

Monoklonální protilátky v léčbě roztroušené sklerózy

MUDr. Marek Peterka¹, MUDr. Zdeněk Kasl, Ph.D.²

¹Neurologická klinika LF UK a FN Plzeň

²Oční klinika LF UK a FN Plzeň

Monoklonální protilátky přinášejí velkou výzvu v léčbě roztroušené sklerózy. Pokrok v tvorbě monoklonálních protilátek nám přináší nástroj, který umožňuje ovlivňovat patologické imunitní pochody na různých úrovních. K léčbě relaps-remitentní roztroušené sklerózy máme dnes k dispozici monoklonální protilátky schopné ovlivnit migraci lymfocytů nebo indukovat jejich depleci. S příchodem humanizovaných a humánních protilátek dochází k významnému zlepšení jejich bezpečnostního profilu. Aktuálně jsou k dispozici v Evropě k léčbě relaps-remitentní formy roztroušené sklerózy čtyři monoklonální protilátky: natalizumab, alemtuzumab, daclizumab a ocrelizumab. Ocrelizumab taktéž prokázal účinnost k potlačení progresu primárně progresivní roztroušené sklerózy.

Klíčová slova: monoklonální protilátky, roztroušená skleróza, natalizumab, alemtuzumab, daclizumab, rituximab, ocrelizumab.

Monoclonal antibodies have become a great challenge in treating Multiple Sclerosis

Progress in developing new monoclonal antibodies allows us to affect pathological immune processes on many different levels. For treating MS, we now have available monoclonal antibodies capable of influencing the lymphocytes migration or inducing their depletion. Also, the development of new humanized and human antibodies caused significant improvement of their safety profile. Currently there are four types of monoclonal antibodies available in Europe for treating MS: natalizumab, alemtuzumab, daclizumab and ocrelizumab. The last one has also shown effectivity on suppressing progression of primary progressive form of MS.

Key words: monoclonal antibodies, multiple sclerosis, natalizumab, alemtuzumab, daclizumab, rituximab, ocrelizumab.

Úvod

Léčba roztroušené sklerózy (RS) prochází v posledních 20 letech výraznými změnami. Od začátku využívání prvních imunomodulačních léků uplynula již dlouhá doba. V posledním období dochází v léčbě autoimunitních onemocnění ke snaze selektivně snížit nebo eliminovat specifické prozánětlivé pochody. S rozvojem genového inženýrství došlo k možnosti tvorby monoklonálních protilátek, které mohou být právě k tomuto využity. Zlomovou událostí byl rok 1975, kdy Caesar Milstein a George F. Köhler objevili postup přípravy monoklonálních protilátek (Köhler et al. Milstein, 1975). Podstatou jejich objevu bylo spojení nesmrtelné myelomové buňky a B-lymfocytu produkujícího specifické

protilátky. Namnožením a selekcí takto spojených buněk vznikla hybridomová linie, která byla nesmrtelná a produkovala protilátky určité specifity. Za tento objev pak byli oba vědci v roce 1984 odměněni Nobelovou cenou.

Monoklonální protilátky jsou protilátky produkované jen jedním klonem B-lymfocytu a vykazují tak shodnou antigenní specifitu. Jsou využívány nejen v diagnostice, ale hlavně v léčbě různých onemocnění (onkologie, transplantologie, autoimunitní onemocnění). První protilátky produkované hybridní metodou byly čistě myšího původu. Hlavní nevýhodou těchto molekul byla vysoká imunogenita s tvorbou protilátek proti těmto monoklonálním protilátkám označovaným jako HAMA (human

anti-mouse antibodies). Tvorba protilátek vedla nejen k eliminaci účinku, ale také k možnému vzniku sérové nemoci nebo anafylaktické reakci. Proto bylo vyvinuto značné úsilí k eliminaci tohoto negativního faktoru. Nové metody vedly k tvorbě chimérických nebo humanizovaných monoklonálních protilátek. U chimérické protilátky je myšího původu jen Fab úsek imunoglobulinu, u humanizované je myšího původu jen tzv. CDR oblast (complementarity determining region), který reaguje s vlastním epitopem. V dnešní době jsou již k dispozici plně humánní monoklonální protilátky a dokonce bivalentní monoklonální protilátky, které mají každé rameno s jinou antigenní determinantou (Krejsek et al. Kopecký, 2004).

KORESPONDENČNÍ ADRESA AUTORA:

MUDr. Marek Peterka, peterkam@fnplzen.cz

Neurologická klinika LF UK a FN Plzeň, Alej Svobody 80, 304 60 Plzeň

Cit. zkr: Neurol. praxi 2018; 19(2): 123–129

Článek přijat redakcí: 17. 1. 2018

Článek přijat k publikaci: 19. 3. 2018

Tab. 1. Nomenklatura monoklonálních protilátek; upraveno: American Medical Association – Monoclonal Antibodies Nomenclature 2008

Předpona	Cílová struktura	Původ (typ) protilátky	Přípona
	-ba(c)-	bakterie	
	-ci(r)-	kardiovaskulární systém	
	-co(l)-	nádor tlustého střeva	
	-fu(ng)-	houba	
	-go(t)-	nádor varlete	
	-go(v)-	nádor vaječníku	-a-
	-ki(n)-	interleukin	-axo-
	-le(s)-	ložisko infekce	-e-
Variabilní	-li(m)-	imunitní systém	-i-
	-ma(r)-	nádor prsu	-o-
	-me(l)-	melanom	-u-
	-mu(l)-	muskuloskeletální systém	-xi-
	-neu(r)-	nervový systém	-xizu-
	-o(s)-	kost	-zu-
	-pr(o)-	nádor prostaty	
	-tox(a)-	toxin	
	-tu(m)-	libovolný nádor	
	-vi(t)-	viry	

Nomenklatura monoklonálních protilátek je pevně dána. Vlastní název může při znalosti názvosloví ukázat proti čemu je protilátka namířena a o jaký typ protilátky se jedná. První část názvu je variabilní, poté následuje část, která ukazuje cíl protilátky např.: – li(m) – imunitní systém, – tox(a) – toxin, – ki(n) – interleukin. Další část informuje o původu monoklonální protilátky. Tedy např.: – o – ukazuje na myší původ, – u – na lidský původ a – xi – ukazuje na chimérickou protilátku. Názvy jsou zakončeny příponou –mab. Například tedy název natalizumabu ukazuje, že protilátka je zaměřena proti strukturám imunitního systému a jedná se o humánní protilátku (AMA – Monoclonal Antibodies Nomenclature 2008).

