

# Uloga vitamina D u multiploj sklerozi

---

Jadrijević, Eni

Master's thesis / Diplomski rad

2014

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, School of Medicine / Sveučilište u Zagrebu, Medicinski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:105:854122>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2025-03-12**



Repository / Repozitorij:

[Dr Med - University of Zagreb School of Medicine Digital Repository](#)



**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU  
MEDICINSKI FAKULTET**

**Eni Jadrijević**

**Uloga vitamina D u multiploj sklerozi**

**DIPLOMSKI RAD**



**Zagreb, 2014.**

**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU  
MEDICINSKI FAKULTET**

**Eni Jadrijević**

**Uloga vitamina D u multiploj sklerozi**

**DIPLOMSKI RAD**

**Zagreb, 2014.**

Ovaj diplomski rad izrađen je u Klinici za neurologiju KBC-a Zagreb pod vodstvom doc. dr. sc. Maria Habeka i predan je na ocjenu u akademskoj godini 2014.

**POPIS KRATICA:**

1, $\alpha$ ,25(OH)D = 1,25-dihidroksivitamina D

25(OH)D = 25-hidroksivitamin D

APC = antigen prezentirajuće stanice

CD = engl. *cluster of differentiation*

CIS = klinički izolirani sindrom

D2 = ergokalciferol

D3 = kolekalciferol

DC = dendritičke stanice

DEFB = defenzin  $\beta$ 2

DNA = deoksiribonukleinska kiselina

DPB = engl. *Vitamin D-binding protein*

EA = engl. *early antigen*

EAE = eksperimentalni autoimuni encefalomijelitis

EBNA = engl. *Epstein-Barr nuclear antigen*

EBV = Epstein-Barr virus

ERVW = engl. *endogenous retrovirus group W*

FGF23 = faktor rasta 23

hCAP18 = katelcidin antimikrobni peptid

HERV = humani endogeni retrovirusi

HHV-6 = humani herpes virus - 6

HLA = engl. *human leukocyte antigen*

IFN $\beta$  = interferon  $\beta$

IFN $\gamma$  = interferon  $\gamma$

IgG = imunoglobulin G

IgM = imunoglobulin M

IL = interleukin

IMT = imunomodulatorna terapija

iNKT = engl. *Invariant Natural Killer T*

MHC = kompleks tkivne podudarnost

MRI = engl. *magnetic resonance imaging*

MS = multipla skleroza

MSRV = engl. *MS associated retrovirus*

NFAT1 = engl. *Nuclear factor of activated T cells 1*

NF- $\kappa$ B = engl. *Nuclear Factor Kappa B*

nTreg = engl. *natural regulatory T cells*

PKA = protein kinaza A

PKC = protein kinaza C

PLC- $\gamma$ 1 = fosfolipaza  $\gamma$ 1

PPMS = primarno progresivna multipla skleroza

PRMS = progresivno relapsirajuća multipla skleroza

PTH = paratiroidni hormon

RRMS = relapsno remitirajuća multipla skleroza

RTC = engl. *randomized controlled trial*

RXR = retinoid X receptor

SNP = engl. *single-nucleotide polymorphism*

SPMS = sekundarno progresivna multipla skleroza

TCR = engl. *T-cell receptor*

TNF $\alpha$  = engl. *tumor necrosis factor  $\alpha$*

VCA = engl. *viral-capsid antigen*

VDR = vitamin D receptor

VDREs = engl. *vitamin D responsive elements*

VDR-KO = *Vitamin D receptor (VDR) knockout mice*

## Sadržaj

1. Sažetak .....	vi
2. Summary .....	vii
3. Uvod .....	1
3.1. Klinički izolirani sindrom.....	2
3.2. Klinički oblici multiple skleroze.....	2
4. Patohistološka slika multiple skleroze.....	3
5. Etiologija multiple skleroze .....	4
5.1. Geni povezani s multiplom sklerozom .....	4
5.2. Okolišni čimbenici u razvoju multiple skleroze .....	5
5.2.1. Uloga infekcije .....	5
5.2.2. Uloga pušenja .....	8
5.2.3. Uloga vitamina D .....	9
5.2.3.1. Metabolizam vitamina D .....	10
5.2.3.2. Regulacija razine vitamina D.....	12
5.2.3.3. Interakcija vitamina D i HLA-DRB1 .....	14
5.2.3.4. Imunomodulatorna svojstva vitamina D .....	15
5.2.3.5. Imunomodulatorni učinak vitamina D u eksperimentalnom autoimunom encefalomijelitisu .....	18
5.2.3.6. Imunomodulatorni učinak vitamina D u pacijenata sa multiplom sklerozom .....	19
5.2.3.7. Utjecaj vitamina D na tijek multiple skleroze .....	19
5.2.3.8. Uloga vitamina D u terapiji multiple skleroze .....	20
6. Zaključak .....	23
7. Zahvale .....	24
8. Literatura.....	24
9. Životopis.....	42

## 1. Sažetak

### Uloga vitamina D u multiploj sklerozi

Eni Jadrijević

Multipla skleroza (MS) je kronična idiopatska upalna bolest središnjeg živčanog sustava obilježena demijelinizacijskim oštećenjima u mozgu i kralježničnoj moždini. Najčešće zahvaća mlađu populaciju, s vrhuncem incidencije između 25. i 45. godine života te predstavlja značajan uzrok invaliditeta u mlađoj dobi. Uzrok bolesti je nepoznat, ali dosadašnja saznanja govore najviše u prilog autoimunoj patogenezi. Brojne epidemiološke i eksperimentalne studije pokazuju da i geni i okolišni čimbenici imaju ulogu u etiologiji MS-a. Od okolišnih čimbenika najviše se spominju infekcija, pušenje i manjak vitamina D. Vitamin D spada u skupinu vitamina topivih u mastima, a u tijelu igra nekoliko uloga od kojih je najpoznatija održavanje zdravlja koštanog sustava i utjecaj na metabolizam minerala. Pored ovog, vitamin D može modificirati imunološki odgovor, staničnu proliferaciju, diferencijaciju i apoptozu. Manjak vitamina D povezan je s brojnim bolestima, uključujući MS. Na ulogu vitamina D u MS-u upućuje u prvom redu geografska distribucija bolesti, zatim brojna istraživanja koja pokazuju da je nedvojbeno njegova uloga u nastanku i tijeku bolesti, a temeljena su na proučavanju njegovih imunomodulatornih svojstava, utjecaja na ekspresiju određenih gena i na proučavanju njegove uloge u životinjskom modelu MS-a. Neka su istraživanja pokazala da vitamin D ima ulogu u prevenciji MS-a, ali velike studije koje trebaju potvrditi može li i koliko uzimanje suplemenata vitamina D može prevenirati bolest, tek su započele. Rezultati studija koje su se bavile pitanjem uloge vitamina D u terapiji bolesnika koji su već razvili MS nisu jednoznančni, ali ipak više govore u prilog pozitivnom učinku i vitamin D danas je dio standardne terapije MS-a čemu pridonosi činjenica da je prirodan, siguran i jeftin. Buduće studije će razjasniti ima li uzimanje vitamina D direktan učinak na tijek bolesti i odgovoriti na pitanje koliko je vitamina D potrebno u liječenju, kao i koja je optimalna razina vitamina D u krvi kod bolesnika sa MS-om.

KLJUČNE RIJEČI: multipla skleroza, vitamin D



## **2. Summary**

### **The role of vitamin D in multiple sclerosis**

Eni Jadrijević

Multiple sclerosis (MS) is a chronic idiopathic inflammatory disease of the central nervous system characterized by demyelinating lesions in the brain and the spinal cord. It most commonly affects young adults, with a peak incidence between the age of 25 and 35 years and is a significant cause of disability in this age group. The cause of the disease is unknown but the current findings argue in favor of autoimmune pathogenesis. Numerous epidemiological and experimental studies have shown that both genes and environmental factors play a role in the etiology of MS. Of the environmental factors the most investigated are infection, smoking and lack of vitamin D. Vitamin D belongs to fat-soluble group of vitamins and plays several roles, of which the maintenance of bone health and influence on metabolism of minerals is the best known. In addition, vitamin D can modify the immune response, cell proliferation, differentiation and apoptosis. Vitamin D deficiency is associated with numerous diseases, including MS. Geographical distribution of the disease refers to the role of the vitamin D in the first place. Also numerous studies, which are based on the study of its immunomodulatory properties, influences on the expression of certain genes and the study of its role in the animal model of MS, have shown that it undoubtedly plays the role in the onset and course of the disease. Some studies have shown that vitamin D has a role in preventing MS. However, large studies which should confirm whether and how taking vitamin D supplements can prevent the disease, have only just begun. Results of the studies that have dealt with the issue of the role of vitamin D in the treatment of patients who have developed MS are rather ambiguous, but they still speak in favor of its positive effects. Furthermore, vitamin D is now part of the standard therapy for MS to which contributes the fact that it is natural, safe and inexpensive. Future studies will clarify whether taking supplements of vitamin D has a direct effect on the disease course and will answer the question of how much vitamin D is required for the treatment, as well as its optimal level in the blood of patients with MS.

**KEY WORDS:** multiple sclerosis, vitamin D

### 3. Uvod

Multipla skleroza (MS) je kronična idiopatska upalna bolest središnjeg živčanog sustava obilježena demijelinizacijskim oštećenjima u mozgu i kralježničnoj moždini. Bolest je relativno česta u Europi, SAD-u, Kanadi, Novom Zelandu i nekim dijelovima Australije. MS se u Aziji, kao i u tropskim i subtropskim područjima rijetko javlja. Incidencija je niska u djetinjstvu, raste nakon 18. godine, doseže vrhunac između 25. – 35. godine, zatim ponovno pada. Rijetko se javlja nakon 50. g. života. Prevalencija i incidencija MS-a raste s geografskom širinom, kako sjeverno tako i južno od ekvatora. Od MS-a češće oboljevaju žene nego muškarci i to u omjeru između 1.5 – 2.5 u većini populacija (Aschiero & Munger 2007). MS je vodeći uzrok onesposobljenosti u mladih žena, a na drugom je mjestu u mladih muškaraca. (<http://www.mscenter.org/education/ms-the-basics>). Uzrok bolesti je nepoznat, ali dosadašnja saznanja govore najviše u prilog autoimunoj patogenezi. Široko je prihvaćen koncept da se MS javlja pod utjecajem okolišnih čimbenika, od kojih se najviše spominju manjak vitamina D, infekcija nekim virusima i pušenje, u genetski predisponiranih pojedinca (McCoyd 2013). Klinička slika MS-a je varijabilna i oboljeli mogu imati širok spektar simptoma povezanih sa ispadima vidnog, motoričkog, senzornog i autonomnog živčanog sustava. Specifični simptomi određeni su lokalizacijom demijelinizacijskih lezija u središnjem živčanom sustavu, a najučestaliji su gubitak osjeta, promjene u osjetilnom sustavu kao parestezije, disestezije, hipoestezije i drugi simptomi, zatim mišićna slabost, mišićni spazmi, hiperrefleksija, poteškoće s koordinacijom i ravnotežom, problemi s govorom i gutanjem, nistagmus, dvoslike, osjećaj umora, akutne i kronične boli te tegobe povezane sa gastrointestinalnim i genitourinarnim sustavom među kojima se ističu poremećaji kontrole sfinktera koji se javljaju u čak 80 – 90% bolesnika. Emocionalna nestabilnost i depresija također se često javljaju u bolesnika sa MS-om. Pogoršanje simptoma prilikom povišene tjelesne temperature (Uhthoffov fenomen) i osjećaj trnaca koji se šire niz leđa i udove prilikom saginjana glave prema prsima (Lhermitteov znak) karakteristični su za MS. Progresija, težina i specifični simptomi nepredvidivi su i razlikuju se od bolesnika do bolesnika (Compston & Coles 2008).

### **3.1. Klinički izolirani sindrom**

Multipla skleroza u 85% slučajeva počinje kao klinički izolirani sindrom (CIS) odnosno akutni neurološki deficit koji, ovisno o lokalizaciji lezije, može imati različitu simptomatologiju. Najčešće se prezentira optičkim neuritisom, simptomima moždanog debla i/ili maloga mozga i inkompletnim transverzalnim mijelitisom dok se u nekih bolesnika očituje multifokalnim simptomima. Rijetko se očituje simptomima hemisfera velikog mozga. Optički neuritis u većini slučajeva je unilateralan dok se bilateralni javlja vrlo rijetko i kao takav treba pobuditi sumnju na neku drugu bolest. Trijas tipičan za optički neuritis su nagli gubitak vida, diskromatopsija i bol pri pokretanju očnih jabučica. Simptomi moždanog debla i transverzalnog mijelitisa ovise o dijelu, odnosno segmentu koji je zahvaćen (David H. Miller et al. - 2012). Nekoliko dugogodišnjih studija pokazalo je da stopa prelaska CIS-a u definitivni oblik MS-a iznosi kod optičkog neuritisa 10% - 85% (Compston & Coles 2008; Fisniku et al. 2008), u bolesnika s transverzalnim mijelitisom 41% - 61% (Fisniku et al. 2008; Tintore et al. 2010; Young 2009), a u bolesnika sa simptomima moždanog debla 53% - 60% (Fisniku et al. 2008; Tintore et al. 2010). Pri prognozi konverzije CIS-a u MS koriste se nalazi MRI-a, likvora, te genski, okolišni i imunološki faktori rizika, kao i težina kliničke slike. Od navedenih parametara prva dva se koriste u rutinskoj kliničkoj praksi (David H. Miller et al., 2012).

### **3.2. Klinički oblici multiple skleroze**

Multipla skleroza može se pojaviti u nekoliko oblika i to: relapsno-remitirajućem (RRMS), primarno-progresivnom (PPMS), sekundarno-progresivnom (SPMS) i progresivno-relapsirajućem (PRMS). Benigni oblik MS-a je obilježen niskim stupnjem onesposobljenosti mnogo godina nakon dijagnoze (10 – 20 g.) ili vrlo sporim nakupljanjem onesposobljenosti tijekom vremena. Neki autori negiraju postojanje benignog oblika bolesti jer svakim desetljećem u gotovo polovine bolesnika dolazi do prelaska u neki drugi oblik. Najčešći oblik MS-a je RRMS i to u 85% slučajeva. Kod tog oblika javljaju se nepredvidivi relapsi odnosno akutni napadi u kojima dolazi do pojave novih simptoma ili pogoršanja postojećih. Relapsi traju otprilike 1 do 3 mjeseca nakon čega nastupaju razdoblja remisije, tj. razdoblja povlačenja bolesti u kojima se bolesnik vraća na prijašnje stanje ili pak mogu zaostati manja oštećenja. Između pogoršanja nema napredovanja bolesti. Razmak između dva relapsa

najčešće traje 1 – 2 godine iako može iznositi i nekoliko mjeseci (Compston & Coles 2008). U PPMS dolazi do progresije onesposobljenosti od samog početka bolesti sa povremenim, minimalnim remisijama i poboljšanjima. Ovaj oblik zahvaća 10% - 20% bolesnika i obično počinje kasnije od RRMS-a, oko 40. g. života (Tsang & Macdonell 2011; Rovaris et al. 2006). SPMS karakteriziran je nepotpunim oporavkom nakon faza pogoršanja, a oštećenja su s vremenom sve veća s kratkim razdobljima poboljšanja (Lublin et al. 1996). PRMS je onaj oblik bolesti u kojem od početka dolazi do progresivnog pogoršanja, ali uz veća, akutna pogoršanja, s ili bez oporavka na stupanj prije pogoršanja. Ovaj oblik zahvaća najmanji broj bolesnika (Lublin et al. 1996). Već je prije rečeno kako su tijekom i progresija bolesti nepredvidivi, tim više što pojedini oblici MS-a mogu prelaziti jedan u drugi. Tako u više od 50% bolesnika s RRMS-om, osobito u neliječenih, dolazi do prelaska u SPMS unutar 10 godina (Tsang & Macdonell 2011; Rovaris et al. 2006; Miller & Leary 2007).

