

Vybrané biologické a biochemické markery sclerosis multiplex

MUDr. Jozef Michalik¹, MUDr. Daniel Čierny², prof. RNDr. Ján Lehotský, DrSc.², prof. MUDr. Egon Kurča, PhD.¹

¹Neurologická klinika Jesseniovej LF UK a Univerzitnej nemocnice Martin

²Ústav lekárskej biochémie Jesseniovej LF UK, Martin

Práca podáva stručný literárny prehľad vybraných biologických markerov (genetické markery, protilátky proti jadrovému antigénu-1 vírusu Epsteinovej-Barrovej, hladiny vitamínu D) a ich potenciálne využitie v diagnostike, stanovení aktivity ochorenia, predpovedaní klinického priebehu a odpovede na terapeutickú intervenciu.

Kľúčové slová: sclerosis multiplex, demyelinizácia, genetika, vitamín D, protilátky proti vírusu Epsteinovej-Barrovej, apolipoproteín E.

Some biological and biochemical markers of multiple sclerosis

This paper discusses the potential applicability of some biological markers (genetic markers, Epstein-Barr virus nuclear antigen 1 antibody, vitamin D) for the diagnosis, disease activity, prediction of clinical courses and response to disease modifying therapies.

Key words: multiple sclerosis, demyelination, genetics, vitamin D, Epstein-Barr virus antibody, apolipoprotein E.

Neurol. praxi 2014; 15(2): 68–70

Zoznam skratiek

APOE – apolipoprotein E

CIS – klinicky izolovaný syndróm

EBNA-1 – EBV nuclear antigen 1, jadrový antigén-1 vírusu Epsteinovej-Barrovej

EBV – vírus Epsteinovej-Barrovej

IFN- β – interferón beta

IL-2RA – Interleukín-2 receptor alpha chain, alfa reťazec receptora pre interleukín 2

IL-7RA – Interleukín-2 receptor alpha chain, alfa reťazec receptora pre interleukín 7

OR – odds ratio, pomer šancí

SM – sclerosis multiplex

SNPs – single-nucleotide polymorphisms, jednonukleotidové polymorfizmy

Úvod

Predispozícia na vznik sclerosis multiplex (SM) je daná kombináciou genetických, epigenetických a environmentálnych faktorov. SM je výrazne heterogénne ochorenie z pohľadu patofyziologických mechanizmov, klinických prejavov, prognózy ochorenia a odpovede na liečbu. Vzhľadom na túto heterogenitu má praktický význam selektovať a klasifikovať jednotlivých pacientov podľa dominujúcich patofyziologických mechanizmov, predpovedať relatívne ťažší, prognosticky nepriaznivý vývoj ochorenia a odhadnúť klinickú odpoveď na terapeutickú intervenciu už vo včasnom štádiu liečby.

Biomarkery sú znaky a vlastnosti, ktoré sa dajú objektívne vyšetriť, odmerať a použiť ako indikátory normálnych biologických procesov, patogenetických procesov alebo farmakolo-

gických odpovedí na terapeutické intervencie (Lesko et al., 2001). Z klinického hľadiska je možné ich rozdeliť na biomarkery diagnostické, biomarkery fenotypovej expzie, prognostické biomarkery, biomarkery aktivity ochorenia a terapeutických odpovedí. Z patofyziologického hľadiska sa rozdeľujú na biomarkery odzrkadľujúce alteráciu imunitného systému (cytokíny, chemokíny a ich receptory, rôzne typy protilátok – oligoklonálna skladba IgG a IgM), biomarkery narušenej hematoencefalickej bariéry (adhézne molekuly), demyelinizácie (myelinový bázický proteín – MBP), biomarkery oxidačného stresu a excitotoxicity (molekuly oxidu dusnatého – NO), axonálneho a neuronálneho poškodenia (tau proteín, neurónová špecifická enoláza, 14–3–3 proteín, apolipoproteín E), gliózy a remyelinizácie, reparačných pochodov (BDNF – brain derived neurotrophic factor, neurotrofický faktor odvodený od mozgu, S100b proteín, GFAP – gliálny fibrilárny kyslý proteín). Doteraz bolo a je študovaných niekoľko desiatok až stoviek biologických markerov a ich vzťah k roztrúsenej skleróze (Bieleková et al., 2004).

