

IMUNOMODULAČNÍ TERAPIE U SCLEROSIS MULTIPLEX

MUDr. Pavel Štourač, Ph.D.

Neurologická klinika LF MU, Centrum pro demyelinizační onemocnění, Neurologická klinika FN Brno-Bohunice

Imunomodulační terapie u sclerosis multiplex zahrnuje léčbu interferonem beta-1a, beta-1b a glatiramer acetátem. Jedná se o dlouhodobou léčbu zasahující na různých úrovních a různými mechanismy do imunopatogeneze choroby. Klinické ovlivnění přirozeného průběhu choroby spočívá ve snížení počtu atak a omezení jejich tíže, v redukci patologicky změněné tkáně CNS na MR a ve zpomalení progresu onemocnění. Léčba je indikována pro pacienty v atakovitě fázi onemocnění splňující kritéria biologické aktivity choroby. V současnosti jsou k dispozici čtyři typy imunomodulačních preparátů: interferon beta-1b (Betaferon), interferon beta-1a (Rebif 22 a 44), interferon beta-1a (Avonex) a glatiramer acetát (Copaxone). Klinický účinek těchto preparátů je prokázán studii splňujícími náročné metodologické postupy a statistické vyhodnocení, bez nichž není možno definitivně potvrdit či vyvrátit účinnost preparátu zejména u tak variabilně probíhající choroby jakou je sclerosis multiplex. V následujícím textu jsou shrnuty údaje týkající se podstatných aspektů jednotlivých studií zejména s ohledem na klinickou praxi.

Klíčová slova: sclerosis multiplex, imunomodulační terapie, interferon beta-1a, interferon beta-1b, glatiramer acetát.

Sclerosis multiplex (SM – syn. roztroušená skleróza mozkomíšní) je chronické zánětlivé onemocnění centrálního nervového systému (CNS). Onemocnění vede k poškození myelinových pochv, oligodendrocytů a v menší míře i k poškození axonů a neuronů samotných (16, 6). Klinické příznaky SM závisí na lokalizaci demyelinizačních plaků v CNS. V klinickém obraze obvykle nacházíme buď izolovaně nebo v různých kombinacích poruchy senzitivity, optickou neuritidu, pyramidové jevy, vegetativní (močový měchýř, střevo) a sexuální dysfunkce, kmenové a mozečkové příznaky. Průběh sclerosis multiplex můžeme rozdělit do čtyř podskupin:

1. Atakovitě – remitentní průběh je charakterizován časově ohraničenými atakami neurologické dysfunkce. Po několika dnech nebo týdnech trvání takovéto neurologické dysfunkce dochází k úpravě, i když ne vždy kompletní. V období mezi atakami je pacient neurologicky stabilizován.

2. Sekundárně chronicko-progresivní průběh začíná jako atakovitě-remitentní, avšak v dalším průběhu je postupně počet atak redukován a následuje deteriorace neurologických funkcí bez vazby na akutní ataky.

3. Primárně chronicko-progresivní průběh sclerosis multiplex je dán trvalou deteriorací neurologických funkcí bez přítomnosti akutních atak.

4. Atakovitě chronicko-progresivní průběh je charakterizovaný opět od počátku progresí ovšem s přítomností ojedinělých atak superponovaných na základní průběh.

Klinické terapeutické studie u sclerosis multiplex – cílové parametry a metodologické aspekty

Hlavním klinickým cílem jakékoliv terapie u sclerosis multiplex je zabránění nebo alespoň minimalizace dlouhodobé progresu neurologického poškození neboli ovlivnění tzv. disability. Zhoršování klinického stavu je však nejčastěji záležitostí pozvolného vývoje v průběhu několika let (16). Ve většině klinických terapeutických pokusů (doba trvání obvykle 2–5 let) byly pro vyhodnocení efektivity terapie použity krátkodobé cílové parametry a bude nutné ověřit jejich validitu v dlouhodobém sledování.

