

Imunopatologia da Esclerose Múltipla

Imunopathology of Multiple Sclerosis

Lysa Melina Barros Cabreira¹, Alessandra Lourenço Cecchini²

Resumo

A Esclerose Múltipla (EM) é uma doença desmielinizante inflamatória, neurodegenerativa que causa grande impacto na vida de adultos jovens, em idade econômica e socialmente ativa. Trata-se da doença neurológica mais comum em adultos jovens, acometendo mais mulheres do que homens, numa razão de 2:1. Estudos recentes mostram que a característica da EM é a destruição autoimune progressiva da bainha de mielina e conseqüente déficit de condução nervosa, além de perda axonal devido à progressão da lesão. O nome *esclerose múltipla* refere-se às múltiplas cicatrizes (ou escleroses) na bainha de mielina. Esta lesão nervosa culmina em placas patognômicas da EM que são visíveis em exames de Ressonância Magnética e em análises *post mortem*. Os sinais e sintomas decorrentes desta perda nervosa incluem perda de equilíbrio, alteração na fala, falta de coordenação, tremores, fraqueza muscular, paralisia espástica, problemas visuais, problemas na bexiga e intestino, alterações nas sensações, dormência, formigamento e sensação de queimação. Quanto aos tratamentos utilizados hoje para a EM, estudos concluem terapia imunomodulatória, seguindo a hipótese de origem auto-imune da doença, com corticosteróides e intêrferon. O tratamento sintomático, com abordagem multidisciplinar, possui grande importância, para a melhora da qualidade de vida e retardo da incapacidade total dos pacientes. Estudos recentes levantam a possibilidade de terapia com transplante de células tronco e células de origem embrionária, para o tratamento de algumas doenças neurodegenerativas, o que traz grandes expectativas para pacientes e profissionais envolvidos. Contudo, estes estudos estão em fase inicial, que contam com alguns resultados promissores, mas sabe-se que muito há de ser feito ainda para chegar-se a resultados satisfatórios e seguros.

¹ Aluna de Especialização em Biologia Aplicada à Saúde.

² Docente do Departamento de Ciências Patológicas/ CCB. Endereço para correspondência: Universidade Estadual de Londrina, Departamento de Ciências Patológicas, 86051-990 – Londrina – Paraná – Brasil. Fone: (+55) 43-33714521 E-mail para correspondência: alcecchini@uel.br

Palavras-chave: Esclerose múltipla, doença desmielinizante, neurodegeneração.

Abstract

Multiple sclerosis (MS) is a chronic, inflammatory, demyelinating disease that affects the central nervous system. It is the most common neurological disorder between youth adults. Recent studies show that the characteristic of MS is the autoimmune destruction of myelin sheath. The name *multiple sclerosis* refers to the multiple scars (or scleroses) on the myelin sheaths. This scarring causes symptoms which vary widely depending upon which signals are interrupted and may be visualized in Magnetic Resonance and *post mortem* analysis. MS can cause a variety of symptoms, including changes in sensation, visual problems, muscle weakness, depression, difficulties with coordination and speech, severe fatigue, cognitive impairment, problems with balance, overheating, and pain. MS will cause impaired mobility and disability in more severe cases. Nowadays, the treatment for MS follows immunomodulatory therapy with corticosteroids and interferon. The symptomatic treatment, with multidisciplinary overview helps the patient's quality of life and delays the total incapacity. There are some possibilities on embryonic stem cell transplant for the treatment of some neurodegenerative diseases. Although these studies are still at initial phase there are promising results and great expectations for the patients and professionals.

Key words: Multiple sclerosis, demyelinating disease, neurodegeneration.

INTRODUÇÃO

Definição de Esclerose Múltipla

A EM é uma doença inflamatória crônica do SNC que comumente afeta adultos jovens, caracterizada pela destruição da mielina encontrada no cérebro e na medula espinhal.

Esclerose Múltipla (EM) é a doença desmielinizante mais comum do sistema nervoso central (SNC). O seu início ocorre a partir de uma lesão, que leva a uma resposta auto-imune, caracterizada por infiltrado linfocitário multifocal⁽¹⁾ causando danos aos neurônios⁽²⁾. Caracteriza-se, também, pela destruição da bainha de mielina no sistema nervoso central (SNC), o que

resulta em uma série de sinais e sintomas motores e sensitivos ⁽³⁾. Estas lesões alteram a condução neuronal e contribuem para o *déficit* neurológico que varia com a localização das placas desmielinizadas no SNC. Linfócitos T e B são os principais componentes deste infiltrado ⁽⁴⁾. O infiltrado celular pode ser facilitado pela perda da integridade da barreira hemato-encefálica (BHE), que pode originar a partir de uma lesão prévia.

