

# Biološka osnova multiple skleroze

---

**Margetić, Marina**

**Undergraduate thesis / Završni rad**

**2023**

*Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj:* **University of Zagreb, Faculty of Science / Sveučilište u Zagrebu, Prirodoslovno-matematički fakultet**

*Permanent link / Trajna poveznica:* <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:217:283554>

*Rights / Prava:* [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

*Download date / Datum preuzimanja:* **2025-03-14**



*Repository / Repozitorij:*

[Repository of the Faculty of Science - University of Zagreb](#)



Sveučilište u Zagrebu  
Prirodoslovno-matematički fakultet  
Biološki odsjek

Marina Margetić

**BIOLOŠKA OSNOVA MULTIPLE  
SKLEROZE**

Završni rad

Zagreb, 2023.

University of Zagreb  
Faculty of Science  
Department of Biology

Marina Margetić

**THE BIOLOGICAL BASIS OF MULTIPLE  
SCLEROSIS**

Bachelor thesis

Zagreb, 2023.

Ovaj završni rad je izrađen u sklopu Prijeddiplomskog sveučilišnog studija Biologija na Zavodu za animalnu fiziologiju Biološkog odsjeka Prirodoslovno-matematičkog fakulteta u Zagrebu, pod mentorstvom prof. dr. sc. Dubravke Hranilović.

---

# TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Sveučilište u Zagrebu  
Prirodoslovno-matematički fakultet  
Biološki odsjek

Završni rad

## Biološka osnova multiple skleroze

Marina Margetić

Rooseveltov trg 6, 10000 Zagreb, Hrvatska

Multipla skleroza je autoimuna i neurodegenerativna bolest središnjeg živčanog sustava. Zbog neregulirane funkcije imunskog sustava, dolazi do demijelinizacije aksona koju prate upalni procesi i naposljetku propadanje neurona. Uzročnik bolesti još nije izdvojen, dok je za početak upale potrebna genska predispozicija kao i vanjski okolišni čimbenik koji služi kao okidač. Vanjskih čimbenika je puno, a uključuju virusne infekcije, nedostatak vitamina D, prekomjernu tjelesnu težinu, pušenje, ali i promjene u mikrobioti i epigenetičke modifikacije. Liječenje, u većini slučajeva, uključuje imunomodulaciju kojom se izaziva niska razina limfocita. Međutim, i dalje ne postoji lijek koji sprječava neurodegeneraciju pa se liječenje i dalje bazira samo na ublažavanju simptoma.

Ključne riječi: autoimuna bolest, neurodegeneracija, središnji živčani sustav, demijelinizacija, imunski sustav

Rad je pohranjen u Središnjoj biološkoj knjižnici

Mentor: prof. dr. sc. Dubravka Hranilović

## BASIC DOCUMENTATION CARD

---

University of Zagreb  
Faculty of Science  
Department of Biology

Bachelor thesis

### The biological basis of multiple sclerosis

Marina Margetić

Rooseveltova trg 6, 10000 Zagreb, Croatia

Multiple sclerosis is an autoimmune and neurodegenerative disease that affects the central nervous system. Dysregulated immune system causes demyelination of axons, which is accompanied with inflammation and, finally, death of neurons. The cause of the disease still hasn't been singled out, even though, both genetic predisposition and environmental risk factors are needed for the onset. There are many environmental risk factors, including viral infections, vitamin D deficiency, overweight, smoking, and also the changes in gut microbiota and epigenetic modifications. Treatment is, in most cases, immunomodulation that causes low lymphocyte levels. However, a cure that would prevent neurodegeneration still hasn't been found, so the treatment is based solely on symptoms relief.

Keywords: autoimmune disease, neurodegeneration, central nervous system, demyelination, immune system

Thesis is deposited in Central Biological Library.

Mentor: prof. dr. sc. Dubravka Hranilović

# SADRŽAJ

<b>1. UVOD.....</b>	<b>1</b>
<b>2. GRAĐA I FUNKCIJA MIJELINSKE OVOJNICE .....</b>	<b>2</b>
<b>3. MULTIPLA SKLEROZA .....</b>	<b>4</b>
<b>4. ULOGA IMUNOSNOG SUSTAVA U RAZVOJU MS .....</b>	<b>5</b>
4.1 Stečeni imunitet .....	5
4.2 Urođeni imunitet .....	6
4.3. Mehanizam demijelinizacije .....	8
<b>5. ČIMBENICI KOJI POGODUJU RAZVOJU MS.....</b>	<b>9</b>
5.1 Genska podloga.....	9
5.2 Okolišni čimbenici .....	10
5.2.1 Virusi .....	10
5.2.2 Vitamin D .....	13
5.2.3 Pretilost .....	15
5.2.4 Pušenje.....	15
5.2.5 Mikrobiom .....	15
5.2.6 Epigenetičke modifikacije.....	16
<b>6. MEHANIZMI LIJEČENJA.....</b>	<b>16</b>
<b>7. ZAKLJUČAK .....</b>	<b>18</b>
<b>8. LITERATURA.....</b>	<b>19</b>
<b>9. ŽIVOTOPIS.....</b>	<b>23</b>

## POPIS KRATICA

**6p21** = kraći krak 6. kromosoma

**ADCC** = citotoksičnost ovisna o antitijelima (engl. *antibody-dependent cytotoxicity*)

**APC** = stanice za predočavanje antigena (engl. *antigen-presenting cells*)

**CALHV3** = Callitricine herpesvirus 3

**CCL2** = c-c kemokinski ligand tipa 2 (engl. *chemokine (C-C motif) ligand 2*)

**CD14** = klaster diferencijacije 14 (engl. *cluster of differentiation 14*)

**CD2** = klaster diferencijacije 2 (engl. *cluster of differentiation 2*)

**CD20** = klaster diferencijacije 20 (engl. *cluster of differentiation 20*)

**CD4+** = klaster diferencijacije 4 (engl. *cluster of differentiation 4*)

**CD40** = klaster diferencijacije 40 (engl. *cluster of differentiation 40*)

**CD52** = klaster diferencijacije 52 (engl. *cluster of differentiation 52*)

**CD58** = klaster diferencijacije 58 (engl. *cluster of differentiation 58*)

**CD8+** = klaster diferencijacije 8 (engl. *cluster of differentiation 8*)

**CD80** = klaster diferencijacije 80 (engl. *cluster of differentiation 80*)

**CD86** = klaster diferencijacije 86 (engl. *cluster of differentiation 86*)

**CMV** = citomegalovirus

**CNP** = 2'3'-ciklički-nukleotid 3'- fosfodiesteraza (engl. *2'3'-cyclic-nucleotide 3'-phosphodiesterase*)

**CNS** = središnji živčani sustav (engl. *central nervous system*)

**DDX39B** = polipeptid 39B „DEAD box“ RNA helikaze (engl. *RNA helicase DEAD box polypeptide 39B*)

**DNA** = deoksiribonukleinska kiselina (engl. *deoxyribonucleic acid*)

**EAE** = eksperimentalni autoimuni encefalomijelitis (engl. *experimental autoimmune encephalomyelitis*)



**EBNA2** = Epstein-Barr jezgreni antigen 2 (engl. *Epstein-Barr nuclear antigen 2*)

**EBV** = Epstein-Barr virus

**EVI5** = ektopično virusno integracijsko mjesto 5 (engl. *ecotropic viral integration site 5*)

**FMC** = brzo migrirajući cerebrozidi (engl. *fast migrating cerebrosides*)

**FoxP3** = transkripcijski čimbenik iz porodice forkhead koji je izražen na CD4+ regulacijskim stanicama (engl. *forkhead box protein 3*)

**GalCer** = galaktozilceramid

**GALTs** = limfno tkivo pridruženo sluznici probavne cijevi (engl. *gut-associated lymphoid tissues*)

**GlcCer** = glukozilceramid

**GM<sub>1</sub>** = monosijalogangliozid

**GM<sub>3</sub>** = monosijalodiheksozilgangliozid

**GM<sub>4</sub>** = sijalozilgalaktozilceramid

**HERV** = humani endogeni retrovirus

**HERVs-H** = humani endogeni retrovirusi koji pripadaju familiji H

**HERVs-L** = humani endogeni retrovirusi koji pripadaju familiji L

**HHV-6** = humani herpes virus 6

**HLA** = humani leukocitni antigen (engl. *human leukocyte antigen*)

**HLA-DQ** = humani leukocitni antigen DQ (engl. *human leukocyte antigen DQ*)

**HLA-DR** = humani leukocitni antigen DR (engl. *human leukocyte antigen DR*)

**HLA-DRB1\*15:01** = alel humanog leukocitnog antigena DRB1 (engl. *allele for human leukocyte antigen DRB1*)

**HLA-I** = humani leukocitni antigen razreda I (engl. *human leukocyte antigen class I*)

**HLA-II** = humani leukocitni antigen razreda II (engl. *human leukocyte antigen class II*)

**HSP60** = heat shock protein 60

**HSV-1** = herpes simplex virus 1

**HSV-2** = herpes simplex virus 2

**IFN- $\beta$**  = interferon beta

**IFN- $\gamma$**  = interferon gama

**IL-1** = interleukin 1

**IL-10** = interleukin 10

**IL-12** = interleukin 12

**IL-13** = interleukin 13

**IL-16** = interleukin 16

**IL-17** = interleukin 17

**IL-1 $\beta$**  = interleukin 1 beta

**IL-2** = interleukin 2

**IL-21** = interleukin 21

**IL-23** = interleukin 23

**IL-27** = interleukin 27

**IL-2R** = receptor interleukina 2

**IL2RA** = alfa podjedinica receptora za interleukin 2

**IL-5** = interleukin 5

**IL-6** = interleukin 6

**IL-7** = interleukin 7

**IL-7R** = receptor interleukina 7

**IL7RA** = alfa podjedinica receptora za interleukin 7

**IP-10** = inducibilni protein 10

**JCV** = John Cunningham virus

**MAG** = glikoprotein vezan za mijelin (engl. *myelin-associated glycoprotein*)

**MAIT** = invarijantne T stanice mukoznog tkiva (engl. *mucosal-associated invariant*)

**MBP** = periferni mijelinski bazni protein (engl. *myelin basic protein*)

**MHC** = geni glavnog sustava tkivne podudarnosti (engl. *major histocompatibility complex*)

**MHC-II** = geni glavnog sustava tkivne podudarnosti koji pripadaju razredu II (engl. *major histocompatibility complex class II*)

