

**Univerzita Karlova**

**Lékařská fakulta v Hradci Králové**

Lymfocytární populace u roztroušené sklerózy a disabilita

Lymphocyte population in multiple sclerosis and disability

MUDr. Zbyšek Pavelek, Ph.D.

---

**Prohlášení autora**

Prohlašuji tímto, že jsem habilitační práci zpracoval samostatně a uvedl všechny použité informační zdroje. Zároveň dávám souhlas k tomu, aby tato práce byla uložena v Lékařské knihovně Lékařské fakulty v Hradci Králové a zde užívána ke studijním účelům za předpokladu, že každý, kdo tuto práci použije pro svou publikační nebo přednáškovou činnost, se zavazuje, že bude tento zdroj informací řádně citovat.

Souhlasím se zpřístupněním elektronické verze své práce v informačním systému Univerzity Karlovy.

Hradec Králové, 2020

MUDr. Zbyšek Pavelek, Ph.D.

## **Poděkování**

Děkuji svému školiteli doc. MUDr. Martinu Vališovi, Ph.D. za odborné konzultace, profesionální vedení a přátelství během celého postgraduálního studia. Děkuji za spolupráci celému kolektivu Neurologické kliniky Fakultní nemocnice v Hradci Králové. Dále bych chtěl poděkovat kolegům z Ústavu klinické imunologie a alergologie, bez jejichž pomoci bych nemohl výzkum realizovat. Nejsrdečnější dík patří mé manželce Petře a synům Martinovi a Adamovi za jejich nesmírnou podporu a pochopení mé vědecké touhy.

# OBSAH

<b>SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK.....</b>	<b>6</b>
<b>ÚVOD .....</b>	<b>8</b>
<b>1 ROZTROUŠENÁ SKLERÓZA – PŘEHLED O SOUČASNÉM STAVU PROBLEMATIKY .....</b>	<b>9</b>
1.1 Etiopatogeneze onemocnění.....	9
1.1.1 Vliv lokální imunitní odpovědi na RS.....	9
1.1.2 Patologie lézí v CNS .....	9
1.1.3 Migrace lymfocytů do CNS .....	10
1.1.4 Role T-lymfocytů v patogenezi RS .....	11
1.1.5 Role B-lymfocytů v patogenezi RS.....	12
1.2 Diagnostika onemocnění.....	13
1.2.1 Magnetická rezonance .....	14
1.2.2 Mozkomíšní mok .....	15
1.2.3 Evokované potenciály .....	15
1.3 Klasifikace onemocnění .....	15
1.3.1 Klasifikace dle National Multiple Sclerosis Society .....	15
1.3.2 CIS a RIS.....	16
1.3.3 Nová klasifikace s ohledem na aktivitu a progresi onemocnění .....	18
1.4 Klinické projevy.....	20
1.4.1 Časté symptomy RS .....	21
1.4.2 Méně časté projevy RS.....	23
1.5 Léčba RS.....	24
1.5.1 Cíle léčby RS (CIS a RR RS).....	25
1.5.2 Zahájení léčby .....	25
1.5.3 Léčba akutní ataky.....	26
1.5.4 Léky I. linie (CIS a RR RS) .....	26
1.5.5 Rozhodovací proces v léčbě I. linie.....	27
1.5.6 Léky 1.5 a II. linie (RR RS) .....	28

1.5.7 Rozhodovací proces v léčbě II. linie .....	32
1.5.8 Léčba sekundárně progresivní formy onemocnění .....	33
1.5.9 Léčba primárně progresivní formy onemocnění .....	34
1.6 Prediktory léčby a průběh onemocnění.....	35
1.6.1 Relaps onemocnění.....	35
1.6.2 Magnetická rezonance .....	36
1.6.3 Neurodegenerativní procesy .....	36
1.6.4 Biomarkery .....	37
<b>2 VÝCHODISKA A CÍLE .....</b>	<b>40</b>
2.1 Populace lymfocytů v průběhu léčby INFβ-1b .....	40
2.2 Populace lymfocytů v průběhu léčby GA .....	40
2.3 Srovnání účinnosti subkutánně podávaného INFβ-1a 44 μg, DMF a fingolimodu v reálné klinické praxi .....	41
2.4 Populace lymfocytů u roztroušené sklerózy a disabilita .....	41
2.5 CD4+/CD45RO+: biomarker při léčbě roztroušené sklerózy GA .....	41
2.6 Tolerabilita, účinnost léčby a kvalita života pacientů léčených intramuskulárním INFβ-1a po předcházející jiné injekční léčbě roztroušené sklerózy .....	41
2.7 RebiSmart® – elektronický aplikátor v léčbě RS s vysokou adherencí a snadným použitím .....	42
<b>3 AUTOROVY PRÁCE K TÉMATU.....</b>	<b>43</b>
<b>4 KOMENTÁŘE VÝSLEDKŮ PRACÍ.....</b>	<b>98</b>
4.1 Populace lymfocytů v průběhu léčby INFβ-1b .....	98
4.2 Populace lymfocytů v průběhu léčby GA .....	98
4.3 Srovnání účinnosti subkutánně podávaného INFβ-1a 44 μg, DMF a fingolimodu v reálné klinické praxi .....	99
4.4 Populace lymfocytů u roztroušené sklerózy a disabilita .....	100
4.5 CD4+/CD45RO+: biomarker při léčbě roztroušené sklerózy GA .....	100
4.6 Tolerabilita, účinnost léčby a kvalita života pacientů léčených intramuskulárním INFβ-1a po předcházející jiné injekční léčbě roztroušené sklerózy .....	101
4.7 RebiSmart® – elektronický aplikátor v léčbě RS s vysokou adherencí a snadným použitím .....	101

<b>5 ZÁVĚRY PRO PRAXI .....</b>	<b>102</b>
5.1 Populace lymfocytů v průběhu léčby INFβ-1b .....	102
5.2 Populace lymfocytů v průběhu léčby GA .....	102
5.3 Srovnání účinnosti subkutánně podávaného INFβ-1a 44 μg, DMF a fingolimodu v reálné klinické praxi .....	102
5.4 Populace lymfocytů u roztroušené sklerózy a disabilita .....	102
5.5 CD4+/CD45RO+: biomarker při léčbě roztroušené sklerózy GA .....	103
5.6 Tolerabilita, účinnost léčby a kvalita života pacientů léčených intramuskulárním INFβ-1a po předcházející jiné injekční léčbě roztroušené sklerózy .....	103
5.7 RebiSmart® - elektronický aplikátor v léčbě RS s vysokou adherencí a snadným použitím .....	103
<b>6 PUBLIKACE .....</b>	<b>103</b>
<b>7 LITERATURA .....</b>	<b>111</b>

## SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK

<b>ARR</b> .....	Annualized Relapse Rate – roční počet relapsů
<b>CIS</b> .....	Clinically Isolated Syndrome – klinicky izolovaný syndrom
<b>CNS</b> .....	Centrální nervový systém
<b>CSF</b> .....	Cerebrospinal fluid – mozkomíšní mok
<b>CDMS</b> .....	Clinically definite multiple sclerosis – klinicky definitivní roztroušená skleróza
<b>DMD</b> .....	Disease Modifying Drugs – léky modifikující onemocnění
<b>DMF</b> .....	Dimethyl fumarát
<b>EAE</b> .....	Experimentální autoimunitní encefalitida
<b>EDSS</b> .....	Expanded Disability Status Scale – škála
<b>GA</b> .....	Glatiramer acetát
<b>HLA</b> .....	Human Leukocyte Antigen – lidský leukocytární antigen

**IgA** ..... Imunoglobulin A  
**IgG** ..... Imunoglobulin G  
**IgM** ..... Imunoglobulin M  
**IL** ..... Interleukin  
**INF $\beta$**  ..... Interferon beta  
**INF $\beta$ -1a** ..... Interferon  $\beta$ -1a  
**INF $\beta$ -1b** ..... Interferon  $\beta$ -1b **MR**  
..... Magnetická rezonance  
**PML** ..... Progresivní multifokální leukoencefalopatie  
**RIS** ..... Radiologically Isolated Syndrome – radiologicky izolovaný syndrom  
**RS** ..... Roztroušená skleróza  
**RR RS** ..... Relaps-remitentní roztroušená skleróza  
**VEP** ..... Visual Evoked Potential – zrkové evokované potenciály

# ÚVOD

Roztroušená skleróza (dále také jako RS) je imunopatologické onemocnění charakterizované zánětlivým postižením struktur centrálního nervového systému a neurodegenerativními změnami mozku (Krejsek, 2014). Je charakterizována infiltrací leukocytů do CNS, lokální destrukcí myelinových obalů nervových vláken a postupnou ztrátou oligodendrocytů a axonů (Goodin et Bates, 2009). Onemocněním je v Evropě postiženo více než 700 000 pacientů, celosvětově pak více než 2,5 miliónů (Browne et al., 2013). Přes značné pokroky v diagnostice a léčbě tohoto závažného onemocnění zůstává etiologie RS neznámá.

V patogenezi se předpokládá vliv genetických i environmentálních faktorů (Steinman, 2001). Mezi environmentální vlivy řadíme nedostatek vitamínu D, nedostatečnou expozici slunečnímu záření, virové infekce, stres a rovněž kouření a střevní mikrobiota (Holick, 2004; Salzer et al, 2012; Pohl et al., 2006). Primární roli v patogeneze RS má pravděpodobně geneticky determinovaná imunitní odpověď. „Genome-wide association study“ jednoznačně potvrdily geneticky determinovanou dysfunkci T a B buněk (Matesanz et al., 2012; Hindorff et al., 2009). Na rozvoj RS prokazatelně působí HLA systém (Human Leucocyte Antigen). Zvýšené riziko mají nosiči alely HLA-DRB5\*0101, HLA-DRB1\*1501, HLA-DQA1\*0102 a HLA-DQB1\*0602 (International Multiple Sclerosis Genetics Consortium, 2005). U takto geneticky disponovaného jedince dojde vlivem působení vnějších faktorů k rozvoji zánětlivé odpovědi vedoucí k demyelinizaci, axonální a neuronální ztrátě.

RS je nemoc, jejíž imunopatogeneze je poměrně dobře známa a má vytvořen experimentální zvířecí model, tzv. experimentální autoimunitní encefalitidu (EAE).



# 1 ROZTROUŠENÁ SKLERÓZA – PŘEHLED O SOUČASNÉM STAVU PROBLEMATIKY

## 1.1 Etiopatogeneze onemocnění

### 1.1.1 Vliv lokální imunitní odpovědi na RS

CNS byl tradičně považován za imunoprivilegovanou část organismu (Weller et al., 2006). Předpokládalo se, že neexistuje imunitní dohled na CNS. Tento názor se však v současné době dramaticky změnil. Hematoencefalická bariéra je regulovaně prostupná pro buňky imunitního systému, což se dříve nepředpokládalo (Sallusto et al., 2012). Navíc mikroglie, které jsou součástí monocyto-makrofágového systému, jsou velmi aktivní v imunitní regulaci (Ransohoff and Perry, 2009). Vzájemná interakce mezi T-lymfocyty a mikroglie pak hraje významnou roli ve vzniku demyelinizačních lézí CNS.

### 1.1.2 Patologie lézí v CNS

RS je charakterizována přítomností lézí v CNS, které jsou nazývány plakami. Typicky se vyskytují periventrikulárně, juxtakortikálně, infratentoriálně nebo v oblasti krční míchy. Jednotlivé plaky jsou velmi variabilní vzhledem k přítomnosti různého stupně zánětu, demyelinizace, remyelinizace nebo axonální ztráty. Z časového hlediska se rozlišují akutní a chronické plaky. Chronické plaky pak mohou být aktivní a inaktivní. Akutní plaky představují časnou fázi vznikající léze. Je pro ně typická robustní zánětlivá reakce s přítomnými T-lymfocyty, monocyty a makrofágy (Frohman et al., 2006). I když jsou axony obvykle zachovány, mohou být extenzivně poškozeny už v akutní fázi RS (Trapp et al., 1988). V inaktivním chronickém plaku jsou vymizelé oligodendrocyty, chybí myelin, jsou zmnožené fibrilární astrocyty, axony jsou poškozeny. Chronická aktivní plaka je odlišena přítomností zánětu na okraji ložiska (Greenfield et al., 2008). Lucchinetti et al. (2004) navrhli čtyři kategorie základních imunopatologických vzorců lézí RS. Pro vzorec I je příznačná přítomnost T-lymfocytů a makrofágů, tvorba splývavých demyelinizačních lézí s relativním ušetřením axonů. Vzorec II

je charakterizován infiltrací T-lymfocyty a makrofágy, přítomností depozit imunoglobulinů, aktivovaného komplementu a degradačních produktů myelinu. Vzorec III se odlišuje nápadnou ztrátou oligodendrocytů na okraji léze a preferenční ztrátou MAG (MyelinAssociated Protein). Dystrofie oligodendrocytů s nepřítomnou remyelinizací je typická pro vzorec IV. Typy II a III jsou nejčastější.

### 1.1.3 Migrace lymfocytů do CNS

Bariéra mezi cévním řečištěm a CNS je nazývána hematoencefalická. Morfologickým podkladem hematoencefalické bariéry je z krevní strany souvislá vrstva endotelu mozkových kapilár přiléhající k bazální membráně a ze strany mozkového parenchymu vrstva astrocytů a mikroglie. Endotel mozkových kapilár se odlišuje od endotelu v jiných lokalizacích tím, že je bez fenestrací a endotelové buňky jsou spojeny těsnými kontakty (tight junction).

Vstup aktivovaných lymfocytů do CNS je několikastupňový proces, který je významně usnadněn v průběhu zánětlivé reakce. Za působení cytokinů, např. TNF $\alpha$  (Tumor Necrosis Factor  $\alpha$ ), interleukinu 1 (IL-1) nebo IL-6, dochází k adhezi aktivovaných převážně paměťových T-lymfocytů na endotelové buňky mozkových kapilár. Zde je nezbytná interakce mezi adhezní molekulou ICAM-1 (Intercellular Adhesion Molecule) na endotelové buňce a LFA1 (Lymphocyte Function-associated Antigen 1) doplněná o interakce mezi integrínovou adhezní molekulou VLA-4 (Very Late Antigen-4) na lymfocytech a molekulou VCAM1 (Vascular Cell Adhesion Molecule) na endotelových buňkách. Následuje průnik lymfocytu hematoencefalickou bariérou do mozkového parenchymu pomocí proteolytických enzymů (matrixových metaloproteáz). Tyto proteázy lymfocyty samy produkují. Jejich pohyb v CNS je řízen prostřednictvím cytokinů, které jsou tvořeny především buňkami imunitního systému. V mozkomíšním moku u nemocných s RS je zvýšena koncentrace C-C chemokinů RANTES (Regulated upon Activation Normal T cell Expressed and Secreted) a MIP-1 $\alpha$  (Macrophage Inflammatory Protein) (Bacon and Harrison, 2000). Během zánětlivého procesu se také stává endotel prostupný pro makromolekuly z plazmy, zvyšuje expresi molekul HLA II. třídy a adhezních molekul.

#### 1.1.4 Role T-lymfocytů v patogenezi RS

T-lymfocyty po vzniku v kostní dřeni migrují do thymu, kde dozrávají. Rozlišujeme dvě kategorie lymfocytů. Tc lymfocyt – cytotoxický T-lymfocyt ničí virem napadené a nádorové buňky. Tc lymfocyty se označují jako CD8+ T-lymfocyty pro přítomnou CD8 diferenciací skupinu povrchových glykoproteinů na jejich vnější straně cytoplazmatické membrány. T<sub>h</sub> lymfocyt – pomocný T-lymfocyt využitím cytokinů stimuluje imunitní reakci.

Dělí se především na Th1 lymfocyty a Th2 lymfocyty. Th lymfocyty označujeme jako CD4+ T-lymfocyty.

K aktivaci autoreaktivních T-lymfocytů dochází v periferních lymfatických uzlinách. Tohoto procesu se účastní antigen prezentující dendritické buňky, které na svém povrchu vystavují antigenní peptidy za pomoci MHC II. třídy (Major Histocompatibility Complex). Tyto MHC komplexy následně rozeznává T-lymfocyt pomocí svého T-buněčného receptoru. Aktivované T-lymfocyty poté migrují do CNS, kde dochází k zánětlivé reakci.

Už v modelu EAE bylo prokázáno, že některé struktury v CNS jsou pravděpodobným terčem autoreaktivních T-lymfocytů. Onou klíčovou strukturou jsou myelinové obaly nervových vláken. V CNS jsou myelinové obaly nervových vláken produkovány oligodendrocyty. Základním stavebním kamenem myelinu je myelinový bazický protein (MBP). MBP se zároveň považuje za nejdůležitější autoantigen v patogenezi RS. Je prokázána shoda v sekvencích aminokyselin tohoto proteinu se sekvencemi viru Epstein-Barrové (EBV) (Wucherpfennig and Strominger, 1995). Pomocí longitudinálních analýz vzorků séra sbíraných více než 10 let před propuknutím RS bylo zjištěno, že riziko vývoje RS se signifikantně zvyšuje se zvyšujícím se titrem protilátek ve třídě IgG vůči EBV (Lünemann et al., 2007). Dále existuje shoda v sekvencích aminokyselin MBP s polymerázou viru hepatitidy B, proteinů virů spalniček, herpes simplex viru, lidským herpes virem 6 (HHV-6), virem chřipky i adenovirem (Faure, 2005; Gudmundsdottir et al., 2006; Liebert, Linington et ter Meulen, 2008; Lünemann et al., 2007; Soldan et al, 2007). Jiné autoantigeny, resp. strukturní proteiny myelinu, podílející se na patogenezi RS jsou MAG, MOG (Myelin Oligodendrocyte Glycoprotein), PLP

(Proteolipid Peptide) a MOBP (Myelin-associated oligodendrocyte basic protein) (de Rosbo et al., 2004).

V zánětlivé reakci dominuje působení Th1 T-lymfocytů, Th17 T-lymfocytů a aktivovaných makrofágů. **Subpopulace Th1 T-lymfocytů** je odpovědná za rozvoj cytotoxické reakce. Th1 T-lymfocyty produkují prozánětlivé cytokiny interferon  $\gamma$  (INF $\gamma$ ), Tumor Necrosis Factor  $\beta$  (TNF $\beta$ ) a interleukin 2 (IL-2). Th17 T-lymfocyty mají pravděpodobně rozhodující roli v imunopatogenezi RS. Tento subset produkuje interleukiny IL-17, IL-21, IL-22 a IL-26. IL-17 receptory jsou přítomny v akutních i chronických plakách RS. Komiyama et al. (2006) prokázali významné snížení klinické závažnosti onemocnění u IL-17 deficientních myši. Treg T-lymfocyty působí regulačně proti aktivitám subsetu Th17.

Dysfunkce Treg T-lymfocytů má významnou roli v patogenezi RS (Costantino, Baecher-Allan et Hafler, 2008).

**Th2 subpopulace T-lymfocytů** působí v antagonistickém vztahu k Th1 subpopulaci Tlymfocytů. Produkuje protizánětlivé cytokiny IL-4 a IL-13, rovněž reguluje diferenciaci B lymfocytů, izotypové přepnutí syntézy imunoglobulinů (Gandhi, Laroni et Weiner, 2009).

**Cytotoxické T-lymfocyty** přítomné v lézích mají regulační funkci ve vztahu k progresi onemocnění. Zprostředkovávají supresi Th-lymfocytů prostřednictvím sekrece perforinu, který je pro Th-lymfocyty cytotoxický. Rovněž způsobují transekci axonů a zvyšují vaskulární permeabilitu (Kasper et Shoemaker, 2010).

