

Nowoczesne metody leczenia stwardnienia rozsianego w Europie – przegląd systematyczny

Modern methods of treatment of multiple sclerosis in Europe. A systematic review

Zakład Gospodarki Lekiem, Instytut Zdrowia Publicznego, Wydział Nauk o Zdrowiu, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński, Kraków

KEY WORDS

multiple sclerosis, MS, alemtuzumab, fingolimod, fumarate, natalizumab, teriflunomide, a systematic review

SUMMARY

Multiple sclerosis (MS) is the most common chronic demyelinating disease of the central nervous system of unknown and probable autoimmune etiology. We identified eligible studies by searching MEDLINE, EMBASE and Cochrane Library from inception to 21 February 2014. We included a phase III, randomized, controlled trials that compared efficacy and safety of alemtuzumab, fingolimod, fumarate, teriflunomide or natalizumab with placebo or another active comparator in patients with MS. 9 RCT were included in our systematic review. Most studies used placebo controls (5/9), 4 RCT another active comparator (interferon- β -1a). Clinical outcomes of interest included a reduction in the risk of relapse, risk of disability progression and adverse events. Especially important are the results of studies that compared the active ingredient with another active comparator rather than placebo. Consequently, it appears that direct comparison of fingolimod, alemtuzumab, natalizumab and interferon- β -1a provides the most significant conclusions. Analysis of the safety profile demonstrated a higher risk of adverse events and serious adverse events associated with alemtuzumab and fingolimod therapy; fingolimod was also characterized by marginally safer profile than interferon- β -1a in terms of the risk of any adverse events, and natalizumab in terms of the risk of serious adverse events. Assessment of safety fingolimod, fumarate, natalizumab and teriflunomide showed a similar profile to placebo in terms of the risk of adverse events and serious adverse events. It should be emphasized, that it is impossible to directly compare the results of this study between treatments groups and we cannot draw conclusion about the safest or the most effectiveness treatment option for patients with MS. In summary, alemtuzumab, fingolimod, fumarate, natalizumab and teriflunomide are an effective and well-prognosis therapeutic method for patients with multiple sclerosis, in particular with relapsing-remitting MS.

WSTĘP

Stwardnienie rozsiane (SR) jest najczęstszą przewlekłą, demielinizacyjną chorobą ośrodkowego układu nerwowego (OUN) o nieznanej etiologii i prawdopodobnym podłożu autoimmunologicznym. Charakteryzuje się dużą zmiennością oraz trudnym do przewidzenia przebiegiem (1, 2). SR jest główną przyczyną niepełnosprawności neurologicznej i drugą przyczyną niepełnosprawności po urazach u młodych dorosłych (2, 3). Choroba może zostać rozpoznana w każdym wieku, przy czym najwięcej zachorowań notuje się między 20. a 40. rokiem życia (4), a szczyt zachorowań przypada na 30. rok życia (5). Choroba ta dotyczy głównie osób młodych, w związku z czym stanowi ogromny problem społeczny, jak również wyzwanie dla współczesnej medycyny (5). SR charakteryzuje duża zmienność

przebiegu, a rokowanie jest trudne do określenia i często ma charakter niepewny (1). Cechą charakterystyczną są widoczne w mózgu i rdzeniu kręgowym uszkodzenia w postaci utraty mieliny, oligodendrocytów, a także uszkodzenia oraz zwyrodnienia neuronów i aksonów (3, 6). SR jest obecnie chorobą nieuleczalną (3), a terapia polega głównie na: leczeniu objawowym (łagodzeniu objawów choroby), leczeniu rzutów choroby (łagodzeniu ich następstw) oraz leczeniu modyfikującym naturalny przebieg choroby (polegającym na zmniejszeniu liczby rzutów występujących w ciągu roku oraz opóźnieniu rozwoju niepełnosprawności) (1). Obecnie wyróżnia się dwie główne postacie SR: nawracająco-zwalniającą (u około 90% chorych) SR (NZSR) oraz pierwotnie postępującą (10%) SR (6). Ponadto wyróżnia się postacie: wtórnie postępującą SR oraz postępująco-nawracającą (4).

CEL PRACY

Celem niniejszego przeglądu jest przedstawienie nowoczesnych metod leczenia stwardnienia rozsianego w Europie.

MATERIAŁ I METODY

Źródło danych i metody wyszukiwania badań

Przeprowadzono przegląd systematyczny dostępnej literatury zgodnie z zasadami Cochrane Collaboration. Przeszukano medyczne bazy danych: MEDLINE/PubMed, EMBASE oraz Cochrane Central Register of Controlled Trials za okres do lutego 2014 roku (data przeszukania 21 lutego 2014 roku) oraz piśmiennictwo badań włączonych do analizy, zgodnie z wytycznymi Cochrane Handbook (7). Strategia wyszukiwania została przeprowadzona przy wykorzystaniu indeksacji synonimów MeSH (Medical Subject Headings) i Emtree (Elsevier's Life Science Thesaurus) oraz z wykorzystaniem operatorów logicznych Boole'a (tab. 1). Analizą objęto badania z randomizacją (ang. *randomized control trial* – RCT) fazy III o odpowiednio dużej populacji (> 100 osób) opublikowane w językach angielskim i polskim, oceniające skuteczność kliniczną i bezpieczeństwo stosowania alemtuzumabu, fingolimodu, fumaranu, natalizumabu lub teriflunomidu, w porównaniu z placebo (lub inną interwencją kontrolną) u chorych na SR. Do analizy włączono badania niezależnie od statusu i daty publikacji. Selekcja badań została przeprowadzona niezależnie przez dwóch analityków (P.K. i P.M.).

Tabela 1. Strategia wyszukiwania badań z randomizacją (21.02.2014).

