

SOUČASNÁ LÉČBA RELAPS-REMITENTNÍ ROZTROUŠENÉ SKLERÓZY A PERSPEKTIVY DO BUDOUČNA

Eva Krasulová, Eva Havrdová

Centrum pro demyelinizační onemocnění, Neurologická klinika VFN a 1. LF UK, Praha

Roztroušená skleróza mozkomíšní (RS) představuje chronické zánětlivé demyelinizační onemocnění centrálního nervového systému (CNS) s prevalencí v České Republice 1:1 000. Jedná se o nejčastější neurologickou příčinu invalidity mladých osob (20–40 let) s autoimunitní etiologií, a tím o velmi důležitou oblast oboru neuroimunologie. U zhruba 85 % pacientů začíná onemocnění náhle vzniklou neurologickou symptomatikou, u níž je vyloučena jiná etiologie obtíží, a demyelinizaci podporuje nález na magnetické rezonanci a v mozkomíšním moku. Jedná se o tzv. klinicky izolovaný syndrom (CIS), který z pohledu dnešních poznatků o RS zároveň představuje zcela optimální dobu k zahájení adekvátní imunomodulační léčby. Do dvou let od CIS jsou splněna McDonaldova diagnostická kritéria pro RS u 85 % pacientů, je patrna aktivita zánětu v CNS a hovoříme o relaps-remitentní RS. V přirozeném průběhu RS během 6–10 let dojde u většiny pacientů k vyčerpání rezerv CNS, zánět pozvolna vyhasíná a převažuje ireverzibilní neurodegenerace. V této tzv. sekundárně-progresivní fázi RS již nejsou klinicky zřejmé akutní ataky neurologické symptomatiky, ale dochází k pozvolnému nárůstu neurologického deficitu. U 10 % pacientů onemocnění od začátku probíhá bez zjevných atak s postupnou progresí neurologického postižení – hovoříme o primárně-progresivní RS. Maximum našich současných léčebných možností, včetně řady nových perspektivních preparátů, patří do skupiny léků imunosupresivních a imunomodulačních. Zcela však chybí neuroprotektivní léčba, proto musí být naše léčebné úsilí zaměřeno na včasné zahájení protizánětlivé léčby, optimálně ve stadiu CIS, s cílem oddálit ireverzibilní neurodegeneraci a invaliditu pacienta.

Klíčová slova: roztroušená skleróza, klinicky izolovaný syndrom, vývoj choroby, léčba.

CONTEMPORARY TREATMENT OF RELAPSING-REMITTING MULTIPLE SCLEROSIS AND FUTURE PERSPECTIVES

Multiple sclerosis (MS) is a chronic inflammatory demyelinating disease of the central nervous system (CNS) with the prevalence in the Czech Republic 1:1 000. It is the most frequent neurological condition leading to disability of young people, and therefore very important field of neuroimmunology. In about 85 % of the patients MS begins with an acute development of neurological symptoms, with excluded other etiology and demyelination confirmed by magnetic resonance imaging and cerebrospinal fluid findings. This is so called clinically isolated syndrome (CIS) and according to current knowledge the most optimal time for starting and adequate immunomodulatory treatment as well. MS diagnosis according to McDonald criteria is fulfilled in 85 % of the patients within two years after CIS, inflammatory activity can be proved and we are talking about relapsing-remitting MS. Natural course of MS leads in 6–10 years to CNS reserves depletion, the inflammation burns out and irreversible neurodegeneration outweighs. In this secondary progressive MS there are no clinically evident attacks of acute neurological symptoms and neurological deficit slowly accumulates. In 10 % of the patients the MS course is progressive from the beginning of the disease, there are no evident attacks – we are talking about primary progressive MS. Maximum of our present treatment options including a number of new perspective drugs belongs to the group of immunosuppressive and immunomodulatory drugs. However neuroprotective treatment is absolutely missing – therefore our treating efforts have to be concentrated on early initiation of an adequate treatment, optimally in the CIS phase, with the aim of postponing irreversible CNS neurodegeneration and patients disability.

Key words: multiple sclerosis, clinically isolated syndrome, disease progression, treatment.

Klin Farmakol Farm 2008; 22 (1): 23–29

Úvod

Roztroušená skleróza (RS) představuje chronické zánětlivé demyelinizační onemocnění centrálního nervového systému (CNS) autoimunitní etiologie. Jedná se o nejčastější neurologickou příčinu invalidity mladých osob v produktivním věku s prevalencí v České Republice (ČR) 1/1 000 obyvatel (1). Mírný nárůst incidence v posledních letech je dán zřejmě nejen vlivem lepších a dostupnějších diagnostických metod (především magnetické rezonance), ale také vyšším výskytem autoimunitních onemocnění ve vyspělých státech obecně (2). Tak jako v případě ostatních autoimunitních chorob je etiologie RS multifaktoriální. Uplatňují se faktory vnitřní (polygenně podmíněná náchylnost k autoimunitě, hormonální vlivy) a faktory zevního prostředí (infekce, stres,

nedostatek vitamínu D aj.). V patofyziologii RS byly dlouhou dobu stavěny na první místo T-lymfocyty (zejména pomocné T-helper buňky, Th1 (3)), nicméně v současnosti je známá role také dalších T-lymfocytů (např. subpopulace Th17 produkující interleukin 17 (4)) i B-lymfocytů a plazmatických buněk. Nezanedbatelnou roli hraje ve vztahu k RS poněkud opomíjená přirozená imunita (komplement, antigenprezentující buňky včetně mikroglie v CNS atd.).

U zhruba 85 % pacientů začíná onemocnění náhle vzniklou neurologickou symptomatikou, u níž je vyloučena jiná etiologie obtíží, a demyelinizační zánět v CNS podporuje nález na vstupní magnetické rezonanci (MRI) a v mozkomíšním moku (průkaz syntézy IgG v likvoru, přítomnost oligoklonál-

ních pásů v alkalické oblasti v likvoru bez korelátů v séru). Jedná se o tzv. klinicky izolovaný syndrom (clinically isolated syndrome – CIS). V placebem kontrolovaném klinickém pokusu s interferonem beta-1b v dávce 250 mikrogramů subkutánně obden u pacientů s CIS (5, 6) došlo během dvouletého sledování k rozvoji klinicky definitivní RS v placebové větvi (n = 176) u 45 % pacientů – diagnóza RS byla v těchto případech potvrzena další atakou neurologických obtíží (ataka = relaps – příznaky trvající konstantně déle než 24 hodin, nejedná se o zhoršení při současné infekci a začátek příznaků nastává po období alespoň 30 dní od předchozí ataky). Podle McDonaldových kritérií (7, 8) však do dvou let od CIS splnilo diagnózu RS podle průkazu aktivity zánětu na MRI 85 % pacientů na placebo. Hovoříme

o relaps-remitentní RS (RR-RS), kdy se střídají ataky (relapsy) s úplnou nebo částečnou remisí.

U CIS stejně jako u RR-RS hraje dominantní patofyziologickou úlohu autoimunitní zánět v CNS, který poškozuje myelinové obaly nervových vláken (demyelinizace), ale také vlastní nervová vlákna (neurodegenerace). Po 6–10 letech průběhu choroby tak dochází u většiny pacientů k vyčerpání axonálních rezerv CNS (30–40%), neurologický deficit pozvolna bez úpravy stavu narůstá a hovoříme o sekundárně-progresivní fázi choroby (SP-RS). Zánětlivá aktivita již není tak vysoká, dochází k uchýlení se (kompartmentalizaci) zánětu do CNS zpravidla za neporušenou hematoencefalickou bariéru. V této fázi RS byly na meningách popsány také struktury podobné lymfatickým folikulům, které obsahují kromě T-lymfocytů také B-lymfocyty a dlouho žijící plazmatické buňky (9), které jsou terapeuticky prakticky nepostižitelné a mohou být zodpovědné za chronicitu zánětu v CNS. Především však převažuje neurodegenerace, která se zásadním způsobem podílí na neurologické invaliditě pacienta s SP-RS.