Mechanismus účinku monoklonálních protilátek vzniká na podkladě navázání protilátky na specifický antigen. Tato interakce může vést k celé řadě dalších dějů, které mohou být terapeuticky využity. Jednou z možných vazebných struktur může být solubilní molekula (např.: toxiny, cytokiny, receptorové ligandy), navázáním dochází k neutralizaci této antigenní struktury. Pokud je cílovou strukturou receptor na buněčné membráně, dochází k zablokování další signální cesty, která je s touto molekulou spojena. Mnohem častěji je cílem deplece určité skupiny buněk. K vlastní aktivaci efektorového mechanismu, který vede k likvidaci buněk, slouží Fc fragment protilátky. Vlastní likvidace probíhá prostřednictvím fagocytózy, na protilátkách závislé cyto-

toxické reakci (ADCC) nebo komplementu závislé cytolyze (CDC). Další možným cytotoxickým mechanismem, který je schopna monoklonální protilátka navodit, je rozvoj imunitní reakce tvorbou antiidiotypových protilátek. Vazba monoklonální protilátky na buněčný povrch může indukovat její apoptózu (Russell et al., 1992)

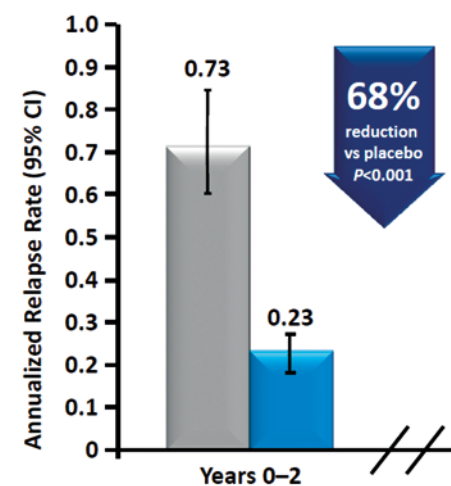
V posledních letech proniká léčba monoklonálními protilátkami i do léčby RS. První monoklonální protilátkou k léčbě relaps-remitentní formy roztroušené sklerózy (RR RS) v EU byl schválen natalizumab 27. 6. 2006. Další schválenou protilátkou k léčbě RR RS byl alemtuzumab 12. 9. 2013. Třetí monoklonální protilátkou, která je chválena k léčbě jak RR RS, tak primárně progresivní formy roztroušené sklerózy (PP RS), je ocrelizumab.

Natalizumab

Natalizumab je humanizovaná monoklonální protilátka IgG4 namířená proti $\alpha 4$ -řetězci $\alpha 4\beta 1$ integrinu a jiným adhezivním molekulám obsahujícím $\alpha 4$ -integrin. $\alpha 4\beta 1$ integrin je také znám pod jménem very late activating antigen-4 (VLA-4). VLA-4 na exprimován na povrchu leukocytů. Po navázání protilátky je zabráněno spojení s vascular cell adhesion molecule-1 (VCAM-1) a dalšími molekulami extracelulární matrix jako např.: fibronektin a osteopontin, toto vede k zabránění adheze leukocytu s vnitřní stěnou mozkových cév a přechodu buněk přes hematoencefalickou bariéru do centrálního nervového systému (CNS) (Polman et al., 2006).

Klinické studie

Natalizumab prokázal superioritu ve srovnání s placebem ve dvou klinických studiích fáze III. První studie (AFFIRM) sledovala účinnost proti placebo u pacientů s RR RS. Byla prokázána 68% ($p < 0,001$) redukce ročního výskytu relapsů (ARR) oproti placebo. Taktéž byla prokázána redukce progresivní invalidity měřená Kurtzkeho Expanded Disability Status Scale (EDSS), a to o 42% ($p < 0,001$) u pacientů léčených natalizumabem po dvou letech. Léčba natalizumabem taktéž vede k redukcí výskytu nových nebo zvětšujících se T2 vážených lézí o 82% ($P < 0,001$) oproti placebo (Polman et al., 2006). U druhé studie (SENTINEL) byla léčba natalizumabem nebo placebem zahájena při selhání léčby první linie interferonem beta, jednalo se tedy o add-on terapii. Studie byla ukončena o jeden měsíc dříve z důvodu výskytu dvou případů progresivní multifokální leukoencefalopatie (PML). Dle provedené analýzy kombinovaná terapie s natalizumabem vedla k redukcí ARR oproti kombinaci s placebem (0,34 vs. 0,75; $p < 0,001$). Skupina léčená natalizumabem taktéž prokázala relativní redukci progresivní invalidity o 24% ($p = 0,02$) ve srovnání s kombinací IFN- β a placebem (Rudick et al., 2006).

Obr. 1. AFFIRM – redukce ročního výskytu relapsů (Polman et al., 2006)


Nežádoucí účinky

Hlavní a nejzávažnější potenciální komplikací léčby natalizumabem je vznik progresivní multifokální leukoencefalopatie (PML). Tato oportunní infekce je způsobena lidským polyoma virem JC (JCV), který se po expozici stává latentní v kostní dřeni a ledvinách. K jeho reaktivaci dochází po dlouhodobé intenzivní imunosupresi. K zjištění expozice JCV slouží sérologie, konkrétně stanove-

ní IgG protilátek proti tomuto viru, ke stanovení se dnes používá enzymatická imunoanalýza (Stratify JCV, Focus Diagnostics). Analýza pacientů s touto oportunní infekcí vedla k vyhledání tří rizikových faktorů pro vznik PML. Mezi tyto faktory patří: pozitivita JCV protilátek, doba léčby natalizumabem (více jak 24 infuzí) a předchozí imunosuprese (zejména cyklofosfamidem a mitoxantronem) (Bloomgren et al., 2012). Riziko vzniku PML je nejnížší 1/10000 u pacientů s negativní JCV sérologií. Na druhé straně stojí skupiny s JCV pozitivní sérologií, dobou léčby více jako 24 měsíců a anamnézou předchozího užívání imunosuprese, zde incidence činí 11/1000. Zcela zásadní pro pacienty léčené natalizumabem je velmi pečlivý dohled jak klinický, tak magnetickou rezonancí (MR). Včasná diagnostika nejlépe v asymptomatickém období výrazně zlepšuje prognózu pacientů. V případě podezření na PML je nutné okamžitě léčbu přerušit. V případě podezření klinického či na MR mozku je nutné provést vyšetření likvoru pomocí polymerase chain reaction (PCR) k vyloučení či potvrzení diagnózy (EMA recommendation 2016). Po stanovení diagnózy je indikována plazmaferéza (PLEX) k rychlému odstranění natalizumabu. Po ukončení infuzí natalizumabu dochází často ke klinickému zhoršení stavu pacienta, jehož příčinou bývá často immune reconstitution inflammatory syndrome (IRIS), obnova imunitního systému spojená se zánětlivou reakcí a edémem. V tomto případě jsou glukokortikoidy lékem volby (Kleinschmidt-DeMasters et al., 2012).