Słowa kluczowe	
Problem zdrowotny:	(Multiple Sclerosis OR Sclerosis, Multiple OR MS OR Sclerosis, Disseminated OR Disseminated Sclerosis OR Multiple Sclerosis, Acute Fulminating OR Charcot disease OR disseminated sclerosis OR insular sclerosis OR multiple sclerosis, chronic progressive OR multiple sclerosis, relapsing-remitting OR primary progressive multiple sclerosis OR relapsing-remitting multiple sclerosis OR relapsing remitting multiple sclerosis OR sclerosis multiplex OR sclerosis, disseminated OR sclerosis, insular OR sclerosis, multiple OR secondary progressive multiple sclerosis)
Interwencja:	(Teriflunomide OR a 771726 OR a77-1726 OR a77 1726 OR a771726 OR aubagio OR hmr 1726 OR hmr1726 OR rs 61980 OR rs61980 OR su 0020 OR su0020) OR (Fingolimod hydrochloride OR FTY-720 OR FTY720 OR FTY 720 OR gilenia OR gilenya) OR (Alemtuzumab OR MabCampath OR Campath 1H OR monoclonal antibody Campath-1H OR Campath-1H OR Campath 1M OR Campath-1M OR Campath OR Campath 1G OR Campath-1G OR Campath-1-G OR campath 1 OR campath 1 monoclonal antibody OR CD52 monoclonal antibody OR ldp 103 OR ldp103 OR lemtrada OR mabcampath OR monoclonal antibody campath 1 OR monoclonal antibody CD52) OR (Natalizumab OR Antegren OR Tysabri OR Elan brand of natalizumab OR an 100226 OR an100226) OR (Dimethyl fumarate OR Dimethylfumarate OR Tecfidera OR FAG 201 OR FAG201 OR FAG-201 OR Fumaderm OR BG 00012 OR BG00012 OR BG-00012 OR BG 12 compound OR BG12 compound OR BG-12 compound)
Metodyka badań:	Baza PubMed: Humans, Randomized Controlled Trial; Baza Embase: Humans, Randomized Controlled Trial; Baza Cochrane – brak
Język:	polski, angielski

Synteza i analiza danych

Wyniki zmiennych dychotomicznych dla negatywnych punktów końcowych przedstawiono w postaci ryzyka względnego (ang. *relative risk* – RR) oraz – w przypadku wystąpienia istotności statystycznej – parametru bezwzględnego NNH (ang. *number needed to harm* – liczba pacjentów, których poddanie określonej interwencji przez określony czas wiąże się z wystąpieniem jednego dodatkowego niekorzystnego punktu końcowego) lub w sytuacji, gdy zastosowanie interwencji zmniejsza prawdopodobieństwo wystąpienia niekorzystnego punktu końcowego, w postaci parametru NNT (ang. *number needed to treat* – liczba pacjentów, których trzeba poddać danej interwencji przez określony czas, by uzyskać jeden dodatkowy korzystny punkt końcowy lub by zapobiec jednemu niekorzystnemu punktowi końcowemu) (8). Wyniki podano z 95% przedziałem ufności (ang. *confidence interval* – CI). Wszystkie obliczenia zostały wykonane przy użyciu oprogramowania Microsoft Office Excel 2007 (9).

WYNIKI

W wyniku przeglądu zidentyfikowano 368 rekordów. Do analizy włączono 9 RCT dotyczących oceny efektywności klinicznej i profilu bezpieczeństwa stosowania różnych metod leczenia SR (alemtuzumab – 2 RCT [10, 11], fumaran – 2 RCT [12-15], fingolimod – 2 RCT [16-19], natalizumab – 2 RCT [20-24], teriflunomid – 1 RCT [25-26]).

Alemtuzumab

Alemtuzumab to humanizowane monoklonalne przeciwciało IgG1 kappa skierowane przeciw glikoproteinie błony komórkowej CD52 (27, 28). Dostępne badania wskazują, że alemtuzumab wykazuje działanie immunomodulujące na drodze zmniejszenia liczebności i hamowania odtwarzania limfocytów. Ograniczenie liczby limfocytów T i B w krwiobiegu w wyniku działania alemtuzumabu i następujące po tym odtworzenie populacji może zmniejszać ryzyko nawrotu SR, co ostatecznie opóźnia progresję choroby (27). Alemtuzumab charakteryzuje minimalny wpływ na komórki układu odpornościowego (28).

Kliniczną skuteczność oraz profil bezpieczeństwa stosowania alemtuzumabu, w porównaniu z interferonem-β-1a (IFNβ-1a) u chorych na nawracającą postać SR oceniano w 2 RCT CARE-MS I (10) oraz CARE-MS II (szczegółowa charakterystyka badań przedstawiona została w tabeli 2). Analizą objęto 563 (CARE-MS I) i 840 (CARE-MS II) chorych w średnim wieku 35 lat. W badaniu CARE-MS II (11) pacjentom podawano alemtuzumab w dawce 12 mg lub 24 mg na dzień, jednak w analizie efektywności klinicznej autorzy opracowania uwzględnili jedynie mniejszą dawkę leku (11). Stosowanie alemtuzumabu wiązało się z rzadszym występowaniem rzutów choroby w porównaniu z IFNβ-1a (śr. 19 rzutów na 100 osobolat vs 46 rzutów na 100 osobolat). Dodatkowo badania wykazały zmniejszenie ryzyka nawrotu choroby w wyniku stosowania alemtuzumabu o 49-55% oraz zmniejszenie ryzyka wystąpienia utrwalonego pogorszenia sprawności ruchowej mierzony

Tabela 2. Charakterystyka zidentyfikowanych RCT.