Prakticky všechny dostupné léčebné možnosti u RS jsou v současné době namířeny proti zánětu (imunoprese, imunomodulace), proto je jejich účinek největší při současné nejvyšší aktivitě zánětu v CNS – v RR-RS fázi, optimálně ve stadiu CIS – tedy na samém počátku onemocnění. V progresivní fázi účinek protizánětlivých léků výrazně klesá a klesá tím i naše schopnost terapeuticky ovlivnit průběh RS, protože zcela zásadně chybí jakákoliv neuroprotektivní léčba. Asi 10% pacientů nemá typické ataky na počátku onemocnění, průběh je pozvolna progredující a hovoříme o primárně-progresivní formě (PP-RS). Zřejmě zde patofyziologicky převažuje neurodegenerace, čemuž odpovídá i malá účinnost protizánětlivých léků. Neexistuje jednoznačné mezinárodní doporučení pro léčbu této formy RS. Protože však nelze dopředu odhadnout individuální podíl zánětu, i u těchto pacientů má smysl vyzkoušet některé protizánětlivé léčebné postupy.

Vývoj nových léků v oblasti RS je velmi robustní, i když posun slibné účinné látky od vědeckého výzkumu na myším modelu RS, přes jednotlivé fáze klinického zkoušení až do samotné klinické praxe trvá déle než 10 let. Budou zmíněny některé příklady nových monoklonálních protilátek, nová orální imunomodulancia, imunopresiva a další. I v této oblasti však zatím převažuje skupina léků protizánětlivých nad neuroprotektivními a význam včasného zahájení léčby zůstává nadále prioritní podmínkou úspěšného oddálení invalidity pacienta.

Léčba akutní ataky

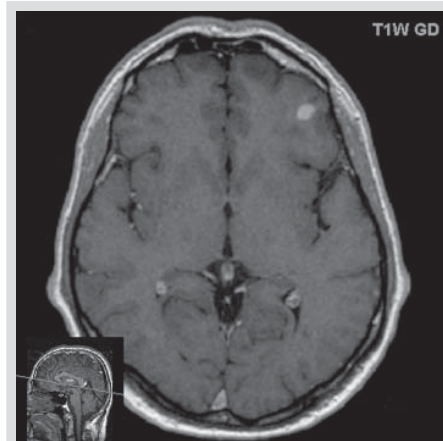
Vzhledem k tomu, že v ložisku zánětu zodpovědném za neurologické symptomy při atace může

být přetrženo až 11 000 nervových vláken na 1 mm³ (10), je nutno ataku RS (nebo CIS) považovat za akutní stav vyžadující akutní léčbu. Lékem volby je **methylprednisolon** – MP (11) podaný v dávce 3–5 gramů během 3–7 dnů, pouze v případě jeho nesnášenlivosti lze využít ekvivalentní dávku dexamethasonu, jiné kortikoidní přípravky pro nevhodný mineralokortikoidní účinek a nevyhovující farmakokinetiku nepoužíváme. Samozřejmostí pro bezpečné podávání kortikoidů je znalost nežádoucích účinků a jejich prevence (ochrana žaludeční sliznice, suplementace kalia, úprava dávkování a cílená monitorace rizikových pacientů – diabetes mellitus, ischemická choroba srdeční, arytmie, deprese a jiná psychiatrická onemocnění, trombofilní stavy, pacienti v dětském věku). U pacientů bez dlouhodobé imunomodulační terapie či s nedostatečnou odpovědí na puls intravenózních kortikoidů následuje perorální kortikoterapie, kde postupně snižujeme dávku jako prevenci rebound fenoménu (od dávek 30–80 mg prednisolonu nebo jeho ekvivalentu snižujeme postupně o 5–10 mg/2–5 dnů). Pokud není dosaženo dostatečného efektu léčbou MP, dále již dávku kortikoidu pro převažující nežádoucí účinky nezvyšujeme a můžeme přidat jednorázově cytostatikum cyklofosfamid v dávce 1 g intravenózně. Ve vzácných případech lze těžkou ataku nereagující na výše uvedenou léčbu nebo při kontraindikaci kortikoidů léčit intratekální aplikací depotního methylprednisolonu (80 mg) eventuálně v kombinaci s cytosin arabinosidem (v bezpečné dávce 50 mg) nebo plazmaferézou.

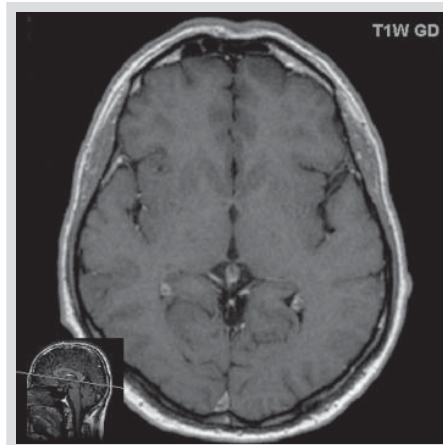
Imunomodulační léčba po CIS

Včasné podání MP v dostatečné dávce snižuje zásadním způsobem aktivitu zánětu při atace RS (12) resp. u CIS, nicméně u MP nebyl prokázán vliv na oddálení konverze CIS do definitivní RS, a taktéž u opakovaných podávání MP nebyl jednoznačně prokázán vliv na snížení počtu atak či zpomalení progresu vlastní RS. Proto je vedle léčby ataky RS stejně důležité **včasné zahájení dlouhodobé léčby** s cílem zpomalit progresi choroby a oddálit trvalou invaliditu pacienta. Po etablování preparátů první volby – tzv. chorobu modifikujících léků (disease-modifying drugs, DMDs), interferonů beta a glatirameru acetátu – v léčbě relaps-remitentní RS, byly zahájeny klinické pokusy s DMDs také u pacientů s CIS. Výsledky všech dosud provedených a ukončených studií s **interferonem beta** (CHAMPS – CHAMPIONS, ETOMS a BENEFIT) jasně prokázaly významný efekt včasné léčby IFN-β na oddálení rozvoje definitivní RS i zpomalení progresu neurologického postižení (5, 6, 14–16). V současné době probíhá klinický pokus s **glatiramerem acetátem** u pacientů s CIS se stejně nadějnými výsledky (stu-

Obrázek 1. Před léčbou methylprednisolonom



Obrázek 2. Po léčbě methylprednisolonom



die PreCISe). Jsou k dispozici také výsledky klinického placebem-kontrolovaného pokusu s podáváním **intravenózních imunoglobulinů** (IVIG) po CIS, kde bylo rovněž prokázáno oddálení konverze CIS do definitivní RS vlivem léčby IVIG i pozitivní efekt na snížení nárůstu ložiskového postižení na MRI (27), i když se jednalo o studii provedenou pouze v jednom centru a s menším počtem pacientů (celkem 91) narozdíl od výše zmíněných multicentrických studií s interferonem beta.