Role T-lymfocytů v imunopatogenezi RS je komplexní, zahrnující prozánětlivé i protizánětlivé pochody.

### 1.1.5 Role B-lymfocytů v patogenezi RS

Přestože byly T-lymfocyty donedávna považovány za zcela klíčovou součást patogeneze RS, nelze opomíjet ani podíl humorálních složek imunity na poškozující zánětlivé reakci. B-lymfocyty jsou zodpovědné především za specifickou, protilátkami zprostředkovanou imunitní odpověď. Exprimují CD20. Vznikají v kostní dřeni, jejich další zrání probíhá po setkání s

antigenem v sekundárních lymfatických orgánech. Diferencují se v plazmatické buňky, které produkují imunoglobuliny a paměťové buňky.

Autoreaktivní B-lymfocyty mají významnou roli ve zprostředkování poškození tkáně u nemocných s RS. Prostupují hematoencefalickou bariérou, procházejí po stimulaci autoantigenem procesem zrání a klonální expanze v CNS. Tato populace B-lymfocytů a plazmatických buněk může být detekována v lézích RS, v mozkomíšním moku, dokonce i periferní krvi (Hauser, 2015). Vyšetření mozkomíšního moku je velmi důležité vyšetření napomáhající k definitivní diagnóze RS (Polman et al., 2011). Izoelektrickou fokuzací vzorku mozkomíšního moku lze u nemocných s RS nalézt tzv. oligoklonální pásy, které jsou považovány za důkaz oligoklonální expanze B lymfocytů nacházejících se přímo v CNS. Přítomnost oligoklonálních imunoglobulinů je důkazem intratékální syntézy specifických protilátek. Na zvýšené hladině imunoglobulinů v likvoru nemocných s RS se největší měrou podílejí protilátky v třídě IgG.

Role B-lymfocytů v patogenezi RS je velmi různorodá. Produkují protilátky, jsou vysoce efektivní antigen-prezentující buňky (APC), tvoří cytokiny (protizánětlivé IL-10 a prozánětlivé TNF $\alpha$  a IL-6). V neposlední řadě tvoří ektopické lymfoidní folikuly, které byly nalezeny na meningách nemocných se sekundárně progresivní RS.

## 1.2 Diagnostika onemocnění

Základ diagnostiky choroby vyplývá z klinického hodnocení pacientových obtíží a fyzikálního vyšetření, které ukazuje na lézi CNS. Ačkoli jsou klinická data stále významná, nezastupitelnou roli hraje MR mozku a míchy, podpořená vyšetřením mozkomíšního moku. Všechny tyto tři uvedené parametry zaujímají klíčovou roli v kritériích dle McDonald, revidovaných v roce 2017 (Tabulka č.1) (Thompson et al., 2018).

Tabulka č. 1: Diagnostická kritéria pro RS dle McDonald, revidovaná v roce 2017

<b>Klinická kritéria (Ataky)</b>	<b>Objektivní (léze)</b>	<b>Další údaje potřebné ke stanovení dg</b>
--------------------------------------	--------------------------	---

<b>2 nebo více</b>	Objektivní klinický průkaz $\geq$ 2 lézí nebo objektivní klinický průkaz 1 léze s přijatelným anamnestickým průkazem předchozí ataky	Žádné. Klinická symptomatika je dostačující; další doklady jsou žádoucí, musí být v souladu s RS
<b>2 nebo více</b>	Objektivní klinický průkaz 1 léze	DIS (diseminace v prostoru): další klinická ataka z jiné lokalizace v CNS nebo nová léze na MR
<b>1</b>	Objektivní klinický průkaz $\geq$ 2 lézí	DIT (diseminace v čase): druhá klinická ataka nebo nález na MR nebo přítomnost oligoklonálních pásů v likvoru
<b>1</b>	Objektivní klinický průkaz 1 léze	DIS (diseminace v prostoru): další klinická ataka z jiné lokalizace v CNS nebo na MR DIT (diseminace v čase): druhá klinická ataka nebo nález na MR nebo přítomnost oligoklonálních pásů v likvoru
<b>0</b>		Rok progresu nemoci (retrospektivně nebo prospektivně) a nejméně dvě následující kritéria ze tří: DIS (diseminace v prostoru) v mozku prokázána pomocí $\geq$ 1 T2 léze v periventrikulární, juxtakortikální/kortikální nebo infratentoriální oblasti; DIS v míše prokázána pomocí $\geq$ 2 T2 lézí; nebo pozitivní nález v mozkomíšním moku (2 nebo více oligoklonálních pásů a/nebo IgG syntéza)

### 1.2.1 Magnetická rezonance

MR mozku a míchy zobrazí oblasti, kde proběhla demyelinizace (tzv. léze či plaky). Typické oblasti, kde se vyskytují ložiska RS, jsou: periventrikulární, juxtakortikální/kortikální, infratentoriální nebo míšní. Léze jsou charakterizovány jako T2 hyperintenzní ložiska o velikosti nejméně 3 mm v průměru. Pokud se alespoň 1 T2 hyperintenzní léze vyskytuje nejméně ve dvou ze čtyř výše oblastí CNS, je splněno kritérium pro diseminaci v prostoru pro RS. Pro zvýraznění aktivních lézí může být nitrozilně podána kontrastní látka gadolinium. Nová T2 a nebo gadolinium vychytávající léze na další MR oproti prvnímu MR skenu bez ohledu na načasování prvního skenu nebo současná přítomnost asymptomatických gadolinium vychytávajících lézí a nevychytávajících lézí v jakoukoli dobu, znamenají průkaz diseminace v čase (Tabulka č.2) (Thompson et al., 2018).

### 1.2.2 Mozkomíšní mok

Vyšetření mozkomíšního moku získaného lumbální punkcí může poskytnout důkaz chronického zánětu CNS. U mozkomíšního moku je testována přítomnost oligoklonálních proužků. Nález dvou a více proužků, které se nenacházejí v séru, je vysoce specifický pro pacienty s RS. Tento nález je přítomen až u 95 % nemocných a je považován za průkaz intrathékální syntézy imunoglobulinu G (IgG). Kromě průkazu oligoklonálních proužků ve třídě IgG, může být u nemocných přítomna i pozitivita ve třídě IgA, IgM nebo lehkých řetězců kappa a lambda. Data získaná z analýzy mozkomíšního moku poskytují řadu informací, které mohou napomoci nejen diagnóze RS, ale rovněž jejímu vyloučení. V rámci diferenciální diagnózy napomáhá k odlišení neuroinfekcí (zejména neuroborreliózy), akutní diseminované encefalomyelitidy, tumorů, paraneoplastických a neurodegenerativních onemocnění (Thompson et al., 2018).

### 1.2.3 Evokované potenciály

S dostupností magnetické rezonance význam evokovaných potenciálů v diagnostice RS klesá. Přesto si svou důležitou roli zachovávají VEP, a to zejména v diagnostice zánětu zrakového nervu. Typickým nálezem je pak prodloužení latence vlny P100, ev. rozdílná mezistranová latence vlny P100 (norma dle jednotlivých laboratoří).

## 1.3 Klasifikace onemocnění

### 1.3.1 Klasifikace dle National Multiple Sclerosis Society

V roce 1996 americká National Multiple Sclerosis Society (Národní společnost pro roztroušenou sklerózu) standardizovala definice čtyř forem/stádií RS (Lublin et Reingold, 1996).

**Relaps remitentní (RR)** forma je charakteristická střídáním atak a remisí a trvá zpravidla několik let. Jedná se o nejčastější formu RS, kterou onemocnění začíná až u 85 až 90 % pacientů. Ataky u RR formy trvají různě dlouho (několik týdnů až měsíců). Dochází po nich většinou k částečné až úplné remisi. V počátcích toho průběhu má zhruba polovina pacientů jen nepatrné

obtíže, což dotyčné nepřiměje vyhledat lékařskou pomoc. U této formy je možné, že nastane pouze jediná ataka, následována i desetiletím remise.

***Sekundárně progresivní (těž chronicko-progresivní, SP)*** forma následuje RR formu RS. V některých případech však k vývoji nemoci do této formy dojít nemusí. K této formě RS dochází tehdy, když organismus vyčerpá své regenerační schopnosti. Dochází při ní k mírnému nárůstu invalidity. Léky se tato forma již hůře ovlivňuje. Medián mezi počátkem relaps remitentní formy a jejím přechodem v sekundárně progresivní je 19 let.

***Primárně progresivní (PR)*** forma postihuje přibližně 10 až 15 % pacientů, kteří po prvotních symptomech RS neměli nikdy období remise. Je charakteristická pozvolnou progresí obtíží a invalidity od počátku onemocnění bez jakýchkoliv, nebo pouze vzácných a minimálních, remisí a zlepšení. Případné remise nejsou výrazně odděleny od atak. Vzniká u pacientů v pozdějším věku, přibližně ve věku kolem 40 až 50 let. Léky je tato forma obtížně ovlivnitelná.

***Relabující progresivní forma*** je velmi vzácná a nejméně běžná forma RS. RS je u ní od počátku progresivní, po atakách nedochází k žádnému či minimálnímu zlepšení a každý relaps zanechává trvalé neurologické poškození. Jedná se o nejhůře léčitelnou formu RS, která během období několika let vede k invaliditě, a jež se nejčastěji vyskytuje u lidí starších 40 let.

### 1.3.2 CIS a RIS

CIS jsou první neurologické potíže suspektní z rozvoje demyelinizačního onemocnění. Jedná se o neurologickou epizodu způsobenou zánětem v jedné nebo více částech CNS a trvající nejméně 24 hodin (Cree et Vollmer, 2008). Charakteristika CIS zahrnuje: typické symptomy pro RS, propuknutí obtíží v řádu hodin či dní, nález na MR je kompatibilní s diagnózou RS, remise v období několika týdnů a radiologická progresse lézí je kompatibilní s demyelinizací (Garcea et al., 2009). Klasifikace klinicky izolovaného syndromu je znázorněna v tabulce č. 2 (upraveno dle Miller et al., 2004).

Tabulka č. 2: Klasifikace klinicky izolovaného syndromu



<b>CIS</b>	<b>Charakteristika</b>
<b>Typ 1</b>	klinicky monofokální, nejméně jedna symptomatická léze při MR
<b>Typ 2</b>	klinicky multifokální, nejméně jedna symptomatická léze při MR
<b>Typ 3</b>	klinicky monofokální, bez symptomatických lézí při MR
<b>Typ 4</b>	klinicky multifokální, bez symptomatických lézí při MR
<b>Typ 5</b>	bez klinické ataky, MR nález splňuje kritéria pro RS

Typem č. 5 CIS je tzv. radiologicky izolovaný syndrom (RIS). Tento termín uvedli Okuda et al., (2009). Jedná se o skupinu pacientů s vysoce suspektním nálezem na MR z demyelinizačního onemocnění typu RS, nicméně bez klinických známek svědčících pro RS. Navržená diagnostická kritéria jsou v tabulce č. 3. „Preklinické stádium nemoci“, tj. RIS není dle současných platných doporučení indikací k zahájení léčby. Přesto v průběhu pěti let přibližně třetina pacientů konvertuje do klinicky definitivní RS, u menší části nemocných se rozvine primárně progresivní RS (Yamout et Khawajah, 2017). Rizikovými faktory jsou věk méně než 37 let, mužské pohlaví, přítomnost míšních lézí, přítomnost infratentoriálních lézí, vyšší počet T2 lézí na MR, patologický nález při vyšetření vizuálních evokovaných potenciálů a přítomnost oligoklonálních IgG pásů (Yamout et Khawajah, 2017; Maasaki et Miyazaki, 2017).

Tabulka č. 3: Diagnostická kritéria pro radiologicky izolovaný syndrom

<p>Přítomnost lézí v bílé hmotě míšni splňující následující MR kritéria:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- ovoidní homogenní léze postihující či nepostihující corpus callosum;</li> <li>- T2 hyperintenzní ložiska větší než 3 mm a splňující nejméně 3 ze 4 kritérií dle Barkhofa pro diseminaci v prostoru;</li> <li>- léze v bílé hmotě nemají obraz svědčící pro vaskulární onemocnění.</li> </ul>
<p>Chybění anamnestických dat svědčících pro remitující klinické symptomy s neurologickou dysfunkcí.</p>
<p>Anomálie zjištěné při MR nevysvětlují klinicky zdánlivé postižení v oblastech sociálních či zaměstnání.</p>

Anomálie zjištěné při MR nejsou způsobeny medicinskými podmínkami či efektem určitého podnětu (např. toxická expozice, abusus léků, drog).

Vyloučení jedince s MR nálezem suspektním z leukoaraiózy či extenzivního postižení bílé hmoty míšň nepostihující corpus callosum.

Anomálie na MR nejsou lépe vysvětleny jiným onemocněním.

### **1.3.3 Nová klasifikace s ohledem na aktivitu a progresi onemocnění**

V roce 2013 International Advisory Committee on Clinical Trials of MS navrhla vylepšenou klasifikaci, která lépe bere ohledy na aktivitu nemoci a progresi onemocnění (Lublin et al., 2013).

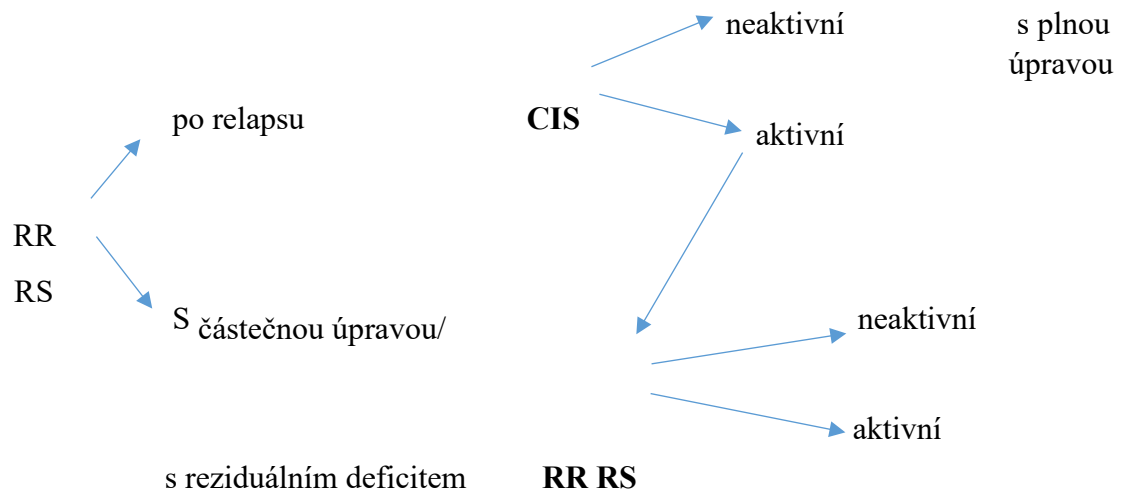
Za aktivitu onemocnění je považována klinická i radiologická aktivita. Klinická aktivita je považován klinický relaps onemocnění (akutní nebo subakutní epizoda nové nebo zhoršující se neurologické dysfunkce následována úplnou nebo částečnou úpravou při vyloučení floridního infektu nebo horečky. Radiologická aktivita je charakterizována přítomností gadolinium enhancující léze či nové nebo zvětšující se T2 hyperintenzní léze na MR mozku.

Progrese onemocnění je rovněž charakterizována klinickými i radiologickými parametry (MR). Za klinickou progresi onemocnění je považován plynulý nárůst disability bez jasné úpravy neurodeficitu (fluktuaace neurodeficitu může být přítomná). Radiologická progrese onemocnění není bohužel přesně definována. Mezi zvažované parametry patří zvýšení množství a objemu T1 hypointenzních lézí a ztráta objemu mozku.

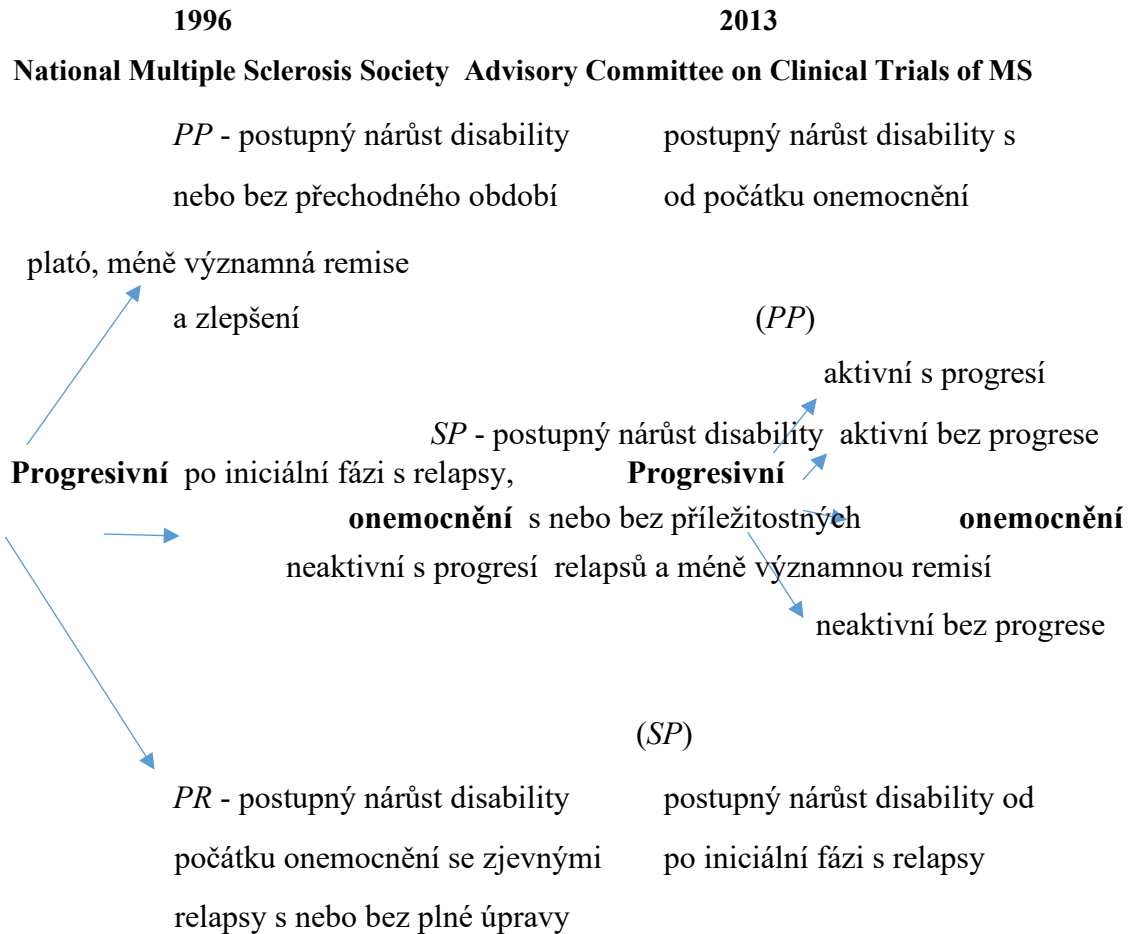
**1996**

**2013**

**National Multiple Sclerosis Society Advisory Committee on Clinical Trials of MS**



*Aktivita nemoci je charakterizována relapsem onemocnění a nebo aktivitou na MR (přítomné gadolinium enhancující léze; nové nebo zvětšující se T2 hyperintenzní léze na MR mozku prováděných nejméně jedenkrát ročně)*



*Aktivita nemoci je charakterizována relapsem onemocnění a/nebo aktivitou na MR (přítomné gadolinium enhancing léze; nové nebo zvětšující se T2 hyperintenzní léze na MR mozku prováděných nejméně jedenkrát ročně). Progrese onemocnění je vyhodnocena klinickým vyšetřením nejméně jedenkrát ročně.*

## 1.4 Klinické projevy

Roztroušená skleróza je onemocnění s prvními projevy začínajícími v mladší věkové populaci. Její klinické projevy jsou značně různorodé a mají mnohdy tendenci ke spontánní regresi, což může vést k pozdější diagnostice nemoci. Začátek onemocnění nemusí být náhlý. Mnozí pacienti popisují vleklou se obtíže charakteru protrahované únavy, ztráty energie, ztráty

tělesné hmotnosti, malátnosti objevující se několik týdnů až měsíce před rozvojem neurologické symptomatiky, která následně vede k diagnóze tohoto závažného onemocnění.