Badanie (akronim)	Typ badania	N (grupa badana vs grupa kontrolna); % mężczyzn; średni wiek	Interwencja vs kontrola
CARE-MS I (10) 24 miesiące	RCT, III fazy, pojedynczo zamaskowane	N = 563 (376 vs 187) mężczyźni: 35,2% śr. wiek: 33,1 roku	Alemtuzumab: 12 mg vs Interferon-β-1a: 44 μg
CARE-MS II (11) 24 miesiące	RCT, III fazy, pojedynczo zamaskowane	N = 840 (596 vs 202) mężczyźni: 35,2% śr. wiek: 36,7 roku	Alemtuzumab: 12 mg lub 24 mg vs Interferon-β-1a: 44 μg
DEFINE (12, 13) 24 miesiące	RCT, III fazy, podwójnie zamaskowane, placebo kontrolne	N = 1234 (826 vs 408) mężczyźni: 26,4% śr. wiek: 38,5 roku	Fumarán: 240 mg/2 x lub 240 mg/3 x na dzień vs placebo
CONFIRM (14, 15) 96 tygodni	RCT, III fazy, podwójnie zamaskowane, placebo kontrolne	N = 1417 (704; 350 vs 363) mężczyźni: 29,9% śr. wiek: 37,3 roku	Fumarán: 240 mg/2 x lub 240 mg/3 x na dzień; glatiramer: 20 mg vs placebo
FREEDOMS (16, 17) 24 miesiące	RCT, wieloośrodkowe, III fazy, podwójnie zamaskowane, grupy równoległe, placebo kontrolne	N = 1272 (854 vs 418) mężczyźni: 30,1% śr. wiek: 37,1 roku	Fingolimod: 0,5 mg lub 1,25 mg vs placebo
TRANSFORMS (18, 19) 12 miesięcy	RCT, wieloośrodkowe, III fazy, podwójnie zamaskowane, podwójnie pozorowane, grupy równoległe	N = 1292 (857 vs 435) mężczyźni: 32,7% śr. wiek: 36,2 roku	Fingolimod: 0,5 mg lub 1,25 mg vs Interferon-β-1a: 30 μg
AFFIRM (20-23) 120 tygodni	RCT, III fazy, podwójnie zamaskowane, grupy równoległe, placebo kontrolne	N = 942 (627 vs 315) mężczyźni: 30,0% śr. wiek: 36,1 roku	Natalizumab: 300 mg vs placebo
SENTINEL (24) 120 tygodni	RCT, III fazy, podwójnie zamaskowane, grupy równoległe, placebo kontrolne	N = 1196 (589 vs 582) mężczyźni: 26,0% śr. wiek: 38,9 roku	Interferon-β-1a: 30 μg + Natalizumab: 300 mg vs Interferon-β-1a: 30 μg
TEMSO (25, 26) 108 tygodni	RCT, III fazy, podwójnie zamaskowane, grupy równoległe, placebo kontrolne	N = 1088 (725 vs 363) mężczyźni: 27,9% śr. wiek: 37,9 roku	Teriflunomid: 7 mg lub 14 mg vs placebo

za pomocą Rozszerzonej Skali Stanu Nieprawności¹ – średnio o 0,16 punktu w EDSS (tab. 3) (10, 11). Po okresie obserwacji wynoszącym 24 miesiące u pacjentów przyjmujących alemtuzumab stwierdzono ponad dwukrotnie większe prawdopodobieństwo przeżycia bez nawrotu choroby. Leczenie alemtuzumabem, w porównaniu z IFNβ-1a wiązało się z większym prawdopodobieństwem wystąpienia jakichkolwiek i poważnych działań niepożądanych, przy czym korzystniejszy profil bezpieczeństwa obserwowano w grupie stosującej mniejszą dawkę leku. Większość zgłaszanych działań niepożądanych charakteryzowało łagodne lub umiarkowane nasilenie, a do najczęściej zgłaszanych działań niepożądanych w wyniku zastosowania alemtuzu-

mabu należały: reakcje związane z infuzją leku (ból głowy, wysypka, gorączka), nawrót SR i zaburzenia czynności tarczycy (10, 11).

Fumarán

Fumarán (fumarán dimetylu – BG-12) jest to cząsteczka drugiej generacji pochodząca z naturalnie występującego kwasu fumaranowego. Dokładny mechanizm działania fumaranu nie został jeszcze poznany i stanowi przedmiot badań, przy czym badania eksperymentalne wskazują na jego właściwości immunomodulujące i neuroprotektoryjne (29). Działanie przeciwzapalne fumaranu związane jest z modulowaniem ekspresji cytokin prozapalnych i przeciwzapalnych,

Tabela 3. Alemtuzumab w porównaniu z interferonem-β-1a w leczeniu chorych na NZSR.

Akronim badania	Punkt końcowy	RR (95% CI)	NNT* (95%CI)
Alemtuzumab 12 mg vs Interferon-β-1a			
CARE-MS I (10)	Nawrót choroby w ciągu 2 lat	0,45 (0,32-0,63)	3 (3-4)
	Utrwalone pogorszenie sprawności ruchowej mierzone za pomocą EDSS**	0,75 (0,44-1,28)*	-
CARE-MS II (11)	Nawrót choroby w ciągu 2 lat	0,51 (0,39-0,65)	3 (3-3)
	Utrwalone pogorszenie sprawności ruchowej mierzone za pomocą EDSS**	0,64 (0,44-0,93)*	15 (8-92)

*Obliczone przez autorów opracowania na podstawie rzeczywistej liczby punktów końcowych zaobserwowanych w badanych grupach.

**Pogorszenie sprawności ruchowej ≥1,5 punktu w skali EDSS utrzymujące się przez co najmniej 6 miesięcy.

¹Rozszerzona Skala Stanu Nieprawności (ang. *Expanded Disability Status Scale* – EDSS) – najczęściej stosowana skala oceny nieprawności związanej z SR. Jest to skala porządkowa, obejmująca zakres 0-10 co pół punktu, gdzie 0 oznacza brak objawów, a 10 – zgon spowodowany chorobą. Zakres 0-5,5 punktu – chory chodzi samodzielnie, 6,0-6,5 punktu – chory chodzi z podparciem, ≥ 7,0 punktów – chory przemieszcza się za pomocą wózka inwalidzkiego lub nie jest w stanie opuścić łóżka.

natomiast neuroprotektoryjne prawdopodobnie wynika z aktywacji czynnika jądrowego Nrf2, który odpowiedzialny jest między innymi za pośredniczenie w odpowiedzi komórkowej na stres oksydacyjny (30, 31).

Odnaleziono 2 RCT (DEFINE [12, 13], CONFIRM [14, 15]), w których porównywano efektywność kliniczną i bezpieczeństwo stosowania fumaranu, w porównaniu z placebo (tab. 2). W badaniach wzięło udział łącznie 2651 chorych na NZSR w średnim wieku 38 lat. Stosowanie fumaranu (240 mg/2 x lub 3 x/dzień) wiązało się ze zmniejszeniem ryzyka wystąpienia nawrotu choroby w ciągu 2 lat o 23-41% oraz zmniejszeniem ryzyka utrwalonego pogorszenia sprawności ruchowej o 23-40% (12, 14). W badaniu DEFINE po okresie obserwacji wynoszącym 24 miesiące zaobserwowano rzadsze występowanie rzutów choroby w grupie stosującej fumaran, w porównaniu z placebo (średnio 18 rzutów na 100 osobolat vs 36 rzutów na 100 osobolat) (12). Również drugie zidentyfikowane badanie (CONFIRM) wykazało przewagę fumaranu nad placebo w zakresie tego punktu końcowego (średnio 21 vs 40 rzutów na 100 osobolat) (14) (tab. 4). Analiza profilu bezpieczeństwa nie wykazała znamiennej różnicy w zakresie częstości występowania działań niepożądanych ogółem, przy czym stosowanie fumaranu wiązało się ze zmniejszonym ryzykiem wystąpienia poważnych działań niepożądanych o 11-28%. Większość obserwowanych działań niepożądanych charakteryzowało łagodne lub umiarkowane nasilenie. Do najczęściej zgłaszanych działań niepożądanych w wyniku stosowania fumaranu należały: uderzenia ciepła, zaburzenia żołądkowo-jelitowe (biegunka, nudności, wymioty, ból w okolicy nadbrzusza, ból brzucha), zakażenia górnych dróg oddechowych, zaczerwienienia, białkomociz i świąd (12, 14).