Za všechny uvádíme výsledky placebem kontrolované studie BENEFIT s interferonem beta-1b v dávce 250 mikrogramů subkutánně obden u pacientů s CIS (5, 6), kdy došlo během dvouletého sledování k rozvoji klinicky definitivní RS v placebové větvi (n = 176) u 45% pacientů oproti 28% pacientů léčených IFN-β (n = 292), p < 0.0001. Podle progresu na MRI (diagnostická kritéria RS dle McDonald (7, 8)) došlo k rozvoji RS u 85% pacientů na placebo oproti 69% na účinné látce (p < 0.00001). Taktéž byl pozorován statisticky významný rozdíl mezi pacienty léčenými placebem a IFN-β v trvání doby do progresu invalidity. Po dvou letech byli všichni pacienti z placebové větve převedeni na léčbu IFN-β, přesto ve třetím roce studie nedošlo ke změně trendu progresu invalidity mezi původní

placebovou a IFN- β větví. Zcela jednoznačně byla tedy potvrzena důležitost včasné léčby. **Vzhledem k počtu pacientů s CIS léčených placebem, kteří dospěli během dvou let ke stanovení diagnózy RS (85 % dle McDonaldových kritérií) se taktéž ukázal nesmyslným argument, že by zahájení léčby ve stadiu CIS současně znamenalo léčbu velkého procenta pacientů, u kterých diagnóza RS nakonec nebude stanovena** (pouze 15 % za 2 roky od CIS!). Také dle Mezinárodního konsensu z r. 2006 (The International Working Group for Treatment Optimization in MS) je doporučeno zvážit zahájení léčby DMDs u pacientů s vysokým rizikem rozvoje definitivní RS (17). Vzhledem k finanční náročnosti preparátů DMDs (350–400 tis. Kč ročně) platí v současné době v ČR přísná kritéria pro jejich úhradu zahrnující kromě jisté diagnózy RS dle McDonaldových diagnostických kritérií také určitou aktivitu choroby (2 dokumentované relapsy za posledních 12 měsíců nebo 3 relapsy za posledních 24 měsíců). Narodil od vyspělejších států Evropské Unie tedy v úhradách není zahrnut CIS, nicméně vzhledem ke stále většímu objemu dat prokazujících nutnost včasné léčby jako jediné účinné prevence trvalého neurologického deficitu, byla kritéria pro léčbu DMDs v r. 2007 Českou Neurologickou

Společností revidována, a stejně bude nutno revidovat pravidla úhrady v ČR. Dosud také není v dostatečném povědomí fakt, že hovoříme o oddálení invalidity mladých osob na začátku produktivního věku. Z farmakoekonomického hlediska je pak včasná léčba preparáty DMDs s významným prodloužením pracovní schopnosti, obohacením hrubého domácího produktu a oddálením čerpání sociálních dávek jednoznačně finančně výhodnější než krátkozraké „šetření“ na léčbě.

Současná léčba relaps-remitentní RS

Léky první volby u RR-RS představují tzv. léky **modifikující průběh choroby** (DMDs) – interferony beta a glatiramer acetát – s prokazatelnou schopností snížit počet atak o 30–40 % ve srovnání s placebem, snížit závažnost atak i progresi choroby na MRI (18–25). Výsledky všech postupně publikovaných studií s jednotlivými preparáty byly obdobné.

Interferon beta (IFN- β) je antiproliferativní cytokin s komplexním vlivem na autoimunitní děje u RS – snižuje aktivaci i průnik autoagresivních T-lymfocytů do CNS, snižuje produkci prozánětlivých cytokinů (interferon gamma, tumor nekrotizující faktor alfa aj.), naopak zvyšuje tvorbu protizánětlivých cytokinů (interleukin 10, transformující růstový faktor beta)

a zlepšuje funkci regulačních T-lymfocytů. Všechny dostupné preparáty jsou v současné době vyráběny rekombinantně (IFN- β -1a v savčích buňkách, IFN- β -1b bakteriálním kmenem *Escherichia coli* s nutností záměny 2 aminokyselin k dosažení stabilizace neglykosylované molekuly). Aplikace je parenterální s rozdílným dávkováním podle typu preparátu (IFN- β -1a 30 μ g 1x týdně intramuskulárně, IFN- β -1a 22 nebo 44 μ g 3x týdně subkutánně, IFN- β -1b 250 μ g obden subkutánně). K typickým nežádoucím účinkům patří tzv. flu-like syndrom, kdy po vpichu IFN- β dochází k rozvoji typických chřipkových příznaků (subfebrilie, zimnice, cefalea, artralgie), které lze většinou úspěšně řešit podáním nesteroidních antiflogistik. U řady pacientů flu-like syndrom vymizí nebo se zmírní do několika měsíců podávání IFN- β , jen u malého procenta pacientů je velmi intenzivní flu-like důvodem ke změně dlouhodobé terapie. Další možné nežádoucí účinky představují lokální reakce v místě vpichu, deprese, únava, lymfopenie, trombocytopenie či hepatopatie, pro které jsou nutné pravidelné laboratorní kontroly.

Glatiramer acetát (GA) je kopolymer čtyř aminokyselin (Glutamat, Lysin, Alanin, Tyrozin), které jsou přítomny ve stejném poměru jako v myelinovém bazickém proteinu (MBP). MBP je důležitým auto-

antigenem v patogenezi RS. GA tak vlastně působí jako „antigenní šidítko“, protože je již na periférii předkládán T-lymfocytům, které se stávají GA-specifické (1). GA-specifické lymfocyty vstupují do místa výskytu antigenu MBP (CNS), nicméně nereagují autoagresivně, naopak produkují protizánětlivé cytokiny Th2 buněčné odpovědi, mají schopnost zmírnit zánětlivou aktivitu namířenou také vůči ostatním autoantigenům (tzv. bystander suppression), je známa i schopnost těchto buněk produkovat neuroprotektivní brain derived neurotrophic factor (BDNF). GA je podáván subkutánně v dávce 20 mg jedenkrát denně. Kromě lokálních reakcí může dojít při nechtěném vpichu preparátu do podkožní cévy k celkové reakci se zrudnutím, dušností, úzkostí. Tato reakce spontánně a bez jakýchkoliv následků odeznívá do několika minut.

Účinek IFN- β nastupuje zhruba do tří měsíců od zahájení podávání, účinek GA do šesti měsíců. Podle statistického zpracování výše zmíněných studií je efekt DMDs cca 30–40 % ve srovnání s placebem. Individuální odpovídatost na léčbu je ovšem velmi variabilní od vynikajících respondentů, u kterých vlivem zvoleného DMD dojde k dlouhodobé stabilizaci choroby, až po totální non-respondenty, u kterých je nutno léčbu záhy změnit či intenzifikovat. Bohužel nemáme dosud k dispozici žádné validní markery, pomocí kterých by bylo možno individuálně zvolit typ preparátu a intenzitu léčby ještě před jejím zahájením. Efekt léčby DMDs hodnotíme pomocí klinické aktivity (počet atak, progresu neurologického postižení) a MRI aktivity choroby (nárůst ložiskového postižení, aktivita ložisek, nárůst atrofie).

V případě terapie IFN- β je doporučeno kontrolovat hladinu neutralizačních protilátek (NABs), které se individuálně a v závislosti na typu preparátu mohou vytvářet zhruba po dvanáctiměsíčním podávání IFN- β a snižovat efekt preparátu. Závisí na typu a kvalitě laboratorní metody použité ke stanovení NABs, nicméně při alespoň dvakrát zjištěném vysokém titru NABs je na místě změna léčby z IFN- β na jiný preparát (26). Změna či intenzifikace léčby bez ohledu na titr NABs je samozřejmostí při zjevné klinické aktivitě choroby.

