

Univerzita Karlova

1. lékařská fakulta

Studijní program: Biomedicína

Studijní obor: Neurovědy



UNIVERZITA KARLOVA
1. lékařská fakulta

MUDr. Jana Lízrová Preiningerová

Optická koherenční tomografie u roztroušené sklerózy

Optical coherence tomography in multiple sclerosis

Disertační práce

Školitel: prof. MUDr. Eva Kubala Havrdová, CSc.

Neurologická klinika a Centrum klinických neurověd

1. LF UK a VFN v Praze

Praha, 2018

Prohlášení:

Prohlašuji, že jsem závěrečnou disertační práci zpracovala samostatně a že jsem řádně uvedla a citovala všechny použité prameny a literaturu. Současně prohlašuji, že práce nebyla využita k získání jiného nebo stejného titulu.

Souhlasím s trvalým uložením elektronické verze mé práce v databázi systému meziuniverzitního projektu Theses.cz za účelem soustavné kontroly podobnosti kvalifikačních prací.

V Praze, 14.06.2018

MUDr. Jana Lízrová Preiningerová

Poděkování

Tato práce shrnuje mnohaleté úsilí o zavedení nové zobrazovací metody do oboru neurologie. Jsem velmi vděčná prof. MUDr. Evě Kubala Havrdové, CSc., vedoucí Centra pro demyelinizační onemocnění Neurologické kliniky 1. LF UK a VFN, nejen za její trpělivost při vzniku této dizertační práce, ale především za její vizionářské vedení oboru, progresivní přístup k léčbě pacientů a podporu nových technologií v oboru roztroušené sklerózy.

Můj velký dík patří také kolegům oftalmologům, a zvláště prim. MUDr. Pavlu Diblíkovi, MBA, za to, že věnovali čas mým otázkám, rozboru OCT snímků, a zejména společnému rozvoji mezioborové spolupráce na pomezí neurologie a oftalmologie.

Ráda bych poděkovala také svým nejbližším za jejich lásku, podporu a trpělivost.

OBSAH

Prohlášení	2
Poděkování	3
Obsah	4
Abstrakt v češtině	7
Abstrakt v angličtině	8
Seznam použitých zkratk	9

ÚVOD

1 Roztroušená skleróza	11
1.1 Epidemiologie, rizika RS	11
1.2 Klinický obraz RS	13
1.2.1 Definice ataky	13
1.2.2 Příznaky RS	13
1.2.3 Pomocné vyšetřovací metody	14
1.3 Klasifikace RS dle klinického průběhu	16
1.4 Diagnostická kritéria RS	18
1.5 Etiopatogeneze	21
1.5.1 Role zánětu u RS	22
1.5.2 Proces neurodegenerace	24
1.6 Léčba roztroušené sklerózy	25
1.6.1 Strategie a cíle léčby	25
1.6.2 Léčba ataky RS	26
1.6.3 Přehled biologické terapie	26
1.6.4 Způsoby hodnocení účinnosti léčby	29
1.6.4.1 Relapsy	30
1.6.4.2 EDSS	30
1.6.4.3 Další klinické nástroje měření postižení	31
1.6.4.4 Magnetická rezonance v hodnocení aktivity RS	32
1.6.4.5 NEDA 3 a NEDA 4	34
1.6.4.6 Atrofie mozkové tkáně jako biomarker RS	35
1.6.4.7 Co bude následovat po NEDA 4?	36
2 Zánět očního nervu	37
2.1 Klinický obraz zánětu očního nervu	38
2.2 Následky zánětu očního nervu	39
3 Oko, okno do CNS	41
3.1 Embryonální vývoj struktur oka	41
3.2 Anatomie oka	41
3.3 Vrstvy sítnice	42
3.3.1 Retinální pigmentový epitel a Bruchova membrána	43
3.3.2 Fotoreceptory	44
3.3.3 Membrana limitans externa	45
3.3.4 Zevní jaderná vrstva	46

3.3.5	Zevní plexiformní vrstva	46
3.3.6	Vnitřní jaderná vrstva	47
3.3.7	Vnitřní plexiformní vrstva	48
3.3.8	Vrstva gangliových buněk	48
3.3.9	Vrstva retinálních nervových vláken	49
3.3.10	Vnitřní limitující membrána	49
4	Optická koherenční tomografie	51
4.1	Jiné způsoby zobrazení fundu a struktur sítnice	51
4.2	Princip OCT	52
4.3	Time doménová OCT	52
4.4	Spektrálně doménová OCT	53
4.5	Použití OCT u RS a NMO	56
	CÍLE A HYPOTÉZY	59
5	Cíl I.: Zavedení metodiky a standardu kvality OCT u RS	60
5.1	Úvod	60
5.2	Skenovací protokol	61
5.2.1	Metodika: Vývoj protokolu a jeho nástroje	61
5.2.2	Výsledky: Manuál OCT v neurologii	64
5.2.3	Diskuze k zavedené metodice	71
5.3	Standard kvality OCT skenů u RS	71
5.3.1	Úvod	71
5.3.2	Manuál hodnocení kvality skenů OSCAR IB kritéria	72
5.3.3	Diskuze OSCAR-IB kritérií a jejich užití v praxi	79
6	Cíl II.: Prediktivní hodnota OCT u RS	80
6.1	Hypotéza	80
6.2	Metody	80
6.3	Výsledky	81
6.4	Diskuze	83
7	Cíl III. Dlouhodobé následky zánětu očního nervu u RS	84
7.1	Úvod	84
7.2	Hypotéza	84
7.3	Metody	84
7.4	Výsledky	86
7.5	Diskuze	88
8	Cíl IV. OCT jako nástroj diferenciální diagnózy u RS a NMO	91
8.1	Hypotéza	91
8.2	Metody	91
8.3	Výsledky	92
8.4	Diskuze	96
9	Cíl V. OCT jako nástroj monitorace nežádoucích účinků léků	97
9.1	Úvod	97
9.2	Cíl sledování	98
9.3	Metodika – kazuistika	98

9.4 Výsledky	99
9.5 Diskuze	101
10 Závěr	103
CITOVANÁ LITERATURA	105
Příloha č. 1. identifikační záznam	119
Příloha č. 2. seznam publikací doktoranda	120
Příloha č. 3. publikace in extenso	

ABSTRAKT

Spektrálně doménová optická koherenční tomografie (SD-OCT) je neinvazivní zobrazovací metoda, která na základě analýzy infračerveného paprsku odraženého od vrstev tkáně umožňuje detailní zobrazení vrstev sítnice. Nervové buňky sítnice pochází z neuroektodermu a odráží se v nich proto pomalu progredující změny související s neurodegenerací CNS, i akutní poškození nervových struktur následkem zánětu očního nervu. Tato práce v první části uvádí zobrazovací protokol a standardy kvality snímků pro použití SD-OCT v oboru roztroušené sklerózy (RS). V další části představujeme SD-OCT měření v roli biomarkeru progresu u RS. V multicentrické studii jsme ukázali, že již při jednom měření tloušťky peripapilární vrstvy retinálních nervových vláken (RNFL) napříč studovanou populací má tloušťka RNFL prognostickou hodnotu pro odhad rizika progresu EDSS v následujících pěti letech. Pacienti v nejnižším tercilu tloušťky peripapilární RNFL měli 2x vyšší riziko progresu invalidity oproti pacientům zařazených do vyšších tercilů RNFL. Druhá prezentovaná studie testovala, zda je anamnéza zánětu očního nervu (ON) u RS rizikovým faktorem pro míru degenerace RNFL v následujících letech. Studie potvrdila, že dlouhodobé změny tloušťky RNFL probíhají v očích po ON zcela stejně jako v očích bez anamnézy ON. To znamená, že v longitudinálních studiích můžeme považovat oči bez ON a oči po ON (mimo období prvních 6 měsíců akutních změn) z hlediska stárnutí za rovnocenné. Další část práce demonstruje možné použití OCT v klinické praxi. V pilotní studii 10 pacientů s neuromyelitis optica (NMO) jsme ukázali specifický vzorec úbytku peripapilární RNFL po zánětu očního nervu u pacientů s NMO. Tento nálezn na OCT je signálem k důkladnému zvážení diferenciální diagnózy NMO versus RS. Zcela na konci prezentujeme ve formě kazuistiky použití SD-OCT jako nástroj monitorace rozvoje makulárního edému při léčbě fingolimodem.