Fingolimod

Fingolimod (FTY-720) jest doustnym lekiem immunomodulującym, który wiąże się z receptorami sfingozyno-1-fosforanu zlokalizowanymi na limfocytach T i B oraz na komórkach nerwowych OUN. Jego działanie polega na powstrzymaniu uwalniania limfocytów z węzłów chłonnych, zmniejszając tym samym liczbę autoagresywnych komórek w ośrodkowym układzie nerwowym i hamując stan zapalny (32).

Zidentyfikowano 2 RCT dotyczące skuteczności i bezpieczeństwa stosowania fingolimodu w leczeniu chorych na NZSR (FREEDOMS [16, 17], TRANSFORMS [18, 19]) (tab. 2). Badaniem FREEDOMS (16) objęto 1272 chorych na NZSR, u których stosowano fingolimod (0,5 mg/dzień lub 1,25 mg/dzień), w porównaniu z placebo. Po 2 latach leczenia w grupach przyjmujących fingolimod stwierdzono rzadsze występowanie rzutów choroby (średnio 17 rzutów na 100 osobolat vs 40 rzutów na 100 osobolat) oraz zmniejszenie ryzyka utrwalonego pogorszenia sprawności ruchowej. Skuteczność obu dawek fingolimodu była porównywalna. Leczenie fingolimodem, w porównaniu z placebo wiązało się z częstszym występowaniem działań niepożądanych. Najczęściej obserwowano: zakażenie dolnych dróg oddechowych, bradykardię, zwiększenie aktywności enzymów wątrobowych w surowicy, leukopenię i limfopenię (16) (tab. 5).

Tabela 4. Fumaran w porównaniu z placebo w leczeniu chorych na NZSR.

Akronim badania	Punkt końcowy	RR* (95% CI)	NNT/NNH* (95%CI)
Fumaran 240 mg/2 x dziennie vs placebo			
DEFINE (12)	Nawrót choroby w ciągu 2 lat	0,59 (0,49-0,71)	6 (4-8)
CONFIRM (14)		0,71 (0,58-0,87)	9 (6-20)
DEFINE (12)	Pogorszenie sprawności ruchowej	0,60 (0,45-0,78)	10 (7-19)
CONFIRM (14)		0,77 (0,54-1,09)	-
DEFINE (12)	Jakiegokolwiek działania niepożądane	1,02 (0,99-1,05)	-
CONFIRM (14)		1,03 (0,99-1,07)	-
DEFINE (12)	Poważne działania niepożądane	0,86 (0,65-1,13)	-
CONFIRM (14)		0,78 (0,58-1,05)	-
Fumaran 240 mg/3 x dziennie vs placebo			
DEFINE (12)	Nawrót choroby w ciągu 2 lat	0,77 (0,54-1,09)	-
CONFIRM (14)		0,59 (0,47-0,73)	6 (5-10)
DEFINE (12)	Pogorszenie sprawności ruchowej	0,67 (0,52-0,87)	12 (7-31)
CONFIRM (14)		0,76 (0,54-1,09)	-
	Jakiegokolwiek działania niepożądane	1,00 (0,97-1,04)	-
CONFIRM (14)		1,00 (0,96-1,05)	-
DEFINE (12)	Poważne działania niepożądane	0,89 (0,55-0,99)	NNH = 19 (10-565)
CONFIRM (14)		0,72 (0,53-0,99)	NNH = 17 (9-296)

*Obliczone przez autorów opracowania na podstawie rzeczywistej liczby punktów końcowych zaobserwowanych w badanych grupach.

W badaniu TRANSFORMS (18) wzięło udział 1292 chorych, którzy otrzymywali fingolimod w dawce 1,25 mg lub 0,5 mg/dzień albo IFN β -1a 30 μ g/tydzień. Po 12 miesiącach leczenia w grupach leczonych fingolimodem, w porównaniu z grupą leczoną IFN β -1a stwierdzono rzadsze występowanie rzutów (średnio 18 rzutów na 100 osobolat vs 33 rzuty na 100 osobolat), przy czym nie zaobserwowano istotnej różnicy między grupami pod względem wpływu ryzyka utrwalonego pogorszenia sprawności ruchowej. Stosowanie fingolimodu w większej dawce wiązało się ze zwiększeniem ryzyka wystąpienia poważnych działań niepożądanych, a przyjmowanie IFN β -1a wiązało się z większym ryzykiem wystąpienia objawów grypopodobnych i gorączki (18). W dalszej części badania TRANSFORMS (19) analizą objęto 1027 chorych, którzy kontynuowali leczenie fingolimodem w tej samej dawce oraz chorych przyjmujących poprzednio IFN β -1a przydzielono losowo do grupy fingolimodu 0,5 mg lub 1,25 mg/dzień. Stosowanie fingolimodu przez 2 lata w dawce 1,25 mg było równie skuteczne i bezpieczne jak w dawce 0,5 mg. Podobnie w grupie chorych otrzymujących IFN β -1a w pierwszym roku badania fingolimod stosowany przez kolejne 12 miesięcy w dawce 1,25 mg był podobnie skuteczny jak w dawce 0,5 mg, przy czym większa dawka wiązała się z większym ryzykiem wystąpienia poważnych działań niepożądanych. Wyniki tego badania należy jednak interpretować z ostrożnością, ponieważ po 2 latach obserwacji ukończyło je jedynie 68% chorych ze wszystkich biorących udział (19).

Tabela 5. Fingolimod w porównaniu z placebo lub IFN β -1a w leczeniu chorych na NZSR.