Při negativním titru NABs a současně aktivně choroby vyvstává otázka intenzifikace léčby IFN- β . Z dosavadních srovnávacích head-to-head studií (studie EVIDENCE: IFN- β -1a 30 μ g 1x týdně i. m. versus IFN- β -1b 44 μ g 3x týdně s. c. (28, 29); nezaslepená studie INCOMIN: IFN- β -1b 250 μ g s. c. obden versus IFN- β -1a 30 μ g 1x týdně i. m. (30)) a studie BEYOND (srovnávací efekt dvou dávek IFN- β -1b s. c. obden 250 a 500 μ g (31)) lze vyvodit, že důležitější než navýšení dávky preparátu je zvýšení frekvence podávání.

V současné době se na významné místo v léčbě aktivní RR-RS dostala nová humanizovaná monoklonální protilátka **natalizumab**, která se váže na adhezivní molekulu $\alpha 4 \beta 1$ integrin na povrchu lymfocytů. Touto vazbou brání natalizumab interakci integrinu s molekulou VCAM-1 (Vascular Cell Adhesion Molecule) na endotelu cévy a tím i dostatečně pevnému přilnutí lymfocytu k cévní stěně, které je zásadní pro vstup buňky do místa zánětu (u RS do CNS). Výsledky multicentrické, placebem kontrolované klinické studie fáze 3 byly extrémně úspěšné (32): za první rok studie došlo ke snížení počtu relapsů o 68 % u pacientů léčených natalizumabem ve srovnání s placebovou větví. Lék byl promptně v roce 2004 registrován americkou Food and Drug Administration (FDA). Bohužel však došlo u dvou pacientů k rozvoji závažné oportunní infekce CNS – progresivní multifokální encefalopatii (PML) – a veškeré pokusy s natalizumabem byly zastaveny v únoru 2005. Byly pečlivě vyhodnoceny případy PML (třetí případ PML byl diagnostikován u pacienta s Chronovou chorobou, u které se natalizumab rovněž s velkým úspěchem zkoušel). U všech tří pacientů (2 na tuto komplikaci zemřeli, u třetího zůstalo závažné reziduum) došlo zřejmě k nadměrné imunosupresi kombinací léčiv (pacienti s RS byli v paralelní studii SENTINEL léčení déle než 30 měsíců kombinací natalizumab + IFN- β). Jednoznačně tedy vyplynulo, že natalizumab může být podáván pouze v monoterapii, a to se zřetelem na dosavadní imunosupresivní a cytostatickou léčbu pacienta i celkový stav jeho imunitního systému. Je určen pro pacienty s vysokou aktivitou RR-RS (2 a více závažných relapsů za 1 rok) – první volba, nebo s nedostatečným efektem či nevladatelnými nežádoucími účinky dosavadních léků první volby (druhá volba). Natalizumab je podáván v dávce 300 mg jedenkrát měsíčně intravenózně. V ČR je natalizumab registrován v indikaci druhé volby, bohužel je kategorizace preparátu i jeho úhrada s vysokým doplatkem pro pacienta v současné době nastavena tak, že natalizumab není v praxi u nás pro indikované pacienty k dispozici. Lze však předpokládat, že situace nedostupnosti doposud neefektivnějšího léku v terapii RS, která je zcela výjimečná ve srovnání s ostatními státy Evropské Unie, nebude dlouhodobě v ČR udržitelná.

Pokud pokračuje aktivita choroby a není na místě nebo se nepodaří z ekonomických důvodů zavést léčbu natalizumabem, máme k dispozici cytostatické a imunosupresivní režimy.

Jediným, mezinárodně uznávaným cytostatikem v takovém případě s dostatečným množstvím vědeckých podkladů je **mitoxantron** (33, 34), u kterého je ovšem pro kardiotoxicitu stanovena kumulativní dávka 140 mg/m², nově je taktéž pro nezanedbatelné riziko indukce malignity (zejména akutní promye-

locytární leukémie) doporučována dokonce dávka 100 mg/m² (26). Pokud se rozhodneme při vysoké aktivitě choroby přistoupit k léčbě mitoxantronem, je nutný pečlivý screening před zahájením léčby – onkoscreening, echokardiografické vyšetření (hodnota ejekční frakce levé komory srdeční musí být větší než 55 %; elektrokardiografie není dostačující), vyloučení infekčních fokusů. Stejně jako jiné cytostatika ani mitoxantron nesmí být aplikován při současné infekci včetně inaparentní pro hrozící riziko sepse. U mladých mužů před zahájením intenzivní cytostatické léčby diskutujeme možnost kryoprezervace spermatu. Vlastní schéma léčby u RR-RS nejčastěji představuje podávání 20 mg mitoxantronu a 1 g methylprednisolonu v měsíčních intervalech. Po třech měsících léčby lze pokračovat ve stejné dávce nebo v dávce 10 mg měsíčně v jedno- až tříměsíčních intervalech do dosažení kumulativní dávky. Kontroly krevního obrazu a jaterních testů provádíme za 10–14 dní po každé aplikaci cytostatika. I během léčby, nejen opakovaně po ukončení léčby mitoxantronem, je na místě kontrolní echokardiografické vyšetření.

Častěji využíváme méně toxickou pulzní léčbu alkylačním cytostatikem **cyklofosfamidem** v dávce 800 mg/m² v kombinaci s 1 g methylprednisolonu jedenkrát měsíčně individuálně dle efektu tři až šest měsíců (35). Taktéž u tohoto cytostatika je nezbytné pečlivě vyloučení infekce před aplikací, dostatečná hydratace v den podání a pravidelné laboratorní kontroly pacienta.

Intravenózní imunoglobuliny (IVIG) jsou oficiálně zařazeny mezi léky druhé volby, byť metaanalýza srovnávající studie s DMDs a IVIG ukázala srovnatelnou účinnost (36). Je popsáno několik mechanismů účinku: IVIG obsahují antiidiotypové protilátky, modulují aktivitu přirozené buněčné i komplementové imunity, interferují s proliferací T i B-lymfocytů. IVIG jsou aplikovány v dávce 0,15–0,20 g/kg jedenkrát měsíčně, z nežádoucích účinků hrozí alergická reakce, vzácněji zvláště u pacientů s geneticky podmíněným hyperkolagulačním stavem také hluboká žilní trombóza či plicní embolie. IVIG představují velmi vhodnou variantu léčby u pacientů s opakovanými infekty (někdy přímo s prokázaným imunodeficitem), které jsou vyvolávajícím faktorem relapsů RS. Dalším důvodem volby IVIG může být nemožnost zavedení účinné imunosuprese.

Mezi léky druhé volby patří také klasické imunosupresivum **azathioprin**, podávané v dávce 50–100 mg denně, případně v kombinaci s malou dávkou p. o. kortikoidů (ekvivalent maximálně 10 mg prednisolonu denně). Tento lék je v léčbě autoimunitních chorob znám již přes 30 let, nebyly u něj provedeny dvojité slepé, randomizované, klinické studie, jaké

jsou dnes požadovány u všech nových léčiv, přesto má zřejmý efekt (37), a v každém případě zůstává kombinovaná imunosuprese důležitým léčebným přístupem, pokud se nepodaří zahájit léčbu DMDs. Před zahájením terapie azathioprinem vyšetřujeme standardně genomovou deoxyribonukleovou kyselinu (DNA) na přítomnost alelických variant enzymu thiopurinmethyltransferázy (TPMT). Pacienti – homozygoti pro nefunkční alelu TPMT – metabolizují azathioprin dvěma dalšími možnými metabolickými cestami se zvýšenou tvorbou myelotoxických thio Guaninových nukleosidů a jsou tak ohroženi vzácnou komplikací léčby azathioprinem – útlumem kostní dřeně (38). Stanovení nulové či nízké (heterozygoti) aktivity TPMT a tím kontraindikace azathioprinu představuje excelentní příklad využití farmakogenetiky v praxi. Normální aktivita TPMT však nevylučuje nesnášenlivost azathioprinu ani případnou hepatopatii. Vždy je proto potřeba pravidelně kontrolovat pacienty laboratorně.