Klíčová slova: optická koherenční tomografie, roztroušená skleróza, neuritida optiku, sítnice, fingolimod

ABSTRACT

Spectral domain optical coherence tomography (SD-OCT), a non-invasive imaging method, is based on an analysis of a near-infrared light deflected from tissue layers, that provides detailed images of retinal structures. Nerve cells of the retina, that originate from neuroectoderm, reflect neurodegeneration of the central nervous system (CNS), as well as acute damage of nerve structures caused by optic neuritis.

The dissertation first presents established imaging protocol and quality standards for SD-OCT imaging in multiple sclerosis (MS). In the following section we introduce SD-OCT as a biomarker in MS. In a multicentric cross-sectional study, we had shown, that a single time measurement of peripapillary retinal nerve fiber layer thickness (RNFL) has a predictive value for a risk of disease progression in the next five years. Patients with a thickness of RNFL in the lowest tercile of the studied population had a relative risk of disease progression 2x higher than patients in the highest tercile. The second presented study tests whether the history of optic neuritis (ON) in MS is a risk factor for neurodegeneration of RNFL in later years. The study confirmed that long term changes of RNFL thickness in eyes post-ON and in eyes with no history of ON are not different. Therefore, we conclude that both, ON eyes and eyes with no history of ON, can be included in longitudinal studies (excluding the first six months of acute decline post ON) and considered equal. The next section demonstrates the use of SD-OCT in a clinical practice. In a pilot study of 10 patients with neuromyelitis optica (NMO), we have shown a loss of RNFL post ON in a pattern characteristic for NMO and how it differs from RNFL changes in MS-ON eyes. This finding gives a strong signal to carefully consider NMO in differential diagnosis. Finally, we present a case history of a patient with macular edema as a side effect of treatment with fingolimod, that documents utility of SD-OCT in monitoring development of macular edema in MS.

Key words: optical coherence tomography, multiple sclerosis, optic neuritis, retina, fingolimod.

Seznam použitých zkratk:

AI	Index schopnosti chůze (<i>ambulation index</i>)
AION	Přední ischemie očního nervu (<i>anterior ischemic optic neuropathy</i>)
AQP4	Akvaporin 4
ART	Funkce OCT přístroje pro volbu míry sumace B skenů (<i>Automatic Real Time</i>)
ATMP	Léčivé přípravky pro moderní terapii (<i>Advanced Therapy Medicinal Products</i>)
BAEP	Kmenové evokované potenciály
BCR	Receptor B-lymfocytů (<i>B-cell receptor</i>)
BM	Bruchova membrána
BPF	Index atrofie mozkového parenchymu (<i>brain parenchymal fraction</i>)
CDMS	Klinicky jistá diagnosa RS (<i>clinically definite multiple sclerosis</i>)
CIS	Klinicky izolovaný syndrom (<i>clinically isolated syndrome</i>)
CMV	Cytomegalovirus
CNS	Centrální nervový systém
CRION	Chronický relabující zánět očního nervu (<i>chronic relapsing inflammatory optic neuritis</i>)
CSF	Mozkomíšní mok (<i>cerebrospinal fluid</i>)
CT	Počítačová tomografie (<i>computer tomography</i>)
CVLT	<i>California verbal learning test</i>
DD	Doba trvání nemoci (<i>disease duration</i>)
DIR	<i>Double inversion recovery</i>
DIS	Diseminace v prostoru (<i>dissemination in space</i>)
DIT	Diseminace příznaků v čase (<i>dissemination in time</i>)
DMD	Léky ovlivňující průběh choroby (<i>disease modifying drugs</i>)
EAE	Experimentální autoimunitní encefalomyelitida
EBV	Epstein-Barr Virus
EDI	Zvýraznění hloubky ostrosti zobrazení (<i>Enhanced depth imaging</i>)
EDSS	Expanded Disability Status Scale
ELM	Zevní limitující membrána (<i>external limiting membrane</i>)
ETDRS	<i>Early Treatment Diabetic Retinopathy Study</i>
GCL	Vrstva gangliových buněk (<i>ganglion cell layer</i>)
Gd	Gadolinium
GDx	Skenovací laserová polarimetrie
GWAS	<i>Genome-wide association studies</i>
HHV-6	Lidský herpes virus typ 6
HLA	<i>Human leukocyte antigen</i>
HRT	Heidelberský retinální tomograf
IL2R	Receptor pro interleukin 2
IL7R	Receptor pro interleukin 7
ILM	Vnitřní limitující membrána (<i>internal limiting membrane</i>)
INL	Vnitřní jaderná vrstva (<i>inner nuclear layer</i>)
INO	Internukleární oftalmoplegie

IPL	Vnitřní plexiformní vrstva (<i>inner plexiform layer</i>)
IQR	Kvartilové rozpětí (<i>interquartile range</i>)
IR	<i>Inversion recovery</i>
ITP	Idiopatická trombocytopenická purpura
MBP	Myelinový bazický protein
MEP	Motorické evokované potenciály
MOG	<i>Myelin oligodendrocyte glycoprotein</i>
MP	Metylprednisolon
MR	Magnetická rezonance
MSFC	<i>Multiple sclerosis functional composite</i>
NEDA	<i>No evidence of disease activity</i>
NMO	Neuromyelitis optica
NMO-SD	Neuromyelitis optica-spektrum nemocí
OCB	Oligoklonální proužky (<i>oligoclonal bands</i>)
ON	Neuritis optiku (<i>optic neuritis</i>)
ONH	<i>Optic nerve head</i>
ONL	Zevní jaderná vrstva (<i>outer nuclear layer</i>)
ONTT	<i>Optic Neuritis Treatment Trial</i>
OPL	Zevní plexiformní vrstva (<i>outer plexiform layer</i>)
PASAT	<i>Paced Auditory Serial Addition Test</i>
PION	Zadní ischemie očního nervu (<i>posterior ischemic optic neuropathy</i>)
PLP	<i>Proteolipid protein</i>
PMB	Papilomakulární svazek (<i>papillomacular bundle</i>)
PP RS	Primárně progresivní roztroušená skleróza
PP-20	Zadní pól oka (<i>Posterior pole</i>)
PR RS	Progresivní relabující roztroušení skleróza
pRNFL	Peripapilární RNFL (<i>peripapillary RNFL</i>)
RIS	Radiologicky izolovaný syndrom
RNFL	Vrstva retinálních nervových vláken (<i>retinal nerve fiber layer</i>)
RPE	Retinální pigmentový epitel
RR RS	Relabující roztroušená skleróza
RS	Roztroušená skleróza
SD	Standardní odchylka (<i>standard deviation</i>)
SDMT	<i>Symbol Digit Modality Test</i>
SD-OCT	Spektrálně doménová optická koherenční tomografie
SEP	Senzorické evokované potenciály
SLO	Skenovací laserový oftalmoskop
SP RS	Sekundárně progresivní roztroušená skleróza
T25FW	<i>Timed 25 Foot Walk</i>
T2W	T2 vážený obraz
TD-OCT	Time doménová optická koherenční tomografie
VEP	Zrakové evokované potenciály (<i>visual evoked potential</i>)
VZV	Varicella zoster virus

ÚVOD

1. Roztroušená skleróza

Roztroušená skleróza (RS) je chronické autoimunitní onemocnění centrálního nervového systému (CNS) charakterizované zánětem, demyelinizací a neuroaxonální ztrátou. RS je nejčastější příčinou neurologického postižení u mladých pacientů. Diagnóza RS je častější u žen, které tvoří asi 70 % nemocných. Ne zcela známá příčina nemoci, heterogenita projevů a nepředvídatelný průběh činí toto onemocnění obtížným pro diagnostiku i léčbu a výrazně snižuje kvalitu života pacientů. Akumulace postižení nervového systému v průběhu RS vede k nevratné invaliditě u většiny neléčených nemocných.