Tabela 1. Localização da lesão e sinais e sintomas em pacientes com EM.

Localização da Lesão	Sinais e Sintomas
Cerebelo	Desequilíbrio, incoordenação e tremores.
Nervos motores	Fraqueza muscular, paralisia espástica, problemas visuais, problemas na bexiga e intestino.
Nervos sensitivos	Alterações sensibilidade, dormência, formigamento, sensação de queimação.

Hoje ainda não existe nenhum teste específico que diagnostique a EM. O diagnóstico que define a EM envolve evidências clínicas (história e exames neurológicos) e exames complementares (MRI, Spinal Tap, Evoked Potentials). Este diagnóstico baseia-se na discussão entre o paciente e o médico. A anamnese deve ser devidamente realizada, principalmente na descrição dos sintomas e sinais. O diagnóstico final depende exclusivamente da precisão das informações fornecidas pelo paciente e da habilidade do médico em avaliar tais informações ⁽⁵⁾.

INCIDÊNCIA

A prevalência da EM varia consideravelmente no mundo. A razão para essa variação prevalência/incidência não é

conhecida. A América do Sul é considerada uma região de baixa prevalência, com taxa menor que cinco casos a cada 100.000 habitantes, entretanto esses dados são questionáveis uma vez que não existe um controle eficaz na notificação da EM ⁽¹⁾.

Esta doença afeta tipicamente as jovens (2:1) no seu auge de desenvolvimento familiar e profissional. Estudos epidemiológicos têm permitido compreender que a existência de um fator ambiental seria imprescindível para o aparecimento da doença, provavelmente na forma de uma infecção silenciosa. Esses estudos também não descartam a existência de um fator genético de susceptibilidade para o seu desenvolvimento ⁽³⁾.

No Brasil, um estudo realizado em 2004 no Hospital da Restauração de Pernambuco mostra o perfil epidemiológico de 118 casos de EM dos últimos 15 anos. Este estudo identificou um predomínio da etnia parda 110 casos, (93,2%) ⁽¹⁾.

PATOGENIA

A patogenia da esclerose múltipla compõe um quadro de hipóteses que englobam predisposição genética e um fator ambiental desconhecido. Quando estes fatores se apresentam no mesmo indivíduo ele passa a desenvolver os sintomas que caracterizam a doença. O desenvolvimento da doença baseia-se na disfunção do sistema imunológico que desencadeia uma reação auto-lesiva dirigida fundamentalmente a oligodendrócitos e mielina, o que ocasiona um defeito na condução dos impulsos nervosos com conseqüente aparecimento dos sintomas. A predisposição genética combinada a um fator ambiental desconhecido, estabelece ou mantém as células T auto-reativas em um período de latência de cerca de 10-20 anos, sendo estas ativadas por um fator sistêmico ou local (infecção viral,

puerpério, etc.). Uma vez ativadas estas células T passam seletivamente pela BHE e, ao serem expostas novamente ao auto-antígeno, iniciam uma reação inflamatória mediadas por células Th-1 ⁽⁶⁾.

Segundo Ziemssen ⁽⁴⁷⁾, os eventos patogênicos da EM caracterizam-se por um infiltrado imuno-celular, desmielinização multifocal e perda axonal, e existe a hipótese de que a EM seja uma doença inteiramente oriunda da resposta imunológica mediada por células T.

Sendo assim, a resposta imunológica mediada por células T é o mais provável causador das lesões na EM, mas, somente esta evidência não é suficiente para explicar a larga e seletiva destruição da mielina. A ação de anticorpos sobre os componentes da superfície da mielina é mais um fator envolvido no processo de desmielinização, além de outros mediadores derivados do plasma como o sistema complemento. Isto também explica como as reações inflamatórias na EM podem ser induzidas ou propagadas por reações imunológicas simultâneas contra uma variedade de diferentes autoantígenos ⁽⁵⁾.

Brinar e Poser ⁽¹³⁾ descrevem que a EM é adquirida antes da puberdade em um evento particular, que não é bem estabelecido, onde se inicia o processo. Ainda afirmam que infecções virais, complicações neurológicas de vacinação ou qualquer pequeno trauma na cabeça, todos os eventos comuns na infância, são capazes de alterar a integridade da BHE (Barreira hemato-encefálica), facilitando a migração das células inflamatórias, predominantemente linfócitos.

