

Τα θεραπευτικά μονοκλωνικά αντισώματα και η χρήση τους στην πολλαπλή σκλήρυνση

Μαρία Στάμου¹, Παύλος Νταλός², Ιωάννης Ηλιόπουλος²

¹Μεταπτυχιακό Πρόγραμμα Κλινικής Φαρμακολογίας και Θεραπευτικής, Δημοκρίτειο Πανεπιστήμιο Θράκης

²Νευρολογική Κλινική, Δημοκρίτειο Πανεπιστήμιο Θράκης

Περίληψη

Η αληταώδης ανάπτυξη της βιοτεχνολογίας έχει οδηγήσει στην παραγωγή μονοκλωνικών αντισωμάτων που αποτελούν τις νεώτερες θεραπείες νοσημάτων, η παθογένεια των οποίων στηρίζεται σε αυτοάνοσο μηχανισμό. Η εφαρμογή των μονοκλωνικών αντισωμάτων στην αντιμετώπιση της πολλαπλής σκλήρυνσης αποτελεί κομβικό σημείο στην θεραπεία της. Ένα μονοκλωνικό αντίσωμα είναι διαθέσιμο για τη θεραπεία και άλλα αντισώματα δοκιμάζονται σήμερα σε ασθενείς με πολλαπλή σκλήρυνση. Ωστόσο, η χορήγηση αυτών των μορφών θεραπείας ενέχει τον κίνδυνο ανοσοολογικών αντιδράσεων όπως οξεία αναφυλαξία, λοιμώξεων, και αυτοάνοσων παθήσεων. Επιπλέον, εξαιτίας ελλιπών γνώσεων μας για το ανοσοποιητικό σύστημα προέκυψαν απροσδόκητες συνέπειες όπως για παράδειγμα, το natalizumab ένα μονοκλωνικό αντίσωμα έναντι α4-ιντεγκρίνης των λευκοκυττάρων, αυξάνει τον κίνδυνο ανάπτυξης προοδευτικής πολυεστιακής λευκοεγκεφαλοπάθειας, χωρίς να προκαλεί αξιοσημείωτη ανοσοκαταστολή. Σε αυτή την εργασία γίνεται μια ανασκόπηση των βασικών ανοσοολογικών και φαρμακολογικών ιδιοτήτων των μονοκλωνικών αντισωμάτων και της τρέχουσα κλινικής εφαρμογής και ανάπτυξης αυτών στην πολλαπλή σκλήρυνση, με έμφαση στην αποτελεσματικότητα και την ασφάλεια.

Λέξεις κλειδιά. μονοκλωνικά αντισώματα, πολλαπλή σκλήρυνση, daclizumab, natalizumab, alemtuzumab, ocrelizumab, ofatumumab, rituximab.

Therapeutic monoclonal antibodies and multiple sclerosis

Maria Stamou¹, Paulos Ntalos², Ioannis Heliopoulos²

¹Clinical Pharmacology and Therapeutic Graduate Program, Democritus University of Thrace

²Department of Neurology, Democritus University of Thrace

Abstract

Monoclonal antibodies (mAbs) are now established as targeted therapies for malignancies, transplant rejection, autoimmune and infectious diseases. One mab are available for treatment and other antibodies currently being tested in multiple sclerosis (MS) patients. With the introduction of mabs the treatment of MS has entered a new era, both with respect to efficacy and target specificity. However, administration of mAbs carries the risk of immune reactions such as acute anaphylaxis, serum sickness a, infection and other autoimmune diseases. In addition, unexpected consequences arise from our incomplete knowledge of the immune system. For example, natalizumab, a monoclonal antibody targeting α4-integrin on leukocytes increases the risk of developing progressive multifocal leukoencephalopathy, without causing notable immunosuppression. Here we review the immunologic and pharmacologic concepts of mabs and the current status of the clinical development of mAbs in MS, with an emphasis on their efficacy and safety.

Key words. Monoclonal antibodies, πολλαπλή σκλήρυνση, daclizumab, natalizumab, alemtuzumab, ocrelizumab, ofatumumab, rituximab.

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Τα μονοκλωνικά αντισώματα αποτελούν ισχυρά εργαλεία της βασικής έρευνας και συχνά χρησιμοποιούνται σε διάφορες διαγνωστικές εργαστηριακές δοκιμασίες. Η χρήση ως θεραπευτικά μέσα ξεκίνησε από τον καρκίνο και τις διάφορες αυτοάνοσες παθήσεις.¹

Αρχικά, η θεραπευτική χρήση των μονοκλωνικών αντισωμάτων αντιμετωπίστηκε με σκεπτικισμό εξαιτίας των υψηλών ποσοστών ευαισθητοποίησης έναντι των πρωτεϊνών ποντικού, των φαρμακοκινητικών χαρακτηριστικών τους και των δυσκολιών στην παραγωγή τους. Ωστόσο, τα περισσότερα από τα προβλήματα αυτά έχουν ξεπεραστεί και τα μονοκλωνικά αντισώματα αποτελούν μία πολλή υποσχόμενη θεραπεία, καθώς στοχεύουν με εξαιρετική ειδικότητα σε μόρια και κύτταρα άμεσα εμπλεκόμενα στην παθολογία της νόσου.²

Τεχνολογία. Η βασική τεχνολογία των μονοκλωνικών αντισωμάτων επιτεύχθηκε από τους Kohler και Milstein (βραβείο Νόμπελ 1984) και βασίζεται στη συγχώνευση ενός Β-λεμφοκυττάρου ποντικού, το οποίο παράγει ένα συγκεκριμένο αντίσωμα, με ένα καρκινικό κύτταρο με αποτέλεσμα τη δημιουργία ενός «αθάνατου» κυττάρου που εκκρίνει αντίσωμα γνωστής ειδικότητας.³ Αρχικά, η χρήση **μονοκλωνικών αντισωμάτων** ποντικού αντιμετώπισε το πρόβλημα της εμφάνισης υψηλού ποσοστού αλλεργικών αντιδράσεων, εξαιτίας της ισχυρής αντίδρασης έναντι των πρωτεϊνών ποντικού. Αυτό οδήγησε στο σχεδιασμό αντισωμάτων με μεγαλύτερο ποσοστό ανθρώπινης πρωτεΐνης. Τα **χιμαιρικά αντισώματα** αποτελούνται από τη μεταβλητή περιοχή ενός μονοκλωνικού αντισώματος ποντικού συνδεδεμένη με μία ανθρώπινη προέλευσης σταθερή περιοχή. Στοχεύοντας ακόμη περισσότερο στη μείωση της αντιγονικότητας, σχεδιάστηκαν τα **ανθρωποποιημένα (humanized) μονοκλωνικά αντισώματα**: όπου τροποποιώντας γενετικά μόνο εκείνες τις θέσεις (residues) της μεταβλητής περιοχής στην πλευρά σύνδεσης με το **αντιγόνο** (ή δραστηρικής πλευράς) του αντισώματος (Complementarity Determining Regions-CDR), ενώ ταυτόχρονα η υπόλοιπη δομή του αντισώματος είναι παρόμοια με αυτήν του ανθρώπου (εικόνα 1).⁴

