

KATARZYNA KURZEPA<sup>1)</sup>, KAJA KARASEŁŁO<sup>2)</sup>, BOŻENA BARANOWSKA<sup>1)</sup>, ANNA GRABOWSKA<sup>1)</sup>, WIESŁAWA WALISIEWICZ-NIEDBAŁSKA<sup>1)</sup>, KRZYSZTOF RÓŻYCKI<sup>1)</sup>, BARBARA KWIATKOWSKA-PATZER<sup>2)</sup>, ANDRZEJ W. LIPKOWSKI<sup>1),2),\*)</sup>

## Wykorzystanie odpadowego wieprzowego rdzenia kręgowego jako cennego źródła substancji aktywnych biologicznie

**Streszczenie** — Rdzeń kręgowy zwierząt rzeźnych jest uciążliwym odpadem przemysłu mięsnego. Wchodzące w ich skład białka strukturalne mogą być użyte jako potencjalne źródło strukturalnie zmodyfikowanych biopolimerów indukujących neurodegeneracyjne przemiany ośrodkowego układu nerwowego ssaków, w tym człowieka. Białka prionowe stanowią jednak duże zagrożenie. Zaproponowano zastosowanie procesu enzymatycznego trawienia wieprzowego rdzenia kręgowego w celu otrzymywania hydrolizatów zawierających niskocząsteczkowe peptydy. Peptydy te nie tworzą trwałych struktur trzeciorzędowych, a ich preparaty mogą być skutecznie oczyszczone, co pozwala na usunięcie niepożądanych substancji biologicznych. Głównym składnikiem rdzenia kręgowego ssaków są białka mieliny, strukturalne biopolimery izolujące i chroniące komórki nerwowe. Duże podobieństwo sekwencji białek mielinowych wieprzowych i ludzkich pozwala na zastosowanie hydrolizatów wieprzowych rdzeni nerwowych jako preparatów do indukcji tolerancji pokarmowej w stwardnieniu rozsianym. Pilotowe badania na modelach zwierzęcych potwierdzają potencjalną skuteczność terapeutyczną otrzymanych preparatów.

**Słowa kluczowe:** wieprzowy rdzeń kręgowy, cholesterol, białka mieliny, hydrolizaty białkowe, tolerancja pokarmowa, stwardnienie rozsiane.

### USE OF PIG SPINAL CORD WASTE AS A VALUABLE SOURCE OF BIOLOGICALLY ACTIVE SUBSTANCES

**Summary** — Animal spinal cords are a big problem in the production of meat on a large scale. The problem makes the structural proteins that constitute a treat as a potential source of structurally modified biopolymers that induce neurodegeneration of central nervous system of mammals, including humans. The use of the process of enzymatic digestion of the pig spinal cord to hydrolysates containing low molecular weight peptides were proposed. Peptides included in these hydrolysates do not form permanent tertiary structures, and their preparations can be effectively cleaned from unwanted biological contaminants. The main components of the mammalian spinal cord are of myelin proteins, biopolymers that insulate and protect nerve cells. Very similar amino acid sequences of pig and human myelin proteins helped propose the use of cores pig spinal cord as preparations for food tolerance induction in the treatment of multiple sclerosis. Pilot studies in animals models confirmed the potential therapeutic efficacy of the preparation obtained.

**Keywords:** pig spinal cord, cholesterol, myelin proteins, protein hydrolysates, oral tolerance, multiple sclerosis.

Przemysł spożywczy obok produktów konsumpcyjnych wytwarza również odpady naturalnych surowców, których składowanie i/lub utylizacja jest kosztowna. Odpady te są konglomeratami związków organicznych, których nawet częściowe przetworzenie może owocować otrzymaniem nowych materiałów do dalszego wyko-

rzystania np. jako komponenty żywności funkcjonalnej lub kosmetyków bioaktywnych.

Rdzeń kręgowy zwierząt rzeźnych w przemyśle mięsnym stanowi kłopotliwy odpad. Od dawna próbowano wykorzystać ten odpad jako źródło cennych związków. Głównym składnikiem rdzenia są tkanki układu nerwowego. Ściany komórek układu nerwowego zawierają duży procent cholesterolu. Przed laty właśnie z rdzenia kręgowego zwierząt rzeźnych izolowano cholesterol na potrzeby przemysłu farmaceutycznego i kosmetycznego [1], jednak pojawiające się nowe i tańsze metody jego otrzymywania spowodowały odejście od tej techno-

<sup>1)</sup> Instytut Chemii Przemysłowej, Zakład Biotechnologii, ul. Rydygiera 8, 01-793 Warszawa.