Mezi méně závažné nežádoucí účinky patří bolesti hlavy, únava, artralgie, infekce močových a respiračních traktů, průjem, vyrážka, vaginitida a bolest břicha. Může se objevit hepatotoxicita, proto je vhodné pacienty pravidelně monitorovat. Při léčbě natalizumabem byla pozorovaná hypersenzitivní reakce až u 4 % pacientů. Anafylaktická reakce byla pozorována u méně než 1 % nemocných. Jeho užívání je kontraindikováno u malignit nebo souběžném podávání imunosupresiv (European Medicines Agency (EMA) – Tysabri, 2018).

Souhrn

Závěrem lze říci, že natalizumab je velmi potentním lékem k potlačení aktivity RS. Jeho nejzávažnějším rizikem je potenciální vznik PML. Vzhledem k tomu je nutné každého pacienta seznámit s rizikem vzniku této komplikace a potencionálními následky této

oportunní infekce. Jako nejvhodnější skupinou pro léčbu natalizumabem jsou pacienti tzv. JCV negativní, tedy bez produkce protilátek proti JCV. U JCV pozitivních pacientů by měla být vždy terapie znovu přehodnocena po 24 měsících léčby, kdy významně narůstá riziko vzniku PML. Je nutné analyzovat všechny rizikové faktory pro vznik PML a následně provést zhodnocení poměru benefitu a rizika pokračování v další terapii.

Alemtuzumab

Alemtuzumab je humanizovaná monoklonální protilátka IgG1 kappa cílená proti povrchovému antigenu CD-52, který se vyskytuje zejména na vy zralých T- a B-lymfocytech, monocitech a dendritických buňkách, ale ne na kmenových buňkách. Deplece buněk je zprostředkována buněčnou cytolyzou závislou na protilátce (ADCC), cytolyzou závislou na komplementu (CDC) a apoptózou (Rommer et al., 2008). Protilátka byla vyvíjena vědci z oddělení patologie na University of Cambridge, odtud také pochází pracovní název pro alemtuzumab: Cam(bridge)path(ology) – Campath. V roce 2001 byl alemtuzumab schválen organizací Food and Drug Administration (FDA) i Evropskou lékovou agenturou (EMA) k léčbě chronické lymfocytární leukémie (B-CLL).

Klinické studie

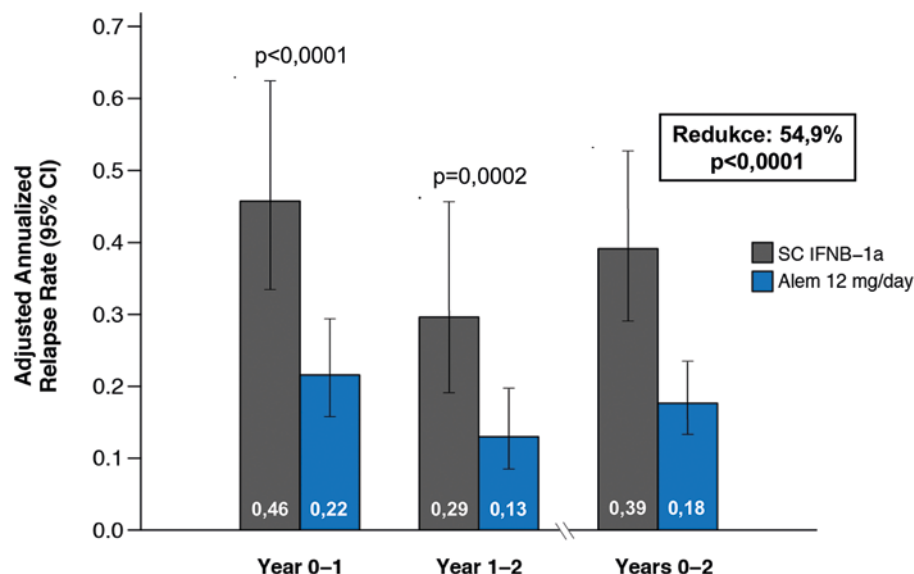
Alemtuzumab byl z počátku studován v několika malých studiích. Jednu z prvních studií provedl Moreau et al., alemtuzumab byl podán sedmi pacientům se sekundárně progresivní

roztroušenou sklerózou (SP RS) či primárně progresivní roztroušenou sklerózou (PP RS). Léčba vedla k signifikantnímu potlačení vzniku nových lézí sledovaných pomocí MR mozku ($p < 0,001$) (Moreau et al., 1994). Coles et al. testovali účinnost alemtuzumabu u 27 pacientů s SP RS. Výsledky studií jsou smíšené. Na jedné straně vedlo užívání alemtuzumabu k potlačení vzniku lézí na MR mozku a taktéž došlo k potlačení výskytu relapsů onemocnění. Na druhé straně byla u pacientů nadále pozorována progresie invalidity a progresie mozkové atrofie (Coles et al., 1999).

Na základě výsledku malých studií byla koncipována tříletá studie fáze II (CAMMS 223), kde byla účinnost alemtuzumabu srovnávána proti interferonu beta-1a (IFNβ-1a). Do studie byli zařazeni pacienti s aktivní RS (dva relapsy v posledním roce), s krátkou dobou trvání onemocnění (méně než tři roky) a s nízkým stupněm invalidity (EDSS méně než 3,5). Velmi zajímavým údajem je zjištění snížení průměrného EDSS o 0,39 bodu ve skupině léčené alemtuzumabem, na rozdíl od skupiny léčené IFNβ-1a, kde došlo k nárůstu EDSS o 0,38 bod ($p < 0,001$). ARR byl taktéž významně snížen ve skupině léčené alemtuzumabem (0,10 vs. 0,38; $p < 0,001$). Výsledky sledované na MR po třech letech byly také příznivější při užívání alemtuzumabu (Coles et al., 2008).

K dalšímu potvrzení efektivity a bezpečnosti alemtuzumabu při léčbě RR RS proběhly dvě studie fáze III (CARE MS I a II). V první studii byl u naivních (bez předchozí léčby) pacientů sledován efekt alemtuzumabu v dávce 12 mg podaných

Obr. 2. CARE-MS I – redukce ročního výskytu relapsů (Coles et al., 2012)



nitrožilně (i.v.) 1× denně po dobu pěti dnů a následně po 12 měsících po dobu tří dnů oproti INFβ-1a 44 μg podaného subkutánně (s.c.) 3× týdně. Alemtuzumab vedl k relativnímu poklesu výskytu relapsů o 55 % ($p < 0,0001$) oproti INFβ-1a. Taktéž podíl pacientů bez relapsu během studie byl výrazně nižší u alemtuzumabu ve srovnání s INFβ-1a (78 vs. 59 %, $p < 0,0001$) během dvou let (Cohen et al., 2012). Druhá studie sledovala efekt alemtuzumabu u pacientů s RR RS, kteří měli alespoň jeden relaps na stávající léčbě glatiramer acetátem nebo INF-β. Pacienti byli zařazeni do dvou skupin, první byla léčena alemtuzumabem 12 mg během pěti dnů s následným podáním 12 mg během tří dnů po 12 měsících, druhá skupina byla léčena INFβ-1a 44 μg 3× týdně. ARR byl znovu nižší u pacientů léčených alemtuzumabem a to o 49,4 % ($p < 0,0001$), taktéž byl vyšší podíl pacientů léčených alemtuzumabem oproti INFβ-1a (65 vs. 47 %, $p < 0,0001$) po dvou letech. Trvalá progresivní invalidita byla vyšší ve skupině léčené INFβ-1a ve srovnání s alemtuzumabem (20 vs. 13 %, $p = 0,008$) (Coles et al., 2012).