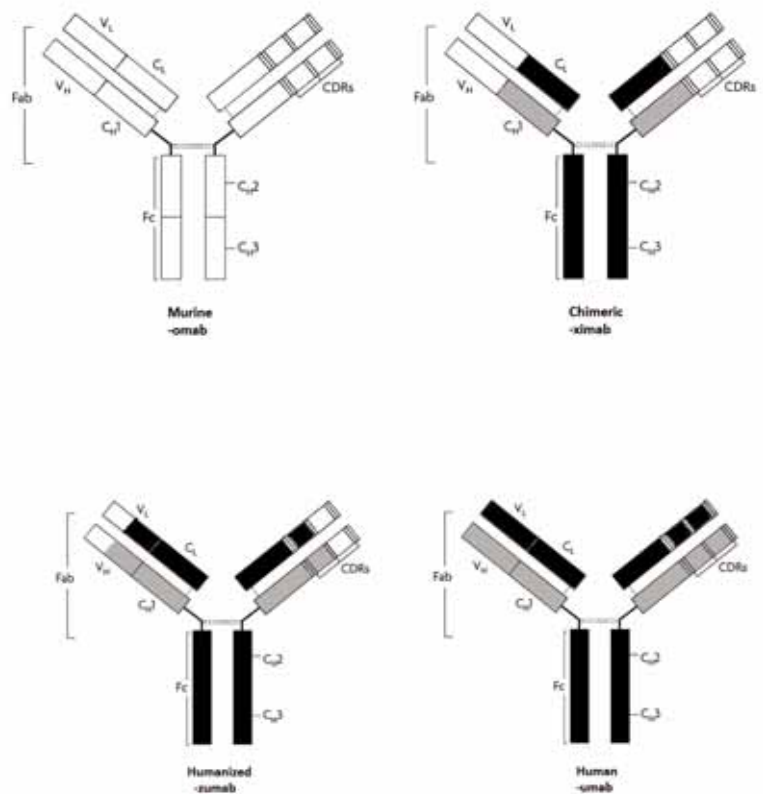
Η δημιουργία **μονοκλωνικών αντισωμάτων αποκλειστικά ανθρώπινης προέλευσης** κατέστη δυνατή με την ανάπτυξη τεχνικών της «τυχαιοποιημένης» χημείας (random chemistry) και ειδικότερα με τη χρήση των πεπτιδικών βιβλιοθηκών βακτηριοφάγων (phage-displayed random peptide libraries) και των διαγονιδιακών ποντικών που εκφράζουν γονίδια ανθρώπινης ανοσοσφαιρίνης.^{5,6}

Ονοματολογία αντισωμάτων. Η ονοματολογία των διάφορων αντισωμάτων βασίζεται στις οδηγίες όπως αυτές φαίνονται στον πίνακα. Για παράδειγμα το πρόθεμα πριν το mab (monoclonal antibody) προσ-

διορίζει το βιολογικό οργανισμό από όπου προέρχεται το αντίσωμα. Το zu-είναι ανθρωποποιημένο, το xi- χιμερικό κλη (βλέπε πίνακα). Έτσι το natalizumab προέρχεται από: lim=immune, zu=humanized, mab .

Αντιγονικότητα. Η μείωση της αντιγονικότητας των μονοκλωνικών αντισωμάτων είναι σημαντική τόσο για την ασφάλεια της θεραπείας όσο και για την αποτελεσματικότητά της, καθώς η ανάπτυξη αντισωμάτων έναντι των χορηγουμένων μονοκλωνικών αντισωμάτων μπορεί να εξουδετερώσει τη δράση τους ή να οδηγήσει στη γρηγορότερη αποβολή τους από τον οργανισμό. Παρόλο που η χρήση των μονοκλωνικών αντισωμάτων παρόμοιων με του ανθρώπου συντέλεσε στη μείωση αυτού του προβλήματος, αυτό παραμένει. Πολλοί είναι οι παράγοντες οι οποίοι επηρεάζουν την αντιγονικότητα των μονοκλωνικών αντισωμάτων. Αυτοί είναι: τα χαρακτηριστικά της δομής τους (γλυκοσυλίωση, συσσωμάτωση, λανθασμένη αναδίπλωση) και οι κλινικές παράμετροι (δόση, οδός χορήγησης, συχνότητα χορήγησης). Το γενετικό υπόστρωμα του ασθενούς και η συγχορήγηση φαρμάκων ασκούν επίσης σημαντική επίδραση. Το ζήτημα της αντιγονικότητας χρειάζεται περαιτέρω μελέτη, καθώς μέχρι τώρα δεν υπάρχουν σαφείς παράμετροι που να μπορούν να την προσδιορίσουν αλληλά και να την προβλέψουν.⁷

Βιολογική δράση. Η βιολογική δραστηριότητα των μονοκλωνικών αντισωμάτων επιτυγχάνεται μέσω κυρί-



Εικόνα 1. Οι διάφοροι τύποι μονοκλωνικών αντισωμάτων.

Πίνακας. Ο τρόπος ονοματολογίας των μονοκλωνικών αντισωμάτων.

(<http://www.ama-assn.org/ama/pub/physician-resources/medical-science/united-states-adopted-names-council/naming-guidelines/naming-biologics/monoclonal-antibodies.page>).

u= human	
o= mouse	
a= ratz	
zu= humanised	
i= primate	
e= hamster	
xi= chimera	
axo= rat or mouse	
xizu= the combination of humanised and chimeric chains	
Viral	-vir-
Bacterial	-bac-
Immune	-lim-
Infectious lesions	-les-
Cardiovascular	-cir-
Antifungal	-fung-
Neurological	-ner-
Interleukins	-kin-
Musculoskeletal	-mul-,
Bone	-os-
Toxin as target	-toxa-
Tumours	
Colon,	-col-
Melanoma	-mel-
Mammary	-mar-
Testis	-got-
Ovary	-gov-
Prostate	-pr(o)-
Miscellaneous	-tum-
mAbs- MS	
target, source, mAb	generic
lim, zu, mab	natalizumab
lim zu mab	daclizumab
tum xi mab	rituximab
tum zu mab	alemtuzumab

ως της ειδικής σύνδεσης της μεταβλητής περιοχής του *αντιγονοσυνδεδεμένου θραύσματος* (antigen binding fragment-Fab) στον επίτοπο του στόχου, αλλά μπορεί να περιλαμβάνει και δευτεροπαθείς δράσεις μέσω του *κρυσταλλώσιμου θραύσματος* (crystallizable fragment-Fc). Οι μηχανισμοί αυτοί ποικίλλουν και μπορούν εν μέρει να τροποποιηθούν κατά τη διάρ-