#### **4. Patohistološka slika multiple skleroze**

MS je bolest koja uglavnom zahvaća bijelu tvar, a glavna lezija je tzv. plak odnosno ograničeno područje demijelinizacije. Postoje tri vrste plakova: aktivni, koji može biti akutni ili kronični, inaktivni i kronični. Unutar akutnog plaka nalazi se perivaskularni upalni infiltrat, kojeg čine monuklearne stanice, uglavnom limfociti (Brinar, Neurologija za medicinare, 2009). Zamjetni su i pjenušavi makrofagi s fagocitiranim mijelinskim detritusom, plazma stanice, očuvani živčani aksoni te okolni edem. Paralelno s procesom demijelinizacije teče i proces remijelinizacije u kojem se mogu naći oligodendrociti, dok su u demijelinizacijskim područjima oni malobrojni. Remijelinizacija se manifestira kao tzv. zasjenjeni plak. S vremenom akutni plakovi postaju sve rjeđi, a dominiraju inaktivni plakovi. Još jedno patološko obilježje MS-a je poremećaj krvno-moždane barijere zbog čije povećane propusnosti upalne stanice mogu prodrijeti u središnji živčani sustav, što u fiziološkim uvjetima nije moguće (Brinar, Neurologija za medicinare, 2009). Lezije mogu biti smještene periventrikularnoj bijeloj tvari, što je i najčešća lokalizacija, zatim infratentorijalno, jukstakortikalno, intrakortikalno, u sivoj tvari te u bijeloj i sivoj tvari istovremeno (Barkhof et al. 1997). Neki autori smatraju da postoji povezanost lokalizacije lezija i kliničkog ishoda bolesti kao i genetska predispozicija za lokalizaciju lezija (Gardner & Yazdani 1998; Sombekke et al. 2011).

## **5. Etiologija multiple skleroze**

Epidemiološke studije nedvojbeno pokazuju da i geni i okolišni čimbenici imaju važnu ulogu u etiologiji MS-a. Nastanak bolesti ne može se objasniti jedinstvenim genetskim i okolišnim čimbenikom što MS opisuje kao multifaktorijalnu, heterogenu bolest. Poznato je da srodnici pacijenata sa MS-om imaju 1 – 5% veći rizik od razvoja bolesti, dok taj rizik u homozigotnih blizanaca seže do 20 – 30% (Dyment et al. 2006), što uistinu naglašava ulogu genetike u razvoju MS-a. Genetski čimbenici dijelom mogu objasniti specifičnu geografsku distribuciju bolesti, ali smanjenje rizika za razvoj bolesti u populacijama koje migriraju iz područja visokog rizika u područje niskog rizika ukazuje na značajnu ulogu okolišnih faktora (Pierrot-Deseilligny & Souberbielle 2013).

### **5.1. Geni povezani s multiplom sklerozom**

Multipla skleroza je jedna od prvih bolesti koja je povezana s klasom II tkivne podudarnosti (MHC) (Svejgaard 2008), koja ima značajnu ulogu u imunološkom sustavu, a dokazana je i povezanost sa svim autoimunim bolestima u čovjeka. Više je podregija HLA klase II povezano sa MS-om i to HLA-DR (HLA-DRB1\*1501, HLA-DRB5\*0101) i HLA-DQ (HLA-DQB1\*0602, HLA-DQA1\*0102). Navedeni geni različito su prisutni u različitim populacijama s MS-om, ali povezanost HLA-DRB1\*1501 i HLA-DQB1\*0602 je univerzalna s izuzetkom Sardinije koja ima specifične haplotipove povezane s MS-om. Ovi geni mogu objasniti oko 30 – 50% slučajeva MS-a (Svejgaard 2008). Treba naglasiti da je učestalost HLA-DRB1\*1501 veća u bijelaca nego u drugim rasama što bi moglo objasniti relativno nisku prevalenciju MS-a među crnom i žutom rasom. Isto tako učestalost HLA-DRB1\*1501 veća je kod žena nego kod muškaraca (Pierrot-Deseilligny & Souberbielle 2013) što se podudara s većom prevalencijom MS-a u žena.

Neke studije pokazuju povezanost i HLA klase I tkivne podudarnosti s MS-om i to HLA-C gene i HLA-A2. Za HLA-A2 se zasad smatra da ima protektivnu ulogu (Svejgaard 2008), ali to tek treba potvrditi budućim istraživanjima. Za nekoliko je gena izvan HLA sustava potvrđena povezanost sa razvojem MS-a i to: CD58, RGS1, EVI5, KIF21B, IL12A, TMEM39A, IL7R, IL2RA, CD6, MPHOSPH9, TNFRSF1A, CLEC16A, CD226a, TYK2, IRF8, GPC5. Među navedenim genima najsnažniji dokazi postoje za IL7R gen koji se nalazi

na kromosmu 5p13, a ima važnu ulogu u razvoju limfocita, te za IL2RA na kromosomu 10p15 koji ima ulogu u proliferaciji T-stanica. Za neke od ovih gena se smatra da postoji povezanost sa težinom relapsa, kao i sa stupnjem oporavka (Mowry et al. 2013). Drugi geni koji se dovode u vezu s MS-om su neki geni uključeni u metabolizam vitamina D: CYP27B1 koji ima ulogu u kontroli 1- $\alpha$ -hidroksilaze i sintezi kalцитriola te CYP24A1 koji sudjeluje u kontroli katabolizma kalцитriola (Pierrot-Deseilligny & Souberbielle 2013). Više od pedeset gena dovodi se u vezu s MS-om, ali njihovu stvarnu ulogu tek treba dokazati. Većina ih je povezana sa imunološkim sustavom i to s diferencijacijom T-stanica, regulacijom B-stanica i citokinskim putovima (Pierrot-Deseilligny & Souberbielle 2013).

## **5.2. Okolišni čimbenici u razvoju multiple skeroze**

Već je prije naglašeno da okolišni čimbenici imaju važnu ulogu u nastanku MS-a. Ovi čimbenici dijele se na infektivne i neinfektivne. Smatra se da će identifikacija i razumijevanje međusobne interakcije ovih čimbenika pridonijeti prevenciji velikog broja slučajeva MS-a.

### **5.2.1. Uloga infekcije**

Veliki broj istraživanja infektivnog uzroka MS-a temeljen je na kliničkim i patološkim opažanjima te na životinjskom modelu MS-a (Gilden 2005). Tijekom istraživanja razvijene su dvije hipoteze koje pokušavaju objasniti uzroke pojave MS-a. Obe hipoteze imaju stajalište da je uzrok MS-a široko raširen mikroorganizam prije nego neki rijetki patogen. Prva od njih, tzv. higijenska hipoteza, pretpostavlja da je određeni virus, koji povećava rizik za razvoj MS-a, stečen u kasnom djetinjstvu ili u odrasloj dobi, a isti taj uzročnik ako je stečen u ranijoj dobi manje je štetan ili čak ima zaštitno djelovanje (Poskanzer 1976). Druga hipoteza, hipoteza prevalencije, polazi od toga da je uzrok MS-a određeni patogen koji je učestaliji u područjima veće prevalencije MS-a. Prema autoru ove hipoteze takav uzročnik široko je raširen i u većine ljudi uzrokuje perzistentnu asimptomatsku infekciju, a samo u nekolicine, mnogo godina nakon primarne infekcije uzrokuje neurološke bolesti (npr. MS) (Kurtzke 1993). Higijenska hipoteza više je prihvaćena u odnosu na hipotezu prevalencije jer se s njom mogu objasniti neke značajke MS-a, npr. utjecaj zemljopisne širine na pojavu bolesti, veća incidencija MS-a među pojedincima višeg socioekonomskog statusa, niži rizik za razvoj MS-a među pojedincima koji su bili u doticaju s dojenčadi u ranijoj životnoj dobi (Aschiero & Munger 2007). Infektivni agens za koji danas postoji najviše dokaza da ima ulogu u nastanku

MS-a je Epstein-Barr virus (EBV). Treba naglasiti da protutijela na EBV ima 95% odrasle populacije što nameće pitanje kako virus kojim se zarazi gotovo svatko može uzrokovati relativno rijetku bolest kao što je MS. Ipak, neke epidemiološke sličnosti između MS-a i infektivne mononukleoze, kao što su najčešća pojava bolesti među mladim odraslima, slična distribucija u odnosu na geografsku širinu, rijetka pojava bolesti u područjima gdje se djeca rano zaraze EBV-om, ranija pojava u žena u odnosu na muškarce, manja učestalost u crnaca, Azijaca i rijetka pojava u Eskima, govore o uistinu važnoj ulozi EBV-a u nastanku MS-a (Aschiero & Munger 2007).

EBV uzrokuje doživotnu infekciju i trajno stimulira imunološki sustav, a titar protutijela na EBV antigene ostaje stalan tijekom vremena u zdravih pojedinaca. Imunološki odgovor na EBV infekciju sastoji se u stvaranju protutijela na virusni kapsidni antigen (VCA), rani antigen (EA) i na EB nuklearni antigen (EBNA) (Rickinson et al. 1996). EBNA je kompleks šest različitih proteina, a specifični testovi na EBNA 1 i EBNA 2 su u čestoj upotrebi kako u kliničke tako i u istraživačke svrhe (Aschiero & Munger 2007). Početkom simptoma većina pacijenata ima povišen titar IgM protutijela na VCA i IgG protutijela na VCA i EA. Titar protutijela na EA često je nemjerljiv poslije oporavka, a anti-VCA IgG titar ostaje trajno povišen. Odgovor na EBNA 1 i EBNA 2 pojavljuje se u različito vrijeme. IgG protutijela na EBNA 2 pojavljuju se u ranoj fazi bolesti i padaju tijekom oporavka, dok IgG protutijela na EBNA 1 postaju mjerljiva samo u razdoblju oporavka i stabilna su tijekom cijelog života (Rickinson et al. 1996). Anti-EBNA 1 i anti-EBNA 2 također se različito ponašaju tijekom imunosupresije: anti-EBNA 2 raste, a anti-EBNA 1 pada, što dovodi do obrata anti-EBNA 1 / anti-EBNA 2 omjera, koji je u zdravih pojedinaca veći od 1 (Lennette et al. 1993). U bolestima čiji se nastanak povezuje sa EBV-om, kao što su Burkittov limfom, nazofaringealni karcinom i neki oblici Hodkingove bolesti nekoliko godina prije početka bolesti povišen je titar protutijela na EBV (Rickinson et al. 1996; de Thé et al. 1978; Mueller et al. 1989). U MS povišen titar anti-EBV može se detektirati otprilike 5 godina prije početka bolesti. Tipičan nalaz je povišen titar anti-EBNA 1, nešto manje povišen anti-EBNA 2 i tek neznatno ili nimalo povišen titar anti-VCA (Ascherio & Munger 2007; Ascherio et al. 2001; Sundstörn et al. 2004). Već je prije rečeno da titar anti-EBNA u zdravih pojedinaca ostaje stalan dok u onih koji će kasnije razviti MS počinje rasti negdje između 20. i 30. godine. Ovakav višestruki porast anti-EBV protutijela 15 puta povećava rizik za razvoj MS-a (Levin et al. 2005). Međutim, ovaj porast protutijela nije objašnjen. Moguće je da se radi o infekciji nekim

drugim mikroorganizmom koji mijenja imunološki odgovor na EBV ili o infekciji nekim drugim sojem EBV-a, različitim od onog kojim je domaćin primarno zaražen, ali koinfekcija različitim sojevima EBV-a može se naći i u zdravih pojedinaca (Sitki-Green et al. 2003). Dosadašnja istraživanja pokazuju da je rizik za razvoj MS-a deset puta manji među EBV seronegativnim pojedincima u odnosu na one koji su imali inaparentnu infekciju u ranom djetinjstvu i dva do tri puta veći među onima koji su infekciju stekli u kasnijoj dobi (Aschiero & Munger 2007). Posljednjih dvadesetak godina istražuje se uloga humanih endogenih retrovirusa (HERV) u nastanku MS-a, a istraživanja su potaknuta nalaskom retrovirusnih čestica u kulturi leptomeningealnih stanica i monocita pacijenata sa MS-om (Perron et al. 1989; Perron et al. 1991). HERV prisutni su u genomu kao defektne kopije i ne mogu se replicirati. Ipak, drugi virusi (npr. EBV, HHV 6) mogu aktivirati HERV i potaknuti transkripciju (Sutkowski et al. 2001). HERV povezani sa MS-om pripadaju W porodici HERV (HERV-W): MSRV (MS associated retrovirus) i ERVW-1 čiji je produkt protein nazvan syncityn-1, a se može naći intracelularno ili na plazmatskim membranama nekih stanica dok još nije otkriven ekstracelularno (Mameli et al. 2012). MSRV i ERVW imaju nekoliko zajedničkih bioloških obilježja: proinflamatorna i superantigenska svojstva te pokazuju neurotoksične efekte – neuroinflamaciju, neurodegeneraciju i promjene imunološkog sustava (Firouzi et al. 2003; Antony et al. 2004). Ekspresija MSRV i ERVW pojavljuje se u astrocitima unutar MS lezija u mozgu, zatim u endotelijalnim i mikroglijalnim stanicama (Garcia-Montojo et al. 2013). Velike multicentrične studije pacijenata sa MS-om iz različitih područja Europe pokazale su značajnu povezanost MSRV sa MS-om među svim etničkim skupinama (Arru et al. 2007). Neke studije pokazale su direktnu povezanost između MSRV, pozitivnog u krvi ili u spinalnoj tekućini, sa trajanjem simptoma i s lošijom prognozom bolesti u odnosu na pacijente koji su bili negativni na MSRV (Dolei et al. 2002; Sotgiu et al. 2002; Sotgiu et al. 2006). Sukladno tomu onesposobljenost, godišnja stopa recidiva i progresija u SPMS značajno su veći u pacijenata koji su na početku bolesti bili pozitivni na MSRV. Nadalje, u nezavisnim epidemiološkim studijama pokazano je da su kopije MSRV DNA povišene više kod žena s MS-om nego kod muških pacijenata što je otvorilo put pretpostavci da se genomske kopije MSRV nalaze na X kromosomu (Laufer et al. 2009; Roebke et al. 2010), a to bi moglo biti još jedno od objašnjenja veće učestalosti bolesti među ženama u odnosu na muškarce (Mameli et al. – 2012). Dokazi koji osnažuju ulogu MSRV i ERVW dani su istraživanjima koja su proučavala interakciju ovih virusa i EBV-a



