TYSABRI – nový management rizik

MUDr. Yvonne Benešová, Ph.D.

Neurologická klinika LF MU a FN Brno

Natalizumab řadíme mezi selektivní monoklonální protilátky. Jedná se o velmi účinný lék, který podstatně snižuje aktivitu nemoci a vede k dlouhodobé stabilizaci roztroušené sklerózy mozkomíšní. Terapie je bohužel spojena s rizikem rozvoje progresivní multifokální leukoencefalopatie (PML) u pacientů s pozitivitou protilátek proti John Cunningham viru. Standardizované, pravidelné klinické sledování, monitorace magnetickou rezonancí a využití biomarkerů umožňuje stratifikovat riziko rozvoje PML. Včasné zjištění PML choroby v asymptomatickém stadiu podstatně zlepšuje přežití a snižuje následky tohoto onemocnění.

Klíčová slova: natalizumab, monoklonální protilátky, progresivní multifokální leukoencefalopatie, roztroušená skleróza.

TYSABRI – new management of risk factors

Natalizumab belongs to monoclonal antibodies. This is a high-efficacy drug, which substantially reduces the activity and leads to long-term stabilization of multiple sclerosis. However, the therapy is associated with a risk of developing progressive multifocal leukoencephalopathy (PML) in patients infected with the John Cunningham Virus. Standardized high-quality monitoring procedures, clinical assessments, magnetic resonance imaging monitoring and use of biomarkers enable risk stratification. Early detection of disease in asymptomatic stage substantially improves survival and reduce the functional outcomes.

Key words: natalizumab, monoclonal antibodies, multiple sclerosis, progressive multifocal leukoencephalopathy.

Úvod

Roztroušená skleróza mozkomíšní (RS) je chronické, zánětlivé, progresivní, autoimunitní onemocnění centrálního nervového systému (CNS), vedoucí ke ztrátě myelinu v zánětlivých ložiscích bílé hmoty a současně již od počátku také k axonálnímu poškození (Hartung et al., 2004). Patří mezi nejčastější příčiny chronické invalidity mladých lidí.

Rozvoj a progresi nemoci ovlivňuje několik patofyziologických procesů, zahrnujících zánětlivé poškození CNS, demyelinizaci, dále poškození šedé hmoty mozkové, astroglíozu, axonální degeneraci a reparační mechanismy. Tyto procesy však nejsou rovnoměrně vyjádřeny u jednotlivých pacientů a podmiňují variabilní klinický průběh, prognózu a efekt léčby (Hartung et al., 2004).

Porušení hemato-encefalické bariéry (HEB), umožňující migraci aktivovaných T-lymfocytů,

B-lymfocytů, zánětlivých buněk, plazmatických proteinů, autoprotilátek a komplementu do CNS, je považováno za klíčové pro aktivitu onemocnění a formování akutních RS lézí (Martin et al., 2000). V ložisku zánětu dochází k poškození myelinu a v různé míře také k poškození axonů (Brück, 2005). Interakce mezi α , β integrinem, adhezivní molekulou na povrchu leukocytů a vaskulární adhezivní molekulou (VCAM-1), která je exprimovaná na povrchu vaskulárních endoteliálních buněk v mozku a míše, umožňuje adhezi a migraci lymfocytů přes HEB. Navíc interakce α , β integrinu s ligandy, např. fibronectinem či osteopontinem, může ovlivnit přežívání a aktivaci leukocytů, které přestoupily do parenchymu CNS (Polman et al., 2006).

Natalizumab (Tysabri®)

Natalizumab (NTZ) řadíme mezi selektivní monoklonální protilátky. Váže se na α 4 podjed-

notku integrinu pozdního antigenu 4 (VLA-4), která se nachází na povrchu T-lymfocytů, B-lymfocytů, makrofágů a eozinofilů. Blokuje interakci VLA-4 s jeho receptorem, VCAM-1 exprimovanou na povrchu vaskulárních endoteliálních buněk, čímž zabraňuje migraci bílých krvinek přes HEB do CNS. NTZ ovlivňuje probíhající zánětlivý proces také inhibicí vazby integrinu s fibronectinem a osteopontinem (Polman et al., 2006).