Nežádoucí účinky

Mezi nejčastější nežádoucí účinek při užívání alemtuzumabu patří reakce spojené s infuzí (ISR), která je definována jako jakákoliv nežádoucí příhoda vyskytující se během 24 hodin od infuze. Její vznik je vysvětlován uvolněním velkého množství cytokinů po rozpadu buněk. Mezi nejčastější projevy ISR patří bolest hlavy, kopřivka, pruritus, třesavka, zrudnutí a únava. ISR se dle klinických studií vyskytuje u více než 90 % pacientů. Toto vede k doporučení podat před zahájením terapie kortikoidy a antihistaminika právě ke zmírnění ISR. Ve zvýšené míře se u pacientů léčených alemtuzumabem vyskytovaly infekce. V převážené většině se jednalo o infekce lehké nebo středně těžké. Mezi nejčastější patří nasofaryngitis, sinusitis, infekce močových cest, herpes labialis a chřipka. Jinou závažnější skupinou nežádoucích příhod vznikajících při léčbě alemtuzumabem jsou autoimunity. Mezi nejčastější z nich patří autoimunitní poruchy štítné žlázy, jež byly pozorovány až u 36 % pacientů. Pozorované autoimunitní poruchy štítné žlázy zahrnovaly jak hypertyreózu, tak hypotyreózu. Druhou nejčastější poruchou vznikající při léčbě touto monoklonální protilátkou je imunitní trombocytopenická purpura (ITP), která vzniká přibližně u 1 % pacientů. Mezi nejzávažnější au-

toimunity patří nefropatie včetně onemocnění s tvorbou protilátek proti bazální membráně glomerulů (anti-GBM) s výskytem 0,3 %. Tato komplikace může vést k selhání ledvin s nutností dialýzy či transplantace ledvin (Cohen, 2012; Coles, 2012). Na základě tohoto bezpečnostního profilu byl doporučen pečlivý monitoring pacientů léčených alemtuzumabem, který má vést ke včasné diagnostice nežádoucích účinků léčby, což vede k lepší prognóze pacienta. Monitoring pacienta by měl trvat 48 měsíců od poslední infuze (European Medicines Agency (EMA) – Lemtrada, 2018).

Souhrn

Alemtuzumab se zdá být dobrým kandidátem pro tzv. indukční terapii, což znamená, že léčba RS je zahájena vysoce účinným lékem, po zvládnutí aktivity je pokračováno jiným lékem s výhodnějším bezpečnostním profilem. V minulosti byl k tomuto schématu využíván mitoxantron s krátkodobými i dlouhodobými výsledky (Edan et Le Page, 2013). Z registračních studií není znám případ vzniku PML při léčbě alemtuzumabem u pacientů s RS. Je znám vznik PML při léčbě alemtuzumabem u chronické lymfatické leukemie (CLL) a non-hodginském lymfomu (NHL).

Daclizumab

Daclizumab je humanizovaná monoklonální protilátka IgG1 vážící se na alfa podjednotku receptoru pro interleukin 2 (IL-2), který se vyskytuje na aktivovaných lymfocytech. V důsledku toho je zamezeno vazbě IL-2 na vlastní receptor a tímto nedochází k další proliferaci lymfocytů. Kompletní mechanismus účinku není aktuálně plně zmapován. Dalším pozorovaným efektem daclizumabu je zvýšení proliferace CD56bright NK buněk (natural killer). Expanze CD56bright NK buněk vede ke snížení odezvy T-lymfocytů. Množství CD56bright NK buněk v periferní krvi koreluje s odezvou na léčbu daclizumabem. Tento efekt lze také pozorovat v likvoru. Role NK buněk v patofyziologii RS není zatím zcela probadán, ale zdá se, že plní důležitou roli v imuno-regulačních pochodech. V animálních modelech u experimentální autoimunitní encefalomyelitis vede deplece NK buněk k exacerbaci onemocnění. Hodnota CD56bright NK buněk může být použita v určitých případech jako biomarker odpovědi na léčbu (Wynn et al., 2010).

Klinické studie

Účinnost a bezpečnost daclizumabu byla studována v několika studiích. Bielekova et al. testovali daclizumab u pacientů s dostatečnou odpovědí na léčbu INF-β. Do studie fáze II bylo zařazeno 11 pacientů, kterým byl podán daclizumab i.v. v dávce 1 mg/kg, po prvním podání následovalo podání za 14 dní, poté byly další infuze podávány v intervalu čtyř týdnů (celkem sedm infuzí). V primárním sledovaném cíli redukcí vzniku nových gadolinium sytících se lézí došlo k pozitivnímu výsledku, a to k relativní redukcí o 78 % ($p = 0,004$) oproti nálezům v době zařazení do studie (Bielekova et al., 2004).

Dvojitě slepou, randomizovanou, placebem kontrolovanou studii fáze II s názvem CHOICE publikoval Wynn et al. Pacientů s RS nestabilních na stávající léčbě INF-β byl podán daclizumab jako add-on terapie. Daclizumab byl podáván ve dvou dávkách nízké (1 mg/kg každé čtyři týdny) a vysoké (2 mg/kg každé dva týdny) nebo bylo podáváno placebo. Celkový počet 230 pacientů byl randomizován do těchto tří skupin. Hlavním sledovaným cílem bylo potlačení vzniku nových gadolinium sytících se lézí na MR mozku. Nejpriznivější výsledky v tomto parametru přinesla skupina s vysokodávkovaným daclizumabem (1,32 upravený průměr lézí) na rozdíl od placeba (4,75 upravený průměr lézí; $p = 0,004$) (Wynn et al., 2010).

Účinnost daclizumabu u RR RS při subkutánním podání byla sledována ve studii SELECT. Daclizumab byl podáván každé čtyři týdny po dobu 52 týdnů. Probíhalo testování dvou dávek proti placebu 150 mg a 300 mg. Daclizumab prokázal potlačení ARR v obou aktivních větvích. Největší podíl pacientů bez relapsu byl ve skupině s nižší dávkou daclizumabu 81 %, ve skupině s vyšší dávkou již 80 % a s placebem 64 % (Gold et al., 2013).