Objev roztroušené sklerózy (*Sclérose en plaques*) je připisován Jeanu Martinu Charcotovi (1825–1893), který je autorem slavné přednášky 9. května 1866 pro *Société Médicale des Hôpitaux*, v níž definoval RS jako nosologickou jednotku (Compston 2005). Dr. Charcot popsal klinickou trias nemoci (nystagmus, dysartrie, ataxie) a již tehdy vyslovil domněnku, že podstatou onemocnění je abnormální vedení impulsu axonem zbaveným myelinu. Jeho žák Dr. Valentiner v roce 1856 označil relabující průběh jako hlavní znak nemoci a všiml si i kognitivních změn (Havrdova E., 2013).

1.1 Epidemiologie a rizika RS

Na světě je diagnostikováno přes 2,5 milionu lidí s RS. Prevalence RS v evropských zemích byla před 20 lety udávána kolem 83/100 000 obyvatel, avšak tento údaj musel být v novějších studiích několikrát aktualizován. Na vzestupu prevalence RS (celosvětově) se může podílet mnoho vlivů, jako je časnější diagnóza, nižší mortalita a delší doba přežití, ale i neznámé environmentální faktory zvyšující riziko nemoci. Podle epidemiologické studie v České republice z let 2008-2009 je prevalence diagnózy RS u nás 160/100 000 (Vachová M., 2010). Studie o incidenci nemoci napříč Evropou uvádějí široké rozpětí od 1,12 do 6,96 případů na 100 000 obyvatel a rok, s nejvyšším počtem případů v severských zemích (Alcalde-Cabero, Almazan-Isla et al. 2013). Minimální výskyt RS je registrován v oblasti rovníku, což není jen možným vlivem odlišného způsobu poskytování lékařské péče a nedostupností epidemiologických dat v těchto oblastech, ale je zřejmě odrazem skutečně menšího výskytu nemoci. Nárůst výskytu RS se vzdáleností od rovníku je dáván do souvislosti s mírou slunečního svitu,

hladinami vitamínu D a dalšími vlivy. Epidemiologické studie naznačují, že riziko nemoci vzniká již mnoho let před propuknutím nemoci, protože populace migrující po 20 roce života si udržují prevalenci svého původního regionu (Gale and Martyn 1995).

Jedním z rizik výskytu RS je genetická výbava. Studie dvojčat ukázala, že genom má významný, ale omezený vliv na riziko RS. Jednovaječná dvojčata s jedním nemocným sourozencem mají maximálně 30 % riziko rozvoje nemoci (Ebers G.C. et al., 1986). U dvojvaječných dvojčat a u příbuzných s jedním nemocným v první linii je riziko 3-5 % (Hansen, Skytthe et al. 2005, Kantarci and Wingerchuk 2006). V běžné populaci v naší zeměpisné šířce je riziko 0,1 %.

Již v 70 letech byla označena role genů HLA systému na chromozomu 6 za významný genetický faktor u RS. Větší pokrok přinesly až celogenomové asociační studie (Genome-wide association studies – GWASs) hodnotící výskyt bodových mutací (Single nucleotide polymorphisms-SNPs). Ačkoliv tyto studie skenovaly celý genom (bez specifického zaměření na imunitní systém), identifikované faktory opět poukázaly na roli imunitního systému a poruchu tolerance a regulace imunitní odpovědi jako významný faktor pro rozvoj onemocnění. Jako silné riziko byl označen lokus HLA DRB*1501 (související s prezentací antigenu a aktivací T lymfocytů), dále geny kódující IL2R a IL7R (exprimované na regulačních T lymfocytech) a desítky dalších genů asociovaných s RS (Longbrake and Hafler 2016). Ze studií se dá odvodit, že individuální vnímavost jedince ke vzniku RS je dána kombinací více různých alelických variant, které mohou riziko RS zvyšovat nebo mít naopak protektivní vliv (Havrdová 2013).

Faktory zevního prostředí, zvláště jejich působení v dětském věku, do určité míry vysvětlují geograficky podmíněnou prevalenci onemocnění. Je pravděpodobné, že u geneticky predisponovaných pacientů mají faktory prostředí větší vliv. K nejvíce diskutovaným faktorům vnějšího prostředí patří virové infekce (EBV (Lucas, Ponsonby et al. 2011), HHV-6, CMV a nověji i retroviry (Mameli, Madeddu et al. 2013)) a nízká hladina vitamínu D, ale i malá expozice slunečnímu záření (Lucas, Ponsonby et al. 2011). Relativní nedostatek vitamínu D v prenatálním období a v raném dětství byl prokázán jako rizikový faktor pro rozvoj RS (Mirzaei, Michels et al. 2011).

Jedním z faktorů, uplatňujícím se v dospělém věku je kouření, které zvyšuje riziko rozvoje RS a o 50 %, a to zvláště u mužů. I pacienti, kteří v minulosti přestali kouřit, a pasivní kuřáci mají o 24 % vyšší riziko vzniku RS než nekuřáci (Zhang, Wang et al. 2016).

1.2 Klinický obraz RS

První klinické příznaky onemocnění se objevují typicky mezi 20. a 40. rokem života. Setkáme-li se s příznaky RS u dětí, nebo naopak s prezentací prvních neurologických příznaků po padesátém roce života, je nutno v diferenciální diagnóze zvláště pozorně vyloučit nemoci mimikující příznaky RS.

1.2.1 Definice ataky

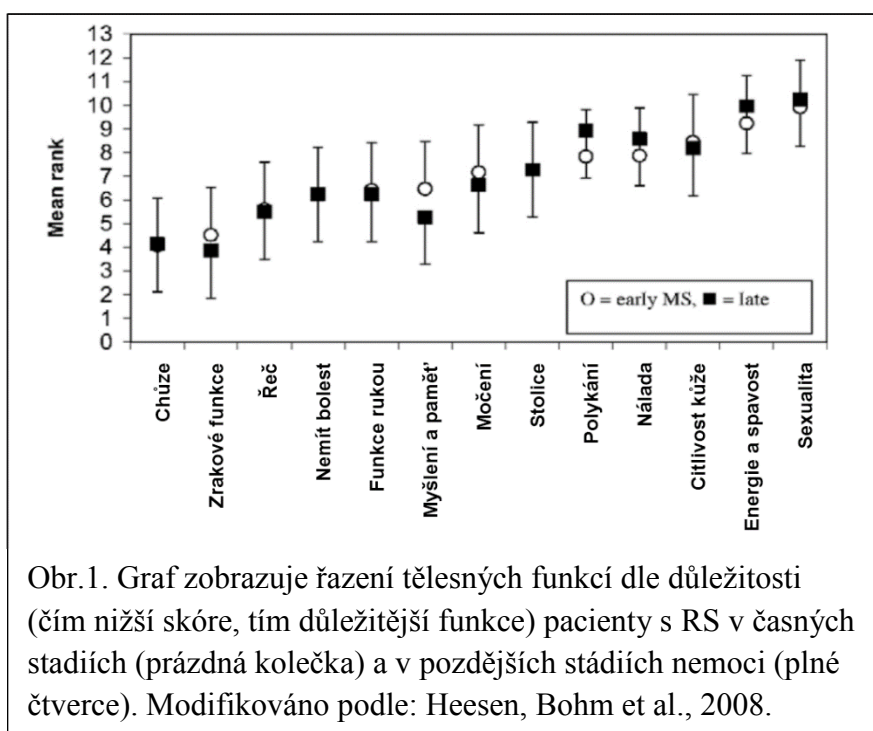
Ataka je definována jako epizoda neurologických příznaků, které trvají déle než 24-48 hodin a nejsou způsobeny přehřátím organismu či infekčním onemocněním. Příznaky ataky se většinou rozvíjejí subakutně, zhoršují se během hodin až dnů, dosáhnou maxima (plateau) a poté typicky začnou i bez léčby ustupovat. Příznaky, které se objeví do 30 dnů po počátku ataky se arbitrárně řadí k již probíhající atace. Je známo, že multifokální ataky mají horší prognózu. Po atace může dojít subjektivně k návratu do původního stavu funkce, nebo po atace zůstávají zjevné residuální příznaky. Výskyt atak s neúplnou úpravou je svědectvím o akumulaci axonálního poškození a nástupu nevratné invalidity. Léčba ataky má za cíl zkrátit délku příznaků a omezit poškození nervových vláken.