Comumente a EM ocorre em exacerbações e remissões seguidas de progressão cuja extensão é variável. Também existe a forma benigna da EM, caracterizada por alguns pequenos surtos, longos períodos de remissão, e suaves limitações às atividades em longo prazo ⁽⁷⁾.

OS EFEITOS DA GESTAÇÃO SOBRE A EM

Estudos mostraram que a EM não parece interferir com a gravidez, trabalho de parto e nascimento do bebê. Não aumenta risco de aborto espontâneo e nem malformações congênitas. O programa farmacológico durante a gravidez inclui terapia com corticosteróide i.v. para os surtos agudos, e todas as drogas prescritas durante este período devem ser avaliadas quanto ao risco/benefício do tratamento ⁽⁸⁾.

A azatioprina é a droga de escolha na terapia de longo prazo para EM, pois, apesar de passar a placenta, o feto não possui a enzima de conversão da azatioprina que a converte em seu metabólito ativo. Portanto, a deficiência nesta enzima protege o feto do seu potencial efeito teratogênico nos primeiros meses de gestação ⁽⁹⁾.

Imunoglobulina i.v., usado extensivamente nas gestações, não possui efeito teratogênico conhecido, e não possui influência negativa sobre o sistema imunológico do bebê (10). Um pequeno *Trial* foi conduzido com 15 mulheres com EM durante a gravidez. Quatorze das 15 participantes receberam imunoglobulina i.v. por cinco dias consecutivos pós-parto. Nenhuma das pacientes tratadas apresentou surtos durante os seis meses seguintes ⁽¹¹⁾.

CLASSIFICAÇÃO

Apesar da EM ter sido relatada pela primeira vez há 130 anos, muita dúvidas permanecem.

Como não há a identificação de agente etiológico, nem uma patogênese totalmente estabelecida, uma variedade de definições e classificações para a EM já foram publicadas. Em 1952, Adams e Kubik publicaram uma classificação que permaneceu em uso por um longo período.

Ultimamente, tem-se utilizado outra classificação para a EM. Ela está classificada em Remitente-Recorrente (EMRR), Secundariamente-Progressiva (EMSP) e Primariamente Progressiva (EMPP), ou ainda uma combinação entre elas ⁽¹²⁾.

Mesmo com esta classificação, existe a hipótese de que estas formas representem diferentes doenças, porém as observações indicam que as lesões anatômicas em todos os pacientes com EM remetem a um mesmo curso clínico e mesmas alterações morfológicas. Alguns autores ainda baseiam suas conclusões em estudos imunogenéticos, baseando-se em análises que definem pessoas e não doenças. A resposta fenotípica para um ou mais mecanismos patogênicos na EM é determinada pela “construção” genética do indivíduo e sua história imunológica ⁽¹³⁾.

TRATAMENTO

Os corticosteróides ou glicocorticóides (GC) têm sido a droga de escolha para o tratamento de episódios agudos da doença (surto) por mais de 30 anos. A forma de uso mais popular é a administração da metilprednisolona intravenosa ou oral. Já o tratamento da forma crônica da EM requer uma abordagem individual dos sintomas crônicos e dos déficits neurológicos, como espasticidade, problemas urinários, constipação, problemas sexuais, fadiga, tremor, dor e distúrbios sensoriais, vertigens e alucinações, depressão, obesidade e problemas cognitivos e evidentemente, o acompanhamento medicamentoso está intrinsecamente ligado à localização da lesão (Tabela 1) ⁽¹³⁾.

Há poucos estudos comparando doses ou vias de administração das diferentes preparações dos GC, ou mesmo demonstrando o benefício destes medicamentos sobre a

recuperação natural dos surtos. Recentemente, altas doses de metilprednisolona (MP) i.v. têm se tornado a terapia preferencial para os surtos. Em 1987, Milligan e cols. ⁽⁴⁹⁾ publicaram um estudo randomizado avaliando 22 pacientes durante surto de EM que receberam tratamento com 500 mg/dia de MP i.v. por cinco dias ou placebo. Efeito benéfico sobre o estado do paciente e a melhora dos escores funcionais foi observado na primeira e quarta semanas do grupo tratado comparado ao grupo placebo ($p=0,04$).