Registrační studie DECIDE porovnávala účinnost daclizumabu proti INF-β1a u pacientů s RR RS. Daclizumab byl podáván v dávce 150 mg s.c. po čtyřech týdnech, INF-β1a.

Byl podáván v dávce 30 μg jednou týdně, celkem bylo zařazeno 1 841 pacientů. Sledování trvalo 144 týdnů. Hlavním sledovaným cílem byl ARR. Daclizumab prokázal redukcí výskytu relapsů oproti INF-β1a (0,22 vs. 0,39; 45 % pokles u daclizumabu; $p < 0,001$). Vznik nových nebo zvětšujících se T2 vážených lézí byl taktéž nižší při léčbě daclizumabem oproti INF-β1a (4,3 vs. 9,4; 54 % pokles při užívání daclizumabu; $p < 0,001$). Výskyt závažných nežádoucích

příhod po vyjmutí relapsů byl vyšší ve skupině s daclizumabem 15 % pacientů na rozdíl 10 % pacientů léčených INF- β 1a (Kappos et al., 2015).

Nežádoucí účinky

Mezi velmi časté nežádoucí příhody patří rush, lymfadenopatie a teploty. Mezi další časté příznaky patří bolesti hlavy, parestzie, únava, průjmy, elevace jaterních testů, ale také deprese, infekce (horních dýchacích cest, nasofaryngitis). Na základě výskytu fatálních případů autoimunitní hepatitidy a jaterního selhání došlo rozhodnutím EMA 12. 7. 2017 k omezení používání daclizumabu u pacientů RR RS (European Medicines Agency (EMA) – Zinbryta, 2018).

Souhrn

Daclizumab prokazuje vyšší účinnost při léčbě RR RS než INF- β 1a. Provedené studie ukazují efektivitu jak při i.v., tak při s.c. podávání. Na základě výskytu fatálního selhání jater při léčbě daclizumabem bylo vydáno rozhodnutí o omezení používání. Daclizumab může být aktuálně použit při léčbě roztroušené sklerózy pouze u pacientů, kteří neměli adekvátní odpověď alespoň na dvě DMT a nemohou být léčeni jinými DMT (European Medicines Agency (EMA) – Zinbryta, 2018).

Rituximab

Rituximab je chimérická monoklonální protilátka namířená proti povrchovému antigenu CD20, který je exprimován na buňkách B-lymfocytární řady. Vlastní deplece buněk je zprostředkována apoptózou, ADCC a CDC (Reff, 1994). Původně byl vyvinut k léčbě B buněčných lymfomů. Aktuálně je schválen EMA k léčbě NHL, CLL a revmatoidní artritidy. Ačkoliv není schválen k léčbě RS, je na základě provedených studií často využit k léčbě RS off-label.

Klinické studie

Hauser et al. provedli studii fáze II s rituximabem u pacientů s RR RS. Bylo testováno 104 pacientů, kteří dostali rituximabu v dávce 1 000 mg i.v. 1. den a následně 15. den nebo placebo ve stejném schématu. Sledování trvalo 48 týdnů. Jako primární cíl byla stanovena schopnost rituximabu potlačit vznik nových gadolinium sytících se lézí ve 12., 16., 20., 24. a 48. týdnu. Dalšími sledovanými parametry byly ARR, podíl pacientů s relapsem a bezpečnost při léčbě rituximabem.

Léčba rituximabem vedla k potlačení vzniku gadolinium sytících se lézí, u 80,3 % nebyl zjištěn tento typ léze, na rozdíl od placeba 51,4 %. ARR byl nižší při léčbě rituximabem ve 24. týdnu (0,37 vs. 0,84, $p=0,04$), 48. týdnu (0,37 vs. 0,72, $p=0,08$) (Hauser et al., 2008). Další studie sledující efekt rituximab u pacientů, u kterých nedošlo k adekvátní odpovědi na léky se skupiny léků modifikujících průběh onemocnění (DMT). Rituximab byl podáván v dávce 375 mg/m² 1x týdně po dobu jednoho měsíce, tedy celkem 4x. Byl podán pacientům jako add-on terapie, tedy jako další lék ke stávající terapii. Byla prokázána signifikantní redukce gadolinium sytících se lézí oproti období před léčbou rituximabem (Naismith et al., 2010). Rituximab byl dále testován k potlačení aktivity PP RS ve studii OLYMPUS. Do dvouleté studie bylo zařazeno celkem 439 pacientů. Pacientům byl podán rituximab v dávce 1 000 mg i.v. 2x odděleně po 14 dnech a následně každý 24. týden. Primárním cílem studie byla doba do dosažení potvrzené progresy invalidity. V tomto parametru nedošlo ke statisticky signifikantnímu rozdílu ve srovnání s placebem. Ve skupině léčené rituximabem bylo však prokázáno menší množství nových T2 vážených lézí na MR mozku ($p<0,001$). Úbytek mozkové tkáně byl v obou skupinách stejný (Hawker et al., 2009). Na základě systematické analýzy publikované Castillo-Trivino et al. byla potvrzena účinnost rituximabu v léčbě RR formy RS, a to jak při sledování klinických, tak paraklinických parametrů. Léčba rituximabem se zdá být bezpečná i přes výskyt nežádoucích příhod souvisejících s podáním infuze. Efektivita k potlačení progresy PP formy RS byla shledána jako nízká (Castillo-Trivino et al., 2013). Rituximab prokázal nespornou efektivitu ke snížení frekvence relapsů u neuromyelitis optica. Společně s azathioprinem patří mezi nejpotentnější léky v léčbě tohoto onemocnění (Stellmann et al., 2017).

Nežádoucí účinky

Hlavní a také nejčastější nežádoucí příhodou je reakce spojené s infuzí. Patří mezi ně horečka, zimnice, chřipkový syndrom a bolest hlavy. Ve většině případů je pozorován již při první infuzi. Jejich intenzita je popisována jako lehká nebo středně těžká, při dalších infuzích dochází ke snižování intenzity obtíží. Podáním glukokortikoidů, antihistaminik a zpomalením infuze lze redukovat tyto projevy. Retrospektivní analýzy výskytu infekcí u různých autoimunitních onemocnění léčených rituximabem ukazují výskyt až u 13 % pacientů. Největší četnost infekcí byla sledována při léčbě myastenii gravis. Alergické reakce jsou popisovány u každého desátého pacienta. U pacientů s revmatoidní artritidou léčených rituximabem byla popsána PML (Tony et al., 2011).