1.2.2. Příznaky RS

K rozvoji ataky RS dochází na podkladě nového či reaktivovaného ložiska zánětu namířeného proti antigenům myelinu kdekoli v CNS, a proto se RS projevuje širokou škálou příznaků. Až třetina pacientů popisuje, že k prvním příznakům RS patřily poruchy citlivosti (paresthesie, dysesthesie, hypesthesie) končetin, někdy i obličeje. Zánět očního nervu je prvním příznakem asi u 20 % pacientů s relabující RS. Asi třetina případů internukleární oftalmoplegie u mladších lidí je prvním příznakem demyelinizačního onemocnění CNS. Běžné jsou na počátku RS i závratě, mozečkové syndromy, spasticita a lehké parézy. Tzv. Charcotova trias zahrnující dysartrii, ataxii a tremor je vyjádřena spíše u pokročilejších stadií RS, stejně jako neurogenní měchýř,

intolerance tepla, poruchy paměti, syndrom zadních provazců a další míšní syndromy. Excesivní únava je často zmiňována pacienty již v době diagnózy.

Zatímco pro ošetřující lékaře je výskyt jakéhokoliv nového příznaku (s výjimkou pseudoatak) důkazem aktivity onemocnění a známkou možného selhání léčby, pacienti sami nevnímají všechny příznaky stejně negativně. Studie Hessena et al. z roku 2008 ukázala, že pacienti s kratší délkou nemoci (pod 5 let) se nejvíce obávali poruchy chůze, a dále poruchy zraku, řeči a přítomnosti bolesti, zatímco pacienti s délkou nemoci nad 15 let řadili na první místo v důležitosti funkci zraku, a dále chůzi a kognici (obr. 1) (Heesen, Bohm et al. 2008).



1.2.3 Pomocné vyšetřovací metody

Lumbální punkce

Vyšetření mozkomíšního moku (CSF) je jednou ze základních vyšetřovacích metod v neurologii. V likvoru očekáváme nález normální hladiny bílkoviny, glukózy i celkového počtu buněk. Mírně zvýšený počet buněk pozorujeme u aktivních forem RS (10-100/3). V cytologickém nálezu očekáváme normální obraz, případně známky lymfoplazmocytární aktivace. V tomto smyslu slouží vyšetření likvoru zejména k vyloučení nálezů svědčících pro jinou než demyelinizační etiologii. Hlavním diagnostickým testem v likvoru u podezření na RS je hodnocení přítomnosti

oligoklonálních proužků. V likvoru rozeznáváme 5 vzorců přítomnosti OCB na izoelektrické fokusaci (obr.2):

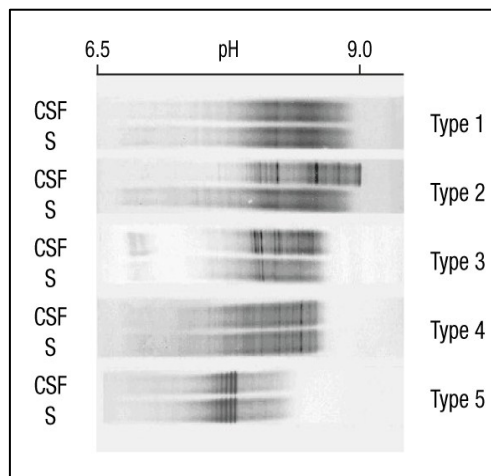
Typ I: Bez průkazu OCB v likvoru či v séru

Typ II: Přítomnost OCB pouze likvoru, ale ne v séru (svědčící o intratékální syntéze imunoglobulinů).

Typ III: Přítomnost OCB v likvoru a částečně identické OCB přítomny v séru

Typ IV: Přítomnost identických OCB v likvoru i v séru (systémová reakce)

Typ V: Monoklonální pruhy v likvoru i v séru vzorce typického pro paraprotein



Obr. 2 Převzato z: Recommended Standard of Cerebrospinal Fluid Analysis in the Diagnosis of Multiple Sclerosis A Consensus Statement. Arch Neurol. 2005;62(6):865-870

Nález nejméně 2 oligoklonálních pásů v alkalické oblasti v likvoru bez korelátu v séru (Typ II) má sensitivitu 96% a specifitu 86% pro diagnózu RS (Freedman, Thompson et al. 2005). V Evropě je vyšetření mozkomíšního moku jako zdroj nenahraditelných informací o stavu aktivace imunitního systému v prostoru CNS prováděno téměř u všech pacientů s podezřením na RS. Poserova kritéria uváděla nález OCB jako jedno z pomocných kritérií diagnózy RS (Poser, Paty et al. 1983) a poté se pozornost diagnostických kritérií zcela přenesla na zobrazovací vyšetření. Od roku 2018 se likvor stal plnohodnotným atributem v diagnostických kritériích RS, když byla přítomnost OCB v likvoru zařazena mezi důkazy diseminace onemocnění v čase (Thompson, Banwell et al. 2018). Nepřítomnost OCB v likvoru u pacientů s podezřením na RS je signálem k provedené důkladné diferenciální diagnózy a vyloučení nemocí mimikujících obraz RS, včetně neuromyelitis optica.

Evokované potenciály

Evokované potenciály umožňují objektivizovat funkční poruchu motorických, sensitivních i senzorických drah v centrálních úsecích. V minulosti bylo vyšetření pomocí evokovaných potenciálů významnou paraklinickou metodou k průkazu diseminace lézí. Typickým nálezem při vyšetření zrakových evokovaných potenciálů (VEP) je prodloužení latence vlny P100, se zachovanou amplitudou a tvarem komplexu