O Interferon-Beta também é uma droga de escolha muito utilizada no tratamento da EM. Um dos estudos para o uso do Interferon-Beta (INF- β) no tratamento da EMRR foi o estudo multicêntrico do INF- β (*Betaferon*) (The IFNB Multiple Sclerosis Study Group, 1993; UBC MS/MRI Study Group e IFNB Multiple Sclerosis Study Group 1993; The IFNB Multiple Sclerosis Study Group e UBC MS/MRI Analysis Group, 1995) randomizado, duplo-cego e placebo-controlado. Incluiu 372 pacientes com EMRR e que apresentaram pelo menos dois surtos nos últimos dois anos. Os pacientes foram randomizados para receberem placebo, baixa dose ou alta dose de INF- β subcutâneo em dias alternados por dois anos. Após dois anos, comparado com placebo, o tratamento com alta dose de INF- β reduziu a taxa anual de surtos (-34%; $p < 0,0001$) ⁽¹⁴⁾.

O diagnóstico da EM foi aprimorado pela introdução da Ressonância Nuclear Magnética (RNM) em 1981. Apesar do uso desta técnica ter beneficiado muito os pacientes, também levou ao surgimento de diagnósticos equivocados quando confundido com Encefalomielite Disseminada (ED).

Os sintomas mais comuns na EMRR são distúrbios visuais (46%) e sensoriais (41%), e na EMPP os sintomas mais prevalentes são distúrbios de marcha (88%) e paresia (38%). As conseqüências destes déficits funcionais nas atividades de vida diária são variáveis. Muitos pacientes comumente relatam

a fadiga como sendo a consequência mais adversa na vida diária, seguido de distúrbios de equilíbrio, parestia e problemas urinários. A EM tem um início precoce, um curso progressivo, e longa duração com um tempo médio de sobrevida de 40 anos a partir do diagnóstico, assim as consequências na vida diária e social das incapacidades são muito altas. Quinze anos após o diagnóstico, cerca de 50% dos pacientes usam auxílio de marcha e 29% necessitam de cadeira de rodas. Durante os primeiros 10 anos da doença, 50-80% tornam-se incapazes de trabalhar. Portanto, para muitos pacientes com EM, a qualidade de vida pode se deteriorar e eles podem perder sua independência e ficarem menos capazes de participar das atividades sociais. O tratamento dos sintomas da EM é essencial e requer uma abordagem multidisciplinar, combinando as terapias medicamentosa, psicológica e fisioterapêutica ⁽¹⁵⁾.

CÉLULAS DA RESPOSTA IMUNOLÓGICA NA EM

Atualmente, a hipótese mais recente da patogênese da EM foi baseada no estudo utilizando amostras do SNC humano, bem como em modelos experimentais com animais ⁽¹⁶⁾. De acordo com estas hipóteses, EM é causada por uma reação autoimune contra a mielina do SNC, mediada, principalmente, pelas células T autoreativas, que sob condições ainda não determinadas, atravessam a BHE, entram no SNC e disparam uma cascata de eventos culminando no desenvolvimento de EM com característica de lesão inflamatória. As maiores responsáveis por este ataque ao SNC são, classicamente, as células CD4+T, as células apresentadoras de antígenos, macrófagos e células B ⁽¹⁷⁾. Entretanto, novas evidências indicam que outras células autoimunes participam de outras fases do desenvolvimento da doença. Dentre elas podemos citar as

células CD8+T, células NK e células NKT e ainda células T altamente reguladoras CD4+CD25⁽¹⁸⁾. Apesar de não existir dúvida sobre o aspecto inflamação/autoimune da EM, outro conceito, ao menos para alguns subtipos de EM, seria a uma provável característica neurodegenerativa⁽¹⁹⁾.

Sabe-se que o SNC possui pouca habilidade de regeneração e é vulnerável a reações inflamatórias que são limitadas sob condições fisiológicas pela permeabilidade seletiva da BHE e pelas poucas células imunes. Entretanto, linfócitos reativos contra a mielina têm sido encontrados em níveis similares no sangue de pacientes com EM e controles saudáveis⁽²⁰⁾, sugerindo que a existência de células reativas à mielina *per se* não é suficiente para induzir a EM. Estudos nas últimas décadas têm demonstrado que as células auto-reativas de pacientes com doenças autoimunes são células de memória diferenciadas, onde em indivíduos saudáveis são predominantemente imaturas^(21; 22; 23; 24; 25; 26; 27; 28; 29; 30; 31; 32; 33).

LINFÓCITOS B ENVOLVIDOS NA PATOGÊNESE DA EM

Imunoglobulinas no líquido cefalorraquidiano (LCR) de pacientes com EM (marca característica da doença) e anticorpos antimielina podem estar envolvidos na desmielinização^(34; 35; 36). As células B acumulam-se no LCR e nas lesões de pacientes com EM, sendo que uma fração significativa destes linfócitos B no LCR pertence a uma classe trocada de células B de memória (CSMBC – Class-switched memory B cells)⁽³⁷⁾. Estas células B de memória de classe trocada, também têm sido identificadas no sangue periférico de pacientes com doenças de Grave e Hashimoto⁽³⁸⁾, e se acumulam, também, nas glândulas salivares de indivíduos com síndrome de Sjögren⁽³⁹⁾.