<sup>2)</sup> Instytut Medycyny Doświadczalnej i Klinicznej im M. Mossakowskiego PAN, ul. Pawińskiego 5, 02-106 Warszawa.

<sup>\*)</sup> Autor do korespondencji; e-mail: andrzej@lipkowski.org

logii. Rdzeń był również wykorzystywany jako źródło białka do wytwarzania paszy dla zwierząt. Niestety, prawdopodobnie nieprawidłowa termiczna obróbka prowadziła do przekształcania niektórych białek (Prion PrP-C) w strukturalne formy patologiczne (PrP-Sc), indukujące u skarmianych zwierząt agregację naturalnie występujących białek prionowych. Skutkowało to gwałtowną neurodegeneracją, określaną jako choroba szalonych krów (u ludzi określaną jako choroba Creutzfeldta-Jakoba). Ponieważ metody oczyszczania tak preparowanych białek nie gwarantują usunięcia patologicznie przekształconych białek prionowych PrP-Sc, to tkanki układu nerwowego w przemyśle spożywczym traktowane są jako odpad, który poddaje się kosztownej utylizacji.

Odpowiedzialne za przekazywanie bodźców komórki nerwowe rdzenia kręgowego chronione są przez specyficzne białka o ogólnej nazwie mielina. Okazuje się, że szereg chorób autoimmunologicznych układu nerwowego, w tym stwardnienie rozsiane, polega na rozpoznawaniu przez układ odpornościowy białek mieliny jako białka obce. We współpracy Instytutu Chemii Przemysłowej (IChP) z Instytutem Medycyny Doświadczalnej i Klinicznej (IMDiK) PAN zaproponowaliśmy aby preparat stanowiący hydrolizat wieprzowego rdzenia kręgowego zastosować jako źródło antygenów mieliny, który podawany doustnie powinien wywoływać tzw. „tolerancję pokarmową”, tzn. specyficzne odczulanie układu odpornościowego na antygeny podawane doustnie (jako pokarm) [2]. W IChP opracowano technologię otrzymywania odpowiedniego preparatu.

Komórki nerwowe są odpowiedzialne między innymi za przekazywanie bodźców nerwowych z obwodu do

ośrodkowego układu nerwowego. Włókna nerwowe są zasadniczym elementem tego systemu przekazywanego. Włókno nerwowe to wypustki komórki nerwowej, kończące się w pewnej odległości od ciała neuronu. Czasami długość takich włókien sięga kilkudziesięciu centymetrów. Część włókien o szczególnej roli w funkcjonowaniu organizmu, posiada osłonkę, która utworzona jest z lipidowo-białkowej substancji zwanej mielina. Takie włókna nazywamy mielinowymi albo rdzennymi. Głównymi składnikami mieliny są trzy białka, zasadowe białko mieliny (MBP od ang. *myelin basic protein*) (schemat A), mielinowe białko oligodendrocytów (MOG od ang. *myelin oligodendrocyte glycoprotein*) (schemat B), oraz białko proteolipidu (PLP od ang. *myelin proteolipid protein*) (schemat C). Ośrodkowy układ nerwowy (mózg i rdzeń) są oddzielone od obwodowego układu krwionośnego komórkami tworzącymi tak zwaną barierę krew-mózg (BBB od ang. *blood-brain barrier*). Bariera ta jest odpowiedzialna za selekcjonowanie substancji wnikających do ośrodkowego układu nerwowego. Oddzielenie ośrodkowego układu nerwowego od reszty organizmu powoduje, że dla układu odpornościowego funkcjonującego na obwodzie, białka znajdujące się po drugiej stronie BBB stają się w części obce. Patologiczne rozszczelnienie tej bariery powoduje wnikanie przeciwciał do ośrodkowego układu nerwowego. Tam następuje rozpoznanie fragmentów białek mieliny jako struktur białek obcych (antygeny) i rozpoczyna się proces autodestrukcyjnego trawienia białek mielinowych. Układ odpornościowy często rozpoznaje jako antygen fragment peptydowy jednego z białek mieliny (najczęściej MBP), ale w miarę rozwoju choroby, powstają przeciwciała do coraz większej liczby peptydowych sekwencji białek mieliny.