**MMP** = matriksna metaloproteinaza (engl. *matrix metalloproteinase*)

**MNC** = mononuklearne stanice (engl. *mononuclear cells*)

**MOG** = glikoprotein koji povezuje mijelin i oligodendrocit (engl. *myelin oligodendrocyte glycoprotein*)

**mRNA** = glasnička ribonukleinska kiselina (engl. *messenger ribonucleic acid*)

**MS** = multipla skleroza

**NK-stanice** = prirodno ubilačke stanice (engl. *natural-killer*)

**NKT-stanice** = prirodno ubilačke stanice T (engl. *natural-killer T-cells*)

**NO** = dušikov monoksid

**NTZ** = natalizumab

**OPN** = osteopontin

**PL** = fosfolipid (engl. *phospholipid*)

**PLP** = mijelinski proteolipidni protein (engl. *myelin proteolipid protein*)

**PML** = progresivna multifokalna encefalopatija (engl. *progressive multifocal encephalopathy*)

**PNS** = periferni živčani sustav (engl. *peripheral nervous system*)

**PPMS** = primarno progresivni oblik multiple skleroze

**pre-mRNA** = prekursor glasničke ribonukleinske kiseline (engl. *precursor messenger ribonucleic acid*)

**RBPJ** = rekombinirajuća regija limfocita, koja kodira za imunoglobulin kappa J (engl. *recombination signal binding protein for immunoglobulin kappa J region*)

**RNA** = ribonukleinska kiselina (engl. *ribonucleic acid*)

**ROR $\gamma$ t** = transkripcijski čimbenik, član porodice receptora retinske kiseline (engl. *retinoid orphan receptor*)

**RRMS** = relapsno-remitirajući oblik multiple skleroze

**SLE** = sistemski eritemski lupus (engl. *systemic lupus erythematosus*)

**SPMS** = sekundarno progresivni oblik multiple skleroze

**TACI** = transmembranski aktivator i CAML interaktor (engl. *transmembrane activator and CAML interactor*)

**TGF $\beta$**  = transformirajući faktor rasta beta (engl. *transforming growth factor beta*)

**TGF- $\beta$ 1** = transformirajući faktor rasta beta 1 (engl. *transforming growth factor beta1*)

**Th stanice** = pomoćnički T-limfocit (engl. *T helper cell*)

**TLR4** = toll-like receptor 4

**TNFRSF1A** = receptor tumorskog faktora nekroze iz superfamilije 1A (engl. *tumor necrosis factor receptor super family 1A*)

**TNFSF113B** = faktor aktivacije B limfocita iz superfamilije tumorskih faktora nekroze (eng. *tumor necrosis factor super family B-cell-activating factor*)

**TNF $\alpha$**  = tumor nekrotizirajući faktor alfa

**Tr1** = regulatorna stanica tipa 1

**Treg** = regulatorni T-limfocit

**TRIAL** = apoptoza inducirana ligandom, povezana s tumor nekrotizirajućim faktorom (engl. *tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand*)

**UVB** = ultraljubičasto B (eng. *ultraviolet B*)

**VCAM-1** = vaskularna stanična adhezijska molekula (engl. *vascular cell adhesion molecule 1*)

**VDR** = receptor vitamina D (eng. *vitamine D receptor*)

**VLA-4** = vrlo kasni antigen 1 (engl. *very late antigen-4*)

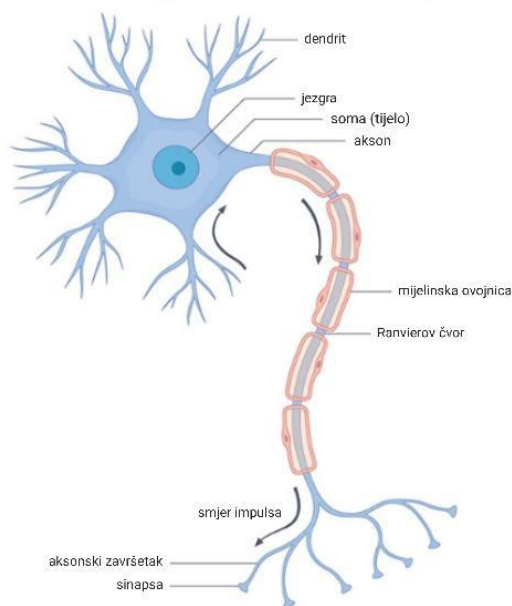
**VZV** = varicella-zoster virus

## 1. UVOD

Multipla skleroza (MS) je kronična autoimuna bolest koju karakteriziraju upalni procesi, demijelinizacija i degeneracija središnjeg živčanog sustava (engl. *central nervous system*, CNS).

Imunosni sustav temelji se na sustavu humanog leukocitnog antigena (engl. *human leukocyte antigen*, HLA). HLA su prisutni na svim stanicama organizma. Geni za ovaj sustav nalaze se na 6. kromosomu, a kod mnogih drugih životinja poznati su kao geni glavnog sustava tkivne podudarnosti (engl. *major histocompatibility complex*, MHC). Kada stanice imunskog sustava naiđu na stanice koje ne sadrže vlastite HLA, prepoznaju ih kao strane i pokreće se kaskada koja rezultira njihovim uništavanjem. Kod autoimunih bolesti ovaj sustav ne prepoznaje HLA vlastitih stanica te ih uništava (Patsopoulos, 2018).

Da bismo razumijeli mehanizam bolesti, važno je znati i građu samog neurona. Neuron ili živčana stanica osnovna je jedinica živčanog sustava te se sastoji od tri glavna dijela: some (tijela), dendrita i aksona (Slika 1.) Tijelo neurona sadrži jezgru, zaduženo je za stanični metabolizam i sintezu proteina. Dendriti su kraći nastavci some koji primaju signale. Akson je dugi nastavak neurona koji provodi i preko sinapse predaje signale ciljnim stanicama.



**Slika 1.** Građa neurona (preuzeto s: <https://www.nichd.nih.gov/health/topics/neuro/conditioninfo/parts>)

Mijelinska ovojnica je omotač oko aksona koji ubrzava putovanje živčanog impulsa, a sintetiziraju je glija-stanice. U središnjem živčanom sustavu ga stvaraju oligodendrociti, a u perifernom (engl. *peripheral nervous system*, PNS) Schwannove stanice.

Kod multiple skleroze proteini mijelinske ovojnice meta su neregularne aktivnosti imunskog sustava što rezultira progresivnom neurološkom disfunkcijom, (Quintana i sur., 2008) odnosno dolazi do propadanja mijelinske ovojnice aksona što dovodi do ometanja prijenosa električnih signala i naposljetku odumiranja neurona.

Sam naziv skleroza odnosi se na ožiljke (skleroze ili plakove) bijelog tkiva mozga i leđne moždine uzrokovane perivaskularnom infiltracijom inflamatornih stanica (B i T-limfocita) (Quintana i sur., 2008).

Brojni su faktori rizika za razvoj bolesti, među kojima su etnička pripadnost (genski lokusi za HLA), spol (učestalije u žena), nadmorska visina, odnosno izloženost sunčevoj svjetlosti (postoje korelacije bolesti i niske razine vitamina D), kao i virusne infekcije. Međutim, nijedan od ovih faktora ne može se izdvojiti kao direktni uzrok bolesti (Quintana i sur., 2008).

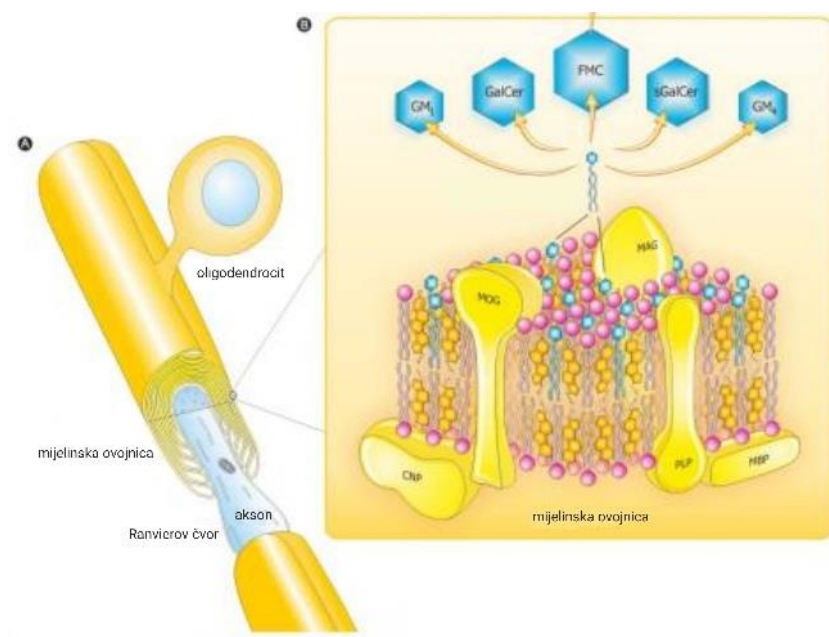
U ovom radu ću opisati dosadašnje spoznaje o ulozi imunskog sustava kod razvoja multiple skleroze, kao i genskoj podlozi, okolišnim čimbenicima te mehanizmima liječenja.