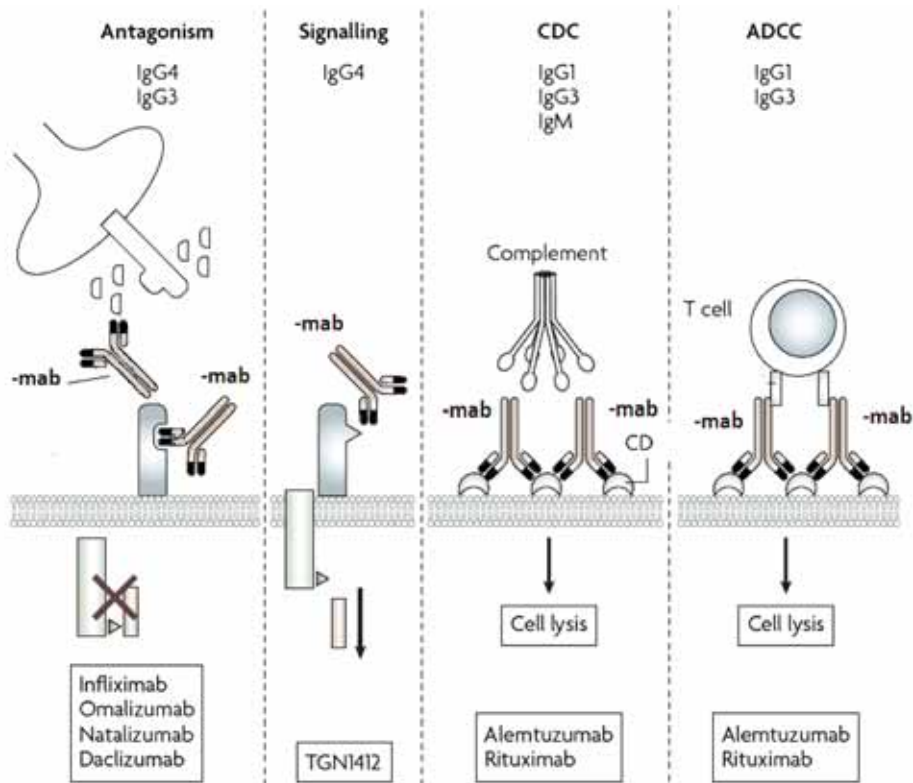
κεια της διαδικασίας της δημιουργίας τους. Η σύνδεση ενός μονοκλωνικού αντισώματος είτε αποκλείει (block), είτε μεταμφιέζει (mask) το στόχο. Αποτέλεσμα είναι στην πρώτη περίπτωση η αναστολή μιας συγκεκριμένης λειτουργίας και στη δεύτερη περίπτωση η άμεση επαγωγή μιας *σηματοδοτικής ακολουθίας* (signaling) του κυττάρου. Επιπλέον, τα μονοκλωνικά αντισώματα μπορούν να προκαλέσουν τη λύση ενός κυττάρου-στόχου διαμέσου της *κυτταρομεσοληθτικής κυτταροτοξικότητας είτε της εξαρτώμενης από αντίσωμα* (antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity, ADCC), είτε της *εξαρτώμενης από το συμπλήρωμα* (complement-dependent cytotoxicity, CDC) και μέσω του σταθερού τους τμήματος Fc. Η πρώτη περίπτωση κυτταροτοξικότητας αναφέρεται στη λύση κυττάρων-στόχων τα οποία έχουν στην επιφάνειά τους ένα συνδεδεμένο αντίσωμα. Η λύση επέρχεται από κύτταρα τα οποία συνδέονται με το αντίσωμα αυτό μέσω του Fc υποδοχέα. Η δεύτερη περίπτωση κυτταροτοξικότητας επιτυγχάνεται με την επιστράτευση των συστατικών του συμπληρώματος και την ενεργοποίηση του καταρράκτη του συμπληρώματος από το αντίσωμα επιφανείας (εικόνα 2). Τέλος, τα θεραπευτικά μονοκλωνικά αντισώματα μπορούν επίσης να χρησιμοποιηθούν για τη στοχευμένη μεταφορά χημικά συζευγμένων τοξινών, προφαρμάκων, ραδιοουκλεοτιδίων και άλλων βιολογικών μορίων.⁸

Δομή. Η πλειονότητα των μονοκλωνικών αντισωμάτων, τα οποία εφαρμόζονται στην κλινική πράξη, είναι IgG ανοσοσφαιρίνες και το σταθερό τμήμα τους είναι τύπου IgG1. Τα μονοκλωνικά αντισώματα ισότυπου IgG1 δρουν είτε με την ενεργοποίηση του συμπληρώματος είτε με την κυτταροτοξικότητα διαμέσου του Fc υποδοχέα. Επειδή τα μονοκλωνικά αντισώματα IgG2 και IgG4 δεν έχουν τη ικανότητα να συνδεθούν αποτελεσματικά με το συμπλήρωμα, επιλέγονται μόνο όταν η λειτουργία αυτή δεν απαιτείται. Τα με ισότυπο IgG3 χρησιμοποιούνται σε σπάνιες περιπτώσεις επειδή είναι ευάλωτα στην πρωτεόλυση. Μονοκλωνικά αντισώματα των τάξεων IgM και IgA επίσης σπάνια χρησιμοποιούνται λόγω της μειωμένης προσβασιμότητας σε εξωαγγειακές περιοχές. Τέλος, ένα ακόμη χαρακτηριστικό που επηρεάζει την αποτελεσματικότητα της θεραπείας είναι η συγγένεια του μονοκλωνικού αντισώματος με το μόριο-στόχο. Συμπερασματικά, η τάξη και ο ισότυπος του αντισώματος επηρεάζει τη βιολογική του δράση, καθώς ενεργοποιούνται διαφορετικοί μηχανισμοί.⁹

ΜΟΝΟΚΛΩΝΙΚΑ ΑΝΤΙΣΩΜΑΤΑ ΣΤΗ ΘΕΡΑΠΕΙΑ ΤΗΣ ΠΟΛΛΑΠΛΗΣ ΣΚΛΗΡΥΝΣΗΣ

NATALIZUMAB

Το Natalizumab είναι το πρώτο εγκεκριμένο μονοκλωνικό αντίσωμα σε Ευρώπη και ΗΠΑ για τη θεραπεία της υποτροπιάζουσας-διαλείπουσας μορφής ΠΣ.



Εικόνα 2. Ο μηχανισμός δράσης των μονοκλωνικών αντισωμάτων που χρησιμοποιούνται θεραπευτικά (βασισμένο στο Nature Rev Drug Discov.2010;9:325-338).

Είναι ένα ανασυνδυασμένο ανθρωποποιημένο αντίσωμα έναντι της α4 αλυσού της α4β1 υπομονάδας της ιντεγκρίνης. Αποτελείται από ένα σταθερό τμήμα IgG4k ανθρώπινης προέλευσης, το οποίο επιλέχθηκε γιατί δεν επάγει κυτταροπαθολογικές δράσεις, και από τις CDRs ενός αντι-α4β1 αντισώματος ποντικού. Ο γενετικός ανασυνδυασμός του παρέχει το πλεονέκτημα της μειωμένης αντιγονικότητας (95% ανθρώπινης προέλευσης) και της 100% διατήρησης της δεσμευτικής του ικανότητας.

Μηχανισμός δράσης. Η α4β1-ιντεγκρίνη εκφράζεται σε όλα τα λευκοκύτταρα (ηεμφοκύτταρα, μονοκύτταρα, βασεόφιλα, ηωσινόφιλα, μαστοκύτταρα, μακροφάγα), εκτός από τα ουδετερόφιλα. Το Natalizumab είναι ένας ανταγωνιστής της α4β1 ιντεγκρίνης με διπλή αντιφλεγμονώδη δράση. Πρώτον, αναστέλλει τη φλεγμονή στους ιστούς μέσω αναστολής της αλληλεπίδρασης των λευκοκυττάρων που εκφράζουν την α4 ιντεγκρίνη με τα μόρια προσκολλητικότητας VCAM, τα οποία ανευρίσκονται σε αυξημένες συγκεντρώσεις στο ενδοθήλιο κατά τη διάρκεια της φλεγμονής. Δεύτερον, η σύνδεση του Natalizumab με την α4β1-ιντεγκρίνη έχει ως αποτέλεσμα την αναστολή της μετανάστευσης ανοσοκυττάρων διαμέσου του αιματοεγκεφαλικού φραγμού στις περιοχές του εγκεφαλικού παρεγχύματος όπου υπάρχει φλεγμονή.^{10, 11}

Κλινικές μελέτες. Η μελέτη-κλειδί του Natalizumab είναι η με ακρωνύμιο AFFIRM. Πρόκειται για τυχαιοποιημένη με εικονικό φάρμακο μελέτη, όπου 942 ασθε-

