

---

# Peran *Heat Shock Protein*47 sebagai Faktor Prediktor Prognosis *Experimental Autoimmune Neuritis* Studi eksperimental untuk mempelajari perjalanan penyakit Sindrom Guillain Barre menggunakan mencit *Mus musculus Balb/C*

Ruslan Muhyi

Bagian Anak RSUD Ulin Fakultas Kedokteran Universitas Lambung Mangkurat Banjarmasin

**Latar belakang.** Sindrom Guillain Barre (SGB) adalah salah satu kelainan *immune-mediated peripheral neuropathy* karena gangguan sistem imun dengan ciri paralisis akut. Penelitian peran Hsp47 pada jaringan saraf pasien SGB tidak mungkin dilakukan pada manusia sehingga perlu model, *experimental autoimmune neuritis* (EAN) adalah *animal model* yang mirip SGB pada manusia. Ekspresi Hsp47 merupakan *biomarker* prospektif untuk deteksi prognosis SGB sehingga kelumpuhan dapat dicegah tetapi imunopatogenesis peran Hsp47 pada perubahan perjalanan penyakit SGB belum jelas.

**Tujuan.** Membuktikan peran Hsp47 sebagai faktor prediktor prognosis perjalanan penyakit SGB.

**Metode.** Penelitian eksperimental, sampel 30 mencit *mus musculus Balb/C* terdiri kelompok satu 10 sampel dengan pemberian *myelin protein* dosis 75 µg, kelompok dua 10 sampel pemberian *myelin protein* 25 µg, dan kelompok tiga 10 sampel diberi CFA (*complete freud adjuvant*) sebagai kontrol. Kemudian dibandingkan kadar HSP47 setiap kelompok berdasarkan derajat kelumpuhan yang dianalisis dengan uji Manova.

**Hasil.** Kelompok satu terjadi 4 mencit lumpuh berat, 6 lumpuh ringan, sedang kelompok dua dan tiga tidak terjadi kelumpuhan. Pada mencit yang lumpuh berat terjadi peningkatan ekspresi Hsp47, IL-2, INF-γ dan TNF-α. Pada lumpuh ringan terjadi peningkatan ekspresi IL-5 dan IL-10. Uji statistik menyatakan bahwa terdapat perbedaan bermakna kadar HSP47 antara kelompok perlakuan dengan kontrol.

**Kesimpulan.** Ekspresi Hsp47 meningkat pada lumpuh berat, sehingga HSP47 dapat digunakan sebagai faktor prediktor prognosis SGB (**Sari Pediatri** 2009;10(5):296-301).

**Kata kunci:** *experimental autoimmune neuritis* (EAN), Sindrom Guillain Barre (SGB), Hsp47

---

## Alamat Korespondensi:

DR.Dr.Ruslan Muhyi, SpA(K). Devisi Neurologi Departemen Ilmu Kesehatan Anak FK Unlam RSUD Ulin Jl A.Yani 43 Tilp/Fax 3269177 Banjarmasin Kalimantan Selatan

Sindrom Guillain Barre (SGB) adalah penyakit yang sering menyebabkan gejala sisa berupa kelumpuhan. Angka kejadian SGB tidak terlalu banyak dilaporkan di masyarakat namun, namun kelumpuhan permanen akan membawa dampak sosial yang berat di kemudian hari. Di samping gejala sisa, paralisis akut sistem pernafasan merupakan

penyebab kematian pada SGB, sehingga penyakit ini dimasukkan dalam kategori *neuroemergency*.<sup>1,2</sup> Sebagai penyakit autoimun, SGB yang menyerang saraf perifer. Pada penyakit autoimun seperti SGB, akan terjadi peningkatan ekspresi *heat shock protein (Hsp)* terutama Hsp47 yang bersifat imunogen dan bisa berubah menjadi otoantigen. Anti Hsp47 hanya ditemukan pada serum pasien penyakit autoimun dan tidak pada pasien non-autoimun.<sup>3</sup> Secara dugaan bahwa Hsp47 merupakan biomarker prospektif untuk deteksi prognosis SGB. Sejauh ini imunopatogenesis SGB yang melibatkan Hsp47 dengan berbagai sitokin yang dihasilkan belum jelas.