## 2. GRAĐA I FUNKCIJA MIJELINSKE OVOJNICE

Mijelinizacija aksona CNS-a je proces ulaganja proteina i lipida u staničnu membranu oligodendrocita koja se zatim omata oko aksona (Podbielska i sur., 2013).

Biokemijska značajka membrane oligodendrocita, koja je razlikuje od drugih bioloških membrana, veliki je omjer lipida i proteina. **Proteinski sastav** čine **integralni membranski proteini** – mijelinski proteolipidni protein (PLP) i periferni mijelinski bazični protein (MBP), dok se u manjem udjelu nalaze **periferni membranski proteini** – glikoprotein vezan za mijelin (engl. *myelin-associated glycoprotein*, MAG), glikoprotein koji povezuje mijelin i oligodendrocit (engl. *myelin oligodendrocyte glycoprotein*, MOG) i 2'3'-ciklički-nukleotid 3'- fosfodiesteraza (engl. *2'3'-cyclic-nucleotide 3'-phosphodiesterase*, CNP). Tri glavna razreda **lipida** su: **kolesterol**, **glikosfingolipidi** – galaktozilceramidi (GalCer), gangliozidi (u manjoj mjeri

monosijalogangliozi,  $GM_1$  i sijalozilgalaktozilceramid,  $GM_4$ , a u većoj monosijalodiheksozilgangliozi,  $GM_3$ , brzo migrirajući cerebrozidi (engl. *fast migrating cerebroside*, FMC) i glukozilceramidi (engl. *Glucosylceramides*, GlcCer) i **fosfolipidi** (engl. *Phospholipids*, PLs) u stalnim molarnim odnosima 2:1:2. (Slika 2.) (Podbielska i sur., 2013).



**Slika 2.** (A) Grafički prikaz aksona omotanog mijelinskom ovojnicom oligodendrocita. (B) Molekulski sastav mijelinske ovojnice; najzastupljeniji proteini (PLP, MBP, MAG, MOG) označeni su žutom bojom, a najzastupljeniji lipidi narančastom (kolesterol), ružičastom (fosfolipidi) te plavom (glikosfingolipidi; GalCer,  $GM_1$ ,  $GM_3$ , FMC, sGalCer i  $GM_4$ ) (Podbielska i sur., 2013).

Voljni pokreti temelje se na sinkronizaciji aktivnosti brojnih mišićnih vlakana, za koju je nužan brzi prijenos akcijskog potencijala kroz sam akson. Njega omogućavaju Ranvierovi čvorovi - kratki (1  $\mu\text{m}$ ) periodički prekidi mijelinske ovojnice duž aksona. Čvorovi sadrže velik broj  $\text{Na}^+$  kanala koji su odgovorni za nastanak akcijskog potencijala, ali i strukturnih proteina ankirina zaduženih za usidranje proteina na citoskelet aksona (Grider i sur., 2023).



### 3. MULTIPLA SKLEROZA

Multiplu sklerozu karakterizira kronična upala u CNS-u, demijelinizacija, i propadanje neurona, a posljedica toga su simptomi koji uključuju poremećaje ponašanja (depresivni i bipolarni simptomi) i neurološke poremećaje (vizualni i motorički problemi, gubljenje osjeta u udovima, opća slabost) (Quintana i sur., 2008).

Bolest se javlja u tri oblika: relapsno-remitirajuća, RRMS, primarno progresivni, PPMS i sekundarno progresivni, SPMS. RRSM je prisutan u 85% bolesnika, a karakteriziraju blaga pogoršanja simptoma praćena periodima djelomičnog ili potpunog oporavka. Ovakav oblik naziva se i bifazični tijek bolesti: prva faza definirana je upalim procesom koji na početku može biti reverzibilan i druga (ireverzibilna) faza koja je neurodegenerativna. PPMS i RPMS se smatraju progresivnim oblicima bolesti. PPMS se javlja se u 10% pacijenata te dolazi do postupnog pogoršanja simptoma tijekom dugog vremenskog perioda. Gotovo 70% pacijenta kojima je dijagnosticirana RRMS, u periodu od 20-25 godina razviju SPMS kod koje dolazi do postupne progresije praćene periodima pogoršanja simptoma (Dutta i sur., 2014).

Multipla skleroza se većinom javlja u dobi od 20. do 40. godine života te je najčešća demijelinizacijska bolest u svijetu, a od nje boluje gotovo dva milijuna ljudi (Peerlings i sur., 2021). U Hrvatskoj od multiple skleroze boluje oko 6000 osoba, od čega 2188 ima teži oblik invaliditeta (HZJZ, 2019).

Povećanu prevalenciju (0,1-1,5 na 100.000) multiple skleroze uočavamo među bjelačkom populacijom sjeverne hemisfere (Simpson i sur., 2011), dok su razvoju bolesti podložnije žene nego muškarci (Compston i Coles, 2002). Tu činjenicu vrlo vjerojatno objašnjava razlika u imunosnom i živčanom sustavu između žena i muškaraca uzrokovana djelovanjem spolnih hormona, genetskim razlikama, kao i utjecaj okoline i modernog načina života (Harbo i sur., 2013).

Biološku podlogu MS-a čini propadanje mijelinskih ovojnica, čiji proteini postaju meta nereguliranog imunosnog sustava.

## 4. ULOGA IMUNOSNOG SUSTAVA U RAZVOJU MS-a

Stečeni (adaptivni ili specifični) imunitet pamti prethodno izlaganje antigenu (molekuli koju prepoznaje imunost) i za njega je specifičan. Razlikujemo staničnu i humoralnu imunost. Stanična podrazumijeva odgovor T-limfocita, a humoralna B-limfocita koji luče antitijela.

Za razliku od stečenog, urođeni (prirodni ili nespecifični) imunitet za aktivaciju obrane organizma ne zahtijeva prethodni kontakt s antigenom. Njegove komponente su stanice koje fagocitiraju antigene (neutrofili, monociti, makrofagi, dendritičke stanice), stanice za predočavanje antigena (engl. *antigen-presenting cells*, APC) T-limfocitima (makrofagi, dendritičke stanice) te NK (engl. *natural killer*)–stanice.

### 4.1 Stečeni imunitet

Stanice stečenog imunostnog sustava koje se najčešće povezuju s MS-om su proupalni pomoćni T-limfociti tipa 1 (Th-1) i Th-17 stanice. Aktivirani interleukinom 12 (IL-12) - citokinom kojeg većinom proizvode limfociti, nezreli limfociti **CD4+** (općenito povezivani s upalom) diferenciraju u Th-1 koji ekspiriraju transkripcijski faktor Tbet i proizvode signalni protein interferon- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ). Diferencijacija CD4+ u prisutnosti TGF- $\beta$ 1 (engl. *transforming growth factor- $\beta$ 1*), IL-6 ili IL-21 pak rezultira Th-17 stanicama koje ekspiriraju receptor za hormone na jezgri ROR $\gamma$ t (engl. *retinoid orphan receptor- $\gamma$ t*) i proizvode IL-17 (Rodríguez Murúa, 2022). CD4+ limfociti se također mogu transformirati u regulatorne T-stanice (Treg) koje ekspiriraju transkripcijski faktor FoxP3 te proizvode IL-10 čime ograničavaju odgovor T-limfocita na patogene, što je zadaća regulatornih stanica tipa 1 (Tr1). Smatra se da smanjen broj Treg te ograničena supresivna aktivnost i odgovor na patogene zajednički doprinose nereguliranom autoimunom odgovoru T-limfocita (Rodríguez Murúa, 2022).

Uz CD4+, važnu ulogu imaju **CD8+** limfociti čija je brojnost velika unutar ozlijeđenog tkiva bijele i sive tvari. CD8+ proizvode granzime i perforine, proteine koji uzrokuju apoptozu ciljanih stanica. Osim toga, vrše sekreciju citokina, najviše IL-17 i limfotoksina, kao i kemijskih atraktanata (IL-16, IP-10) za CD4+ (Rodríguez Murúa, 2022).

**Invarijantne T stanice mukoznog tkiva** (engl. *mucosal-associated invariant T*, MAIT) podvrsta su CD8+ T-limfocita nalik onima u urođenom imunitetu. Njihov broj povećan je u mozgu oboljelih, gdje proizvode IL-17 (Rodríguez Murúa, 2022).

**$\gamma\delta$  T-limfociti** predstavljaju poveznicu između stečenog i urođenog imuniteta te pridonose uništenju živčanog tkiva u ranoj fazi bolesti. Meta njihovog citotoksičnog djelovanja su oligodendrociti. Zanimljivo je da upravo oni eksprimiraju HSP60, šaperon u matriksu mitohondrija odgovoran za pravilno smatanje proteina. On potiče  $\gamma\delta$  T-limfocite na povećanje brojnosti (Rodríguez Murúa, 2022).