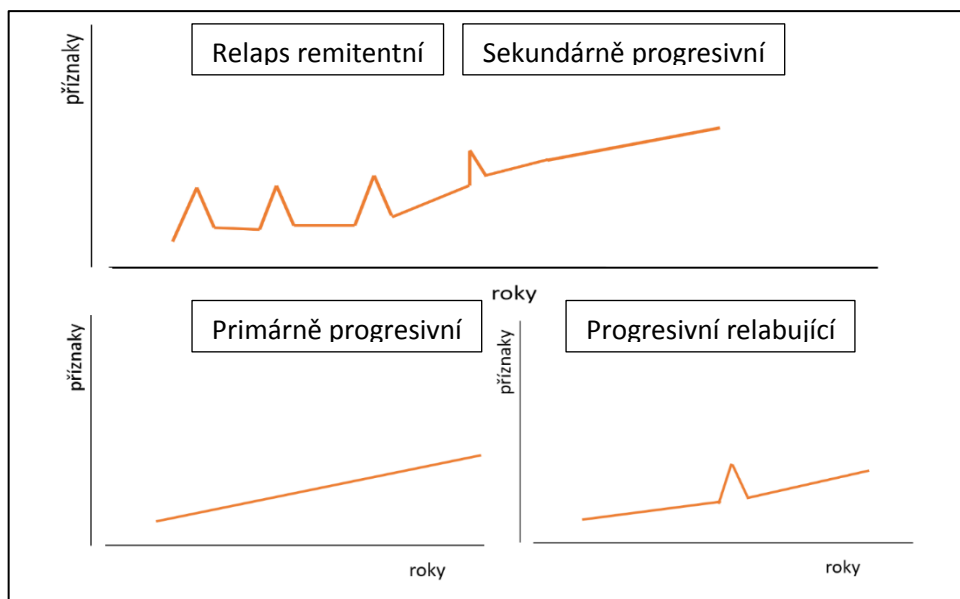
N-P-N. U kmenových evokovaných potenciálů (BAEP), senzorických (SEP) a motorických evokovaných potenciálů (MEP) také očekáváme prodloužení latence centrálního vedení případně spojené s poklesem amplitudy u těžkých lézí. Vzhledem k tomu, že diagnostická kritéria nezahrnují výsledek evokovaných potenciálů jako důkaz diseminace nemoci, je tato vyšetřovací metoda často opomíjena (Bareš 2002).

1.3. Klasifikace RS dle průběhu nemoci

U 90 % procent pacientů nesoucích diagnózu RS se příznaky projeví v relaps-remitentní formě. Nemoc po první epizodě je klasifikována jako CIS (klinicky izolovaný syndrom). Ve chvíli, kdy se vyskytne další epizoda nemoci, je fáze RS označována za relaps-remitentní RS (RR RS). Svědectvím o další epizodě nemoci může být klinická ataka, ale i zobrazení nové aktivní léze na magnetické rezonanci mozku či míchy. Definice RR RS se v posledních 20 letech s rozvojem diagnostických kritérií značně změnila ve prospěch časné diagnózy nemoci. Po 15 letech neléčeného onemocnění dochází u většiny pacientů ke zjevnému horšení neurologických příznaků mezi atakami nebo horšení zcela bez atak. Tato fáze RS se nazývá sekundárně progresivní (SP RS) (obr. 3).

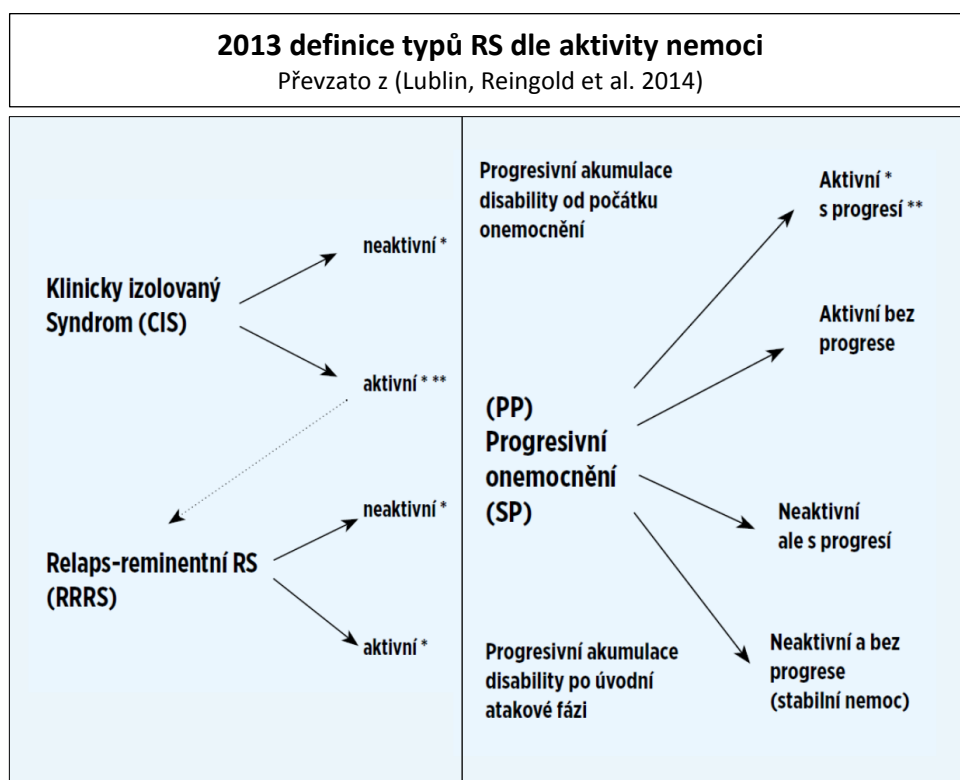
Asi 10 % pacientů s diagnózou RS má primárně progresivní průběh (PP RS). U tohoto typu průběhu mají pacienti anamnézu postupně se zhoršujících neurologických příznaků, které jsou na základě pomocných vyšetřovacích metod a po vyloučení jiných možných příčin připsány autoimunitnímu demyelinizačnímu procesu RS s výraznou degenerativní složkou a nazývány PP RS (obr. 3). Diagnostický proces u PP RS může trvat i několik let.

Čtvrtý typ průběhu nazvaný progresivní relabující RS (PR RS) byl definován z potřeby pojmenovat i vzácnější typ průběhu charakterizovaný pomalu progredujícím postižením od počátku příznaků, u něhož se později projeví jasná ataka (Lublin and Reingold 1996).



Obr. 3 Klasifikace typů RS dle Lublina 1996

Jiný pohled na průběh RS nabízí revize definic průběhu RS z roku 2013, která rozlišuje formu relabující (aktivní s relapsy/novými lézemi nebo neaktivní bez relapsů/nových lézí) a formu progresivní, kam řadí PP RS a SP RS s aktivitou nebo bez aktivity (obr. 4) (Lublin, Reingold et al. 2014).



Obr. 4 Klasifikace typů RS dle aktivity nemoci, 2014

1.4 Diagnostická kritéria RS

Diagnostická kritéria roztroušené sklerózy se za posledních 100 let značně vyvinula ve prospěch časnější diagnózy. Jedna charakteristika zůstává neměnná, a tou je důraz na průkaz známek lézí diseminovaných v čase a prostoru CNS. Již v roce 1965 Schumacher definoval RS jako onemocnění CNS začínající v mladším věku (10-50 let), projevující se atakovitě nebo chronicky, u něhož jsou přítomny vícečetné léze bílé hmoty manifestující se v čase. V době Schumachera se diagnóza opírala pouze o klinická data a vyžadovala průkaz abnormalit v objektivním neurologickém nálezu trvající déle než 24 hodin (Schumacher, Beebe et al. 1965).

Poserova kritéria publikovaná v roce 1983 započala směr k přesnější, jakož i časnější diagnóze. Poser definoval diagnostické kategorie RS na základě jistoty správnosti diagnózy a přítomnosti laboratorních abnormalit jako *Clinically definite MS* (CDMS = jistá klinická diagnóza RS), *Probable MS* (pravděpodobná diagnóza RS), *Laboratory supported definite MS* (jistá diagnóza RS s podporou laboratorních metod) a *Laboratory supported probable MS* (pravděpodobná diagnóza RS na základě laboratorních metod nesplňující kritéria CDMS). V Poserových kritériích bylo poprvé definováno, že průkaz diseminace v čase či prostoru může být založen buďto na přítomnosti dvou atak nebo je možné prokázat diseminaci procesu po atace paraklinickou metodou (Poser, Paty et al. 1983). Tato kritéria byla užívána více než 20 let a byli podle nich zařazováni pacienti do klinických studií až do roku 2000.