Genetické markery modifikujúce riziko vzniku ochorenia

Polymorfizmus HLA génov a riziko vývoja

SM. Asociačné štúdie založené na sérologickej typizácii a neskôr celogenómové asociačné štúdie viedli k identifikácii viacerých génov so vzťahom k SM. Sú to hlavne variácie polymorfických génov HLA komplexu (HLA – human leucocyte antigens), ktorý sa nachádza na krátkom

ramene 6. chromozómu. Asi 40 % exprimovaných génov tejto oblasti zasahuje do regulácie imunitných mechanizmov. Asociácia medzi HLA-DR15 haplotypom (alela DRB1*1501 a alely, s ktorými je vo väzbovej nerovnováhe DQA1*0102 a DQB1*0602) a SM bola zistená vo viacerých európskych a mimoeurópskych populáciách pacientov s SM. Najviac riziková pre vznik SM je alela HLA-DRB1*1501 (Barcellos et al., 2006), ktorá takmer vo všetkých sledovaných populáciách najvýraznejšie prispieva ku genetickému riziku vývoja SM (OR 3,2). Riziko rozvoja ochorenia zvyšuje aj súčasná prítomnosť alely DRB1*03:01 a DQB1*02:01. Platí to hlavne pre severoeurópsku populáciu. V iných etnických skupinách a populáciách sa môžu rizikové alely alebo haplotypy HLA génov líšiť a nemusia obsahovať HLA-DR15 alelu. Napríklad v populácii na Sardínii je SM asociovaná s HLA-DR3 a HLA-DR4 alelami (Marrosu et al., 1998). Prítomnosť niektorých alel pôsobí na vznik SM protektívne, napr. HLA-DRB1*01 alebo HLA-A*02. Haplotyp I. triedy HLA-A*02-C*05-B*12 úplne ruší riziko podmienené prítomnosťou rizikovej alely DRB1*15 (Link et al., 2012).

Polymorfizmus non-HLA génov a riziko vývoja SM

Celogenómové štúdie odhalili viacero variácií génov, ktoré sa nachádzajú mimo HLA regiónu a ktoré len relatívne malou mierou zvyšujú riziko vzniku ochorenia (OR 1,1 – 1,3). Patria sem jednonukleotidové polymorfizmy (SNPs) génov IL2RA a IL7RA (gény kódujúce receptory pre interleukín 2 a 7), iných génových lokusov, ako EVI5, CD58, KIAA0350 a RPL5 (D'Netto et

al., 2009). Doteraz bolo mimo HLA oblasti potvrdených viac ako 50 génov asociovaných so vznikom SM spolu s ďalšími 350 kandidátskymi rizikovými génmi (Wang et al., 2011), ktorých význam bude musieť byť overený ďalšími štúdiami. Tieto nálezy potvrdzujú, že na modifikácii rizika vzniku SM sa podieľajú komplexné funkčné interakcie HLA génov I. a II. triedy a variácie viacerých non-HLA génov.

Genetické markery modifikujúce priebeh ochorenia

DeLuca et al. pozorovali asociáciu medzi relatívne benígnym priebehom SM a prítomnosťou HLA-DRB1*01. Alela bola prítomná u 19% zo 112 pacientov s miernym priebehom ochorenia v porovnaní s 3,9% z 51 pacientov s ťažkým priebehom. Je možné považovať ju za **marker modifikujúci priebeh ochorenia** (DeLuca et al., 2007).