(Mameli et al. 2012). Određeni tipovi astrocita (U-87MG) izražavaju CD21 gen, čiji je protein glavni stanični receptor za EBV. Vežanje EBV-a, odnosno glavnog proteina njegove ovojnice, EBVgp350 za CD21 inducira aktivaciju transkripcijskog čimbenika NF- $\kappa$ B (Sugano et al. 1997) koji potom može potaknuti transkripciju i aktivaciju MSR<sub>V</sub> i ERV<sub>W</sub> što bi moglo imati važnu ulogu u patogenzi MS-a. Ovaj učinak zabilježen je i na nekim perifernim krvnim stanicama i to NK, B stanicama i na monocitima dok T stanice ne pokazuju ovaj učinak (Mameli et al. 2012). Neka obilježja MS-a ne mogu se pripisati isključivo EBV-u što naglašava ulogu i drugih okolišnih faktora. Ti faktori, koji mogu biti toksične, infektivne ili neke druge naravi, mogu modificirati ulogu EBV infekcije povećavajući rizik za MS. Od ostalih infektivnih agenasa, za koje se pretpostavlja da bi mogli imati ulogu u nastanku MS-a, najviše su istraživani *Chlamydomphila pneumoniae* i humani herpes virus 6 (HHV 6). Pretpostavka da *C. pneumoniae* ima ulogu u nastanku bolesti temeljila se na nalasku DNA ove bakterije u cerebrospinalnoj tekućini nekih pacijenata sa MS-om, ali je entuzijazam nestao nakon što iduća istraživanja nisu potvrdila ove nalaze (Sriram et al. 1998; Boman et al. 2000; Kaufman et al. 2002). Dokazi za ulogu HHV 6 u nastanku MS-a uključuju patološke podatke koji pokazuju prisustvo virusa u MS lezijama postmortem (Opsalh et al. 2005; Cermelli et al. 2003; Challoner 1995), njegova neurotropska svojstva (Soldan & Jacobson 2001), imunološke i molekularne studije pokazuju porast virusne DNA ili nekih drugih markera HHV 6 u krvnim stanicama, serumu i cerebrospinalnoj tekućini pacijenata sa MS-om (Soldan & Jacobson 2001; Soledan et al. 1997) te veću učestalost reaktivacije ovog virusa u MS pacijenata u odnosu na zdrave, kontrolne pojedince (Ablashi et al. 2000; Alvarez-Lafuente et al. 2006). Budući da su gotovo sva djeca do 2. godine života zaražena s HHV 6 nije moguće usporediti rizik za razvoj MS-a u nezaraženih pojedinaca u odnosu na zaražene (Braun et al. 1997), za razliku od EBV gdje su rezultati upečatljivi što je ranije i navedeno. Zaključno se za ulogu infekcije kao etiološkog čimbenika u razvoju MS-a može reći da je nedvojbena uloga EBV-a, iako točan mehanizam koji dovodi do nastanka bolesti nije razjašnjen i da će za njegovo potpuno razumijevanje, kao i za ulogu ostalih infektivnih agenasa bit potrebna daljnja istraživanja.

### **5.2.2. Uloga pušenja**

Prema rezultatima provedenih istraživanja postoji pozitivna povezanost između pušenja i nastanka MS-a te pozitivna povezanost između pušenja i pogoršanja simptoma MS-a.

Najpoznatije studije koje su se bavile ovim pitanjem bile su četiri prospektivne studije provedene u Europi i SAD-u (Villard-Mackintosh & Vessey 1993; Thorogood & Hannaford 1998; Hernanet al. 2001; Hernan et al. 2005). Iako je rezultat bio statistički značajan u samo jednoj od ovih studija, rezultati daljnih kohortnih studija su konzistentni sa relativnim rizicima koji pokazuju pozitivnu povezanost između pušenja i MS-a, a statistički su značajni. Iako čimbenik zabune ne može biti isključen iz ovih studija, zajednički rezultati i manjak alternativnih uvjerljivih objašnjenja sugerira da pušenje povećava rizik za MS. Mehanizam kojim pušenje djeluje na MS malo je istražen, smatra se da bi u podlozi mogli biti neurotoksični učinci duhanskog dima ili imunomodulatorno djelovanje koje se povezuje sa različitim autoimunim bolestima kao što su reumatoidni artritis, lupus, Gravesova bolest i primarna bilijarna ciroza. Naposljetku, pušenje povećava učestalost i trajanje respiratornih infekcija, od kojih se neke dovode u vezu sa MS-om (Aschiero & Munger 2007). Već je prije rečeno da nema jedinstvenog uzroka MS-a, a pušenje bi moglo u interakciji drugim okolišnim i genetskim čimbenicima pridonijeti nastanku MS-a. Pušenje je povezano s povišenom razinom EBNA1. U nekim istraživanjima pronađena je povezanost između pušenja i značajnog ubrzanja konverzije CIS-a u MS i RRMS u SPMS te povećana stopa akumulacije onesposobljenosti. Ovi podaci ukazuju na značajnu ulogu pušenja u razvoju, progresiji i stupnju invaliditeta, ali potrebne su buduće studije koje bi to potvrdile (Pierrot-Deseilligny & Souberbielle 2013).

### **5.2.3. Uloga vitamina D**

Vitamin D spada u skupinu vitamina topivih u mastima, a njegov najpoznatiji učinak u tijelu vezan je uz metabolizam minerala i održavanje zdravlja koštano-mišićnog sustava. Vitamin D pospješuje intestinalnu apsorpciju kalcija i fosfata, stimulira diferencijaciju ostoklasta, potiče resorpciju kalcija iz kosti i potiče mineralizaciju koštano matriksa. Posljednjih desetak godina snažno se promijenila perspektiva o utjecaju vitamina D na ljudsko zdravlje pronalaskom receptora za vitamin D (VDR) na stanicama izvan koštano-mišićnog sustava i to na crijevnim, pankreasnim i gonadnim stanicama te na stanicama imunološkog sustava. (Prietl et al. 2013). Brojne eksperimentalne i epidemiološke studije potvrdile su značajnu ulogu vitamina D u multiploj sklerozi (Aschiero & Munger 2007). Indicije koje upućuju na ovu povezanost su globalna distribucija bolesti, smanjenje prevalencije u migranata koji su se do određene dobi preselili u područja s više prosječnih sunčanih sati godišnje, posao i boravak

na otvorenom, kao i veća količina vremena provedenog na suncu u djetinjstvu, povezani su sa značajno manjim rizikom za razvoj MS-a. Nadalje, uzimanje suplemenata vitamina D je obrnuto proporcionalno riziku za razvoj MS-a, a visoke razine vitamina D povezane su s manjim rizikom za razvoj bolesti dok niske razine imaju suprotan učinak (Handunnetthi et al. 2010). Povezanost je uočena i na genetskoj razini. Naime, određene varijante gena uključene u metabolizam vitamina D povezane su sa MS-om, a vitamin D utječe na ekspresiju nekih gena koji se dovode u vezu s MS-om. Remisija bolesti česta je u trudnoći što se dovodi u vezu s povišenom razinom 1,25-dihidroksivitamina D, a nasuprot tomu dijabetes i pretilost u trudnoći, za koje se smatra da su također povezani sa deficitom vitamina D, povećavaju rizik za MS. Nezavisne studije pronašle su povezanost između mjeseca rođenja i rizika za razvoj MS-a; rizik je povećan kod pojedinaca rođenih u svibnju, odnosno u rano proljeće, a snižen u onih koji su rođeni u jesen, osobito u studenom (Harvey et al. 2010; Yu & Cantrona 2011). Utjecaj mjeseca rođenja i statusa vitamina D tijekom trudnoće na rizik za MS tumače se ulogom vitamina D u kritičnom razdoblju razvoja imunološkog sustava *in utero*, a manjak vitamina D u ovom ključnom razdoblju može rezultirati stanjima koja se ne mogu popraviti kasnije, poslije rođenja uzimanjem vitamina D (Pierrot-Deseilligny & Souberbielle 2013, Handunnetthi et al. 2010). Kad se govori o ulozi vitamina D u multiploj sklerozi svakako treba napomenuti da većina pacijenata sa MS-om ima sniženu serumsku razinu vitamina D (Pierrot-Deseilligny 2009).

### **5.2.3.1. Metabolizam vitamina D**

Izvor vitamina D su neke namirnice (riba, jaja, mlijeko i mliječni proizvodi) i sunčeve zrake (Dastani et al. – 2012). Dnevne potrebe za vitaminom D iznose, prema novijim preporukama, oko 2000 IU/d. Unos hranom priskrbljuje oko 100 IU/d, što je daleko ispod dnevnih potreba, a čak i skandinavska prehrana bogata ribljim uljem ne pruža više od nekoliko stotina IU/d. Stoga, sunce je glavni izvor vitamina D i pruža oko 90% potreba (Pierrot-Deseilligny 2009). Porast serumske koncentracije vitamina D nakon izlaganja cijelog tijela suncu, s posljedičnim minimalnim eritemskim efektom, sličan je porastu koncentracije nakon uzimanja pojedinačne doze suplementa vitamina D od 10000 do 25000 IU (Aschiero & Munger 2007). Postoje dva oblika vitamina D: D<sub>2</sub> (ergokalciferol) i D<sub>3</sub> (kolekalciferol). Koža sintetizira vitamin D<sub>3</sub>, a vitamin D<sub>2</sub> se nalazi u hrani (Dastani et al. 2012). U koži se

kolekalciferol sintetizira iz 7-dihidrokolestrola nakon izlaganja UVB zrakama. Kolekalciferol je biološki inaktivan i odmah se veže za vitamin D vežuće proteine (DBP) (85 – 88%) ili za albumin (12 – 15%) (Cooke & Haddad 1989; Bikle et al. 1984). Nakon ulaska u cirkulaciju dolazi u jetru gdje se pod utjecajem enzima 25-hidroksilaze (CYP2R1) i CYP27A1 hidroksilira u 25-hidroksivitamin D (25(OH)D), koji je također biološki inaktivan, ali predstavlja glavni cirkulirajući metabolit vitamina D (Heaney 2012). Daljnja se pretvorba odvija u bubregu, pod utjecajem enzima 1- $\alpha$ -hidroksilaze (CYP27B1), gdje se D-25(OH)D pretvara u 1,25-dihidroksivitamin D (kalcitriol, 1 $\alpha$ ,25(OH)<sub>2</sub>D), aktivni oblik vitamina D, odgovoran za većinu njegovih bioloških učinaka (Prietl et al. 2013). Niska razina kalcija i paratiroidnog hormona (PTH) stimulira renalnu hidroksilaciju i povisuje razinu kalcitriola u krvi, a fosfaturični hormon fibroblast faktor rasta 23 (FGF23) i visoke razine kalcitriola imaju suprotan efekt (Pierrot-Deseilligny & Souberbielle 2013). Osim u bubrezima, aktivnost CYP27B1 prisutna je i u keratinocitima, makrofagima, osteoblastima, osteoklastima, dendritičkim stanicama i u stanicama prostate (Zehnder et al. 2001; Flanagan et al. 2003; Wang et al. 2003). U normokalcemičnim uvjetima kalcitonin pospješuje proizvodnju 1 $\alpha$ ,25(OH)<sub>2</sub>D, a TNF $\alpha$  i IFN $\gamma$  stimuliraju proizvodnju istog u u keratinocitima i makrofagima (Jaeger et al. 1986; Shinki et al. 1999). Bubrežni enzim 24- $\alpha$ -hidroksilaza (CYP24) sudjeluje u metabolizmu vitamina D tako da hidroksilirajući 25(OH)D i 1 $\alpha$ ,25(OH)<sub>2</sub>D dovodi do njihove inaktivacije (Dastani et al. – 2012). Na aktivnost ovog enzima utječu FGF23 i razina kalcitriola u krvi (Pierrot-Deseilligny & Souberbielle 2013). Na staničnoj razini aktivnost vitamina D, odnosno njegovog aktivnog oblika, kalcitriola, ostvaruje se vezanjem za citoplazmatski receptor VDR. Nakon toga taj kompleks ulazi u jezgru i formira heterodimer vežući se za nuklearni receptor, tzv. retinoid X receptor (RXR). Heterodimer kalcitriol-VDR-RXR konačno se veže za tzv. „vitamin D responsive elements“ (VDREs), specifične sekvence DNA unutar promotorske regije ciljanih gena i pokreće transkripciju i ekspresiju te u konačnici sintezu proteina (Pierrot-Deseilligny & Souberbielle 2013; Wang et al. 2005; Niino et al, 2008; Pike & Meyer 2010). Već je prije rečeno da se VDR nalaze i izvan stanica koštano-mišićnog sustava (crijeva, pankreas, gonade, imunooške stanice), a osim toga VDR prisutni su u svim tipovima stanica unutar središnjeg živčanog sustava, astrocitima, neuronima, oligodendrocitima i glijalnim stanicama (Pierrot-Deseilligny & Souberbielle 2013).