Bila imunopatogenesis SGB yang melibatkan Hsp47 tidak diketahui dengan jelas, maka upaya penanggulangan komplikasi akibat SGB tidak optimal. Gangguan otonomik merupakan komplikasi utama pada 25% pasien SGB berat. Gangguan respirasi yang fatal sebagai akibat tidak cepat diobati secara tepat masih terjadi pada 33% pasien, sedang lumpuh persisten dapat ditemukan pada 7%-8%. Evaluasi menemukan bahwa 85% akan mengalami perbaikan 6-18 bulan pasca awitan. Penelitian terakhir menunjukkan bahwa insiden SGB 1,5-3/100 000, mortalitas sebesar 5%-10% dan 10% mengalami gejala sisa neurologis berupa lumpuh pada setahun setelah awitan.<sup>2,4,5</sup>

Ekspresi Hsp47 yang terdapat di dendrit dan aksion sel saraf bila dilepas akan berperan pada otoreaksi sel T (CD4). Adanya induksi Hsp47 menyebabkan sel Th0 (*T cell helper*) berdiferensiasi menjadi sel Th1 dan sel Th2 yang memproduksi sitokin, sitokin pro-inflamasi baik yang dihasilkan oleh Th maupun makrofag menyebabkan semakin memperberat kerusakan mielin.<sup>6-10</sup> Selama ini imunopatogenesis SGB dipelajari melalui *experimental autoimmune neuritis (EAN)* yang merupakan model pada mencit dari SGB yang mencerminkan SGB pada manusia.<sup>2,11-13</sup> Terjadinya EAN dapat diinduksi dengan *myelin protein* melalui subkutan. *myelin protein* merupakan salah satu penyusun mielin utama pada sel saraf, bila ada *Myelin protein* masuk ke dalam tubuh (*external agent*), maka *myelin protein* akan berfungsi sebagai *stressor* yang menyebabkan peningkatan ekspresi *heat shock protein* pada sel saraf.<sup>14,15</sup> Pada pasien SGB, nampaknya akan terjadi peningkatan Hsp khususnya Hsp47.

Sehubungan dengan prosedur tata laksana dan pemeriksaan akhir yang fatal, maka eksperimen ini tidak memungkinkan menggunakan subjek manusia sehingga digunakan subjek mencit sebagai model EAN.

Inokulasi *myelin protein* pada mencit maka, dalam tubuh mencit akan terjadi berbagai respons antara lain *myelin protein* dapat memicu pembentukan antibodi, sehingga antibodi tersebut akan mengikat mielin pada sel saraf, sehingga mielin mengalami kerusakan. Selain itu antibodi dapat menempel di permukaan makrofag melalui *Fc reseptor*, selanjutnya antibodi di permukaan makrofag akan mengikat mielin pada sel saraf, adanya ikatan tersebut makrofag akan melepas MMP (*matrix metallo protein*) yang mengakibatkan kerusakan mielin melalui mekanisme ADCC (*antibody dependent cellular cytotoxicity*). Di sisi lain *myelin protein* tersebut akan berikatan dengan reseptor TLR (*toll-like receptor*), di permukaan makrofag (sel dendritik), terutama TLR2, melalui signal transduksi intraseluler, sel dendritik akan melepas Hsp47. Hsp47 tersebut kemudian berikatan dengan TLR4 di permukaan sel dendrit. Ikatan ini akan memicu signal transduksi melalui inaktivasi IkB kinase, sehingga NFkB menjadi aktif dan selanjutnya akan memicu faktor transkripsi di inti dan dilepaskan berbagai sitokin antara lain IL-2, IL-5, IL-10, IFN- $\gamma$ , dan TNF- $\alpha$ .<sup>15</sup> Interleukin tersebut bersifat sebagai *neutrofile chemotactic factor*, sehingga neutrofil akan tertarik pada daerah lesi dan melepas MMP.<sup>2,16,17</sup>