Apolipoprotein E (APOE) je proteín, ktorý reguluje lipidovú homeostázu a moduluje viaceré imunitné procesy. Niektoré práce poukazujú na súvislosť medzi prítomnosťou alely epsilon4 APOE génu a závažnejším priebehom SM, rýchlejšou progresiou zneschopnenia a výraznejším mentálnym postihnutím pacientov s SM (Chapman et al., 2001). Nie všetky práce však túto skutočnosť potvrdzujú. Graffar et al. nenašli rozdiely v kognitívnych funkciách u pacientov s SM, ktorí boli nosičmi alely epsilon4 (Graffar et al., 2010). Na jednoznačné potvrdenie alebo vylúčenie vplyvu alelických variácií APOE génu na modifikáciu priebehu SM sú potrebné ďalšie klinicko-laboratórne štúdie.

Genetické markery odpovede na liečbu

Prítomnosť alel HLA-DRB1*0401, 0408 a 1601 koreluje s vývojom neutralizačných protilátok proti interferónu beta, čo má za následok slabý terapeutický efekt liečby (Buck et al., 2011). Comabella et al. identifikovali 18 SNPs rôznych génov, ktoré pravdepodobne majú vplyv na klinickú odpoveď na liečbu interferónom beta (Comabella, et al., 2009). Tieto nálezy poukazujú na skutočnosť, že odpoveď organizmu na interferón beta je polygénovo podmienená, dôkaz prítomnosti niektorých HLA alel ako aj polymorfizmov viacerých génov by bolo možné využiť ako markery odpovede na liečbu interferónom beta.

Epsteinovej-Barrovej vírus

V posledných rokoch sa extenzívne študuje úloha EBV v etiopatogenéze SM. Rozsiahla metaanalýza (Santiago et al., 2010) ukázala, že viac ako 95 % všetkých pacientov so SM má sérologické

dôkazy prekonanej EBV infekcie v porovnaní s 87 % jedincov v kontrolných skupinách. Tento rozdiel v séropozitivite je ešte viac vyjadrený u pediatrických pacientov s SM, u ktorých je séroprevencia 83 % v porovnaní s 42 % u zdravých kontrol (Alotaibi, 2004). Obdobie od interakcie organizmu s EBV po vznik ochorenia môže byť až niekoľko desiatok rokov. Za toto obdobie môže u niektorých osôb poklesnúť hladina protilátok pod detekovateľnú úroveň. Je preto možné, že v skutočnosti všetci pacienti s SM boli v minulosti infikovaní vírusom EBV a táto infekcia bola niektorými autormi postulovaná ako nevyhnutná podmienka pre vznik ochorenia (Pohl et al., 2006). Séronegativita protilátok proti EBNA-1 (EBV nuclear antigen 1 – jadrový antigén-1 vírusu Epsteinovej-Barrovej) výrazne spochybňuje diagnózu SM predovšetkým pri stavoch, ktoré nie sú klinicky jednoznačné. Riziko vzniku SM koreluje s titrom protilátok proti EBV. Už u pacientov s CIS sú zvýšené EBNA-1 špecifické IgG hladiny, môžu byť preto považované za **prognostický marker konverzie ochorenia** a progresie zneschopnenia (Lünemann et al., 2010). Pacienti s SM majú vo všeobecnosti vyššie titre protilátok proti EBNA-1 než zdraví jedinci.

Vitamín D

Vitamín D3 – **cholecalciferol** sa tvorí v koži pôsobením slnečného žiarenia (ultrafialová zložka s vlnovou dĺžkou 290 – 315 nm) z provitamínu 7-dehydrocholesterolu. Tvorí asi 95 % celkového vitamínu D v tele. Ďalších asi 5 % sa dostane do tela vo forme vitamínu D2 – **ergocalciferolu** konzumáciou potravy bohatej na ryby, rybí tuk a niektoré výživové doplnky. Tieto biologicky inaktívne formy vitamínu D sú transportované do pečene a následne sú hydroxylované v polohe 25 mikrozómovým enzýmom – vitamín D 25-hydroxyláza, ktorý je kódovaný génom **CYP2R1**. Vzniká intermediárny neaktívny produkt 25-hydroxyvitamín D, ktorého hlavnou zložkou je 25-hydroxy-cholecalciferol, 25 (OH) D3 – **kalcidiol**. Tento hlavný cirkulujúci metabolit je následne v obličkách a periférnych tkanivách hydroxylovaný v polohe 1 pomocou enzýmu 25-hydroxyvitamín D-1 α -hydroxyláza, ktorý je kódovaný génom **CYP27B1**. Vzniká aktívna forma vitamínu D-1, 25-dihydroxycholecalciferol, 1,25 (OH) 2D3 – **kalcitriol**. Tento metabolit je rozpoznávaný tkanivami obsahujúcimi špecifické **receptory pre vitamín D (VDR)**, ktoré sú prítomné v mnohých častiach tela, napríklad v koži, kostiach, svaloch, gonádach, črevách, CNS a v aktivovaných T a B lymfocytoch. Kalcitriol redukuje expresiu prozápalových cytokínov aso-