Akronim badania	Punkt końcowy	RR* (95% CI)	NNT/NNH* (95%CI)
FREEDOMS (16)	Fingolimod 0,5 mg vs placebo		
	Nawrót choroby w ciągu 2 lat	0,54 (0,46–0,64)	5 (4–7)
	Pogorszenie sprawności ruchowej	0,73 (0,56–0,95)	16 (9–97)
	Poważne działania niepożądane	0,76 (0,52–1,10)	–
	Fingolimod 1,25 mg vs placebo		
	Nawrót choroby w ciągu 2 lat	0,47 (0,39–0,56)	4 (3–5)
	Pogorszenie sprawności ruchowej	0,68(0,52–0,90)	14 (8–46)
	Poważne działania niepożądane	0,89 (0,62–1,27)	–
TRANSFORMS (18)	Fingolimod 0,5 mg vs Interferon-β-1a		
	Nawrót choroby	0,58 (0,45–0,75)	9 (6–15)
	Pogorszenie sprawności ruchowej	0,74 (0,45–1,22)	–
	Jakiegokolwiek działania niepożądane	0,94 (0,89–0,98)	NNH = 18 (11–70)
	Poważne działania niepożądane	1,21 (0,72–2,02)	–
	Fingolimod 1,25 mg vs Interferon-β-1a		
	Nawrót choroby	0,65 (0,51–0,83)	10 (7–22)
	Pogorszenie sprawności ruchowej	0,85 (0,52–1,37)	–
	Jakiegokolwiek działania niepożądane	0,99 (0,95–21,03)	–
	Poważne działania niepożądane	1,85 (1,15–2,96)	NNH = 21 (12–82)

*Obliczone przez autorów opracowania na podstawie rzeczywistej liczby punktów końcowych zaobserwowanych w badanych grupach.

NATALIZUMAB

Natalizumab jest rekombinowanym humanizowanym monoklonalnym przeciwciałem skierowanym przeciwko molekułom adhezyjnej VLA-4, znajdującej się na śródbłonku naczyń mózgowych. Natalizumab blokuje molekuły i zmniejsza możliwości migracji leukocytów do przestrzeni śródmiażdżowej mózgu (32, 33). Zablockowanie interakcji molekularnych ogranicza aktywność zapalną w mózgu u pacjentów ze stwardnieniem rozsianym i hamuje dalszą rekrutację komórek odpornościowych do tkanki zapalnej, zmniejszając w ten sposób tworzenie lub powiększenie się ognisk chorobowych w SR (32). Po ogłoszeniu wstępnych wyników dotyczących stosowania natalizumabu i uzyskaniu rejestracji w leczeniu NZSR (badanie SENTINEL) okazało się, że u 2 pacjentów wystąpiło zapalenie mózgu spowodowane oportunistycznym wirusem JVC (ang. *progressive multifocal leucoencephalopathy* – PML) (33). Analiza wyników zidentyfikowanych RCT dotyczących stosowania natalizumabu nie wykazała powyższej zależności.

Odnaleziono 2 RCT dotyczące oceny efektywności klinicznej i profilu bezpieczeństwa stosowania natalizumabu w leczeniu chorych na NZSR (AFFIRM [20–23], SENTINEL [24]) (tab. 2). W badaniu AFFIRM (20) wzięło udział 942 pacjentów, u których stosowano natalizumab (300 mg/miesiąc), w porównaniu z placebo. Po okresie obserwacji wynoszącym 120 tygodni w grupie leczonej natalizumabem zaobserwowano rzadsze występowanie nawrotu choroby (23 rzuty choroby na 100 osobolat vs 73 rzuty na 100 osobolat) oraz zmniejszenie ryzyka wystąpienia utrwalonego pogorszenia sprawności ruchowej mierzonej za pomocą skali EDSS o 41%. Stosowanie natalizumabu wiązało się z istotnym statystycznie, większym prawdopodobieństwem wystąpienia reakcji alergicznych i zmęczenia. Do najczęściej zgłaszanych działań niepożądanych w wyniku podania natalizumabu należą: nawrót SR, kamica żółciowa, konieczność leczenia rehabilitacyjnego (20) (tab. 6). Badaniem SENTINEL (24) objęto 1196 chorych, u których stosowano natalizumab w skojarzeniu z interferonem- β -1a – grupa interwencyjna (300 mg + 30 μ g), w porównaniu z interferonem- β -1a – grupa kontrolna (30 μ g). Po 120 tygodniach leczenia w grupie eksperymentalnej, w porównaniu z grupą kontrolną stwierdzono rzadsze występowanie rzutów (34 rzuty na 100 osobolat vs 75 rzutów na 100 osobolat). Dodatkowo stwierdzono zmniejszenie ryzyka nawrotu choroby w wyniku stosowania natalizumabu w skojarzeniu z interferonem- β -1a o 38–43% oraz zmniejszenie ryzyka wystąpienia utrwalonego pogorszenia sprawności ruchowej (tab. 6) (24). Leczenie natalizumabem w skojarzeniu z interferonem- β -1a, w porównaniu z samym interferonem- β -1a wiązało się z częstszym występowaniem działań niepożądanych, przy czym najczęściej obserwowano: zapalenie gardła, zatok, obrzęki obwodowe oraz niepokój (24).

Teriflunomid

Teriflunomid jest substancją o właściwościach immunomodulujących i przeciwzapalnych, która w sposób wybiórczy i odwracalny hamuje aktywność mitochondrialnego enzymu – dehydrogenazy dihydroorotanowej, wymaganej do syntezy pirymidyny *de novo*. W efekcie teriflunomid zmniejsza proliferację podzielonych komórek, które do ekspansji potrzebują syntezy pirymidyny *de novo*. Dokładny mechanizm terapeutycznego działania teriflunomidu w leczeniu SR nie jest do końca poznany, ale prawdopodobnie może on odpowiadać za redukcję liczby limfocytów (34).