### 5.2.3.2. Regulacija razine vitamina D

Epidemiološke, kliničke i eksperimentalne studije pokazale su da na razinu vitamina D utječu genetski i okolišni čimbenici. Ukupne zalihe vitamina D procjenjuju se mjerenjem razine cirkulirajućeg 25(OH)D (Dastani et al. 2012). Međunarodno prihvaćen referentni interval za koncentraciju vitamina D je između 75 i 200 nmol/l (Bischoff-Ferrari et al. 2006; Dawson-Hughes et al. 2006). Trenutačne preporuke za razinu vitamina D u krvi su barem 90 – 100 nmol/l kako bi se optimizirao metabolizam kalcija i fosfata što dovodi do smanjenja osteoporoze i protektivno djeluje na patološke frakture, a isto tako preventivno djeluje na neke autoimune bolesti i određene vrste raka (Pierrot-Deseilligny 2009). Na razinu vitamina D utječe godišnje doba: najniže su na završetku zime, a najviše na kraju ljeta (Priehl et al. 2013). Ovakva sezonska varijacija slična sezonskoj varijaciji nekih infektivnih bolesti uključujući sepsu (Danai et al. 2007; White 2009). Ukupno gledajući, srednja razina vitamina D u generalnoj populaciji povezana je sa zemljopisnom širinom i količinom sunčeve svjetlosti. Sukladno tomu, postoji i poveznica između zemljopisne širine i prevalencije MS-a (Pierrot-Deseilligny 2009), što je ranije i navedeno. Od ostalih okolišnih čimbenika na razinu vitamina D utječu prehrana, uzimanje suplemenata vitamina D, tjelesna masa i uzimanje hormonske nadomjesne terapije kod žena (Burnand et al. 1992; Jacques et al. 1997; Rossouw et al. 2002; Dastani et al. 2012). Više je različitih studija proučavalo koliki je utjecaj genetskih faktora na razinu vitamina D. Rezultati istraživanja pokazali su da je 23 – 80% razine vitamina D pod genetskim utjecajem (Wjst et al. 2007; Engelman et al. 2008), što ovisi o vrsti studije, metodama mjerenja te o specifičnim populacijskim i okolišnim čimbenicima. Varijacija rezultata je značajna, ali studije ukazuju na značajnu ulogu gena u regulaciji razine vitamina D u cirkulaciji. CYP27B1 gen kodira 1 $\alpha$ -hidroksilazu koja pretvara 25(OH)D u aktivni oblik 1 $\alpha$ ,25(OH)<sub>2</sub>D i nalazi se na kromosomu 12 (12q13.1 – q13.3). Za ovaj gen se smatra da je najsnažnije povezan sa razinom vitamina D (Dastani et al. 2013). Neki polimorfizmi ovog gena povezani su s određenim bolestima; SNP (single nucleotide polymorphism) rs4646536 (C/T, +2838) i rs703842 (C/T) dovode se u vezu s multiplom sklerozom (Orton et al. 2008).

CYP2R1 je gen koji kodira 25-hidroksilazu, a nalazi se na kromosomu 11 (11p15.2). Missense mutacija u egzonu 2 CYP2R1 gena dovodi do manjka vitamina D (Cheng et al. 2004). GC gen kodira protein nosioc vitamina D, a lociran je na kromosomu 4 (4q12 – q13). Određeni SNP-ovi povezani su s nižom razinom 25(OH)D i sa nekim bolestima kao što su astma,

kolorektalni karcinom, karcinom dojke i karcinom prostate (Ahn et al. 2009). VDR gen se nalazi na kromosomu 12 (12q12 – q14), a njegov polimorfizam rs2228570 kodira protein koji je tri aminokiseline duži što utječe na aktivaciju receptora i rezultira manje djelotvornom aktivacijom transkripcije (Arai et al. 2001). Gen koji kodira inaktivacijski protein za  $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}$ , CYP24A1 nalazi se na kromosomu 20 (20q13.2 - q13.3) (Bu et al. 2010). U novije vrijeme otkriven je DHCR7 gen koji kodira reduktazu koja katalizira pretvorbu 7-dehidrokolesterola u kolesterol u koži (Waterham & Wanders 2000). Gen se nalazi na kromosomu 11 (11q12 – q13), a mutacija ovog gena dovodi do akumulacije 7-dehidrokolesterola (Smith-Lemli-Opitz sindrom) (Tint et al. 1994). Budući da je manjak vitamina D povezan sa povećanim rizikom za nekoliko bolesti, razumijevanje okolišnih, a osobito genetskih faktora koji utječu na razinu i metabolizam vitamin D može pomoći u shvaćanju patofiziologije ovih bolesti, a može i otvoriti put novim terapijskim mogućnostima (Dastani et al. 2012). U svijetu je rasprostranjen trend nedostatka vitamina D u ukupnoj populaciji čemu pridonosi metabolizam samog vitamina s jedne strane, a s druge prehrabene navike i životni stil ljudi. Naime, u zemljama u umjerenom pojasu i u Nordijskim zemljama sinteza vitamina D u koži odvija se nekoliko mjeseci u godini kada UVB zrake prodiru kroz sve slojeve atmosfere, a zalihe vitamina D nestaju nakon nekoliko tjedana poslije izlaganja suncu ili nakon oralnog unosa ukoliko se ne nadopunjuju (Holick 2007). Moderni način života na različite načine smanjio je izvanjske aktivnosti ljudi, a time i izlaganje suncu. Štoviše, izlaganje suncu često se izbjegava iz dermatoloških razloga koji ujedno i pridonose pretjeranoj uporabi zaštitnih krema (Vieth, 1999; Armas et al. 2007; Binkley et al. 2007). Naposljetku, u ljudi s prekomjernom tjelesnom masom, kojih je sve više, vitamin D djelomično zaostaje u adipocitima što pridonosi njegovoj insuficijenciji (Earthman et al. 2012). U zemljama u umjerenom pojasu (Europa, sjeverni dio SAD-a, Kanada, zemlje bivšeg Sovjetskog Saveza, južna Australija, Novi Zeland), gdje živi većina svjetskog stanovništava, serumske koncentracije  $25(\text{OH})\text{D}$  u prosjeku kreću se između 40 i 70 nmol/l, ovisno o godišnjem dobu, ali veći dio godine oko 75% stanovništva nema adekvatne količine vitamina D. U zemljama u tropskom pojasu serumska razina  $25(\text{OH})\text{D}$  je očekivano viša.

U pacijenata sa MS-om prosječne serumske razine  $25(\text{OH})\text{D}$  kreću se između 42 i 74 nmol/l ovisno o studiji i godišnjem dobu (Soilu- Hänninen et al. 2005, 2012; Smolders et al. 2008b; Hiremath et al. 2009; Kragt et al. 2009; Mowry et al. 2010; Pierrot-Deseilligny and Souberbielle, 2010, 2012; Simpson et al. 2010; Banwell et al. 2011; Dabbaghmanesh and

Yousefipour, 2011; Lonergan et al. 2011; Neau et al. 2011; Steffensen et al. 2011; Yildiz et al. 2011; Bäärnhielm et al. 2012; Kampman et al. 2012; Kirbas et al. 2012; Løken-Amsrud et al. 2012; Moen et al. 2012; Runia et al. 2012; Soilu- Hänninen et al. 2012; Šaltyte. Benth et al. 2012; Triantafyllou et al. 2012). U nekim od ovih studija nije bilo značajne razlike u koncentracijama 25(OH)D između oboljelih od MS-a i kontrolnih, zdravih pojedinaca, ali treba uzeti u obzir već prije navedenu široko rasprostranjenu hipovitaminozu D u općoj populaciji kao i činjenicu da ulogu vitamina D u bilo kojoj bolesti, uključujući MS treba promatrati zajedno s drugim okolišnim i genskim čimbenicima. Treba napomenuti da se serumske razine 25(OH)D obično snižavaju tijekom napredovanja bolesti zbog zajedničkog djelovanja nekoliko faktora: na početku bolesti Uhtoffov fenomen (osjetljivost na toplinu) može kod nekih pacijenata izazvati izbjegavanje izloženosti suncu što dovodi do ubrzanog pada sinteze vitamina D; daljnjim napredovanjem bolesti onesposobljenost djeluje kao ograničavajući čimbenik, smanjujući izvanjske aktivnosti, a time i izlaganje suncu; na kraju u starijih pacijenata sinteza vitamina D je i fiziološki slabija. Ovi različiti čimbenici doprinose pogoršanju statusa vitamina D i barem djelomice mogu objasniti zašto je serumska razina vitamina D niža u SPMS nego u ranijim stadijima bolesti, a iznosi oko 40 nmol/l u prosjeku (Nieves et al. 1994; Ozgocmen et al. 2005; Smolders et al. 2008b; Pierrot-Deseilligny and Souberbielle, 2010; Neau et al. 2011). Još uvijek nije razjašnjen način na koji vitamin D, odnosno njegov manjak pridonosi patogenezi MS-a, ali nikako se ne smije zanemariti činjenica da je hipovitaminoza D značajna u najranijim fazama bolesti i stoga može biti jedan od okidača za razvoj MS-a (Pierrot-Deseilligny & Souberbielle 2013).

### **5.2.3.3. Interakcija vitamina D i HLA-DRB1**

Dugogodišnje studije koje su proučavale učinak vitamina D na MHC klasu II pokazale su da vitamin D može mijenjati prezentaciju i ekspresiju HLA-DR antigena (Rigby et al. 1990). U pokušaju da poveže genetske i okolišne čimbenike za razvoj MS-a Ramagopalan i suradnici (Ramagopalan et al. 2009) tražili su VDRE unutar određenih lokusa koji se povezuju sa MS-om i pronašli su ih unutar HLA-DRB1 promotorske regije. Eksperimentalno su dokazali da 1,25-dihidroksivitamin D<sub>3</sub>, ključni kandidat za okolišni čimbenik MS-a, utječe na ekspresiju HLA-DRB1\*1501, glavni genski lokus koji se dovodi u vezu s MS-om. Ulogu ove interakcije potrebno je dalje istraživati, ali uvjerljivi su dokazi da manjak vitamina D tijekom

intrauterinog razvoja i u ranom djetinjstvu može utjecati na ekspresiju HLA-DRB1 u timusu što može dovesti do gubitka centralne tolerancije povećavajući rizik za razvoj autoimunosti (Handunnetthi et al. 2010).

#### **5.2.3.4. Imunomodulatorna svojstva vitamina D**

Najraniji dokazi o utjecaju vitamina D na urođenu imunost dolaze iz izvješća o liječenju tuberkuloze uljem bakalara (Grad 2004). Više studija pokazalo je kako kalcitriol poboljšava antimikrobne učinke makrofaga i monocita u borbi protiv različitih patogena. Osim poboljšanja kemotaksije i fagocitnih svojstava stanica urođene imunosti (Baeke et al. 2010), kompleks kalcitriol - VDR – retinoid X receptor izravno aktivira transkripciju antimikrobnih peptida kao što su defenzin  $\beta$ 2 (DEFB) i katelicidin antimikrobni peptid (hCAP18) (Wang et al. 2004; Gombart et al. 2005; White 2012). Pored izravnog utjecaja protiv mikroba monociti i druge antigen prezentirajuće stanice (APC), osobito dendritičke (DC) važne su mete imunomodulatornog učinka vitamina D. APC odgovorne su za započinjanje stečene imunosti prezentirajući antigene T i B limfocitima. Različite studije pokazale su da kalcitriol može mijenjati funkciju i morfologiju DC da bi izazvao tolerogeno, nezrelo stanje (Baeke et al. 2010; Mora et al. 2008; Penna et al. 2007; Veldman et al. 2000; Ferreira et al. 2011). Naime, nezrele DC obilježene su smanjenom razinom MHC II molekula i smanjenom ekspresijom CD40, CD80 i CD86 molekula što rezultira smanjenom prezentacijom antigena i nižom sekrecijom IL12, ali povećanom produkcijom tolerogenog, antiinflamatornog IL10. Visoke doze suplementa kalcitriola u zdravih pojedinaca (1 $\mu$ g dva puta na dan tokom 7 dana) dovode do značajnog smanjenja proinflatarnog citokina IL6 kojeg proizvode periferne mononuklearne stanice (Müller et al. 1991). Vrlo je vjerojatno da kombinacija ovih učinaka dovodi do indukcije regulatornih T stanica koje su ključne u kontroli imunološkog odgovora i u razvoju autoreaktivnosti (Adorini et al. 2003). Kalcitriol ostvaruje ova svojstva na DC jer ona izražavaju CYP27B1 koji im omogućuje postizanje visoke lokalne koncentracije aktivne forme vitamina D potrebne za imunomodulatorni učinak (Prietl et al. 2013). Prisutnost VDR na humanim T limfocitima, više na CD8 u odnosu na CD4 limfocite, kao i na B limfocitima te ekspresija CYP27B1 u limfnim čvorovima i T limfocitima ukazuju na moguću ulogu vitamina D u stečenoj imunosti (Pierrot-Deseilligny & Souberbielle 2013). Ekspresija VDR na ovim stanicama je vrlo niska u mirovanju, ali aktivacijom i proliferacijom T i B stanice značajno reguliraju ekspresiju VDR (Lemire et al. 1984; Chen et al. 2007; Mahon et al. 2003). U



početku se smatralo da su antiproliferativni učinci kalcitriola u B stanicama, kao što su inhibicija diferencijacije, proliferacije, započinjanje apoptoze i smanjena produkcija imunoglobulina, isključivo posredovani T pomagačkim limfocitima (Th) (Lemire et al. 1984), ali novije studije potvrdile su dodatni direktni učinak kalcitriola na B staničnu homeostazu, uključujući inhibiciju memorijskih i plazma stanica kao i potpomaganje apoptoze B stanica koje proizvode imunoglobuline (Baeke et al. 2010; Mora et al. 2008; Chen et al. 2007). Ova kontrola nad aktivacijom i proliferacijom B stanica mogla bi biti važna u autoimunim bolestima jer B stanice proizvode autoreaktivna protutijela koja igraju glavnu ulogu u patofiziologiji autoimunosti (Prietl et al. – 2013). Zbog važnosti T stanica u imunološkom sustavu i u razvoju upalnih i autoimunih bolesti nekoliko je studija proučavalo utjecaj ekspresije VDR na razvoj, diferencijaciju i funkciju T stanica. Jedan od pristupa kojim se proučavala uloga VDR ekspresije na razvoj T limfocita bio je proučavanje miševa kojim nedostaje VDR (VDR-KO). Ovi miševi imali su normalan broj CD4<sup>+</sup> i CD8<sup>+</sup> T stanica uključujući CD4<sup>+</sup>FoxP3<sup>+</sup> regulatorne T stanice (nTreg) (Yu et al. 2008). Ovu studiju potvrdili su Hayes i suradnici dodajući da VDR-KO miševi imaju snažniji imunološki odgovor što je vidljivo po njihovom povišenom riziku za razvoj autoimunih bolesti (Froicu et al. 2003; Froicu & Cantrona 2007). Cantorna i suradnici ustanovili su da je povišena imunološka reaktivnost, primjećena kod VDR-KO miševa, djelomično uzrokovana neuspjehom u razvoju dviju podskupina T regulatornih stanica, iNKT i CD8 $\alpha$ /TCR $\alpha\beta$  (Yu & Cantrona 2008; Yu et al. 2008; Bruce & Cantrona 2011). iNKT stanice su podskupina T stanica koje imaju regulacijsku ulogu u autoimunosti i infekciji (Godfrey et al., 2000; Bendelac et al. 2001; Singh et al. 2001), dok su CD8 $\alpha$  uglavnom prisutne u crijevima gdje pomažu u održavanju tolerancije i supresije upale ublažavajući imunološki odgovor na brojne crijevne antigene (Poussier et al. 2002; Cheroutre, 2004). VDR-KO miševi imali su značajno manje iNKT stanica zbog blokade u razvoju za koji je potreban VDR koji je upleten u Tbet ekspresiju i konverziju u NK1.1 kojeg izražavaju zrele iNKT stanice. Nekolicina iNKT stanica kod ovih miševa bila je prisutna na periferiji, ali funkcionalno defektna (Yu & Cantrona 2008; Ooi et al. 2012). Kao i iNKT stanice, u timusu VDR-KO miševa prisutni su malobrojni prekursori CD8 $\alpha$ /TCR $\alpha\beta$  stanica koji, da bi postali zrele, funkcionalne stanice, moraju iz timusa putovati do gastrointestinalnog trakta gdje IL-15 inducira njihovu proliferaciju, a zbog smanjene ekspresije receptora za IL-15 u VDR-KO miševa CD8 $\alpha$ /TCR $\alpha\beta$  stanice proliferiraju oskudno što rezultira malim brojem ovih stanica u crijevima VDR-KO miševa