*Schemat A. Porównanie aminokwasowych sekwencji białkowych ludzkiego [3] i wieprzowego [4] zasadowego białka mieliny (MBP); w obydwu sekwencjach arginina w pozycji 241 jest zmetylowana*

*Scheme A. Comparison of the amino acid protein sequences of the human [3] and pig [4] myelin basic proteins (MBP), in both sequences of arginine residue in position 241 is methylated*

	10	20	30	40	50	60
Człowiek	MGNHAGKREL	NAEKASTNSE	TNRGESEKRR	NLGELSRTTS	EDNEVFGEAD	ANQNNGTSSQ
Wieprz	-----	-----	-----	-----	-----	-----
	70	80	90	100	110	120
	DTAVTDSKRT	ADPKNAWQDA	HPADPGSRPH	LIRLFSDAP	GREDNTFKDR	PSESEDELQTI
	-----	-----	-----	-----	-----	-----
	130	140	150	160	170	180
	QEDSAATSES	LDVMASQKRP	SQRHGSKYLA	TASTMDHARH	GFLPRHRDTG	ILDSIGRFFG
	-----	Ac-ASQKRP	SQRHGSKYLA	SASTMDHARH	GFLPRHRDTG	I-DSIGRFFG
	190	200	210	220	230	240
	GDRGAPKRG	GKDSHHPART	AHYGSLPQKS-	HGRTQDENPV	VHFFKNIIVTP	RTPPPSQGKG
	ADRGAPKRG	GKDGHHART	THYGSLPQKAQ	HGRPDENPV	VHFFKNIIVTP	RTPPPSQGKG
	250	260	270	280	290	300
	RGLSLSRFSW	GAEGQRPFG	YGGGRASYKS	AHKGFKGV-DA	QGTLSKIFKL	GGRDSRSGSP
	RGLSLSRFSW	GAEGQRPFG	YGGRAPDYKP	AHKGKGAQDA	QGTLSKIFKL	GGRDSRSGSP
	304					
	MARR					
	MARR					

Schemat B. Podobieństwo sekwencji glikoproteiny oligodendrocytów mieliny (MOG) ludzkiej [5] z sekwencją wieprzową [6]; zbieżność wynosi 96 %

Scheme B. The similarity of myelin oligodendrocyte glycoprotein (MOG) amino acid sequences of the human [5] and pig [6]; overlap in 96 %

	10	20	30	40	50	60
Człowiek	MASLSRPSLP	SCLCSFLLLL	LLQVSSSYAG	QFRVIGPRHP	IRALVGDEVE	LPCRISPGKN
Wieprz	MASLLSTSLP	SCLP <u>S</u> LLLLVL	LQLSSSS_AG	QFRVIGP <u>G</u> HP	IRALVGDEVE	LPCRISPGKN
	70	80	90	100	110	120
	ATGMEVGWYR	PPFSRVVHLY	RNGKDQDGQ	APEYRGRTEL	LKDAIGEGKV	TLRIRNVRFS
	ATGMEVGWYR	PPFSRVVHLY	RNGKDQDE <u>E</u> Q	APEYRGRTEL	LK <u>E</u> TIGEGKV	TLRIRH <u>V</u> RFS
	130	140	150	160	170	180
	DEGGFTCFRR	DHSYQEEAAM	ELKVEDPFYW	VSPGVLVLLA	VLPVLLQIT	VGLIFLCLQY
	DEGGFTCFRR	DHSY <u>G</u> EEAAM	ELKVEDPFYW	<u>I</u> NPGVLVLI	VLPVLLQIT	VGLVFLCLQ <u>R</u>
	190	200	210	220	230	240
	RLRGKLRAEI	ENLHRTFDPH	FLRVPCWKIT	LFVIVPVLGP	LVALIICYNW	LHRRLAGQFL
	RLRGKLRAEI	ENLHRTFDPH	FLRVPCWKIT	LFVIVPVLGP	LVALIICYNW	LHRRLAGQFL
	247					
	EELRNPF					
	EELRGSS					

Schemat C. Całkowita zbieżność ludzkich [7] i wieprzowych [8] sekwencji aminokwasów białka proteolipidu (PLP)

Scheme C. Complete overlap the human [7] and pig [8] amino acid sequence of proteolipid proteins (PLP)