#### 1.4.1 Časté symptomy RS

Mezi časté symptomy RS patří poruchy citlivosti, poruchy zraku, slabost končetin, vertigo, únava, sexuální a sfinkterové obtíže, bolest, poruchy nálady, pokles kognitivní výkonnosti nebo porucha chůze.

Poruchy citlivosti mohou zahrnovat projevy parestezie, dysestezie nebo naopak snížení citlivosti poloviny těla, ev. jen určitého ohraničeného okrsku těla. Častý je tzv. Lhermittův příznak, který se projevuje elektrickými impulsy při předklonění hlavy. Poruchy citlivosti jsou nejčastějším iniciálním symptomem. Tyto projevy jsou mnohdy přehlíženy a bagatelizovány lékaři i pacienti. Mohou být zaměňovány za vertebrogenní obtíže či úžínové syndromy.

Druhým nejčastějším iniciálním příznakem onemocnění je porucha zraku charakteru retrobulbární neuritidy, resp. zánětu zrakového nervu. V průběhu několika dní dochází u nemocného k částečné nebo úplné ztrátě zraku na jednom oku. Mnoho pacientů popisuje současně retrobulbární bolest, která se horší pohybem očního bulbu. Vzácně porucha zraku progreduje v průběhu několika týdnů a imituje např. postižení optiku tumorem. Vyšetření očním lékařem je v akutní fázi nejednou s normálním nálezem, někdy je popisována mírná prominence a prosáknutí papily optického nervu. U přibližně poloviny nemocných dojde k úpravě ad integrum, ve zbylé polovině dojde u většiny postižených k signifikantnímu zlepšení nálezu. K úpravě dochází obvykle během dvou týdnů od manifestace zánětu. Typický následkem retrobulbární neuritidy je tzv. Uhthoffův fenomén. Jedná se o přechodné zhoršení zraku na oku dříve postiženým retrobulbární neuritidou a manifestuje se při zvýšené zátěži nemocného (stres, únava, horečka).

Slabost končetin (obrna, paréza) může postihovat jednu končetinu (monoparéza), může se jednat o postižení poloviny těla (hemiparéza) nebo paraparézu (např. postižení obou dolních končetin). Pacient může mít pocit slabosti, rychlé unavitelnosti, neobratnosti ruky, může dojít k zakopávání, zhoršení ve fyzickém výkonu.

Při vertigu mohou mít nemocní pocit malátnosti, pociťují poruchu rovnováhy, pocit „jako na kolotoči“. Vertigo může být doprovázenou poruchou okulomotoriky. Jejími projevy je diplopie (stálá nebo v určitých pohledech).

Je prokázáno, že únava patří mezi nejčastější (vyskytuje se až u 90% pacientů) a nejvíce pacienta zatěžující projev onemocnění. U pacientů s RS, na rozdíl od běžné únavy zdravých jedinců, se jedná o patologickou únavu. Více než polovinu nemocných RS únava ovlivňuje v běžných denních aktivitách. Nejméně třetina pacientů jí přikládá největší význam z faktorů ovlivňujících kvalitu života. Únava významně interferuje s motorickou funkcí, náladou, kvalitou života a významně omezuje schopnosti pacienta v běžném životě. Příčina nadměrné únavy je dosud nejasná. Pravděpodobně je multifaktoriální etiologie. Jedním ze základních faktorů je primární poškození centrálního nervového systému a dysfunkce imunitního systému způsobené vlivem prozánětlivých cytokinů, ztráty axonů a ovlivněním endokrinního systému. Jednou z častých příčin únavy je zvýšená teplota (zejména v letních měsících nebo při cvičení), kterou lze dobře ovlivnit pomocí různých chladících technik a zajištění klimatizace. Významný vliv mají také sekundární faktory onemocnění jako bolest, poruchy afektivity, spánku, deprese a nežádoucí účinky farmakoterapie.

Sfinkterové poruchy zahrnují jak problémy s močením tak i problémy se stolicí. Porucha může být ve smyslu urgencye (neodkladná nutnost močit) nebo naopak nemožnost úplného vyprázdnění močového měchýře, kdy moč v měchýři zůstává. Pacienti tak mohou trpět inkontinencí (problém s udržení moči). Porucha vyprazdňování močového měchýře je spojena s častými močovými infekcemi. Méně časté jsou potíže jako zácpa, průjem a ztráta kontroly vyprazdňování stolice (inkontinence).

Sexuální poruchy mohou být následkem ložiskového postižení CNS, rovněž následkem nadměrné únavy, spasticity nebo psychosociálních faktorů. U mužů se může objevit pokles libida, erektilní dysfunkce, problémy s ejakulací a dosažením orgazmu. U žen pak ztráta libida, snížená citlivost v oblasti pochvy a klitorisu, snížená vlhkost pochvy, problémy s dosažením orgazmu.

Bolest postihuje více než polovinu nemocných, jedná se zejména o chronickou bolest.

Je projevem spasticity, sekundárně vzniklých vertebrogenních obtíží při narušeném stereotypu chůze, jedním z projevů nemoci může být i neuralgie trojklanného nervu.

Typické jsou i neuropsychiatrické (psychické) symptomy, které lze rozdělit do dvou skupin. Do první patří emotivity, nálady a chování a do druhé kognitivní poruchy.

Mezi emoční změny u nemocných s RS řadíme depresi, zvýšenou iritabilitu, kolísání nálady, epizody nekontrolovaného pláče nebo smíchu. Deprese vzniká jako reakce na stres, stejně tak může být následkem imunologických nebo neurologických procesů postihující CNS, či jako nežádoucí efekt léčby.

Prevalence kognitivního postižení u RS se pohybuje mezi 40 - 70 %. Přestože se těžší úroveň kognitivního postižení vyskytuje v pozdějších stádiích nemoci, tzn. u nemocných v progresivním stádiu onemocnění, je kognitivní dysfunkce prokázána ve všech stádiích onemocnění. Za alarmující je považován výskyt v pediatrické populaci, kdy se kognitivní deficit vyskytuje u více než 30 % nemocných a nese si závažné důsledky do dalšího života.

Kognitivní dysfunkce významně ovlivňuje kvalitu života pacientů s RS. Omezuje fyzickou nezávislost, má vztah k možnostem pracovního uplatnění, schopnostem vykonávat běžné každodenní činnosti, dodržovat léčbu, a to včetně rehabilitace.

Porucha chůze může být důsledkem poruch citlivosti, paretického postižení končetin, porušené koordinace, poruchy zraku, nadměrné únavy nebo spasticity (stav zvýšeného svalového napětí).

#### **1.4.2 Méně časté projevy RS**

Mezi méně časté projevy RS patří poruchy řeči, poruchy polykání, třes, poruchy dýchání, porucha sluchu a paroxysmální projevy (epileptické záchvaty).

*Porucha řeči* jako dysartrie (porucha artikulace) a dysfonie (porucha fonace) se objevují zejména v pozdějších stádiích nemoci a v průběhu zvýšené únavy. Někdy se může objevit i balbuties (kuktavost).

*Tremor* (třes) patří mezi velmi obtížně ovlivnitelné a limitující projevy onemocnění. Typický je intenční mozečkový třes (kinetický třes stupňující se při cílení).

**Porucha polykání** (dysfagie) může provázet nemocné v pozdějších stádiích nemoci.

**Poruchy sluchu** postihují malou část nemocných s RS a raritně byla popsána porucha sluchu jako inicální symptom RS.

**Paroxysmální projevy** (epileptické záchvaty) postihují 2-3 % nemocných s RS, mohou být i prvním projevem RS.

## 1.5 Léčba RS

V České republice jsou aktuálně pro léčbu pacientů s RS dostupné interferon  $\beta$ -1a (INF $\beta$ -1a) (30 mcg v intramuskulární injekci 1x týdně), glatiramer acetát (GA) (20 mg v podkožní injekci denně nebo 40 mg 3x týdně), interferon  $\beta$ -1b (INF $\beta$ -1b) (0.25 mg (1 ml) subkutánně obden), INF $\beta$ -1a (22 mcg nebo 44 mcg subkutánně 3x týdně), peginterferon  $\beta$ -1a (125 mcg v podkožní injekci 1 x za 14 dní), teriflunomid (14 mg perorálně denně), DMF (240 mg perorálně 2x denně), fingolimod (0,5 mg perorálně denně), natalizumab (300 mg v intravenózní infuzi 1x za 4 týdny), alemtuzumab (ve dvou cyklech intravenózně po 12 měsících, v prvním cyklu 5 dnů po sobě 12 mg, po 12 měsících 3 dny po sobě 12 mg), kladribin (perorální forma v doporučené kumulativní dávce je 3,5 mg/kg tělesné hmotnosti v průběhu 2 let, tzn. celkem dvakrát 1 léčebný pulz v dávce 1,75 mg/kg/rok) a ocrelizumab (intravenózní infuze, kdy úvodní dávka 600 mg se podává jako dvě samostatné intravenózní infuze; první jako 300 mg infuze, následovaná po dvou týdnech druhou 300 mg infuzí, následné dávky se podávají v podobě jednorázové 600 mg jednou za 6 měsíců).

Léčba RS probíhá ve vysoce specializovaných centrech, ve kterých se pro nemocné v ideálním případě volí lék na základě charakteristiky pacienta a jeho komorbidit, jeho názoru, tíže a aktivity nemoci, bezpečnostního profilu léku. Obvykle je zahajována léčba imunomodulačním lékem první volby. Při jeho nedostatečném efektu nebo nesnášenlivosti dochází ke změně léku v rámci 1. linie (tzv. switch-in) či eskalaci léčby do linie vyšší (switchout). Mezi léky 1. linie řadíme interferony, GA a teriflunomid. DMF, fingolimod,



kladribin a ocrelizumab lze indikovat u nemocných se známkami nepříznivé prognózy onemocnění, u kterých došlo navzdory léčbě nejméně jedním lékem první linie k rozvoji alespoň jednoho středně těžkého nebo těžkého relapsu (hovoříme o 1,5 linii). DMF a fingolimod, lze rovněž indikovat u pacientů s rychle progredující závažnou RR RS, kteří prodělali nejméně dva relapsy v jednom roce a současně vykazují jednu nebo více gadolinium vychytávajících lézí na MR mozku nebo zvýšení objemu T2 hyperintenzních lézí ve srovnání s předchozí MR.

Natalizumab a alemtuzumab jsou v ČR řazeny do linie druhé. Jsou indikovány u pacientů s RR RS, u kterých nedošlo navzdory léčbě nejméně jedním lékem první linie k poklesu počtu relapsů pod 2 ataky ročně, nebo u pacientů s rychle progredující závažnou formou RR RS, kteří prodělali nejméně dva relapsy v jednom roce a současně vykazují jednu nebo více gadolinium vychytávajících lézí na MR mozku nebo zvýšení objemu T2 lézí ve srovnání s předchozí MR.

### **1.5.1 Cíle léčby RS (CIS a RR RS)**

V současné době je snahou postihnout více parametrů, které mohou být ovlivněny RS. Tyto parametry jsou součástí konceptu léčby RS - NEDA (No Evidence of Disease Activity). Ten je obvykle definován absencí relapsů, progresí disability a aktivity na MR (Lu et al., 2018; Parks et al., 2017). Léčba dle moderního konceptu NEDA-4 znamená pro pacienta s RS dosažení stavu, kdy: 1. nemá žádný potvrzený relaps onemocnění, 2. je bez progresí v EDSS (Expanded disability status scale), 3. neobjevují se nové T2 hyperintenzní léze nebo gadolinium enhancující léze při provedené MR mozku, 4. atrofie mozku není větší než 0,4 % za rok (Cree et al., 2015). V klinické praxi je reálnější použití konceptu MEDA (Minimal Evidence of Disease Activity). Tento koncept toleruje určitý stupeň aktivity onemocnění (koncept lze použít pro nemocného, který se jeví jako stabilní ve srovnání s pacientem s vyšší aktivitou nemoci v krátkodobém či střednědobém intervalu) (Giovannoni et al., 2017).

### **1.5.2 Zahájení léčby**

Protože se neuronální ztráta objevuje již v časných stádiích nemoci a ztráta neuronů pod určitou hranici vede k nevratné ztrátě funkce, je nezbytné neodladovat zahájení léčby po

definitivním stanovení diagnózy RS. Zásadní terapeutické opatření je proto aplikovat už v počáteční fázi onemocnění (pozn. CIS) tak, aby došlo k oddálení progresu choroby a zabránění invalidizace (Shirani et al., 2012). Pacienti, jejichž léčba je zahájena později, nemají stejný benefit léčby jako pacienti se zahájením léčby v časných stádiích nemoci (Miller, 2004).

### **1.5.3 Léčba akutní ataky**

Léčby akutní ataky, tedy neurologické epizody trvající minimálně 24 hodin a sestávající se z nových nebo zhoršených již stávajících příznaků při vyloučení infekce či zvýšené tělesné teploty, zahrnuje podání methylprednisolonu v dávce 3 - 5 g. Standardní podání dané zvyklostmi je intravenózní cestou, nicméně je možné podat identickou dávku i perorálně. Tato dávka kortikosteroidů je obvykle dobře tolerována. Zvláštní péči je potřeba věnovat pacientům s dyspeptickými obtížemi (podání blokátorů protonové pumpy), diabetikům (monitorace glykemií), kardiakům, pacientům s psychiatrickou komorbiditou (zvážení hospitalizace), nemocným s trombofilními stavy (použití nízkomolekulárního heparinu). K podávání taperu steroidů (postupně se snižující dávky) se přistupuje individuálně. Obvykle se nepodává u pacientů se zavedenou imunomodulační terapií, v opačném případě je vhodný pro riziko rebound fenoménu, tedy znovuvzplanutí zánětu (60 – 100 mg do vysazení v průběhu 10 – 14 dní). V případě nedostatečného efektu první dávky kortikoidů v léčbě ataky, je možno tuto dávku za 2 týdny zopakovat (nebo podat 3 x 2000 mg methylprednisolonu), další možností je série plazmaferéz (obvykle 5 obden) (Weinshenker et al., 1999).

### **1.5.4 Léky I. linie (CIS a RR RS)**

Účinnost všech léků první volby je podpořena výsledky klinických studií. Ve studii REFLEX (REbif FLEXible dosing in early MS) byla u pacientů s CIS léčených IFN $\beta$ -1a 44  $\mu$ g 3x týdně ve formě podkožní injekce doba do prvního relapsu prodloužena o 213 dní oproti placebo. IFN $\beta$ -1a snížil riziko rozvoje klinicky definitivní roztroušené sklerózy (CDMS) o 56 %. Podíl pacientů s relapsem a konverzí do CDMS během dvou let léčby byl pouze 21 % pacientů léčených IFN $\beta$ -1a ve srovnání se 38 % pacientů na placebo (Comi et al., 2012). Benefit časně léčby pacientů s CIS dokumentuje také klinická studie CHAMPS (Controlled High-Risk

Subjects Avonex MS Prevention Study). Konverze do CDMS byla u 20 % léčených nemocných oproti 35 % nemocným na placebo (Jacobs et al., 2000). Ve studii BENEFIT (Betaseron in Newly Emerging MS for Initial Treatment) s INF $\beta$ -1b subkutánně 250  $\mu$ g obden byla pravděpodobnost vývoje CDMS do 2 let léčbou redukována z 45 % na 28 % (Kappos et al., 2007). Léčba CIS GA oddaluje druhou ataku o 45 % a zpomaluje progresi disability (Comi et al., 2009). Teriflunomid snižuje riziko druhého relapsu o 35 % u pacientů s CIS (Miller et al., 2014).

### **1.5.5 Rozhodovací proces v léčbě I. linie**

Při výběru prvoliniového léku je nutné vzít v úvahu veškerá potenciální rizika vyplývající z dlouhodobé léčby (chřipkovité stavy po aplikaci INF $\beta$ , rizika hepatopatie u INF $\beta$  a teriflunomidu, lokální kožní reakce při aplikaci interferonu a GA, alopecie a teratogenní rizika teriflunomidu, atd.). Do rozhodovacího procesu je potřeba zapojit i pacienta a znát jeho preferenci ve způsobu podání a četnosti užívání léku. V průběhu léčby je potřeba sledovat specifické situace, které mohou bránit pokračování v léčbě: lokální kožní reakce, ztížené dýchání a bolest na hrudi u GA, flu-like syndrom, kožní reakce, deprese a hepatopatie u INF $\beta$ , dále pak hepatopatii, průjem, nauzeu a alopecii u teriflunomidu. Významný pokrok ke zvýšení dlouhodobé adherence k léčbě přinesl elektronický aplikátor RebiSmart®. Umožňuje nastavit rychlost i hloubku vpichu, rychlost a dobu aplikace injekce, upozorní na čas aplikace a rovněž i místo aplikace léku, ošetřujícímu personálu přináší zpětnou vazbu o compliance pacienta.

Poměrně velká část pacientů léčená léky první volby však vykazuje nedostatečnou nebo žádnou terapeutickou odpověď (30 - 60 % léčených pacientů) (Trojano et al., 2003; Waubant et al., 2003). Několik studií se věnovalo srovnání účinnosti jednotlivých INF $\beta$ . Studie EVIDENCE srovnávala účinek INF $\beta$ -1a (44  $\mu$ g 3x týdně v subkutánní injekci) a INF $\beta$ -1a (30  $\mu$ g 1x týdně intramuskulárně). Byl zjištěn signifikantně nižší počet relapsů u pacientů užívajících INF $\beta$ -1a 44  $\mu$ g a zároveň snížení počtu relapsů a aktivity na MR u pacientů, kteří podstoupili switch-in z INF $\beta$ -1a 30  $\mu$ g na 44  $\mu$ g (Schwid et al., 2005). Studie INCOMIN

porovnávala INFβ-1b (250 μg obden v subkutánní injekci) a INFβ-1a (30 μg 1x týdně intramsukulárně). Při léčbě INFβ-1b byl zaznamenán větší počet pacientů bez relapsu a menší množství nových T2 lézí při provedeném MR (Durelli et al., 2002). Koch-Henriksen et al., (2006) při porovnání účinku INFβ-1a (22 μg 3x týdně v subkutánní injekci) a INFβ-1b (250 μg obden v subkutánní injekci) neshledali rozdíl v počtu relapsů za 24 měsíců či době do prvního relapsu. Ve studii QUASIMS nebyl zjištěn signifikantní rozdíl v ročním počtu relapsů (0,51 pro INFβ-1a 30 μg, 0,52 pro INFβ-1b, 0,53 pro INFβ-1a 22 μg a 0,63 pro INFβ-1a 44 μg) (Limmroth et al., 2007).