CÉLULAS NATURAL KILLER (NK) E EM

As células NK pertencem à linhagem linfóide e participam da defesa imune inata contra os tumores e os vírus ⁽⁴⁰⁾. Uma vez ativada, as células NK produzem as citocinas e as quimiocinas que induzem ou exacerbam reações inflamatórias e matam as células alvo que não expressam as moléculas de MHC de classe I corretamente. Um subconjunto de células terminais diferenciadas de CD56brightCD16-/dim NK acumulado nos locais de inflamação, tais como as articulações dos pacientes com artrite reumatóide, pode iniciar um papel de amplificador da resposta inflamatória ⁽⁴¹⁾.

As células humanas NK expressam os canais de K⁺ com características de canais Kv1.3, e os bloqueadores não específicos dos canais do quilovolt foram relatados há quase duas décadas por inibir a citotoxicidade mediada por células NK ⁽⁴²⁾.

As novas introspecções e os conceitos novos na patogenia da EM, junto com sua variabilidade clínica, fazem a busca por marcadores biológicos que possam ser utilizados no tratamento da EM uma busca árdua e complexa.

CÉLULAS TRONCO E EM – UMA NOVA ESTRATÉGIA?

Muito tem sido feito para atingir objetivos realmente eficazes quanto ao tratamento da EM. Atualmente no Brasil, existe um grupo de pesquisadores do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto – USP, liderados pelo Dr. Voltarelli que está estudando uma forma de tratamento da EM utilizando células tronco.

O transplante de células tronco hematopoiéticas (HSCT) foi proposto como tratamento para EM em 1995, baseado em resultados favoráveis em modelos animais, incluindo a

Encefalomielite Autoimune ⁽⁴³⁾. Este tipo de transplante é um protocolo da terapia imunossupressora. A durabilidade em longo prazo da remissão induzida por HSCT não-mieloablativa e da inflamação ativa, ainda deve ser determinada. Porém, existe uma melhor perspectiva para pacientes com doença inflamatória ativa se o transplante for executado antes do início do dano irreversível do axônio.

Sendo assim, o transplante de células tronco indica um caminho na cura ou melhora da qualidade de vida de pacientes com EM, e o papel exato de HSCT não-mieloablativo no tratamento da EM está sendo explorado em um experimento multinacional, multicêntrico, ou seja, a experimentação internacional do transplante de células tronco em Esclerose Múltipla (MIST).

Segundo Lassmann ⁽¹⁷⁾, o reparo de lesões do cérebro com células tronco ou células específicas de origem embrionária é uma abordagem muito atraente, que recebe atualmente uma atenção na pesquisa biomédica. Certamente, poderá resolver o problema mais importante das doenças do SNC, que é a falta da regeneração e do reparo. Entretanto, há muitas perguntas e problemas em aberto a respeito da prática destas formas de abordagem e sobre a segurança da mesma. Além disso, os dados recentes da sua patogenia levantam algumas dúvidas a respeito da EM em ser o candidato à tais estratégias de transplante.

CONCLUSÃO

A EM é uma doença neurodegenerativa, de sintomatologia ampla e incapacitante, e de grande importância clínica, pois acomete adultos jovens em fase de intensa produtividade em suas vidas, tanto social quanto econômica e profissional. Na

presente literatura observa-se que o maior gradiente de concentração da EM é situado em regiões do hemisfério norte, porém, no Brasil ainda assim, a incidência é grande, e preocupa os profissionais.

Na literatura corrente, existem índices de avaliação, tanto do estágio da doença quanto de qualidade de vida. Estes índices auxiliam no diagnóstico e no acompanhamento da doença em seu curso. O diagnóstico da EM é feito através de exames laboratoriais (exame de LCR) e RNM, juntamente com o exame físico e anamnese minuciosa.

Foi observado na literatura atual que muito tem se estudado sobre o tratamento da EM, tanto aguda para restabelecer integridade das funções nervosas, quanto crônica para abordar sintomas avançados da doença, e proporcionar ao paciente maior qualidade de vida e menor perda de funções. A terapia imunomodulatória com corticosteróides e interferon, seguindo a hipótese de origem auto-imune da doença, é a melhor alternativa apesar de não ter seus efeitos adversos bem estabelecidos. Outros autores ressaltam a importância do tratamento sintomático, com abordagem multidisciplinar, como de grande importância, para melhora da qualidade de vida e retardo da incapacidade total dos pacientes, além da prevenção de algumas comorbidades que levam o paciente a novas crises agravando o estágio da doença e comprometendo a sua qualidade de vida.