V případě nesnášenlivosti azathioprinu využíváme další imunosupresiva – methotrexát, mykofenolát mofetil nebo cyklosporin A.

Experimentální léčba maligní, relabující, progredující formy RS

V případě vysoké četnosti relapsů s nedostatečnou úpravou a rychlým nárůstem neurologického deficitu i přes řadu zkoušených léčebných postupů včetně léků první volby hovoříme o maligní RS (cca 3 % pacientů). Jedná se o agresivní průběh choroby s rychle postupující invalidizací pacienta. Léčebně je na místě v těchto případech zvážit odpovídajícím způsobem agresivní experimentální terapii – **vysokodávkovanou imunoablaci s následnou podporou hematopoetických kmenových buněk** (39) s cílem „resetovat“ autoagresivní imunitní systém. Je logické, že jedinec heterologní transplantace by zabezpečila kompletní změnu imunitního systému (známe případy heterologně transplantovaných pacientů s RS pro současnou hematologickou malignitu s následnou stabilizací RS (40)). Nicméně pro vysokou mortalitu tohoto zákroku (až 30 %) volíme u RS, která pacienta sama o sobě neohrožuje bezprostředně na životě, zákrok méně agresivní – autologní (v souboru 300 pacientů s RS po tomto zákroku podle European Group for Blood and Marrow Transplantation – EBMT – dosáhla mortalita 2,3 %). U správně indikovaných pacientů, tedy s vysokou aktivitou zánětu a ještě relativně malým irreverzibilním poškozením nervových vláken – s délkou trvání choroby do pěti let a s mírou postižení do 5,5 stupně Kurtzkeho škály (schopnost ujít bez opory a bez zastavení alespoň 100 metrů), dosahuje interval bez progresu nemoci délky více než 6 let u zhruba 60 % pacientů (41). Takového efektu nelze u agresivní RS

dosáhnout prakticky žádnou jinou dostupnou léčbou.

Léčebný postup zahrnuje několik kroků:

1. poskytnutí podrobných informací a diskuze s pacientem a jeho rodinou o zamýšleném léčebném postupu, který stále patří mezi postupy experimentální, podpis informovaného souhlasu.
2. podrobná vyšetření k vyloučení závažné orgánové patologie či latentní infekce. Nutné je také vyšetření kostní dřeně získané trepanobiopsií.
3. vyplavení kmenových CD34+ buněk z kostní dřeně do periferní krve pomocí vysoké dávky cyklofosfamidu (4 g/m²) a růstových faktorů (tzv. priming). Kmenové buňky se poté sesbírají leukaferézou z periferní krve a jsou zamrazeny (právě pro sběr kmenových buněk z krve a nikoli přímo z kostní dřeně označujeme výkon pojmem vysokodávkovaná imunoablace s následnou podporou hematopoetických kmenových buněk a nikoliv autologní transplantace kostní dřeně).
4. následuje podání vysokodávkované chemoterapie (tzv. conditioning), která má za úkol zcela zničit původní imunitní systém a kostní dřeň pacienta.
5. pacientovi jsou vráceny do periferní krve jeho vlastní, předem získané a zamražené kmenové buňky. K odstranění potenciálních autoagresivních lymfocytů, které by mohly být vráceny pacientovi společně s kmenovými buňkami, slouží intravenózní podání antithymocytárního globulinu ATG (tzv. in vivo purging). Krevní obraz se při nekomplikovaném průběhu obnovuje do 10–14 dnů od vrácení kmenových buněk. Po dobu chemoterapie až do obnovy krevního obrazu a imunokompetence je pacient hospitalizován na transplantaci jednotce.
6. poslední, ale z dlouhodobého hlediska zcela zásadní součástí této léčebné metody představuje intenzivní rehabilitace.

Nové perspektivy v terapii RS

V současné době – dvacet pět let od prvního pokusu s IFN-β – probíhá velký počet klinických studií s novými, slibnými léky. Od prvotních hypotéz, které vycházejí z efektu preparátu u myšího modelu RS (tzv. experimentální alergické encefalomyelitidy, EAE), trvá vývoj nového léku přes jednotlivé fáze klinického zkoušení déle než 10 let. Ne vždy se podaří dosáhnout u RS stejných výsledků jako u EAE (příkladem může být předčasné ukončení klinického pokusu s protilátkou proti interleukinu-12). Často se potvrdí efekt preparátu i u RS, nicméně mechanismus zásahu do imunitního systému se ukáže

daleko komplexnější s potenciálním vlivem nejen na účinnost preparátu, ale také na možné nežádoucí účinky (příkladem může být výše zmíněná protilátka natalizumab, u které byl popsán vliv na lymfocytární subpopulace, který zdaleka není vysvětlitelný pouze mechanickou bloádou vstupu autoagresivních lymfocytů do CNS (42)). Cílem tohoto článku není podat vyčerpávající výčet všech nových perspektivních preparátů pro léčbu RS, vybíráme proto pouze několik nových léků se zajímavým mechanismem účinku a nadějným efektem.

1. Velmi slibnou skupinu nových biologických léků představují monoklonální protilátky (mAbs), které selektivně blokují pouze jedinou specifickou molekulu.

a) natalizumab – monoklonální protilátka proti adhezivní molekule α4β1 integrinu – již registrovaný lék popsáný výše. Jsou vyvíjeny orální preparáty založené na stejném mechanismu účinku (např. orální antagonisty α4β1/α4β7 firitagrat).

b) alemtuzumab (Campath-1H) – monoklonální protilátka proti glykoproteinovému znaku CD52, který je exprimován na povrchu T- a B-lymfocytů, makrofágů a některých dalších buněk v lidském organizmu (43). Vazbou alemtuzumabu na CD52 dochází k rapidní (už za 1 hodinu) a dlouhotrvající depleci cílových buněk. Podle typu buněk trvá efekt alemtuzumabu 3 měsíce (B-lymfocyty) až 5 let (T-lymfocyty) (44). Alemtuzumab je schválen americkou Food and Drug Administration (FDA) pro léčbu chronické B-lymfocytární leukémie. Stran efektu u RS máme v současné době k dispozici observační studii z jednoho centra (University of Cambridge, UK), kde byl alemtuzumab podáván 22 pacientům s vysoce aktivní RR-RS a 36 pacientům s SP-RS. Výsledky prokázaly u RR-RS pacientů významný efekt na snížení počtu nových aktivních lézí na MRI, snížení počtu relapsů (> 90 %) i oddálení progresu neurologického postižení v následujících 2 letech. U SP-RS sice rovněž došlo vlivem alemtuzumabu ke snížení počtu aktivních lézí na MRI, nicméně i nadále pokračoval progresivní nárůst neurologického postižení s odpovídající axonální ztrátou dle MR spektroskopie (44) a i zde se potvrdila nutnost zahájení této protizánětlivé léčby v časnějších fázích RS. Na základě těchto pozorování byl v r. 2003 naplánován pokus s alemtuzumabem versus IFN-β-1a 44 μg 3x týdně. Velmi slibné výsledky ukázaly více než 75 % snížení počtu relapsů a více než 65 % snížení nárůstu neurologického postižení u pacientů léčených alemtuzumabem ve srovnání s léčbou IFN-β-1a. (45). Z nežádoucích účinků alemtuzumabu je nutno kromě akutního syndromu z uvolnění cytokinů (horečka, bolest hlavy, kopřivka, hypotenze), který lze řešit preventivním podáním methylprednisolonu, zmínit

vyšší riziko rozvoje protilátkami zprostředkovaných autoimunit – trombocytopenické purpury (2,8%) a autoimunitní tyreoiditis (11–30%). Alemtuzumab vstupuje do klinického zkoušení fáze III.