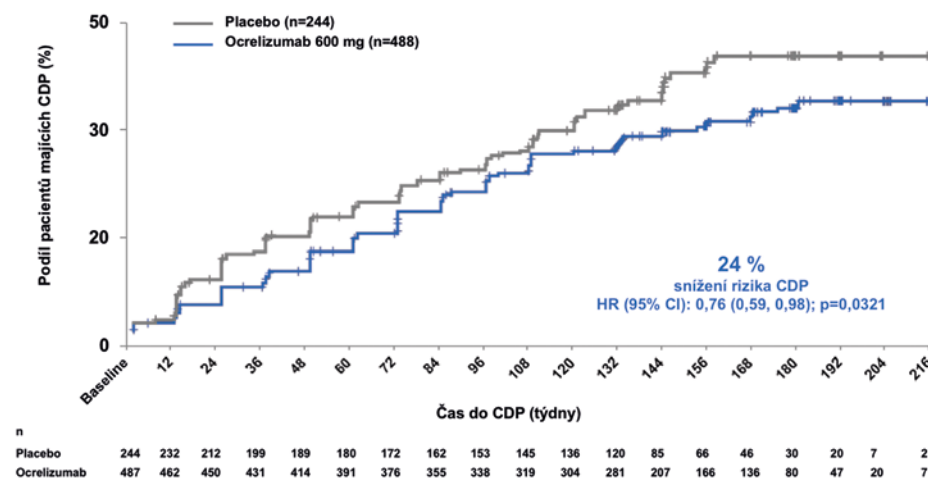
Souhrn

Výsledky studií potvrzují účinnost rituximabu v léčbě RR RS. Výsledky studie OLYMPUS naznačují, že dokonce i podskupina pacientů s PP RS může mít určitý profit z léčby rituximabem. Nespornou roli hraje rituximab v léčbě neuromyelitis optica. Aktuálně je tato chimérická protilátka nahrazována novějšími humanizovanými protilátkami namířenými proti stejnému epitopu.

Ocrelizumab

Ocrelizumab je namířen proti stejnému povrchovému antigenu CD20 jako rituximab, ale na rozdíl od něj se jedná o humanizovanou mono-

Obr. 3. ORATORIO – redukce 12týdenní potvrzené progresy disability (Montalban et al., 2017)



klonální protilátku IgG. Antigen CD20 se vyskytuje na pre-B-lymfocytech, zralých B-lymfocytech a paměťových B-lymfocytech, není přítomen na časných prekurzorech B-lymfocytů a na plazmocycitech. Navázání protilátky vede k ADCC a CDC, výsledkem této interakce je deplece buněk B-lymfocytární řady. Upravení molekuly ocrelizumabu vede k menšímu počtu alergických reakcí a menší produkci anti-idiotypových protilátek (Kausar et al., 2009). Dříve opomíjená role B-lymfocytů v patofyziologii RS se stává dnes centrem pozornosti. Poslední práce ukazují, že B-lymfocyty hrají klíčovou roli nejen v produkci protilátek, ale také v produkci prozánětlivých cytokinů nebo jako buňky prezentující antigen (ACP). Je evidentní, že hrají klíčovou úlohu v imunopatogenezi RS, což vysvětluje účinnost léčby vedoucí k depleci B-lymfocytů (Antel et al., 2006).

Klinické studie

Ocrelizumab byl testován u pacientů s RR RS v randomizované, placebem kontrolované, multicentrické studii fáze II. Pacienti byli rozděleni do čtyř skupiny: placebo, ocrelizumab v nízké dávce 600 mg 1. a 15. den, ocrelizumab ve vysoké dávce 2000 mg 1. a 15. den a INFβ-1a 1x týdně. Primárním sledovaným cílem studie byl počet gadolinium sytících se lézí. Ve 24. týdně byl počet lézí signifikantně menší v obou skupinách s ocrelizumabem oproti placebu. Ve skupině s nízkodávkovaným ocrelizumabem došlo k poklesu o 89 % ($p < 0,001$), ve skupině s vysokodávkovaným ocrelizumabem došlo dokonce ke snížení o 96 % ($p < 0,001$) ve srovnání s placebem. Obě skupiny vykázaly lepší výsledky než skupina s INFβ-1a. Při sledování sekundárních cílů došlo taktéž k příznivým výsledkům, výskyt relapsů byl snížen v obou skupinách s ocrelizumabem, u vysokodávkovaného o 73 % a u nízkodávkovaného o 80 % oproti placebu (Kappos et al., 2011).

Na základě pozitivních výsledků prvotních studií byla účinnost a bezpečnost ocrelizumabu studována ve studiích fáze III (OPERA I a II) u pacientů s RR RS. Obě studie měly stejný design. Ocrelizumab byl srovnáván s účinným komparátorem INFβ-1a 44μg 3x týdně s.c. Ocrelizumab

byl podáván v dávce 300 mg i.v. 1. a 15. den, následně byl podáván každý 24. týden v dávce 300 mg. Celková doba trvání studií byla 96 týdnů. Primárním cílem byla redukce četnosti relapsu onemocnění. Ocrelizumab prokázal superioritu nad komparátorem, ve studii OPERA I došlo ke snížení počtu relapsů o 46 % ($p < 0,0001$), ve studii OPERA II o 47 % ($p < 0,0001$) ve srovnání s INFβ-1a. Analýza progresivity invalidity byla provedena souhrnně z obou studií, po 12 týdnech byla zjištěna 40 % ($p = 0,0006$) redukce, po 24 týdnech byla zjištěna taktéž 40 % ($p = 0,0025$) redukce oproti INFβ-1a. Analýza studií prokázala také velmi příznivé výsledky v poměru pacientů bez prokázané aktivity onemocnění. Ve studii OPERA I byl parametr No Evidence of Disease Activity (NEDA) splněn u 47,9 % ($p < 0,001$) pacientů, ve studii OPERA II byl splněn u 47,5 % ($p < 0,001$) pacientů (Hauser et al., 2017).

Zcela zásadní informací je, že ocrelizumab prokázal také účinnost v léčbě PP RS. V randomizované studii fáze III ORATORIO. Účinnost byla srovnávána oproti placebu. Ocrelizumab byl podáván v dávce 600 mg i.v. každý 24. týden. Primárním cílem bylo sledování potvrzené progresivity invalidity po 12 týdnech, která byla hodnocena pomocí EDSS skóre. Při léčbě ocrelizumabem byla progresivita invalidity redukována o 24 % ($p = 0,03$) oproti placebu. Jako sekundární cíl bylo sledování progresivity invalidity po 24 týdnech, zde byla taktéž zjištěna redukce oproti placebu a to o 25 % ($p = 0,04$). Dalším parametrem bylo sledování úbytku mozkové tkáně. V tomto parametru došlo ke snížení úbytku mozkové tkáně o 17,5 % ($p = 0,02$) oproti placebu (Montalban et al., 2017).