	10	20	30	40	50	60
Człowiek	MGLLECCARC	LVGAPFASLV	ATGLCFFGVA	LFCGCGHEAL	TGTEKLIETY	FSKNYQDYEY
Wieprz	MGLLECCARC	LVGAPFASLV	ATGLCFFGVA	LFCGCGHEAL	TGTEKLIETY	FSKNYQDYEY
	70	80	90	100	110	120
	LINVIHAFQY	VIYGTASFFF	LYGALLLAEG	FYTTGAVRQI	FGDYKTTICG	KGLSATVTGG
	LINVIHAFQY	VIYGTASFFF	LYGALLLAEG	FYTTGAVRQI	FGDYKTTICG	KGLSATVTGG
	130	140	150	160	170	180
	QKGRGSRGQH	QAHSLERVCH	CLGKWLGHDP	KFVGITYALT	VVWLLVFACS	AVPVYIYFNT
	QKGRGSRGQH	QAHSLERVCH	CLGKWLGHDP	KFVGITYALT	VVWLLVFACS	AVPVYIYFNT
	190	200	210	220	230	240
	WTTCQSIAFP	SKTSASIGSL	CADARMYGVL	PWNAFPGKVC	GSNLLSICKT	AEFQMTFHLLF
	WTTCQSIAFP	SKTSASIGSL	CADARMYGVL	PWNAFPGKVC	GSNLLSICKT	AEFQMTFHLLF
	250	260	270	277		
	IAAFVGAAAT	LVSLLTFMIA	ATYNFAVLKL	MGRGTFK		
	IAAFVGAAAT	LVSLLTFMIA	ATYNFAVLKL	MGRGTFK		

Włókna nerwowe pozbawione ochrony mielinowej przestają funkcjonować prawidłowo, następują przerwy w przewodzeniu sygnałów i/lub deformacja tych sygnałów. Skutkiem są objawy choroby stwardnienia rozsianego (SM od łac. *sclerosis multiplex*), w tym dystrofie mięśniowe oraz bóle. Niestety, do chwili obecnej nie opracowano skutecznej metody leczenia stwardnienia rozsianego. Większość stosowanych terapii jedynie zmniejsza objawy i spowalnia postęp choroby [9]. Opierają się one na modyfikacji odpowiedzi odpornościowej. Powszechnie znany jest interferon beta [10], ale jego stosowanie jest ograniczone i drogie.

Obniżenie ogólnej odporności organizmu i związane z tym niebezpieczeństwa, jakimi są podatność na infekcje i nowotworzenie, stanowią główne zastrzeżenia przy stosowaniu związków nieselektywnie ingerujących w

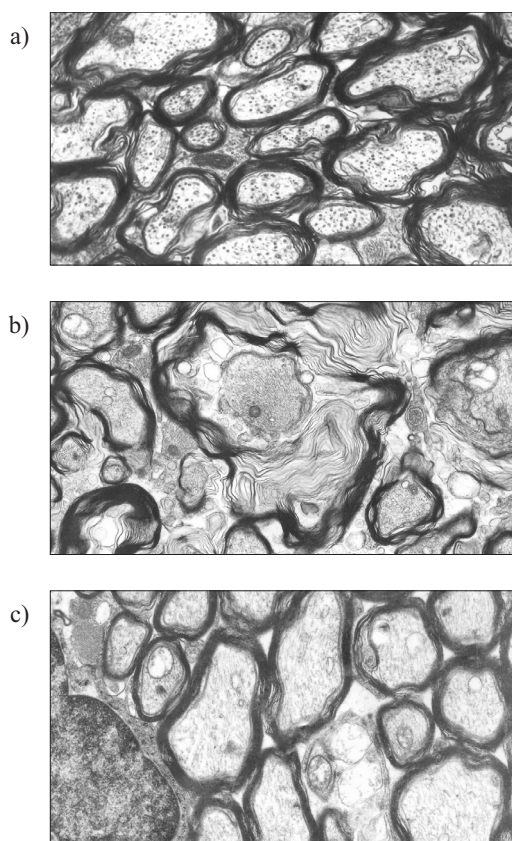
układ odpornościowy. Rozwiązaniem może być zastosowanie metody pozwalającej na specyficzne obniżenie odporności na antygeny pochodzące z białek mieliny, np. indukcja tolerancji pokarmowej na fragment białek mieliny.