Nutno je zmínit některé statistické a interpretační aspekty terapeutických pokusů prováděných za účelem zjištění terapeutické hodnoty léčiva u sclerosis multiplex. Chyba typu I (nazývaná rovněž α -chyba) představuje míru pravděpodobnosti nesprávného závěru v tom smyslu, že neefektivní léčivo má terapeutickou hodnotu. Statistická hodnota $p < 0,05$ obvykle braná jako důkaz terapeutického účinku léčby se jeví jako příliš liberální parametr. Má-li být statistické hodnocení provedeno na 5% hladině statistické významnosti, měla by být použita hodnota $p < 0,01$ (7). Chyba typu II (β -chyba) určuje pravděpodobnost nesprávného závěru v tom smyslu, že efektivní, účinné léčivo nemá terapeutickou hodnotu (1). Je nutné si uvědomit, že negativní výsledky z malých klinických pokusů obecně poskytují velmi malou jistotu o tom, že léčivo je skutečně neúčinné. Je-li nejistota v tom, který ze sledovaných parametrů nejlépe koreluje s budoucím stavem neurologických funkcí, je za optimálnější postup považováno zhodnocení více klinických a MR (magnetická rezonance) parametrů a toto je považováno za pádnější důkaz než jednotlivé měření, zejména pokud se týká pouze subjektivního klinického skóre. Statistická významnost – signifikance se týká důvěryhodnosti stanoveného výsledku, zatímco míra resp. rozsah daného léčebného efektu odráží klinický význam léčby. Dalším aspektem imunomodulační léčby je skutečnost, že léčba zaměřená na omezení poškození CNS v budoucnosti nevede ke zlepšení již existujícího poškození, i když určité zlepšení je možné v důsledku vnitřních autoreparačních mechanismů.

Americká neurologická asociace vytvořila klasifikaci týkající se různých stupňů evidence neboli průkaznosti efektivity léčby (8):

A) Léčba je prokázána jako efektivní, neefektivní nebo škodlivá za daných podmínek v určité populaci. Takovýto stupeň evidence vyžaduje nejméně jednu studii třídy I. nebo dvě konzistentní studie třídy II.

B) Léčba je pravděpodobně efektivní, neefektivní nebo škodlivá za daných podmínek v určité populaci. Tento stupeň vyžaduje nejméně jednu studii třídy II. nebo tři konzistentní studie třídy III.

C) Je možné, že léčba je efektivní, neefektivní nebo škodlivá za daných podmínek. Tento stupeň vyžaduje nejméně dvě přesvědčivé studie třídy III.

D) Neúplná nebo sporná data – dle současných vědomostí je efektivita léčby neprokázána. Tato data jsou založena na nekontrolovaných studiích, kazuistikách a názorech expertů.

Uvedená klasifikace jednotlivých klinických studií je založena na požadovaných kritériích pro jednotlivé třídy.

Klinické studie I. třídy – jedná se o prospektivní, randomizované, dvojitě slepé studie v reprezentativní populaci s jasně stanovenými primárními cíli, s definovanými vylučovacími a zařazovacími kritérii, s odpovídajícím vysvětlením předčasného ukončení ve studii (tzv. dropout). Dále je požadována odpovídající charakteristika léčené skupiny a vhodné statistické zhodnocení rozdílů.

Klinická studie II. třídy – randomizovaná klinická studie, které chybí jedno z výše uvedených kritérií nebo prospektivní kontrolovaná studie souboru v reprezentativní populaci se splněním výše uvedených čtyř kritérií.

Klinické studie III. třídy – všechny klinické studie zahrnující kontrolní skupinu včetně např. kontrolní skupiny s definovaným přirozeným průběhem nemoci v reprezentativní populaci se zhodnocením nezávislým na pacientově léčbě.

Klinické studie IV. třídy – průkaz efektivity léčby je získán ze studií bez kontrolní skupiny, případně se jedná o soubory jednotlivých případů, kazuistiky nebo názory expertů.

Imunomodulační léčba – interferony beta-1b a 1a – výsledky klinických studií

Provedená studie s interferonem beta-1b (*Betaseron, Berlex Lab. NJ*) u atakovitě formy RR-SM (RR-SM tj. relapsing-remitting) byla randomizovanou, dvojitě slepou a placebem kontrolovanou studií zahrnující 372 pacientů s EDSS $\leq 5,5$ (třída I) (15). Pacienti dostávali buď placebo, nízkou dávku interferonu beta-1b (50 μg) nebo vysokou dávku interferonu beta-1b (250 μg). Při srovnání s placebo skupinou po dvou letech léčby došlo ke snížení počtu klinických atak o 34 %, medián počtu aktivních ložisek na T2 MR obrazech byl snížen o 83 % a medián objemu celkového T2 počtu ložisek (tzv. T2-disease burden) byl snížen o 17,3 %, tyto údaje se týkají vyšší dávky, tj. 250 μg interferonu beta-1b. Tato klinická studie prokázala redukci v počtu atak (klinicky i dle MR) u pacientů s atakovitým průběhem SM.