Estudos recentes que contam com alguns resultados promissores levantam a possibilidade de terapia com transplante de células tronco e células de origem embrionária para o tratamento de algumas doenças neurodegenerativas, o que traz grandes expectativas para pacientes e profissionais envolvidos. Contudo, estes estudos estão em fase inicial, mas sabe-se que muito há de ser feito ainda para chegar-se a resultados satisfatórios e seguros.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Ferreira ML, Machado MI, Vilela ML, Guedes MJ, Ataíde L Jr, Santos S, Laurentino SG. Epidemiology of 118 cases of multiple sclerosis after 15 years of follow-up on the reference center of Hospital da Restauração, Recife, Pernambuco, Brazil. *Arq. Neuropsiquiatria*. 62(4). 1027-1032, 2004.
2. D'Intino G, Paradisi M, Fernandez M, Giuliani A, Aloe L, Giardino L, Calza L. Cognitive deficit associated with cholinergic and nerve growth factor down-regulation in experimental allergic encephalomyelitis in rats. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.* ;102(8):3070-5, 2005.
3. Nassar Junior AP, Pignataro DS, Fuzaro MM, Tilbery CP Ethical issues in multiple sclerosis under physicians and patients point of view *Arq Neuropsiquiatr.*; 63(1):133-9, 2005.
4. Booss J, Esiri MM, ourtellotte WW, Mason DY. Immunohistological analysis of T lymphocytes subsets in the central nervous system in chronic progressive multiple sclerosis. *J. Neurol. Sci.* 62:219–32, 1983.
5. Poser, C. The pathogenesis of Multiple Sclerosis: a comentary. *Clinical Neurology and Neurosurgery* 102: 191-94, 2000.
6. Felipe E, Mendes MF, Moreira MA, Tilbery CP. Comparative analysis of 2 clinical scales for clinical evaluation in multiple sclerosis: review of 302 cases *Arq. Neuropsiquiatr.*; 58(2A):300-3, 2000.
6. Mitchell AJ, Benito-León J, González JM, Rivera-Navarro J Quality of life and its assessment in multiple sclerosis: integrating physical and psychological components of wellbeing. *Lancet Neurol.*; 4(9):556-66, 2005.
7. Solari A. Role of heath-related quality of life measures in the routine care os people with Multiple Sclerosis. *Heath and Quality of Life Outcomes.* 3: 16, 2005.
8. British and Dutch Multiple Sclerosis Azathioprine Trial Group. Double masked trial of azathioprine in multiple sclerosis. *The Lancet*, 2: 179-183, 1988.
9. Yudkin PL, Ellison GW, Ghezzi A, Goodkin DE, Hughes RA, McPherson K, Mertin J, Milanese C. Overview of azathioprine treatment in multiple sclerosis. *Lancet*, 338(8774):1051-5, 1991.

10. Orvieto R, Achiron R, Rotstein Z, Noy S, Bar-Hava I, Achiron A. Pregnancy and multiple sclerosis: a 2-year experience. *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.*; 82(2):191-4, 1999.
11. Achiron A, Rotstein Z, Noy S, Mashiach S, Dulitzky M, Achiron R. Intravenous immunoglobulin treatment in the prevention of childbirth-associated acute exacerbations in multiple sclerosis: a pilot study. *J. Neurol.*, 243(1):25-8, 1996.
12. Trojano M, Paolicelli D. The differential diagnosis of multiple sclerosis: classification and clinical features of relapsing and progressive neurological syndromes. *Neurol. Sci.*, 22 Suppl 2:S98-102, 2001.
13. Brinar VV, Poser MC. Multiple Sclerosis 2001. *Clinical Neurology and Neurosurgery* 104: 165-167, 2002.
14. PRISMS Study Group. Randomized double blind placebo-controlled study of interferon beta-1a in relapsing-remitting multiple sclerosis. *The Lancet*, 352:1498-1504, 1998.
15. Beer S, Kesselring J. Symptomatic therapy and neurorehabilitation in Multiple Sclerosis. *The Lancet*, 4: 643-52, 2005.
16. Wekerle, H. Immune pathogenesis of multiple sclerosis. *Neurol Sci:26[Suppl 1]:S1-S2*; 2005.
17. Lassmann H, Bruck W, Lucchinetti C, Rodriguez M. Remyelination in multiple sclerosis. *Mult. Scler.*, 3(2):133-6, 1997.
18. Muraro PA, Cassiani-Ingoni R, Chung K, Packer AN, Sospedra M, Martin R. Clonotypic analysis of cerebrospinal fluid T cells during disease exacerbation and remission in a patient with multiple sclerosis. *J. Neuroimmunol.*, 171(1-2):177-83, 2006.
19. Barnett MH, Prineas JW. Relapsing and remitting multiple sclerosis: pathology of the newly forming lesion. *Ann. Neurol.*, 55:458-468, 2004.
20. Hellings N, Barée M, Verhoeven C, D'hooghe MB, Medaer R, Bernard CC, Raus J, Stinissen P. T-cell reactivity to multiple myelin antigens in multiple sclerosis patients and healthy controls. *J. Neurosci. Res.*, 63:290-302, 2001.