## Metode

Besar sampel dihitung menggunakan rumus replikasi. Replikasi adalah banyaknya perlakuan dalam percobaan. Replikasi mempengaruhi jumlah ulangan ( $r$ ), ( $k$ ) adalah jumlah kelompok perlakuan. Jumlah ulangan tergantung pada derajat ketelitian yang diinginkan dan kualitas pengendalian keragaman yang mempengaruhi percobaan (bahan, alat, media, dan lingkungan). Kualitas pengendalian keragaman dijamin dengan memberikan kondisi yang homogen untuk lingkungan, media dan alat yang berkaitan dengan pemberian perlakuan serta mendiskripsikan secara jelas bahan-bahan perlakuan yang digunakan. Rumus besar sampel sebagai berikut,  $(k-1)(r-1) > 15$ . Dari rumus tersebut didapatkan sampel 30 mencit *Mus musculus Balb/C* yang dibagi menjadi kelompok 1 terdiri dari 10 sampel adalah kelompok dengan perlakuan pemberian *myelin protein* dosis besar 75 $\mu$ g, kelompok 2 terdiri dari 10 sampel adalah kelompok perlakuan pemberian *myelin protein* dosis kecil 25 $\mu$ g, dan kelompok kontrol terdiri dari 10 sampel 3 yang diberi CFA (*complete freud adjuvant*) dosis 75 $\mu$ g. Semua subjek perlakuan yang

mengalami lumpuh dan juga subjek kontrol diambil darah vena perifer melalui ekor kemudian dilakukan pemeriksaan ELISA untuk mengetahui ekspresi Hsp47, sitokin pro-inflamasi dan anti-inflamasi pada darah, dilanjutkan pengambilan jaringan *N.ischiadicus* pada sampel perlakuan dan kontrol untuk pemeriksaan imunohistokimia mengetahui ekspresi Hsp47 pada jaringan saraf. Derajat paralisis skor 1 jika ekor lumpuh, skor 2 jika kedua kaki belakang lumpuh, skor 3 jika keempat kaki lumpuh tapi masih bisa berjalan, skor 4 jika keempat kaki lumpuh dan sama sekali tidak bisa berjalan dan skor 5 mencit mati. Skor yang timbul pada mencit Balb/C jika skor 1, 2 dianggap lumpuh ringan dan skor 3, 4 dianggap lumpuh berat. Kemudian dibandingkan kadar HSP47 dan sitokin inflamasi, anti-inflamasi setiap kelompok berdasarkan derajat kelumpuhan. Hasil dianalisis dengan uji Manova.

## Hasil

Pada tiga kelompok spesies *Mus musculus Balb/C* yang diberi perlakuan berupa injeksi subkutan *myelin*

*protein* dosis 75 µg, dosis 25 µg dan dosis nol (tanpa *myelin protein*, hanya CFA) sebagai kontrol, variabel yang diamati adalah IL-2, IFN-γ, TNF-α, IL-5, IL-10, Hsp47, anti Hsp47, dan luas ekspresi Hsp47 yang dihitung dengan metode imunohistokimia (IHK).

Reaksi paralisis pada kelompok perlakuan dengan pemberian *myelin protein* dosis besar 75 µg setelah sensitisasi terjadi (40%) lumpuh berat dan (60%) lumpuh ringan. Kelompok perlakuan dengan *myelin protein* dosis kecil 25 µg setelah sensitisasi tidak terjadi lumpuh. Kelompok perlakuan kontrol dengan CFA juga tidak terjadi lumpuh. Rerata dan simpang baku setiap variabel pada ketiga kelompok perlakuan tertera pada Tabel 1.

Dari hasil analisis disimpulkan bahwa pemberian *myelin protein* dosis 75 µg, dosis 25 µg dan kontrol menghasilkan kadar IL-2, IFN-γ, TNF-α, IL-5, IL-10, Hsp47, anti Hsp47, dan luas ekspresi Hsp47 (IHK) yang berbeda bermakna, terutama antara pemberian *myelin protein* dosis 75 µg dengan kontrol.

