.

Neuryt – akson; element neuronu odpowiedzialny za przekazywanie informacji z ciała komórki do kolejnych neuronów lub komórek efektorowych (np. komórek mięśniowych bądź gruczołowych).

Nozologia – dziedzina wiedzy medycznej zajmująca się klasyfikacją chorób i ich opisem.

Okresy remisji – okresy charakteryzujące się brakiem objawów chorobowych.

Oligodendrocyty – komórki gleju formujące osłonki mielinowe w centralnym układzie nerwowym.

PEGylacja – metoda polegająca na dołączaniu cząsteczki glikolu polietylenowego (PEG) do struktury substancji aktywnej leku, w celu przedłużenia działania tego leku w ustroju.

Proliferacja – namnażanie się komórek.

Puryna – heterocykliczny, aromatyczny związek organiczny, zbudowany ze skondensowanych pierścieni pirymidyny i imidazolu.

Reaktywne formy tlenu – reaktywne indywidua chemiczne zawierające w swoim składzie atomy tlenu z niesparowanym elektronem (rodniki) lub wiązania O–O.

Stres oksydacyjny – stan braku równowagi pomiędzy działaniem reaktywnych form tlenu a biologiczną zdolnością do szybkiej detoksykacji reaktywnych produktów pośrednich lub naprawy wyrządzonych szkód.

Układ dopełniacza – zespół kilkudziesięciu białek obecnych w osoczu, a także w innych płynach ustrojowych, wraz z powiązanymi z nimi funkcjonalnie licznymi receptorami i regulatorami. Jego działanie polega na aktywacji kaskady enzymatycznej, doprowadzającej do szeregu zjawisk mających istotne znaczenie w przebiegu swoistej i nieswoistej odpowiedzi immunologicznej i reakcji zapalnej.

Zasada 3R – (*reduce, refine, replace*) zasada ograniczenia, udoskonalenia, zastąpienia. Odnosi się do polepszenia bytu i humanitarnego traktowania zwierząt doświadczalnych. Opiera się na maksymalnym wyeliminowaniu cierpienia zwierząt w trakcie wykonywania doświadczeń, na ograniczeniu liczby zwierząt doświadczalnych do niezbędnego minimum oraz zastąpieniu zwierząt doświadczalnych metodami alternatywnymi o ile jest to możliwe.

i eksperymentalnego wdrażania innowacyjnych rozwiązań w chorobach OUN u pacjentów. Zwierzęce modele doświadczalne SM, pomimo ich niedoskonałości, pozostają niestety jedyną i niedającą się całkowicie zastąpić możliwością zdobywania informacji i uzyskiwania postępu w pracach nad terapią tego schorzenia [4, 15].

Posługując się modelami zwierzęcymi, zawsze w zgodzie z zasadą 3R (*reduce, refine, replace*; ograniczenie, udoskonalenie, zastąpienie; por. Tab. 1), należy mieć także na uwadze pryncypium Hipokratesa: „*Dobro pacjenta najwyższą wartością*”. Dzięki doświadczalnym modelom SM możemy poznawać patogenezę stwardnienia rozsianego, a zatem opracowywać lepsze i skuteczniejsze metody farmakologicznego leczenia tego schorzenia.

Aktualne koncepcje terapii stwardnienia rozsianego

Po ponad dwudziestu latach, które upłynęły od wprowadzenia pierwszego leku modyfikującego przebieg SM, zakres farmakoterapii tego schorzenia znacznie się poszerzył. Równocześnie ewoluowało pojmowanie SM jako schorzenia o zróżnicowanym przebiegu. Nowa, obecnie obowiązująca klasyfikacja fenotypów SM i wyraźnie rozróżniająca dwa główne fenotypy (nawracający i postępujący) oraz uwzględniająca dalsze podtypy związane z obecnością lub brakiem aktywności schorzenia, odgrywa zasadniczą rolę w lepszym doborze odpowiedniej farmakoterapii dla chorych na SM [2].