νείς με ενεργό υποτροπιάζουσα ΠΣ, έλαβαν αγωγή είτε με 300mg Natalizumab ή εικονικό φάρμακο IV, κάθε 4 εβδομάδες και για χρονικό διάστημα 2 ετών. Οι ασθενείς υπό Natalizumab εμφάνισαν στα τελικά σημεία της μελέτης: 88% ελάττωση της συχνότητας των υποτροπών στον 1 χρόνο και 42% του ρυθμού εξέλιξης της αναπηρίας στα 2 χρόνια. Στη MRI παρατηρήθηκε ελάττωση κατά 92% των ενεργών εστιών, κατά 83% της συσσώρευσης νέων ή της αύξησης βλαβών στην T2 ακολουθία και τέλος κατά 78% των βλαβών στην T1 ακολουθία. Ο βαθμός ατροφίας του εγκεφάλου ήταν μεγαλύτερος στην ομάδα του Natalizumab τον πρώτο χρόνο αλλά στο δεύτερο χρόνο ήταν σε λιγότερο βαθμό σε σχέση με το εικονικό φάρμακο.¹²

Στη δεύτερη μελέτη φάσης III (με το ακρωνύμιο SENTINEL), 1171 ασθενείς με τουλάχιστον μία υποτροπή τον τελευταίο χρόνο ενώ ήταν σε θεραπεία με interferon-beta-1a, τυχαιοποιήθηκαν σε θεραπεία προσθέτοντας είτε 300 mg natalizumab είτε εικονικό φάρμακο, κάθε 4 εβδομάδες για διάστημα 2 ετών. Η συνδυασμένη θεραπεία συσχετίστηκε με χαμηλότερη ετήσια συχνότητα υποτροπών (0.35) έναντι της θεραπείας με interferon-beta-1a (0.75), με λιγότερες νέες βλάβες ή ελάττωση του μεγέθους βλαβών στην T2 ακολουθία και κατά 24% ελάττωση του σχετικού κινδύνου διατήρησης της εξέλιξης της αναπηρίας.^{13, 14}

Ανεπιθύμητες ενέργειες. Τα αναμενόμενα οφέλη της θεραπείας με το natalizumab είναι αναγκαίο να σταθμίζονται με τη σοβαρότερη ανεπιθύμητη ενέργεια

την προϊούσα πολυεστιακή λευκοεγκεφαλοπάθεια, η οποία είναι και δυνητικά θανατηφόρος.

Προϊούσα πολυεστιακή λευκοεγκεφαλοπάθεια (Progressive Multifocal Leucoencephalopathy, PML). Το 2005 το Natalizumab αποσύρθηκε από την κυκλοφορία εξαιτίας δύο περιπτώσεων προοδευτικής πολυεστιακής λευκοεγκεφαλοπάθειας σε ασθενείς με ΠΣ οι οποίοι βρίσκονταν υπό αγωγή με Natalizumab σε συνδυασμό με ιντερφερόνη-β1α μετά από 28 και 37 δόσεις αντίστοιχα. Μία τρίτη περίπτωση PML ταυτοποιήθηκε μετά το θάνατο ασθενούς με νόσο Crohn που λάμβανε Natalizumab.¹⁵

Αυτή η λευκοεγκεφαλοπάθεια είναι μια προοδευτική απομυελινωτική νόσος του κεντρικού νευρικού συστήματος που οφείλεται στη φλεγμονή των ολιγοδενδροκυττάρων η οποία προκαλείται από τον ιό JC. Η κλινική της εικόνα περιλαμβάνει προοδευτική άνοια, κινητική δυσλειτουργία και απώλεια της όρασης, με θανατηφόρα συνήθως κατάληξη. Η PML είναι σπάνια νόσος, ωστόσο λανθάνουσα JCV λοίμωξη είναι διαδεδομένη με 80% οροθετικότητα σε υγιείς φορείς. Η εμφάνισή της σχετίζεται με ανεπάρκεια του ανοσοποιητικού συστήματος και συναντάται τυπικά σε πάσχοντες από HIV, λεμφοϋπερπλαστικά νοσήματα και σε θεραπευόμενους με ανοσοκατασταλτική αγωγή.¹⁶ Να σημειωθεί ότι ένα ποσοστό 5-10% οροαρνητικών JCV, μετατρέπονται σε θετικούς, έτσι σε αυτές τις περιπτώσεις συνιστάται σε ασθενείς υπό Natalizumab η επανάληψη της εξέτασης κάθε έξη μήνες.

Ο συχνότητα της PML μετά από αγωγή με Natalizumab κυμαίνεται από 0.56% σε ασθενείς αρνητικούς για αντισώματα JCV ορού και χωρίς προηγούμενη χορήγηση με ανοσοκατασταλτικών, και 1-24 εγχύσεις φαρμάκου, και φτάνει έως 11/1000 σε 25-48

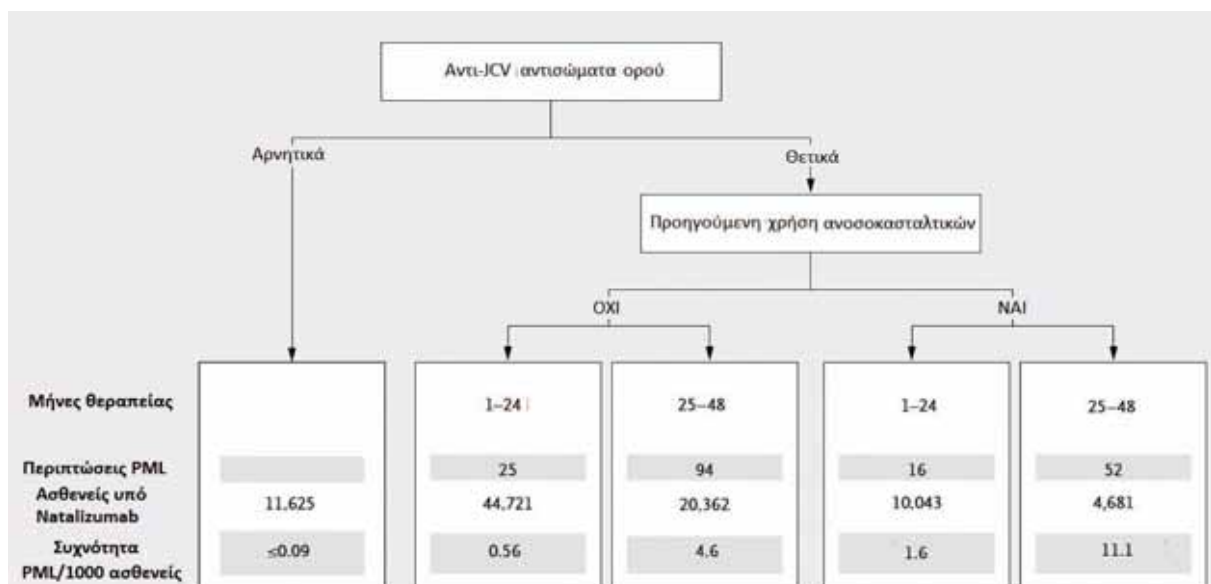
εγχύσεις φαρμάκου σε ασθενείς θετικούς για αντισώματα JCV ορού και προηγούμενη χορήγηση με ανοσοκατασταλτικών (σχήμα 1).¹⁷

Μέχρι τον Σεπτέμβριο 2012, η συχνότητα εμφάνισης της PML ήταν 1/550 στις ΗΠΑ, ενώ στην Ευρώπη 1/229 με ποσοστό θνητότητας 37 % και 8,6% αντίστοιχα.¹⁸

Από το 2006 το Natalizumab επανακυκλοφορεί και έχει εγκριθεί από τον EMA ως θεραπεία δεύτερης γραμμής για την αντιμετώπιση της υποτροπιάζουσας ΠΣ με αυστηρό περιορισμό μόνο στην ραγδαίως εξελισσόμενη υποτροπιάζουσα μορφή. Στις ΗΠΑ το Natalizumab διατίθεται μέσω ενός ειδικού προγράμματος διανομής και η ασφάλειά του μελετάται ακόμη.