21. Fiocco U, Rosada M, Cozzi L, Ortolani C, De Silvestro G, Ruffatti A, Cozzi E, Gallo C, Todesco S. Early phenotypic activation of circulating helper memory T cells in icleroderma: correlation with disease activity. *Ann. Rheum. Dis.*, 52:272–7, 1993.
22. De Bleecker, J.L., Engel, A.G. Immunocytochemical study of CD45 T cell isoforms in inflammatory myopathies. *Am. J. Pathol.*, 146:1178–87, 1995.
23. Ohta, K., Norose, K., Wang, X.C., Ito, S., Yoshimura, N. Abnormal naive and memory T lymphocyte subsets in the peripheral blood of patients with uveitis. *Curr. Eye Res.* 16:650–5, 1997.
24. Gessl, A., Waldhausl, W. Elevated CD69 expression on naïve peripheral blood T-cells in hyperthyroid Graves' disease and autoimmune thyroiditis: discordant effect of methimazole on HLA-DR and CD69. *Clin. Immunol. Immunopathol.* 87:168–75, 1998.
25. Lovett-Racke, A.E., Trotter, J.L., Lauber, J., Perrin, P.J., June, C.H., Racke, M.K. Decreased dependence of myelin basic protein-reactive T cells on CD28-mediated costimulation in multiple sclerosis patients: a marker of activated/memory T cells. *J. Clin. Invest.* 101:725–30, 1998.
26. Burns, J., Bartholomew, B., Lobo, S. Isolation of myelin basic protein-specific T cells predominantly from the memory T-cell compartment in multiple sclerosis. *Ann. Neurol.*, 45:33–9, 1999.
27. Friedrich, M., Krammig, S., Henze, M., Docke, W.D., Sterry, W., Asadullah, K. Flow cytometric characterization of lesional T cells in psoriasis: intracellular cytokine and surface antigen expression indicates an activated, memory/effector type 1 immunophenotype. *Arch. Dermatol. Res.*, 292:519–21, 2000.
28. Lin MS, Fu CL, Aoki V, Hans-Filho G, Rivitti EA, Moraes JR, Moraes ME, Lazaro AM, Giudice GJ, Stastny P, Diaz LA. Desmoglein-1-specific T lymphocytes from patients with endemic pemphigus foliaceus (fogo selvagem). *J. Clin. Invest.*, 105:207–13, 2000.
29. Ellis, C.N., Krueger, G.G. Treatment of chronic plaque psoriasis by selective targeting of memory effector T lymphocytes. *N. Engl. J. Med.*, 345:248–55, 2001.