W ramach przeprowadzonego przeglądu zidentyfikowano 1 RCT o akronimie TEMSO (25, 25) obejmujące 1088 chorych na NZSR (tab. 2), u których stosowano teriflunomid (7 mg lub 14 mg/1 x dz.), w porównaniu z placebo. Po okresie obserwacji wynoszącym 108 tygodni w grupach leczonych teriflunomidem, w porównaniu z grupą placebo obserwowano zmniejszenie częstości rzutów choroby o 31,5% (średnio 0,37 rzutu na 100 osobolat vs 54 rzuty na 100 osobolat). Leczenie teriflunomidem wiązało się z mniejszym prawdopodobieństwem utrwalonego pogorszenia sprawności ruchowej o 21–26% (tab. 7). Profil bezpieczeństwa teriflunomidu był zbliżony do placebo. Nie stwierdzono istotnej różnicy między grupami pod względem ryzyka

Tabela 6. Natalizumab w porównaniu z placebo lub IFN β -1a w leczeniu chorych na NZSR.

Akronim badania	Punkt końcowy	RR* (95% CI)	NNT/NNH* (95%CI)
AFFIRM (20)	Natalizumab vs placebo		
	Nawrót choroby po 1 roku	0,50 (0,41-0,62)	6 (4-8)
	Nawrót choroby po 2 roku	0,51 (0,44-0,61)	4 (4-6)
	Utrwalone pogorszenie sprawności ruchowej mierzone za pomocą EDSS**	0,59 (0,46-0,75)	9 (6-17)
	Jakiegokolwiek działania niepożądane	0,99 (0,96-1,02)	-
	Poważne działania niepożądane	0,79 (0,61-1,02)	-
SENTINEL (24)	Natalizumab + Interferon-β-1a vs Interferon-β-1a		
	Nawrót choroby po 1 roku	0,57 (0,49-0,66)	5 (4-7)
	Nawrót choroby po 2 roku	0,62 (0,55-0,70)	5 (4-6)
	Utrwalone pogorszenie sprawności ruchowej mierzone za pomocą EDSS**	0,79 (0,65-0,96)	17 (9-91)
	Jakiegokolwiek działania niepożądane	1,00 (0,99-1,01)	-
	Poważne działania niepożądane	0,86 (0,68-1,08)	-

*Obliczone przez autorów opracowania na podstawie rzeczywistej liczby punktów końcowych zaobserwowanych w badanych grupach.

**Pogorszenie sprawności ruchowej ≥ 1 punkt od wartości początkowej $= 0$ w skali EDSS utrzymujące się przez co najmniej 12 lub 24 tygodnie.

występowania jakichkolwiek (90 vs 88%) oraz poważnych (15 vs 13%) działań niepożądanych, przy czym najczęściej obserwowano zapalenie nosogardzieli, ból głowy, biegunkę i zmęczenie (25).

DYSKUSJA I WNIOSKI

Przeprowadzony przegląd systematyczny obejmował analizę leków (alemtuzumab, fingolimod, fumaran, natalizumab, teriflunomid) uznanych przez autorów za nowoczesne metody leczenia SR. Wszystkie wymienione powyżej substancje są obecnie dopuszczone do obrotu na terenie Unii Europejskiej, a ich wskazanie rejestracyjne odnosi się do leczenia stwardnienia rozsianego. Zgodnie z informacjami uzyskanymi od Europejskiej Agencji ds. Leków (European Medicines Agency – EMA) natalizumab został dopuszczony do obrotu w 2006 roku, natomiast pozostałe leki między 2011 a 2014 rokiem (fumaran uzyskał autoryzację 30.01.2014 roku). Spośród analizowanych substancji natalizumab jest pierwszym dostępnym lekiem monoklonalnym dopuszczonym do stosowania u chorych z NZSR (35). Biorąc pod uwagę niniejszy aspekt, należy oczekiwać, że alemtuzu-

Tabela 7. Teriflunomid w porównaniu z placebo w leczeniu chorych na NZSR.

Akronim badania	Punkt końcowy	RR* (95% CI)	NNT* (95%CI)
TEMSO (25)	Teriflunomid 7 mg vs placebo		
	Nawrót choroby	0,83 (0,71-0,97)	12 (7-79)
	Utrwalone pogorszenie sprawności ruchowej ≥ 12 tygodni	0,79 (0,61-1,03)	-
	Jakiegokolwiek działania niepożądane	1,02 (0,97-1,07)	-
	Poważne działania niepożądane	1,11 (0,76-1,60)	-
	Teriflunomid 14 mg vs placebo		
	Nawrót choroby	0,78 (0,66-0,92)	9 (6-25)
	Utrwalone pogorszenie sprawności ruchowej ≥ 12 tygodni	0,74 (0,57-0,96)	14 (8-103)
Jakiegokolwiek działania niepożądane	1,04 (0,99-1,09)	-	
Poważne działania niepożądane	1,25 (0,87-1,79)	-	

*Obliczone przez autorów opracowania na podstawie rzeczywistej liczby punktów końcowych zaobserwowanych w badanych grupach.

mał, fingolimod, fumaran oraz teriflunomid charakteryzują również wysoka skuteczność i akceptowany profil bezpieczeństwa jak natalizumab.

Celem niniejszej pracy było przeprowadzenie przeglądu systematycznego dostępnych badań oraz ocena skuteczności klinicznej i bezpieczeństwa stosowania: alemtuzumabu, fingolimodu, fumaranu, natalizumabu oraz teriflunomidu w leczeniu pacjentów z SR. W przeprowadzonym przeglądzie wykazano wyższą efektywność kliniczną analizowanych substancji nad placebo lub interferonem- β -1a.

Z punktu widzenia metodologicznego szczególnie ważne są wyniki badań, które porównują substancję czynną z inną substancją czynną, a nie z placebo. W związku z tym wydaje się, że bezpośrednie porównanie alemtuzumabu, fingolimodu, natalizumabu z interferonem- β -1a dostarcza najistotniejszych wniosków. Na podstawie zidentyfikowanych badań (4 RCT [10, 11, 18, 24]) można stwierdzić, że stosowanie alemtuzumabu, fingolimodu i natalizumabu, w porównaniu z interferonem- β -1a wiązało się z większą korzyścią kliniczną dla pacjenta, tj. zmniejszeniem ryzyka nawrotu choroby i ryzyka pogorszenia stopnia niepełnosprawności. Odsetek pacjentów, u których doszło do zmniejszenia ryzyka nawrotu choroby dzięki zastosowaniu alemtuzumabu, wynosił 49-55% (10, 11), natomiast w przypadku zastosowania fingolimodu – 35-42% (18), natalizumabu – 38-43% (24). Z kolei wyniki odnoszące się do wpływu na pogorszenie sprawności ruchowej we wszystkich przypadkach charakteryzowała większa skuteczność. Przyjmowanie alemtuzumabu wiązało się ze zmniejszeniem ryzyka utrwalonego pogorszenia

sprawności ruchowej o 25-36% (10, 11), natomiast fingolimodu o 15-26% (18) i natalizumabu o 21% (24). Wyniki przeprowadzonego przeglądu przemawiają również na korzyść fingolimodu, fumaranu, natalizumabu oraz teriflunomidu nad stosowaniem placebo w zakresie analizowanych punktów końcowych badań (12, 14, 16, 20, 25).