S ohledem na nekonzistentní data u pacientů s přetrvávající aktivitou nemoci není lékový switch mezi interferony a GA primárně doporučen (Carrá and Onaha, 2008; Durelli et al., 2002; Gajofatto et al., 2009; Koch-Henriksen et al., 2006; Limmroth et al., 2007; Prosperini et al., 2011; Schwid et al., 2005). Pro tyto pacienty s trvající aktivitou onemocnění se jeví jako účinnější změna na jinou léčbu - DMF, fingolimod, natalizumab ev. alemtuzumab. Samostatnou skupinou jsou nemocní, u kterých je při léčbě interferonem zaznamenána pozitivita neutralizačních protilátek. Neutralizační protilátky snižují účinnost interferonů (ovlivnění četnosti relapsů, aktivity na MR) (Kappos et al., 2005). Tito pacienti mohou profitovat ze změny léčby na GA nebo teriflunomid.

### **1.5.6 Léky 1.5 a II. linie (RR RS)**

Účinnost DMF byla potvrzena ve dvou dvojitě zaslepených, placebem kontrolovaných studiích fáze III – DEFINE (Determination of the Efficacy and Safety of Oral Fumarate in Relapsing-Remitting Multiple Sclerosis) a CONFIRM (Comparator and an Oral Fumarate in RRMS) (Gold et al., 2012; Fox et al., 2012). Ve studii DEFINE (n = 1 234) byli pacienti randomizováni v poměru 1 : 1 : 1 na léčbu DMF v dávce 240 mg p.o. dvakrát denně nebo DMF 240 mg p.o. třikrát denně nebo na podávání placebo v trvání dvou let. Počet relapsů byl signifikantně nižší ve skupině léčených nemocných oproti placebo skupině (27 % s DMF 2x denně and 26 % s DMF 3x denně vs. 46 % placebo, P<0.001). Roční počet relapsů po dvou letech byl 0,17 ve skupině léčených 2x denně a 0,19 ve skupině léčených 3x denně oproti 0,36 v placebo skupině (Gold et al., 2012). Ve studii CONFIRM (n = 1 430) byli pacienti v poměru

1 : 1 : 1 : 1 randomizováni na dva roky trvající léčbu DMF v dávce 240 mg dvakrát denně nebo třikrát denně nebo na léčbu placebem či na léčbu GA 20 mg denně ve formě podkožní injekce. Roční počet relapsů byl po dvou letech signifikantně nižší ve skupině léčených nemocných oproti placebo skupině - DMF 2x denně (0,22), DMF 3x denně (0,20), GA (0,29) a placebo (0,40). Post-hoc analýza srovnávající účinnost DMF a GA neprokázala superioritu DMF (Fox et al., 2012). Post-hoc analýza ze studií DEFINE a CONFIRM prokázala vyšší účinnost DMF u pacientů s nově diagnostikovanou RS oproti placebo a naivních oproti dříve léčeným (Gold et al., 2015; Hutchinson et al., 2013).

Účinnost fingolimodu byla ověřena dvěma studiemi fáze III, studií TRANSFORMS (Trial Assessing Injectable Interferon versus FTY720 Oral in Relapsing-Relmitting Multiple Sclerosis) a FREEDOMS (FTY720 Research Evaluating Effects of Daily Oral therapy in Multiple Sclerosis) (Cohen et al., 2010; Kappos et al., 2010). Ve studii TRANSFORMS byl účinek fingolimodu podávaného ve dvou dávkách (1,25 mg a 0,5 mg) porovnáván s IFN $\beta$ -1a v dávce 30  $\mu$ g i.m. 1x týdně. Roční počet relapsů byl významně nižší u pacientů léčených fingolimodem: 0,2 ve skupině léčené 1,25 mg a 0,16 ve skupině léčené 0,5 mg oproti 0,33 ve skupině léčené IFN $\beta$ -1a (Cohen et al., 2010). Ve studii FREEDOMS byla zhodnocena dávka fingolimodu 1,25 mg a 0,5 mg oproti placebo. Roční počet relapsů byl 0,18 při léčbě 0,5 mg fingolimodu, 0,16 při léčbě 1,25 mg fingolimodu a 0,40 při léčbě placebem. ( $p < 0,001$ ). Fingolimod v obou dávkách signifikantně redukoval riziko progresse disability během 24 měsíců (Kappos et al., 2010). Data z registru MSBase (Multiple Sclerosis dataBase) prokazují signifikantní redukcii v počtu relapsů a snížení progresse disability u pacientů, kteří podstoupili pro aktivitu nemoci eskalaci léčby z IFN $\beta$ /GA na fingolimod.

Účinnost natalizumabu byla potvrzena v monoterapii u pacientů s RR RS ve studii fáze III, AFFIRM (Natalizumab Safety and Efficacy in Relapsing Remitting Multiple Sclerosis).

Studie zahrnovala 627 pacientů léčených natalizumabem a 315 ve skupině s placebem, ve skupině léčených natalizumabem došlo po dvou letech k signifikantnímu snížení výskytu relapsů o 68 % ( $p < 0,001$ ) a ke snížení rizika trvalé progresse invalidity o 42 % ( $p < 0,001$ ). Po roce sledování bylo bez progresse ve skupině léčených natalizumabem 77 % pacientů oproti 56 % v placebové skupině, po dvou letech 67 % resp. 41 % pacientů. (Polman et al., 2006). Řada observačních studií prokazuje pozitivní efekt eskalace na natalizumab při nedostatečné odpovědi

na léčbu IFN $\beta$ /GA (Belachew et al., 2011; Putzki et al., 2010; Río et al., 2012). V práci Baronciniho (2016) byl po dvouletém sledování ve skupině s natalizumabem oproti skupině s fingolimodem zjištěn vyšší podíl pacientů bez relapsu (66 % vs. 80 %,  $p = 0,015$ ), vyšší podíl pacientů se zlepšením disability (6 % vs. 15 %,  $p = 0,033$ ), nižší podíl pacientů s MR aktivitou onemocnění (38 % vs. 14 %,  $p = 0,001$ ) a vyšší podíl pacientů, kteří byli bez známek aktivity onemocnění (NEDA-3; 44 % vs. 70 %,  $p < 0,001$ ).

V klinických studiích fáze III (alemtuzumab) probíhaly dvě studie CARE-MS I a CARE-MS II (The Comparison of Alemtuzumab and Rebif® Efficacy in Multiple Sclerosis, CARE-MS) (Cohen et al., 2012; Coles et al., 2012). Ve studii CARE-MS I byl alemtuzumab podáván dosud nativním pacientům, studie CARE-MS II byla provedena u již dříve léčených nemocných. Alemtuzumab se podává standardně ve dvou cyklech po 12 měsících, v prvním cyklu 5 dnů po sobě 12 mg, po 12 měsících 3 dny po sobě 12 mg. Ve studii CARE-MS I byli pacienti rozděleni na skupinu léčenou alemtuzumabem v dávce 12mg nebo INF $\beta$ -1a 44  $\mu$ g 3x týdně ve formě podkožní injekce. Ve studii CARE-MS II byly iniciálně 3 skupiny (alemtuzumab 12mg, alemtuzumab 24 mg a INF $\beta$ -1a. Pokud pacienti naplnili kritéria k dalšímu přeléčení ( $\geq 1$  relaps anebo  $\geq 2$  MR nové léze), byl další léčebný cyklus podán za 12 měsíců po předchozím, 3 dny po sobě v dávce 12 mg alemtuzumabu/den. Ve studii CARE-MS I došlo k 55% redukci relapsů ve srovnání s INF $\beta$ -1a, hodnota EDSS byla zlepšena o 0,17 ve skupině s alemtuzumabem a zhoršena o 0,24 ve skupině s INF $\beta$ -1a (Cohen et al., 2012). Ve studii CARE-MS II byla redukce relapsů 49% ve srovnání s INF $\beta$ -1a.

Snížení rizika disability bylo o 42 % ve skupině léčených alemtuzumabem ve srovnání se skupinou pacientů léčených INF $\beta$ -1a (při podávání alemtuzumabu došlo k progresi u 13 % pacientů, při podávání INF $\beta$ -1a u 20 % pacientů). Ke zlepšení EDSS došlo ve skupině léčených alemtuzumabem i INF $\beta$ -1a (Coles et al., 2012). V práci Kalinčíka et al. (2017) byla porovnána účinnost natalizumabu, INF $\beta$ , alemtuzumabu, fingolimodu. Byla prokázána superiorita alemtuzumabu nad fingolimodem a INF $\beta$ . Alemtuzumab i natalizumab prokázaly vysokou

účinnost léčby a rozhodnutí o jejich nasazení se odvíjí od bezpečnostních profilů léků ve vztahu k jednotlivému pacientovi.

Zásadních výstupů při léčbě kladribinem bylo dosaženo v multicentrické, placebem kontrolované, dvojitě zaslepené mezinárodní studii fáze III, hodnotící účinnost a bezpečnost kladribinu po dobu 96 týdnů – CLARITY. Primárním cílem studie bylo vyhodnotit účinnost kladribinu oproti placebo ve snížení ročního počtu relapsů (annualised relapse rate, ARR), ve zpomalení progresu invalidity a ve snížení počtu aktivních lézí měřených pomocí magnetické rezonance (MR). Nejnižšího ARR 0,14 (95% CI: 0,12-0,17) bylo dosaženo při podávání kladribinu v dávce 3,5 mg/kg, což představuje relativní redukci rizika o 57,6 % ( $p < 0,001$ ) oproti placebo (ARR 0,33 při 95% CI: 0,29-0,38). Při léčbě kladribinem v dávce 3,5 mg/kg byl vyšší podíl pacientů bez relapsu v 96. týdnu - 79,7 % vs. 60,9 % na placebo ( $p < 0,001$ ), což představuje více než 2,5 krát vyšší šanci zůstat bez relapsu. Dále se prodloužila doba do výskytu relapsu, kdy k výskytu relapsu u 15% pacientů v daném rameni bylo na placebo dosaženo již po 4,6 měsících, kdežto na kladribinu 3.5 mg/kg až po 13,4 měsících, což představuje poměr rizik (HR, hazard ratio) 0,44 (95% CI 0,34-0,58;  $p < 0,001$ ). Ve skupině na kladribinu 3,5 mg/kg byl pozorován nejvyšší podíl pacientů bez progresu EDSS, a to 85,7%.

Léčba kladribinem tak vedla k relativnímu snížení rizika tři měsíce trvající progresu disability o 33% (HR 0,67; 95% CI 0,48-0,93;  $p = 0,02$ ). Vedle klinických ukazatelů kladribin také významně snižoval aktivitu onemocnění na MR. V dávce 3.5 mg/kg byla ve srovnání s placebem pozorována redukce Gd+ T1 lézí o 85,7% a aktivních T2 lézí o 73,4%, obě  $p < 0,001$  (Giovannoni et al., 2010).

V klinických studiích fáze III (OPERA I a OPERA II) byl srovnáván ocrelizumab s aktivním komparátorem – vysokodávkovaným INF $\beta$ -1a. Roční počet relapsů byl nižší u ocrelizumabu oproti INF $\beta$ -1a ve studii OPERA I (0.16 vs. 0.29) i OPERA II (0.16 vs. 0.29). Dalším hodnoceným parametrem byla progresu disability. Počet pacientů s potvrzenou 24týdenní disability byl signifikantně nižší ve skupině léčených ocrelizumabem (6.9 % vs. 10.5 %, hazard ratio, 0.60, 95% CI, 0.43 – 0.84;  $P = 0.003$ ). Ocrelizumab příznivě ovlivňoval i parametry MR. Počet gadolinium enhancujících lézí byl oproti interferonu beta-1a nižší o 94 %

ve studii OPERA I, resp. 95% ve studii OPERA II. Parametru NEDA dosáhlo v 96 týdnů ve studii OPERA I o 64 % více pacientů v rameni s ocrelizumabem (29,1 % oproti 47,9 %,  $p < 0,0001$ ) a ve studii OPERA II dokonce o 89 % (25,1 % oproti 47,5 %,  $p < 0,0001$ ) (Hauser et al., 2017).

### **1.5.7 Rozhodovací proces v léčbě II. linie**

Obdobně jako u výběru prvoliniového léku, rovněž u léků druhé řady je nezbytné velmi pečlivě zvolit léčbu s přihlédnutím k rizikům vyplývajícím z dlouhodobé léčby a preferenci pacienta s ohledem na věk a pohlaví.

Velmi závažnou komplikací léčby natalizumabem je progresivní multifokální leukoencefalopatie (PML), infekční onemocnění mozku způsobené John Cunninghamovým virem (JCV). Projevy PML zahrnují poruchy řeči, zraku, slabost, změny nálad a chování nebo epileptické záchvaty. Pacienti, kteří mají vysoké riziko onemocnění, jsou s pozitivním výsledkem testu protilátek proti JCV a vysokým indexem protilátek proti JCV (více než 1,5), probíhající léčbou natalizumabem více než 2 roky a pokud užívali imunosupresiva před zahájením léčby natalizumabem. Vyšetření protilátek proti JCV a stanovení indexu je nezbytné nejen před zahájením léčby natalizumabem, ale i v jeho průběhu. Natalizumab je doporučen jako vysoce účinný lék pro pacienty s negativitou protilátek proti JCV. U těchto pacientů je však nutné pravidelně testovat přítomnost protilátek proti JCV (2 – 3 % falešná negativita výsledků a možné riziko sérokonverze) (Outteryck et al., 2014; Gorelik et al., 2010). Všichni pacienti užívající natalizumab by měli podstoupit MR vyšetření alespoň jedenkrát ročně, nemocní se zvýšeným rizikem PML pak každých 3 - 6 měsíců. U pacientů s vysokým rizikem vzniku PML je třeba pečlivě zvážit, zda přínosy léčby dostatečně převyšují toto riziko.

Plán minimalizace rizik při zahájení léčby fingolimodem zahrnuje vyšetření protilátek proti varicella-zoster viru, oftalmologem (otázka makulárního edému), kardiologem (otázka bradyarytmií) a základní hematologické a biochemické vyšetření krve. Pro reprodukční toxicitu u žen ve fertilním věku se doporučuje důsledná kontracepce. Plánování gravidity je možné nejdříve 3 měsíce po posledním užití léku. Na tuto skutečnost je nutné myslet již při zvažování nasazení léku. V průběhu léčby je prováděna pravidelná monitorace krevního obrazu včetně



diferenciálního počtu leukocytů (přerušeni léčby při potvrzeném počtu lymfocytů  $< 0.2 \times 10^9/l$ ), biochemické vyšetření krve (riziko zvýšení hodnot jaterních testů) a jsou doporučeny pravidelné kontroly očním lékařem. Protože se jedná o imunomodulátor s potenciálně imunosupresivními vlastnostmi, je nutné pečlivě sledovat možné známky infekce. Při léčbě fingolimodem byl rovněž zaznamenán případ PML.

Mezi nejčastějšími nežádoucími účinky u pacientů léčených DMF patří zrudnutí a gastrointestinální obtíže (tzn. průjem, nauzea, bolest břicha, bolest v horní části břicha). Gastrointestinální obtíže se objevují zejména na počátku léčby (především během prvního měsíce), většinou odezní či se zmírní v průběhu prvního měsíce léčby. Přesto nasazení tohoto léku musí být velmi obezřetně zváženo u nemocného s již preexistující anamnézou gastrointestinálních obtíží. Při léčbě DMF byly zaznamenány i případy PML. Za rizikovou je považována perzistující lymfopenie (Bomprezzi, 2015).

Sekundární autoimunitní poruchy zahrnující poruchy štítné žlázy, nefropatie a autoimunitní trombocytopenie představují významné riziko spojené s léčbou alemtuzumabem. Ke snížení rizik je nezbytné laboratorní monitorování pacientů (vyšetření krevního obrazu včetně diferenciálního počtu leukocytů, vyšetření sérové hladiny kreatininu a moči, stanovení hladiny TSH).

Nejčastějšími nežádoucími účinky při léčbě kladribinem jsou nasofaryngitida, infekce horních cest dýchacích, nauzea, chřipka, bolesti zad a lymfopenie. Incidence nežádoucích účinků je srovnatelná s placebem s výjimkou lymfopenie a infekcí herpes zoster.

Nejčastější nežádoucí účinek ocrelizumabu jsou reakce spojené s infuzí, které zahrnují pruritus, vyrážku, urtiku, erytém, zrudnutí, hypotenzi, pyrexii, únavu, bolest hlavy, závrať, iritaci hrdla, bolest orofaryngu, dyspnoe, faryngeální nebo laryngeální edém, nauzeu, tachykardii. V průběhu léčby ocrelizumabem se častěji objevovaly infekce horních cest dýchacích a herpetické infekce. Ve studiích byl u pacientů léčených ocrelizumabem zjištěn vyšší výskyt malignit (zejména karcinomu prsu).

### **1.5.8 Léčba sekundárně progresivní formy onemocnění**

V této fázi onemocnění ubývá zánětlivých dějů a možnostmi léčby jsou výrazně omezené. Navíc žádný ze současně dostupných léků nedokáže zastavit nezvratnou progresi

onemocnění. Přes tuto skutečnost je využívána řada medikamentů. Poměrně často používanou metodou léčby je podávání methylprednisolonu intravenózně v dávce 1000 mg v intervalu á 4 týdny samostatně nebo v kombinaci s jinou terapií. Další možností je použití cyclophosphamidu, který se jeví jako účinný u nemocných mladších 40 let s trváním chronické progresse méně než jeden rok. Obvykle se používá se většinou 800 mg nebo 1000 mg i. v. měsíčně, v druhém roce á 6 týdnů a od třetího roku á 8 týdnů. Neměla by být překročena kumulativní dávka 50 – 85 g pro riziko nádorového onemocnění, zejména pak karcinomu močového měchýře. Mitoxantron lze podávat v dávce 20 mg i. v. jednou měsíčně celkem 6krát, nezbytné je před zahájením léčby i před každou další infúzí provést nejen vyšetření krevního obrazu, ale i vyšetření srdce ultrazvukem pro riziko snížení ejekční frakce levé komory a akutní leukémie. Proto nesmí být překročena kumulativní dávka 140 mg/m<sup>2</sup>. Methotrexát v dávce 7,5 mg týdně může zpomalit progresi onemocnění (Goodkin et al., 1995).

Ustupuje se od léčby azathioprinem a léčby intravenózními imunoglobuliny (Hommes et al, 2004; Noseworthy et al., 2000). Novou nadějí pro pacienty s časnou sekundárně progresivní RS může představovat siponimod. Siponimod je lékem ze skupiny sphingosin-1-fosfát modulátorů se selektivním působením (S1P1 a S1P5). Příznivých výsledků dosáhl ve studii EXPAND. Jednalo se o dvojitě zaslepenou studii fáze 3, ve které siponimod oproti placebo snižoval riziko nevratné progresse onemocnění (Kappos et al., 2018).

### **1.5.9 Léčba primárně progresivní formy onemocnění**

Léčba je obdobná jako u SP formy a obdobně jako u SP formy se používá rehabilitační péče a symptomatická terapie. Symptomatická terapie zahrnuje léčbu spasticity, neuropsychiatrických symptomů, mikčních a sexuálních poruch, únavy, bolesti, třesu, autonomní dysfunkce a paroxysmálních fenoménů (epileptické záchvaty a vestibulární dysfunkce). U pacientů s časnou aktivní primárně/progresivní RS je indikován v léčbě ocrelizumab. Účinnost ocrelizumabu byly potvrzena v klinické studii fáze III (ORATORIO). Primárním cílem bylo zhodnocení počtu pacientů s progresí disability trvající minimálně

12 týdnů. Podíl pacientů s progresí disability trvající 12 týdnů činil ve skupině léčené ocrelizumabem 32,9 % oproti 39,3 % v placebo skupině (HR 0,76; 95% CI 0,59–0,98; P = 0,03). Podíl nemocných s progresí disability trvající 24 týdnů představoval 29,6 % při podávání ocrelizumabu a 35,7 % při podávání placebo (HR 0,75; 95% CI 0,58–0,98; P = 0,04) (Montalban et al, 2017).