Průlom v diagnostice RS přineslo zavedení magnetické rezonance mozku (MR). Magnetická rezonance má vysokou sensitivitu pro detekci změn obsahu vody v tkáních, ale nízkou specificitu. Brzy bylo zřejmé, že hyperintenzity v CNS mají širokou diferenciální diagnózu, a bylo potřeba definovat, jaký nález je možno považovat za svědectví o RS. V roce 1997 byla publikována Patyho MR kritéria, která vymezila, že demyelinizační léze v CNS jsou kulovité až ovoidní, vyskytují se typicky v kmeni, periventrikulární bílé hmotě, případně kolmo na corpus callosum a mohou po aplikaci kontrastní látky vykazovat prstenčitý enhacement. Za nález svědčící pro RS označil přítomnost čtyř, nebo tří lézí, z nichž jedna je periventrikulární. Fazekasova kritéria, která se objevila také v roce 1997, postulovala, že přítomnost tří lézí, které splňují nejméně dvě ze tří následujících charakteristik: velikost léze nad 6 mm, nebo

periventrikulární lokalizace, nebo infratentoriální lokalizace, podporuje diagnózu RS. Patyho a Fazekasova kritéria byla schopna predikovat vývoj klinicky izolovaného syndromu do jisté RS se sensitivitou 86 % a specificitou 54 %. Barkhofova kritéria stanovila, že k diseminaci v čase stačí splnění 3 ze 4 kritérií: 1 Gd enhancing léze/9 hyperintenzních lézí, ≥ 1 léze infratentoriální, ≥ 1 léze juxtakortikální, ≥ 3 léze periventrikulární. Podle studie M. Tintoré měla Barkhofova kritéria vyšší sensitivitu (73 %) i specificitu (73 %) k určení pravděpodobnosti konverze ze stadia CIS do RR RS a stala se základem nových tzv. McDonaldových diagnostických kritérií z roku 2001 (McDonald W. I. et al., 2001). Tato kritéria použila MR, výsledky mozkomíšního moku či evokovaných potenciálů k průkazu diseminace epizod v čase i v prostoru CNS, a umožnila tak časnější diagnózu CDMS. V upravených McDonaldových kritériích z roku 2005 (Polman C. et al., 2005), jsou lépe definována kritéria diseminace v prostoru a možnost průkazu diseminace nemoci v čase pomocí MR již během měsíce. Stanovení diagnózy CDMS bylo v té době kritické pro započetí léčby, protože studie prokazující efekt biologických léků již ve stadiu CIS teprve probíhaly. Kritéria se však stala v něčem i příliš komplikovaná a vyžádala si revizi v roce 2010 (tab. 1) (Polman, Reingold et al. 2011). [Pozn.: Diagnostická kritéria je zvykem pojmenovávat podle prvního autora publikace, avšak v tomto případě autoři s ohledem na osobnost profesora Iana McDonalda a jeho přínos oboru RS ponechávají v názvu kritérií dlouhodobě jeho jméno.]

Revidovaná diagnostická kritéria dle McDonalda z roku 2010	
Klinická kritéria	Další údaje nutné ke stanovení diagnózy RS
2 nebo více atak + klinické známky nejméně 2 ložisek - Jasná anamnéza 1 ataky + klinické známky jednoho jiného ložiska Aspoň jedna z atak (lézí) musí být dokumentována objektivním neurologickým nálezem v průběhu ataky, pomocí VEP u zrakových atak nebo přítomností léze na MR v odpovídající oblasti.	Žádná další vyšetření nejsou nutná, protože došlo k průkazu diseminace v čase (DIT) i diseminace v prostoru (DIS) Objektivizace demyelinizačního onemocnění na MR je žádoucí.
2 nebo více atak + klinické známky 1 ložiska	Průkaz diseminace v prostoru (DIS) - Pomocí MR kritérií pro DIT nebo - Klinická ataka z jiné lokalizace CNS

1 ataka + klinické známky aspoň 2 ložisek	Průkaz diseminace v čase (DIT) - Pomocí MR kritérií pro DIT nebo - Další klinická ataka
1 ataka + klinické známky 1 ložiska = CIS (klinicky izolovaný syndrom)	Průkaz diseminace v čase (DIT) a prostoru (DIS) - Pomocí MR kritérií pro DIT a DIS nebo - Další klinická ataka z jiné lokalizace
Pomalu progredující příznaky primárně progresivní RS	1 rok progresu nemoci (dokumentován prospektivně či retrospektivně) a nejméně 2 ze 3 kritérií: - Aspoň jedna T2 léze typická pro RS v periventrikulární, juxtakortikální či infratentoriální oblasti - Aspoň 2 T2 léze v míše - Přítomnost oligoklonálních proužků nebo elevace IgG indexu v likvoru
Kritéria diseminace v čase (DIT)	Nová T2 léze nebo Gd+ léze na následujícím MR skenu, nebo Současný záchyt Gd+ léze a Gd negativních lézí (Gd = kontrastní látka gadolinium)
Kritéria diseminace v prostoru (DIS)	Nejméně 1 léze ve 2 ze čtyř oblastí: periventrikulární, juxtakortikální, infratentoriální, míšní. Symptomatické léze z kmene a míchy se nezahrnují.

Tab. 1. Revidovaná diagnostická kritéria z roku 2010. Upraveno podle: Polman, C. (2011). "Diagnostic criteria for multiple sclerosis: 2010 Ann Neurol 69(2): 292-302.

V roce 2016 se začal Mezinárodní panel pro diagnostiku RS zabývat další revizí s cílem kritéria zjednodušit a zároveň zpřesnit, aby nedocházelo k chybám v diagnostice. Nová kritéria byla představena na 7. společném sjezduECTRIMS-ACTRIMS v roce 2017 v Paříži. Změny v kritériích se skládají z pěti klíčových bodů:

1. Přítomnost oligoklonálních pásů v mozkomíšním moku může být nově použita u pacientů s CIS (klinicky izolovaný syndrom) k potvrzení diseminace v čase (DIT).
2. Asymptomatické léze na MR mohou být nyní pokládány za dostatečné pro určení DIS (diseminace v prostoru) nebo DIT (diseminace v čase), a to oproti kritériím z roku 2010, která symptomatické léze z celkového počtu vylučovala.
3. Kromě juxtakortikálních lézí je možné k diagnostice DIS použít i léze kortikální. Kritéria z roku 2010 kortikální léze nepopisovala.
4. Diagnostická kritéria pro primárně progresivní RS již nevylučují symptomatické léze z celkového počtu lézí pro určení diseminace v prostoru.

5. Po stanovení diagnózy je nutné re-evaluovat formu a průběh onemocnění podle dalších nových informací.

Nová kritéria byla publikována v *Lancet Neurology* pod názvem: „*Diagnosis of multiple sclerosis: 2017 revisions of the McDonald criteria*“ (Thompson, Banwell et al. 2018) a jsou postupně přijímána do praxe. Uznání patologického nálezu v likvoru (přítomnosti oligoklonálních proužků specifických pro likvor bez přítomnosti v séru) jako důkazu o DIT je opět krokem k časnější diagnóze a (konečně) formálně zařazuje likvor zpět do kritérií diagnózy RS. Prakticky to znamená, že pacienti po první atace, kteří mají aspoň 2 léze na MR splňující diseminaci v prostoru a zároveň mají přítomny oligoklonální proužky v likvoru, již nejsou označováni jako CIS, ale ihned splní diagnózu CDMS. S touto změnou v terminologii se bude muset sjednotit i terminologie podmínek úhrady a další důležité dokumenty regulující péči o pacienty s RS v jednotlivých zemích. V České republice je v tuto chvíli započítána léčba DMD hrazeno pacientům splňujícím kritéria CDMS, pokud jsou u nich prokázány 2 ataky léčené kortikoidy. Pokud bychom tedy adoptovali tato kritéria a přejmenovali bychom pacienty s CIS po první léčené atace, kteří mají započítat hrazenou léčbu DMD, na CDMS, léčbu bychom jim tím znemožnili (protože by nesplnili podmínku dvou léčených atak). Ač jde „pouze“ o terminologii a úsudek nás přirozeně vede k časné diagnóze a časné léčbě, bude nutné dokumenty sjednotit, než bude možné navržená kritéria plně přijmout do klinické praxe v ČR.