Analiza profilu bezpieczeństwa wykazała większe prawdopodobieństwo wystąpienia jakichkolwiek i ciężkich działań niepożądanych w przypadku stosowania alemtuzumabu i fingolimodu, przy czym fingolimod charakteryzował nieznacznie bezpieczniejszy profil od interferonu- β -1a pod względem ryzyka wystąpienia jakichkolwiek działań niepożądanych, a natalizumab w zakresie poważnych działań niepożądanych (10, 11, 18, 24). Ocena bezpieczeństwa fingolimodu, fumaranu, natalizumabu i teriflunomidu wykazała zbliżony profil do placebo pod względem ryzyka wystąpienia jakichkolwiek i poważnych działań niepożądanych (12, 14, 16, 20, 25).

Pomimo szczegółowych wyników opisanych w zidentyfikowanych badaniach, kilka zagadnień wciąż wymaga głębszej analizy. Głównym ograniczeniem wynikającym z metodologii odnalezionych badań był krótki okres obserwacji wynoszący średnio około 24 miesięcy. Przy tak stosunkowo krótkim czasie nie jest możliwe dokładne zbadanie rzeczywistego wpływu leków, zarówno na postęp choroby przewlekłej, który charakteryzuje się dużą zmiennością, jak i na bezpieczeństwo leczenia i możliwe działania niepożądane. Dokładniejszej oceny wymaga również wpływ analizowanych interwencji na jakość życia pacjentów z SR. Dostępne

wyniki badań nie pozwalają ocenić czasu utrzymywania się efektu terapeutycznego po odstawieniu leku, nieznane także pozostają ewentualne zagrożenia związane z zaprzestaniem przyjmowania leku, jak np. nasilenie objawów czy zaostrzenie przebiegu choroby. Na podstawie dostępnych doniesień naukowych dotyczących natalizumabu wiadomo, że aktywność choroby wraca do wyjściowego poziomu po okresie wynoszącym 4-7 miesięcy. Warto zauważyć, że okres ten nie jest związany z czasem stosowania terapii natalizumabem czy stosowaniem innych leków w leczeniu SR (36, 37).

Należy jednak podkreślić, że nie można dokonać bezpośredniego porównania wyników przedstawionych badań pomiędzy sobą, w związku z czym przy wyciąganiu wniosków nie można jednoznacznie stwierdzić, który z analizowanych leków jest skuteczniejszy i bezpieczniejszy w leczeniu chorych na SR. Interpretacja uzyskanych wyników w ramach przeprowadzonego przeglądu powinna być ostrożna z uwagi na fakt, że pomimo wielu dostępnych badań dotyczących oceny efektywności klinicznej interferonu- β -1a, nadal brak jednoznacznych dowodów oceniających jego wpływ na odległy postęp niepełnosprawności w SR (36, 37).

Podsumowując, alemtuzumab, fingolimod, fumaran, natalizumab oraz teriflunomid stanowią skuteczną i dobrze rokującą opcję terapeutyczną u chorych na stwardnienie rozsiane, a szczególnie z emitującą rzutową postacią SR. Pacjenci przyjmujący te leki odnoszą znaczne korzyści z obniżenia ryzyka nawrotu choroby i pogorszenia sprawności ruchowej, przy akceptowanym profilu bezpieczeństwa.

Adres do korespondencji:

Paweł Kawalec
Zakład Gospodarki Lekami
Instytut Zdrowia Publicznego
Wydział Nauk o Zdrowiu CM UJ
ul. Grzegórzecka 20, 31-531 Kraków
tel. +48 (12) 424-13-90
fax +48 (12) 421-74-47
pawel.kawalec@uj.edu.pl

PIŚMIENNICTWO

1. Członkowska A, Mirowska-Guzel D: Stwardnienie rozsiane. [W:] Gajewski P (red.): *Interna Szczeklika* 2013. Medycyna Praktyczna, Kraków 2013; 2130-2134.
2. Kantarci OH, Pirko I, Rodriguez M: Novel immunomodulatory approaches for the management of multiple sclerosis. *Clin Pharmacol Ther* 2014; 95(1): 32-44.
3. Rice CM, Kemp K, Wilkins A et al.: Cell therapy for multiple sclerosis: an evolving concept with implications for other neurodegenerative diseases. *Lancet* 2013; 382: 1204-1213.
4. Selmaj K: Stwardnienie rozsiane – kryteria diagnostyczne i naturalny przebieg choroby. *Polski Przegląd Neurologiczny* 2005; 1(3): 99-105.
5. Szafirska M, Urbanik A, Róg T: Zmiany metaboliczne w obrębie blaszek u chorych na stwardnienie rozsiane – ocena w technice protonowej spektroskopii MR (HMRS). *Przegl Lek* 2013; 70(5): 328-334.
6. Bellavista E, Santoro A, Galimberti D et al.: Current Understanding on the Role of Standard and Immunoproteasomes in Inflammatory/Immunological Pathways of Multiple Sclerosis. *Autoimmune Diseases* 2014.
7. Higgins JPT, Green S: *Cochrane handbook for systematic reviews of interventions*. Cochrane Collaboration and John Wiley 2008.
8. Leśniak W, Brożek J, Jaeschke R et al.: Ocena informacji o metodzie leczniczej, rokowaniu lub szkodliwości – miary efektu. [W:] Gajewski P, Jaeschke R, Brożek J (red.): *Podstawy EBM – czyli medycyny opartej na danych naukowych dla lekarzy i studentów medycyny*. Medycyna Praktyczna, Kraków 2008: 75-82.
9. Microsoft Office Excel 2007 [Program komputerowy], Microsoft® Corporation.
10. Cohen JA, Coles AJ, Arnold DL et al.: 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.
11. Coles AJ, Twyman CL, Arnold DL et al.: Alemtuzumab for patients with relapsing multiple sclerosis after disease-modifying therapy: a randomised controlled phase 3 trial. *Lancet* 2012; 380: 1829-1839.
12. Gold R, Kappos L, Arnold DL et al.: Placebo-Controlled Phase 3 Study of Oral BG-12 for Relapsing Multiple Sclerosis. *N Engl J Med* 2012; 367: 1098-1107.
13. Bar-Or A, Gold R, Kappos L et al.: Clinical efficacy of BG-12 (dimethyl fumarate) in patients with relapsing-remitting