Patrząc retrospektywnie, przed 1993 r. leczenie SM ograniczało się do stosowania adrenokortykotropiny (ACTH), podawanej domięśniowo w latach 70. ubiegłego wieku. Następnie w latach 80. zastąpiono ACTH preparatami glikokortykosteroidów podawanymi doustnie (np. prednizolon), stosowanych w przypadku nagłego zaostrzenia choroby [14]. Mechanizm ich farmakologicznego działania polega na uogólnionym efekcie immunosupresyjnym i stąd są stosowane także w innych chorobach o podłożu autoimmunologicznym. Pierwszymi lekami wprowadzonymi w połowie lat 90. XX wieku do terapii SM (postaci RR) i modyfikującymi przebieg choroby były interferony – interferon-beta-1b (**IFNβ1b**) i interferon-beta-1a (**IFNβ1a**). Są one naturalnie występującymi cytokinami o właściwościach przeciwzapalnych, które wskutek związania się ze specyficznym receptorem powierzchniowym aktywują transkrypcję wielu genów i powodują ogólną odpowiedź przeciwzapalną [2, 16]. Ostatnio pojawiła się zmodyfikowana forma (pegylowany) IFNβ1a (por. Tab. 1), który może być podawany pod-

skórnie i rzadziej (co dwa tygodnie) w porównaniu z wcześniejszymi postaciami leku, co ma zasadnicze znaczenie dla komfortu pacjenta.

Leki stosowane w terapii SM można ogólnie podzielić na grupy w zależności od drogi ich podawania: (i) leki do wstrzykiwania, (ii) leki podawane doustnie i (iii) przeciwciała monoklonalne. Leki zaliczane do grupy pierwszej mogą być podawane w iniekcjach podskórnych lub domięśniowo (**IFNβ1b**, **IFNβ1a**, **Octan glatirameru**). Natomiast leki z grupy przeciwciał podawane są przeważnie dożylnie (np. **Natalizumab**). Dożylnie podawany jest także **Mitoxantron**, lek będący syntetycznym antybiotykiem antracyklinowym, wykazującym silne działanie przeciwnowotworowe, którego wskazania terapeutyczne zostały poszerzone o leczenie SM, postaci SP, PP i PR.

Od początku stycznia 2010 r. amerykańska agencja FDA (Food & Drug Administration) zatwierdziła 7 nowych związków jako leki do stosowania w terapii SM oraz w jednym przypadku (octan glatirameru) zatwierdziła stosowanie wyższych dawek [18]. Octan glatirameru został wprowadzony do leczenia SM w 1995 roku, a od roku 2014 został dopuszczony do stosowania w wyższych dawkach, szczególnie do leczenia chorych wykazujących postać SM typu RR [16, 18]. Mechanizm działania tego leku nie jest do końca poznany. Wiadomo jednak, że indukuje on proliferację (por. Tab. 1) przeciwwzapalnych limfocytów. Pierwszym z nowych leków wprowadzonych w ostatnim dziesięcioleciu jest **Fingolimod** (wprowadzony w 2010 r.), będący modulatorem receptora S1P (ang. *sphingosine 1-phosphate receptor*). S1P jest obecny w błonach wielu typów komórek: na komórkach immunologicznych krwi, neuronach, astrocytach i endotelium [7]. Lek jest metabolizowany przez enzymy z grupy cytochromu P450 (CYP450) do aktywnej ufosforylowanej formy. Hamuje on migrację limfocytów T z węzłów chłonnych do OUN, co w efekcie powoduje zmniejszenie wynikającego z autoagresji uszkodzającego wpływu tych limfocytów na OUN. W roku 2012 wprowadzono kolejny lek do leczenia SM – **Teriflunomide**, którego mechanizm działania polega na hamowaniu syntezy pirymidyny (pochodnymi pirymidyny są trzy podstawowe części kwasów nukleinowych, cytozyna, tymina i uracyl). Działa on jako czynnik immunomodulujący i w efekcie przeciw-proliferacyjny i przeciwzapalny. Natomiast analogiem puryny (por. Tab. 1) jest inny lek – **Kladrybina**, która zanim została zarejestrowana jako lek przeciw SM, była stosowana jako chemoterapeutyk w leczeniu niektórych postaci białaczki. Wszystkie trzy omówione powyżej leki (Fingolimod, Teriflunomide, Kladrybina) są podawane doustnie.

Rok 2014 przyniósł wspomniany już powyżej pegylowany IFN β 1a, a ponadto FDA zatwierdziła **Fumaran dimetylu**, ze wskazaniem dla pacjentów z nawracającym fenotypem SM. Lek jest pochodną kwasu fumarowego o działaniu immunomodulującym i jest podawany doustnie. Istnieją badania wskazujące, że mechanizm jego działania jest związany z aktywacją czynnika transkrypcyjnego Nrf2, który kontroluje ekspresję genów kodujących enzymy i białka cytoprotekcyjne i jest zaangażowany w odpowiedź komórki na stres oksydacyjny [18].