Tolerancja pokarmowa została po raz pierwszy opisana przez Wellsa i Osborna już w roku 1911 (wg [11]). Spektakularne efekty tolerancji pokarmowej pokazał w roku 1946 Chase, który podając drogą pokarmową świnikom morskim 2,4-dinitrochlorobenzen całkowicie zapobiegł alergicznemu efektom skórny powodowanym przez ten silny uczulacz. Wytworzenie specyficznego systemu tolerancji pokarmowej wynika z konieczności rozpoznawania przez organizm makrocząstek pochodzących z pokarmu od inwazyjnych toksyn bakteryjnych lub białek wirusów. Makrocząsteczki z częściowo stra-

wionego pokarmu mogą przenikać przez błony śluzowe, dostawać się do krwi, a wraz z nią do narządów limfatycznych i tkanek obwodowych. Dlatego też jednym z elementów bariery jelito–krew jest system „prezentacji” substancji pokarmowych i indukowanie sygnału odczuwalającego na antygeny pochodzące z pokarmu [12]. Tolerancję pokarmową mogą indukować wszystkie białka i ich fragmenty oraz hapteny (małocząsteczkowe związki organiczne oddziałujące z białkami). Ponieważ w indukcji tolerancji pokarmowej uczestniczą limfocyty T, które rozpoznają jedynie fragmenty peptydowe, to polisacharydy i lipidy nie wywołują tego efektu.

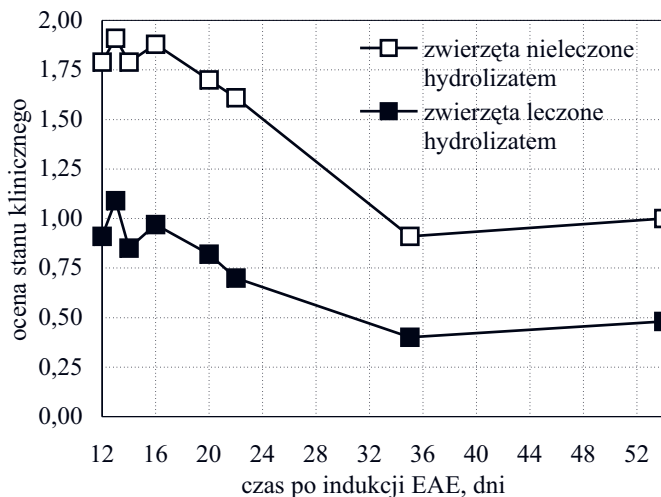
Zastosowanie tolerancji pokarmowej w leczeniu stwardnienia rozsianego zaproponował Al-Sabbagh i wspólnicy [13]. Podawanie wyizolowanego, całego wołowego MBP w modelu zwierzęcym stwardnienia rozsianego skutecznie obniżało objawy choroby. Chociaż pilotowe badania kliniczne potwierdziły założenia badawcze [14], zarzucono badania aplikacyjne. Prawdopodobnie jednym z powodów zakończenia badań była mniejsza, w porównaniu z aplikacją u zwierząt, skuteczność terapii. Zasadniczym powodem był jednak wybuch „choroby wściekłych krów” i odejście od stosowania białkowych preparatów zwierzęcych, szczególnie pochodzenia wołowego, jako potencjalnego źródła białek prionowych. Wierząc w skuteczność stosowania tolerancji pokarmowej w selektywnym obniżeniu odpowiedzi immunologicznej na antygeny mieliny, zaproponowaliśmy diametralnie inne rozwiązanie. Jako źródło antygenów białek mielinowych zaproponowaliśmy niskocząsteczkowe, peptydowe hydrolizaty wieprzowego rdzenia kręgowego [2]. Wybór rdzenia wieprzowego podyktowany był faktem, że nie zidentyfikowano u świni białek prionowych o toksycznej strukturze PrP-Sc. Ponadto analiza sekwencyjna białek mieliny wskazuje na dużą zbieżność sekwencyjną odpowiednich białek MBP, MOG i PLP. Wieprzowe białko MBP jest krótsze o 134-aminokwasowy fragment N-końcowy od ludzkiego MBP, jednakże wspólna część C-końcowa, z której pochodzi większość antygenów zidentyfikowanych w stwardnieniu rozsianym, różni się zaledwie kilkoma resztami aminokwasów. Białko PLP, które również jest częstym źródłem antygenów w stwardnieniu rozsianym jest całkowicie identyczne u świni i u człowieka. Zbieżność sekwencji ludzkiego i wieprzowego białka MOG wynosi aż 96 %. Istnieje więc duże prawdopodobieństwo zbieżności sekwencyjnej możliwych antygenów generowanych z rdzenia wieprzowego z antygenami mieliny człowieka. Drugą zasadniczą zmianą było odejście od stosowania „czystych” preparatów białkowych na rzecz hydrolizatów rdzenia, tkanki ośrodkowego układu nerwowego zawierającego wszystkie białka potencjalnie rozpoznawane przez komórki układu odpornościowego. Stwardnienie rozsiane jest chorobą autoimmunologiczną o bardzo niejednorodnym wachlarzu rozpoznawanych antygenów. Dodatkowo, często w miarę rozwoju choroby zakres antygenów się rozszerza. Dlatego też stosowanie w miarę szerokiej