ciových s Th1 a Th17 bunkami – interleukín 2 (IL-2), faktor nekrotizujúci nádory – alfa (tumor necrosis factor, TNF- α), interferón gama (IFN γ) a interleukín 17 (IL-17). Stimuluje produkciu protizápalových Th2 a Treg cytokínov, interleukínu 4 a 10 (IL-4, IL-10) a transformačného rastového faktora beta (transforming growth factor – TGF-beta). V sére sa zvyčajne meria hladina 25-hydroxyvitamínu D, ktorý má polčas niekoľko týždňov. Reprezentuje celkový stav vitamínu D v organizme. Medzinárodne akceptované normálne sérové hladiny sú medzi 75 a 200 nmol/l, insuficientná hladina je pod 75 nmol/l a výrazne deficitná hladina pod 25 nmol/l (Bischoff-Ferrari et al., 2006).

Viaceré experimentálne a epidemiologické štúdie potvrdzujú vzťah medzi zemepisnou šírkou, mesiacom narodenia, expozíciou slnečnému žiareniu, hladinou vitamínu D v organizme a rizikom vzniku SM, ako aj progresiou ochorenia. Munger et al. sledovali v longitudinálnej prospektívnej štúdii hladiny vitamínu D vo vzorkách sér viac ako 7 miliónov amerických vojakov. Zistili, že riziko vývoja SM sa signifikantne znižuje v bielej populácii so stúpajúcou hladinou 25-hydroxyvitamínu D pred 20. rokom života (Munger et al., 2006). U pacientov s relaps-remitujúcou formou SM našli Correale et al. signifikantne nižšie hladiny 25-hydroxyvitamínu D a 1,25-dihydroxyvitamínu D ako u kontrol. Hladiny boli výrazne nižšie počas relapsov ako počas remisie (Correale et al., 2009). Zaujímavé interakcie IFN- β a sérových hladín 25-hydroxyvitamínu D v modulácii rizika relapsu SM pozorovali Stewart et al (Stewart et al., 2012). Osoby liečené IFN- β mali vyššie priemerné hladiny 25-hydroxyvitamínu D. Hladina 25-hydroxyvitamínu D bola vo vzťahu k redukcii rizika vzniku SM u osôb liečených IFN- β . Naopak, protektívny efekt IFN- β na redukcii relapsov bol pozorovaný u osôb s vyššími hladinami 25-hydroxyvitamínu D, zatiaľ čo u osôb s insuficientnými hladinami 25-hydroxyvitamínu D interferón beta zvyšoval riziko relapsu ochorenia. Časť terapeutického efektu IFN- β na relapsy SM môže byť preto podmienená moduláciou metabolizmu vitamínu D. Autori odporúčajú u osôb liečených IFN- β monitorovanie hladiny vitamínu D a jej udržiavanie v normálnych hodnotách.