Δεδομένου του κινδύνου εμφάνισης PML, είναι αναγκαίο οι κλινικοί γιατροί να ακολουθούν σαφείς οδηγίες για την επιλογή των ασθενών και κατάλληλο πρόγραμμα παρακολούθησής τους. Έχει προταθεί από μία διεθνή ομάδα ειδικών ένας διαγνωστικός και θεραπευτικός αλγόριθμος 3 βημάτων για το πότε ένας ασθενής εμφανίζει συμπτώματα και σημεία μη υποδηλωτικά ΠΣ. Το 1^ο βήμα είναι ο τακτικός κλινικός έλεγχος του ασθενούς, 2^ο βήμα είναι ο έλεγχος του εγκεφάλου με MRI, και 3^ο βήμα αποτελεί η ανάλυση του ENY για την ανίχνευση DNA του ιού. Η MRI είναι ευαίσθητη εξέταση για την PML αλλά στερείται ειδικότητας, ενώ η ανάλυση του ENY για DNA JCV δεν συνιστάται λόγω μειωμένης ευαισθησίας και προγνωστικής αξίας. Τέλος, κάθε υπόνοια PML θα πρέπει να συνιστά την άμεση διακοπή της χορήγησης του φαρμάκου.

Αντισώματα έναντι natalizumab. Σε μικρό ποσοστό ασθενών στους οποίους χορηγείται θεραπευτική αγωγή με natalizumab ανιχνεύονται αντι-natalizumab αντισώματα στον ορό, τα οποία μειώνουν την αποτε-



Σχήμα 1. Συχνότητα εμφάνισης PML σε σχέση με τη διάρκεια χορήγησης του natalizumab, τα αντισώματα ορού έναντι του JCV και την προηγούμενη θεραπεία με ανοσοκατασταλτικά.

λεσματικότητα του φαρμάκου και συνδέονται με μεγαλύτερο ποσοστό εμφάνισης ανεπιθύμητων ενεργειών σχετιζόμενων με την έγχυση.¹⁹

Αντιδράσεις υπερευαισθησίας μπορεί να εκδηλωθούν σπάνια, ενώ ο κίνδυνος σοβαρών συστηματικών αντιδράσεων υπερευαισθησίας είναι μικρότερος από 1%.

ALEMTUZUMAB

Το Alemtuzumab (Campath-1H) είναι ένα ανθρωποποιημένο αντι-CD52 μονοκλωνικό αντίσωμα με IgG1 σταθερό τμήμα. Είναι εγκεκριμένο σε Ευρώπη και ΗΠΑ για τη θεραπεία της χρόνιας και ανθεκτικής στην φλουδαραβίνη λεμφοκυτταρικής λευχαιμίας και αναμένεται η έγκριση για την πολλαπλή σκλήρυνση.

Μηχανισμός δράσης. Το Alemtuzumab στρέφεται εναντίον του CD52, μιας γλυκοπρωτεΐνης της κυτταρικής επιφάνειας με άγνωστη λειτουργία που εκφράζεται κυρίως στα T- και B- λεμφοκύτταρα, τα μονοκύτταρα και τα ηωσινόφιλα. Αποτελεί έναν αποτελεσματικό στόχο καθώς εκφράζεται σε αφθονία στα ώριμα λεμφοκύτταρα και απουσιάζει από τα πρόδρομα λεμφικά κύτταρα. Επίσης ο υποδοχέας CD52 δεν επηρεάζεται σε περίπτωση διασταυρούμενης αντίδρασης. Το Alemtuzumab ασκεί κυτταροτοξική δράση (με CDC και ADCC δράσεις) στα κύτταρα-στόχους οδηγώντας σε μικρό χρονικό διάστημα σε έντονη λευκοπενία.²⁰

Κλινικές μελέτες. Η αρχική μελέτη σε δευτεροπαθώς προιούσα μορφή πολλαπλή σκλήρυνση ήταν αρνητική. Σε μία πολικεντρική μελέτη φάσης II (CAMMS223) έγινε σύγκριση χορήγησης δύο δόσεων Alemtuzumab (24 και 12 mg/IV) με interferon β1a 44 μg. Το Alemtuzumab χορηγήθηκε IV στην αρχή της μελέτης, στους 12 μήνες και στους 24 μήνες σε κάποιους ασθενείς. Μετά από 2 χρόνια θεραπείας ο κίνδυνος εξέλιξης της αναπηρίας μειώθηκε κατά 88% στην ομάδα υψηλής δόσης Alemtuzumab ασθενών και κατά 66% στη χαμηλή δόση. Βελτίωση της αναπηρίας δεν παρατηρήθηκε στην ομάδα που ελάμβανε ιντερφερόνη. Παράλληλα, στα 2 χρόνια θεραπείας δεν παρουσίασε υποτροπή της νόσου το 84.8% των ασθενών που λάμβανε Alemtuzumab σε χαμηλή δόση, το 90.6% αυτών που ελάμβανε Alemtuzumab σε υψηλή δόση και το 60.4% των θεραπευόμενων με ιντερφερόνη β.²¹

Δύο μελέτες φάσης III δημοσιεύθηκαν πρόσφατα (Νοέμβριος 2012).

Η μελέτη με το ακρωνύμιο CARE-MS 1 συμπεριέλαβε ασθενείς οι οποίοι δεν είχαν λάβει προηγούμενη θεραπευτική αγωγή. Σε αυτήν γίνεται σύγκριση του Alemtuzumab (δοσολογικό σχήμα: 12 mg IV /HM x 5 και μετά 12 μήνες 12 mg IV /HM x 3) με interferon β1a (44 μg x 3/εβδομάδα/ΥΔ). Στα δύο χρόνια η ετήσια συχνότητα υποτροπών ήταν 0.39 για την ιντερφερόνη και 0.18 για το Alemtuzumab, με ελάττωση του σχετικού κινδύνου κατά 30% (μη στατιστικό σημαντικό-μικρό μέγεθος μελέτης). Το ποσοστό των νέων

βλαβών και της αύξησης του όγκου βλαβών στην MRI δεν είχε διαφορά όπως και η μείωση του μεγέθους των T2 βλαβών. Το ποσοστό ασθενών που ήταν χωρίς κλινικές εκδηλώσεις της νόσου ήταν 74% έναντι 56% της interferon β1a (p < 0.0001).²²

Σε μια άλλη μελέτη με το ακρωνύμιο CARE-MS 2, εξετάστηκε την αποτελεσματικότητα και την ασφάλεια σε ασθενείς με υποτροπιάζουσα μορφή και οι οποίοι παρουσίαζαν ραγδαία εξέλιξη της νόσου, ενώ ήταν σε αγωγή (83% IFN-β, 34% glatiramer, (18% και τα δύο) και 3% natalizumab). Το δοσολογικό σχήμα ήταν το ίδιο με την CARE-MS 1, αν και αρχικά υπήρχε και μια τρίτη ομάδα ασθενών με 24 mg Alemtuzumab. Όλοι οι ασθενείς είχαν τουλάχιστον δύο υποτροπές τα δύο τελευταία χρόνια (μία τουλάχιστον τον τελευταίο).