**B-limfocite** se s bolešću povezuje već više od 70 godina. Aktivacijom, B-limfociti diferenciraju u plazma stanice koje vrše sekreciju autoantitijela čija je glavna zadaća citotoksičnost posredovana stanicama, ovisna o antitijelima (engl. *antibody-dependent cellular cytotoxicity*, ADCC). Osim autoantitijela, mogu proizvoditi i proupalne citokine (limfotoksin, TNF-alfa), a vrše i funkciju stanice za predočavanje antigena (engl. *antigen-presenting cells*, APC) odgovorne za aktivaciju T-limfocita (Rodríguez Murúa, 2022).

#### 4.2 Urođeni imunitet

Aktivacija T-limfocita pomoću APC, upalne lezije okružene T-limfocitima, monocitima i makrofagima, kao i aktivirane mikroglialne stanice, reaktivni astrociti i citolitička aktivnost NK-stanica ukazuju na ulogu stečenog imuniteta u propadanju neurona (Hernández-Pedro i sur., 2013).

**Mastociti** su u velikom broju prisutni u plakovima (ožiljcima), gdje vrše sekreciju histamina i triptaza koje pridonose povećanju propusnosti krvno-moždane barijere i nakupljanju proupalnih stanica u CNS-u. Sudjeluju i u kaskadi aktivacije prekursora matriksne metaloproteinaze (MMP) koji su odgovorni za neurodegradaciju (Rodríguez Murúa, 2022).

**Mikroglialne stanice** CNS-a i pridošli **makrofagi** imaju važne uloge u upalnim procesima i napretku bolesti. Prva, proinflamatorna zadaća uključuje sekreciju citokina (IL-12, IL-23), kemokina i metabolita (TNF- $\alpha$ , reaktivni oblici kisika i dušika) koji uzrokuju neurodegeneraciju, ali se ponašaju i kao APC. Druga, imunoregulatorna zadaća odnosi se na uklanjanje uništenih stanica kako bi se pokrenuo proces remijelinizacije - proces oporavka mijelinske ovojnice koji se povezuje s fazom remisije MS-a) (Rodríguez Murúa, 2022).

**Astrociti** su najbrojnije neuroglialne stanice CNS-a. Odgovorni su za kontrolu upale, ali i neurodegeneraciju otpuštanjem citokina (IL-6, TNF), kemokina (CCL2, i neurotoksičnog dušikovog monoksida, NO). Posebne vrste astrocita mogu ograničiti antoimuno djelovanje T-limfocita sekrecijom citokina (IL-27) ili induciranjem apoptoze posredovane proteinom TRIAL

(engl. *tumor necrosis factor–related apoptosis-inducing ligand*). Astrociti, mikroglialne stanice i monociti djeluju zajedno u infiltraciji stanica imunskog sustava u CNS i neurodegeneraciji (Rodríguez Murúa, 2022).

**NK** (engl. *natural killer*) - **stanice** sudjelju u obrani organizma protiv tumora i mikrobnih infekcija. Broj ovih stanica uvećan je u pacijenata, a njihova zadaća je imunoregulatorna (lučenjem IL-5, IL-13 i TGF- $\beta$ ) i citolitička (lučenjem perforina i TRAIL-a). Nedavne spoznaje ukazuju na induciranje apoptoze posredovane TRAIL-om u astrocitima, koji zatim na to potiču i T-limfocite (Rodríguez Murúa, 2022).

**IL-2** je faktor rasta T-limfocita, neophodan za pravilan razvoj regulatornih T-limfocita. (Quintana i sur., 2008). Proizvode ga CD4+ limfociti, ali u manjoj mjeri i B-limfociti, NK-stanice, NKT-stanice (engl. *natural killer T-cells*), dendritičke stanice i mastociti. **Dendritičke stanice** su specijalizirane stanice za predočavanje antigena. Njihova uloga jest izlaganje antigena patogena na svojoj površini, na taj način kontrolirajući diferencijaciju T-limfocita, ali i utišavanje samoreaktivnih T-limfocita. Istovremeno, dendritičke stanice nose i vlastite antigene te induciraju toleranciju organizma na vlastita tkiva, kao i na bezopasne antigene (Liu, 2016).

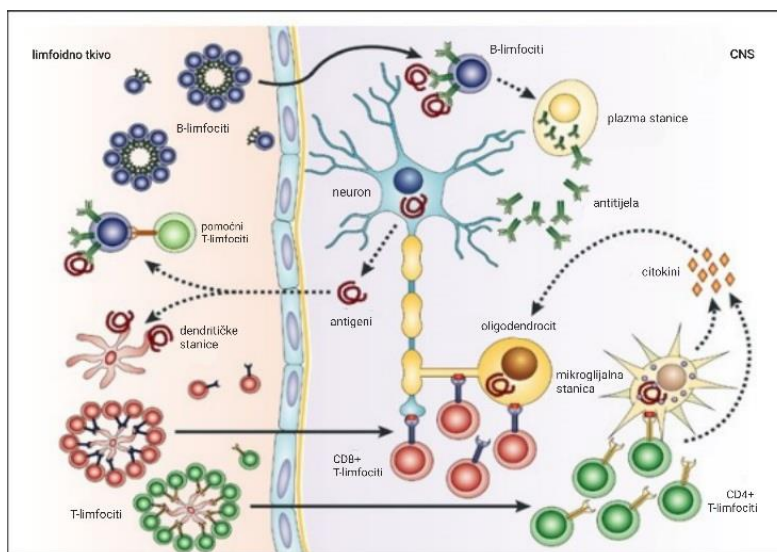
Aktivnost IL-2 može biti parakrina i endokrina. Biološki put IL-2 - IL-2 receptor (IL-2R) ima značajan učinak na stanice imunskog sustava (T- i B-limfocite, monocite, makrofage, NKs i dendritičke stanice) (Peerlings i sur., 2021). Razumijevanje ovog biološkog puta dodatno komplicira topivi oblik IL-2R koji se oslobađa iz aktiviranih stanica imunskog sustava, a čija uloga još nije sasvim razjašnjena. Na IL-2-IL-2R put utječu i genetski i okolišni faktori. IL-2, uz interferon- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ), spada u Th-1 nalik citokine za koje se smatra da su najvažnije patogene stanice MS-a jer aktiviraju makrofage i citotoksične T-limfocite (Tc; CD8+). Međutim, Th-2 stanice djeluju kao okidač B-limfocitima koji zatim proizvode antitijela protiv mijelinske ovojnice, aksona i oligodendrocita. Th-17 stanice promoviraju sekreciju proteina vezanih za upalne procese preko makrofaga, epitelnih i endotelnih stanica. Ti proteini usmjeravaju neutrofile prema upali (Peerlings i sur., 2021).

U plakovima su uočene velike količine  $\alpha$ 4-integrina koji posreduju interakciji T-limfocita i endotelnih stanica upaljenog CNS-a. Ovo je nužno kako bi autoreaktivni T-limfociti mogli ući u mozak i leđnu moždinu. Antitijela protiv  $\alpha$ 4-integrina smanjuju stupanj relapsa kod RR tipa eksperimentalnog autoimunog encefalomijelitisa (engl. *experimental autoimmune*

*encephalomyelitis*, EAE) modelnih organizama. EAE karakterizira periferna aktivacija CD4+ (Th1) i Th17 te proliferiranih Th1 i Th17 koji putuju iz limfnih čvorova preko krvno-moždane barijere u CNS (Ochoa-Repáraz i sur., 2018).

### 4.3. Mehanizam demijelinizacije

Ulazak stanica imunskog sustava u CNS, potaknut je antigenom (Slika 3.). Infekcija najvjerojatnije služi kao okidač. Antigen ulazi u limfno tkivo, prepoznaju ga dendritičke stanice ili B-limfociti koji ga onda predstave T-limfocitima i aktiviraju ih (CD4+, CD8+) te se pokreće odgovor imunskog sustava. B-limfociti se diferenciraju u plazma stanice i proizvode antitijela protiv stanog antigena. U međuvremenu, aktivirani T-limfociti sada mogu prijeći krvno-moždanu barijeru preko integrina VLA-4 (engl. *very late antigen-4*) (Hemmer i sur., 2002). VLA-4 je eksprimiran na leukocitima te vezanjem na VCAM-1 (engl. *vascular cell adhesion molecule 1*) endotelnih stanica krvno-moždane barijere omogućuje ulazak u CNS (Schwab i sur., 2015). VCAM-1, kao odgovor na lučenje citokina, osim endotelnih stanica, uzrokuje i vezanje limfocita, eozinofila i bazofila na krvni endotel te na taj način kontrolira regrutaciju stanica koje sudjeluju u upalnim procesima. Ulaskom u CNS, T-limfociti proizvode citokine koji dodatno aktiviraju ostale komponente imunskog sustava, npr. magrofage koji su nespecifični i greškom napadaju oligodendrocite (posljedica molekularne mimikrije kojoj mogu biti podložni i svi drugi elementi imunskog sustava). Raspadnom neurona, oslobađaju se novi antigeni koji se prepoznaju kao strani i ciklus započinje ponovno (Hemmer i sur., 2002).



Slika 3. Mehanizam demijelinizacije (prema Hemmer i sur., 2002).