Tysabri je imunomodulační lék, který je indikovaný v léčbě relabující-remitentní RS (RR RS). Většinou je podáván jako lék druhé volby u pacientů s RR RS, u kterých přetrvává vysoká aktivita onemocnění i přes terapii první volby, nebo jako lék první volby u závažné, progredující formy RR RS s rychle narůstajícím neurologickým deficitem. Je podáván v monoterapii. Snižuje podstatně frekvenci relapsů, tzv. relaps rate (RR), významně zpomaluje progresi disability a re-

KORESPONDENČNÍ ADRESA AUTORA:
MUDr. Yvonne Benešová, Ph.D., benes@fnbrno.cz
Neurologická klinika, LF MU a FN Brno, Jihlavská 20, 625 00 Brno

Cit. zkr: Neurol. praxi 2017; 18(3): 202–206
Článek přijat redakcí: 17. 4. 2017
Článek přijat k publikaci: 20. 5. 2017

Graf 1. Účinnost natalizumabu byla prokázána v klinické studii Affirm

CI=confidence interval.

Polman CH et al. *N Engl J Med.* 2006;354:899-910.

MR=magnetic resonance imaging; Gd=gadolinium-enhancing.
Miller DH et al. *Neurology.* 2007;68:1390-1401.

Annualized Relapse Rate – roční frekvence relapsů; CI – confidence interval (interval spolehlivosti); MRI – magnetická rezonance; GD+ – léze sytící se gadoliniem
a) Došlo k redukci roční frekvence relapsů o 68 % v léčené skupině ve srovnání s placebem ($P<0,001$)
b) Bylo prokázáno zpomalení progresu postižení o 54 % ($P<0,001$) ve srovnání s placebem
c) Bylo prokázáno snížení T2 hyperintenzních a sytících se lézí gadoliniem na MR ve srovnání s placebem o 92 % ($P<0,001$)

dukuje aktivitu na magnetické rezonanci (MR) mozku (Polman et al., 2006; Rudick et al., 2006).

Velmi vysoká účinnost tohoto léku byla prokázána ve dvou velkých klinických studiích **AFFIRM** a **SENTINEL** (Polman et al., 2006; Rudick et al., 2006) (graf 1a, b, c) a následně potvrzena

v postmarketingovém sledování (Butzkueven et al., 2014; Kappos et al., 2016).

Do dvouleté studie **AFFIRM** bylo zahrnuto 942 pacientů s RR RS. Jednalo se o III. fázi randomizované, dvojité zaslepené, placebem kontrolované studie. Byla prokázána vysoká klinická i radiologická účinnost. Došlo ke snížení ročního RR až o 68 % v léčené skupině ($P<0,001$), na MR bylo prokázáno snížení T2 hyperintenzních lézí o 83 % a sytících se lézí gadoliniem o 92 % ve srovnání s placebem ($P<0,001$) (Polman et al., 2006).

Ve dvouleté, randomizované, dvojité zaslepené, placebem kontrolované studii **SENTINEL** u 1 171 pacientů s RR RS byla porovnáována bezpečnost a účinnost kombinované terapie NTZ a interferonu beta-1a v dávce 30 μ g 1x týdně ve srovnání s interferonem beta-1a 30 μ g aplikovaného 1x týdně v monoterapii. Opět bylo prokázáno signifikantní snížení ročního RR u kombinované terapie ve srovnání s interferonem beta-1a (0,34 vs. 0,75) a snížení progresu onemocnění za dva roky ($P=0,02$). Došlo také k signifikantnímu snížení T2 hyperintenzních a sytících se lézí gadoliniem lézí oproti interferonu beta-1a ($P<0,001$) (Rudick et al., 2006). V reálné klinické praxi bylo v průběhu sedmiletého sledování potvrzeno, že došlo k významnému zpomalení progresu disability vyjádřeného pomocí EDSS skóre a snížení ročního RR téměř o 90 % (Butzkueven et al., 2014; Kappos et al., 2016; BiogenIdec TOP, 2016) (graf 2a, b).