(Yu et al., 2008; Bruce and Cantorna, 2011; Ooi et al., 2012). Ovi podaci pokazuju da VDR ekspresija obavezna u razvoju iNKT i CD8 $\alpha$ /TCR $\alpha$  $\beta$  stanica za razliku od konvencionalnih T stanica. Za stečeni imunološki odgovor ključni su proliferacija i diferencijacija naivnih T stanica. Na njihovoj površini nalazi se receptor (TCR) za koji se veže specifični antigen što pokreće intracelularni signalni put: I $\kappa$ k i ZAP 70 aktiviraju p38 kinazu koja inducira ekspresiju VDR i CYP27B1. Aktivirani VDR se premješta u jezgru gdje aktivira ili suprimira ekspresiju različitih gena. Aktivacija PCL- $\gamma$ 1 vodi do aktivacije PKA i PKC koje povisuju intracelularnu koncentraciju kalcija što aktivira transkripcijski faktor NFAT1 potreban za ekspresiju IL-2 i drugih citokina. IL-2 se autokrinim ili parakrinim djelovanjem veže za IL-2 receptor na istim ili susjednim limfocitima potičući staničnu proliferaciju i kolonijalnu ekspanziju antigen specifičnih T stanica. Jedan od mehanizama kojim VDR prilagođava aktivnost T stanica je kompetitivno vezanje s NFAT za IL-2 promotor čime se smanjuje ekspresija NFAT i IL-2 gena što dovodi do zaključka da ekspresija VDR služi kao mehanizam negativne povratne sprege koji sudjeluje u kontroli potencijalnih pretjeranih reakcija imunološkog sustava. Ovom i drugim studijama pokazano je da VDR ima ulogu u svim fazama diferencijacije T stanica (Baeke et al. 2011). Mali broj studija proučavao je utjecaj VDR na funkciju T stanica. Studija sa VDR-KO miševima pokazala je da Th 17 stanice kod tih miševa *in vitro* prekomjerno produciraju IL-17 (Bruce et al. 2011). Youssef i suradnici pokazali su da VDR ima direktni učinak na produkciju IL-17 na način da smanjuje njegovu proizvodnju vežući se na promotor gena za IL-17 čime blokira NFAT1 (Joshi et al. 2011). Danas se smatra da signalni put kalcitriol-VDR ima direktni učinak na ekspresiju T efektorskih stanica djelujući na proizvodnju ne samo citokina nego i kemokina i kemokinskih receptora (Peelen et al. 2011). Hayes i suradnici razvili su model miša sa inaktivnim VDR genom u T stanicama da bi istražili ulogu T stanica u razvoju autoimunosti, a studija je pokazala da su ti miševi imali normalan razvoj T stanica u timusu, ali periferne T stanice sa inaktivnim VDR bile su rezistentne na inhibitorni učinak vitamin D u razvoju autoimunih bolesti (Mayne et al. 2011). Ekspresija VDR može biti modulirana brojnim ekstracelularnim signalima kao što su kalcij, fosfor, steroidni i peptidni hormoni, faktori rasta (Feldman et al., 2011), i upalni agensi (Provvedi et al. 1983; Liu et al., 2006, 2009; von Essen et al. 2010; Joseph et al. 2012). Glukokortikoidi su poznati po svom antiinflamatornom učinku i nagada se da bi taj učinak mogli ostvarivati povisujući ekspresiju VDR. Estrogeni i retinoidi također imaju imunomodulatorni učinak, ali mehanizam na koji oni djeluju još nije istražen

(Kongsbak et al. 2013). Zaključno se za imunomodulatorna svojstva vitamina D može reći da vitamin D dovodi do promjene iz proinflamatornog u više tolerogeno stanje imunološkog sustava djelujući na različite načine na podskupine T stanica: kalcitriol suprimira staničnu proliferaciju i diferencijaciju pomagačkih T stanica mijenjajući njihovu citokinsku produkciju (Lemire et al. 1985). Terapija kalcitriolom ili njegovim analogima inhibira sekreciju proinflamatornih Th1 (IL-2, IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ ), Th9 (IL-9), i Th22 (IL22) citokina (Cantrona 2011; Baeke et al. 2011; Lemire et al. 1995; Palmer et al. 2011; Giulietti et al. 2004), a pospješuje produkciju antiinflamatornih Th2 citokina (IL-3, IL-4, IL-5, IL-10) (Boonstra et al. 2001). Čini se da već prije spomenuta inhibicija IL-17 igra glavnu ulogu u liječenju autoimunih bolesti što je pokazano na mišjem modelu dijabetesa (Penna et al. 2006). Humani T limfociti izloženi kalcitriolu proizvode, osim niže koncentracije IL-17, i niže razine IFN- $\gamma$  i IL-21 (Prietl et al. – 2013). Djelovanje vitamina D općenito smanjuje aktivnost Th1 stanica i uravnotežuje Th1 i Th2 stanice što što rezultira smnjenjem upalnog odgovora. Takvo djelovanje vitamina D snažno sugerira da manjak ovog vitamina ima ulogu u patofiziologiji autoimunih bolesti (Pierrot-Deseilligny & Souberbielle 2013).

#### **5.2.3.5. Imunomodulatorni učinak vitamina D u eksperimentalnom autoimunom encefalomijelitisu**

Eksperimentalni autoimuni encefalomijelitis (EAE) je životinjski model MS-a koji dugi niz godina pomaže u razumijevanju patogeneze same bolesti, ali i pridonosi istraživanjima novih terapijskih mogućnosti. Vitamin D jasno prevenira početak EAE ako je dan prije početka bolesti i značajno poboljšava kliničke znakove u bolesnih miševa ako se dâ poslije, što dovodi do zaključka da ima preventivni i terapijski učinak (Becklund et al. 2009; Branisteanu et al. 1995; Cantrona 2006, 2008; Cantrona et al. 1996; Garcion et al. 2003; Lemire & Archer 1991; Van Etten et al. 2003). Ovaj učinak vitamina D u EAE ostvaruje se djelovanjem na makrofage i različite citokine te protektivnim djelovanjem na mijelin aktivacijom oligodendrocita. Također, imunomodulatorni učinak ostvaruje se djelovanjem na T limfocite na način da vitamin D inhibira razvoj Th1 stanica, a poboljšava Th2 i Treg stanični odgovor. Danas se smatra da vitamin D svoj najpotentniji učinak u EAE ostvaruje djelovanjem na IFN $\beta$  (Van Etten et al. 2003). Iako EAE nije sasvim identičan MS-u svi ovi rezultati pružaju dobre eksperimentalne temelje za razumijevanje učinka vitamina D u MS-u (Pierrot-Deseilligny 2009).

### **5.2.3.6. Imunomodulatorni učinak vitamina D u pacijenata sa multiplom sklerozom**

Brojne studije pokazale su da imunomodulatorni učinci vitamina D na T i B stanicama, koji su opisani na animalnim modelima različitih bolesti, kao i u zdravih pojedinaca, također postoje i kod pacijenata sa MS-om. Jedno od prvih istraživanja koje je proučavalo ove učinke u MS bolesnika bilo je istraživanje u kojem se promatrao učinak davanja suplementa vitamina D tokom šest mjeseci, 1000 IU/dan. Rezultati su pokazali značajan porast TGF- $\beta$ 1 kojeg proizvode različite vrste T stanica uključujući Treg stanice, a inhibira određene vrste T stanica (Mahon et al. 2003). Nedavne studije pokazale su da kalcitriol u pacijenata sa MS-om *in vitro* inhibira proliferaciju T stanica i razvoj IL-6 i IL-17, a poboljšava proizvodnju IL-10, Treg stanica (Correale et al. 2009) i CD46 (Kickler et al. 2012) što sve skupa pridonosi protuupalnom djelovanju. Nadalje, nekim istraživanjima potvrđeno je pozitivno djelovanje vitamina D na inhibitorni učinak Treg stanica na Th1 stanice (Smolders et al. 2009). U malom, kontroliranim pokusu abnormalna reaktivnost T stanica u pacijenata sa MS-om *in vivo* je suprimirana suplementom vitamina D pri čemu je serumska koncentracija 25-OH-D bila viša od 100 nmol/l (Kimball et al. 2011), a druga, slična studija u kojoj su pacijenti sa RRMS-om primali visoke doze vitamin D suplementa (20000 IU/dan) tokom tri mjeseca dobila je rezultate u kojima je broj Treg bio nepromijenjen, ali proporcija IL-10 i CD4 stanica bila je povećana (Smolders et al. 2010). U pacijenata sa MS-om niska serumska razina vitamina D povezana je sa T staničnom proliferacijom (Grau-Lopez et al. 2012). Ovi, imunomodulatorni i antiinflamatorni učinci vitamina D više su zabilježeni kod žena nego kod muškaraca sa MS-om, ali i kod zdravih pojedinaca što se pripisuje sinergističkom djelovanju kalcitriola i 17- $\beta$  estradiola (Correal et al. 2010). Sveukupno, ove studije pokazuju da vitamin D ima pozitivna imunomodulatorna i antiinflammatorna svojstva u bolesnika sa MS-om, ali precizan učinak na tijek bolesti treba istražiti budućim randomiziranim kliničkim pokusima (Pierrot-Deseilligny & Souberbielle 2013).

### **5.2.3.7. Utjecaj vitamina D na tijek multiple skleroze**

Zbog već navedenih imunomodulatornih svojstava vitamina D i njegove očite uloge u patogenezi MS-a postavlja se pitanje da li vitamin D ima utjecaj na tijek bolesti. Broj studija koji daje odgovor na ovo pitanje je ograničen, a dosadašnji rezultati nisu jednoznačni. Nekoliko relativno velikih randomiziranih kliničkih pokusa (RTC) započelo je u Europi i

SAD-u, ali njihovi rezultati nisu još poznati (Munger & Ascherio 2011; Smolders et al. 2011; Dorr et al. 2012). Jedna od najranijih studija koja se bavila ovim pitanjem uključivala je deset pacijenata s RRMS-om koji su uzimali 5000 IU/dan vitamina D tijekom dvije godine, a rezultati su pokazali smanjenje relapsa za 50% (Goldberg et al. 1986). Druge, pak, studije nisu pronašle povezanost između uzimanja vitamina D i smanjenja broja relapsa. Stein i suradnici pratili su 23 pacijenta sa RRMS-om koji bili podijeljeni u dvije grupe od kojih je jedna primala vitamin D u dozi od 1000 IU/dan, a druga 7000 IU/dan. Rezultati su pokazali da nema razlike u relapsima među ove dvije grupe (Stein et al. 2011). Slične rezultate dobili su Shaygannejad i suradnici u čiju je studiju bilo uključeno 50 bolesnika s RRMS-om koji su također bili podijeljeni u dvije grupe. Prva grupa primala je dnevnu dozu 0.5 µg klacitriola dok je druga grupa dobivala placebo tijekom 12 mjeseci (Shaygannejad et al. 2012). Još je nekoliko sličnih studija dobilo ovakve rezultate, ali sve ove studije bile su kritizirane zbog malog uzorka, kratkog praćenja kliničkog ishoda ili zbog samog ustroja studije (Kampman et al. 2012; Soilu-Hänninen et al. 2012). Nasuprot ovim malim RTC nedavna istraživanja pronašla su značajnu povezanost između vitamina D i stope relapsa u pacijenata sa RRMS-om koji su ujedno primali IFNβ (Stewart et al. 2012). Nadalje, tri nezavisne kohortne studije pokazale su da povećanje serumske razine 25-OH-D za 50 nmol/l može smanjiti stopu relapsa 50 – 68% neovisno o primjeni imunomodulatorne terapije (IMT) (Pierrot-Deseilligny & Souberbielle 2013; Mowry et al. 2010; Simpson et al. 2010). Na temelju dosadašnjih istraživanja ne može se donijeti definitivni zaključak o utjecaju vitamina D na tijek bolesti, ali nedavna istraživanja ipak govore u prilog njegovog pozitivnog učinka u smislu smanjena broja relapsa.

#### **5.2.3.8. Uloga vitamina D u liječenju multiple skleroze**

Zbog ranije navedenih svojstava vitamina D i njegove očite uloge u MS-u logično je postaviti pitanje može li se vitamin D koristiti u terapiji MS-a? Temeljem nekih studija značajna je uloga vitamina D u prevenciji MS-a (Van der Mei et al. 2003; Lucas et al. 2008; Sloka et al. 2008; Kampman et al. 2007), ali stvarnom razjašnjenju ovih podataka uvelike bi pridonijeli RTC koji bi ispitali može li i koliko uzimanje suplemenata vitamina D prevenirati bolest u srodnika bolesnika sa MS-om za koje je poznato da imaju povišen rizik za razvoj bolesti. Cilj bi bio podići i održavati razinu serumskog 25-OH-D na 75 – 100 nmol/l. Iste takve preventivne mjere trebalo bi poduzeti u pojedinaca koji su preboljeli infektivnu

mononukleozu i kojima titar anti-EBNA 1 ostaje visok, a rezultati takvih istraživanja razjasnili bi ulogu vitamina D u prevenciji MS-a (Pierrot-Deseilligny & Souberbielle 2013). U nekoliko zemalja započeti su RTC kojima se ispituje učinak vitamina D u pacijenata koji su već razvili MS (Vieth et al. 2007; Correale et al. 2009; Myrh 2009; Pierrot-Deseilligny 2009; Ascherio et al. 2012a; Holmøy et al. 2012; van der Mei et al. 2012), ali treba još nekoliko godina da bi rezultati ovakvih, dobro ustrojenih, velikih studija bili poznati i da bi se na temelju njih mogao donijeti valjan, znanstveno utemeljen zaključak o ulozi vitamina D u terapiji MS-a (Pierrot-Deseilligny & Souberbielle 2013). Dosadašnje studije na ovu temu su malobrojne i ograničene. Jedna takva studija uključivala je 10 pacijenata sa MS-om koji su u razdoblju od dvije godine primali vitamin D u dozi 5000 IU/dan i postigli su smanjenje relapsa za 60%, ali nije bilo kontrolne skupine (Goldberg et al. 1986). Druga, slična studija uključivala je 39 pacijenata sa MS-om, od kojih je 17 uzimalo vitamin D<sub>3</sub> u dozi od 1000 IU/dan tokom 6 mjeseci. Rezultati su pokazali da su pacijenti koji su dobivali vitamin D<sub>3</sub> imali značajno povišenu razinu antiinflamatornog citokina TGF-β1 (Mahon et al. 2003). Prije uzimanja vitamina D svakako treba provjeriti razinu kalcija kako bi se izbjegla rijetka, ali potencijalno opasna hiperkalcijemija. Znanstvenici tvrde da nema razloga za strah od intoksikacije vitaminom D ako se uzima u dozi do čak 10000 IU/dan (Hathcock et al 2007; Vieth 1999; Vieth 2007). Naposljetku, vitamin D može biti dodatak glavnoj terapiji MS-a, a činjenica da je prirodan, siguran i jeftin čini ga dijelom terapije MS-a (Pierrot-Deseilligny 2009).