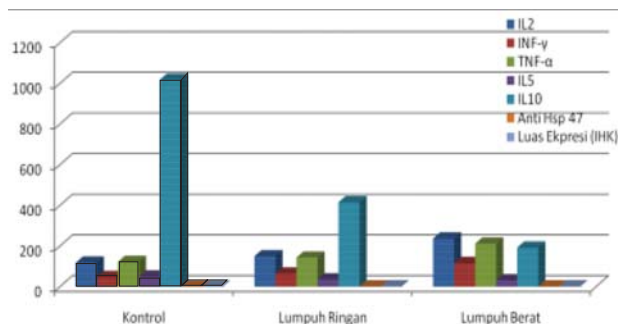
Untuk membuktikan pengaruh perubahan ekspresi Hsp47 kadar tinggi, sedang, dan rendah terhadap semua variabel dan klinis terjadi lumpuh

Tabel 1. Rerata dan simpang baku setiap variabel pada pemberian *myelin protein* dosis berbeda

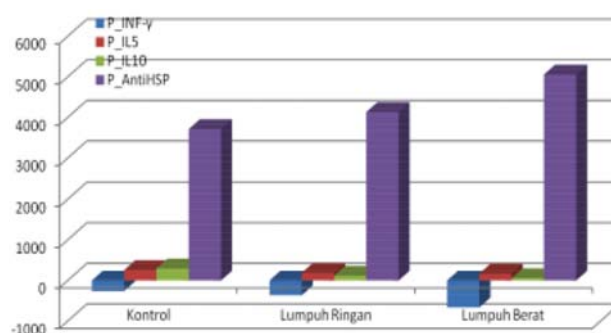
Variabel	Dosis 75		Dosis 25		0	
	Rerata	SB	Rerata	SB	Rerata	SB
IL-2	204,71	63,99	137,07	11,15	114,42	9,97
IFN-γ	98,00	31,21	56,22	4,71	44,23	6,94
TNF-α	185,52	59,84	135,34	6,68	117,66	13,08
IL-5	31,77	2,70	39,27	2,92	51,9	14,89
IL-10	209,43	35,19	657,41	161,69	1088,56	288,71
Hsp 47	0,77	0,10	0,55	0,03	0,45	0,05
Anti Hsp 47	0,14	0,01	0,12	0,00	0,11	0,00
Luas Ekspresi (IHK)	0,87	0,02	0,82	0,01	0,80	0,01

Tabel 2. Rerata dan simpang baku setiap variabel pada kadar Hsp47 yang berbeda

Variabel	Hsp47 kadar rendah		Hsp47 kadar sedang		Hsp47 kadar tinggi	
	Rerata	SB	Rerata	SB	Rerata	SB
IL-2	117,62	9,98	149,47	8,20	236,79	65,35
IFN-γ	46,43	6,89	64,15	7,23	115,50	28,79
TNF-α	121,06	12,29	142,50	6,06	210,89	67,19
IL-5	49,07	13,24	36,02	2,51	30,37	2,60
IL-10	1017,83	268,08	415,25	157,38	191,97	7,48
Anti Hsp 47	0,12	0,00	0,13	0,00	0,15	0,01
Luas Ekspresi (IHK)	0,80	0,01	0,84	0,01	0,88	0,01



Gambar 1. Rerata setiap variabel pada ketiga kelompok kadar Hsp47



Gambar 2. Pola Kontribusi setiap variabel pada ketiga kelompok kadar Hsp47

Tabel 3. Pola kontribusi setiap variabel pada perbedaan kadar Hsp47 yang berbeda

Variabel	Hsp47 kadar rendah		Hsp47 kadar sedang		Hsp47 kadar tinggi	
	Rerata	SB	Rerata	SB	Rerata	SB
P_IFN- $\gamma$	-259,68	38,57	-363,50	40,97	-663,10	165,33
P_IL-5	255,42	68,92	188,50	13,13	169,20	14,52
P_IL-10	297,20	78,28	116,68	44,22	57,39	2,23
P_asliHSP	3713,54	147,49	4134,51	143,62	5057,79	212,84

pada hewan coba digunakan analisis multivariat. Perhitungan analisis tampak dari hasil rerata dan simpang baku pada Tabel 2 dan Gambar 1.