Jeszcze inną strategią terapeutyczną jest podawanie przeciwciał monoklonalnych nakierowanych przeciwko białkom komórek układu odpornościowego. Przeciwciała blokując te komórki na skutek różnych mechanizmów uniemożliwiają przedostawanie się limfocytów do OUN poprzez barierę krew-mózg. Przedstawicielem takich leków jest **Natalizumab**, w krajach Unii Europejskiej stosowany od roku 2006. W okresie ostatnich kilku lat pojawiły się 3 nowe leki z grupy przeciwciał monoklonalnych. **Alemtuzumab** zarejestrowany w 2014 r. do leczenia nawracających form SM, jest przeciwciałem skierowanym przeciwko glikoproteinie CD52, występującej na powierzchni limfocytów, monocytów, makrofagów i na kilku innych typach komórek układu odpornościowego. Lek hamuje zdolność tych komórek do przemieszczania się do mózgu i niszczenia tam mieliny. Alemtuzumab jest podawany we wlewach dożylnych przez wiele dni i według inwazyjnego schematu, a ponadto wykazuje liczne i silne działania niepożądane. Stąd jest rozważany jako lek ostatniego wyboru, czyli terapia stosowana wyłącznie u pacjentów,

k którzy nie zareagowali wcześniej na co najmniej 2 (lub więcej) leków. Kolejnym lekiem z grupy przeciwciał monoklonalnych jest **Daclizumab**, zarejestrowany w 2016 r., który jest przeciwciałem o charakterze antagonisty względem receptora dla interleukiny 2 i jest podawany podskórnie [16, 18]. Zaledwie rok temu zarejestrowany został **Ocrelizumab**, który jest pierwszym lekiem wskazanym dla terapii postaci PP SM. Ocrelizumab jest rekombinowanym humanizowanym przeciwciałem monoklonalnym, specyficznie nakierowanym na CD-20-pozytywne limfocyty B.

Poprzednie terapie stosowane w remitująco-nawracającej postaci SM były ograniczone do kilku leków, które obejmowały tylko inwazyjne formy podawania. Sposób podawania leku może wpływać na przestrzeganie zaleceń lekarskich przez pacjenta, a zatem i na postęp w leczeniu SM. Nowe leki wprowadzone w ostatniej dekadzie oferują różne mechanizmy działania, drogi podania, profile bezpieczeństwa i redukcję we wskaźnikach nawrotów oraz zapewniają pacjentom większy wybór. A dalszy rozwój w zakresie nowych terapii SM w dużej mierze zależy od możliwości posługiwania się odpowiednimi zwierzęcymi modelami tego schorzenia.

Podziękowania:

Praca powstała w wyniku realizacji projektu badawczego nr UMO-2015/16/W/ST5/00005, finansowanego ze środków Narodowego Centrum Nauki. Mgr Monika Jankowska otrzymuje stypendium doktoranckie z tego projektu.

Tabela 2. Lista potencjalnych zastosowań modelu eksperymentalnego autoimmunologicznego/alergicznego zapalenie mózgu i rdzenia (EAE) w badaniach biomedycznych.

Ogólne	Strategie neuroprotekcyjne Leki immunosupresyjne Neurotransmitery stanu zapalnego Funkcje kanałów w stanie zapalnym, demielinizacji i remielinizacji Wpływ cytokin na OUN Funkcjonowanie i dysfunkcje bariery krew-mózg Tolerancja immunologiczna Rozprzestrzenianie się epitopów Regulatorowe komórki T
Specyficzne dla zapalenia OUN i demielinizacji	Rozwój, testowanie i walidacja leków na SM: biodostępność, farmakokinetyka, skuteczność przedkliniczna, bezpieczeństwo Rozwój badań nad lekami o właściwościach immunomodulacyjnych i neuroprotekcyjnych Ekspresja genów podczas demielinizacji i remielinizacji Profilowanie ekspresji genów w celach odkrycia i walidacji nowych celów leczenia SM Mechanizm uszkodzeń i ubytków aksonalnych Badania symptomów i symptomatycznego leczenia SM: leki antyastyczne, dysfunkcje pęcherza moczowego, ból

Za: Constantinescu i wsp. 2011 [3] (zmodyfikowano).