## 5. ČIMBENICI KOJI POGODUJU RAZVOJU MS-a

### 5.1 Genska podloga

Kao rizične za razvoj bolesti prepoznajemo više od 200 nezavisnih gena, od kojih je većina povezana sa stečenim imunskim sustavom (Rodríguez Murúa, 2022).

Oboljenju su podložniji pojedinci čiji su bliži srodnici pacijenti, što ukazuje na određeni stupanj genske podloge bolesti. Točan postotak rizika za bliže srodnike iznosi 2-4%, u usporedbi s 0,1% šanse oboljenja u generalnoj populaciji. Općenito, rizik povezan s genima ipak iznosi tek 30%. Naime, istraživanja na jednojajčanim blizancima su pokazala da, ukoliko jedan monozigot ima bolest, drugi ima tek 25% šanse za razvijanje iste. Kod dvojajčanih blizanaca ta šansa pada na 5% (Patsupoulos, 2018).

Ove spoznaje dovele su do želje za otkrivanjem točnih gena koje povezujemo s bolesti. Korištenjem mikrosatelitnih markera ustanovljeno je da je klaster gena za humane leukocitne antigene na kromosomu 6p21 glavna poveznica. Kromosom 6p21 odnosi se na kraći krak 6. kromosoma koji sadrži gene odgovorne za imunski odgovor u životinja, koji se nazivaju i MHC geni. HLA geni kodiraju za polimorfne glikoproteine na površini stanice koji su uključeni u prepoznavanje stanih proteina unutar stanice (HLA-I) ili izvan stanice (HLA-II).

Interakcija dviju grupa gena dovodi do imunskog odgovora usmjerenog prema CNS-u. Jednu grupu čine geni HLA sustava, koji utječu na dijapazon djelovanja T-limfocita (aleli HLA-DR i HLA-DQ, od kojih najznačajniju povezanost s MS-om daje alel HLA-DRB1\*15:01), a drugu grupu geni koji moduliraju aktivaciju imunskih stanica. Jedan od njih je gen za polipeptid 39B RNA helikaze (engl. *RNA helicase DEAD box polypeptide 39B*, DDX39B) čiji je produkt važan za povezivanje malog jezgrinog ribonukleoproteina U2 s pre-mRNA, ali i za transport mRNA iz jezgre u citoplazmu (National Library of Medicine, National Center for Biotechnology Information, 2023). Drugi je receptor tumorskog faktora nekroze iz superfamilije 1A (engl. *tumor necrosis factor receptor super family 1A*, TNFRSF1A) koji, nakon vezanja liganda, kontrolira preživljavanje stanica, apoptoza i upalni procesi (National Library of Medicine, National Center for Biotechnology Information, 2023). Nadalje, ektopično virusno integracijsko mjesto 5 (engl. *ecotropic viral integration site 5*, EVI5) uključeno je u pozitivnu regulaciju aktivnosti GTPaze i retrogradni transport: od endosoma do Golgijevog aparata (National Library of Medicine, National Center for Biotechnology Information, 2023). Od ostalih polimorfizama, spominju se oni u genu



za TNFSF113B, koji kodira TACI koji pripada superfamiliji receptora tumorskog faktora nekroze i nalazi se na B-limfocitima (National Library of Medicine, National Center for Biotechnology Information, 2023) te u genima za alfa podjedinicu receptora interleukina 2 (engl. *interleukin 2 receptor subunit alpha*, IL2RA), alfa podjedinica receptora interleukina 7 (engl. *interleukin 7 receptor subunit alpha*, IL7RA) i za protein CD2 T-limfocita koji sudjeluje u njegovoj adheziji i aktivaciji (Rodríguez Murúa, 2022).

Osim prethodno spomenutog IL-2 alela, s MS-om se povezuje i onaj za IL-7R, receptor na membrani T-limfocita. Njegova uloga je kontrola dostupnosti IL-7. IL-7 kontrolira životni vijek i proliferaciju limfocita, a proizvode ga stromalne stanice limfoidnih tkiva. Smanjenje ekspresije IL-7R na membrani može povećati razine IL-7 koji će pojačati odgovor T-limfocita na upalu (Quintana i sur., 2008).

Uz spomenuti  $\alpha$ 4-integrin, u plakovima MS-a, ali i EAE-a zamjećene su i povećane razine osteopontina (OPN) što je rezultat polimorfizama *opn* gena. OPN je izvanstanični protein koji sudjeluje u izgradnji koštanog tkiva, popravku tkiva i upalnim procesima, a kod MS-a ukazuje na povećanu upalu i neurodegeneraciju, odnosno napredovanje bolesti (Stampanoni Bassi i sur., 2023). Signalni putevi potaknuti OPN-om favoriziraju patogene T-limfocite koji napadaju mijelinsku ovojnicu. OPN interagira i s  $\alpha$ 4-integrinom u ubacivanju stanica imunskog sustava u CNS.

## 5.2 Okolišni čimbenici

Za osobe koje imaju genetičku predispoziciju, određeni okolišni čimbenici značajni su faktori rizika koji mogu djelovati kao okidač bolesti. Kao najznačajne, prepoznajemo virusne infekcije, nedostatak vitamina D, pretilost, pušenje, promjene u mikrobiomu te epigenetičke modifikacije.

### 5.2.1 Virusi

Virusna etiologija temelji se na dva virusa: Epstein-Barr virusu (EBV) i humanom herpes virusu 6 (HHV-6) iako kao okidač mogu djelovati i varicella-zoster virus (VZV), citomegalovirus (CMV), John Cunningham virus (JCV) i humani endogeni retrovirusi (HERVs). Svi navedeni virusi imaju relativno visoku prevalenciju unutar populacije, a retrovirusi su čak i dio ljudskog genoma. Također, uzrokuju kronične infekcije s periodima reaktivacije koji se mogu povezati s relapsima. Iako ovi virusi pripadaju različitim porodicama, zajednička im je manipulacija genima domaćina, što vjerojatno uzrokuje neregularnu funkciju imunskog sustava.

Herpesvirusi su gotovo sveprisutni u odrasloj populaciji jer do zaraze dolazi u ranom djetinjstvu putem blage, simptomatski očite bolesti. Postoje tri tipa herpesvirusa za koje se zna da su ljudski patogeni: alfa (VZV, HSV-1, HSV-2), beta (CMV, HHV-6) i gama (EBV). Herpesvirusi mogu imati dva tipa replikacijskog ciklusa: latentni i reaktivacijski. Imaju različite stanice domaćine: živčane stanice (alfa-herpesvirusi) ili imunostane stanice – makrofage i B-limfocite (beta i gama-herpesvirusi). Kod imunodeficientnih osoba, infekcija je obično asimptomatska, a prati je doživotna izmjena latencije i reaktivacije virusa. Prilikom reaktivacije dolazi do pokretanja replikacijskog ciklusa i naposljetku lize stanice domaćina (Tarlinton i sur., 2020).

**Varicella–zoster virus**, uzročnik vodenih kozica, često je detektiran kod aktivnih faza multiple skleroze, a njegova reaktivacija dovodi do komplikacija kod imunosupresivnih terapija. Međutim, nije jasno je li je njegova prisutnost rezultat patogeneze ili se radi o reaktivaciji uslijed neregularne kontrole imunostnog sustava kako zbog same bolesti tako i zbog liječenja. Uzrokuje burniju proizvodnju antitijela u pacijenta, u usporedbi s generalnom populacijom (kontrolnom skupinom) (Tarlinton i sur., 2020).

**Herpes simplex virus 1 (HSV-1)** i **herpes simplex virus 2 (HSV-2)** isto tako pripadaju alfa-herpesvirusima te su uzročnici virusnog encefalitisa (upale mozga). Broj antitijela za ova dva virusa viši je u pacijenata nego što je u generalnog populaciji. Zanimljivo je da HSV-1 u miševa i štakora uzrokuje demijelinizirajući encefalitis, no to nije zabilježeno u ljudi (Tarlinton i sur., 2020).

**Citomegalovirus** i MS zasad nemaju čvrstu poveznicu. S jedne strane, kohotnim istraživanjem u Iranu (Najafi i sur., 2016), nađena je veća količina virusne DNA u pacijenata nego što je to u generalnoj populaciji. Ove nalaze dodatno potvrđuje i reaktivacija CMV infekcije u pacijenata koja dodatno pogoršava simptome multiple skleroze (Clerico i sur., 2016). Također, mali broj ljudi koji nije zaražen CMV-om ima manji rizik od oboljenja, nego što to imaju oni koji su zaraženi (Tarlinton i sur., 2020). S druge strane, Alari-Pahissa i sur. (2018) opovrgnuli su korelaciju između pozitivne serološke reakcije i pojave bolesti, no nisu ni definirali odnos između CMV infekcije i multiple skleroze.

Dokaz neurotropizma **HHV-6** pronalazimo u povećanoj prevalenciji virusnog genoma i proteina unutar plakova, kao i unutar cerebrospinalne tekućine te ekspresiji virusne RNA u periventrikularnim lezijama (promjenama u tkivu šupljina u unutrašnjosti mozga koje sadrže



likvor). Postoji i mogućnost križne reakcije (engl. *cross-reactivity*) zbog sličnosti proteina HHV-6 i mijelinskog bazičnog proteina što objašnjava odumiranje oligodendrocita posredovano CD8+ T-limfocitima, koje, uz CD4+ limfocite, povezujemo s napredovanjem upale, demijelinizacijom i, općenito, pogoršanjem simptoma bolesti (Tarlinton i sur., 2020).