gamy antygenów w tolerancji pokarmowej daje większe prawdopodobieństwo pełnego odczulenia. Jedną z kluczowych modyfikacji było zastąpienie całych, jednorodnych białek, mieszaniną hydrolizatów. Naturalne białka stanowią duże przestrzenne makrocząsteczki, które wyjątkowo trudno jest oczyścić z tworzących z nimi kompleksy innych białek. Te współwystępujące drobne zanieczyszczenia niezidentyfikowanych białek mogą stanowić potencjalne zagrożenie, dlatego też odchodzi się od preparatów białkowych pochodzenia zwierzęcego. Hydrolizaty białek są natomiast mieszaniną krótkich peptydów, które są pozbawione trwałej struktury i dlatego łatwo jest je rozdzielić i oczyścić usuwając niehydrolizowane białka. Stosowanie hydrolizatów ma jeszcze dodatkową zaletę. Częsteczkami odpowiedzialnymi za indukcję przekraczania bariery jelitowej i indukującymi tolerancję pokarmową są niskocząsteczkowe fragmenty białkowe. Zaburzenie prawidłowego trawienia jest jednym z częstych objawów stwardnienia rozsianego, skutkiem czego hydroliza podawanego białka może być w



Rys. 1. Obrazy z transmisyjnego mikroskopu elektronowego (TEM) mieliny szczurzego nerwu wzrokowego: a) zwierzę zdrowe, b) zwierzę z wywołanym EAE, c) zwierzę z wywołanym EAE, po 120-dniowym podawaniu doustnym hydrolizatu wieprzowego rdzenia kręgowego

Fig. 1. The transmission electron microscope (TEM) images of rat optic nerve myelin: a) the healthy animal, b) the animal with induced EAE, c) the animal with induced EAE after 120 days of oral treatment with pig spinal cord hydrolysate



Rys. 2. Wpływ skarmiania szczurów hydrolizatem wieprzowego rdzenia kręgowego na stan kliniczny szczurów z wywołanym EAE [18]

Fig. 2. Effect of feeding with pig spinal cord hydrolysates on the clinical condition of rats with induced EAE [18]

różnym stopniu skuteczna u poszczególnych pacjentów. Odpowiednie trawienie białek rdzenia daje pewność, że do jelita dotrą odpowiednie fragmenty peptydowe niezależnie od stanu pacjenta. Aby zastąpić naturalne trawienie, zastosowano trawienie pepsyną. Odpowiednio dobrane warunki pozwoliły na optymalizację hydrolizy, w wyniku której otrzymuje się mieszaninę zawierającą głównie peptydy o masie cząsteczkowej do 10 000 [15].

Otrzymane preparaty hydrolizatów przebadano na skuteczność zapobiegania i/lub odwracania objawów alergicznego zapalenia ośrodkowego układu nerwowego (EAE od ang. *experimental allergic encephalopathy*) w modelu zwierzęcym (szczury Lewis). Fizjologicznymi objawami EAE jest utrata masy ciała oraz zaburzenia ruchowe zwierzęcia. Głównym objawem mikroskopowym EAE są zaburzenia w strukturze mielinowej osłony nerwów (por. rys. 1a i 1b). Okazało się, że w wyniku długotrwałego podawania hydrolizatu wieprzowego rdzenia kręgowego zwierzętom z EAE uzyskano ogólną poprawę stanu klinicznego tych zwierząt (rys. 2) [16, 17]. Mikroskopowa analiza wykazała nie tylko zahamowanie destrukcji mieliny [16, 17], ale również jej regenerację (rys. 1c) [19, 20]. Dzieje się tak prawdopodobnie na skutek aktywnego obniżenia proliferacji splenocytów oraz poziomu interferonu  $\gamma$  zarówno we krwi obwodowej, jak i w ośrodkowym układzie nerwowym [16].