Hasil perhitungan dan uji multivariat dengan menggunakan metode Wilks' Lambda ( $F$  hitung=0,047) dengan tingkat kemaknaan  $p < 0,05$  berarti secara statistik ada perbedaan yang bermakna dengan kata lain bahwa perbedaan kadar Hsp47 dapat mempengaruhi kondisi semua variabel penelitian IL2, IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ , IL-5, IL-10, anti Hsp47, dan luas ekspresi (IHK).

Untuk mendapatkan variabel IL2, IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ , IL-5, IL-10, anti Hsp47, dan luas ekspresi(IHK) yang berpotensi berpengaruh kuat (dominan) terhadap perubahan kadar Hsp47 dilakukan analisis diskriminan. Hasil analisis diskriminan tertera pada Tabel 3 dan Gambar 2. Akibat perbedaan ekspresi kadar hsp47 pada tujuh variabel dianalisis, didapatkan 4 variabel yang dominan yaitu IFN- $\gamma$ , IL-5, IL-10, dan anti Hsp47.

## Pembahasan

Pada saat sel Schwann menerima stresor dari luar yaitu berupa *myelin protein* akan terjadi proses seleksi pada

sel T yaitu *autoreactive* pada sel T. Proses *autoreactive* ini menyebabkan sel T berdiferensiasi menjadi  $\sigma\beta$  sel T dan  $\gamma\sigma$  sel T, Pemilihan diferensiasi sampai saat ini belum jelas mekanismenya tapi mempunyai implikasi yang sangat berbeda. Saat terjadi diferensiasi ke arah  $\sigma\beta$  sel T tersebut bersifat *self* sehingga dikenali oleh sistem imun dan akan dieliminasi (di-apoptosis) dari tubuh. Sedangkan  $\gamma\sigma$  sel T bersifat *non self* artinya tubuh tidak mengenali dan ini sangat berbahaya, oleh karena akan terjadi reaksi merusak jaringan tubuh sendiri berupa reaksi autoimun.<sup>18</sup> Pada saat terjadi reaksi autoimun mielin yang dibentuk oleh sel Schwann akan mengalami autoreaksi sehingga terjadi demielinisasi. Dalam keadaan stres, sel akan mengalami peningkatan ekspresi Hsp47 karena mielin mengalami kerusakan atau nekrosis. Selanjutnya Hsp47 akan disekresikan secara pasif ke ekstraselular yang dapat bertindak sebagai autoantigen dan mengadakan autoreaksi dengan ganglioside saraf yang menyebabkan penyakit autoimun. Ekspresi Hsp yang keluar dari sel tersebut akan berada di sirkulasi darah dan akan memberikan signal kepada sistem imun.<sup>19</sup> Mekanisme tersebut tidak akan terjadi pada sel yang mengalami apoptosis, karena dinding sel yang mengalami apoptosis tetap utuh sehingga Hsp tetap berada di dalam sel yang akan dipagosit oleh APC. Penelitian ini membuktikan

saat inokulasi *myelin protein* terjadi stres pada mielin sehingga terjadi peningkatan ekspresi Hsp47.