Najkompleksniji je odnos **Epstein-Barr virusa** i multiple skleroze. Negativna serološka reakcija EBV-a sugerira sniženi rizik razvoja bolesti. Sukladno tome, pacijenti koji boluju od zarazne mononukleoze imaju povišen rizik od razvoja bolesti u usporedbi sa pacijentima koji imaju pozitivnu serološku reakciju ali nisu preboljeli mononukleozu. Međutim, nije sasvim jasno je li sama prisutnost DNA EBV-a veća u pacijenata nego što je kod generalne populacije. Za razvoj bolesti, nužno je da EBV uđe u središnji živčani sustav prije imunosnog odgovora stečenog imuniteta. Postoji više predloženih mehanizama patogeneze: križna reakcija virusa i mijelinskih epitopa, autoimuni odgovor na alfa- $\beta$ -kristalin (protein stresa limfoidnih stanica i oligodendrocita), citotoksičnost ovisna o antitijelu posredovana stanicama te citotoksičnost ovisna o komplementu. Ono što je jasno jest da EBV ima važnu ulogu u okidanju simptoma bolesti, ali nema korelacije s relapsima i napredovanjem bolesti. Epstein-Barr jezgreni antigen 2 (engl. *Epstein-Barr nuclear antigen 2*, EBNA2) kontrolira ekspresiju gena stanice domaćina i potiče transkripciju aktivacijskih faktora. Ono što je zanimljivo jest da se EBNA2 veže na lokuse koje se povezuje s podložnošću oboljenja. Dva najvažnija lokusa su: rekombinirajuća regija limfocita, koja kodira za imunoglobulin kappa J (engl. *recombination signal binding protein for immunoglobulin kappa J region*, RBPJ) i regija za receptor vitamina D (engl. *vitamin D receptor*, VDR). Poticanjem transkripcijskog faktora RBPJ, EBNA2 ima sposobnost pretvaranja B-limfocita u besmrtnu stanicu koje održavaju na životu patogene autoreaktivne leukocite u optjecajnom sustavu i moždanom tkivu. Utjecaj EBNA2 na VDR očituje se u nedostatku vitamina D kao jednog od važnih predispozicija za razvoj bolesti. Sistemski eritemski lupus (engl. *systemic lupus erythematosus*, SLE) je još jedna bolest koju se povezuje s infekcijom EBV-a. Dokaz je pronađen proučavanjem B-limfocita, čime je otkriveno da su mjesta vezanja za transkripciju EBNA2, proliferaciju B-limfocita i vitamina D u kompetitivnom odnosu, a sudjeluju u regulaciji funkcije B-limfocita. Fox i sur. (2019) su na modelu patuljastog marmoseta, majmuna koji ima sličan imunski odgovor kao i ljudi, dokazali da izravnom infekcijom B-limfocita Callitricine herpesvirusom 3 (CALHV3) razvijaju bolest sličnu MS-u. Terapijom s anti CD20 monoklonskim antitijelima (anti B-limfocitna antitijela) smanjuje se brojnost CALHV3 incifiranih B-limfocita. Također, dolazi do utjecaja na

inficirane B-limfocite kod kojih se mijenja predočavanje antigena, odnosno predočavaju citrulirane epitope MOG-a, koji su otporni na degradaciju (Tarlinton i sur., 2020). Citrulinacija je modifikacija proteina koja mijenja signalne puteve i specifične interakcije s limfocitima (Nguyen i James, 2016). Moguće je da ovo ukazuje na mehanizam patogeneze, koji posredovan ovim epitopima, stimulira autoreaktivne citotoksične T-limfocite koji su izbjegli klonsku deleciju u timusu, gdje se događa eliminacija mijelin-specifičnih T-limfocita (Goverman, 2011).

**John Cunningham virus** (ili humani poliomavirus 2) asocira sa staničnim histonima tvoreći minikromosome unutar zaraženih stanica. Kod osoba sa zdravim imunskim sustavom, ovaj virus ne uzrokuje bolest, ali kod imunokompromitiranih osoba može uzrokovati progresivnu multifokalnu encefalopatiju (engl. *progressive multifocal encephalopathy*, PML). Zahvaljujući mutacijama virus može prijeći i krvno-moždanu barijeru te se replicirati unutar CNS-a izazivajući lizu oligodendrocita i astrocita. Unatoč tome što su meta oligodendrociti, a posljedica demijelinizacija, smatra se da JCV nije okidač za MS (Tarlinton i sur., 2020).

**Humani endogeni retrovirusi** su replikacijski defektni retrovirusi koji čine 8% genoma i unutar njega funkcioniraju kao promotori, represori, poliadeninski signali, pojačivači i alternativna mjesta za *splicing* za mnoge neviralne gene. Međutim, mogu uzrokovati i upale, abnormalne imunološke reakcije i neregularne ekspresije gena. Klasificiraju se u 3 skupine: klasa I HERVs nalik gamaretrovirusima i epsilonvirusima, klasa II HERVs nalik betaretrovirusima i klasa III HERV-L nalik Spumavirusima. Ekspresija HERVs nalik gamaretrovirusima (HERVs-H i HERVs-L) povezuju se s MS-om. HERV proteini pokazuju ukršene reakcije s MOG te se vežu na HLA DR2 lokus. Uz to, vežu se i na CD14 (engl. *cluster of differentiation 14*) i TLR4 (engl. *toll-like receptor 4*) te stimuliraju upalne citokine IL-1 $\beta$ , IL-6 i TNF- $\alpha$ . Protein sincitin eksprimira se u monocitima (CD14<sup>low</sup>CD16<sup>+</sup>, koji su asocirani s MS-om), T- i B-limfocitima te NK-stanicama. HERV antigeni potencijalno služe kao okidač autoimunog odgovora te vode do sistemske aktivacije T-limfocitima i oštećenja moždanog tkiva (Tarlinton i sur., 2020).

### 5.2.2 Vitamin D

Vitamin D je vitamin topiv u lipidima. Za razliku od ostalih vitamina, može se sintetizirati u organizmu. Aktivni oblik naziva se kalcitriol, a kemijski je sličan hormonima testosteronu, estrogenu i korizolu (Sintzel i sur., 2017), pa se zbog toga i ponaša kao svojevrsni hormon.

Glavni izvori vitamina D su sunčeva svjetlost, prehrana i dodaci prehrani. UVB (svjetlost valne duljine 290-315 nm), pretvara prekursore vitamina D u koži u vitamin D3 (kolekalciferol). Njegova proizvodnja izlaganjem sunčevoj svjetlosti može biti umanjena povećanom kožnom pigmentacijom, starosnom dobi, korištenjem sredstava za zaštitu od sunca, ali i okolišnim čimbenicima kao što su godišnje doba (zima), visoka nadmorska visina, zagađenje, naoblacenje i razina ozona. Na primjer, produkcija vitamina D tijekom zime na više od 33° sjeverne (npr. Atlanta, Georgia, SAD) ili južne (npr. Santiago, Čile) geografske širine je, u najboljem slučaju, minimalna (Sintzel i sur., 2017). Zanimljivo je da podložnost razvoju bolesti možemo povezati i s mjesecom rođenja, što ukazuje na važnost majčinog izlaganja suncu (Harbo i sur., 2013).

Hrana koja sadrži ovaj spoj uključuje ribu bogatu masnim kiselinama (losos, skuša) ili žumanjak. Biljni oblik vitamina D naziva se vitamin D2 (ergokalciferol). Kolekalciferol i ergokalciferol, neaktivni su oblici i nalaze se u prerađenim prehrambenim proizvodima poput mlijeka i sireva, ali i vitaminskim pripravcima (Sintzel i sur., 2017).

Aktivni kalcitriol oslobađa se u krvotok te se veže na vitamin D vezujući receptor (VDR) na površini ciljnih tkiva. Biološku ulogu obavlja tek vezanjem na intracelularni VDR, koji se nalazi na gotovo svim tkivima u ljudskom organizmu. Njihovim vezanjem regulira se ekspresija barem 500 gena odgovornih za različite fiziološke zadaće (Sintzel i sur., 2017).

Važna uloga vitamina D veže ga upravo uz imunski sustav, a njegov se nedostatak povezuje s ranije spomenutim IL-2 putom, odnosno sa smanjenom ekspresijom IL-2R na T-limfocitima. Vitamin D je odgovoran za aktivaciju i proliferaciju limfocita, diferencijaciju pomoćnih T-limfocita, tkivno-specifično navođenje limfocita, proizvodnju specifičnih izotipova antitijela, kao i regulaciju imunskog odgovora. Ciljne stanice su: makrofagi, dendritičke stanice, T- i B-limfociti (Sintzel i sur., 2017).