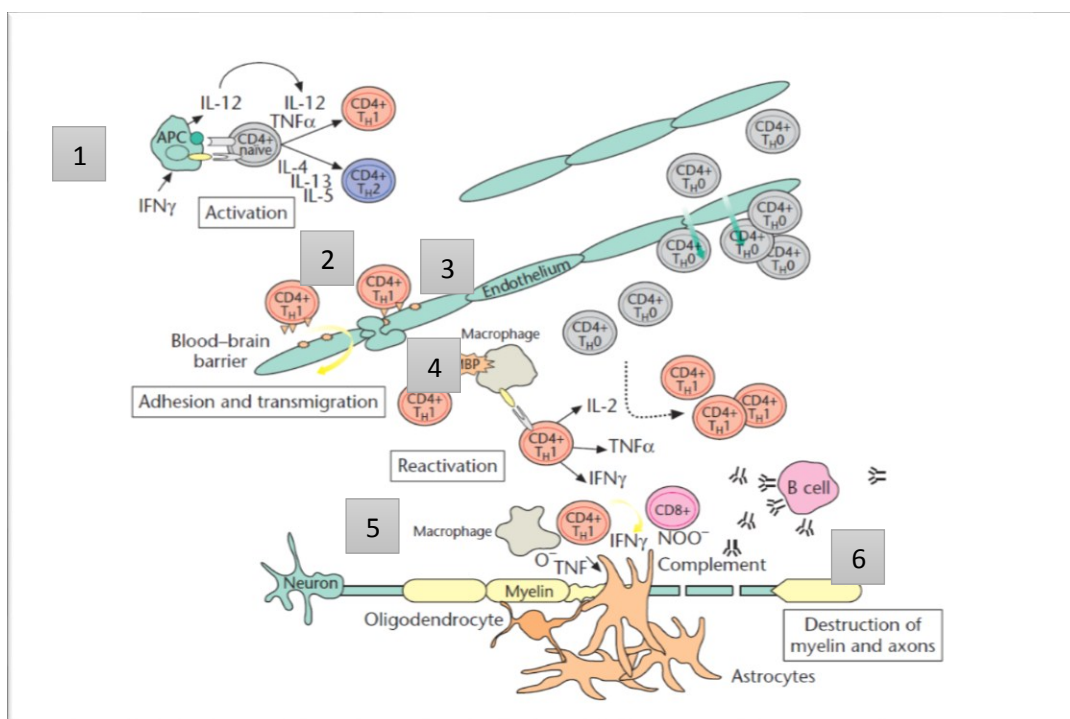
1.5. Etiopatogeneze – patofyziologie RS

Jednoznačná příčina RS není známa, ale existuje nespočetné množství důkazů o tom, že u RS dochází k poruše regulace chování imunitního systému vůči antigenům myelinu. Co tento proces spouští není známo.

Infekční etiologie RS byla navržena v roce 1884 Charcotovým žákem Pierrem Marie (Compston 2005). Ačkoliv doposud nebylo nalezeno žádné infekční agens způsobující RS, je tato možnost i nadále zkoumána. Jedním z posledních témat v tomto oboru je možná souvislost s reakcí organismu na setkání s retroviry (Varade, Garcia-Montojo et al. 2015).

1.5.1 Role zánětu u RS

Mnoho poznatků, které formují naši představu o povaze patogeneze RS (a také léčebných strategií) je odvozeno ze studia laboratorního modelu RS, experimentální autoimunitní encefalomyelitidy (EAE). Autoimunitní encefalomyelitida s reakcí imunitního systému vůči myelinu v CNS může být indukována injekcí směsi antigenů myelinu (homogenát tkáně CNS, izolovaného myelinu či proteinů MBP, PLP, MOG) spolu s tzv. Freundovým adjuvans k umocnění reakce imunitního systému u mnoha živočišných druhů. Klasický a široce používaný model EAE je založen na adoptivním transferu již aktivovaných lymfocytů do peritonea či podkoží indukovaných zvířat (myši a krysy). V závislosti na genetické charakteristice použitého klonu se u zvířat projeví známky monofázického či multifázického průběhu postižení CNS. Během dnů až týdnů po indukci lze pozorovat rozvoj multifokálního zánětu, aktivaci mikroglie, infiltraci makrofágů a poškození oligodendrocytů a axonů.



Obr. 5 Schematické zobrazení imunopatologie RS: (1) Aktivace T lymfocytů interakcí mezi antigen prezentující buňkou za účasti ko-stimulačních molekul, (2) adheze k endotelu hematoencefalické bariéry, (3) porucha hematoencefalické bariéry, (4) transmigrace lymfocytů, (5) reaktivace T lymfocytů v CNS a jejich klonální expanze, (6) poškození neuronů CD8⁺ T lymfocyty za účasti makrofágů, protilátek, komplementu, tvorbou radikálů, glutamátem mediovanou toxicitou, sekrecí prozánětlivých cytokinů.

Převzato z: Preiningerova et al. 2009. Encyclopaedia of Life Sciences.

Na tomto modelu byly v preklinickém stádiu vývoje testovány prakticky všechny molekuly kandidující na léčebný efekt u RS. EAE model může být ve studiu příčin RS zavádějící, protože představuje akutní autoimunitní reakci vůči specifickým antigenům myelinu, což nemusí odpovídat skutečnému charakteru roztroušené sklerózy (Sriram and Steiner 2005).

Počátek formování zánětlivých demyelinizačních lézí u RS je přisuzován aktivaci T lymfocytů vůči antigenům myelinu, jejich adhezi na endotel cév CNS a migraci přes rozvolněnou hematoencefalickou bariéru. Je zřejmé, že pouhá přítomnost klidových T lymfocytů s receptory pro antigeny myelinu v periferní krvi nestačí k rozvoji nemoci. Aktivaci lymfocytů pomáhají ko-stimulační molekuly, ale ani jejich blokáda sama v experimentu rozvoj nemoci zcela nezastaví. Proto není do důsledků jasné, kdy a proč organizmus antigeny toleruje a kdy je začne rozpoznávat jako signály nebezpečí (Havrdová 2013). V aktivních lézích byly identifikovány zejména klony cytotoxických CD8⁺ T lymfocytů a v menším zastoupení pomocné induktorové CD4⁺ lymfocyty. Omezený repertoár TCR (T cell receptorů) lymfocytů izolovaných z lézí svědčí o účasti pouze několika patogenních klonů T lymfocytů.

Účast B lymfocytů a imunoglobulinů v patogenezi RS byla až donedávna opomíjena, a to i přesto, že přítomnost oligoklonálních proužků v likvoru je po léta jednou z významných pomocných vyšetřovacích metod.

Nález ektopických folikulů lymfoidní tkáně s klony B lymfocytů v meningách je dáván do souvislosti s ložisky v šedé hmotě. Tyto klony B-buněk navíc sdílejí stejné sekvence těžkých řetězců B-buněčných receptorů (B-cell Receptor – BCR), jako receptory B lymfocytů přítomných v parenchymu CNS i v mozkomíšním moku (Lovato, Willis et al. 2011). Nejpřesvědčivějším důkazem o významu B lymfocytů v patogenezi RS je fakt, že léčebné strategie cílené selektivně na B lymfocyty mají pozitivní efekt nejen na frekvenci relapsů, ale i na horšení neurologického nálezu u progresivních forem RS.