30. Mahmoud, F., Abul, H., Haines, D., Al-Saleh, C., Khajeji, M., Whaley, K. Decreased total numbers of peripheral blood lymphocytes with elevated percentages of CD4+CD45RO+ and CD4+CD25+ of Thelper cells in non-segmental vitiligo. *J. Dermatol.*, 29:68–73, 2002.
31. Vissers, W.H.P.M., Arndtz, C.H.M., Muys, L., Van Erp, P.E.J., De Jong, E.M.G., Van De Kerhof, P.C.M. Memory effector (CD45RO+) and cytotoxic (CD8+) T cells appear early in the margin zone of spreading psoriatic lesions in contrast to cells expressing natural killer receptors, which appear late. *Br. J. Dermatol.*, 150:852–9, 2002.
32. Wulff, H., Beeton, C., Chandy, K.G. Potassium channels as therapeutic targets for autoimmune disorders. *Curr. Opin. Drug Discov. Devel.*, 6:640–7, 2003.
33. Garcia de Tena, J., Manzano, L., Leal, J.C., San Antonio, E., Sualdea, V., Alvarez-Mon, M. Active Crohn's disease patients show a distinctive expansion of circulating memory CD4+CD45RO+CD28null T cells. *J. Clin. Immunol.*, 24:185–96, 2004.
34. Archelos, J., Storch, M., Hartung, H. The role of B cells and autoantibodies in multiple sclerosis. *Ann. Neurol.*, 47:694–706, 2000.
35. Hafler, D.A., Slavik, J.M., Anderson, D.E., O'Connor, K.C., De Jager, P., Baecher-Allan, C. Multiple sclerosis. *Immunol. Rev.*, 204:208–31, 2005.
36. Villar LM, Sadaba MC, Roldan E, Masjuan J, Gonzalez-Porque P, Villarrubia N, Espino M, Garcia-Trujillo JA, Bootello A, Alvarez-Cermeno JC. Intrathecal synthesis of oligoclonal IgM against myelin lipids predicts an aggressive disease course in MS. *J. Clin. Invest.*, 115:187–94, 2005.
37. Corcione A, Casazza S, Ferretti E, Giunti D, Zappia E, Pistorio A, Gambini C, Mancardi GL, Uccelli A, Pistoia V. Recapitulation of B cell differentiation in the central nervous system of patients with multiple sclerosis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 101:11064–9, 2004.
38. Leyendeckers H, Voth E, Schichna H, Hunzelmann N, Orvieto R, Achiron R, Rotstein Z. Pregnancy and multiple sclerosis: a two-year experience. *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.*, 82:191-194, 1999.
39. Hansen A, Odendahl M, Reiter K, Jacobi AM, Feist E, Scholze J, Burmester GR, Lipsky PE, Dorner T. Diminished peripheral blood memory

B cells and accumulation of memory B cells in the salivary glands of patients with Sjögren's syndrome. *Arthritis Rheum.*, 46:2160–71, 2002.

40. Moretta L., Biassoni R., Bottino C., Cantoni C., Pende D., Mingari M. C., Moretta A. Human NK cells and their receptors. *Microbes Infect.*, 4(15):1539-44, 2002.

41. Stewart-Akers A. M., Cunningham A., Wasko M. C., Morel P. A. Fc gamma R expression on NK cells influences disease severity in rheumatoid arthritis. *Genes Immun.*, 5(7):521-9, 2004.

42. Klein, U., Rajewsky, K., Kuppers, R. Human immunoglobulin (Ig)M+IgD+ peripheral blood B cells expressing CD27 cell surface antigen carry somatically mutated variable region genes: CD27 as a general marker for somatically mutated (memory) B cells. *J. Exp. Med.* 188:1679–89, 1998.

43. Burt RK, Marmont A, Oyama Y, Slavin S, Arnold R, Hiepe F, Fassas A, Snowden J, Schuening F, Myint H, Patel DD, Collier D, Heslop H, Krance R, Statkute L, Verda L, Traynor A, Kozak T, Hintzen RQ, Rose JW, Voltarelli J, Loh Y, Territo M, Cohen BA, Craig RM, Varga J, Barr WG. Randomized controlled trials of autologous hematopoietic stem cell transplantation for autoimmune diseases: the evolution from myeloablative to lymphoablative transplant regimens. *Arthritis Rheum.*; 54(12):3750-60, 2006.

44. Shi, Y., Agematsu, K., Ochs, H., Sugane, K. Functional analysis of human memory B-cell subpopulations: IgD+CD27+ B cells are crucial in secondary immune response by producing high affinity IgM. *Clin. Immunol.*, 108:128–37, 2003.

45. Schilling, T., Stock, C., Schwab, A., Eder, C. Functional importance of Ca²⁺-activated K⁺ channels for lysophosphatidic acid-induced microglial migration. *Eur. J. Neurosci.*, 19:1469–74, 2004.

46. Agematsu, K., Hokibara, S., Nagumo, H., Komiyama, A. CD27: a memory B-cell marker. *Immunol Today*, 21:204–6, 2000.

47. Ziemssen F, Ziemssen T. The role of the humoral ie system in Multiple Sclerosis (MS) and its animal model experimental autoimmune encephalomyelitis. *Autoimmunity Reviews*, 4: 460-67, 2005.

48. Adams R, Kubik C. The morbid anatomy of the demyelinating diseases. *Am. J. Med*, 12:510–45, 1952.

49. Milligan NM, Newcombe R, Compston DAA double-blind controlled trial of high dose methylprednisolone in patients with multiple sclerosis. Clinical effects. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry*, 50:511-516, 1987.