Tato vysoce účinná léčba je bohužel spojena s rizikem rozvoje progresivní multifokální leukoencefalopatie (PML). Ve studii **SENTINEL** došlo k rozvoji PML u dvou RS pacientů, kteří byli léčeni kombinovanou léčbou NTZ a interferonem beta-1a. Došlo také k rozvoji PML u jednoho nemocného s Crohnovou chorobou. Nebylo zjištěno, zda kombinovaná imunosuprese zvyšuje riziko rozvoje PML, neboť další případy onemocnění se vyskytly také u pacientů léčených monoterapií. Ke konci února 2017 bylo léčeno NTZ celkem asi 170 000 pacientů, přičemž 32 400 nemocných bylo léčeno natalizumabem 72 nebo více měsíců. V České republice (ČR) je v současné době léčeno 1 114 nemocných (EMA TYSABRI PML Update, 2017; BiogenIdec TOP, 2016). Dosud bylo celosvětově hlášeno 714 případů PML (711 u RS, u tří pacientů s Crohnovou chorobou). V ČR bylo dosud potvrzeno osm nemocných (EMA TYSABRI PML Update, 2017; BiogenIdec TOP, 2016).

Progresivní multifokální leukoencefalopatie (PML)

PML je oportunní, subakutně se rozvíjející infekční onemocnění CNS, které zasahuje subkortikální bílou hmotu (Safak et al., 2003). Primárně je postižena oligodendroglie a astrocyty. Je způsobeno reaktivací John-Cunningham viru (JCV), který řadíme mezi lidské polyoma viry, jehož seroprevalence se v populaci pohybuje kolem 70–90 % (Shackelton et al., 2006). K primoinfekci dochází většinou v dětství nebo v mládí a virus perzistuje celoživotně v ledvinách, mozku, B-lymfocytech, plicích či slezině. Stává se patogenním pouze při oslabení imunitního systému. Spouštěče replikace JCV nejsou známy, může dojít k souběhu rizikových faktorů, kdy jedním z nich je narušený buněčný imunitní systém. Může se vyvinout následkem infekce HIV, systémové imunosuprese, používáním antineoplastických léčiv nebo u některých zhoubných nádorů. Poprvé byla popsána jako vzácná komplikace lymfoproliferativního onemocnění zejména u starších pacientů (Astrom et al., 1958). Výskyt PML vzrostl v důsledku pandemie HIV, u nichž je udávána až 5% prevalence (Koralnik, 2004).

Příčina rozvoje této závažné oportunní infekce u pacientů léčených NTZ není dosud objasněna. Souvisí pravděpodobně s tím, že léčba NTZ vede k porušení imunosurveillance CNS. Bylo prokázáno, že léčba navodí dlouhodobou supresi CD4+, CD8+ T-lymfocytů, CD19+ B-lymfocytů a CD138+ plazmatických buněk v likvoru ve srovnání s RS pacienty, kteří nebyli NTZ léčeni. Snížení přetrvávalo šest měsíců po ukončení terapie NTZ (Stuve et al., 2006). Z tohoto důvodu se PML pravděpodobně vyskytla také u některých nemocných až šest měsíců po poslední dávce NTZ.