## **6. Zaključak**

Multipla skleroza je kronična upalna bolest središnjeg živčanog sustava nepoznate etiopatogeneze koja uglavnom zahvaća mlađu populaciju i kod istih je među vodećim uzrocima onesposobljenosti. Smatra se da nastaje međusobnom interakcijom okolišnih čimbenika i gena. Brojna istraživanja potvrđuju ulogu različitih okolišnih čimbenika, ali točan mehanizam koji dovodi do bolesti nije poznat i predmet je brojnih istraživanja.

Zadnjih nekoliko godina intenzivno se proučava uloga vitamina D u različitim bolestima uključujući i MS. Geografska distribucija bolesti je prva karakteristika koja upućuje da vitamin D ima ulogu u nastanku bolesti što se potvrdilo i eksperimentalnim studijama na životinjskim modelima. Osim njegove uloge u nastanku bolesti intenzivno se zadnjih godina proučava i utjecaj na tijek bolesti kao i uloga vitamina D u prevenciji i liječenju MS-a. Dosadašnja, iako malobrojna istraživanja pokazuju da vitamin D ima pozitivan utjecaj na tijek bolesti. Rezultate velikih studija koji će odgovoriti na ova pitanja tek treba pričekati, a do tada vitamin D ostaje siguran dodatak osnovnoj terapiji MS-a.

## **7. Zahvale**

*Veliko hvala mom mentoru doc. dr.sc. Mariu Habeku na pomoći i stručnim savjetima tijekom pisanja rada.*

*Hvala obitelji i prijateljima na bezuvjetnoj podršci tijekom studiranja.*



## 8. Literatura

Ablashi DV, Eastman HB, Owen CB, et al. Frequent HHV-6 reactivation in multiple sclerosis (MS) and chronic fatigue syndrome (CFS) patients. *J Clin Virol* 2000;16:179–191.

Adorini, L.; Penna, G.; Giarratana, N.; Uskokovic, M. Tolerogenic dendritic cells induced by vitamin D receptor ligands enhance regulatory T cells inhibiting allograft rejection and autoimmune diseases. *J. Cell. Biochem.* 2003, 88, 227–233.

Adzemovic MZ, Zeitelhofer M, Hochmeister S, Gustafsson SA, Jagodic M. Efficacy of vitamin D in treating multiple sclerosis-like neuroinflammation depends on developmental stage. *Exp Neurol.* 2013 Nov;249:39-48.

Ahn J, Albanes D, Berndt SI, Peters U, Chatterjee N, Freedman ND, Abnet CC, Huang WY, Kibel AS, Crawford ED, Weinstein SJ, Chanock SJ, Schatzkin A, Hayes RB (2009) Vitamin D-related genes, serum vitamin D concentrations and prostate cancer risk. *Carcinogenesis* 30:769–776

Alvarez-Lafuente R, De Las Heras V, Bartolome M, et al. Humanherpesvirus 6 and multiple sclerosis: a one-year follow-up study. *Brain Pathol* 2006;16:20–27.

Antony JM, Van Marle G, Opii W, Butterfield DA, Mallet F, et al. (2004) Human endogenous retrovirus glycoprotein-mediated induction of redoxreactants causes oligodendrocyte death and demyelination. *Nat Neurosci* 7:1088–1095.

Arai H, Miyamoto KI, Yoshida M, Yamamoto H, Taketani Y, Morita K, Kubota M, Yoshida S, Ikeda M, Watabe F, Kanemasa Y, Takeda E (2001) The polymorphism in the caudal-related homeodomain protein Cdx-2 binding element in the human vitamin D receptor gene. *J Bone Miner Res* 16:1256–1264

Ascherio A, Munger KL, Lennette ET, et al. Epstein-Barr virus antibodies and risk of multiple sclerosis: a prospective study. *JAMA* 2001;286:3083–3088.

Ascherio A, Munger KL. Environmental risk factors for multiple sclerosis. Part II: Noninfectious factors. *Ann Neurol.* 2007 Jun;61(6):504-13.

Ascherio A, Munger KL. Environmental risk factors for multiple sclerosis. Part I: the role of infection. *Ann Neurol.* 2007 Apr;61(4):288-99

Ascherio, A., Munger, K. and Lünemann, J. (2012a) The initiation and prevention of multiple sclerosis. *Nat Rev Neurol* 8: 602–612.

Baeke, F.; Korf, H.; Overbergh, L.; Verstuyf, A.; Thorrez, L.; van Lommel, L.; Waer, M.; Schuit, F.; Gysemans, C.; Mathieu, C. The vitamin D analog, TX527, promotes a human CD4<sup>+</sup>CD25<sup>high</sup>CD127<sup>low</sup> regulatory T cell profile and induces a migratory signature specific for homing to sites of inflammation. *J. Immunol.* 2011, 186, 132–142.

Baeke, F.; Takiishi, T.; Korf, H.; Gysemans, C.; Mathieu, C. Vitamin D: Modulator of the immune system. *Curr. Opin. Pharmacol.* 2010, 10, 482–496.

Becklund BR, Hansen DW, Deluca HF (2009) Enhancement of 1,25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub>-mediated suppression of experimental autoimmune encephalomyelitis by calcitonin. *Proc Natl Acad Sci USA* 106(13):5276–5281

Bendelac A., Bonneville M. And Kearney J.F.(2001).Autoreactivityby design:innateBand Tlymphocytes. *Nat Rev Immunol.* 1,177–186.

Bikle DD, Gee E, Halloran B, Haddad JG (1984) Free 1,25- dihydroxyvitamin D levels in serum from normal subjects, pregnant subjects, and subjects with liver disease. *J Clin Invest* 74:1966–1971

Bischoff-Ferrari HA, Giovannucci E, Willett WC, Dietrich T, Dawson-Hughes B (2006) Estimation of optimal serum concentrations of 25-hydroxyvitamin D for multiple health outcomes. *Am J Clin Nutr* 84:18–28

Boonstra, A.; Barrat, F.J.; Crain, C.; Heath, V.L.; Savelkoul, H.F.J.; Garra, A.O. 1 $\alpha$ ,25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> has a direct effect on naive CD4<sup>+</sup>T cells to enhance the development of Th2 cells. *J. Immunol.* 2001, 167, 4974–4980.

Branisteanu DD, Waer M, Sobis S, Marcelis S, Vandeputte M, Bouillon R (1995) Prevention of murine experimental allergic encephalomyelitis: cooperative effects of cyclosporine and 1 alpha, 25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>. *J Neuroimmunol* 61:151–160.

Braun DK, Dominguez G, Pellett PE. Human herpesvirus 6. *Clin Microbiol Rev* 1997;10:521–567.

Brinar (2009) Demijelinizacijske bolesti Središnjeg živčanog sustava (SŽS). Hajnšek, Malojčić, Habek, Klepac, Lušić, Zadro, Žagar, Petravić, Bašić, Jurjević. Neurologija za medicinare. Zagreb; Medicinska naklada

Bruce D. and Cantorna M.T.(2011). Intrinsic requirement for the vitamin D receptor in the development of CD8 $\alpha$  $\alpha$ -expressing T cells. *J. Immunol.* 186, 2819–2825.

Bruce D., and Cantorna M.T. (2011). Intrinsic requirement for the vitamin D receptor in the development of CD8 $\alpha$  $\alpha$ -expressing T cells. *J. Immunol.* 186, 2819–2825.

Bu FX, Armas L, Lappe J, Zhou Y, Gao G, Wang HW, Recker R, Zhao LJ (2010) Comprehensive association analysis of nine candidate genes with serum 25-hydroxyvitamin D levels among healthy Caucasian subjects. *Hum Genet* 128:549–556

Burnand B, Sloutskis D, Gianoli F, Cornuz J, Rickenbach M, Paccaud F, Burckhardt P (1992) Serum 25-hydroxyvitamin D: distribution and determinants in the Swiss population. *Am J Clin Nutr* 56:537–542

Cantorna MT (2006) Vitamin D and its role in immunology: multiple sclerosis and inflammatory bowel disease. *Prog Biophys Mol Biol* 92:60–64.

Cantorna MT, Hayes CE, DeLuca HF (1996) 1,25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> reversibly blocks the progression of encephalomyelitis, a model of multiple sclerosis. *Proc Natl Acad Sci USA* 93:7861–7864.

Cantorna, M.T. Mechanisms underlying the effect of vitamin D on the immune system. *Proc. Nutr. Soc.* 2011, 69, 286–289.

Cermelli C, Berti R, Soldan SS, et al. High frequency of human herpesvirus 6 DNA in multiple sclerosis plaques isolated by laser microdissection. *J Infect Dis* 2003;187:1377–1387.

Challoner PB, Smith KT, Parker JD, et al. Plaque-associated expression of human herpesvirus 6 in multiple sclerosis. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995;92:7440–7444.

Charles Pierrot-Deseilligny and Jean-Claude Souberbielle. Contribution of vitamin D insufficiency to the pathogenesis of multiple sclerosis. *Ther Adv Neurol Disord*. 2013 March; 6(2): 81–116.

Chen, S.; Sims, G.P.; Chen, X.X.; Gu, Y.Y.; Chen, S.; Lipsky, P.E. Modulatory effects of 1,25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> on human B cell differentiation. *J. Immunol*. 2007, 179, 1634–1647.

Cheng JB, Levine MA, Bell NH, Mangelsdorf DJ, Russell DW (2004) Genetic evidence that the human CYP2R1 enzyme is a key vitamin D 25-hydroxylase. *Proc Natl Acad Sci USA* 101: 7711–7715

Cheroutre H. (2004). Starting at the beginning: new perspectives on the biology of mucosal T cells. *Annu.Rev.Immunol*. 22, 217–246.

Christakos S, Hewison M, Gardner DG, Wagner CL, Sergeev IN, Rutten E, Pittas AG, Boland R, Ferrucci L, Bikle DD. Vitamin D: beyond bone. *Ann N Y Acad Sci*. 2013 May;1287:45-58.

Compston A, Coles A (October 2008). "Multiple sclerosis". *Lancet* 372 (9648): 1502–17.

Compston A, Coles A (October 2008). "Multiple sclerosis". *Lancet* 372 (9648): 1502–17. doi:10.1016/S0140-6736(08)61620-7

Compston A, Coles A. Multiple sclerosis. *Lancet*. 2008 Oct 25;372(9648):1502-17.

Cooke NE, Haddad JG (1989) Vitamin D binding protein (Gc-globulin). *Endocr Rev* 10:294–307

Correale, J., Ysraelit, M. and Gaitan, M. (2009) Immunomodulatory aspects of vitamin D in multiple sclerosis. *Brain* 132: 1146–1160.

Correale, J., Ysraelit, M. and Gaitan, M. (2010) Gender differences in 1,25 dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> immunomodulatory effects in multiple sclerosis patients and healthy subjects. *J Immunol* 185: 4948–4958.

Danai, P.A.; Sinha, S.; Moss, M.; Haber, M.J.; Martin, G.S. Seasonal variation in the epidemiology of sepsis. *Crit. Care Med*. 2007, 35, 410–415.

Dastani Z, Li R, Richards B. Genetic regulation of vitamin D levels. *Calcif Tissue Int*. 2013 Feb;92(2):106-17.

Dawson-Hughes B, Heaney RP, Holick MF, Lips P, Meunier PJ, Vieth R (2006) Estimates of optimal vitamin D status. *Osteoporos Int* 16:713–716.

Dehghani L, Meamar R, Etemadifar M, Sheshde ZD, Shaygannejad V, Sharifkhan M, Tahani S. Can vitamin d suppress endothelial cells apoptosis in multiple sclerosis patients? *Int J Prev Med*. 2013 May;4(Suppl 2):S211-5.

de-The' G, Geser A, Day NE, et al. Epidemiological evidence for causal relationship between Epstein-Barr virus and Burkitt's lymphoma from Ugandan prospective study. *Nature* 1978;274:756–761.

Dimitrov V, Salehi-Tabar R, An BS, White JH. Non-classical mechanisms of transcriptional regulation by the vitamin D receptor: Insights into calcium homeostasis, immune system regulation and cancer chemoprevention. *J Steroid Biochem Mol Biol*. 2013 Jul 30. pii: S0960-0760(13)00141-6.

Disanto G, Morahan JM, Barnett MH, Giovannoni G, Ramagopalan SV. The evidence for a role of B cells in multiple sclerosis. *Neurology*. 2012 Mar 13;78(11):823-32.

Disanto G, Morahan JM, Ramagopalan SV. Multiple sclerosis: risk factors and their interactions. *CNS Neurol Disord Drug Targets*. 2012 Aug;11(5):545-55.

Dorr, J., Ohlraun, S., Skarabis, H. and Paul, F. (2012) Efficacy of vitamin D supplementation in multiple sclerosis (EVIDIMS Trial): study protocol for a randomized trial. *Trials* 13: 15.

Dyment, D., Yee, I., Ebers, G. and Sadovnick, A. (2006) Multiple sclerosis in stepsiblings: recurrence risk and ascertainment. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 77: 258–259.

Feinstein, A (2007). *The clinical neuropsychiatry of multiple sclerosis* (2nd ed. ed.). Cambridge: Cambridge University Press. p. 20. Feinstein, A (2007). *The clinical neuropsychiatry of multiple sclerosis* (2nd ed. ed.). Cambridge: Cambridge University Press. p. 20.

Feldman D., Pike J.W., Adams, J.S.(2011).The vitamin D receptor and T cell function. *Front. Immunol.*, 18 June 2013

Ferreira, G.B.; van Etten, E.; Verstuyf, A.; Waer, M.; Overbergh, L.; Gysemans, C.; Mathieu, C. 1,25-Dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> alters murine dendritic cell behaviour in vitro and in vivo. *Diabetes Metab. Res. Rev.* 2011, 27, 933–941.