V této studii byl rovněž hodnocen parametr NEPAD (No evidence of progression or active disease), tedy jaké procento pacientů dosáhlo stavu bez známek progresse nebo aktivity choroby oproti placebo. Během 120 týdnů léčby dosáhlo na léčbě ocrelizumab třikrát více pacientů parametru NEPAD (29,9 % oproti 9,4 %, RR [95 % CI] 3,15 [2,07 – 4,79] p<0,001) (Wolinsky et al., 2018).

## **1.6 Prediktory léčby a průběh onemocnění**

### **1.6.1 Relaps onemocnění**

Snížení počtu relapsů je jeden ze základních léčebných cílů. Přesto vztah mezi relapsy onemocnění a disabilitou zůstává nadále nejasný. Scalfari et al. (2010) ve své práci, která zahrnovala 28 000 pacientoroků (pacientorok představuje součet všech časových období, ve kterém byli léčeni všichni pacienti) konstatoval, že vysoká klinická aktivita v průběhu prvních dvou let nemoci a krátký interval mezi první a druhou atakou jsou nepříznivé faktory ve vztahu k dosažení významné poruchy chůze při EDSS 6.0 (chůze do 100 m bez dopomoci, více než 50 m s dopomocí jedné hole nebo více než 120 m s dopomocí 2 holí či druhé osoby). Tremlett et al. (2009) publikovali práci, ve které popsali skutečnost, že relaps v prvních pěti letech nemoci je prediktivní k rozvoji disability ve vztahu k následné sekundární progresi. Na základě těchto publikovaných studií by se dalo předpokládat, že význam pro rozvoj sekundární progresse mají pouze relapsy v časném stádiu onemocnění. Nicméně přibližně u poloviny relapsů nedojde k plné úpravě zdravotního stavu pacienta a rovněž tato skutečnost může hrát určitou roli v rozvoji disability (Hirst et al., 2008).

### 1.6.2 Magnetická rezonance

MR je základní metodou k diagnostice RS a sledování účinnosti léčby. Nezbytné k monitoraci nemoci jsou T2-vážené snímky a T1-vážené snímky s podáním kontrastní látky (Wattjes et al., 2015). Rio et al. (2008) publikovali práci, ve které zmínili vyšší riziko selhání léčby INF $\beta$ , pokud pacient vyvine více než 2 aktivní léze v průběhu prvního roku terapie (nově nebo zvětšené T2 léze a nové gadolinium enhancující léze). Při monitorování pacientů s DMD (Disease Modifying drugs) léčbou je potřeba znát skutečnost, že nález na vstupní MR před zahájením léčby uspokojivě nepredikuje odpověď na budoucí léčbu. Následné MR v průběhu několika měsíců již tuto vypovídající hodnotu mají. Proto by měla být další vyšetření prováděna na identickém přístroji a je vhodné provést kontrolní MR za 6 a 12 měsíců od zahájení léčby (Montalban et al., 2018). Přítomnost nových nebo zvětšujících se T2 lézí predikuje zhoršení EDSS v čase (Prosperini et al., 2009; Prosperini et al., 2014). Přes tento fakt samostatná přítomnost nových nebo zvětšujících se T2 lézí nevede v současné době k eskalaci léčby, ale je varovným signálem jejího možného selhání. Další faktor, který může pomoci predikovat dlouhodobý vývoj, je atrofie mozku. Di Filippo et al. (2011) konstatovali, že míra progresu mozkové atrofie v prvním roce u pacientů s CIS koreluje s konverzí do CDMS.

MR je nezbytná k monitoraci oportunních infekcí a komorbidit – pro pacienty léčené natalizumabem ve vysokém riziku PML (léčba déle než 18 měsíců a pozitivita protilátek proti JCV) je doporučeno provádět kontrolní MR v intervalu 3 – 6 měsíců, pro pacienty v nízkém riziku PML v intervalu 12 měsíců (Wattjes et al., 2015).

### 1.6.3 Neurodegenerativní procesy

Přestože je RS charakterizována fokální demyelinizací s postižením bílé hmoty, mozková atrofie se objevuje již v časných stádiích nemoci a může vést k ireverzibilní ztrátě neurologických funkcí včetně postižení kognitivních funkcí. Je známo, že míra mozková atrofie koreluje lépe s disabilitou a kognitivní dysfunkcí než počet a objem lézí bílé hmoty. Mozková atrofie kvantifikuje neurodegenerativní procesy u RS. Calabrese et al. (2012) publikovali práci, ve které konstatovali, že progresu kortikální atrofie byla signifikantně vyšší ve skupině pacientů

s RS oproti zdravým kontrolám. Formulovali hypotézu, že patologie šedé hmoty mozku je časný fenomén u RS a zároveň ukázali, že progresse patologie v oblasti šedé hmoty mozku nekoreluje s objemem lézí v bílé hmotě a tedy neurodegenerace probíhá nezávisle na postižení bílé hmoty. Podstatou neurodegenerace jsou mitochondriální defekty, které způsobí, že v důsledku zvýšené akumulace Na<sup>+</sup> dochází ke zvýšenému influxu iontů Ca<sup>+</sup> a v demyelinizačních lézích se zvyšuje množství degenerovaných axonů. Uvedený stav podporuje zvýšená hladina excitotoxických aminokyselin a glutamátu, což vede k apoptóze

(Paling et al, 2011). Rovněž abnormality v metabolismu železa vedou ke ztrátě nervových buněk a hromadění depozit železa v mozku. Depozita železa se nacházejí v šedé hmotě od již časných fází RS, v progresivních fázích RS se množství železa zvyšuje. Nadále však není zřejmé, zda tato depozita jsou markerem nebo mediátorem destrukční kaskády u RS. Je však známa korelace mezi průkazem depozit železa v mozku a klinickou dysfunkcí u RS (Zhang et al, 2010). K měření mozkové atrofie se využívá řada metod MR. Mezi tyto metody řadíme hodnocení šíře 3. komory, šíře postranní komory v oblasti nucleus caudatus nebo bifrontální vzdálenost. K sofistikovanějším metodám patří SIENA (strukturální vyhodnocení obrazu pomocí normalizace změny atrofie) nebo spektroskopické studie (koncentrace kyseliny Nacetylaspartové jako biomarkeru neuronální integrity klesá v šedé hmotě mozkové kůry, hladina cholinu se zvyšuje v oblasti zánětu a remyelinizace) (Grasior et al., 2009).

#### 1.6.4 Biomarkery

Biomarker je objektivně měřitelný parametr, který je indikátorem biologických procesů, patologických procesů nebo farmakologické odpovědi. Rozdělení biomarkerů u RS představuje tabulka č. 4.

Tabulka č. 4: Biomarkery u RS

Typ biomarkeru	Význam
Biologický	reflektují patologický mechanismus
Klinický	reflektují klinický status

Prognostický	reflektují počátek, progresi, diferenciální diagnostiku
Terapeutický	Pozitivní nebo negativní účinky terapie

Souhrn jednotlivých biomarkerů představuje tabulka č. 5.

Tabulka č. 5: Skupiny biomarkerů u RS

<b>Biomarker</b>	<b>Typ</b>
Geneticko-imunologický biomarkery	HLA DRB1*1501, DRB5*0101, DQA1*0102*0602
Laboratorní biomarkery imunologické aktivace u RS	oligoklonální IgG v likvoru, oligoklonální IgM v likvoru, volné kappa a lambda řetězce, MRZ reakce, adhezivní molekuly, chemokiny (CXCL13/CXCR5 receptor), osteopontin
Laboratorní biomarkery buněčných subpopulací a hematoencefalické bariéry u RS	B-lymfocyty, T-lymfocyty, NK buňky, matrixmetalloproteinázy, CSF-ICAM-1 (Intercellular Adhesion Molecule 1), endothelinový systém
Laboratorní biomarkery demyelinizace, oxidativního stresu a excitotoxicity	MPB, alfa-B crystallin, NO (oxid dusnatý), glutamát, neurofilamenta NF L,M,H, tau protein, beta-amyloid, 14-3-3 protein
Laboratorní biomarkery axonálního poškození, gliové aktivace a remyelinizace	S100 B protein, GFPA (Glial Fibrillary Acidic Protein), N-CAM (Neural cell adhesion molecule), BDNF (Brain-derived Neurotrophic Factor), Nogo-A (Neurite Outgrowth Inhibitor, Reticulon-4)
Laboratorní biomarkery terapeutické odpovědi	sVCAM (Circulating Vascular Cell Adhesion Molecule-1), BDNF, JCV index, neutralizační protilátky

V rozhodovacím procesu o léčbě pacienta se v běžné praxi opírá rozhodnutí o klinické nálezy a nálezy na MR. Pro predikci vývoje onemocnění (ev. rozvoj invalidity, léčebná odpověď) je nezbytné nalézt markery, které ukazují na aktivitu zánětu a intenzitu axonálního

poškození. Markery je možné detekovat v periferní krvi či mozkomíšním moku. Nevýhodou biomarkerů z periferní krve je skutečnost, že jsou uvolňovány spíše extracerebrálně než přímo z mozku (Zetterberg et Teunissen, 2017). Přítomnost oligoklonálních pásů zvyšuje riziko další ataky onemocnění. Pravděpodobnost další ataky je zvýšena dvojnásobně nezávisle na MR, nicméně přítomnost oligoklonálních pásů neovlivňuje disability (Tintoré et al., 2008). Celkově je však jejich prognostický význam menší než nálezy na MR.

V současné době jsou předmětem zájmu markery neuroaxonálního poškození (NFL – neurofilament light), demyelinizace (MBP), imunitní aktivace (MMP-9 – matrixová metaloproteináza 9 a chemokinový ligand CXCL 13 a chitinase-3-like protein 1 (CHI3L1). CXCL13 je prognostický marker, který se vyskytuje ve zvýšené míře u pacientů s CIS s časnou konverzí do RR RS (Brettschneider et al., 2010). U pacientů s CIS koreluje hladina NFL s morfologickými projevy zánětu a predikuje konverzi do klinicky definitivní RS s horší prognózou (Salzer et al., 2010). Rovněž zvýšená hladina CHI3L1 v mozkomíšním moku predikuje u pacientů s CIS rychlejší konverzi do CDMS (Comabella et al., 2010). Byť není známo, zda aktivita nemoci souvisí u progresivní RS se změnami v mozkomíšním moku, jsou známy práce, které prokázaly změny biomarkerů v mozkomíšním moku u progresivní RS. Sellebjerg et al. (2017) prokázali u progresivní RS zvýšení koncentrace CXCL 13, NFL, MBP i MMP-9 v mozkomíšním moku.

## 2 VÝCHODISKA A CÍLE

### 2.1 Populace lymfocytů v průběhu léčby INFβ-1b

Jedním ze základních léků pro CIS nebo RR RS je INFβ-1b. Přesný mechanismus jeho účinku není znám, jedná se o lék s protizánětlivým a imunomodulačním efektem. Tlumí aktivitu subsetu Th1 T-lymfocytů pomocí indukce tvorby IL-10. Snižuje produkce prozánětlivého cytokinu IL-17. Vede k omezení prezentace antigenu a proliferace T-lymfocytů. Snižuje prostupnost hematoencefalické bariéry zablokováním adhezních interakcí, tlumením účinku matrixových metaloproteáz a migrace leukocytů. V této práci byly vyšetřeny jednotlivé populace lymfocytů u nemocných s RS (CIS a RR RS). Cílem bylo najít znaky, které jsou ovlivněny u nemocných léčených INFβ-1b.

### 2.2 Populace lymfocytů v průběhu léčby GA

GA je indikován pro léčbu CIS a RR RS. Působení GA je imunomodulační. GA tlumí zánět a současně má i vlastnosti neuroprotektivní. GA způsobuje přesmyk od aktivity subsetu Th1 T-lymfocytů k aktivitě subsetu Th2 T-lymfocytů. Subset Th1 T-lymfocytů je odpovědný za rozvoj cytotoxické reakce. Th1 T-lymfocyty produkují prozánětlivé cytokiny interferon  $\gamma$  (INF $\gamma$ ), Tumor Necrosis Factor  $\beta$  (TNF $\beta$ ) a interleukin 2 (IL-2). Naproti tomu Th2 subset Tlymfocytů působí v antagonistickém vztahu k Th1 subsetu T-lymfocytů a produkuje protizánětlivé cytokiny IL-4 a IL-13. Pomocí antigen prezentujících buněk jako jsou monocyty a dendritické buňky mění GA funkci CD4<sup>+</sup> and CD8<sup>+</sup> T-lymfocytů. Váže se s vysokou afinitou na molekuly MHC (hlavní histokompatibilní komplex) II. třídy na buňkách prezentující MBP (bazický protein myelinu) a takto znemožňuje předkládání antigenních fragmentů odvozených od MBP. Tedy kompetuje s imunogenními fragmenty MBP o receptory na autoreaktivních T-lymfocytech a ty pravděpodobně anergizuje nebo způsobuje jejich apoptózu. Cílem studie bylo zjistit, k jakým změnám dochází u lymfocytárních populací v průběhu léčby GA.



## **2.3 Srovnání účinnosti subkutánně podávaného INF $\beta$ -1a 44 $\mu$ g, DMF a fingolimodu v reálné klinické praxi**

Mezi etablované léky pro RR RS patří INF $\beta$ -1a 44 $\mu$ g, DMF a fingolimod. Cílem projektu, resp. výstupem z analýzy z registru ReMuS, bylo srovnat účinnost subkutánně podávaného INF $\beta$ -1a 44  $\mu$ g, DMF a fingolimodu u pacientů s RR RS u nemocných, kterým byla zahájena tato léčba do 90 dní od počátku relapsu v reálné klinické praxi v České republice.

## **2.4 Populace lymfocytů u roztroušené sklerózy a disabilita**

Dle různých klinických studií vykazuje 30 - 60 % pacientů nedostatečnou nebo žádnou terapeutickou odpověď na léčbu INF $\beta$ . Cílem prezentované studie bylo určit, zda změna v populacích lymfocytů u pacientů léčených INF $\beta$  může předpovědět průběh roztroušené sklerózy.

## **2.5 CD4+/CD45RO+: biomarker při léčbě roztroušené sklerózy GA**

Základem studie bylo určit rozdíly v populacích lymfocytů (v úvodu terapie a po 5 letech léčby) ve skupinách s potvrzenou progresí disability a bez potvrzené progresse disability a nalézt mezi těmito parametry biomarker, který může předpovědět příznivou odpověď na léčbu GA.

## **2.6 Tolerabilita, účinnost léčby a kvalita života pacientů léčených intramuskulárním INF $\beta$ -1a po předcházející jiné injekční léčbě roztroušené sklerózy**

Mezi injekční léky pro RS je řazen subkutánně podávaný GA a intramuskulárně nebo subkutánně aplikovaný INF $\beta$ . Práce se zabývá skupinou klinicky stabilních pacientů s RS léčených subkutánním GA nebo INF $\beta$ , kteří podstoupili změnu léčby na intramuskulárně

podávaný INF $\beta$ -1a (pomocí Avonex®Pen™). Bylo hodnoceno, zda dochází ke zvýšení kvality života nemocných a zlepšení tolerability léčby.

## **2.7 RebiSmart® – elektronický aplikátor v léčbě RS s vysokou adherencí a snadným použitím**

Adherence pacienta k léčbě ovlivňuje zásadním způsobem terapeutickou hodnotu předepsané medikace a je klíčovým faktorem k zajištění optimální léčebné odpovědi. Výsledky klinických studií ukazují, že používání autoaplikátorů zvyšuje compliance v léčbě. V této klinické studii byla v průběhu 12 měsíčního sledování u pacientů s RS vyhodnocena adherence a spokojenost s užíváním autoaplikátoru RebiSmart®.

## 4 KOMENTÁŘE VÝSLEDKŮ PRACÍ

### 4.1 Populace lymfocytů v průběhu léčby INFβ-1b

Do studie bylo zařazeno celkem 97 pacientů (25 mužů a 72 žen), kteří byli léčeni pro CIS nebo RR RS INFβ 1-b (ve formě podkožní injekce, v dávce 250 μg obden). Nemocným byly odebrány vzorky krve před zahájením léčby a po pěti letech léčby s cílem zjistit změny lymfocytárních populací. Jednalo se o lymfocyty, CD4+ T-lymfocyty, CD8+ T-lymfocyty, CD 19 (B lymfocyty), natural killer – NK buňky (CD3-/CD16+56+), CD3+/CD69+ buňky, CD5 buňky, CD25 buňky, CD3+/CD25+ buňky, CD5+/CD19+ buňky, CD4+/CD45RO+ buňky, CD8+/CD38+ buňky, CD38 buňky, CD4+/CD45RA+ buňky, CD69 protein, CD40 protein, CD 40L v absolutních i relativních hodnotách a absolutní hodnotu leukocytů. K analýze definovaných znaků byla použita průtoková cytometrie. Ke statistickému zpracování byl použit program MATLAB® (MathWorks, Inc., USA). Signifikantní pokles byl po pěti letech na hladině významnosti 1 % zjištěn u absolutních i relativních hodnot proteinu CD69, absolutních i relativních hodnot CD8+ T-lymfocytů, celkového počtu leukocytů a absolutních hodnot NK buněk. Signifikantní pokles na hladině významnosti 5 % byl zjištěn u absolutní hodnoty lymfocytů, relativních hodnot CD4+ T-lymfocytů, relativních hodnot CD3+/CD69+ buněk a absolutních hodnot CD8+/CD38+ buněk.

### 4.2 Populace lymfocytů v průběhu léčby GA

Ve studii byly analyzovány výsledky 72 pacientů (12 mužů a 60 žen), kteří byli léčeni pro CIS nebo RR RS GA (ve formě podkožní injekce, v dávce 20 mg denně). Nemocným byly odebrány vzorky krve před zahájením léčby a po pěti letech léčby s cílem zjistit změny lymfocytárních populací. Jednalo se o lymfocyty, CD4+ T-lymfocyty, CD8+ T-lymfocyty, CD 19 (B lymfocyty), natural killer – NK buňky (CD3-/CD16+56+), CD3+/CD69+ buňky, CD5 buňky, CD25 buňky, CD38 buňky, CD3+/CD25+ buňky, CD5+/CD19+ buňky, CD4+/

CD45RO+ buňky, CD8+/CD38+ buňky, CD4+/CD45RA+ buňky, CD69 protein, CD40 protein, CD 40L v absolutních i relativních hodnotách a absolutní hodnotu leukocytů.

K analýze definovaných znaků byla použita průtoková cytometrie. Ke statistickému zpracování byl použit systém R (r-project.org). Po pěti letech léčby byl zjištěn signifikantní pokles absolutních i relativních hodnot buněk CD3+/CD69+, absolutních i relativních hodnot proteinu CD69, relativních hodnot buněk CD8+/CD38+ a relativních hodnot buněk CD38. Signifikantní vzestup byl zaznamenán u absolutních i relativních hodnot buněk CD5+/CD45RA+ a absolutních hodnot buněk CD5+/CD45RO+.