Klinický obraz PML

Klinické příznaky jsou variabilní, většinou nastupují pozvolna během týdnů a mají progresivní charakter. V pokročilejších stadiích je přítomno motorické a kognitivní postižení, nacházíme také kortikální slepotu, dále senzorické defekty, závratě a epileptické záchvaty (Berger et al., 1998). JC virus může infikovat také granulózní buňky v mozečku, což vede k neuronopatii granulózních buněk (GCN, granule cell neuronopathy) a na MR mozku prokazujeme cerebelární atrofii (Schippling et

Graf 2. Účinnost natalizumabu byla potvrzena v reálné klinické praxi v postmarketingovém sledování celosvětově i v České republice

ČR – Česká republika; Global – celosvětově; ARR – Annualized Relapse Rate (roční frekvence relapsů)

a) Roční frekvence relapsů rok před zahájením léčby a po roční léčbě natalizumabem

EDSS – Expanded Disability Status Scale; ČR – Česká republika; Global 0 celosvětově Biogen Idec TOP – Tysabri Observational Program (Data Export Date 01NOV2016)

b) Stupeň postižení vyjádřený EDSS u pacientů před léčbou a po jednom roce léčby

al., 2013). Charakter příznaků stejně jako jejich rozvoj mohou pomoci odlišit nástup PML od typických příznaků relapsu RS (tabulka 1).

Při výskytu nových nebo zhoršení stávajících neurologických příznaků během terapie NTZ a přibližně až šest měsíců po podání poslední dávky je vždy nutné zvažovat PML. Mělo by být co nejdříve provedeno MR vyšetření mozku a při přetrvávajícím podezření vyšetření mozkomíšního moku. Léčba musí být přerušena a může být opětovně zahájena pouze v případě, že je vyloučena jiná patologie než RS (EMA TYSABRI PML Update, 2017).

MR hraje velmi důležitou roli v časně diagnostice onemocnění, neboť může prokázat počínající PML již v preklinickém stadiu (Wattjes et al., 2013); a to až půl roku před prvními klinickými příznaky choroby (Dong-Si T et al., 2014). Na MR jsou přítomny v T2 vážených obrazech asymetrické, difúzní, pomalu progredující hyperintenzní léze bílé hmoty, které se po aplikaci gadolinia většinou nesytí a nedochází k mas efektu. Jsou postižena subkortikální U vlákna. Velmi přínosnou sekvencí pro diagnózu PML je FLAIR vzhledem k subkortikální lokalizaci postižení (Kappos et al., 2011).

Detekce JCV DNA v mozkomíšním moku pomocí PCR silně podporuje diagnózu, senzitivita činí 72 až 100 % a specifita 92 až 100 % (Cinque et al., 1997). Pokud je výsledek PCR negativní, doporučuje se test opakovat. Vzorky by měly být testovány v laboratoři, která je schopna při vyšetření detekovat alespoň 10 kopií/ml. Tato hladina detekce je diagnosticky relevantní, protože PML byla potvrzena také u pacientů s nízkým počtem kopií v mozkomíšním moku. Mozková biopsie zůstává konečným potvrzujícím testem, ale pozitivní CSF-PCR je dostačující. Konečná diagnóza PML by měla být stanovena pouze na základě klinického nálezu, nálezu na MR a přítomnosti DNA JC viru v CNS. Při výskytu příznaků naznačujících možný rozvoj PML je nezbytné léčbu přípravkem TYSABRI přerušit a/nebo trvale ukončit, pokud se PML potvrdí.

Prognóza onemocnění je závažná. Ze 714 postregistračních případů PML hlášených do března roku 2017 je 77 % pacientů naživu a 23 % pacientů s výskytem PML zemřelo. Průměrná délka léčby do výskytu PML činila 48 měsíců (EMA TYSABRI PML Update, 2017). 40 % přeživších pacientů zůstalo postiženo těžce, u 50 % došlo ke středně těžkému neurologickému postiže-

ní a u 10 % k lehkému postižení (Štourač, 2012). Pokud byla diagnóza stanovena v asymptomatickém stadiu, činila úmrtnost pouze 3,3 % a nemocní měli také signifikantně nižší stupeň postižení (Dong-Si T et al., 2014; Carrillo-Infante et al., 2017). V analýze provedené v souboru 336 nemocných s PML, hlášených do roku 2013 bylo zjištěno, že mladší věk, lehčí neurologické postižení, nižší titr protilátek a menší stupeň postižení na MR v době diagnózy predikuje lepší přežití (Dong-Si et al., 2015).