Firouzi R, Rolland A, Michel M, Jouvin-Marche E, Hauw JJ, et al. ( 2003) Multiple sclerosis-associated retrovirus particles cause T lymphocyte-dependent death with brain hemorrhage in humanized SCID mice model. *J Neurovirol* 9:79–93.

Fisniku LK1, Brex PA, Altmann DR, Miszkiel KA, Benton CE, Lanyon R, Thompson AJ, Miller DH. Disability and T2 MRI lesions: a 20-year follow-up of patients with relapse onset of multiple sclerosis. *Brain.* 2008 Mar;131(Pt 3):808-17

Flanagan JN, Wang L, Tangpricha V, Reichrath J, Chen TC, Holick MF (2003) Regulation of the 25-hydroxyvitamin D-1alpha-hydroxylase gene and its splice variant. *Recent Results Cancer Res* 164:157–167

Frederik Barkhof, Massimo Filippi, David H. Miller, Philip Scheltens, Adriana Campi, Chris H. Polman, Giancarlo Comi, Herman J. Ader, Nick Losseff and Jacob Valk. Comparison of MRI criteria at first presentation to predict conversion to clinically definite multiple sclerosis. *Brain* (1997), 120, 2059–2069

Froicu M., and Cantorna M.T. (2007). Vitamin D and the vitamin D receptor are critical for control of the innate immune response to colonic injury. *BMC Immunol.* 8:5. doi:10.1186/1471-2172-8-5

Froicu M., Weaver V., Wynn T. A., McDowell M.A., Welsh J. E, and Cantorna M.T. (2003). A crucial role for the vitamin D receptor in experimental inflammatory bowel diseases. *Mol.Endocrinol.* 17, 2386–2392.

Gardner JC, Yazdani F. Correlating MR lesions and functional deficits in multiple sclerosis patients. *Anatomical atlas registration. Phys Med Rehabil Clin N Am.* 1998 Aug;9(3):569-86, vi.

Gilden DH. Infectious causes of multiple sclerosis. *LancetNeurol* 2005;4:195–202.

Giulietti, A.; Gysemans, C.; Stoffels, K.; van Etten, E.; Decallonne, B.; Overbergh, L.; Bouillon, R.; Mathieu, C. Vitamin D deficiency in early life accelerates Type 1 diabetes in non-obese diabetic mice. *Diabetologia* 2004, 47, 451–462.

Godfrey D.I., Hammond K.J., Poulton L.D., Smyth M.J. and Baxter A. G. (2000). NKT cells: facts, functions and fallacies. *Immunol. Today* 21, 573–583.

Goldberg P, Fleming MC, Picard EH (1986) Multiple sclerosis: decreased relapse rate through dietary supplementation with calcium, magnesium and vitamin D. *Med Hypotheses* 21:193–200.

Goldberg, P., Fleming, M. and Picard, E. (1986) Multiple sclerosis: decreased relapse rate through dietary supplementation with calcium, magnesium and vitamin D. *Med Hypotheses* 21: 193–200.

Gombart, A.F.; Borregaard, N.; Koeffler, H.P. Human cathelicidin antimicrobial peptide (CAMP) gene is a direct target of the vitamin D receptor and is strongly up-regulated in myeloid cells by 1,25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub>. *FASEB J.* 2005, 19, 1067–1077.

Grad, R. Cod and the consumptive: A brief history of cod-liver oil in the treatment of pulmonary tuberculosis. *Pharm. Hist.* 2004, 46, 106–120.

Grau-Lopez, L., Granada, M., Raich, D., Naranjo, M., Borrás, F., Martínez-Caceres, E. et al. (2012) Regulatory role of vitamin D in T-cell reactivity against myelin peptides in relapsing-remitting multiple sclerosis patients. *BMC Neurol* 12: 103.

Hathcock JN, Shao A, Vieth R, Heaney R (2007) Risk assessment for vitamin D. *Am J Clin Nutr* 85:6–18

Heaney, R.P. Vitamin D-baseline status and effective dose. *N. Engl. J. Med.* 2012, 367, 77–78

Hernán MA, Olek MJ, Ascherio A. Cigarette smoking and incidence of multiple sclerosis. *Am J Epidemiol* 2001;154: 69–74.

Hernan MA, Jick SS, Logroscino G, et al. Cigarette smoking and the progression of multiple sclerosis. *Brain* 2005;128: 1461–1465

Hewison M. Vitamin D and immune function: autocrine, paracrine or endocrine? *Scand J Clin Lab Invest Suppl.* 2012 Apr;243:92-102.

Holmøy, T., Kampman, M. and Smolders, J. (2012) Vitamin D in multiple sclerosis: implications for assessment and treatment. *Exp Rev Neurother* 12: 1101–1112.

<http://www.mscenter.org/education/ms-the-basics> Accessed 23 December 2013

Jacques PF, Felson DT, Tucker KL, Mahnken B, Wilson PW, Rosenberg IH, Rush D (1997) Plasma 25-hydroxyvitamin D and its determinants in an elderly population sample. *Am J Clin Nutr* 66:929–936

Jaeger P, Jones W, Clemens TL, Hayslett JP (1986) Evidence that calcitonin stimulates 1,25-dihydroxyvitamin D production and intestinal absorption of calcium in vivo. *J Clin Invest* 78:456–461

Jeffery LE, Wood AM, Qureshi OS, Hou TZ, Gardner D, Briggs Z, Kaur S, Raza K, Sansom DM. Availability of 25-hydroxyvitamin D(3) to APCs controls the balance between regulatory and inflammatory T cell responses. *J Immunol.* 2012 Dec 1;189(11):5155-64.

Joseph R.W., Bayraktar U.D., Kim T. K., St John L.S., Popat U.,Khalili J.,etal.(2012).VitaminD receptor upregulation in alloreactive human T cells. *Hum.Immunol.* 73, 693–698.

Joshi S., Pantalena L.C., Liu X.K., Gaffen S.L., Liu H., Rohowsky- Kochan C.,etal.(2011).1,25- DihydroxyvitaminD(3) ameliorates Th17 autoimmunity via transcriptional modulation of interleukin- 17A. *Mol.Cell.Biol.* 31, 3653–3669. doi:10.1128/MCB.05020-11

Kampman MT, Wilsgaard T, Mellgren SI (2007) Outdoor activities and diet in childhood and adolescence relate to MS risk above the Arctic Circle. *J Neurol* 254:471–477.

Kampman, M., Steffensen, L., Mellgren, S. and Jørgensen, L. (2012) Effect of vitamin D3 supplementation on relapses, disease progression and measures of function in persons with multiple sclerosis: exploratory outcomes from a double-blind randomised controlled trial. *Mult Scler* 18: 1144–1151.



Kickler, K., Ni Choileain, S., Williams, A., Richards, A. and Astier, A. (2012) Calcitriol modulates the CD46 pathway in T cells. *PLoS ONE* 7: e48486.

Kimball, S., Vieth, R., Dosch, H., Ber-Or, A., Cheung, R., Gagne, D. et al. (2011b) Cholecalciferol plus calcium suppresses abnormal PBMC reactivity in patients with multiple sclerosis. *J Clin Endocrinol Met* 96: 2826–2834.

Koch MW, Metz LM, Agrawal SM, Yong VW. Environmental factors and their regulation of immunity in multiple sclerosis. *J Neurol Sci*. 2013 Jan 15;324(1-2):10-6.

Kongsbak M, Levring TB, Geisler C, von Essen MR. The vitamin d receptor and T cell function. *Front Immunol*. 2013 Jun 18;4:148.

Korf H, Wenes M, Stijlemans B, Takiishi T, Robert S, Miani M, Eizirik DL, Gysemans C, Mathieu C. 1,25-Dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> curtails the inflammatory and T cell stimulatory capacity of macrophages through an IL-10-dependent mechanism. *Immunobiology*. 2012 Dec;217(12):1292-300.

Kurtzke JF. Epidemiologic evidence for multiple sclerosis as an infection. *Clin Microbiol Rev* 1993;6:382– 427.

Lahiru Handunnetthi, MSc, Sreeram V. Ramagopalan, DPhil, and George C. Ebers, MD, FmedSci. Multiple sclerosis, vitamin D, and HLA-DRB1\*15. *Neurology*. 2010 June 8; 74(23): 1905–1910.

Laufer G, Mayer J, Mueller BF, Mueller-Lantsch N, Ruprecht K (2009) Analysis of transcribed human endogenous retrovirus W env loci clarifies the origin of multiple sclerosis-associated retrovirus env sequences. *Retrovirology* 6: 37.

Lemire JM, Archer DC (1991) 1,25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> prevents the in vivo induction of murine experimental autoimmune encephalomyelitis. *J Clin Invest* 87:1103–1107.

Lemire, J.M.; Adams, J.S.; Kermani-Arab, V.; Bakke, A.C.; Sakai, R.; Jordan, S.C. 1,25-Dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> suppresses human T helper/inducer lymphocyte activity in vitro. *J. Immunol*. 1985, 134, 3032–3035.

Lemire, J.M.; Adams, J.S.; Sakai, R.; Jordan, S.C. 1 $\alpha$ ,25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> suppresses proliferation and immunoglobulin production by normal human peripheral blood mononuclear cells. *J. Clin. Investig.* 1984, 74, 657–661.

Lemire, J.M.; Archer, D.C.; Beck, L.; Spiegelberg, H.L. Immunosuppressive actions of 1,25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub>: Preferential inhibition of Th1 functions. *J. Nutr.* 1995, 125, 1704S–1708S.

Lennette ET, Rymo L, Yadav M, et al. Disease-related differences in antibody patterns against EBV-encoded nuclear antigens EBNA 1, EBNA 2 and EBNA 6. *Eur J Cancer* 1993; 29A:1584–1589.

Levin LI, Munger KL, Rubertone MV, et al. Temporal relationship between elevation of Epstein Barr virus antibody titers and initial onset of neurological symptoms in multiple sclerosis. *JAMA* 2005;293:2496 –2500.

Liu,P.T.,Stenger,S.,Li,H.,Wen- zel,L.,Tan,B.H.,Krutzik, S. R.,etal. (2006). Toll-like receptor triggering of a vitamin D-mediated humanan microbial response. *Science* 311, 1770–1773.

Liu, P.T.,Wheelwright M.,Teles, R. Komisopoulou, E.Edfeldt, K. Ferguson etal.(2012). MicroRNA-21targetsthevitamin D-dependantantimicrobialpathway in leprosy. *Nat.Med.* 18, 267–273.

Lublin FD, Reingold SC. Defining the clinical course of multiple sclerosis: results of an international survey. National Multiple Sclerosis Society (USA) Advisory Committee on Clinical Trials of New Agents in Multiple Sclerosis.*Neurology.* 1996 Apr;46(4):907-11.

Lucas R, Taylor BV, Ponsonby A-L, Chapman P, Coulthard A, Dear K et al (2008) Latitudinal variation in incidence of first demyelinating events: descriptive analyses of case participants in the Ausimmune Study. *Mult Scler* 14(Suppl 1):S190–S191

Mahon BD, Gordon SA, Cruz J, Cosman F, Cantorna MT (2003) Cytokine profile in patients with multiple sclerosis following vitamin D supplementation. *J Neuroimmunol* 134:128–132.

Mahon, B., Gordon, S., Cruz, J., Cosman, F. and Cantorna, M. (2003) Cytokine profile in patients with multiple sclerosis following vitamin D supplementation. *J Neuroimmunol* 134: 128–132.

Mahon, B.D.; Wittke, A.; Weaver, V.; Cantorna, M.T. The targets of vitamin D depend on the differentiation and activation status of CD4 positive T cells. *J. Cell. Biochem.* 2003, 89, 922–932.

Margherita T. Cantorna, Jun Zhao, and Linlin Yang. Symposium 3: Vitamin D and immune function: from pregnancy to adolescence. *Proc Nutr Soc.* 2012 February; 71(1): 62–66.

Mayne, C.G., Spanier, J.A., Reland, L.M., Williams, C.B., and Hayes, C.E. (2011). 1,25-Dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> acts directly on the T lymphocyte vitamin D receptor to inhibit experimental autoimmune encephalomyelitis. *Eur. J. Immunol.* 41, 822–832.

McCoyd M. Update on therapeutic options for multiple sclerosis. *Neurol Clin.* 2013 Aug;31(3):827-45.

McFarland HF, Martin R. Multiple sclerosis: a complicated picture of autoimmunity. *Nat Immunol.* 2007 Sep;8(9):913-9.

Miller DH, Leary SM (October 2007). "Primary-progressive multiple sclerosis". *Lancet Neurol* 6 (10): 903–12.

Miller DH, Chard DT, Ciccarelli O. Clinically isolated syndromes. *Lancet Neurol.* 2012 Feb;11(2):157-69.

Mora, J.R.; Iwata, M.; von Andrian, U.H. Vitamin effects on the immune system: Vitamins A and D take centre stage. *Nat. Rev. Immunol.* 2008, 8, 685–698.

Mowry EM, Carey RF, Blasco MR, Pelletier J, Duquette P, Villoslada P, Malikova I, Roger E, Kinkel RP, McDonald J, Bacchetti P, Waubant E. Multiple sclerosis susceptibility genes: associations with relapse severity and recovery. 2013 Oct 9;8(10):e75416.

Mueller N, Evans A, Harris NL, et al. Hodgkin's disease and Epstein-Barr virus. Altered antibody pattern before diagnosis. *N Engl J Med* 1989;320:689–695.

Müller, K.; Diamant, M.; Bendtzen, K. Inhibition of production and function of interleukin-6 by 1,25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub>. *Immunol. Lett.* 1991, 28, 115–120.

Munger, K. and Ascherio, A. (2011) Prevention and treatment of MS: studying the effects of vitamin D. *Mult Scler* 17: 1405–1411.

Niino, M., Fukazawa, T., Kikuchi, S. and Sasaki, H. (2008) Therapeutic potential of vitamin D for multiple sclerosis. *Cur Med Chem* 15: 499–505.

Ooi J.H., Chen J. and Cantorna M.T. (2012). Vitamin D regulation of immune function in the gut: why do T cells have vitamin D receptors? *Mol. Aspects Med.* 33, 77–82.

Opsahl ML, Kennedy PG. Early and late HHV-6 gene transcripts in multiple sclerosis lesions and normal appearing white matter. *Brain* 2005;128:516–527.

Orton SM, Morris AP, Herrera BM, Ramagopalan SV, Lincoln MR, Chao MJ, Vieth R, Sadovnick AD, Ebers GC (2008) Evidence for genetic regulation of vitamin D status in twins with multiple sclerosis. *Am J Clin Nutr* 88:441–447

Palmer, M.T.; Lee, Y.K.; Maynard, C.L.; Oliver, J.R.; Bikle, D.D.; Jetten, A.M.; Weaver, C.T. Lineage-specific effects of 1,25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> on the development of effector CD4 T cells. *J. Biol. Chem.* 2011, 286, 997–1004.