Mnohé práce dokumentujú spojitosť medzi variáciami viacerých génov ovplyvňujúcimi metabolizmus vitamínu D a SM. Alela A polymorfizmu rs10741657 **CYP2R1 génu** je spojená s vyššou plazmatickou hladinou vitamínu D a znižuje riziko vývoja SM u HLA-DRB1*15 negatívnych jedincov. Pozitívny efekt vitamínu D na znížení rizika SM

je pravdepodobne oslabovaný antigénom HLA-DRB1*15 (Simon et al., 2011). Vzťah viacerých génových polymorfizmov génu **CYP27B1** (rs4646536, rs10877012 a rs10877015) s SM bol potvrdený vo švédskych populácii (Sundqvist et al., 2010).

Aj variácie **génu pre receptor vitamínu D (VDR)** majú vplyv na vznik SM. Fukazawa et al. ako prví potvrdili súvislosť polymorfizmu rs1544410 (BsmI) VDR génu s SM (Fukazawa et al., 1999). Protektívny efekt vitamínu D na vznik SM je zreteľný iba u jedincov s recesívnym genotypom ff (FokI) polymorfizmu tohto génu. U týchto osôb dávka vitamínu D vyššia ako 400 IU/deň výrazne redukuje riziko vzniku SM (Simon et al., 2010). Niektoré variácie VDR génu predstavujú tiež zvýšené riziko rýchlejšej progresie ochorenia, napríklad v austrálskej populácii je rizikový polymorfizmus **rs731236 (TaqI)** (Tajouri et al., 2005). Vitamín D3 pôsobí ako imunoregulačná molekula na vrodenu ako aj získanu imunitu. Nízke hladiny vitamínu D3 sú asociované s imunitnou dysfunkciou. Plazmatická hladina vitamínu D je ovplyvnená stupňom celkového absorbovaného UV žiarenia, jeho exogénnym prísunom ako aj geneticky. Na komplexné posúdenie vplyvu metabolizmu vitamínu D na vznik a vývoj SM okrem stanovenia sérových hladín vitamínu D by malo byť aj vyššetrovanie vybraných genetických markerov. Hodnoty vitamínu D vo fyziologickom referenčnom rozmedzí nemusia byť automaticky sprevádzané jeho adekvátnou funkciou.

Vzhľadom na klinickú a patofyziologickú heterogenitu ochorenia nebol doteraz zistený žiadny univerzálny biomarker s vysokou špecifitou a senzitivitou pre diagnózu a prognózu ochorenia. Každý biomarker odzrkadľuje len malú časť patofyziologického procesu SM. Aj keď sa potvrdí v klinických štúdiách jeho štatistická významnosť a korelácia s ochorením, jeho prediktívna diagnostická a prognostická hodnota je nízka. Izolovaný biomarker zvyšuje riziko vzniku ochorenia len pomerne málo. Niektoré rizikové biomarkery (hlavne genetické) sú zasa špecifické len pre určité populácie, v iných nemusia byť významné alebo môžu mať dokonca protektívny vplyv. Z tohto dôvodu bude mať významnejšie klinické uplatnenie až vyššetrovanie celej množiny biologických markerov, ktoré budú postihovať viaceré úrovne patofyziologického procesu. Celá táto problematika je predmetom záujmu početných výskumných projektov.

Okrem hodnotenia a longitudinálneho sledovania klinického obrazu považujeme v súčasnosti za potrebné v manažmente SM využitie viacerých biologických markerov. Jeho štandardnou súčasťou musí byť longitudinálny monito-

ring magnetickou rezonanciou (celkový počet a objem T2 lézií, T1 black holes, T1 postkontrastný enhancement, atrofia mozgového tkaniva) a sledovanie vybraných biochemických markerov. Na našom pracovisku aktuálne štandardne sledujeme v skupine pacientov so SM biochemické markery: oligoklonálne IgG pásy v sére, likvore, IgG index, intratekálnu syntézu IgG podľa Reibera, hladinu 25-hydroxyvitamínu D (dvakrát ročne), protilátky proti EBNA-1. V rámci vedeckého projektu sledujeme genetické markery: alely APOE génu, HLA alely II. triedy – HLA-DRB1, HLA-DQB1 a SNPs vybraných génov – polymorfizmy génu pre receptor vitamínu D (BsmI, Apal, TaqI, FokI), génov pre IL-2RA a L-7RA. So zverejnením komplexných vlastných výsledkov počítame v horizonte 1–2 rokov.