Včasně zjištění PML u asymptomatických pacientů, vysazení léčby NTZ a zahájení terapie je spojeno s lehčím průběhem PML a menšími následky u postižených jedinců (Vermesch et al., 2011).

Rizikové faktory PML u nemocných léčených NTZ

V současné době jsou známy tři rizikové faktory, které umožňují stanovit míru rizika rozvoje PML u pacientů léčených NTZ.

■ Patří sem délka terapie, zejména období delší než dva roky. U pacientů léčených více než dva roky se riziko PML zvyšuje s rostoucí dobou léčby.

Graf 3. Riziko rozvoje PML v závislosti na stavu protilátek proti JC viru, délce léčby a předchozí imunosupresivní terapii

Expozice Natalizumabem	Odhad rizika vzniku PML na 1000 pacientů				
	Pacienti bez předchozí terapie IS				Pacienti s předchozí terapií IS
	Bez hodnoty indexu	Index protilátek ≤ 0,9	Index protilátek > 0,9 ≤ 1,5	Index protilátek > 1,5	
1-12 měsíců	0,1	0,1	0,1	0,2	0,3
13-24 měsíců	0,6	0,1	0,3	0,9	0,4
25-36 měsíců	2	0,2	0,8	3	4
37-48 měsíců	4	0,4	2	7	8
49-60 měsíců	5	0,5	2	8	8
61-72 měsíců	6	0,6	3	10	6

Odhad rizika PML u pacientů s pozitivním nálezem protilátek proti viru JC je odvozen na základě postmarketingových údajů získaných přibližně od 22 000 pacientů léčených natalizumabem, kteří byli zařazeni do klinických studií STRATIFY-2, TOP, TYGRIS a STRATA.

Odhad rizika PML u pacientů s negativním nálezem protilátek proti viru JC bylo odhadnuto na základě postmarketingových dat získaných přibližně od 125 000 pacientů léčených natalizumabem.

Tab. 1. Klinické příznaky roztroušené sklerózy a progresivní multifokální leukoencefalopatie

	Nálezy ukazující na:	
	RS ¹	PML ²
Nástup	Akutní	Subakutní
Rozvoj	<ul style="list-style-type: none"> ■ Během hodin až dnů ■ Normálně se stabilizuje ■ Vyřeší se spontánně i bez terapie 	<ul style="list-style-type: none"> ■ Během týdnů ■ Progresivní
Klinické nálezy	<ul style="list-style-type: none"> ■ Diplopie ■ Parestezie ■ Paraparéza ■ Optická neuritida ■ Myelopatie 	<ul style="list-style-type: none"> ■ Afázie ■ Behaviorální a neuropsychologická alternace ■ Retrochiasmatické výpadky vizu ■ Hemiparéza ■ Epileptické záchvaty

RS – roztroušená skleróza; PML – progresivní multifokální leukoencefalopatie

- Druhým známým rizikovým faktorem je předchozí terapie imunosupresivy (IS) – např. azathioprin, cyklofosfamid, mitoxantron, methotrexate či mycophenolate mofetil.
- Třetím rizikovým faktorem je přítomnost protilátek proti John Cunningham viru (JCV) v séru, detekovaných metodou ELISA (Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay).

Novější metodou ELISA, dvoustupňovým testem vyšetření protilátek tzv. stratify JCV, lze přítomnost protilátek stanovit kvantitativně. V souboru 6 000 nemocných byl při využití této metody prokázán výskyt protilátek přibližně u 55 % pacientů, přičemž prevalence

se zvyšovala s věkem a byla nižší u žen než u mužů (Kean et al., 2009). Pozitivní jedinci mají zvýšené riziko rozvoje PML v porovnání s pacienty negativními. Největší význam testování protilátek proti JCV spočívá v rozvrstvení rizika PML, kdy se pozitivní výsledek testu použije v kombinaci s dalšími dvěma zjištěnými výše uvedenými rizikovými faktory (graf 3). Prokázalo se, že snížená hladina L-selectinu exprimovaného CD4 T buňkami může predikovat vyšší riziko PML u séropozitivních pacientů (Schwab et al., 2013).