Στα δύο χρόνια η ετήσια συχνότητα υποτροπών ήταν 0.52 για την ιντερφερόνη και 0.26 για το Alemtuzumab, επίσης τουλάχιστον μία υποτροπή παρουσίασε το 51% της ομάδας ιντερφερόνης και το 35% της ομάδας του Alemtuzumab που σημαίνει ελάττωση του σχετικού κινδύνου κατά 42% (p= 0.0084). Επίσης υπεροχή του Alemtuzumab παρουσιάστηκε και στους δείκτες του MRI εκτός στη μείωση του μεγέθους των T2 βλαβών, όπως και στην CARE-MS 1. Επίσης η βαθμολογία στην EDSS βελτιώθηκε κατά -0.17 στο Alemtuzumab ενώ αυξήθηκε κατά +0.24 στην ιντερφερόνη.²³

Ανεπιθύμητες ενέργειες. Η θεραπεία με Alemtuzumab μπορεί να προκαλέσει σοβαρές οξείες και χρόνιες ανεπιθύμητες ενέργειες. Η έγχυση του φαρμάκου οδηγεί σε μια οξεία αντίδραση απελευθέρωσης κυττοκινών, που εκδηλώνεται με πυρετό, κεφαλαλγία, αδιαθεσία, εξάνθημα (90% των ασθενών). Η αντίδραση αυτή μπορεί να προληφθεί με τη χορήγηση κορτικοστεροειδών πριν την έγχυση του φαρμάκου. Παρά την έντονη μείωση των λεμφοκυττάρων, το Alemtuzumab δεν σχετίζεται με αυξημένο κίνδυνο λοιμώξεων. Ωστόσο, σχετίζεται με σημαντικό κίνδυνο εμφάνισης δευτεροπαθών αυτοάνοσων παθήσεων, όπως θυρεοειδοπάθεια (Graves), η ιδιοπαθής θρομβοκυτοπενία και το σύνδρομο Goodpasture (νεφροπάθεια) σε ποσοστά στην τριετία 29.9, 1.3 και 0.3% αντίστοιχα. Λοιμώξεις ήπιες ή μέτριες σοβαρότητας παρουσίασε το 67% των ασθενών με Alemtuzumab αντί 45% ασθενείς με ιντερφερόνης 16% ασθενών της ομάδας της Alemtuzumab εμφάνισαν ερπητικές λοιμώξεις σε σύγκριση με 2% ασθενών της ομάδας της ιντερφερόνης. Επίσης 3 θάνατοι στις δύο αυτές μελέτες στο σκέλος του Alemtuzumab (2 τροχαίο και 1 από σήψη σε ασθενή με σοβαρή υποτροπή στο εγκεφαλικό στέλεχος). Οι μηχανισμοί που οδηγούν στην πρόκληση των παραπάνω δεν είναι σαφείς. Για το λόγο αυτό, παρόλο που τα αποτελέσματα από τη χρήση του Alemtuzumab είναι εντυπωσιακά, είναι αναγκαίο να ληφθούν μέτρα για την παρακολούθηση ή την αποφυγή των δευτεροπαθών αυτοάνοσων διαταραχών πριν από τη χρήση του.²⁴

RITUXIMAB

Το Rituximab (Mabthera) είναι ένα χιμαιρικό IgG1κ μονοκλωνικό αντίσωμα έναντι του υποδοχέα CD20 των Β-λεμφοκυττάρων. Έχει εγκριθεί από τον EMA και τον FDA για τη θεραπεία του Β-non-Hodgkin λεμφώματος.

Μηχανισμός δράσης. Η σύνδεση του Rituximab με τον υποδοχέα CD20 προκαλεί τη λύση των κυττάρων-στόχων μέσω κυτταροτοξικότητας και πιθανώς μέσω επαγωγής της απόπτωσης. Το CD20 εκφράζεται αποκλειστικά στα Β-λεμφοκύτταρα, από το στάδιο του πρώιμου προ-Β κυττάρου μέχρι το στάδιο του ενεργοποιημένου ώριμου κυττάρου. Ωστόσο, τα πλασματοκύτταρα και τα β्लाστοκύτταρα δεν εκφράζουν το CD20 στην επιφάνειά τους. Το Rituximab μειώνει αποκλειστικά τον πληθυσμό των Β-λεμφοκυττάρων, χωρίς να επηρεάζει την επανάκτηση των Β κυττάρων ή την παραγωγή αντισωμάτων. Σε ασθενείς με ΠΣ μειώνει τα περιφερικά Β κύτταρα κατά 100% και κατά 90% στο ENY χωρίς να επηρεάζονται οι συγκεντρώσεις των αντισωμάτων έναντι της μυελίνης στον ορό ή οι ολιγοκλωνικές ζώνες στο ENY.

Όλο και περισσότερα στοιχεία ενισχύουν την άποψη ότι τα Β λεμφοκύτταρα και τα αντισώματα είναι απαραίτητα για την παθογένεση πολλών αυτοάνοσων παθήσεων συμπεριλαμβανομένων και της ΠΣ. Στην ΠΣ η εντός του ΚΝΣ (ενδοθηκική) σύνθεση ανοσοσφαιρινών και οι οποίες εμφανίζονται ως ολιγοκλωνικές ζώνες αποκλειστικά στο ENY, αποτελεί ισχυρό στοιχείο μιας εντοπισμένης στο ΚΝΣ εξάπλωσης Β λεμφοκυτταρικής.

Κλινικές μελέτες. Σε μία πολυκεντρική, ελεγχόμενη με εικονικό φάρμακο, φάσης II μελέτη (HERMES) χορηγήθηκαν σε 104 ασθενείς 1000 mg Rituximab την 1^η και την 15^η ημέρα. Τα αποτελέσματα ήταν μείωση του ποσοστού υποτροπών στην 24η και 48η εβδομάδα και της εμφάνισης βλαβών με πρόληψη σκιαστικού στην MRI.²⁵ Στην επόμενη φάσης II/III μελέτη (OLYMPUS) σε ασθενείς με πρωτοπαθή προϊούσα μορφή ΠΣ δεν φάνηκε κάποια αποτελεσματικότητα στη εξέλιξη της αναπηρίας.²⁶

Ανεπιθύμητες ενέργειες. Το Rituximab δεν αυξάνει τον κίνδυνο λοιμώξεων συγκριτικά με το εικονικό φάρμακο, παρά το γεγονός ότι η εξάλειψη των Β κυττάρων είναι σχεδόν πλήρης. Οι πιο συχνές ανεπιθύμητες ενέργειες σχετίζονται με την έγχυση και είναι πυρετός, ρίγος, υπόταση, δύσπνοια, παρατηρούμενα κυρίως κατά τη διάρκεια της πρώτης έγχυσης. Κατά περίπτωση χορηγούνται προληπτικά αντισταμινικά ή κορτικοειδή. Δύο περιπτώσεις προοδευτικής πολυεστιακής λευκοεγκεφαλοπάθειας (PML) έχουν αναφερθεί σε πάσχοντες από συστηματικό ερυθηματώδη λύκο, υπό Rituximab, ενώ προηγουμένως λάμβαναν ισχυρή ανοσοκατασταλτική αγωγή. Τέλος, αντισώματα έναντι των χιμαιρικών αντισωμάτων παρατηρήθηκαν στο 25% των περιπτώσεων χωρίς να επηρεάζει τη αποτελεσματικότητα του φαρμάκου.

Το Rituximab δεν μελετήθηκε περαιτέρω στην ΠΣ, αλλα με βάση τα ενθαρρυντικά αποτελέσματα των παραπάνω μελετών του, τα νεώτερα ανθρωποποιημένα anti-CD20 mAbs, ocrelizumab και ofatumumab είναι σε τρέχοντες μελέτες (βλέπε παρακάτω).

OCRELIZUMAB ΚΑΙ OFATUMUMAB

Αυτά τα πλήρως ανθρωποποιημένα μονοκλωνικά αντισώματα πιθανόν να είναι καλύτερα ανεκτά σε σχέση με τα χιμαιρικά και με ελάχιστες αντιδράσεις έγχυσης.