Záver

Práca podáva stručný literárny prehľad vybraných biologických markerov SM. Poukazuje na niektoré laboratórno-klinické korelácie a možnosť potenciálneho využitia uvedených markerov ako markerov diagnostických, prognostických a markerov odpovede na liečebné intervencie.

Literatúra

1. Alotaibi S. Epstein-Barr virus in pediatric multiple sclerosis. *J Am Med Assoc.* 2004; 1875–1879.
2. Barcellos LF, Sawcer S, Ramsay PP, Baranzini SE, Thomson G, Briggs F, Cree BC, Begovich AB, Villoslada P, Montalban X, Uccelli A, Savettieri G, Lincoln RR, DeLoa C, Haines JL, Pericak-Vance MA, Compston A, Hauser SL, Oksenberg JR. Heterogeneity at the HLA-DRB1 locus and risk for multiple sclerosis. *Hum Mol Genet.* 2006; 15: 2813–2824.
3. Bieleková B, Martin R. Development of biomarkers in multiple sclerosis. *Brain.* 2004; 127(7): 1463–1478.
4. Bischoff-Ferrari HA, Giovannucci E, Willett WC, Dietrich T, Dawson-Hughes B. Estimation of optimal serum concentrations of 25-hydroxyvitamin D for multiple health outcomes. *Am J Clin Nutr.* 2006; 84(1): 18–28.
5. Buck D, Cepok S, Hoffmann S, Jochim A, Berthele A, Hartung HP, Wassmuth R, Hemmer B. Influence of the HLA-DRB1 genotype on antibody development to interferon beta in multiple sclerosis. *Arch Neurol.* 2011; 68(4): 480–487.
6. Comabella M, Craig DW, Morcillo-Suarez C, Rio J, Navarro A, Fernandez M, Martin R, Montalban X. Genome-wide scan of 500,000 single-nucleotide polymorphisms among responders and nonresponders to interferon beta therapy in multiple sclerosis. *Arch Neurol.* 2009; 66:72–978.
7. Correale J, Ysraelit MC, Gaitán MI. Immunomodulatory effects of Vitamin D in multiple sclerosis. *Brain.* 2009; 132(5): 1146–1160.
8. D'Netto MJ, Ward H, Morrison KM, Ramagopalan SV, Dymant DA, DeLuca GC, Handunnetthi L, Sadovnick AD, Ebers GC. Risk alleles for multiple sclerosis in multiplex families. *Neurology.* 2009; 72(23): 1984–1988.
9. DeLuca GC, Ramagopalan SV, Herrera BM, Dymant DA, Lincoln MR, Montpetit A, Pugliatti M, Barnardo MCN, Risch NJ, Sadovnick AD, Chao M, Sotgiu S, Hudson TJ, Ebers GC. An extremes of outcome strategy provides evidence that multiple sclerosis severity is determined by alleles at the HLA-DRB1 locus. *Proc Nat Acad Sci.* 2007; 104: 20896–20901.
10. Fukazawa T, Yabe I, Kikuchi S, Sasaki H, Hamada T, Miysaka K, Tashiro K. Association of vitamin D receptor gene polymorphism with multiple sclerosis in Japanese. *J Neurol Sci.* 1999; 166(1): 47–52.