Protilátky proti JCV v séru by měly být vyšetřeny před zahájením podávání NTZ. U negativních pacientů by mělo být prováděno kontrolní

vyšetření každých šest měsíců, neboť může dojít ke konverzi na pozitivní titr protilátek proti JCV (EMA TYSABRI PML Update, 2017). V klinické studii Stratify-1 byla zjištěna konverze z negativního stavu na pozitivní u přibližně 11 % pacientů každý rok (Bozic et al., 2011).

Jestliže je pacient pozitivní, rozlišujeme index protilátek ≤0,9, 0,9–1,5 a vysoké titry >1,5. Současné dostupné informace ukazují, že riziko PML zůstává nízké u indexu ≤0,9 a významně se zvyšuje u hodnot nad 1,5 (graf 3). U pacientů s nízkým indexem bez předchozí IS terapie by mělo být prováděno kontrolní vyšetření také každých šest měsíců po dosažení dvou let léčby (EMA TYSABRI PML Update, 2017).

Nemocní, kteří mají všechny tři rizikové faktory – jsou léčeni TYSABRI více než dva roky, měli předchozí imunosupresivní terapii a je prokázána pozitivita protilátek proti JCV, nebo nemocní bez předchozí IS terapie s vysokými titry protilátek nad 1,5, léčeni TYSABRI více než dva roky jsou vystaveni významně vyššímu riziku rozvoje PML.

Všechny nemocné léčené NTZ je nutné pečlivě klinicky, neurologicky a radiologicky sledovat. MR mozku se provádí v tříměsíčním intervalu před zahájením podávání TYSABRI a opakuje se rutinně jednou ročně. U pacientů se zvýšeným rizikem PML se doporučuje pravidelné provádění kontrolních MR vyšetření každých 3–6 měsíců. V další léčbě lze pokračovat pouze v případě, že přínos terapie převáží možná rizika. Po ukončení terapie NTZ se doporučuje nemocného monitorovat po dobu dalších šesti měsíců.

Mezi další časté nežádoucí účinky patří infekce močových cest a nazofaryngitida, dále nauzea, zvracení, kopřivka, bolesti hlavy, závratě, artralgie, ztuhlost, horečka a únava (Tysabri SPC).

Mezi další možné komplikace léčby řadíme hypersenzitivní reakce, které se mohou vyskytnout až u 4 % pacientů, anafylaktické reakce u méně než 1 % pacientů. Terapie může až u 6 % nemocných navodit produkci neutralizačních protilátek, které snižují její účinnost.

U sekundárně progresivní RS byl NTZ testován v poměrně rozsáhlé klinické studii (ASCEND), kde nebyl bohužel naplněn primární cíl studie (Sellebjerg et al., 2016).

Závěr

Aktualizovaná stratifikace rizika PML při léčbě NTZ umožní včasné zjištění rizikových

pacientů a případně prokázat onemocnění již v asymptomatickém stadiu. Nemocní, kteří mají všechny tři rizikové faktory – jsou léčeni TYSABRI více než dva roky, měli předchozí imunosupresivní terapii a je prokázána pozitivita protilátek proti JCV; nebo nemocní bez předchozí IS terapie s vysokými titry protilátek

nad 1,5, kteří jsou léčeni TYSABRI více než dva roky, jsou vystaveni významně vyššímu riziku rozvoje PML. U těchto pacientů je doporučeno pravidelné provádění kontrolních vyšetření MR mozku každé 3–6 měsíce. Včasně zjištění choroby již v asymptomatickém stadiu podstatně

zlepšuje přežití a vede ke snížení/minimalizaci následků této choroby.