Makrofagi i dendritičke stanice imaju stalnu ekspresiju VDR-a, dok je ona kod T-limfocita potaknuta aktivacijom. Kod makrofaga i monocita, kalcitriol povećava ekspresiju VDR-a i proteina citokroma P450, uključenog u sintezu i razgradnju proteina. Određeni TLR signali također povećavaju ekspresiju VDR-a. Aktivni vitamin D potiče proliferaciju monocita i ekspresiju IL-1 i katelicidina (antimikrobni peptid) putem makrofaga, što pridonosi obrani od bakterija. Osim toga, kalcitriol sprječava sazrijevanje dendritičkih stanica pa, samim time, ekspresiju MHC-II, CD40, CD80 i CD86. Također, smanjena je produkcija IL-12, a povećana IL-10. U T-limfocitima

smanjuje se produkcija IL-2, IL-17 i IFN- $\gamma$  te se utišava njihova citotoksična aktivnost, kao i proliferacija CD4<sup>+</sup> i CD8<sup>+</sup> tipova uključenih u obranu protiv virusnih infekcija. Aktivni vitamin D vjerojatno ima ulogu i u proizvodnji proteina FoxP3 (engl. *forkhead box protein 3*) i razvoju regulatornih T-limfocita te Tr1-stanica (regulatorni T-limfociti odgovorni za proizvodnju IL-10). Kalcitriol blokira proliferaciju B-limfocita, diferencijaciju plazma stanica te produkciju imunoglobulina (Mora i sur., 2008)

Iz navedenog se da zaključiti da razina vitamina D u krvi može utjecati na rizik od razvoja MS-a, kao i na tijek bolesti kod pacijenata. Međutim, vitaminski pripravci kao način liječenja MS-a i dalje nisu temeljito istraženi. Znanstvena zajednica nije se još usuglasila oko točne razine vitamina D u krvi koja bi se smatrala „dovoljnom“, a brojke se kreću između 30 i 40 ng/mL (Sintzel i sur., 2017).

### 5.2.3 Pretilost

Pretilost je okarakterizirana blagim kroničnim upalnim procesima, a integracija metaboličkog tkiva i stanica imunskog sustava doprinose samoj pretilosti, ali i upalnim procesima povezanim s pretilosti. Upale u masnom tkivu mogu se pojaviti već u djetinjstvu, a s pretilosti u toj dobi povezuju se i visoke razine C-reaktivnog proteina (proizvodi se u jetri kao odgovor na upalu te se koristi u dijagnostici), IL-6 i leptina - hormona kojeg luče masne stanice, a koji regulira tjelesnu masu i apetit. Osim toga, sastav mikrobiote je promijenjen, kao i njena imunosna uloga u aktivaciji Th-17 (Gianfrancesco i Barcellos, 2016).

Nadalje, pretili osobe imaju niže razine metabolita vitamina D koji, kao što je ranije spomenuto, ima utjecaj na razvoj multiple skleroze (Gianfrancesco i Barcellos, 2016).

### 5.2.4 Pušenje

Pretpostavlja se da pušenje interagira s rizičnim HLA genima te utječe na proupalne biološke puteve u plućima, što dovodi do povećane propusnosti krvno-moždane barijere i aktivacije autoreaktivnih stanica u CNS-u (Rodríguez Murúa, 2022).

### 5.2.5 Mikrobiom

Iako mikroorganizme u pravilu povezujemo s bolestima, mnogi od njih, uključujući bakterije, arheje, gljive te eukariotske organizme, zapravo su korisna za čovjeka. Općenito, skup ovih organizama nazivamo mikrobiota, a njihove gene mikrobiom. Limfno tkivo pridruženo sluznici probavne cijevi (engl. *gut-associated lymphoid tissues*, GALTs) spremište je limfoidnih stanica

(Ochoa-Repáraz i sur., 2018). Kod modelnih organizama (EAE), MS mijenja sastav mikrobioma što utječe na brojnost, ali i samu funkciju stanica imunskog sustava pa je disbioza (narušavanje sastava mikrobiote) mogući mehanizam koji okida bolest (Ochoa-Repáraz i sur., 2018).

Kod oboljelih osoba, makrofagi i astrociti proizvode NO, metabolit koji pridonosi narušavanju krvno-moždane barijere, propadanju oligodendrocita i daljnjoj demijelinizaciji te degradaciji aksona. Razina NO, koja se može detektirati u cerebro-spinalnoj tekućini, serumu i urinu, reflektira uznapredovale upalne procese (Quintana i sur., 2008).

### 5.2.6 Epigenetičke modifikacije

Okolišni čimbenici mijenjaju epigenom, poveznicu između faktora rizika i promjena u ekspresiji gena. Epigenom se gradi tijekom života i varira od tkiva do tkiva, kao i od stanica do stanica. Njegove značajke se nasljeđuju i mijenjaju ekspresiju gena neovisno o promjenama u DNA. Svaka od ovih promjena može biti okidač za nastajanje fenotipa bolesti. Na molekularnoj razini, epigenetički mehanizmi uključuju post-translacijske modifikacije histona, metilacije DNA i regulacije nekodirajućom RNA. Ove promjene imaju važnu ulogu u demijelinizaciji, kao i remijelinizaciji. Ono što je zanimljivo jest da ih povezujemo i s drugim neurodegenerativnim bolestima poput Alzheimerove, Parkinsonove i Huntingtonove bolesti (Gacias i Casaccia, 2014).

## 6. MEHANIZMI LIJEČENJA

Sve danas dostupne terapije za liječenje multiple skleroze su varijante imunomodulacije i djeluju na principu indukcije limfopenije – stanja niske razine limfocita ili na principu pomicanja prema fenotipu Th2 (pomoćnički limfocit tipa 2) (Tarlinton i sur., 2020). Th2 limfociti pojačavaju proizvodnju IL-10 i transformirajućeg faktora rasta beta (TGF- $\beta$ ) (Nagelkerken, 1998). Citokin IL-10 vrši supresiju sinteze proupalnih citokina, kao što je IFN- $\gamma$ , koje luče nuklearne stanice (engl. *mononuclear cells*, MNC) te supresiju MHC-II u monocita (Ozenci i sur., 1999).

Prvi uspješni način liječenja MS-a bio je uporaba IFN- $\beta$  - antiviralnog citokina kojeg proizvode inficirani fibroblasti, a djeluje na način da inhibira T-limfocite (Tarlinton i sur., 2020).

Nedavne metode baziraju se na ljudskim monoklonalnim antilimfocitnim antitijelima. Prvi primjer takvog lijeka je natalizumab (NTZ) koji se veže na VLA-4 eksprimiran na površini brojnih

leukocita i inhibira njegovu interakciju s adhezijskim molekulama (VCAM-1). Na taj način, sprječava migraciju leukocita preko krvno-moždane barijere. Nažalost, liječenje natalizumabom kod nekih pacijenata izaziva PML. Drugi primjer humaniziranog monoklalnog antitijela jest alemtuzumab koji se veže na limfocite, monocite i dendrocite s eksprimiranim proteinom CD52. Dolazi do smanjenja brojnosti T- i B-limfocita (utišavanje njihove APC uloge) uslijed citolize posredovane antitijelima i komplementom. No, i ovaj lijek ima neželjene nuspojave poput mogućnosti razvoja drugih autoimunih bolesti kao posljedice hiperprodukcije B-limfocita po prestanku liječenja. Treći (i najnoviji) primjer monoklalnog antitijela je ocrelizumab koji se veže na protein CD20 na površini B-limfocita što rezultira selektivnim smanjenjem brojnosti limfocita (Tarlinton i sur., 2020).

Lijek daclizumab povezujemo s prije spomenutim IL-2R koji su njegova meta, dok sam mehanizam uključuje sposobnost NK-stanica da eliminiraju autoreaktivne T-limfocite (Peerlings i sur., 2021).

Slične terapije koriste se i za liječenje raka, iako dolaze s nuspojavama poput povećane incidencije oportunističkih infekcija ili reaktivacije latentnih infekcija (Tarlinton i sur., 2020).

## 7. ZAKLJUČAK

Multipla skleroza je neurodegenerativna, ali i autoimuna bolest. Zašto dolazi do autoimunih bolesti još uvijek nije poznato. Ono što se zna jest da bi došlo do samog razvoja bolesti, treba se poklopiti genska predispozicija kao i mnoštvo okolišnih faktora koji služe kao okidač. Iako je suspektih okidača puno, nijedan se ne može izdvojiti kao direktni uzročnik MS-a.

Primarnu autoimunu reakciju kod multiple skleroze pokreću autoreaktivni pomoćni T-limfociti (Th; CD4+) koji, aktivirani u perifernim limfnim čvorovima, proliferiraju i ekspimiraju površinske receptore. Njihov sekret, proupalne molekule, zatim prelaze krvno-moždanu barijeru. U CNS-u, mikroglijalne stanice, astrociti i makrofagi na površini prezentiraju autoantigene koji reaktiviraju Th-stanice putem HLA-II. Iako postoji više Th-stanica koje smatramo patogenima, nije izdvojen glavni patogen. Zbog nereguliranog imunskog sustava, meta Th-stanica, ali i ostalih stanica imunskog sustava, postaju upravo oligodendrociti, odnosno mijelinska ovojnica. Demijelinizacija, praćena upalnim procesima (zbog infiltracije limfocita u CNS) uzrokuje nepovratni proces neurodegeneracije, za kojeg još uvijek nema lijeka. Zašto stanice imunskog sustava napadaju oligodendrocite, najbolje opisuje molekularna mimikrija, ali i pogreška u prepoznavaju HLA-II stanica organizma.

Najviše istraživanja provedeno je na modelnom obliku bolesti (EAE), na kojem se očekuje i najviše napretka u budućnosti, a glavni ciljevi su otkrivanje mehanizma autoimunih bolesti i liječenje uzroka, a ne simptoma, kako bi se poboljšala kvaliteta života oboljelih.