11. Ghaffar O, Reis M, Pennell N, O'Connor P, Feinstein A. APOE epsilon-4 and the cognitive genetics of multiple sclerosis. *Neurology.* 2010; 74: 1611–1618.
12. Chapman J, Vinokurov S, Achiron A, Karussis DM, Mitosek-Szewczyk K, Birnbaum M, Michaelson DM, Korczyn AD. APOE genotype is a major predictor of long-term progression of disability in MS. *Neurology.* 2001; 56(3): 312–316.
13. Lesko LJ, Atkinson AJ. Use of biomarkers and surrogate endpoints in drug development and regulatory decision making: criteria, validation, strategies. *Annu Rev Pharmacol Toxicol.* 2001; 41: 347–366.
14. Link J, Kockum I, Lorentzen AR, Lie BA, Celius EG, Westerlind H, Schaffer M, Alfredson L, Olsson T, Brynedal B, Harbo HF, Hillert J. Importance of human leukocyte antigen (HLA) class I and II alleles on the risk of multiple sclerosis. *PLoS ONE.* 2012; 7(5): e36779.
15. Lünemann JD, Tintoré M, Messner B, Strowig T, Rovira A, Perkal H, Caballero E, Münz C, Montalban X, Comabella M. Elevated Epstein-Barr virus-encoded nuclear antigen-1 immune responses predict conversion to multiple sclerosis. *Ann Neurol.* 2010; 67(2): 159–169.
16. Marrosu MG, Murru MR, Costa G, Murru R, Muntoni F, Cucca F. DRB1-DQA1-DQB1 loci and multiple sclerosis predisposition in the Sardinian population. *Hum Mol Genet.* 1998; 7: 1235–1237.
17. Munger KL, Levin LI, Hollis BW, Howard NS, Ascherio A. Serum 25-hydroxyvitamin D levels and risk of multiple sclerosis. *JAMA.* 2006; 296(23): 2832–2838.
18. Pohl D, Krone B, Rostasy K, Hahler E, Brunner E, Lehnert M, Wagner HJ, Gartner J, Hanefeld F. High seroprevalence of Epstein-Barr virus in children with multiple sclerosis. *Neurology.* 2006; 67(11): 2063–2065.
19. Santiago O, Gutierrez J, Sorlozano A, de Dios Luna E, Villegas E, Fernandez O. Relation between Epstein-Barr virus and multiple sclerosis: analytic study of scientific production. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2010; 29(7): 857–866.
20. Simon KC, Munger KL, Yang X, Ascherio A. Polymorphisms in vitamin D metabolism related genes and risk of multiple sclerosis. *Multiple Sclerosis.* 2010; 16(2): 133–138.
21. Simon KC, Munger KL, Kraft P, Hunter DJ, De Jager PL, Ascherio A. Genetic predictors of 25-hydroxyvitamin D levels and risk of multiple sclerosis. *J Neurol.* 2011; 258(9): 1676–1682.
22. Stewart N, Simpson S Jr, van der Mei I, Ponsonby AL, Blizzard L, Dwyer T, Pitts F, Eyles D, Ko P, Taylor BV. Interferon-β and serum 25-hydroxyvitamin D interact to modulate relapse risk in MS. *Neurology.* 2012; 79(3): 254–260.
23. Sundqvist E, Baarnhielm M, Alfredson L, Hillert J, Olsson T, Kockum I. Confirmation of association between Multiple Sclerosis and CYP27B1. *Eur J Hum Gen.* 2010; 18(12): 1349–1352.
24. Tajouri L, Ovaric M, Curtain R, Johnson MP, Griffiths LR, Csurhes P, Pender MP, Lea RA. Variation in the vitamin D receptor gene is associated with multiple sclerosis in an Australian population. *J Neurogenet.* 2005; 19(1): 25–38.
25. Wang JH, Pappas D, de Jager PL, Pelletier D, de Bakker PL, Kappos L, Polman CH, Chibnik LB, Hafler DA, Matthews PM. Australian and New Zealand Multiple Sclerosis Genetics Consortium (ANZgene), Chibnik LB, Hafler DA, Matthews PM, Hauser SL, Baranzini SE, Oksenberg JR. Modeling the cumulative genetic risk for multiple sclerosis from genome-wide association data. *Genome Med.* 2011; 3(1): 3.

Článek doručen redakci: 31. 8. 2013

Článek přijat k publikaci: 24. 10. 2013

MUDr. Jozef Michalik
Neurologická klinika Jesseniovej LF UK
Univerzitná nemocnica Martin
Kollárova 2, 036 59 Martin
michalik@unm.sk