### **4.3 Srovnání účinnosti subkutánně podávaného INF $\beta$ -1a 44 $\mu$ g, DMF a fingolimodu v reálné klinické praxi**

Do projektu bylo zahrnuto celkem 279 pacientů s RR RS, kteří prodělali při léčbě první linie (INF $\beta$ -1a 22  $\mu$ g 3 x týdně, INF $\beta$ -1a 30  $\mu$ g 1x týdně, INF $\beta$ -1b 250 ug obden, teriflunomid 14 mg denně, GA 20 mg denně nebo GA 40 mg 3 x týdně) jeden relaps a kterým byla léčba změněna buď na INF $\beta$ -1a 44  $\mu$ g nebo na DMF či fingolimod. Sledovanými parametry byly roční počet relapsů (ARR), doba do dalšího relapsu, zastoupení pacientů bez relapsu a změna EDSS po roce léčby u jednotlivých preparátů během 1 letého období od změny léčby. Po změně terapie došlo u všech tří sledovaných preparátů během roční observace k signifikantnímu zlepšení analyzovaných parametrů. Při porovnání skupiny pacientů s léčbou INF $\beta$ -1a 44ug (83 pacientů) versus fingolimod nebo DMF (196 pacientů) bylo ve druhé skupině významnější zlepšení v parametru ARR a změna EDSS. Po spárování pacientů na terapii INF $\beta$ -1a 44ug se skupinou léčenou DMF nebo fingolimodem v poměru 1:1 metodou propensity score matching (83 vs 83 pacientů) zůstal signifikantní vliv na zlepšení sledovaných parametrů před a po změně terapie v obou skupinách, neprokázali jsme ale již signifikantní rozdíl efektu mezi skupinami.

#### **4.4 Populace lymfocytů u roztroušené sklerózy a disabilita**

V klinické studii byly analyzovány vzorky periferní krve u celkem 25 mužů a 72 žen před zahájením léčby a po pěti letech léčby IFN- $\beta$ . Populace lymfocytů byly analyzovány průtokovou cytometrií. Následně byly srovnány populace lymfocytů mezi skupinami pacientů s CSP (potvrzená progrese disability) a non-CSP (bez potvrzené progrese disability) pomocí Welchovy ANOVY nebo chi-kvadrát testu nezávislosti. Skupina CSP byla definována pomocí škály EDSS (vzestup EDSS o jeden bod nebo více, pokud bylo vstupní EDSS více než 0 nebo vzestup EDSS o 1.5 bodu nebo více, pokud bylo vstupní EDSS 0). Pacienti s non-CSP byli definováni rovněž pomocí změny na škále EDSS (vzestup EDSS o méně než jeden bod, pokud bylo vstupní EDSS více než 0 nebo vzestup EDSS o méně než 1.5 bodu, pokud bylo vstupní EDSS 0). Model penalizované logistické regrese byl použit k nalezení kombinace lymfocytárních parametrů jako možný biomarker. Kombinace znaků lymfocyty, CD3+/CD25+, CD8 ab, CD8+/CD38+, CD38+ ab a CD5+/CD19+ byla identifikována jako potenciální biomarker léčby IFN- $\beta$  ve vztahu k vývoji CSP.

#### **4.5 CD4+/CD45RO+: biomarker při léčbě roztroušené sklerózy GA**

Do výzkumného projektu bylo zařazeno 12 mužů a 60 žen ve věku 17 – 55 let, léčených GA s.c. v dávce 20 mg denně. Parametry periferní krve byly analyzovány před zahájením léčby a následně po 5 letech léčby GA. Parametry ve skupinách s potvrzenou a bez potvrzené progrese disability byly porovnány statistickými metodami. K identifikaci nejvhodnějších lymfocytárních parametrů v úvodu léčby a jejich kombinace pro možné biomarkery byly použity univariátní a penalizované modely logistické regrese. Parametr CD4+/CD45RO+ (znak exprimovaný na paměťových T-lymfocytech) byl identifikován jako nejvhodnější biomarker se schopností identifikovat pacienty s potvrzenou progresí disability. Kombinace 4 parametrů v úvodu léčby: relativní počet lymfocytů, CD3+/CD69+, CD4+/CD45RO+ a CD4+/CD45RA+ab byla identifikována jako potenciální kompozitní biomarker. Tato kombinace vysvětluje 23 % variability u potvrzené progrese disability, což je více, než vysvětlí nejlepší parametr CD4+/CD45RO+ v úvodu léčby.

#### **4.6 Tolerabilita, účinnost léčby a kvalita života pacientů léčených intramuskulárním INFβ-1a po předcházející jiné injekční léčbě roztroušené sklerózy**

Do klinické studie byli zahrnuti pacienti s RS ve fázi remise, kterým byla změněna léčba na intramuskulární INFβ-1a z GA nebo subkutánně podávaného INFβ-1a či INFβ-1b pro obtěžující nežádoucí lokální reakce. Poinjekční reakce a tolerabilita injekční léčby byla hodnocena pomocí 100 mm vizuální analogové škály při zahájení léčby, po 4 a 12 měsících léčby. Monitorována byla rovněž kvalita života, spokojenost s léčbou, relapsy a EDSS. Primárním cílem studie bylo vyhodnocení změny tolerability injekční léčby po 4 měsících. Medián tolerability injekční léčby a celkové tolerability byl signifikantně zlepšen po 4 měsících léčby (n=36) a 12 (n=33) [změna -51.60 (IQR: -60.13, -39.60) mm (p<0.0001); -26.00 (-54.00, 2.25) mm (p=0.002)]. Medián spokojenosti s léčbou byl signifikantně zlepšen po 12 měsících léčby [změna 18.00 (2.00, 47.50) mm (p=0.0003)]. Nedošlo ke změně v testu SF-36, 30/33 (90.9 %) a 33/33 (100 %) pacientů bylo bez relapsů, resp. progresu EDSS po dvanácti měsících léčby.

#### **4.7 RebiSmart® – elektronický aplikátor v léčbě RS s vysokou adherencí a snadným použitím**

Klinického hodnocení se zúčastnilo celkem 290 pacientů s RS, 249 pacientů (86 %) dokončilo 12-měsíční observační období. Cíle studie byly hodnoceny pomocí standardizovaného dotazníku. Adherence byla zjištěna z dat z přístroje RebiSmart® 2.0. Výsledky klinické studie ukazují, že více než 95 % pacientů hodnotilo aplikátor RebiSmart® 2.0 příznivě z hlediska snadného užití a celkové spokojenosti. Adherence po 12 měsících léčby byla u 249 pacientů 95,35 %.

## **5 ZÁVĚRY PRO PRAXI**

### **5.1 Populace lymfocytů v průběhu léčby INFβ-1b**

Byť přesný mechanismus účinku INFβ není znám, léčba INFβ snižuje aktivitu RS a oddaluje konverzi do sekundárně progresivní formy. Studie prezentovala některé parametry periferní krve, které byly ovlivněny dlouhodobou léčbou INFβ-1b.

### **5.2 Populace lymfocytů v průběhu léčby GA**

GA snižuje riziko exacerbace onemocnění pomocí několika známých imunomodulačních mechanismů. Studie prezentovala některé parametry periferní krve, které byly ovlivněny dlouhodobou léčbou GA.

### **5.3 Srovnání účinnosti subkutánně podávaného INFβ-1a 44 μg, DMF a fingolimodu v reálné klinické praxi**

INFβ-1a 44 ug, DMF i fingolimod prokázaly svou účinnost v řadě studií, pokud došlo k jejich nasazení z důvodu nedostatečně účinné předcházející léčby. Výstupy z analýzy z registru ReMuS ukazují, že switch-in na na INFβ-1a 44 ug, či eskalace léčby na DMF i fingolimod příznivě ovlivňuje parametry změnu EDSS a čas do dalšího relapsu.

### **5.4 Populace lymfocytů u roztroušené sklerózy a disabilita**

Výsledky klinické studie navrhuje další biomarkery při léčbě RS INFβ, které pomáhají předpovědět odpověď na léčbu a pomoci specialistům v léčbě RS v procesu rozhodování o časné eskalaci léčby.

## **5.5 CD4+/CD45RO+: biomarker při léčbě roztroušené sklerózy GA**

Závěry klinické studie navrhuji biomarkery, které mohou pomoci v rozhodovacím procesu o volbě léčebného přípravku, k monitoraci pacienta a zajištění příznivého klinického výsledku.

## **5.6 Tolerabilita, účinnost léčby a kvalita života pacientů léčených intramuskulárním INFβ-1a po předcházející jiné injekční léčbě roztroušené sklerózy**

Intramuskulárně aplikovaný INFβ-1a představuje možnou alternativu v léčbě klinicky stabilních pacientů s RS, jejichž kvalita života je snížena lokálními nežádoucími účinky vyplývajícími z častých subkutánních aplikací DMD léčby.

## **5.7 RebiSmart® - elektronický aplikátor v léčbě RS s vysokou adherencí a snadným použitím**

Cílem léčby RS je dosáhnout dlouhodobé remise onemocnění. K dosažení tohoto stavu je nezbytný nejen aktivní přístup lékaře, ale rovněž aktivní a spolupracující pacient, který dodržuje

doporučené postupy léčby. Výběr vhodného léku je zcela zásadní pro zachování funkční nezávislosti a udržení kvality života nemocného. Výstupy z klinické studie prokázaly snadnost použití a celkovou spokojenost pacientů s elektronickým aplikátorem RebiSmart®.

# **6 PUBLIKACE**

## **Původní vědecké práce v impaktovaném časopise**



MAREŠOVÁ, Petra - VALIŠ, Martin - NOVOTNÝ, Michal - **PAVELEK, Zbyšek** - KUČA, Kamil. The direct costs of multiple sclerosis-study in the Czech Republic. *Neurological Sciences*, 2018, **39**(12), 2115-2121. ISSN 1590-1874. IF= 2.484

MASOPUST, Jiří - TVAROH, Aleš - **PAVELEK, Zbyšek** - VALIŠ, Martin. Encephalitis with anti-NMDA receptor antibodies: paraneoplastic or non-paraneoplastic? *Neuroendocrinology Letters*, 2018, **39**(5), 351-354. ISSN 0172-780X. IF= 0.698

MUSIL, František - POKLADNÍKOVÁ, Jitka - **PAVELEK, Zbyšek** - WANG, Bo - GUAN, Xin - VALIŠ, Martin. Acupuncture in migraine prophylaxis in Czech patients: an open-label randomized controlled trial. *Neuropsychiatric Disease and Treatment*, 2018, **14**, 1221-1228. ISSN 1178-2021. IF= 2.228 **PAVELEK, Zbyšek** - RYŠKA, Pavel - ŽIŽKA, Jan - PLÍŠEK, Stanislav - VALIŠ, Martin. Idiopatická hypertrofická kraniální pachymeningitida - dvě kazuistiky. *Česká a slovenská neurologie a neurochirurgie*, 2016, **79**(5), 604-607. ISSN 12107859. IF= 0.368

**PAVELEK, Zbyšek** - SOBÍŠEK, L. - HORÁKOVÁ, Dana - VALIŠ, Martin. Srovnání účinnosti subkutánně podávaného interferonu  $\beta$ -1a 44  $\mu$ g, dimetyl fumarátu a fingolimodu v reálné klinické praxi - multicentrická observační studie. *Česká a slovenská neurologie a neurochirurgie*, 2018, **81**(4), 457-465. ISSN 1210-7859. IF= 0.355

**PAVELEK, Zbyšek** - VALIŠ, Martin. Postupná eskalační terapie u pacienta s roztroušenou sklerózou mozkomíšni - kazuistika. *Česká a slovenská neurologie a neurochirurgie*, 2013, **76**(Suppl. 1), 18-21. ISSN 1210-7859. IF= 0.159

**PAVELEK, Zbyšek** - VYŠATA, Oldřich - KLÍMOVÁ, Blanka - ANDRÝS, Ctirad - VOKURKOVÁ, Doris - VALIŠ, Martin. Lymphocytes in the treatment with interferon beta1 b. *Multiple Sclerosis and Related Disorders*, 2017, **18**, 29-32. ISSN 2211-0348. IF= 3.199

**PAVELEK, Zbyšek** - VYŠATA, Oldřich - SOBÍŠEK, Lukáš - KLÍMOVÁ, Blanka - ANDRÝS, Ctirad - VOKURKOVÁ, Doris - MAZUROVÁ, Radka - ŠŤOURAČ, Pavel -

VALIŠ, Martin. Lymphocyte populations and their change during five-year glatiramer acetate treatment. *Neurologia i Neurochirurgia Polska*, 2018, **52**(5), 587-592. ISSN 0028-3843. IF= 1.006

VALIŠ, Martin - HERMAN, David - VÁŇOVÁ, Nela - MASOPUST, Jiří - VYŠATA, Oldřich - HORT, Jakub - **PAVELEK, Zbyšek** - KLÍMOVÁ, Blanka - KUČA, Kamil - MISÍK, Jan - ŽDÁROVÁ KARASOVÁ, Jana. The Concentration of Memantine in the Cerebrospinal Fluid of Alzheimer's Disease Patients and Its Consequence to Oxidative Stress Biomarkers. *Frontiers in Pharmacology*, 2019, **10**, Art No. 943. ISSN 1663-9812. IF= 3.845/2018

VALIŠ, Martin - VYŠATA, Oldřich - SOBISEK, Lulas - KLÍMOVÁ, Blanka - ANDRÝS, Ctirad - VOKURKOVÁ, Doris - **PAVELEK, Zbyšek**. Monitoring of Lymphocyte Populations During Treatment with Interferon-1b to Predict Multiple Sclerosis Disability Progression. *Journal of Interferon & Cytokine Research*, 2019, **39**(3), 164-173. ISSN 10799907. IF= 1.774/2018 VALIŠ, Martin - SOBÍŠEK, Lukáš - VYŠATA, Oldřich - KLÍMOVÁ,

Blanka - ANDRÝS, Ctirad - VOKURKOVÁ, Doris - MASOPUST, Jiří - **PAVELEK, Zbyšek**. CD4+/CD45RO+: A Potential Biomarker of the Clinical Response to Glatiramer Acetate. *Cells [online]*, 2019, **8**(5), Art No. 456. ISSN 2073-4409. IF= 5.656/2018

VALIŠ, Martin – ŠARLÁKOVÁ, Jana – HALÚSKOVÁ, Simona - KLÍMOVÁ, Blanka – POTUŽNÍK, Pavel – PETERKA, Marek – KUČA, Kamil – ŠTOURAC, Pavel - MAREŠ, Jan - **PAVELEK, Zbyšek**. An observational study demonstrating the adherence and ease of use of the injector device, RebiSmart®. *Expert Opinion on Drug Delivery*, 2020, 1-6. ISSN 1742-5247. IF= 5.400/2018

ZECCA, Chiara - **PAVELEK, Zbyšek** - PRIKRYLOVA, Katerina - GHIEMMETTI, Mascia - BEELER, Andreas - GOBBI, Claudio. Tolerability, treatment satisfaction and quality of life outcomes in stable multiple sclerosis patients switched from injectable therapies to auto injected intramuscular interferon beta 1a: The SFERA study. *Multiple Sclerosis and Related Disorders*, 2019, **30**, 104-109. ISSN 2211-0348. IF=2.725/2018

## **Přehledový článek s IF**

MASOPUST, Jiří - PROTOPOPOVÁ, Dita - VALIŠ, Martin - **PAVELEK, Zbyšek** - KLÍMOVÁ, Blanka. Treatment of behavioral and psychological symptoms of dementias with psychopharmaceuticals: a review. *Neuropsychiatric Disease and Treatment*, 2018, **14**, 1211220. ISSN 1178-2021. IF= 2.228

## **Jiný článek s IF**

**PAVELEK, Zbyšek**. Trojnásobné kulatiny - specialisté na léčbu roztroušené sklerózy se setkali v Brně. *Česká a slovenská neurologie a neurochirurgie*, 2018, **81**(3), 365-367. ISSN 1210-7859.  
IF= 0.355

## **Původní článek ze Scopusu**

**PAVELEK, Zbyšek** - VYŠATA, Oldřich - TAMBOR, Vojtěch - PIMKOVÁ, Kristýna - VU, Dai Long - KUČA, Kamil - ŠŤOURAČ, Pavel - VALIŠ, Martin. Proteomic analysis of cerebrospinal fluid for relapsing-remitting multiple sclerosis and clinically isolated syndrome. *Biomedical Reports*, 2016, **5**(1), 35-40. ISSN 2049-9434.

VALIŠ, Martin - ŠIMŮNEK, Libor - CHROBOK, Viktor - **PAVELEK, Zbyšek** - ČERNÝ, Michal - EHLER, Edvard - KUNC, Pavel. Poruchy polykání u neurologických onemocnění. *Praktický lékař*, 2014, **94**(6), 254-258. ISSN 0032-6739.

## **Původní článek - ostatní typy časopisů**

HALÚSKOVÁ, Simona - **PAVELEK, Zbyšek** - VALIŠ, Martin. Farmakovigilance nových léčebných přípravků pro roztroušenou sklerózu. *Farmakoterapeutická revue*, 2019, **4**(5), 622629. ISSN 2533-6878.

HALÚSKOVÁ, Simona - **PAVELEK, Zbyšek** - VALIŠ, Martin. Současné strategie léčby roztroušené sklerózy. *Farmakoterapie*, 2019, **15**(6), 955-962. ISSN 1801-1209.

**PAVELEK, Zbyšek - VALIŠ, Martin - HOFMANN KLZO, Ludovít.** Spontánní intrakraniální hypotenze - kazuistika, diagnostika a léčba. *Neurologie pro praxi*, 2015, **16(5)**, 303-306. ISSN 1213-1814.

**PAVELEK, Zbyšek - VALIŠ, Martin.** Hodnocení aktivity roztroušené sklerózy a disabilita. *Farmakoterapeutická revue*, 2019, **4(5)**, 617-622. ISSN 2533-6878.

VALIŠ, Martin - **PAVELEK, Zbyšek - MASOPUST, Jiří.** Únava u roztroušené sklerózy a možnosti jejího ovlivnění. *Medicína pro praxi*, 2016, **13(2)**, 75-78. ISSN 1214-8687.

VALIŠ, Martin - **PAVELEK, Zbyšek.** Indukční terapie a roztroušená skleróza. *Acta Medicae*, 2019, **8(1)**, 107-110. ISSN 1805-398X.

VALIŠ, Martin - **PAVELEK, Zbyšek.** Ukazatele klinické aktivity roztroušené sklerózy a jejich ovlivnění léčbou. *Neurologie pro praxi*, 2014, **15(suppl. E)**, 4-7. ISSN 1803-5280.

### **Přehledový článek - ostatní typy časopisů**

**PAVELEK, Zbyšek - KREJSEK, Jan - VALIŠ, Martin.** Role T a B lymfocytů v patogenezi roztroušené sklerózy. *Neurologie pro praxi*, 2016, **17(2)**, 100-103. ISSN 1213-1814.

**PAVELEK, Zbyšek - VALIŠ, Martin.** Kognitivní deficit u roztroušené sklerózy mozkomíšní. *Neurologie pro praxi*, 2015, **16(6)**, 347-351. ISSN 1213-1814.

**PAVELEK, Zbyšek - VALIŠ, Martin.** Nové možnosti léčby roztroušené sklerózy. *Profi medicína*, 2019, **4(7)**, 17-22. ISSN 2571-2527.

**PAVELEK, Zbyšek - VALIŠ, Martin.** Postavení teriflunomidu v léčbě roztroušené sklerózy. *Farmakoterapie*, 2018, **14(3)**, 321-325. ISSN 1801-1209.

**PAVELEK, Zbyšek - VALIŠ, Martin.** Roztroušená skleróza: léčba, monitorace, aktivita a disabilita. *Neurologie pro praxi*, 2018, **19(4)**, 267-270. ISSN 1213-1814.

**PAVELEK, Zbyšek - VALIŠ, Martin.** Rozšiřující se možnosti léčby roztroušené sklerózy. *Farmakoterapeutická revue*, 2018, **2018(5)**, 465-472. ISSN 2533-6878.