c) rituximab – monoklonální chimérická protilátka (laboratorně vytvořená protilátka obsahující dvě komponenty ze dvou různých živočišných druhů, zde humánní a myší komponenta) proti povrchovému znaku CD20, který je čistě znakem B-lymfocytů (je exprimován na prekurzorech a zralých B-buňkách, nikoliv na plazmatických buňkách). CD20 funguje jako vápníkový kanál s důležitou funkcí v regulaci buněčného cyklu (46). Taktéž rituximab působí dlouhotrvající depleci B-buněk (6–9 měsíců). Využití rituximabu v klinické praxi zahrnuje v současnosti B-lymfocytární leukémie a lymfomy a některé těžké případy autoimunitních protilátkových onemocnění (revmatoidní artritida, systémový lupus erythematosus (SLE), trombocytopenická purpura, neuromyelitis optica). Nicméně efekt rituximabu na imunitní systém je daleko širší než pouze na subpopulaci B-lymfocytů (jedna z lákových hypotéz s nutností dalšího ověření vysvětluje efekt rituximabu takto: tisíce komplexů rituximab+B-buňka přiláká a naváže buňky, které exprimují FcγR – monocyty, makrofágy, natural killers, neutrofile – čímž je výrazně redukován zánět v místě autoimunitou postiženého orgánu (47)). Široký vliv rituximabu na imunitní systém vedl k naplánování pokusů také u RS, dosud proběhly pouze pokusy fáze II na malém počtu pacientů, nejsou tedy zatím k dispozici dlouhodobější validní klinická data, jsou však plánovány další studie s antiCD20 preparáty (humanizovaný ocrelizumab a ofatumumab). Z nežádoucích účinků je nutno kromě infuzních reakcí zvážit riziko infekčních komplikací včetně PML (byly popsány 2 případy PML u pacientů se SLE léčených rituximabem).

d) daclizumab – monoklonální protilátka proti CD25 (alfa-řetězec receptoru pro interleukin 2 (IL-2R)). Interleukin 2 funguje jako „růstový faktor“ pro T-lymfocyty a je zásadní pro jejich vývoj, klonální expanzi i přežívání. IL-2R je jen v malém množství exprimován na povrchu rezidentních T-lymfocytů, exprese se ovšem výrazně zvyšuje při aktivaci T-lymfocytu. Poté co byl in vitro prokázán efekt daclizumabu na inhibici signální transdukce IL-2R a tím snížení aktivity a expanze T-lymfocytů (48), lék byl schválen FDA pro léčbu rejekce renálního allograftu a byly zahájeny klinické pokusy u autoimunitních onemocnění. U RS dosud proběhly studie u pacientů s RR-RS s nedostatečnou odpovědí na léčbu IFN-β fáze II se signifikantním snížením počtu nových aktivních lézí na MRI i pozitivním vlivem na klinickou stabilizaci RS (49), což vede k plánování dalších klinických studií s tímto dobře tolerovaným lékem.

2. Orální imunomodulancia

a) fingolimod (FTY720) – je syntetický analog sfingosin-1-fosfátu (S1P), multifunkčního mediátoru, který je uvolňován z trombocytů v průběhu zánětu (43). Není bez zajímavosti, že fingolimod byl poprvé získán chemickou modifikací ISP-I (myriocin) – přírodního imunosupresiva získávaného z houby *Isaria sinclairii* v tradiční čínské medicíně. FTY720 funguje in vivo jako silný agonista na S1P receptorech, tedy speciálních G-proteinech, které signalizují lymfocytu příkaz opustit thymus nebo sekundární lymfatické orgány. Navázání agonisty FTY720 na S1P receptory vede k jejich internalizaci, čímž lymfocyty nedostávají signál k opuštění lymfatických orgánů a nemohou se dostat do místa autoimunitního zánětu v CNS. Výsledky randomizovaného, placebem kontrolovaného pokusu fáze II u RR-RS ukázaly významnou redukci aktivních lézí na MRI ve srovnání s placebem (50) a v současné době probíhá klinická studie fáze III. Z nežádoucích účinků kromě předpokládané lymfopenie byla popsána bradykardie, hepatopatie a abnormality ve funkčních parametrech plicního parenchymu.

b) laquinimod – je chemicky odvozen od původní molekuly linomidu, jehož studie fáze II i III byly velmi úspěšné s významným snížením počtu nových aktivních lézí na MRI. Jako jeden z mechanismů účinku bylo popsáno zvýšení počtu naivních buněk v neprospěch paměťových, nicméně vývoj linomidu musel být zastaven pro výskyt několika kardiálních komplikací – infarkt myokardu a serositis (1). Laquinimod – bezpečnější a potentnější derivát linomidu – na myším modelu dokázal kompletně inhibovat akutní EAE i zmírnit chronický průběh EAE (51). Taktéž klinické studie fáze II s tímto preparátem přinesly očekávané výsledky (52), proto nyní probíhá klinický pokus fáze III s cílem prokázat efekt na klinickou aktivitu RS.

c) dimetylfumarát (BG-12) – orální preparát již v Německu registrovaný pro léčbu psoriázy splnil primární cíle klinické studie fáze II u RR-RS se statisticky významným snížením celkového počtu aktivních lézí na MRI, proto nyní probíhá fáze III. Mechanismus účinku není dopodrobna znám, ale preklinické studie doložily na buněčné i molekulární úrovni zásah do dějů podílejících se na imunoregulaci i neuroprotekcí: indukci lymfocytů fenotypu Th2 s produkcí Th2 cytokinů (IL-4, IL-5 a IL-10) a současným potlačením tvorby Th1 cytokinů, interferenci s aktivací nukleárního faktoru NFκappaB vedoucí k inhibici exprese prozánětlivých cytokinů a adhezivních molekul, a významnou aktivaci Nrf2, indukci cílového genu pro Nrf2 – NQO1 v CNS. Nrf2 je zásadní pro imunitní homeostázu a hraje roli v centrálním mechanismu neuroprotekcí vůči oxidačnímu stresu a zánětlivému poškození tkáně.

d) kladribin – mechanismus účinku tohoto potentního orálního cytostatika (v imunomodulační dávce) je analogický situaci u těžkého kombinovaného imunodeficitu (SCID) s geneticky daným defektem enzymu adenosin-deaminázy (ADA). U SCID dochází k nahromadění nezpracovaných toxických deoxyadenosin nukleotidů, které nejsou metabolizovány defektní ADA. Dochází k selektivnímu poškození buněk (T- a B-lymfocytů), které mají malou aktivitu alternativní metabolické cesty (deoxynukleotidáza). Kladribin představuje analog deoxyadenosinových nukleotidů (53). Také u tohoto cytostatika na základě pozitivních výsledů fáze II nyní probíhá klinický pokus fáze III.