Studie s interferonem beta-1b (*Betaferon, Schering AG, Berlin*) u sekundárně chronicko-progresivního průběhu sclerosis multiplex byla randomizovaná, dvojitě slepá, placebem kontrolovaná studie ve 32 evropských centrech (třída I) (5). Do této studie bylo zařazeno 718 pacientů s EDSS v rozmezí od 3,0–6,5. Pacienti museli mít dva a více relapsů nebo nárůst na EDSS škále nejméně o jeden bod v předcházejících dvou letech. Po randomizaci dostávali pacienti buď placebo nebo interferon beta-1 b v dávce 250 μg každý druhý den po dobu tří let. Ve srovnání s placebo skupinou by-

lo prokázáno snížení progresu v EDSS o jeden bod (22 %), což bylo i primárním cílem studie. Počet klinických atak byl redukován o 31 %, počet aktivních ložisek na MR (tzv. počet MR atak) byl redukován o 78 % a objem postižené bílé hmoty na MR (disease burden) o 13 %. Tato studie prokázala, že léčba interferonem beta-1b zredukovala pravděpodobnost upoutání na invalidní vozík během studie o 33 %.

Uveřejněné výsledky jiné nedávno dokončené severoamerické studie (*Betaseron*) u sekundárně chronicko-progresivního průběhu sclerosis multiplex a zatím publikované v předběžné podobě naopak neprokázaly signifikantní redukci progresu v EDSS škále o jeden stupeň (třída I) (9). I tato studie však prokázala signifikantní redukci počtu klinických atak, aktivních ložisek na MR a objemu postižené bílé hmoty podobně jako studie předchozí. Příčina této zjevné diskrepance není zřejmá, i když někteří poukazují na signifikantně menší podíl pacientů s atakami v severoamerické studii, což by poukazovalo na efektivnější léčbu v atakovité fázi onemocnění. Tento názor zůstává v současnosti pouze spekulativní.

Studie s interferonem beta-1a (*Avonex, Biogen, Cambridge, USA*) byla rovněž multicentrickou, randomizovanou, placebem kontrolovanou studií (třída I) (11). Zahrnovala 301 pacientů s atakovitým průběhem sclerosis multiplex s EDSS v rozmezí od 1,0–3,0 s nejméně dvěma atakami v předcházejících třech letech. Pacienti byli léčeni dávkou 30 μg intramuskulárně 1× týdně. Tato studie byla ukončena dříve oproti původnímu předpokladu a po dobu dvou let tak bylo léčeno pouze 172 (57 %) pacientů. Ve srovnání s placebo skupinou léčba Avonexem vedla k redukci progresu o jeden stupeň na EDSS škále o 37 %. Počet klinických atak byl redukován o 18 % a počet MR atak hodnocený jako medián počtu gadolinium enhancujících lézí o 33 %. Celkový objem postižení bílé hmoty tzv. disease burden na T2 vážených obrazech byl v léčené skupině snížen o 9,6 %, což nedosahovalo statistické významnosti. Ve studii bylo rovněž zjištěno, že redukce počtu atak v prvním roce léčby (9,6 %) byla menší a statisticky nevýznamná ve srovnání s redukcí počtu atak u pacientů, kteří dokončili dva roky léčby předpokládající, že plný klinický efekt léčby může být dosažen po roce a více po zahájení terapie. Autoři však neposkytují žádné údaje o statistických rozdílech mezi klinickými daty v 1. a 2. roce léčby a ani v dalších klinických pokusech s interferony u RR-SM nebylo pozorováno opoždění v nástupu klinického účinku léčiva. Nejdůležitější skutečností v tomto smyslu je fakt, že podskupina pacientů s 32 % redukcí počtu atak po dvou letech měla podobnou redukci počtu atak (29 %) i po prvním roce léčby. Takovéto pozorování ukazuje, že podskupina pacientů, kteří dokončili dvouletou léčbu není reprezentativní pro soubor všech pacientů léčených ve studii. Lze shrnout, že v tomto klinickém pokuse interferon beta-1a redukuje biologickou aktivitu u RR-SM a opět se prokázalo, že léčba ovlivňuje počet atak výrazněji než progresi, resp. tíži choroby.