Peelen E., Knippenberg S., Muris A. H., Thewissen M., Smolders J., Tervaert J.W., Raymond Hupperts Jan Damoiseaux (2011). Effects of vitamin D on the peripheral adaptive immune system: a review. *Autoimmun. Rev.* 10, 733–743.

Penna, G.; Amuchastegui, S.; Cossetti, C.; Aquilano, F.; Mariani, R.; Sanvito, F.; Doglioni, C.; Adorini, L. Diabetic mice by the vitamin D receptor agonist elocalcitol 1. *J. Immunol.* 2006, 177, 8504–8511.

Penna, G.; Amuchastegui, S.; Giarratana, N.; Daniel, K.C.; Vulcano, M.; Sozzani, S.; Adorini, L. 1,25-Dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> selectively modulates tolerogenic properties in myeloid but not plasmacytoid dendritic cells. *J. Immunol.* 2007, 178, 145–153.

Pierrot-Deseilligny C. Clinical implications of a possible role of vitamin D in multiple sclerosis. *J Neurol.* 2009 September; 256(9): 1468–1479.

Poskanzer DC, Walker AM, Yonkondy J, Sheridan JL. Studies in the epidemiology of multiple sclerosis in the Orkney and Shetland Islands. *Neurology* 1976;26:14–17.

Poussier P., Ning T., Banerjee D. and Julius M.(2002).A unique subset of self-specific intra-intestinal T cells maintains gut integrity. *J. Exp. Med.* 195, 1491–1497.

Priehl B, Treiber G, Pieber TR, Amrein K. Vitamin D and immune function. *Nutrients*. 2013 Jul 5;5(7):2502-21.

Provvedini, D. M., Tsoukas, C. D., Deftos, L. J., and Manolagas, S. C. (1983). 1,25-Dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> receptors in human leukocytes. *Science* 221, 1181–1183. doi:10.1126/science.6310748

Rickinson AB, Kieff E. Epstein-Barr virus. In: Fields BN, Knipe DM, Howley PM, eds. *Fields virology*. 3rd ed. Philadelphia: Lippincott-Raven Publishers, 1996:2397–2446.

Roebke C, Wahl S, Laufer G, Stadelmann C, Sauter M, et al. (2010) An N-terminally truncated envelope protein encoded by a human endogenous retrovirus W locus on chromosome Xq22.3. *Retrovirology* 7: 69.

Rossouw JE, Anderson GL, Prentice RL, LaCroix AZ, Kooperberg C, Stefanick ML, Jackson RD, Beresford SA, Howard BV, Johnson KC, Kotchen JM, Ockene J (2002) Risks and benefits of estrogen plus progestin in healthy postmenopausal women: principal results from the Women's health initiative randomized controlled trial. *JAMA* 288:321–333

Rovaris M, Confavreux C, Furlan R, Kappos L, Comi G, Filippi M (April 2006). "Secondary progressive multiple sclerosis: current knowledge and future challenges". *Lancet Neurol* 5 (4): 343–54.

Rovaris M, Confavreux C, Furlan R, Kappos L, Comi G, Filippi M (April 2006). "Secondary progressive multiple sclerosis: current knowledge and future challenges". *Lancet Neurol* 5 (4): 343–54

Shaygannejad V, Tolou-Ghamari Z. What is the Real Fate of Vitamin D in Multiple Sclerosis? *Int J Prev Med*. 2013 May;4(Suppl 2):S159-64.

Shaygannejad, V., Janghorbani, M., Ashtari, F. and Dehghan, H. (2012) Effect of adjunct low-dose vitamin D on relapsing remitting multiple sclerosis progression: preliminary findings of a randomized placebo-controlled study. *Mult Scler Int* 2012: 452541.

Shinki T, Ueno Y, DeLuca HF, Suda T (1999) Calcitonin is a major regulator for the expression of renal 25-hydroxyvitamin D<sub>3</sub>-1 $\alpha$ -hydroxylase gene in normocalcemic rats. *Proc Natl Acad Sci USA* 96:8253–8258

Singh P.K., Doig C.L., Dhiman V. K., Turner B.M., Smiraglia D.J., and Campbell,M.J.(2012). Epigenetic distortion toVDR transcriptional regulation in prostate cancer cells. *J. Steroid Biochem Mol Biol*.

Sitki-Green D, Covington M, Raab-Traub N. Compartmentalization and transmission of multiple Epstein-Barr virus strains in asymptomatic carriers. *J Virol* 2003;77:1840 –1847.

Sloka JS, Pryse-Phillips WE, Stefanelli M (2008) The relation of ultraviolet radiation and multiple sclerosis in Newfoundland. *Can J Neurol Sci* 35:69–74

Smolders J, Moen SM, Damoiseaux J, Huitinga I, Holmøy T. Vitamin D in the healthy and inflamed central nervous system: access and function. *J Neurol Sci*. 2011 Dec 15;311(1-2):37-43.

Smolders, J., Hupperts, R., Barkhof, R., Grimaldi, L., Holmoy, T., Killestein, J. et al. (2011a) Efficacy of vitamin D(3) as add-on therapy in patients with relapsing-remitting multiple sclerosis receiving subcutaneous interferon beta 1-a: a phase II, multicenter, double-blind, randomized, placebo-controlled trial. *J Neurol Sci* 311:

Smolders, J., Peelen, E., Thewissen, M., Cohen Tervaet, J., Menheere, P., Hupperts, R. et al. (2010b) Safety and T cell modulating effects of high dose vitamin D<sub>3</sub> supplementation in multiple sclerosis. *PLoS One* 5(12): e15235.

Smolders, J., Thewissen, M., Peelen, E., Menheere, P., Tervaert, J., Damoiseaux, J. et al. (2009) Vitamin D status is positively correlated with regulatory T cell function in patients with multiple sclerosis. *PLoS One* 4: e6635.

Soilu-Hänninen, M., Aivo, J., Lindström, B., Elovaara, I., Sumelhati, M., Färkkilä, M. et al. (2012) A randomised, double blind, placebo controlled trial with vitamin D<sub>3</sub> as an add-on

treatment to interferon  $\beta$ -1b in patients with multiple sclerosis. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 83: 565–571.

Soldan SS, Berti R, Salem N, et al. Association of human herpes virus 6 (HHV-6) with multiple sclerosis: increased IgM response to HHV-6 early antigen and detection of serum HHV-6 DNA. *Nat Med* 1997;3:1394–1397.

Soldan SS, Jacobson S. Role of viruses in etiology and pathogenesis of multiple sclerosis. *Adv Virus Res* 2001;56:517–555.

Sombekke MH, Vellinga MM, Uitdehaag BM, Barkhof F, Polman CH, Arteta D, Tejedor D, Martinez A, Crusius JB, Peña AS, Geurts JJ, Vrenken H. Genetic correlations of brain lesion distribution in multiple sclerosis: an exploratory study. *AJNR Am J Neuroradiol.* 2011 Apr;32(4):695-703.

Stein, M., Liu, Y., Gray, O., Baker, J., Kolbe, S., Ditchfield, M. et al. (2011) A randomized trial of high-dose vitamin D2 in relapsing-remitting multiple sclerosis. *Neurology* 77: 1611–1618.

Sugano N, Chen W, Roberts ML, Cooper NR (1997) Epstein-Barr virus binding to CD21 activates the initial viral promoter via NF-kappaB induction. *J Exp Med* 186:731–737.

Sundström P, Juto P, Wadell G, et al. An altered immune response to Epstein-Barr virus in multiple sclerosis: a prospective study. *Neurology* 2004;62:2277–2282.

Sutkowski N, Conrad B, Thorley-Lawson DA, Huber BT (2001) Epstein-Barr virus transactivates the human endogenous retrovirus HERV-K18 that encodes a superantigen. *Immunity* 15: 579–589.

Svejgaard A. The immunogenetics of multiple sclerosis. *Immunogenetics.* 2008 Jun;60(6):275-86. doi: 10.1007/s00251-008-0295-1. Epub 2008 May 7.

Thorogood M, Hannaford PC. The influence of oral contraceptives on the risk of multiple sclerosis. *Br J Obstet Gynaecol* 1998;105:1296–1299.

Tint GS, Irons M, Elias ER, Batta AK, Frieden R, Chen TS, Salen G (1994) Defective cholesterol biosynthesis associated with the Smith-Lemli-Opitz syndrome. *N Engl J Med* 330:107–113

Tintore M, Rovira A, Rio J, et al. Do oligoclonal bands add information to MRI in first attacks of multiple sclerosis? *Neurology* 2008; 70: 1079–83.

Tsang, BK; Macdonell, R (December 2011). Multiple sclerosis- diagnosis, management and prognosis. *Australian family physician* 40 (12):

Tsang BK; Macdonell R (December 2011). Multiple sclerosis- diagnosis, management and prognosis. *Australian family physician* 40 (12): 948–55

Urry Z, Chambers ES, Xystrakis E, Dimeloe S, Richards DF, Gabryšová L, Christensen J, Gupta A, Saglani S, Bush A, O'Garra A, Brown Z, Hawrylowicz CM. The role of 1 $\alpha$ ,25-dihydroxyvitamin D3 and cytokines in the promotion of distinct Foxp3<sup>+</sup> and IL-10<sup>+</sup> CD4<sup>+</sup> T cells. *Eur J Immunol.* 2012 Oct;42(10):2697-708.

Van Belle, T.L.; Gysemans, C.; Mathieu, C. Vitamin D in autoimmune, infectious and allergic diseases: A vital player? *Best Pract. Res. Clin. Endocrinol. Metab.* 2011, 25, 617–632.

Van der Mei IAF, Ponsonby AL, Dwyer T, Blizzard L, Simmons R, Taylor BV et al (2003) Past exposure to sun, skin phenotype, and risk of multiple sclerosis: case–control study. *BMJ* 327:1–6.

Van der Mei, I., Dore, D., Winzenberg, T., Blizzard, L. and Jones, G. (2012a) Vitamin D deficiency in Tasmania: a whole life perspective. *Intern Med J* 42: 1137–1144.

Van Etten E, Branisteanu DD, Overberg L, Bouillon R, Verstuyf A, Mathieu C et al (2003) Combination of a 1,25-dihydroxyvitamin D3 analog and a bisphosphonate prevents experimentalb autoimmune encephalomyelitis and preserves bone. *Bone* 32:397–404.

Van Etten E, Gysemans C, Branisteanu DD, Verstuyf A, Bouillon R, Overbergh L, Mathieu C (2007) Novel insights in the immune function of the vitamin D system: synergism with interferon-beta. *J Steroid Biochem Mol Biol* 103:546–551.



- Veldman, C.M.; Cantorna, M.T.; DeLuca, H.F. Expression of 1,25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> receptor in the immune system. *Arch. Biochem. Biophys.* 2000, 374, 334–338.
- Vieth R (1999) Vitamin D supplementation, 25-hydroxyvitamin D concentrations, and safety. *Am J Clin Nutr* 69:842–849
- Vieth R (2007) Vitamin D toxicity, policy, and science. *J Bone Miner Res* 22(Suppl 2):V64–V68.
- Villard-Mackintosh L, Vessey MP. Oral contraceptives and reproductive factors in multiple sclerosis incidence. *Contraception* 1993;47:161–168.
- Von Essen M.R., Kongsbak M., Schjerling P., Olgaard K., Odum N, and Geisler,C.(2010).VitaminD controls T cell antigen receptor signaling and activation of human T cells. *Nat.Immunol.* 11, 344–349. doi:10.1038/ni.1851
- Wang L, Whitlatch LW, Flanagan JN, Holick MF, Chen TC (2003) Vitamin D autocrine system and prostate cancer. *Recent Results Cancer Res* 164:223–237
- Wang, T., Tavera-Mendoza, L., Laperriere, D., Libby, E., MacLeod, N. and Nagai, Y. (2005) Large-scale in silico and microarray-based identification of direct 1,25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> target genes. *Mol Endocrinol* 19: 2685–2695.
- Wang, T.; Nestel, F.P.; Bourdeau, V.; Nagai, Y.; Wang, Q.; Liao, J.; Lin, R.; Hanrahan, J.H.; White, J.H. Cutting edge: 1,25-Dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> is a direct inducer of antimicrobial peptide gene expression. *J. Immunol.* 2004, 173, 2909–2912.
- Waterham HR, Wanders RJ (2000) Biochemical and genetic aspects of 7-dehydrocholesterol reductase and Smith-Lemli-Opitz syndrome. *Biochim Biophys Acta* 1529:340–356
- Wesley Pike, Ph.D. and Mark B. Meyer, Ph.D. The Vitamin D Receptor: New Paradigms for the Regulation of Gene Expression by 1,25-Dihydroxyvitamin D<sub>3</sub>. *Endocrinol Metab Clin North Am.* 2010 June; 39(2): 255–269.
- White, A.N.J.; Ng, V.; Spain, C.V.; Johnson, C.C.; Kinlin, L.M.; Fisman, D.N. Let the sun shine in: Effects of ultraviolet radiation on invasive pneumococcal disease risk in Philadelphia, Pennsylvania. *BMC Infect. Dis.* 2009, 9, 196.

White, J.H. Vitamin D metabolism and signaling in the immune system. *Rev. Endocr. Metab. Disord.* 2012, 13, 21–29.

Young J, Quinn S, Hurrell M, Taylor B. Clinically isolated acute transverse myelitis: prognostic features and incidence. *Mult Scler* 2009; 15: 1295–302.

Yu, S. and Cantorna, M.T. (2008). The vitamin D receptor is required for iNKT cell development. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 105, 5207–5212.

Yu, S. Bruce D., Froicu M., Weaver, V. and Cantorna M.T. (2008). Failure of T cell homing reduced CD4/CD8 alpha alpha intraepithelial lymphocytes, and inflammation in the gut of vitamin D receptor KO mice. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 105, 20834–20839.

Zehnder D, Bland R, Williams MC, McNinch RW, Howie AJ, Stewart PM, Hewison M (2001) Extrarenal expression of 25-hydroxyvitamin D<sub>3</sub>-1 alpha-hydroxylase. *J Clin Endocrinol Metab* 86:888–894

## **9. Životopis**

Rođena sam 26.01.1990. g. u Sinju gdje sam pohađala Osnovnu školu Ivana Lovrića. Nakon osnovne škole upisala sam Gimnaziju Dinka Šimunovića, opći smjer. Poslije srednje škole upisala sam Medicinski fakultet u Zagrebu 2008. g. Tijekom osnovne i srednje škole bila sam član Mladeži Crvenog Križa i sudjelovala sam na brojnim natjecanjima u pružanju prve pomoći. Aktivno se služim engleskim jezikom, a tokom srednje škole učila sam njemački. Trenutno pohađam školu stranih jezika gdje učim talijanski jezik.