U všech současných studií fáze III očekáváme první výsledky v roce 2009.

e) DNA vakcinace – BHT-3009, DNA plazmid kódující lidský melinový bazický protein (MBP) v jeho celé délce představuje nový přístup v antigen-specifické imunomodulační léčbě RS. Cílem intramuskulárního podávání této DNA vakcíny je navození tolerance vůči jednomu z hlavních autoantigenů u RS – MBP. V tomto roce byly prezentovány výsledky klinického pokusu fáze II s redukcí počtu aktivních ložisek na MRI při dávce 0,5 mg intramuskulárně po dobu 48 týdnů. Dávka 1,5 mg se ukázala neúčinnou. U všech pacientů byla pomocí proteinových čipů stanovena protilátková produkce před zahájením a v průběhu léčby. Za převratné lze označit zjištění, že u pacientů s vysokých titrem anti-MBP protilátek před zahájením terapie byl vliv na MRI aktivitu RS nejsignifikantnější (54). Při současném naprostém nedostatku validních markerů rezpozitivity na léčbu je toto první ukazatel, který by mohl pomoci správně vybrat vhodné kandidáty na léčbu tímto preparátem.

Závěr

Roztroušená skleróza a její léčba představuje dynamicky se rozvíjející oblast neuroimunologie. Kauzální terapie však stále není k dispozici a maximum našich současných i nových perspektivních léčebných postupů postihuje pouze zánětlivou aktivitu časných fází onemocnění a nikoli ireverzibilní neurodegeneraci, která je zodpovědná za progresivní nárůst neurologické invalidity v pozdějších fázích. Jediným racionálním přístupem tak zůstává včasná diagnostika a včasná adekvátní léčba.

MUDr. Eva Krasulová

Centrum pro demyelinizační onemocnění,
Neurologická klinika VFN a 1. LF UK
Karlovo nám. 32, 128 08 Praha 2
e-mail: ekras@post.cz