Nežádoucí účinky

Při léčbě ocrelizumabem byla pozorována jako nejčastější nežádoucí příhoda reakce spojená s infuzí (ISR). Tato reakce nejspíše souvisí s uvolněním cytokinů po buněčné lýze způsobené ocrelizumabem. Mezi příznaky této reakce patří pruritus, kopřivka, erytém, teploty, bolest hlavy, dyspnoe, faryngální a laryngální edém. Nejčastěji se vyskytuje při podání první infuze. Ve studiích OPERA I a OPERA II měl během hodnocených 96 týdnů ocrelizumab celkově podobný bezpečnostní profil

jako IFN-β1a. Počet pacientů s nežádoucími účinky, jakož i závažnými nežádoucími účinky souvisejícími s léčbou ocrelizumabem, včetně těžkých infekcí, byl podobný placebu. Během léčby v registračních studiích s ocrelizumabem byla zjištěna zvýšená četnost malignit (včetně karcinomu prsu). Incidence se ale neodchylovala od četnosti očekávané v RS populaci (European Medicines Agency (EMA) – Ocrevus, 2018).

Souhrn

Ocrelizumab je lék, který v registračních studiích prokázal superiorní účinnost nad IFN-β1a v léčbě RR RS. Ocrelizumab taktéž prokázal schopnost potlačit progresi invalidity u pacientů s PP RS. Ve všech provedených studiích prokázal příznivý bezpečnostní profil. Mezi nejčastější nežádoucí příhody patří reakce spojené s podáním infuze. Ocrelizumab byl schválen Evropskou lékovou agenturou (EMA) k léčbě jak RR RS, tak PP RS 11. 1. 2018.

Závěr

Léčba RS prodělává s posledních dvou desetiletích fenomenální pokrok. Vývoj technologických postupů vedoucích ke tvorbě monoklonálních protilátek umožnil jejich užívání nejen v onkologii, transplantační medicíně, ale také v léčbě autoimunitních onemocnění. Monoklonální protilátky přinášejí do léčby RS nový obzor. Jejich hlavním potenciálem je možnost selektivního ovlivnění imunopatologických pochodů, které jsou podstatou autoimunitních onemocnění. Původní zvířecí a chimérické protilátky jsou postupně nahrazovány humanizovanými a humánními, které přinášejí významnou redukci nežádoucíh příhod, a tedy celkově lepší bezpečnostní profil. Aktuálně jsou schváleny k léčbě RR RS čtyři monoklonální protilátky, z nichž poslední recentně schválená je ocrelizumab. Ocrelizumab přináší také naději na účinnou terapii pro pacienty s PP RS. Aktuálně probíhá testování několika dalších monoklonálních protilátek k léčbě RS např.: ofatumumab, ocilizumab, eculizumab.

Podpořeno projektem SVV 260390 Univerzity Karlovy, Lékařské fakulty v Plzni.

LITERATURA

1. American Medical Association – Monoclonal Antibodies Nomenclature 2008 <https://www.ama-assn.org/about/monoclonal-antibodies>
2. Antel J, Bar-Or A. Roles of immunoglobulins and B cells in multiple sclerosis: from pathogenesis to treatment. J Neu-

roimmunol. 2006; 180(1–2): 3–8.

3. Bielekova B, Richert N, Howard T, Blevins G, Markovic-Plese S, McCartin J, Frank JA, Würfel J, Ohayon J, Waldmann TA, McFarland HF, Martin R. Humanized anti-CD25 (daclizumab) inhibits disease activity in multiple sclerosis patients failing

to respond to interferon beta. Proc Natl Acad Sci USA 2004; 101: 8705–8708.

4. Bloomgren G, Richman S, Hotermans Ch, Subramanyam M, Goelz S, Natarajan A, Lee S, Plavina T, Scanlon JV, Sandrock A, Bozic C. Risk of natalizumab associated progressi-