Další studie (třída I) s interferonem beta-1a (Avonex) v léčbě SPSM byla uvedena zatím v předběžné formě (2). Při použití testovací škály tzv. MSFC (multiple sclerosis functional composite) byl lék shledán účinným při dvouletém testování. V této studii však takovýto efekt nebyl prokázán při použití testovací škály tzv. EDSS (Expanded Disability Status Scale). Pozitivní léčebný efekt v MSFC testu byl primárně v důsledku pozitivního skóre v tzv. Nine Hole Peg testu zaměřeném na motoriku horních končetin. Další klinická studie s Avonexem byla provedena u pacientů s vysokým rizikem vzniku sclerosis multiplex s výsledkem prokazujícím, že časná léčba významně zpomaluje následnou konverzi do klinicky jisté sclerosis multiplex. Tento klinický pokus byl multicentrický, randomizovaný a placebem kontrolovaný s 383 pacienty sledovanými tři roky (třída I) (10). Pacienti měli nejméně jednu klinicky izolovanou CNS lézi, nejčastěji optickou neuritidu, míšní syndrom nebo kmenově – mozečkový syndrom. Na MR mozku museli mít nejméně dvě a nebo více klinicky němých ložisek. Výsledkem studie byla prokázaná redukce vzniku klinicky jisté SM o 44 %, což bylo primárním cílem studie. Na MR parametrech byl rovněž prokazatelný výrazný léčebný efekt. Počet nových lézí byl v léčené skupině redukován o 57 %, pokles v objemu T2 lézí o 14 % a počet enhancujících ložisek byl snížen o 67 %.

S interferonem beta-1a (*Rebif, Serono International SA, Švýcarsko*) byla provedena randomizovaná, dvojité slepá, multicentrická, placebem kontrolovaná studie (třída I) (13). Celkem bylo zařazeno 560 pacientů s RR-MS a EDSS skóre ≤ 5 . Tito pacienti měli dvě a více atak v předcházejících dvou letech. Pacienti byli léčeni po dobu dvou let dvěma různými dávkami, buď 22 μg nebo 44 μg interferonu beta-1a 3 \times týdně. Po dvou letech léčby byl pozorován významný efekt v klinických i MR parametrech. V dávce 132 μg /týdně ve srovnání s placebo skupinou došlo k redukci klinických atak o 32 %, což bylo primárním cílem studie. Počet tzv. MR atak vyjádřený mediánem počtu T2 aktivních ložisek byl redukován o 78 % a objem postižené bílé hmoty na T2 MR obrazech byl snížen o 14,7 % a dále prokázané zhoršení na EDSS škále o 1 stupeň bylo o 30 % nižší v léčené skupině. Tato studie prokázala, že interferon beta-1a redukuje biologickou aktivitu u RR-MS. Podobně jako ostatní studie byl prokázán léčebný efekt na klinickou i tzv. MR frekvenci atak. Jedná se o studii, která také prokázala snížení progresu o 1 stupeň v EDSS u RR-SM a vysoce signifikantní redukci v T2 obrazech postižení bílé hmoty.

Klinická studie s interferonem beta-1a (*Rebif*) u sekundárně chronicko-progresivního průběhu SM nenalezla statisticky signifikantní redukci progresu potvrzenou změnou alespoň o 1 stupeň v EDSS škále (14). Podobně jako ve studii s interferonem beta-1b (*Betaferon*) byla prokázaná signifikantní redukce v počtu klinických atak, MR atak tj. nových enhancujících ložisek a objemu postižené bílé hmoty na T2 vážených obrazech. Rovněž pokud byly výsledky studie reanalyzovány při rozdělení pacientů na skupinu s atakami a bez přítomnosti atak, opět bylo prokázano pozitivní ovlivnění progresu u pacientů s pří-