multiple sclerosis: subgroup analyses of the DEFINE study. *J Neurol* 2013; 260(9): 2297-2305. 14. Fox RJ, Miller DH, Phillips JT et al.: Placebo-Controlled Phase 3 Study of Oral BG-12 or Glatiramer in Multiple Sclerosis. *N Engl J Med* 2012; 367: 1087-1097. 15. Hutchinson M, Fox RJ, Miller DH et al.: Clinical efficacy of BG-12 (dimethyl fumarate) in patients with relapsing-remitting multiple sclerosis: subgroup analyses of the CONFIRM study. *J Neurol* 2013; 260(9): 2286-2296. 16. Kappos L, Radue EW, O'Connor P et al.: A Placebo-Controlled Trial of Oral Fingolimod in Relapsing Multiple Sclerosis. *N Engl J Med* 2010; 362: 387-401. 17. Devonshire V, Havrdova E, Radue EW et al.: Relapse and disability outcomes in patients with multiple sclerosis treated with fingolimod: subgroup analyses of the double-blind, randomised, placebo-controlled FREEDOMS study. *Lancet Neurol* 2012; 11: 420-428. 18. Cohen JA, Barkhof F, Comi G et al.: Oral Fingolimod or Intramuscular Interferon for Relapsing Multiple Sclerosis. *N Engl J Med* 2010; 362: 402-415. 19. Khatri B, Barkhof F, Comi G et al.: Comparison of fingolimod with interferon beta-1a in relapsing-remitting multiple sclerosis: a randomized extension of the TRANSFORMS study. *Lancet Neurol* 2011; 10: 520-529. 20. 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. 21. O'Connor PW, Goodman A, Willmer-Hulme AJ et al.: Randomized multicenter trial of natalizumab in acute MS relapses – Clinical and MRI effects. *Neurology* 2004; 62(11): 2038-4203. 22. Phillips JT, Giovannoni G, Lublin FD et al.: Sustained improvement in Expanded Disability Status Scale as a new efficacy measure of neurological change in multiple sclerosis: treatment effects with natalizumab in patients with relapsing multiple sclerosis. *Mult Scler* 2011; 17(8): 970-979. 23. Havrdova E, Galetta S, Hutchinson M et al.: Effect of natalizumab on clinical and radiological disease activity in multiple sclerosis: a retrospective analysis of the Natalizumab Safety and Efficacy in Relapsing-Remitting Multiple Sclerosis (AFFIRM) study. *Lancet Neurol* 2009; 8: 254-260. 24. Rudick RA, Stuart WH, Calabresi PA et al.: Natalizumab plus Interferon Beta-1a for Relapsing Multiple Sclerosis. *N Engl J Med* 2006; 354: 911-923. 25. O'Connor P, Wolinsky JS, Confavreux C et al.: Randomized Trial of Oral Teriflunomide for Relapsing Multiple Sclerosis. *N Engl J Med* 2011; 365: 1293-1303. 26. Miller AE, O'Connor P, Wolinsky JS et al.: Pre-specified subgroup analyses of a placebo-controlled phase III trial (TEMSO) of oral teriflunomide in relapsing multiple sclerosis. *Multiple Sclerosis Journal* 2012; 18(11): 1625-1632. 27. Charakterystyka Produktu leczniczego LEMTRADA® (alemtuzumab). 28. Genzyme Corporation Online Newsroom. Genzyme's Lemtrada™ Approved in Canada for Treatment of Multiple Sclerosis 2013: 1-2. 29. Kawalec P, Mikrut A, Wiśniewska N et al.: The Effectiveness of Dimethyl Fumarate Monotherapy in the Treatment of Relapsing-remitting Multiple Sclerosis: A Systematic Review and Meta-analysis. *Current Neuropharmacology* 2014; 12(6): 256-268. 30. Oh J, O'Connor PW: Safety, Tolerability, and Efficacy of Oral Therapies for Relapsing-Remitting Multiple Sclerosis. *CNS Drugs* 2013; 27: 591-609. 31. Venci JV, Gandhi MA: Dimethyl Fumarate (Tecfidera): A New Oral Agent for Multiple Sclerosis. *Annals of Pharmacotherapy* 2013; 47(12): 1697-1702. 32. MP, Medycyna Praktyczna – Indeks Leków 2014. 33. Selmaj K: Leczenie przyczynowe stwardnienia rozsianego. *Polski Przegląd Neurologiczny* 2005; 1(3): 118-123. 34. Charakterystyka Produktu leczniczego Aubagio® (teriflunomid). 35. Rekomendacja nr 1/2013 z dnia 7 stycznia 2013 roku Prezesa AOTM w sprawie objęcia refundacją produktu leczniczego Tysabri® (natalizumab) w ramach programu lekowego „leczenie natalizumabem chorych ze stwardnieniem rozsianym (ICD-10 G35.0)”. 36. Fingolimod w leczeniu stwardnienia rozsianego – kontynuacja badania TRANSFORMS. *Medycyna Praktyczna Neurologia* 2011; (4): 75. Omówienie artykułu: Comparison of fingolimod with interferon beta-1a in relapsing-remitting multiple sclerosis: a randomized extension of the TRANSFORMS study. Khatri B, Barkhof F, Comi G et al.: *Lancet Neurology* 2011; 10: 520-529. 37. Fingolimod w porównaniu z interferonem β w leczeniu nawracająco-zwalniającej postaci stwardnienia rozsianego – badanie TRANSFORMS. *Medycyna Praktyczna Neurologia* 2010; 2: 78. Omówienie artykułu: Oral fingolimod or intramuscular interferon for relapsing multiple sclerosis. Cohen JA, Barkhof F, Comi G et al.: *The New England Journal of Medicine* 2010; 362: 402-415.

nadesłano: 07.07.2014
zaakceptowano do druku: 11.08.2014