Literatura

1. Havrdová E. Neuroimmunologie. Praha: Maxdorf, 2001: 180–263.
2. Jacobsen BA, Fallingborg J, Rasmussen HH, et al. Increase in incidence and prevalence of inflammatory bowel disease in northern Denmark: a population-based study, 1978–2002. *Eur J Gastroenterol Hepatol*. 2006 Jun; 18 (6): 601–606.
3. Mosmann TR, Cherwinski H, Bond MW, Giedlin MA, Coffman RL. Two types of murine helper T cell clone. I. Definition according to profiles of lymphokine activities and secreted proteins. *J Immunol*. 1986 Apr 1; 136 (7): 2348–2357.
4. Komiya Y, Nakae S, Matsuki T, et al. IL-17 plays an important role in the development of experimental autoimmune encephalomyelitis. *J Immunol*. 2006 Jul 1; 177 (1): 566–573.
5. Kappos L, Freedman MS, Polman CH, et al. 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): 389–397.
6. Barkhof F, Polman CH, Radue EW, et al. Magnetic Resonance Imaging Effects of Interferon Beta-1b in the BENEFIT Study: Integrated 2-Year Results. *Arch Neurol*. 2007 Sep; 64 (9): 1292–1298.
7. McDonald WI, Compston A, Edan G, et al. Recommended diagnostic criteria for multiple sclerosis: guidelines from the International Panel on the diagnosis of multiple sclerosis. *Ann Neurol*. 2001 Jul; 50 (1): 121–127.
8. Polman CH, Reingold SC, Edan G, et al. Diagnostic criteria for multiple sclerosis: 2005 revisions to the „McDonald Criteria“. *Ann Neurol*. 2005 Dec; 58 (6): 840–846.
9. Serafini B, Rosicarelli B, Magliozzi R, Stigliano E, Aloisi F. Detection of ectopic B-cell follicles with germinal centers in the meninges of patients with secondary progressive multiple sclerosis. *Brain Pathol*. 2004 Apr; 14 (2): 1642.
10. Trapp BD, Peterson J, Ransohoff RM, et al. Axonal transection in the lesions of multiple sclerosis. *N Engl J Med* 1998 Jan 29; 338 (5): 278–285.
11. Paty DW, Ebers GC, Hartung HP, et al. Management of relapsing-remitting multiple sclerosis and treatment guidelines. *Eur J Neurology* 1999, Suppl. 1S1–S35.
12. Richert ND, Ostuni JL, Bash CN, Leist TP, McFarland HF, Frank JA. Interferon beta-1b and intravenous methylprednisolone promote lesion recovery in multiple sclerosis. *Mult Scler*. 2001 Feb; 7 (1): 49–58.
13. Jacobs LD, Beck RW, Simon JH, et al. 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.
14. Comi G, Filippi M, Barkhof F, et al. Effect of early interferon treatment on conversion to definite multiple sclerosis: a randomised study. *Lancet*. 2001 May 19; 357 (9268): 1576–1582.
15. Kinkel RP, Kollman C, O' Connor P, et al. IM interferon beta-1a delays definite multiple sclerosis 5 years after a first demyelinating event. *Neurology*. 2006 Mar 14; 66 (5): 678–684. Epub 2006 Jan 25.
16. Filippi M, Rovaris M, Inglesse M, et al. Interferon beta-1a for brain tissue loss in patients at presentation with syndromes suggestive of multiple sclerosis: a randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *Lancet*. 2004 Oct 23–29; 364 (9444): 1489–1496.
17. Karussis D, Biermann LD, Bohlega S, et al. A recommended treatment algorithm in relapsing multiple sclerosis: report of an international consensus meeting. *Eur J Neurol*. 2006 Jan; 13 (1): 61–71.
18. The IFNB Multiple Sclerosis Study Group. Interferon beta-1b is effective in relapsing-remitting multiple sclerosis. I. Clinical results of a multicenter, randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Neurology*. 1993 Apr; 43 (4): 655–661.
19. Paty DW, Li DK. Interferon beta-1b is effective in relapsing-remitting multiple sclerosis. II. MRI analysis results of a multicenter, randomized, double-blind, placebo-controlled trial. UBC MS/MRI Study Group and the IFNB Multiple Sclerosis Study Group. *Neurology*. 1993 Apr; 43 (4): 662–667.
20. The IFNB Multiple Sclerosis Study Group and The University of British Columbia MS/MRI Analysis Group. Interferon beta-1b in the treatment of multiple sclerosis: final outcome of the randomized controlled trial. *Neurology*. 1995 Jul; 45 (7): 1277–1285.
21. Jacobs LD, Cookfair DL, Rudick RA, et al. Intramuscular interferon beta-1a for disease progression in relapsing multiple sclerosis. The Multiple Sclerosis Collaborative Research Group (MSCRG). *Ann Neurol*. 1996 Mar; 39 (3): 285–294.
22. Simon JH, Jacobs LD, Campion M, et al. Magnetic resonance studies of intramuscular interferon beta-1a for relapsing multiple sclerosis. The Multiple Sclerosis Collaborative Research Group. *Ann Neurol*. 1998 Jan; 43 (1): 79–87.
23. Randomised double-blind placebo-controlled study of interferon beta-1a in relapsing/remitting multiple sclerosis. PRISMS (Prevention of Relapses and Disability by Interferon beta-1a Subcutaneously in Multiple Sclerosis) Study Group. *Lancet*. 1998 Nov 7; 352 (9139): 1498–504.
24. Bornstein MB, Miller A, Slagle S, et al. A placebo-controlled, double-blind, randomized, two-center, pilot trial of Cop 1 in chronic progressive multiple sclerosis. *Neurology*. 1991 Apr; 41 (4): 533–539.
25. Johnson KP, Brooks BR, Cohen JA, et al. Copolymer 1 reduces relapse rate and improves disability in relapsing-remitting multiple sclerosis: results of a phase III multicenter, double-blind placebo-controlled trial. The Copolymer 1 Multiple Sclerosis Study Group. *Neurology*. 1995 Jul; 45 (7): 1268–1276.
26. Rieckmann P, Toyka KV, Bassetti C, et al. Multiple Sclerosis Therapy Consensus Group (MSTCG). Escalating immunomodulatory therapy of multiple sclerosis. *J Neurol*. 2004 Nov; 251 (11): 1329–1339.
27. Achiron A, Kishner I, Sarova-Pinhas I, et al. Intravenous immunoglobulin treatment following the first demyelinating event suggestive of multiple sclerosis: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Arch Neurol*. 2004 Oct; 61 (10): 1515–1520.
28. Panitch H, Goodin DS, Francis G, et al. Randomized, comparative study of interferon beta-1a treatment regimens in MS: The EVIDENCE Trial. *Neurology*. 2002 Nov 26; 59 (10): 1496–1506.
29. Panitch H, Goodin DS, Francis G, et al. Benefits of high-dose, high-frequency interferon beta-1a in relapsing-remitting multiple sclerosis are sustained to 16 months: final comparative results of the EVIDENCE trial. *J Neurol Sci*. 2005 Dec 15; 239 (1): 67–74. Epub 2005 Sep 19.
30. Durelli L, Verdun E, Barbero P, et al. 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 Apr 27; 359 (9316): 1453–1460.
31. S. Kirzinger, B. Arnason, G. Bigley, et al. First phase of the BEYOND Programme: analysis of 3-year data from an open-label, extension study comparing 500 mcg and 250 mcg interferon beta-1b. *Multipl Sclerosis*, Vol 13, suppl 2, Oct 2007: 49–50.
32. Polman CH, O' Connor PW, Havrdova E, et al. A randomized, placebo-controlled trial of natalizumab for relapsing multiple sclerosis. *N Engl J Med*. 2006 Mar 2; 354 (9): 899–910.
33. Edan G, Miller D, Clanet D, et al. Therapeutic effect of mitoxantrone combined with methylprednisolone in multiple sclerosis: a randomised multicentre study of active disease using MRI and clinical criteria. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 1997 Feb; 62 (2): 112–118.
34. Le Page E, Leray E, Taurin G, et al. Mitoxantrone as induction treatment in aggressive relapsing remitting Multiple Sclerosis: treatment response factors in a 5-year follow-up observational study of 100 consecutive patients. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2007 Sep 24; (Epub, v tisku).
35. Smith DR, Weinstock-Guttman B, Cohen JA, et al. A randomized blinded trial of combination therapy with cyclophosphamide in patients with active multiple sclerosis on interferon beta. *Mult Scler*. 2005 Oct; 11 (5): 573–582.
36. Sorensen PS, Fazekas F, Lee M. Intravenous immunoglobulin G for the treatment of relapsing-remitting multiple sclerosis: a meta-analysis. *Eur J Neurol*. 2002 Nov; 9 (6): 557–563.
37. Cavazzuti M, Merelli E, Tassone G, et al. Lesion load quantification in serial MR of early relapsing multiple sclerosis patients in azathioprine treatment. A retrospective study. *Eur Neurol*. 1997; 38 (4): 284–290.
38. Frohman EM, Havrdova E, Levinson B, et al. Azathioprine myelosuppression in multiple sclerosis: characterizing thiopurine methyltransferase polymorphisms. *Mult Scler*. 2006 Feb; 12 (1): 108–111.
39. Kozák T, Havrdová E, Piňha J, et al. High-dose immunosuppressive therapy with PBPC support in the treatment of poor risk multiple sclerosis. *Bone Marrow Transplant*. 2000 Mar; 25 (5): 525–531.
40. McAllister LD, Beatty PG, Rose J. Allogeneic bone marrow transplant for chronic myelogenous leukemia in a patient with multiple sclerosis. *Bone Marrow Transplant*. 1997 Feb; 19 (4): 395–397.
41. Saccardi R, Kozak T, Bocelli-Tyndall C, et al. Autologous stem cell transplantation for progressive multiple sclerosis: update of the European Group for Blood and Marrow Transplantation autoimmune diseases working party database. *Mult Scler*. 2006 Dec; 12 (6): 814–823.
42. Krasulová E, Havrdová E, Marečková H, Racek P, Nytrůvá P. Distinct shift in immune cells counts and cerebrospinal fluid oligoclonal bands number after natalizumab treatment in multiple sclerosis. *J Neurol*. 2007 May; 254 (Suppl 3): III/24.
43. Muraro PA, Bielekova B. Emerging therapies for multiple sclerosis. *Neurotherapeutics*. 2007 Oct; 4 (4): 676–692.
44. Coles AJ, Cox A, Le Page E, et al. The window of therapeutic opportunity in multiple sclerosis: evidence from monoclonal antibody therapy. *J Neurol* 2006; 253: 98–108.
45. Coles AJ, The CAMMS223 Study Group. Efficacy of Alemtuzumab in Treatment-naïve relapsing-remitting multiple sclerosis: Analysis after two years of study CAMMS223. *Neurology* 68, March 20, 2007; Suppl 1, S12. 004, p. A100.
46. Tedder TF, Engel P. CD20: a regulator of cell-cycle progression of B lymphocytes. *Immunol Today*. 1994 Sep; 15 (9): 450–454.
47. Taylor RP, Lindorfer MA. Drug insight: the mechanism of action of rituximab in autoimmune disease—the immune complex decoy hypothesis. *Nat Clin Pract Rheumatol*. 2007 Feb; 3 (2): 86–95.
48. Queen C, Schneider WP, Selick HE, et al. A humanized antibody that binds to the interleukin 2 receptor. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1989 Dec; 86 (24): 10029–10033.
49. Rose JW, Burns JB, Bjorklund J, Klein J, Watt HE, Carlson NG. Daclizumab phase II trial in relapsing and remitting multiple sclerosis: MRI and clinical results. *Neurology*. 2007 Aug 21; 69 (8): 785–789.
50. Kappos L, Antel J, Comi G, et al. Oral fingolimod (FTY720) for relapsing multiple sclerosis. *N Engl J Med*. 2006 Sep 14; 355 (11): 1124–1140.
51. Brunmark C, Runström A, Ohlsson L, et al. The new orally active immunoregulator laquinimod (ABR-215062) effectively inhibits development and relapses of experimental autoimmune encephalomyelitis. *J Neuroimmunol*. 2002 Sep; 130 (1–2): 163–172.
52. Polman C, Barkhof F, Sandberg-Wollheim M, et al. Treatment with laquinimod reduces development of active MRI lesions in relapsing MS. *Neurology*. 2005 Mar 22; 64 (6): 987–991.
53. Sipe JC. Cladribine for multiple sclerosis: review and current status. *Expert Rev Neurother*. 2005 Nov; 5 (6): 721–727.
54. Garren H, Krasulová E, Havrdová E, et al. Phase IIb trial of a MBP encoding DNA plasmid (BHT-3009) for the treatment of relapsing-remitting multiple sclerosis. *Mult Scler*. 2007 Oct; 13 (Suppl 2): S17 (in press).