Obecnie prowadzone są prace nad opracowaniem odpowiedniej dawki i formy do przeprowadzenia odpowiednich badań przedklinicznych, a następnie zastosowania u ludzi. Ostatecznym celem i nadzieją prowadzonych prac jest otrzymanie preparatu do stosowania jako

celowany dodatek do żywności dla ludzi chorych na stwardnienie rozsiane. Stwardnienie rozsiane jest chorobą przewlekłą wymagającą stałego podawania substancji leczniczych. Istotne jest zatem również to, że koszt wytwarzania hydrolizatu wieprzowego rdzenia kręgowego jest niski. W zależności od skuteczności ostatecznego preparatu bierze się pod uwagę jego stosowanie jako zasadniczej substancji terapeutycznej lub preparatu wspomagającego inne metody farmakologiczne.

## LITERATURA

1. Pat. pol. 114 690 (1978).
2. Pat. pol. 314 367 (1997).
3. Nye S. H., Pelfrey C. M., Burkwit J. J., Voskuhl R. R., Lenardo M. J., Mueller J. P.: *Mol. Immunol.* 1995, **32**, 1131.
4. Kira J., Deibler G. E., Krutzsch H. C., Martenson R. E.: *J. Neurochem.* 1985, **44**, 134.
5. Pham-Dinh D., Allinquant B., Ruberg M., Della Gaspera B., Nussbaum J. L., Dautigny A.: *J. Neurochem.* 1994, **63**, 2353.
6. Ando A., Shigenari A., Kulski J. K., Renard C., Chardon P., Shiina T., Inoko H.: *Immunogenetics* 2005, **57**, 864.
7. Stoffel W., Giersiefen H., Hillen H., Schroeder W., Tunggal B.: *Biol. Chem. Hoppe Seyler* 1985, **366**, 627.
8. Baumgartner B. G., Deppe A., Rettenberger G., Leeb T., Hameister H., Brenig B.: *Mamm. Genome* 1999, **10**, 895.
9. Stüve O.: *J. Neurol. Sci.* 2009, **287**, S30, Supplement 1.
10. Markowitz C. E.: *Neurology* 2007, **68**, S8.
11. Brent L.: *Hum. Immunol.* 1997, **52**, 75.
12. Czajka A., Gołąb J.: *Nowa Klinika* 2002, **6**, 633.
13. Al-Sabbagh A. M., Goad E. P., Weiner H. L., Nelson P. A.: *J. Neurosci. Res.* 1996, **45**, 424.
14. Fukaura H., Kent S. C., Pietruszewicz M. J., Khoury S. J., Weiner H. L., Hafler D. A.: *J. Clin. Invest.* 1996, **98**, 70.
15. Lipkowski A. W., Baranowska B., Marczak E., Kwiatkowska-Patzer B., Gajkowska B., Walski M.: *BioFactors* 2000, **12**, 147.
16. Kwiatkowska-Patzer B., Michałkiewicz J., Zielinska J., Kasarek K., Kurzepa K., Lipkowski A. W.: *Acta Neurobiol. Exp.* 2009, **69**, 73.
17. Oderfeld-Nowak B., Zaremba M., Lipkowski A. W., Kwiatkowska-Patzer B., Triaca V., Aloe L.: *Arch. Ital. Biol.* 2003, **141**, 103.
18. Kwiatkowska-Patzer B., Baranowska B., Barcikowska-Litwin M., Lipkowski A. W.: „Suppression of experimental autoimmune encephalomyelitis in the rat by oral administration of spinal cord protein hydrolysate” w „*Neurochemistry*” (ed. Teelken A., Korf I.), Plenum Press, Nowy Jork 1997, str. 137–140.
19. Kwiatkowska-Patzer B., Gajkowska B., Baranowska B., Lipkowski A. W.: *Folia Neuropathol.* 1998, **37**, 245.
20. Kwiatkowska-Patzer B., Baranowska B., Walski M., Lipkowski A. W.: *Flia Neuropathol.* 2003, **41**, 29.