- VALIŠ, Martin - **PAVELEK, Zbyšek**. Alemtuzumab v léčbě roztroušené sklerózy. *Farmakoterapie*, 2017, **13**(3), 398-404. ISSN 1801-1209.
- VALIŠ, Martin - **PAVELEK, Zbyšek**. Biologická léčba v neurologii. *Acta Medicinae*, 2018, **6**(1), 83-86. ISSN 1805-398X.
- VALIŠ, Martin - **PAVELEK, Zbyšek**. Diagnostika a diferenciální diagnostika roztroušené sklerózy mozkomíšní. *Multiple Sclerosis News*, 2018, **4**(2), 24-28. ISSN 2464-5389.
- VALIŠ, Martin - **PAVELEK, Zbyšek**. Dimethyl fumarát - perorální lék v terapii roztroušené sklerózy mozkomíšní. *Farmakoterapie*, 2016, **12**(4), 530-538. ISSN 1801-1209.
- VALIŠ, Martin - **PAVELEK, Zbyšek**. Pacient s roztroušenou sklerózou v současném systému. *Medicína pro praxi*, 2017, **14**(5), 253-257. ISSN 1214-8687.
- VALIŠ, Martin - **PAVELEK, Zbyšek**. Roztroušená skleróza - eskalace léčby a medicína založená na důkazech. *Neurologie pro praxi*, 2017, **18**(Suppl. F), s. 13-17. ISSN: 1213-1814.
- VALIŠ, Martin - **PAVELEK, Zbyšek**. Roztroušená skleróza: bezpečnost léčby. *Neurologie pro praxi*, 2018, **19**(5), 338-342. ISSN 1213-1814.
- VALIŠ, Martin - **PAVELEK, Zbyšek**. Roztroušená skleróza: dimethyl fumarát a fingolimod - od klinických studií ke klinické praxi. *Neurologie pro praxi*, 2017, **18**(6), 399-402. ISSN 1213-1814.
- VALIŠ, Martin - **PAVELEK, Zbyšek**. Pacient s roztroušenou sklerózou v současném systému. *Via practica*, 2018, **15**(2), 90-92. ISSN 1336-4790.
- VALIŠ, Martin - **PAVELEK, Zbyšek**. Základní diagnostika a léčba roztroušené sklerózy. *Medicína pro praxi*, 2015, **12**(2), 77-82. ISSN 1214-8687.
- VALIŠ, Martin - **PAVELEK, Zbyšek**. Základní diagnostika a léčba roztroušené sklerózy. *Via practica*, 2015, **12**(4), 171-174. ISSN 1336-4790.

## **Kazuistika – ostatní typy časopisů**

HALÚSKOVÁ, Simona - **PAVELEK, Zbyšek** - VALIŠ, Martin. Alemtuzumab a léčba roztroušené sklerózy v současné klinické praxi. *Neurologie pro praxi*, 2019, **20**(5), 395-398. ISSN 1213-1814.

**PAVELEK, Zbyšek** - BĚLOBRÁDEK, Zdeněk - VALIŠ, Martin. Dimethyl fumarát a nežádoucí polékové gastrointestinální symptomy. *Multiple Sclerosis News*, 2018, **4**(2), 2832. ISSN 2464-5389.

**PAVELEK, Zbyšek** - RYŠKA, Pavel - VALIŠ, Martin. Dimethyl fumarát a eskalace léčby. *Multiple Sclerosis News*, 2017, **3**(2), 27-30. ISSN 2464-5389.

**PAVELEK, Zbyšek** - RYŠKA, Pavel - VALIŠ, Martin. Eskalace léčby u roztroušené sklerózy. *Neurologie pro praxi*, 2016, **17**(6), 407-411. ISSN 1213-1814.

**PAVELEK, Zbyšek** - RYŠKA, Pavel - VALIŠ, Martin. Glatiramer acetát a tři kazuistiky. *Medicína pro praxi*, 2016, **17**(4), 250-253. ISSN 1214-8687.

**PAVELEK, Zbyšek** - VALIŠ, Martin. Léčba pacientky s relabující-reminentní roztroušenou sklerózou natalizumabem. *Farmakoterapie*, 2017, **13**(3), 386-391. ISSN 1801-1209.

### **Klinická studie – ostatní typy časopisů**

**PAVELEK, Zbyšek** - VALIŠ, Martin. Ocrelizumab, klinická aktivita a progresse - dlouhodobá data. *Neurologie pro praxi*, 2019, **20**(3), 204-207. ISSN 1213-1814.

### **Stat' v konferenčním sborníku**

PROCHÁZKA, Aleš - VYŠATA, Oldřich - VAVRYČUKOVÁ, Julie - CEJNAR, Pavel - **PAVELEK, Zbyšek** - LHOTSKÁ, Lenka. Registration and Analysis of Retinal Images for Diagnosis and Treatment Monitoring. In: *Proceedings of the International Workshop on Computational Intelligence for Multimedia Understanding*. Piscataway: IEEE, 2014. s. 1-4. DOI 10.1109/IWCIM.2014.7008817. ISBN 978-1-4799-7971-4.

### **Monografie**

VALIŠ, Martin - **PAVELEK, Zbyšek** - HOSÁKOVÁ, Kristýna - MASOPUST, Jiří -  
KLÍMOVÁ, Blanka - KÖVÁRI, Martina - LENDEROVÁ, Zuzana - NOVOTNÁ, Klára.  
*Roztroušená skleróza pro praxi*. 1. vyd. Praha: Maxdorf, 2018. 188 s. ISBN 978-80-7345-573-6.

## 7 LITERATURA

1. Bacon KB, Harrison JK. Chemokines and their receptors in neurobiology: perspectives in physiology and homeostasis. *J. Neuroimmunol.*, 2000; 104: 92–97.
2. Barkhof F, Filippi M, Miller DH, Scheltens P, Campi A, Polman CH, Comi G, Adèr HJ, Losseff N, Valk J: Comparison of MRI criteria at first presentation to predict conversion to clinically definite multiple sclerosis, *Brain*. 1997 Nov;120 ( Pt 11):2059-69.
3. Baroncini D, Ghezzi A, Annovazzi PO, Colombo B, Martinelli V, Minonzio G, Moiola L, Rodegher M, Zaffaroni M, Comi G. Natalizumab Versus Fingolimod in Patients With Relapsing-Remitting Multiple Sclerosis Non-Responding to First-Line Injectable Therapies. *Mult Scler*. 2016 Sep;22(10):1315-26.
4. Belachew S, Phan-Ba R, Bartholomé E, Delvaux V, Hansen I, Calay P, Hafsi KE, Moonen G, Tshibanda L, Vokaer M. Natalizumab induces a rapid improvement of disability status and ambulation after failure of previous therapy in relapsing-remitting multiple sclerosis. *Eur J Neurol*. 2011 Feb;18(2):240-5. doi: 10.1111/j.14681331.2010.03112.
5. Beynon V, Quintana FJ, Weiner HL, Activated human CD4+CD45RO+ memory Tcells indirectly inhibit NLRP3 inflammasomeactivation through downregulation of P2X7 R signalling. *PLoS One*. 2012;7(6):e39576. doi: 10.1371/journal.pone.0039576.
6. Bompreszi, R. Dimethyl fumarate in the treatment of relapsing-remitting multiple sclerosis: an overview. *Ther Adv Neurol Disord*. 2015 Jan;8(1):20-30. doi: 10.1177/1756285614564152
7. Brettschneider J, Czerwoniak A, Senel M, Fang L, Kassubek J, Pinkhardt E, Lauda F, Kapfer T, Jesse S, Lehmsiek V, Ludolph AC, Otto M, Tumani H. The chemokine CXCL13 is a prognostic marker in clinically isolated syndrome (CIS). *PLoS One* 2010; 5(8): e11986.
8. Browne P, Chandraratna D, Angood C, Tremlett H, Baker C, Taylor BV, Thompson AJ. Atlas of Multiple Sclerosis 2013: a growing global problem with widespread inequity. *Neurology* 2014; 83(11): 1022–1024.



9. Calabrese M, Seppi D, Romualdi C, Rinaldi F, Alesio S, Perini P, Gallo P. Gray matter pathology in MS: a 3-year longitudinal study in a pediatric population. *AJNR Am J Neuroradiol* 2012;33:1507–11, 10.3174/ajnr.A3011.
10. Carrá, A, Onaha, P, Luetic G, Burgos M, Crespo E, Deri N, Halfon M, Jaacks G, López A, Sinay V, Vrech C. Therapeutic outcome 3 years after switching of immunomodulatory therapies in patients with relapsing-remitting multiple sclerosis in Argentina. *Eur. J. Neurol* 2008. 15, 386–393.
11. Cohen JA, Barkhof F, Comi G, Hartung HP, Khatri BO, Montalban X, Pelletier J, Capra R, Gallo P, Izquierdo G, Tiel-Wilck K, de Vera A, Jin J, Stites T, Wu S, Aradhye S, Kappos L; TRANSFORMS Study Group. Oral fingolimod or intramuscular interferon for relapsing multiple sclerosis. *N Engl J Med* 2010; 362: 402–415.
12. Cohen JA, Coles AJ, Arnold DL, Confavreux C, Fox EJ, Hartung HP, Havrdova E, Selmaj KW, Weiner HL, Fisher E, Brinar VV, Giovannoni G, Stojanovic M, Ertik BI, Lake SL, Margolin DH, Panzara MA, Compston DA; CARE-MS I investigators. Alemtuzumab versus interferon beta 1a as first-line treatment for patients with relapsing-remitting multiple sclerosis: a randomised controlled phase 3 trial. *Lancet* 2012 *Neurology* April 8, 2014 vol. 82 no. 10 Supplement P2.199; 380: 1819–1828.
13. Coles AJ, Twyman CL, Arnold DL, Cohen JA, Confavreux C, Fox EJ, Hartung HP, Havrdova E, Selmaj KW, Weiner HL, Miller T, Fisher E, Sandbrink R, Lake SL, Margolin DH, Oyuela P, Panzara MA, Compston DA; CARE-MS II investigators. Alemtuzumab for patients with relapsing multiple sclerosis after disease-modifying therapy: a randomised controlled phase 3 trial. *Lancet* 2012; 380: 1829–1839.
14. Comabella M, Fernandez M, Martin R, Rivera-Vallve S, Borrás E, Chiva C, Borrás E, Chiva C, Julià E, Rovira A, Cantó E, Alvarez-Cermeño JC, Villar LM, Tintoré M, Montalban X. Cerebrospinal fluid chitinase 3-like 1 levels are associated with conversion to multiple sclerosis. *Brain* 2010; 133(4): 1082–1093.
15. Comi G, De Stefano N, Freedman MS. Comparison of two dosing frequencies of subcutaneous interferon beta-1a in patients with a first clinical demyelinating event

- suggestive of multiple sclerosis (REFLEX): a phase 3 randomised controlled trial. *Lancet Neurol* 2012; 11: 33-41.
16. Comi G, Martinelli V, Rodegher M, Muiola L, Bajenaru O, Carra A, Elovaara I, Fazekas F, Hartung HP, Hillert J, King J, Komoly S, Lubetzki C, Montalban X, Myhr KM, Ravnborg M, Rieckmann P, Wynn D, Young C, Filippi M; PreCISe study group. Effect of glatiramer acetate on conversion to clinically definite multiple sclerosis in patients with clinically isolated syndrome (PreCISe study): a randomised, double-blind, placebocontrolled trial. *Lancet*. 2009 Oct 31;374(9700):1503-11. doi: 10.1016/S01406736(09)61259-9. Epub 2009 Oct 6.
  17. Constantinescu CS, Farooqi N, O'Brien K, Gran B. Experimental autoimmune encephalomyelitis (EAE) as a model for multiple sclerosis (MS). *Br J Pharmacol*. 2011 Oct; 164(4): 1079–1106.
  18. Costantino CM, Baecher-Allan C, Hafler DA. Multiple sclerosis and regulatory T cells. *J Clin Immunol*. 2008 Nov;28(6):697-706.
  19. Cree BAC, Kappos L, Freedman MS, Cohen JA, Sprenger T, Ritter S, Tomic D, Piani Weber D. Long-term effects of fingolimod on NEDA by year of treatment. Poster presented at: 31stECTRIMS Annual Congress; October 7 - 0, 2015; Barcelona, Spain. Poster Session 1; P627.
  20. Cree B, Vollmer TL: Clinically isolated syndrome evaluation, risk stratification and treatment decision, *Adv Stud Med* 2008,8(8)257-265.
  21. de Rosbo NK, Kaye JF, Eisenstein M, Mendel I, Hoeflberger R, Lassmann H, Milo R, Ben-Nun A. The myelin-associated oligodendrocytic basic protein region MOBP15-36 encompasses the immunodominant major encephalitogenic epitope(s) for SJL/J mice and predicted epitope(s) for multiple sclerosis-associated HLA-DRB1\*1501. *J Immunol*. 2004;173:1426.
  22. Di Filippo M, Anderson VM, Altmann DR, Swanton JK, Plant GT, Thompson AJ Miller DH. Brain atrophy and lesion load measures over 1 year relate to clinical status after 6 years in patients with clinically isolated syndromes. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2011;81(2):204-8. doi: 10.1136/jnnp.2009.171769.

23. Durelli L, Verdun E, Barbero P, Bergui M, Versino E, Ghezzi A, Montanari E, Zaffaroni M; Independent Comparison of Interferon (INCOMIN) Trial Study Group. Every-other-day interferon beta-1b versus once-weekly interferon beta-1a for multiple sclerosis: results of a 2-year prospective randomised multicentre study (INCOMIN). *Lancet* 2002; 359: 1453–1460.
24. Faure E. Multiple sclerosis and hepatitis B vaccination: could minute contamination of the vaccine by partial hepatitis B virus polymerase play a role through molecular mimicry? *Med Hypotheses*. 2005;65(3):509-20.
25. Fox RJ, Miller DH, Phillips JT, Hutchinson M, Havrdova E, Kita M, Yang M, Raghupathi K, Novas M, Sweetser MT, Vigiotta V, Dawson KT; CONFIRM Study Investigators. Placebo-controlled phase 3 study of oral BG-12 or glatiramer in multiple sclerosis. *N Engl J Med* 2012;367:1087–1097.
26. Frohman EM, Racke MK, Raine CS. Multiple sclerosis--the plaque and its pathogenesis. *N Engl J Med*. 2006;354:942
27. Gajofatto, A., Bacchetti, P., Grimes, B., et al., 2009. Switching first-line diseasemodifying therapy after failure: impact on the course of relapsing-remitting multiple sclerosis. *Mult Scler*. 2009 Jan;15(1):50-8.
28. Gandhi R, Laroni A, Weiner HL. Role of the innate immune system in the pathogenesis of multiple sclerosis. *J. Neuroimmunol*. 2009;221:7–14.
29. Garcea O, Villa A, Cáceres F, Adoni T, Alegría M, Barbosa Thomaz R, Buzo R, Llamas López L, Rivera Kindel M: Early treatment of multiple sclerosis: a Latin American experts meeting, *Mult Scler*. 2009 Oct;15 Suppl 3:S1-S12.
30. Giovannoni G, Comi G, Cook S et al. A placebo-controlled trial of oral cladribine for relapsing multiple sclerosis. *N Engl J Med*. 2010 Feb 4;362(5):416-26.
31. Giovannoni G, Tomic D, Bright JR, Havrdová E. "No evident disease activity": The use of combined assessments in the management of patients with multiple sclerosis. *Mult Scler*. 2017 Aug;23(9):1179-1187. doi: 10.1177/1352458517703193.

32. Goodkin DE, Rudick RA, VanderBrug Medendorp S, Daughtry MM, Schwetz KM, Fischer J, Van Dyke C. Low-dose (7.5 mg) oral methotrexate reduces the rate of progression in chronic progressive multiple sclerosis. *Ann Neurol* 1995; 37:30.
33. Gold R, Giovannoni G, Phillips JT, Fox RJ, Zhang A, Meltzer L, Kurukulasuriya NC. Efficacy and safety of delayed-release dimethyl fumarate in patients newly diagnosed with relapsing-remitting multiple sclerosis (RRMS). *Mult Scler*. 2015 Jan;21(1):57-66. doi: 10.1177/1352458514537013.
34. Gold R, Kappos L, Arnold DL, Bar-Or A, Giovannoni G, Selmaj K, Tornatore C, Sweetser MT, Yang M, Sheikh SI, Dawson KT; DEFINE Study Investigators. Placebocontrolled phase 3 study of oral BG-12 for relapsing multiple sclerosis. *N Engl J Med* 2012;367(12):1098–1107.
35. Goodin DS, Bates D: Treatment of early multiple sclerosis: the value of treatment initiation after a first clinical episode. *Mult Scler*. 2009 Oct; 15(10):1175-82.
36. Gorelik L, Lerner M, Bixler S, Crossman M, Schlain B, Simon K, Pace A, Cheung A, Chen LL, Berman M, Zein F, Wilson E, Yednock T, Sandrock A, Goelz SE, Subramanyam M. Anti-JC virus antibodies: implications for PML risk stratification. *Ann Neurol*. 2010 Sep;68(3):295-303. doi: 10.1002/ana.22128.
37. Grassiot B, Desgranges B, Eustace F, Defer G. Quantification and clinical relevance of brain atrophy in multiple sclerosis: a review. *J Neurol* 2009;256:1397-1412.
38. Greenfield JG, Love S, Louis DN, Ellison D. *Greenfield's neuropathology*. 8. London: Hodder Arnold; 2008.
39. Gudmundsdottir S, Svennerholm B, Kristensson K, Lycke E. Herpes simplex virus-enhanced production of autoantibodies against myelin basic protein in mice. *Arch Virol*. 1986;88(1-2):37-47.
40. Hauser SL. The Charcot Lecture | beating MS: a story of B cells, with twists and turns. *Mult Scler*. 2015 Jan;21(1):8-21.
41. Hauser SL, Bar Or A, Comi G, et al. Ocrelizumab versus Interferon Beta 1a in Relapsing Multiple Sclerosis. *N Engl J Med* 2017; 376: 221–220.

42. He A, Spelman T, Jokubaitis V, Havrdova E, Horakova D, Trojano M, Lugaresi A, Izquierdo G, Grammond P, Duquette P, Girard M, Pucci E, Iuliano G, Alroughani R, Oreja-Guevara C, Fernandez-Bolaños R, Grand'Maison F, Sola P, Spitaleri D, Granella F, Terzi M, Lechner-Scott J, Van Pesch V, Hupperts R, Sánchez-Menoyo JL, Hodgkinson S, Rozsa C, Verheul F, Butzkueven H, Kalincik T; MSBase Study Group. Comparison of switch to fingolimod or interferon beta/glatiramer acetate in active multiple sclerosis. *JAMA Neurol.* 2015 Apr;72(4):405-13. doi: 10.1001/jamaneurol.2014.4147.
43. Hindorff LA, Sethupathy P, Junkins HA, Ramos EM, Mehta JP, Collins FS, Manolio TA. Potential etiologic and functional implications of genome-wide association loci for human diseases and traits. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2009 Jun 9;106(23):9362-7.
44. Hirst C, Ingram G, Pearson O, Pickersgill T, Scolding N, Robertson N. Contribution of relapses to disability in multiple sclerosis. *J Neurol.* 2008 255: 280–287.
45. Holick FM. Sunlight and vitamin D for bone health and prevention of autoimmune diseases, cancers, and cardiovascular disease. *Am J Clin Nutr* 2004;80:1678S–1688S.
46. Hommes OR, Sørensen PS, Fazekas F, Enriquez MM, Koelmel HW, Fernandez O, Pozzilli C, O'Connor P. Intravenous immunoglobulin in secondary progressive multiple sclerosis: randomised placebo-controlled trial. *Lancet* 2004; 364:114
47. Hutchinson M, Gold R, Fox RJ, Havrdova E, Givannoni G, Zhang A, Hotermans C, Stephan M, Bar-Or A. Clinical efficacy of BG-12 (dimethyl-fumarate) for relapsing–remitting multiple sclerosis according to prior therapy:an integrated analysis of the Phase 3 DEFINE and CONFIRM studies. Poster presented at: 29th ECTRIMS Annual Congress; October 2 - 5, 2013; Copenhagen, Denmark; P563.
48. International Multiple Sclerosis Genetics Consortium. A High-Density Screen for Linkage in Multiple Sclerosis. *Am J Hum Genet.* 2005 Sep; 77(3): 454–467.
49. Jacobs L, Beck RW, Simon JH, Kinkel RP, Brownscheidle CM, Murray TJ, Simonian NA, Slator PJ, Sandrock AW: Intramuscular interferon beta-1a therapy initiated during a first demyelinating event in multiple sclerosis. CHAMPS Study Group, *N Engl J Med.* 2000 Sep 28;343(13):898-904.