Μηχανισμός. Προκαλούν ερήμωση των Β-λεμφοκυττάρων και επαγωγή της ADCC και ελάττωση CDC, ιδιότητες οι οποίες τα καθιστούν περισσότερο αποτελεσματικά.²⁷

Κλινικές μελέτες. Το *ocrelizumab* μελετήθηκε σε φάσης II μελέτη, σε ασθενείς με υποτροπιάζουσα ΠΣ. Οι ασθενείς τυχαιοποιήθηκαν σε ocrelizumab 600 mg/IV, ocrelizumab 2000 mg/IV, Ιντερφερόν-β1α IM και εικονικό φάρμακο, για χρονικό διάστημα 24 εβδομάδων. Το ocrelizumab στα δύο σχήματα έδειξε υπεροχή και στην MRI και στη συχνότητα υποτροπών (-80% στα 600 mg, και -73% στα 2000 mg) σε σχέση με την Ιντερφερόν και το εικονικό φάρμακο. Ανεπιθύμητες ενέργειες: σοβαρές λοιμώξεις καταγράφηκαν εξίσου και στο εικονικό φάρμακο. Ένας θάνατος από πνευμονία, διάχυτη ενδαγγειακή πήξη και πολυοργανική ανεπάρκεια και ένας θάνατος από έμφραγμα μυοκαρδίου (ή πνευμονική εμβολή).²⁸ Σε εξέλιξη είναι οι παρακάτω μελέτες: α) διπλή τυφή μελέτη σε υποτροπιάζουσα ΠΣ, με ocrelizumab 600 mg/IV και εικονικό-Rebif 44 μg συγκρινόμενο με εικονικό- ocrelizumab 600 mg/IV και Rebif 44 μg (αναμένεται να ολοκληρωθούν το 2015) [NCT01247324 και NCT01412333] και β) μελέτη φάσης III σε ασθενείς με πρωτοπαθώς προϊούσα ΠΣ, χωρίς προηγούμενη ανοσοκατασταλτική θεραπεία με 600 mg ή εικονικό φάρμακο (αναμένεται να ολοκληρωθεί το 2017) [NCT01194570].

Το *ofatumumab* δοκιμάζεται σε διπλή τυφή μελέτη με εικονικό φάρμακο, σε υποτροπιάζουσα μορφή, σε δόση 3 mg υποδορίως αυξανόμενη σε 60 mg σε διάστημα 24 εβδομάδων (αναμένεται να ολοκληρωθεί το 2016) [NCT01457924].

DACLIZUMAB

Το Daclizumab (anti-IL2Ra ή anti-CD25) στρέφεται εναντίον του επιτόπου Tac της α αλυσού του υποδοχέα της ιντερλευκίνης 2 (IL2Ra). Ο επιτόπος Tac επιλέχθηκε ως στόχος, καθώς η IL2Ra εκφράζεται ελάχιστα στα φυσιολογικά Τ λεμφοκύτταρα, ενώ υπερεκφράζεται στα ενεργοποιημένα ή παθολογικά Τ λεμφοκύτταρα, όπως αυτά σε πάσχοντες με νεοπλασίες του λεμφικού ιστού, σε απόρριψη αλληλογενούς μοσχεύματος και σε αυτοάνοσα νοσήματα. Το ανθρωποποιημένο anti-CD25 μονοκλωνικό αντίσωμα αποτελείται από τις CDR ποντικού και από ένα σταθερό τμήμα IgG1 ανθρώπινου προέλευσης.

Το Daclizumab έχει εγκριθεί για τη θεραπεία της Τ-λευχαιμίας των ενηλίκων προκαλούμενης από τον ανθρώπινο Τ-λεμφοτροπικό ιό 1 (HTLV-1) και για την πρόληψη της απόρριψης αλληλογενούς νεφρικής μεταμόσχευσης. Η αποτελεσματικότητα του μελετάται σε περιπτώσεις επιπλοκής ραγοειδίτιδας, HTLV-1-σχετιζόμενη μυελοπάθειας, αμιγούς ερυθροκυτταρικής απλασίας, μέτριου βαθμού απλαστικής αναιμίας και ψωρίασης.

Μηχανισμός δράσης. Η χρήση της αντι-CD25 θεραπείας στα αυτοάνοσα νοσήματα ως ανασταλτικά της αναπαραγωγής των αυτοαντιδρώντων Τ λεμφοκυττάρων. πιθανώς να μην αποτελεί τον μοναδικό μηχανισμό δράσης του Daclizumab. Τα αποτελέσματα μελετών οδήγησαν σε μια εντυπωσιακή παρατήρηση: σταθερή εξάπλωση των NK κυττάρων, που εκφράζουν τον δείκτη CD56 NK cells σε υψηλά επίπεδα. Η αύξηση των CD56 NK κυττάρων συσχετίστηκε με μείωση των βλαβών στην MRI, υπογραμμίζοντας τη συμμετοχή τους στις δράσεις της αντι-CD25 θεραπείας. Τα CD56 NK κύτταρα έχουν ανοσορρυθμιστικές ιδιότητες, πέρα από τις γνωστές αντιιικές και αντικαρκινικές τους δράσεις. Μελέτες έδειξαν ότι τα CD56 NK κύτταρα μπορούν να λύσουν τα ενεργοποιημένα αυτόλογα Τ κύτταρα. Η εξάπλωση των CD56 NK κυττάρων οφείλεται στο λειτουργικό μπλοκάρισμα του υψηλής συγγένειας υποδοχέα του συμπλέγματος IL-2Rα/β/γ αλυσών στα ενεργοποιημένα Τ κύτταρα, ενώ το ενδιάμεσο συγγένειας IL-2R σύμπλεγμα στα NK κύτταρα, που δεν περιλαμβάνει την IL-2Rα αλυσίδα, δεν επηρεάζεται.

Κλινικές μελέτες. Η μελέτη φάσης IIb (ακρωνύμιο SELECT) έδειξε ετήσια συχνότητα υποτροπών 0.46 στο εικονικό φάρμακο, 0.21 (-54%) στο Daclizumab 150 mg και 0.23 (-50%) στο Daclizumab 300 mg. Επίσης η ποιότητα ζωής (MSIS-29 Physical Score) στην 52η εβδομάδα, χειροτέρευσε κατά +3 μονάδες στο εικονικό φάρμακο, ενώ βελτιώθηκε κατά -1.1 στο Daclizumab 150 mg και χειροτέρευσε +1.4 στο Daclizumab 300 mg. Σημαντικά ήταν και αποτελέσματα στην MRI (-70% ελάττωση νέων βλαβών στην T2).²⁹

Η μελέτη φάσης III σε 1800 ασθενείς με υποτροπιάζουσα ΠΣ συγκρίνει το Daclizumab 150 mg υποδόρια/4 εβδομάδες με Ιντερφερόνη-β1α IM/εβδομάδα (ακρωνύμιο DECIDE).³⁰

Παρενέργειες. Σε γενικές γραμμές, το Daclizumab ήταν καλά ανεκτό σε ασθενείς με ΠΣ και καμία σοβαρή ανεπιθύμητη ενέργεια δεν έχει αναφερθεί από τις κλινικές μελέτες. Παρόμοια ποσοστά λοιμώξεων παρατηρήθηκαν κατά τη διάρκεια θεραπείας με Daclizumab και με το εικονικό φάρμακο. Έγινε αναφορά για ποικίλες δερματικές αλλεργικές αντιδράσεις (εξανθήματα, δερματίτιδα), οι οποίες βελτιώνονται με τη συνήθη θεραπεία όπως και παροδική αύξηση των ηπατικών ενζύμων. Εντοπίστηκαν δύο περιπτώσεις παροδικής λεμφαδενοπάθειας και εγκεφαλικής αγγείτιδας αντίστοιχα.^{31, 32}

Συμπερασματικά στο βαθμό που είναι κατανοητή η ανοσοπαθολογία της πολλαπλής σκλήρυνση σήμερα, η επιλογή θεραπευτικής αγωγής με μονοκλωνικά αντισώματα αποτελεί μια εξειδικευμένη και αποτελεσματική θεραπεία. Ταυτόχρονα εξαιτίας ελλειψών γνώσεων μας για το ανοσοποιητικό σύστημα, αλλά και τη νόσο μπορεί να προκύπτουν απροσδόκτες συνέπειες όπως για παράδειγμα η ανάπτυξη προοδευτικής πολλαπλασιαστικής λευκοεγκεφαλοπάθειας, χωρίς να προκαλείται αξιοσημείωτη ανοσοκαταστολή.