tomností atak. Toto zjištění do určité míry podporuje hypotézu, že interferon beta je účinnější u těch pacientů se sekundárně, chronicko-progresivním průběhem, kteří mají přítomné superponované ataky. Další studie s interferonem beta-1a (*Rebif*) byla multicentrickou randomizovanou studií (třída I) zahrnující 309 pacientů, kteří měli klinickou ataku suspektní z demyelinizačního původu buď monosymptomatickou nebo polysymptomatickou a byli sledováni následující dva roky (3). V léčené skupině (*Rebif* 22) oproti placebo skupině došlo ke snížení počtu pacientů přecházejících do klinicky jisté SM o 24 %, rovněž byl signifikantně snížen počet aktivních T2 ložisek na MR a redukován tzv. T2 disease burden. Tyto klinické studie zaměřené na ovlivnění pacientů s vysokým rizikem vzniku klinicky definitivní SM (přítomnost dvou atak) a prodlužující interval ke vzniku druhé ataky však neprokazují, že nakonec k vývoji definitivní SM nedojde, ani že časné léčení ovlivní příznivě dlouhodobou disabilitu. Vlastní prodloužení intervalu mezi 1. a 2. atakou je analogií k prodloužení intervalu mezi dalšími atakami neboli redukcí počtu atak, což je známo z přecházejících uvedených studií.

Imunomodulační léčba – glatiramer acetát – výsledky klinických studií

Glatiramer acetát (*Copaxone, Teva Pharmaceutical Industries Ltd., Izrael*) je polypeptid vytvořený ze čtyř aminokyseliny (glutamát, lysin, alanin a tyrosin). Přesný mechanismus působení není znám, ale je pravděpodobné ovlivnění řady imunologických mechanismů jako je indukce antigenně specifických supresorových T-lymfocytů, inhibice antigenní prezentace, kompetice o vazbu s myelinovým bazickým proteinem na T-buněčném receptoru a deviací CD4+T buněčné odpovědi z Th₁ k Th₂ fenotypu. Výsledky rozsáhlé, randomizované, dvojité slepé, placebem kontrolované klinické studie byly zveřejněny v roce 1995 (třída I). V této studii bylo zahrnuto 251 pacientů s atakovitým průběhem SM, kteří měli EDSS skóre $\leq 5,0$ a měli dva a více relapsů v předcházejících dvou letech (třída I) (12). Pacienti dostávali placebo nebo 20 mg glatiramer acetátu denně, podkožně po dobu tří let. Takováto léčba vedla k redukci klinických atak o 29 %, což bylo primárním cílem studie. Rovněž došlo k redukci progresu v EDSS škále (12 %), i když tento parametr nedosáhl statistické signifikantnosti. Evropsko-kanadská klinická studie byla zaměřena na MR parametry léčby Copaxonem (třída I) (4). Jednalo se o placebem kontrolovanou studii zahrnující 249 pacientů s atakovitou formou SM, kteří byli randomizováni opět do placebo a aktivně léčené skupiny dávkou 20 mg glatiramer acetátu denně po dobu devíti měsíců. Pacienti zařazení do této studie měli nejméně jednu klinickou ataku v předcházejících dvou letech, EDSS ≤ 5 a enhancující ložisko na MR snímku. Pacienti v léčené skupině měli snížení enhancujících ložisek o 35 %. Tento léčebný efekt byl patrný šest měsíců po zahájení léčby. Léčení pacientů mělo rovněž redukci klinických atak o 33 % a redukci tzv. burden load v T2 vážených obrazech MR o 8,3 % ve srovnání s placebo skupinou.

Nedávno byly uveřejněny výsledky 8leté, prospektivní, otevřené studie s Copaxonem referující výsledky 142 pacientů s atakovitou formou sclerosis multiplex, kteří byli původně zahrnuti do placebem kontrolované, randomizované studie a po odslepení dále pokračovali v léčbě. Všichni pacienti byli léčeni Copaxonem a byli srovnáni se skupinou pacientů dříve publikovaného přirozeného průběhu choroby (třída III). Autoři udávají stabilizaci klinického stavu hodnoceného dle EDSS (65,3 % pacientů léčených od počátku Copaxonem bylo stabilizováno nebo zlepšeno a 50,4 % bylo stabilizováno nebo zlepšeno ve skupině pacientů původně s placebem a dále léčených Copaxonem, EDSS \geq 1). Dále autoři referují významnou redukci v počtu klinických atak během sledování (relaps rate 0,16 u pacientů léčených od počátku Copaxonem ve srovnání s výchozí hodnotou 1,49 a 0,23 u pacientů původně v placebo skupině s výchozí hodnotou 1,45). Tento soubor představuje dosud

nejdéle léčenou skupinu pacientů uvedenými imunomodulačními preparáty. Avšak nepřítomnost souběžné kontrolní skupiny a 40 % dropout (srovnáno s počtem původně zahrnutých pacientů do randomizovaného, zaslepeného pokusu) činí definitivní interpretaci výsledků obtížnou.