Saat stres terjadi peningkatan ekspresi Hsp intraselular, semula bersifat protektif dan menginduksi sel anti-apoptosis. Stres yang berlangsung lama menyebabkan produksi Hsp berlebihan dan bertindak sebagai ligan yaitu berikatan dengan protein *leader* yang ada di sitosol menembus dinding sel keluar dari dalam sel dan masuk secara pasif ke dalam sistem sirkulasi.<sup>19</sup> Di dalam sirkulasi darah Hsp ekstraselular yang bebas mempengaruhi reseptor berupa *seven helix transmembrane protein receptor* yang melekat (*embedded*) pada membran sel T, lalu mengikat reseptors tersebut. Ikatan reseptors Hsp dengan reseptor pada membran sel T mempengaruhi proses enzimatik pada sel T tanpa Hsp harus menembus masuk ke dalam sel.<sup>15</sup> Ikatan reseptor-Hsp dengan reseptors membran sel T diduga menyebabkan diferensiasi sel T autoreaktif. Peran TCR yang dimediasi oleh kompleks MHC-peptid pada epitel kelenjar timus adalah salah satu teori penyebab diferensiasi tersebut. Interaksi TCR-MHC pada *low avidity* menyebabkan reaksi positif, sementara pada *high avidity* menyebabkan reaksi negatif atau terjadi penyakit autoimun. Aviditas ditentukan oleh tiga parameter yaitu pertama afinitas intrinsik antara TCR dan kompleks MHC-peptid kedua oleh densitas TCR pada membran permukaan sel T dan ketiga oleh densitas TCR-kompleks MHC-peptid pada membran APC.<sup>18</sup> Ketiga parameter tersebut bersama dengan molekul CD8, CD4 dan MHC kelas I atau kelas II menyebabkan induksi *unique peptide* sehingga terjadi proses seleksi diferensiasi positif dan negatif. Namun eliminasi  $\alpha\beta$  sel T oleh *self reactive TCR* masih belum jelas. Tidak hanya  $\gamma\delta$  sel T yang terlibat pada destruksi jaringan, mekanisme lain juga berperan pada penyakit autoimun seperti sel NK, APC, dan antibodi spesifik sel B menyebabkan *plaque* pada penyakit autoimun multipel sklerosis (penyakit SSP mirip SGB), *plaque* tersebut berkolonisasi pada oligodendroglial mengekspresikan Hsp, aksi  $\gamma\delta$  sel T disini bersifat sebagai sitotoksik.<sup>15,20</sup> Dalam keadaan normal, potensial reaktivitas sel T perifer mengontrol mekanisme toleransi di daerah perifer. Pada model percobaan penurunan ekspresi TCR menyebabkan toleransi pada sel T perifer terhadap *self antigen*, sedangkan penurunan regulasi TCR dan kostimulator CD28 menyebabkan aktivasi sel T. Hal ini oleh karena CD28 akan berinteraksi dengan B7-1 (CD80) dan

B7-2 (CD66) pada APC. Level ekspresi B7 inilah yang menyebabkan aktivasi sel T tidak hanya di perifer tapi juga di timus. Sekali sel T menjadi aktif, maka akan terjadi ekspresi CTLA-4 (CD152) karena reseptornya mirip CD28. Ikatan CTLA-4 dengan B7 pada APC memperlihatkan aviditas lebih besar daripada CD28, sehingga memberikan signal inhibisi pada sel T.<sup>18</sup> Dampak inhibisi CTLA-4 pada sel T menyebabkan induksi sistem imun untuk memproduksi sitokin pro-inflamasi seperti Il-2.

Ekspresi Hsp ekstraselular juga akan dilepas ke *exosome*, *internal vesicles multi vesicular bodies* (MVB) yang dilepas ke ekstraselular, kemudian akan mengikat reseptor pada sel membran.<sup>19</sup> Ikatan Hsp-*exosome-receptors* pada sel membran merupakan mediator imunostimulator MHC kelas I dan kelas II yang berimplikasi pada sistem imun. Pada saat yang bersamaan akibat peningkatan ekspresi Hsp sel saraf akan mengalami demielinisasi yang merupakan tanda sel mengalami nekrosis. Jadi produksi Hsp yang meningkat, menyebabkan demielinisasi yang akan menyebabkan Hsp intraselular secara pasif keluar ke dalam sistem sirkulasi. Di dalam sirkulasi Hsp akan memberikan signal pada sistem imun dan menstimulus sintesis sitokin pro-inflamasi.<sup>19</sup> Penelitian ini membuktikan hal tersebut berupa peningkatan ekspresi Il-2, Inf- $\gamma$  dan TNF- $\alpha$  sehingga memperberat EAN.

Ekspresi Hsp47 yang terdapat pada dendrit dan akson sel saraf bila dilepas akan berperan pada autoreaksi sel T (CD4). Adanya induksi Hsp47 menyebabkan sel Th0 (*Tcell helper*) berdiferensiasi menjadi sel Th1 dan sel Th2 yang memproduksi sitokin, sitokin pro-inflamasi baik yang dihasilkan oleh Th maupun makrofag menyebabkan semakin memperberat kerusakan mielin.<sup>6,7,8,9,10</sup>

Inokulasi *myelin protein* pada mencit pada penelitian kami menyebabkan peningkatan ekspresi Hsp47. Jika pengaruh Hsp47 pada sel T helper lebih ke arah sitokin inflamasi akan terjadi EAN berat apabila pengaruh pada sitokin anti-inflamasi maka, kerusakan mielin lebih ringan yang menyebabkan EAN ringan.