- ve multifocal leukoencephalopathy. *N Engl J Med*. 2012; 366: 1870–1880.
5. 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; 380: 1819–1828.
 6. Coles AJ, Compston DA, Selmaj KW, Lake SL, Moran S, Margolin DH, Norris K, Tandon PK. CAMMS223 Trial Investigators. Alemtuzumab vs. interferon beta-1a in early multiple sclerosis. *N Engl J Med* 2008; 359: 1786–1801.
 7. 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.
 8. Coles AJ, Wing MG, Molyneux P, Paolillo A, Davie CM, Hale G, Miller D, Waldmann H, Compston A. Monoclonal antibody treatment exposes three mechanisms underlying the clinical course of multiple sclerosis. *Ann Neurol* 1999; 46: 296–304.
 9. Edan G, Le Page E. Induction therapy for patients with multiple sclerosis: why? when? how? *CNS Drugs* 2013; 27: 403–409.
 10. EMA confirms recommendations to minimise risk of brain infection PML with Tysabri. – http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Press_release/2016/02/WC500202389.pdf
 11. European Medicines Agency (EMA). Lemtrada. Dostupné na: http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/EPAR_-_Product_Information/human/000603/WC500044686.pdf (Navštíveno 14. 1. 2018).
 12. European Medicines Agency (EMA). Lemtrada. Nodostupné na: http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/EPAR_-_Product_Information/human/003718/WC500150521.pdf (Navštíveno 14. 1. 2018).
 13. European Medicines Agency (EMA). Ocrevus. Dostupné na: http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/EPAR_-_Product_Information/human/004043/WC500241124.pdf (Navštíveno 14. 1. 2018).
 14. European Medicines Agency (EMA). Zinbryta. Dostupné na: http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/EPAR_-_Product_Information/human/003862/WC500210598.pdf (Navštíveno 14. 1. 2018).
 15. Gold R, Giovannoni G, Selmaj K, Havrdova E, Montalban X, Radue EW, Stefoski D, Robinson R, Riester K, Rana J, Elkins J, O'Neill G; SELECT study investigators. Daclizumab high-yield process in relapsing-remitting multiple sclerosis (SELECT): a randomised, double-blind, placebocontrolled trial. *Lancet* 2013; 381: 2167–2175.
 16. Hauser SL, Bar-Or A, Comi G, Giovannoni G, Hartung HP, Hemmer B, Lublin F, Montalban X, Rammohan KW, Selmaj K, Traboulsee A, Wolinsky JS, Arnold DL, Klingelschmitt G, Masterman D, Fontoura P, Belachew S, Chin P, Mairon N, Garren H, Kappos L; OPERA I and OPERA II Clinical Investigators. Ocrelizumab versus Interferon Beta-1a in Relapsing Multiple Sclerosis. *N Engl J Med*. 2017; 376(3): 221–234.
 17. Hauser SL, Waubant E, Arnold DL, Vollmer T, Antel J, Fox RJ, Bar-Or A, Panzara M, Sarkar N, Agarwal S, Langer-Gould A, Smith CH; HERMES Trial Group. B-cell depletion with rituximab in relapsing-remitting multiple sclerosis. *N Engl J Med* 2008; 358: 676–688.
 18. Hawker K, O'Connor P, Freedman MS, Calabresi PA, Antel J, Simon J, Hauser S, Waubant E, Vollmer T, Panitch H, Zhang J, Chin P, Smith CH; OLYMPUS trial group. Rituximab in patients with primary progressive multiple sclerosis: results of a randomized double-blind placebo-controlled multicenter trial. *Ann Neurol* 2009; 66: 460–471.
 19. Kappos L, Li D, Calabresi PA, O'Connor P, Bar-Or A, Barkhoff F, Yin M, Leppert D, Glanzman R, Tinbergen J, Hauser SL. Ocrelizumab in relapsing-remitting multiple sclerosis: a phase 2, randomised, placebo-controlled, multicentre trial. *Lancet* 2011; 378: 1779–1787.
 20. Kappos L, Wiendl H, Selmaj K, Arnold DL, Havrdova E, Boyko A, Kaufman M, Rose J, Greenberg S, Sweetser M, Riester K, O'Neill G, Elkins J. Daclizumab HYP versus Interferon Beta-1a in Relapsing Multiple Sclerosis. *N Engl J Med*. 2015 Oct 8; 373(15): 1418–1428.
 21. Kausar F, Mustafa K, Sweis G, Sawaqed R, Alawneh K, Salloum R, Badaracco M, Niewold TB, Swiss NJ. Ocrelizumab: a step forward in the evolution of B-cell therapy. *Expert Opin Biol Ther* 2009; 9: 889–895.
 22. Kleinschmidt-DeMasters BK, Miravalle A, Schowinsky J, Corboy J, Vollmer T. Update on PML and PML-IRIS occurring in multiple sclerosis patients treated with natalizumab. *J Neuropathol Exp Neurol* 2012; 71: 604–167.
 23. Kohler G, Milstein C. Continuous cultures of fused cells secreting antibody of predefined specificity. *Nature* 1975; 256: 495–497.
 24. Krejsek J, Kopecký O. Klinická imunologie. *Nucleus HK* 2004: 802–804.
 25. Montalban X, Hauser SL, Kappos L, Arnold DL, Bar-Or A, Comi G, de Seze J, Giovannoni G, Hartung HP, Hemmer B, Lublin F, Rammohan KW, Selmaj K, Traboulsee A, Sauter A, Masterman D, Fontoura P, Belachew S, Garren H, Mairon N, Chin P, Wolinsky JS; ORATORIO Clinical Investigators. Ocrelizumab versus Placebo in Primary Progressive Multiple Sclerosis. *N Engl J Med*. 2017; 376(3): 209–220.
 26. Moreau T, Thorpe J, Miller D, Moseley I, Hale G, Waldmann H, Clayton D, Wing M, Scolding N, Compston A. Preliminary evidence from magnetic resonance imaging for reduction in disease activity after lymphocyte depletion in multiple sclerosis. *Lancet* 1994; 344: 298301.
 27. Naismith RT, Piccio L, Lyons JA, Lauber J, Tutlam NT, Parks BJ, Trinkaus K, Song SK, Cross AH. Rituximab add-on therapy for breakthrough relapsing multiple sclerosis: a 52-week phase II trial. *Neurology* 2010; 74: 1860–1867.
 28. 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. A randomized, placebo-controlled trial of natalizumab for relapsing multiple sclerosis. *N Engl J Med* 2006; 354: 899–910.
 29. Reff ME, Carner K, Chambers KS, Chinn PC, Leonard JE, Raab R, Newman RA, Hanna N, Anderson DR. Depletion of B cells in vivo by a chimeric mouse human monoclonal antibody to CD20. *Blood* 1994; 83: 435–445.
 30. Rommer PS, Stüve O, Goertsches R, Mix E, Zettl UK. Monoclonal antibodies in the therapy of multiple sclerosis: an overview. *J Neurol* 2008; 255(Suppl. 6): 28–35.
 31. 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. Natalizumab plus interferon beta-1a for relapsing multiple sclerosis. *N Engl J Med* 2006; 354: 911–923.
 32. Russell SJ, Llewellyn MB, Hawkins RE. Principles of antibody therapy. *BMJ* 1992; 305: 1424–1429.
 33. Stellmann JP, Krumbholz M, Friede T, Gahlen A, Borisow N, Fischer K, Hellwig K, Pache F, Ruprecht K, Havla J, Kämpfel T, Aktas O, Hartung HP, Ringelstein M, Geis C, Kleinschnitz C, Berthele A, Hemmer B, Angstwurm K, Young KL, Schuster S, Stangel M, Lauda F, Tümani H, Mayer C, Zeltner L, Ziemann U, Linker RA, Schwab M, Marziniak M, Then Bergh F, Hofstad-van Oy U, Neuhaus O, Zettl U, Faiss J, Wildemann B, Paul F, Jarius S, Trebst C, Kleiter I; NEMOS (Neuromyelitis Optica Study Group). Immunotherapies in neuromyelitis optica spectrum disorder: efficacy and predictors of response. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2017; 88(8): 639–647.
 34. Tony HP, Burmester G, Schulze-Koops H, Grunke M, Henes J, Kötter I, Haas J, Unger L, Lovric S, Haubitz M, Fischer-Betz R, Chehab G, Rubbert-Roth A, Specker C, Weinerth J, Holle J, Müller-Ladner U, König R, Fiehn C, Burgwinkel P, Budde K, Sörensen H, Meurer M, Aringer M, Kieseier B, Erfurt-Berge C, Sticherling M, Veelken R, Ziemann U, Strutz F, von Wussow P, Meier FM, Hunzelmann N, Schmidt E, Bergner R, Schwarting A, Eming R, Hertl M, Stadler R, Schwarz-Eywill M, Wassenberg S, Fleck M, Metzler C, Zettl U, Westphal J, Heitmann S, Herzog AL, Wiendl H, Jakob W, Schmidt E, Freivogel K, Dörner T; GRAID investigators. Safety and clinical outcomes of rituximab therapy in patients with different autoimmune diseases: experience from a national registry (GRAID). *Arthritis Res Ther* 2011; 13: R75.
 35. Wynn D, Kaufman M, Montalban X, Vollmer T, Simon J, Elkins J, O'Neill G, Neyer L, Sheridan J, Wang C, Fong A, Rose JW; CHOICE investigators. Daclizumab in active relapsing multiple sclerosis (CHOICE study): a phase 2, randomised, double-blind, placebocontrolled, add-on trial with interferon beta. *Lancet Neurol* 2010; 9: 381–390.