Závěr

V současnosti je možno léčit indikovanou skupinu pacientů s atakovitým průběhem sclerosis multiplex imunomodulačními preparáty s prokázanou efektivitou. Kritéria k této léčbě byla stanovena Českou neurologickou společností ve spolupráci se Sekcí pro neuroimunologii, likvirologii a roztroušenou sklerózu. Terapie těmito preparáty je prováděna v Centrech pro demyelinizační onemocnění. Další terapeutické postupy zahrnující zejména léčbu akutních atak, dalších typů klinického průběhu SM a léčbu symptomatickou nejsou předmětem tohoto sdělení.

Literatura

1. Cohen J. Statistical power analysis for the behavioral sciences, 2nd ed. Hillsdale, NJ; Lawrence Erlbaum Associates: 1988.
2. Cohen JA, Goodman AD, Heidenreich FR, et al. Results of IMPACT, a phase 3 trial of interferon beta-1a in secondary progressive MS. *Neurology* 2001; suppl.3: A148-A149.
3. Comi G, Filippi M, Barkhof F, et al. Effect of early interferon treatment on conversion to definite multiple sclerosis: a randomized study. *Lancet* 2001; 357: 1576-1582.
4. Comi G, Filippi M, Wolinsky JS, et al. European/Canadian multicenter, double-blind, randomized, placebo-controlled study of the effects of glatiramer acetate on magnetic resonance imaging - measured disease activity and burden in patients with relapsing multiple sclerosis. *Ann Neurol* 2001; 49: 290-297.
5. European Study Group in Interferon beta-1b in Secondary Progressive MS. Placebo controlled multicentre randomized trial of interferon beta-1b in the treatment of secondary progressive multiple sclerosis. *Lancet* 1998; 352: 1491-1497.
6. Fergusson B, Matyszak MK, Esiri MM, Perry VH. Axonal damage in acute multiple sclerosis lesions. *Brain* 1997; 120: 393-399.
7. Goodin D.S. Period and pitfalls in the interpretation of clinical trials: A reflection on the recent experience in multiple sclerosis. *Neuroepidemiology* 1999; 18: 53-63.
8. Goodin DS, Frohman EM, Garmany GP, et al. Disease modifying therapies in multiple sclerosis *Neurology* 58; 2: 169-178.
9. Goodkin DE, North American SPMS Study Group. The North American Study of interferon beta-1b in secondary progressive multiple sclerosis. 52nd Annual Meeting of the American Academy of Neurology; San Diego: CA, 2000.
10. Jacobs LD, Beck RW, Simon JH, et al. CHAMPS Study Group. Intramuscular interferon beta-1a therapy initiated during a first demyelinating event in multiple sclerosis. *N Eng J Med* 2000; 343: 898-904.
11. Jacobs LD, Cookfair DL, Rudick RA, et al. Intramuscular interferon-beta1a for disease progression in exacerbating - remitting multiple sclerosis. *Ann Neurol* 1996; 39: 285-294.
12. Johnson KP, Brooks BR, Cohen JA, et al. Copolymer 1 reduces relapse rate and improves disability in relapsing - remitting multiple sclerosis: results of a phase III multicenter, double - blind, placebo controlled trial. *Neurology* 1995; 45: 1268-1276.
13. PRISMS Study Group. Randomized, double-blind placebo controlled study of interferon beta-1a in relapsing-remitting multiple sclerosis. *Lancet* 1998; 352: 1498-1504.
14. SPECTRIMS Study Group. Randomized controlled trial of interferon beta-1a in secondary progressive MS: clinical results. *Neurology* 2001; 56: 1496-1504.
15. The IFNB Multiple Sclerosis Study Group. Interferon-beta1b is effective in relapsing and relapsing multiple sclerosis: I. Clinical results of a multicenter, randomized, double blind, placebo controlled trial. *Neurology* 1993; 43: 662-667.
16. Weinshenker BG. The epidemiology of multiple sclerosis: *Neurol Clin* 1996; 14: 291-308.