50. Kalincik T, Brown JW, Robertson N, Willis M, Scolding N, Rice CM, Wilkins A, Pearson O, Ziemssen T, Hutchinson M, McGuigan C, Jokubaitis V, Spelman T, Horakova D, Havrdova E, Trojano M, Izquierdo G, Lugaresi A, Prat A, Girard M, Duquette P, Grammond P, Alroughani R, Pucci E, Sola P, Hupperts R, Lechner-Scott J, Terzi M, Van Pesch V, Rozsa C, Grand'Maison F, Boz C, Granella F, Slee M, Spitaleri D, Olascoaga J, Bergamaschi R, Verheul F, Vucic S, McCombe P, Hodgkinson S, Sanchez-Menoyo JL, Ampapa R, Simo M, Csepany T, Ramo C, Cristiano E, Barnett M, Butzkueven H, Coles A; MSBase Study Group. Treatment effectiveness of alemtuzumab compared with natalizumab, fingolimod, and interferon beta in relapsing-remitting multiple sclerosis: a cohort study. *Lancet Neurol*. 2017 Apr;16(4):271-281. doi: 10.1016/S1474-4422(17)30007-8. Epub 2017 Feb 11.
51. Kappos L, Clanet M, Sandberg-Wollheim M, Radue EW, Hartung HP, Hohlfeld R, Xu J, Bennett D, Sandrock A, Goelz S; European Interferon Beta-1a IM Dose-Comparison Study Investigators. Neutralizing antibodies and efficacy of interferon beta-1a: a 4-year controlled study. *Neurology*. 2005 Jul 12;65(1):40-7.
52. Kappos L, Freedman MS, Polman CH, Edan G, Hartung HP, Miller DH, Montalbán X, Barkhof F, Radü EW, Bauer L, Dahms S, Lanius V, Pohl C, Sandbrink R; BENEFIT Study Group.: Effect of early versus delayed interferon beta-1b treatment on disability after a first clinical event suggestive of multiple sclerosis: a 3 - year follow-up analysis of the BENEFIT study, *Lancet*. 2007 Aug 4;370(9585):389-97.
53. Kappos L, Radue EW, O'Connor P, Polman C, Hohlfeld R, Calabresi P, Selmaj K, Agoropoulou C, Leyk M, Zhang-Auberson L, Burtin P; FREEDOMS Study Group. A placebo-controlled trial of oral fingolimod in relapsing multiple sclerosis. *N Engl J Med* 2010; 362: 387–401.
54. Kappos L, Bar-Or A, Cree BAC, et al. Siponimod versus placebo in secondary progressive multiple sclerosis (EXPAND): a double-blind, randomised, phase 3 study. *Lancet*. 2018 Mar 31;391(10127):1263-1273.
55. Kasper L, Shoemaker J. Multiple sclerosis immunology: The healthy immune system vs. the MS immune system. *Neurology*. 2010;74:S2–S8.

56. Koch-Henriksen N, Sørensen P, Christensen T, Frederiksen J, Ravnborg M, Jensen K, Heltberg A, Kristensen O, Stenager E, Petersen T, Hansen T; Danish Multiple Sclerosis Group. A randomized study of two interferon- beta treatments in relapsing–remitting multiple sclerosis. *Neurology* 2006; 66; 1056-1060.
57. Komiyama KJ, Nakae S, Matsuki T, Nambu A, Ishigame H, Kakuta S, Sudo K, Iwakura Y. IL-17 plays an important role in the development of experimental autoimmune encephalomyelitis. *J. Immunol.* 2006;177:566–573.
58. Krejsek J. Novinky v patogenezi roztroušené sklerózy. Co je skryto za disabilitou pacientů s RS, *Remedia*, 2014, S2-4.
59. Liebert UG, Linington C, ter Meulen V. Induction of autoimmune reactions to myelin basic protein in measles virus encephalitis in Lewis rats. *J Neuroimmunol.* 1988 Jan;17(2):103-18.
60. Limmroth V, Malessa R, Zettl UK, Koehler J, Japp G, Haller P, Elias W, Obhof W, Viehöver A, Meier U, Brosig A, Hasford J, Putzki N, Kalski G, Wernsdörfer C; QUASIMS Study Group. Quality Assessment in Multiple Sclerosis Therapy (QUASIMS): A comparison of interferon beta therapies for relapsing–remitting multiple sclerosis. *J Neurol* 2007; 254: 67–77.
61. Lu G, Beadnall HN, Barton J, Hardy TA, Wang C, Barnett MH. The evolution of "No Evidence of Disease Activity" in multiple sclerosis. *Mult Scler Relat Disord.* 2018 Feb;20:231-238. doi: 10.1016/j.msard.2017.12.016.
62. Lublin FD, Reingold SC. Defining the clinical course of multiple sclerosis: results of an international survey. National Multiple Sclerosis Society (USA) Advisory Committee on Clinical Trials of New Agents in Multiple Sclerosis. *Neurology.* 1996 Apr;46(4):907-11.
63. Lublin FD, Reingold SC, Cohen JA, Cutter GR, Sørensen PS, Thompson AJ, Wolinsky JS, Balcer LJ, Banwell B, Barkhof F, Bebo B Jr, Calabresi PA, Clanet M, Comi G, Fox RJ, Freedman MS, Goodman AD, Inglese M, Kappos L, Kieseier BC, Lincoln JA,

- Lubetzki C, Miller AE, Montalban X, O'Connor PW, Petkau J, Pozzilli C, Rudick RA, Sormani MP, Stüve O, Waubant E, Polman CH. Defining the clinical course of multiple sclerosis: the 2013 revisions. *Neurology*. 2014 Jul 15;83(3):278-86.
64. Lucchinetti CF, Bruck W, Lassmann H. Evidence for pathogenic heterogeneity in multiple sclerosis. *Ann Neurol*. 2004;56:308.
65. Lünemann JD, Kamradt T, Martin R and Münz C. Epstein-Barr Virus: Environmental Trigger of Multiple Sclerosis? *J. Virol*. July 2007 vol. 81 no. 13 6777-6784.
66. Maasaki N, Miyazaki Y. Radiologically isolated syndrome and clinically isolated syndrome. *Clin Exp Neuroimmunol*. 2017, 8 (Suppl. 1), 24–32.
67. Matesanz F, González-Pérez A, Lucas M, Sanna S, Gayán J, Urcelay E, Zara I, Pitzalis M, Cavanillas ML, Arroyo R, Zoledziewska M, Marrosu M, Fernández O, Leyva L, Alcina A, Fedetz M, Moreno-Rey C, Velasco J, Real LM, Ruiz-Peña JL, Cucca F, Ruiz A, Izquierdo G. Genome-wide association study of multiple sclerosis confirms a novel locus at 5p13.1. *PLoS One*. 2012;7(5):e36140.
68. Miller JR. The importance of early diagnosis of multiple sclerosis. *J Manag Care Pharm*. 2004 Jun;10(3 Suppl B):S4-11.
69. Miller AE, Wolinsky JS, Kappos L, Comi G, Freedman MS, Olsson TP, Bauer D, Benamor M, Truffinet P, O'Connor PW; TOPIC Study Group. Oral teriflunomide for patients with a first clinical episode suggestive of multiple sclerosis (TOPIC): a randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 3 trial. *Lancet Neurol*. 2014 Oct;13(10):977-86. doi: 10.1016/S1474-4422(14)70191-7. Epub 2014 Sep 2.
70. Montalban X, Hauser SL, Kappos L, et al. Ocrelizumab versus Placebo in Primary Progressive Multiple Sclerosis. *N Engl J Med* 2017; 376: 221–234.
71. Noseworthy JH, O'Brien PC, Weinshenker BG, Weis JA, Petterson TM, Erickson BJ, Windebank AJ, Whisnant JP, Stolp-Smith KA, Harper CM Jr, Low PA, Romme LJ, Johnson M, An KN, Rodriguez M. IV immunoglobulin does not reverse established weakness in MS. *Neurology* 2000; 55:1135.



72. Okuda DT, Mowry EM, Beheshtian A, Waubant E, Baranzini SE, Goodin DS, Hauser SL, Pelletier D: Incidental MRI anomalies suggestive of multiple sclerosis: the radiologically isolated syndrome, *Neurology*. 2009 Mar 3; 72(9):800-5.
73. Outteryck O, Zéphir H, Salleron J, Ongagna JC, Etxeberria A, Collongues N, Lacour A, Fleury MC, Blanc F, Giroux M, de Seze J, Vermersch P. JC-virus seroconversion in multiple sclerosis patients receiving natalizumab. *Mult Scler*. 2014 Jun;20(7):822-9. doi: 10.1177/1352458513505353.
74. Paling D, Golay X, Wheeler-Kingshott C, Kapoor R, Miller D. Energy failure in multiple sclerosis and its investigation using MR techniques. *J Neurol* 2011; 258: 2113–2127.
75. Parks NE, Flanagan EP, Lucchinetti CF, Wingerchuk, DM. NEDA treatment target? No evident disease activity as an actionable outcome in practice. *J Neurol Sci*. 2017 Dec 15;383:31-34. doi: 10.1016/j.jns.2017.10.015.
76. Pohl D, Krone K, Rostasy K, Kahler E, Brunner E, Lehnert M, Wagner HJ, Gärtner J, Hanefeld F High Seroprevalence of Epstein-Barr Virus in Children with Multiple Sclerosis. *Neurology* 2006;67:2063-2065.
77. Polman CH, O'Connor PW, Havrdova E, Hutchinson M, Kappos L, Miller DH, Phillips JT, Lublin FD, Giovannoni G, Wajgt A, Toal M, Lynn F, Panzara MA, Sandrock AW; AFFIRM Investigators. A randomized, placebo-controlled trial of natalizumab for relapsing multiple sclerosis. *N Engl J Med*. 2006 Mar 2;354(9):899-910.
78. Polman CH, Reingold SC, Banwell B, Clanet M, Cohen JA, Filippi M, Fujihara K, Havrdova E, Hutchinson M, Kappos L, Lublin FD, Montalban X, O'Connor P, SandbergWollheim M, Thompson AJ, Waubant E, Weinshenker B, Wolinsky JS. Diagnostic criteria for multiple sclerosis: 2010 revisions to the McDonald criteria. *Ann Neurol* 2011;69:292–302.
79. Prosperini L, Borriello G, De Giglio L, Leonardi L, Barletta V, Pozzilli C Management of breakthrough disease in patients with multiple sclerosis: when an increasing of Interferon beta dose should be effective? *BMC Neurol*. 2011 Feb 25;11:26. doi: 10.1186/1471-237711-26.

80. Prosperini L, Gallo V, Petsas N, Borriello G, Pozzilli C. One-year MRI scan predicts clinical response to interferon beta in multiple sclerosis. *Eur J Neurol.* 2009 Nov;16(11):1202-9.
81. Prosperini L, Mancinelli CR, De Giglio L, De Angelis F, Barletta V, Pozzilli C. Interferon beta failure predicted by EMA criteria or isolated MRI activity in multiple sclerosis. *Mult Scler.* 2014 Apr;20(5):566-76.
82. Putzki N, Yaldizli O, Mäurer M, Cursiefen S, Kuckert S, Klawe C, Maschke M, Tettenborn B, Limmroth V. Efficacy of natalizumab in second line therapy of relapsing-remitting multiple sclerosis: results from a multi-center study in German speaking countries. *Eur J Neurol.* 2010 Jan;17(1):31-7. doi: 10.1111/j.1468-1331.2009.02728.
83. Ransohoff RM, Perry VH. Microglial physiology: unique stimuli, specialized responses. *Annu Rev Immunol.* 2009;27:119-45.
84. Río J, Rovira A, Tintoré M, Huerga E, Nos C, Tellez N, Tur C, Comabella M, Montalban X. Relationship between MRI lesion activity and response to IFN-beta in relapsing-remitting multiple sclerosis patients. *Mult Scler.* 2008 May;14(4):479-84.
85. Río J, Tintoré M, Sastre-Garriga J, Nos C, Castelló J, Tur C, Comabella M, Montalban X. Change in the clinical activity of multiple sclerosis after treatment switch for suboptimal response. *Eur J Neurol.* 2012 Jun;19(6):899-904. doi: 10.1111/j.1468-1331.2011.03648
86. Sallusto F, Impellizzieri D, Basso C, Laroni A, Uccelli A, Lanzavecchia A, Engelhardt B. T-cell trafficking in the central nervous system. *Immunol Rev.* 2012 Jul;248(1):216-27.
87. Salzer J, Svenningsson A, Sundström P. Neurofilament light as a prognostic marker in multiple sclerosis. *Mult Scler* 2010; 16(3): 287–292.
88. Salzer J, Hallmans G, Nyström M, Stenlund H, Wadell G, Sundström P. Vitamin D as a protective factor in multiple sclerosis. *Neurology.* 2012 Nov 20;79(21):2140-5.
89. Scalfari A, Neuhaus A, Degenhardt A, Rice G, Muraro P, Daumer M, Ebers GC. The natural history of multiple sclerosis: a geographically based study 10: relapses and longterm disability. *Brain.* 2010 133: 1914–1929.

90. Sellebjerg F, Börnsen L, Ammitzbøll C, Nielsen JE, Vinther-Jensen T, Hjermand LE, von Essen M, Ratzner RL, Soelberg Sørensen P, Romme Christensen J. Defining active progressive multiple sclerosis. *Mult Scler.* 2017 Nov;23(13):1727-1735.
91. Shirani A, Zhao Y, Karim ME, Evans C, Kingwell E, van der Kop ML, Oger J, Gustafson P, Petkau J, Tremlett H. Association between use of interferon beta and progression of disability in patients with relapsing – remitting multiple sclerosis. *JAMA* 2012; 308(3): 247–256.
92. Schwid SR, Thorpe J, Sharief M, Sandberg-Wollheim M, Rammohan K, Wendt Wendt J, Panitch H, Goodin D, Li D, Chang P, Francis G. EVIDENCE (Evidence of Interferon Dose-Response: European North American Comparative Efficacy) Study Group; University of British Columbia MS/MRI Research Group. Enhanced benefit of increasing interferon beta-1a dose and frequency in relapsing multiple sclerosis: the EVIDENCE Study. *Arch Neurol* 2005 May; 62(5): 785-92.
93. Soldan SS, Berti R, Salem N, Secchiero P, Flamand L, Calabresi PA, Brennan MB, Maloni HW, McFarland HF, Lin HC, Patnaik M, Jacobson S. Association of human herpes virus 6 (HHV-6) with multiple sclerosis: increased IgM response to HHV-6 early antigen and detection of serum HHV-6 DNA. *Nat Med.* 1997 Dec;3(12):1394-7.
94. Steinman L. Multiple sclerosis: a two-stage disease. *Nature Immunol.*, 2001; 2(9): 762–764.
95. Thompson AJ, Banwell BL, Barkhof F, Carroll WM, Coetzee T, Comi G, Correale J, Fazekas F, Filippi M, Freedman MS, Fujihara K, Galetta SL, Hartung HP, Kappos L, Lublin FD, Marrie RA, Miller AE, Miller DH, Montalban X, Mowry EM, Sorensen PS, Tintoré M, Traboulsee AL, Trojano M, Uitdehaag BMJ, Vukusic S, Waubant E, Weinshenker BG, Reingold SC, Cohen JA. Diagnosis\_of\_multiple sclerosis: 2017\_revisions\_of the\_McDonald\_criteria. *Lancet Neurol.* 2018 Feb;17(2):162173. doi: 10.1016/S1474-4422(17)30470-2.
96. Tintoré M, Rovira A, Río J, Tur C, Pelayo R, Nos C, Téllez N, Perkal H, Comabella M, Sastre-Garriga J, Montalban X. Do oligoclonal bands add information to MRI in first attacks of multiple sclerosis? *Neurology.* 2008 Mar 25;70(13 Pt 2):1079-83.

97. Trapp BD, Peterson J, Ransohoff RM, Rudick R, Mörk S, Bö L. Axonal transection in the lesions of multiple sclerosis. *N Engl J Med.* 1998;338:278.
98. Tremlett H, Yousefi M, Devonshire V, Rieckmann P, Zhao Y. Impact of multiple sclerosis relapses on progression diminishes with time. *Neurology.* 2009 73: 1616–1623.
99. Trojano M, Liguori M, Paolicelli D, Zimatore GB, De Robertis F, Avolio C, Giuliani F, Fuiani A, Livrea P; Southern Italy MS Group. Interferon beta in relapsing-remitting multiple sclerosis: an independent postmarketing study in southern Italy. *Mult Scler.* 2003;9:451–457.
100. Waubant E, Vukusic S, Gignoux L, Dubief FD, Achiti I, Blanc S, Renoux C, Confavreux C. Clinical characteristics of responders to interferon therapy for relapsing MS. *Neurology.* 2003;61:184–189.
101. Wattjes MP, Rovira À, Miller D, Yousry TA, Sormani MP, de Stefano MP, Tintoré M, Auger C, Tur C, Filippi M, Rocca MA, Fazekas F, Kappos L, Polman C, Frederik Barkhof, Xavier Montalban; MAGNIMS study group. Evidence-based guidelines: MAGNIMS consensus guidelines on the use of MRI in multiple sclerosis-establishing disease prognosis and monitoring patients. *Nat Rev Neurol* 2015; 11 (10): 597–606. doi: 10.1038/nrneurol.2015.157.
102. Weinshenker BG, O'Brien PC, Petterson TM, Noseworthy JH, Lucchinetti CF, Dodick DW, Pineda AA, Stevens LN, Rodriguez M. A randomized trial of plasma exchange in acute central nervous system inflammatory demyelinating disease. *Ann Neurol.* 1999 Dec;46(6):878-86.
103. Weller RO, Engelhardt B, Phillips MJ. Lymphocyte targeting of the central nervous system: a review of afferent and efferent CNS-immune pathways. *Brain Pathol.* 1996 Jul;6(3):275-88.
104. Wolinsky JS, Montalban X, Hauser SL et al Evaluation of no evidence of progression or active disease (NEPAD) in patients with primary progressive multiple sclerosis in the ORATORIO trial. *Ann Neurol.* 2018 Aug 29.

105. Wucherpfennig KW and Strominger JL. Molecular mimicry in T cell-mediated autoimmunity: viral peptides activate human T cell clones specific for myelin basic protein. *Cell* 1995;80:695-705.
106. Yamout B, Al Khawajah M. Radiologically isolated syndrome and multiple sclerosis. *Mult Scler Relat Disord*. 2017 Oct;17:234-237.
107. Zetterberg H, Teunissen C. Fluid biomarkers for disease activity in multiple sclerosis. *Mult Scler*. 2017 Nov;23(13):1660-1661.
108. Ziemssen T, Schrempf W. Glatiramer acetate: mechanisms of action in multiple sclerosis. *Int Rev Neurobiol*. 2007;79:537-70.