Βιβλιογραφία

1. Reichert JM, Rosensweig CJ, Faden LB, Dewitz MC. Monoclonal antibody successes in the clinic. *Nat Biotechnol* 2005;23:1073-78.
2. Liu EH, Siegel RM, Harlan DM, O'Shea JJ. T cell-directed therapies: lessons learned and future prospects. *Nature Immunology* 2007;8:25-30.
3. Kohler G, Milstein C. Continuous cultures of fused cells secreting antibody of predefined specificity. *Nature* 1975;256:495-97. (*The original manuscript describing the breakthrough of hybridoma technology and the production of mAbs*).
4. Jain M, Kamal N, Batra SK. Engineering antibodies for clinical applications. *Trends Biotechnol* 2007;25:307-16.
5. Lonberg, N. Human antibodies from transgenic animals. *Nature Biotech.* 2005;23:1117-1125.
6. Monos D, Heliopoulos J, Argyris E, Cordopatis P, Zompra A, Kamoun M. Analysis of the CD2 and spliceosomal Sm B/B' polyproline-arginine motifs defined by a monoclonal antibody using a phage-displayed random peptide library. *J Mol Recognit.* 2006;196:535-41.
7. Hwang WY, Foote J. Immunogenicity of engineered antibodies. *Methods* 2005;36: 3-10.
8. Hansel TT, Kropshofer H, Singer T, Mitchell JA, Andrew J. The safety and side effects of monoclonal antibodies. *Nature Rev Drug Discov.* 2010;9:325-338.
9. Dubel, S. (ed.) *Handbook of Therapeutic Antibodies. Volume I: Technologies, Volume II: Emerging Developments, Volume III: Approved Therapeutics* (Wiley, Weinheim, 2007). (A comprehensive three volume multiple-author text on therapeutic antibodies).
10. Steinman L. Blocking adhesion molecules as therapy for multiple sclerosis: natalizumab. *Nat Rev Drug Discov* 2005;4:510-18.
11. Yednock TA, Cannon C, Fritz LC, Sanchez-Madrid F, Steinman L, Karin N. Prevention of experimental autoimmune encephalomyelitis by antibodies against alpha 4 beta 1 integrin. *Nature* 1992;356:63-66.
12. 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; 354:899–910.
13. Rudick RA, Stuart WH, Calabresi PA, et al. Natalizumab plus interferon beta-1a for relapsing multiple sclerosis. *N Engl J Med* 2006;354:911–23.
 14. Tubridy N, Behan PO, Capildeo R, et al. The effect of anti-alpha4 integrin antibody on brain lesion activity in MS. The UK Antegren Study Group. *Neurology* 1999;53:466–72.
 15. Kappos L, et al. Natalizumab treatment for multiple sclerosis: updated recommendations for patient selection and monitoring. *Lancet Neurol*. 2011;10(8):745-58.
 16. Tan CS, Koralnik JJ. Progressive multifocal leukoencephalopathy and other disorders caused by JC virus: clinical features and pathogenesis. *Lancet Neurol*. 2010;9(4):425-37.
 17. Bloomgren G, Richman S, Hotermans C, Subramanyam M, Goelz S, Natarajan A. Risk of natalizumab-associated progressive multifocal leukoencephalopathy. *N Engl J Med*. 2012;366(20):1870-80.
 18. Deiß A, Brecht I, Haarmann A, Buttmann M. Treating multiple sclerosis with monoclonal antibodies: a 2013 update. *Expert Rev. Neurother*. 2013;13(3):313–335.
 19. Calabresi PA, Giovannoni G, Confavreux C, et al. The incidence and significance of anti-natalizumab antibodies: results from AFFIRM and SENTINEL. *Neurology* 2007; 69:1391–403.
 20. Wiendl H, Kieseier B. Multiple sclerosis: Reprogramming the immune repertoire with alemtuzumab in MS. *Nat Rev Neurol*. 2013;9:125-126.
 21. Coles AJ. Alemtuzumab improved multiple sclerosis functional composite scores and delayed time to first relapse at 2-year interim analysis compared to subcutaneous interferon beta-1a. *Multiple Sclerosis* 2007; 13: S166.
 22. Cohen JA, Coles AJ, Arnold DL, Confavreux C, Fox EJ, Hartung HP, et al. (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(9856):1819-28.
 23. Coles AJ, Twyman CL, Arnold DL, Cohen JA, Confavreux C, Fox EJ, et al. (CARE-MS II investigators). Alemtuzumab for patients with relapsing multiple sclerosis after disease-modifying therapy: a randomised controlled phase 3 trial. *Lancet* 2012;380(9856):1829-39.
 24. Ontaneda D, Cohen JA. The benefits and risks of alemtuzumab in multiple sclerosis. *Expert Rev Clin Immunol*. 2013;9(3):189-91.
 25. Hauser SL, Waubant E, Arnold DL et al.; for the HERMES Trial Group. B-cell depletion with rituximab in relapsing remitting multiple sclerosis. *N. Engl. J. Med*. 2008;358:676–688.
 26. Buttmann M. Treating multiple sclerosis with monoclonal antibodies: a 2010 update. *Expert Rev. Neurother*. 2010;10(5):791–809.
 27. Morschhauser F, Marlton P, Vitolo U et al. Interim results of a Phase III study of ocrelizumab, a new humanised anti-CD20 antibody in patients with relapsed/refractory follicular non-Hodgkin's lymphoma. Presented at: *The 49th ASH Annual Meeting and Exposition*. Atlanta, GA, USA, 8–11 December 2007.
 28. Kappos L, Li D, Calabresi PA et al. Ocrelizumab in relapsing–remitting multiple sclerosis: a Phase 2, randomised, placebo-controlled, multicentre trial. *Lancet* 2011;378(9805):1779–1787
 29. Wynn D, Kaufman M, Montalban X et al.; CHOICE investigators. Daclizumab in active relapsing multiple sclerosis (CHOICE study): a Phase 2, randomised, double-blind, placebo-controlled, add-on trial with interferon β. *Lancet Neurol*. 2010;9(4):381–390.
 30. Giovannoni G, Gold R, Selmaj K et al. Primary results of the SELECTION trial of daclizumab HYP in relapsing multiple sclerosis. Presented at: *28th Congress of the European Committee for Treatment and Research in Multiple Sclerosis*. Lyon, France, 169, 10–13 October 2012.
 31. Bielekova B. Daclizumab therapy for multiple sclerosis. *Neurotherapeutics* 2013;10:55-67.
 32. Ohayon J, Oh U, Richert N, Martin J, Vortmeyer A, McFarland H, Bielekova B. CNS vasculitis in a patient with MS on daclizumab monotherapy. *Neurology* 2013;80:453-7.