Bibliografia:

1. Clanet M. (2008) Jean-Martin Charcot. 1825 to 1893. *The International MS Journal*, 15: 59–61.
2. Comi G., Radaelli M., Soelberg Sørensen P. (2017) Evolving concepts in the treatment of relapsing multiple sclerosis. *Lancet*, 389 (10076): 1347–1356.
3. Constantinescu C.S., Farooqi N., O'Brien K., Gran B. (2011) Experimental autoimmune encephalomyelitis (EAE) as a model for multiple sclerosis (MS). *British Journal of Pharmacology*, 164: 1079–1106.
4. Croxford A.L., Kurschus F.C., Waisman A. (2011) Mouse models for multiple sclerosis: historical facts and future implications. *Biochemica et Biophysica Acta*, 1812: 177–183.
5. Denic A., Johnson A.J., Bieber A.J., Warrington A.E., Rodriguez M., Pirko I. (2011) The relevance of animal models in multiple sclerosis research. *Pathophysiology* 18: 21–29.
6. Ehud L. (2005) *Experimental models of multiple sclerosis*. Springer USA.
7. Gonzalez-Cabrera P.J., Brown S., Studer S.M., Rosen H. (2014) S1P signaling: new therapies and opportunities. *F1000Prime Reports*, 6: 109.
8. Guzik A., Kwolek A. (2015) Częstość występowania i rozmieszczenie stwardnienia rozsianego w Polsce i na świecie. *Przegląd Medyczny Uniwersytetu Rzeszowskiego i Narodowego Instytutu Leków w Warszawie Rzeszów*, 1: 55–62.
9. Hauser S.L., Oksenberg J.R. (2006) The neurobiology of multiple sclerosis: genes, inflammation, and neurodegeneration. *Neuron*, 52: 61–76.
10. Jatzak I., Głąbiński A. (2009) Modele doświadczalne stwardnienia rozsianego. *Aktualności Neurologiczne*, 9 (4): 231–239.
11. Langstaff, A. (2009) *Krótkie wykłady. Neurobiologia*. Wróbel A. (red.). Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa.
12. Lassmann H. (2002) Mechanisms of demyelination and tissue destruction in multiple sclerosis. *Clinical Neurology and Neurosurgery*, 104: 168–171.
13. Mao P., Reddy P.H. (2010) Is multiple sclerosis a mitochondrial disease? *Biochemica et Biophysica Acta*, 1802: 66–79.
14. Mirowska-Guzel D. (2016) Rola rzutów oraz zasady stosowania glikokortykosteroidów w stwardnieniu rozsianym. *Aktualności Neurologiczne*, 16: 131–135.
15. Mix E., Meyer-Rienecker H., Hartung H.P., Zettl U.K. (2010) Animal models of multiple sclerosis - Potentials and limitations. *Progress in Neurobiology*, 92: 386–404.
16. Sedal L., Winkel A., Laing J., Law L.Y., McDonald E. (2017) Current concepts in multiple sclerosis therapy. *Degenerative Neurological and Neuromuscular Disease*, 7: 109–125.
17. Steinman L., Zamvil S.S. (2016) Beginning of the end of two-stage theory purporting that inflammation then degeneration explains pathogenesis of progressive multiple sclerosis. *Current Opinion in Neurology*, 29: 340–344.
18. Tillery E.E., Clements J.N., Howard Z. (2018) What's new in multiple sclerosis? *The Mental Health Clinician*, 7: 213–220.
19. Wender M. (2009) Neuropatologia stwardnienia rozsianego - fakty i kontrowersje. *Aktualności Neurologiczne*, 9: 240 – 246.

Mgr farmacji Monika Jankowska jest doktorantką w Zakładzie Biochemii Mózgu Instytutu Farmakologii Polskiej Akademii Nauk w Krakowie. E-mail: jankow@if-pan.krakow.pl

Prof. dr hab. Irena Nalepa, neuropsychofarmakolog, neurobiolog i biochemik, członek European Dana Alliance for the Brain (EDAB), jest kierownikiem Zakładu Biochemii Mózgu Instytutu Farmakologii Polskiej Akademii Nauk w Krakowie. E-mail: nfnalepa@cyf-kr.edu.pl