Dari uraian tersebut disimpulkan bahwa Hsp47 dapat digunakan sebagai deteksi faktor prognosis perjalanan EAN yang merupakan model dari SGB. Demikian juga permasalahan mengenai progresivitas EAN, ternyata Hsp47 bekerja melalui ekspresi sitokin pro-inflamasi dan anti-inflamasi.

## Daftar Pustaka

1. Hahn AF. Guillain-Barre syndrome. *Lancet* 1998;352: 635-41
2. Duan R.S. Inflammation and neurodegeneration in mouse nervous system, experiment application. (Thesis). Sweden: Karolinska University Stockholm, 2006.
3. Macario AJL, Macario EC. Sick chaperones, cellular stress, and disease. *N Engl J Med* 2005;353:1489-501
4. Raphael JC, Sharshar T. Guillain-Barre syndrome, epidemiological, clinical and therapeutic insight.. *Ann Med Intern* 2000;151 Suppl 1:1835-40.
5. Samuelson S, Towers TL. Anti-inflammatory activity if IGIV mediated through the inhibitory Fc receptor, 2000. Didapat dari: URL [www.sciencemag.org](http://www.sciencemag.org)
6. Hart DA, Reno C, Le Graverand MPH, Hoffman L, Kulyk W. Expression of heat shock protein 47 (Hsp47) mRNA level in rabbit connective tissues during the response to injury and the pregnancy. *Biochem Cell Biol* 2000;78:511-8
7. Wingerchuk DM, Lucchinetti CF, Noseworthy JH. Multiple sclerosis. Current pathophysiological concept. *Lab Invest* 2001;81:263-81
8. Pockley AG. Heat shock protein, inflammation, and cardiovascular disease. *circulation* 2002;105:1012-7
9. Van Eden W, Van der Z, Prakken B. Heat shock protein induce T-Cell regulation of chronic inflammation. *Nature* 2002;5:318-28
10. Wu T, Tanguay RM. Antibodies against heat shock protein on environmental stresses and disease. Friend or foe? *Cell stress and chaperones. J Article* 2006;11:1-12
11. Pelidou S, Henrietta, Zou Li-Ping, Deretzi Georgia. Enhancement of acute phase and inhibition of chronic phase of experimental autoimmune neuritis in lewis rats by intranasal administration of recombinant mouse interleukin 17. *Neurol* 2000;163:165-72
12. Zhu J, Zou LP, Zhu, SW. Cytotoxic T lymphocyte-associated antigen 4 (CTLA-4) blockade enhances incidence and severity of experimental autoimmune neuritis in resistant mice. *J Neuroimmunol* 2000;115: 111-7.
13. Zhu J, Pelidou SH, Deretzi G. PO glycoprotein peptides 56-71 and 180-199 dose-dependently induce acute and chronic experimental autoimmune neuritis in lewis rats associated with epitope spreading. *J Neuroimmunol* 2001;114:99-106.
14. McCombe PA, Nickson I, Pender MP. Cytokine expression by inflammatory cells from the spinal cords of lewis rats with experimental autoimmune encephalomyelitis induced by inoculation with myelin basic protein and adjuvants. *J Neuroimmunol* 1998; 88:30-8.
15. Razka M, Weigl E. Hsp in autoimun disease. *Biomed pap med sac univ palaki olomou czech rep* 2005;149:243-9.
16. Magnano MD, Robinson WH, Genovese MC. Demyelination and inhibition of tumor necrosis factor. *Clin Exp Rheumatol* 2004;22:134-40.
17. Lee H, Park C, Cho L. Double-stranded RNA induces iNOS gene expression in schwann cells, sensory neuronal death, and peripheral nerve demyelination. *Inter Sci* 2007;55:712-22.
18. Zugel U, Kaufmann SHE. Role of heat shock protein in protection from and pathogenesis of infection disease. *CMR* 1999;12:1-37.
19. Asea A. Mechanism of HSP72 release. *J.Biosci* 2007;572-84.