Práce byla vypracována s podporou

MZ ČR – RVO (FNBr, 65269705)

Práce byla vypracována s podporou sponzorského daru číslo JP/1973/11/2R, NS 2661

LITERATURA

1. Astrom KE, Mancall EL, Richardson EP Jr. Progressive multifocal leukoencephalopathy, a hitherto unrecognized complication of chronic lymphatic leukaemia and Hodgkin's disease. *Brain* 1958; 81: 93–111.
2. Berenguer J, Miralles P, Arrizabalanga J, Ribera E, Dronda F, Baraia-Etxaburu J, Domingo P, Márquez M, Rodríguez-Arondo FJ, Laguna F, Rubio R, Lacruz Rodrigo J, Mallolas J, de Miguel V. GESIDA 11/99 Study Group. Clinical course and prognostic factors of progressive multifocal leukoencephalopathy in patients treated with highly active antiretroviral therapy. *Clinical Infectious Diseases* 2003; 36: 1047–1052.
3. BiogenIdec TOP: Tysabri Observational Program (Data Export Date 01NOV2016).
4. Bozic C, Richman S, Plavina T, Natarajan A, Scanlon JV, Subramanyam M, Sandrock A, Bloomgren G. Anti-John Cunningham virus antibody prevalence in multiple sclerosis patients: baseline results of STRATIFY-1. *Ann Neurol* 2011; 70 (5): 742–750.
5. Brück W. The pathology of multiple sclerosis is the result of focal inflammatory demyelination with axonal damage. *J Neurol* 2005; 252: v3–v9.
6. Butzkueven H, Kappos L, Pellegrini F, Trojano M, Wiendl H, Patel RN, Zhang A, Hotermans C, Belachew S; TYSABRI Observational Program (TOP) Investigators. Efficacy and safety of natalizumab in multiple sclerosis: interim observational programme results. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2014; 85(11): 1190–1197.
7. Carrillo-Infante C, Richman S, Yu B. Functional and survival outcomes of asymptomatic progressive multifocal leukoencephalopathy in natalizumab-treated multiple sclerosis patients: ECTRIMS 2016; P: 1528.
8. Cinque P, Scarpellini P, Vago L, Linde A, Lazzarin A. Diagnosis of central nervous system complications in HIV-infected patients: cerebrospinal fluid analysis by the polymerase chain reaction. *AIDS* 1997; 11: 1–17.
9. Dong-Si T, Richman S, Wattjes MP, Wenten M, Gheuens S, Philip J, Datta S, McIninch J, Bozic C, Bloomgren G, Richert N. Outcome and survival of asymptomatic PML in natalizumab-treated MS patients. *Ann Clin Transl Neurol* 2014; 1(10): 755–764.
10. Dong-Si T, Gheuens S, Gangadharan A, Wenten M, Philip J, McIninch J, Datta S, Richert N, Bozic C, Bloomgren G, Richman S, Weber T, Clifford DB. Predictors of survival and functional outcomes in natalizumab-associated progressive multifocal leukoencephalopathy. *J Neurovirol* 2015; 21(6): 637–644.
11. Hartung HP, Bar-Or A, Zoukos Y. What do we know about the mechanism of action of disease-modifying treatments in MS? *J Neurol* 2004; 251: 12–19.
12. Kappos L, Bates D, Edan G, Eraksoy M, Garcia-Merino A, Grigoriadis N, Hartung HP, Havrdová E, Hillert J, Hohlfeld R, Kremenchutzky M, Lyon-Caen O, Miller A, Pozzilli C, Ravnborg M, Saida T, Sindic C, Vass K, Clifford DB, Hauser S, Major EO, O'Connor PW, Weiner HL, Clanet M, Gold R, Hirsch HH, Radü EW, Sørensen PS, King J. Natalizumab treatment for multiple sclerosis: updated recommendations for patient monitoring and selection. *Lancet Neurol* 2011; 10: 745–758.