## 8. LITERATURA

Alari-Pahissa, E., Moreira, A., Zabalza, A., Alvarez-Lafuente, R., Munteis, E., Vera, A., Arroyo R., Alvarez-Cermeño, J. C., Villar, L.M., López-Botet, M., Martínez-Rodríguez, J. E. (2018). Low cytomegalovirus seroprevalence in early multiple sclerosis: A case for the ‘hygiene hypothesis’? *European Journal of Neurology*, 25(7), 925–933. <https://doi.org/10.1111/ene.13622>

Clerico, M., De Mercanti, S., Artusi, C. A., Durelli, L., & Naismith, R. T. (2017). Active CMV infection in two patients with multiple sclerosis treated with alemtuzumab. *Multiple Sclerosis*, 23(6), 874–876. <https://doi.org/10.1177/1352458516688350>

Compston, A., & Coles, A. (2002). Multiple sclerosis. *Lancet*, 359(9313), 1221–1231. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(02\)08220-X](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(02)08220-X)

Dutta, R., & Trapp, B. D. (2014). Relapsing and progressive forms of multiple sclerosis – insights from pathology. *Current Opinion in Neurology*, 27(3), 271–278. <https://doi.org/10.1097/WCO.0000000000000094>

Fox, D. M., Mundinano, I., & Bourne, J. A. (2019). Prehensile kinematics of the marmoset monkey: Implications for the evolution of visually-guided behaviors. *Journal of Comparative Neurology*, 527(9), 1495–1507. <https://doi.org/10.1002/cne.24639>

Gacias, M., & Casaccia, P. (2014). Epigenetic mechanisms in multiple sclerosis. *Revista Espanola de Esclerosis Multiple*, 6(29), 25–35.

Gianfrancesco, M. A., & Barcellos, L. F. (2016). Obesity and multiple sclerosis susceptibility: A review. *Journal of Neurology & Neuromedicine*, 1(7), 1–5.

Goverman, J. M. (2011). Immune tolerance in multiple sclerosis. *Immunological Reviews*, 241(1), 228–240. <https://doi.org/10.1111/j.1600-065X.2011.01016.x>

Grider, M. H., Belcea, C. Q., Covington, B. P., Reddy, V., & Sharma, S. (2023). Neuroanatomy, nodes of ranvier. In *StatPearls*. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing.



Hemmer, B., Archelos, J. J., & Hartung, H.-P. (2002). New concepts in the immunopathogenesis of multiple sclerosis. *Nature Reviews Neuroscience*, 3(4), 291–301. <https://doi.org/10.1038/nrn784>

Liu, K. (2016). Dendritic cells. *Encyclopedia of Cell Biology*, 741–749. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-394447-4.30111-0>

Hernández-Pedro, N. Y., Espinosa-Ramirez, G., de la Cruz, V. P., Pineda, B., & Sotelo, J. (2013). Initial immunopathogenesis of multiple sclerosis: Innate immune response. *Clinical and Developmental Immunology*, 2013, 413465. <https://doi.org/10.1155/2013/413465>

Mora, J. R., Iwata, M., & von Andrian, U. H. (2008). Vitamin effects on the immune system: Vitamins A and D take centre stage. *Nature Reviews Immunology*, 8(9), 685–698. <https://doi.org/10.1038/nri2378>

Nagelkerken, L. (1998). Role of Th1 and Th2 cells in autoimmune demyelinating disease. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research* 31(1), 55–60. <https://doi.org/10.1590/s0100-879x1998000100007>

Najafi, S., Ghane, M., Poortahmasebi, V., Jazayeri, S. M., & Yousefzadeh-Chabok, S. (2016). Prevalence of cytomegalovirus in patients with multiple sclerosis: A case-control study in northern iran. *Jundishapur Journal of Microbiology*, 9(7), e36582. <https://doi.org/10.5812/jjm.36582>

Nguyen, H., & James, E. A. (2016). Immune recognition of citrullinated epitopes. *Immunology*, 149(2), 131–138. <https://doi.org/10.1111/imm.12640>

Ochoa-Repáraz, J., Kirby, T. O., & Kasper, L. H. (2018). The gut microbiome and multiple sclerosis. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*, 8(6), a029017. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a029017>

Ozenci, V., Kouwenhoven, M., Huang, Y. M., Xiao, B., Kivisäkk, P., Fredrikson, S., & Link, H. (1999). Multiple sclerosis: Levels of interleukin-10-secreting blood mononuclear cells are low in untreated patients but augmented during interferon-beta-1b treatment. *Scandinavian Journal of Immunology*, 49(5), 554–561. <https://doi.org/10.1046/j.1365-3083.1999.00546.x>

- Patsopoulos, N. A. (2018). Genetics of multiple sclerosis: An overview and new directions. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*, 8(7), a028951. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a028951>
- Peerlings, D., Mimpen, M., & Damoiseaux, J. (2021). The IL-2 – IL-2 receptor pathway: Key to understanding multiple sclerosis. *Journal of Translational Autoimmunity*, 4, 100123. <https://doi.org/10.1016/j.jtauto.2021.100123>
- Podbielska, M., Banik, N. L., Kurowska, E., & Hogan, E. L. (2013). Myelin recovery in multiple sclerosis: The challenge of remyelination. *Brain Sciences*, 3(3), 1282–1324. <https://doi.org/10.3390/brainsci3031282>
- Quintana, F. J., Farez, M. F., & Weiner, H. L. (2008). Systems biology approaches for the study of multiple sclerosis. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, 12(4), 1087–1093. <https://doi.org/10.1111/j.1582-4934.2008.00375.x>
- Rodríguez Murúa, S., Farez, M. F., & Quintana, F. J. (2022). The immune response in multiple sclerosis. *Annual Review of Pathology: Mechanisms of Disease*, 17(1), 121–139. <https://doi.org/10.1146/annurev-pathol-052920-040318>
- Schwab, N., Schneider-Hohendorf, T., & Wiendl, H. (2015). Therapeutic uses of anti- $\alpha$ 4-integrin (Anti-vla-4) antibodies in multiple sclerosis. *International Immunology*, 27(1), 47–53. <https://doi.org/10.1093/intimm/dxu096>
- Simpson, S., Blizzard, L., Otahal, P., Van der Mei, I., & Taylor, B. (2011). Latitude is significantly associated with the prevalence of multiple sclerosis: A meta-analysis. *Journal of Neurology, Neurosurgery, and Psychiatry*, 82(10), 1132–1141. <https://doi.org/10.1136/jnnp.2011.240432>
- Sintzel, M. B., Rametta, M., & Reder, A. T. (2017). Vitamin d and multiple sclerosis: A comprehensive review. *Neurology and Therapy*, 7(1), 59–85. <https://doi.org/10.1007/s40120-017-0086-4>
- Tarlinton, R. E., Martynova, E., Rizvanov, A. A., Khaiboullina, S., & Verma, S. (2020). Role of viruses in the pathogenesis of multiple sclerosis. *Viruses*, 12(6), 643. <https://doi.org/10.3390/v12060643>

Stampanoni Bassi, M., Buttari, F., Gilio, L., Iezzi, E., Galifi, G., Carbone, F., Micillo, T., Dolcetti, E., Azzolini, F., Bruno, A., Borrelli, A., Mandolesi, G., Rovella, V., Storto, M., Finardi, A., Furlan, R., Centonze, D., Matarese, G. (2023). Osteopontin is associated with multiple sclerosis relapses. *Biomedicines*, 11(1), 178. <https://doi.org/10.3390/biomedicines11010178>

Hrvatski zavod za javno zdravstvo, (2019), [Internet], <raspoloživo na: [https://www.hzjz.hr/wp-content/uploads/2019/05/Osobe\\_s\\_invaliditetom\\_2019.pdf](https://www.hzjz.hr/wp-content/uploads/2019/05/Osobe_s_invaliditetom_2019.pdf)>, [29.8.2023.]

National Library of Medicine, National Center for Biotechnology Information, (2023), [Internet], <raspoloživo na: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene?Db=gene&Cmd=DetailsSearch&Term=965>>, [13.9.2023.]

National Library of Medicine, National Center for Biotechnology Information, (2023), [Internet], <raspoloživo na: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene?Db=gene&Cmd=DetailsSearch&Term=7919>>, [13.9.2023.]

National Library of Medicine, National Center for Biotechnology Information, (2023), [Internet], <raspoloživo na: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene?Db=gene&Cmd=DetailsSearch&Term=7813>> [13.9.2023.]

National Library of Medicine, National Center for Biotechnology Information, (2023), [Internet], <raspoloživo na: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene?Db=gene&Cmd=DetailsSearch&Term=7132>>, [13.9.2023.]

Science Direct, (2011), [Internet], <raspoloživo na: <https://www.sciencedirect.com/topics/immunology-and-microbiology/tnfrsf13b>>, [13.9.2023.]

## 9. ŽIVOTOPIS

Rođena sam u Zagrebu 01.02.2002. godine, gdje sam završila Osnovnu školu Ivana Meštrovića (2008.-2016.), a zatim i Prirodoslovnu školu Vladimira Preloga (2016.-2020.). Pred kraj srednjoškolskog obrazovanja porastao mi je interes za biologiju pa nije bilo teško izabrati kamo ću dalje na fakultet. Upisom na prijediplomski studij Biologije na Prirodoslovno-matematičkom fakultetu, vrlo brzo sam ustanovila da me zanima rad u laboratoriju, što je potvrdila i laboratorijska stručna praksa koju sam odradila na Institutu Ruđera Boškovića kod dr. sc. Dragomire Majhen. Kako me najviše zanima područje fiziologije, plan mi je upisati diplomski studij Fiziologija i imunobiologija na PMF-u.