13. Kappos L, Butzkueven H, Spelman T, Trojano M, Wiendl H, Chen Y, Ho PR, Koendgen H, Campbell N. Long-term real-world effectiveness of natalizumab: Treatment Outcomes from the TYSABRI® Observational Program (TOP) stratified by baseline disability. 32nd Congress of the European Committee for Treatment and Research in Multiple Sclerosis 2016; P 1228.
14. Kean JM, Rao S, Wang M, Garcea RL. Seroepidemiology of human polyomaviruses. *PLoS Pathog* 2009; 5(3): e1000363.
15. Koralnik IJ. New insights into progressive multifocal leukoencephalopathy. *Curr Opin Neurol* 2004; 17: 365–370.
16. Martin R, Bielekova B, Gran B, McFarland HF. Lessons from studies of antigen-specific T cell responses in Multiple Sclerosis. *J Neural Transm Suppl.* 2000; 60: 361–373.
17. Polman CH, O'Connor PW, Havrdová 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; 354: 899–910.
18. Rudick RA, Stuart WH, Calabresi PA, Confavreux C, Galetta SL, Radue EW, Lublin FD, Weinstock-Guttman B, Wynn DR, Lynn F, Panzara MA, Sandrock AW; SENTINEL Investigators. Natalizumab plus interferon beta-1a for relapsing multiple sclerosis. *N Engl J Med.* 2006; 354: 911–923.
19. Safak M, Khalili K. An overview: Human polyomavirus JC virus and its associated disorders. *J Neurovirol* 2003; 9(Suppl. 1): 3–9.
20. Sellebjerg F, Cadavid D, Steiner D, Villar LM, Reynolds R, Mikol D. Exploring potential mechanisms of action of natalizumab in secondary progressive multiple sclerosis. *Ther Adv Neurol Disord.* 2016; 9(1): 31–43.
21. Shackelton LA, Rambaut A, Pybus OG, Holmes EC. JC virus evolution and its association with human populations. *J Virol* 2006; 80(20): 9928–9933.
22. Schippling S, Kempf C, Büchele F, Jelcic I, Bozinov O, Bont A, Linnebank M, Sospedra M, Weller M, Budka H, Martin R. JC virus granule cell neuronopathy and GCN-IRIS under natalizumab treatment. *Ann Neurol.* 2013; 74(4): 622–626.
23. Schwab N, Schneider-Hohendorf T, Posevitz V, Breuer J, Göbel K, Windhagen S, Brochet B, Vermersch P, Lebrun-Frenay C, Posevitz-Fejfar A, Capra R, Imberti L, Straeten V, Haas J, Wildemann B, Havla J, Kümpfel T, Meinl I, Niessen K, Goelz S, Kleinschnitz C, Warnke C, Buck D, Gold R, Kieseier BC, Meuth SG, Foley J, Chan A, Brassat D, Wiendl H. L-selectin is a possible biomarker for individual PML risk in natalizumab-treated MS patients. *Neurology* 2013; 81(10): 865–871.
24. Stuve O, Marra CM, Jerome KR, Cook L, Cravens PD, Cepok S, Frohman EM, Phillips JT, Arendt G, Hemmer B, Monson NL, Racke MK. Immune surveillance in multiple sclerosis patients treated with natalizumab. *Ann Neurol.* 2006; 59: 743–47.
25. Štourač P. Imunomodulační léčba roztroušené sklerózy mozkomíšní v klinických a zobrazovacích parametrech. *Cesk Slov Neurol N* 2012; 75: 404–410.
26. TYSABRI® (natalizumab): PML in Patients Receiving TYSABRI (EMA TYSABRI PML Update)- Biogen Medical Information 15 MAR 2017.
27. Vermersch P, Kappos L, Gold R, Foley JF, Olsson T, Cadavid D, Bozic C, Richman S. Clinical outcomes of natalizumab-associated progressive multifocal leukoencephalopathy. *Neurology* 2011; 76(20): 1697–1704.
28. Wattjes MP, Richert ND, Killestein J, de Vos M, Sanchez E, Snaebjornsson P, Cadavid D, Barkhof F. The chameleon of neuroinflammation: magnetic resonance imaging characteristics of natalizumab-associated progressive multifocal leukoencephalopathy. *Mult Scler* 2013; 19: 1826–1840.