Heterogenita roztroušené sklerózy je zřejmá nejen z individuální odpovědi pacientů na léčbu, ale i z imunohistochemických studií. Při jejich interpretaci je nutné vzít v úvahu, že vzorky dostupné histologické analýze nereprezentují celé spektrum stádií RS, ale spíše pacienty s pokročilým onemocněním. C. Lucchinetti popsala na základě tvaru, rozsahu, vzorce destrukce oligodendrocytů a aktivace komplementu, čtyři typy lézí u pacientů s RS. Vzorec I je charakteristický vysokým zastoupením T

lymfocytů a makrofágů a vzorec II navíc i depozity imunoglobulinů a komplementu. Méně častý je vzorec III vyznačující se apoptózou oligodendrocytů při méně zastoupených lymfocytech, nazývaný také primární oligodendrogliální dystrofie. Vzácně se vyskytuje v histologických studiích i vzorec IV, opět z těžkým postižením oligodendrocytů v lemu aktivního zánětlivého ložiska v bílé hmotě (Lucchinetti, Bruck et al. 2000). Studie zabývající se případnou intraindividuální variabilitou lézí ukázaly, že u jednoho pacienta se většinou nevyskytuje více než jeden z popsáných vzorců lézí a že se spíše jedná o imunopatologické podskupiny RS (Metz, Weigand et al. 2014).

1.5.2 Proces neurodegenerace u RS

Práce B. Trappa v roce 1998, která vizualizovala nejen demyelinizované úseky nervových vláken, ale i přítomnost velkého množství ovoidních terminálních zakončení poškozených nervových vláken v lézích bílé hmoty, vyzdvihla roli axonální degenerace v patofyziologii RS (Trapp, Peterson et al. 1998). Do té doby byl v centru pozornosti fokální zánět vedoucí k poškození myelinu s následnou reaktivní gliovou jizvou a jeho zobrazení v podobě gadolinium enhancujících lézí a měření počtu/objemu demyelinizačních lézí na T2 váženém obraze magnetické rezonance. Studie kombinující MR s přesně ko-lokalizovanými histopatologickými řezy mozkem potvrdily silnou korelaci mezi procentem ztráty nervových vláken a hypointensitou lézí na T1 váženém obraze (van Waesberghe, Kamphorst et al. 1999).

Poškození myelinu i axonů je často vysvětlováno přímo působením cytotoxických T lymfocytů, které produkují perforiny a granzymy, a dále působením toxických produktů aktivované mikroglie a makrofágů (Havrdová 2013). Postupný úbytek neuroaxonálních struktur lze připsat retrográdní a anterográdní degeneraci po přerušení axonu vedoucí postupně k zániku buňky. Profesor H. Lassmann nabízí jako vysvětlení zániku neuronů vyčerpání energetických zásob buněk přítomných v místě zánětu (Lassmann and van Horssen 2011).

Jiní autoři argumentují, že se destrukce neuroaxonálních struktur a myelinu mohou účastnit i jiné mechanismy, protože demyelinizaci vláken předchází známky apoptózy oligodendrocytů (Barnett and Prineas 2004), tenké axony podléhají transsekci dříve než silnější vlákna (Evangelou, Konz et al. 2001) a poškozena je i funkce astrocytů, u nichž je pozorována retrakce výběžků a další změny (Sharma, Fischer et al. 2010). A tak by bylo možné za společného jmenovatele postupné neurodegenerace

označit jedno společné slabé místo, a tím je vyčerpání energetických zásob nervových buněk následkem mitochondriální dysfunkce.

Klinické projevy zánětu a neurodegenerace

Základní otázka v oboru RS, jak spolu souvisí zánět, demyelinizace, neurodegenerace a klinické projevy nemoci, zůstává nezodpovězena. V počátečních stádiích RS prakticky vždy nacházíme demyelinizační léze na MR mozku, které zůstaly klinicky němé a označujeme je jako pre-klinickou fázi nemoci. Jedním z vysvětlení, proč tato místa zánětu spojená s demyelinizací zůstala bez klinických projevů, je jejich lokalizace, která jim umožnila zůstat klinicky němá, a také plasticita CNS, jako kompenzační mechanismus zakrývající počáteční příznaky. S nárůstem počtu lézí a akumulací poškození tkáně nejspíše dochází k vyčerpání plasticity a u pacienta se začne projevovat sekundárně progresivní fáze nemoci (Ziemssen, Derfuss et al. 2016).

1.6. Léčba roztroušené sklerózy

1.6.1 Strategie a cíle léčby

V praxi se setkáváme s pacienty v různých stádiích nemoci a s různými potřebami. Pro každého jednotlivého pacienta hledáme optimální způsob léčby. Svá doporučení stavíme na výsledcích klinických studií, sledování velkých souborů (postmarketingové studie a databáze) a snažíme se praktikovat racionální léčbu založenou na důkazech, avšak velká část našich klinických rozhodnutí je založena na empirii. Z klinického hlediska se léčebné přístupy dají rozdělit na několik typů.

- A. Léčba akutní exacerpace nemoci
- B. Léčba zabraňující progresi nemoci (biologická terapie)
- C. Léčba reparativní
- D. Léčba symptomatická
- E. Sociálně právní péče o nemocného a jeho pečovatele

1.6.2 Léčba ataky RS

Standardním přístupem k léčbě ataky je neodkladné podání pulsu methylprednisolonu (MP) intravenózně v dávce 1 g na den po dobu 3 až 5 dnů (Sellebjerg, Barnes et al. 2005). Bylo prokázáno, že podání methylprednisolonu v ekvivalentní dávce intravenózně versus perorálně má stejný biologický efekt a stejné spektrum nežádoucích účinků (Alam, Kyriakides et al. 1993, Metz, Sabuda et al. 1999).

Od léčby vysokou dávkou kortikoidů očekáváme nejen zkrácení doby ataky, ale také zmírnění následků zánětu prostřednictvím uzavření hematoencefalické bariéry (bloádou adhezivních molekul (Elovaara, Lalla et al. 1998) a aktivity matrixových metaloproteináz (Rosenberg, Dencoff et al. 1996)). Pro význam včasné léčby ataky svědčí i další studie, známá ONTT (*Optic neuritis treatment trial*), v níž byl porovnáván efekt pulsu methylprednisolonu (MP) vůči podání nízké dávky kortikoidů (perorálně) a vynechání aktivní léčby na následky zánětu očního nervu (Beck 1992). Nález menší poruchy nízkokontrastní citlivosti a barvocitu u pacientů léčených pulsem MP svědčí o zachování neuroaxonálních struktur sítnice v souvislosti s léčbou. Zcela zásadním výsledkem v této studii bylo i pozorování, že ve skupině léčené pulsem MP byl výskyt další ataky RS oddálen, zatímco ve skupině léčené nízkou dávkou kortikoidů perorálně se další ataka RS vyskytla ještě dříve než v placebové skupině.

V případě nedostačující odpovědi či pokračujícího rozvoje příznaků ataky i po započetí léčby MP je možno přistoupit k plazmaferéze. Studie z Mayo kliniky z roku 1993 potvrdila, že plazmaferéza je účinnou léčbou u závažných demyelinizačních epizod a u pacientů s NMO (Rodriguez, Karnes et al. 1993).

Akutní relaps je důvodem pro klidový režim bez větší fyzické zátěže, alespoň v prvních několika dnech, po nichž by měla následovat pozvolná rehabilitace porušené funkce (Havrdová 2013).

1.6.3 Přehled biologické terapie

Prvním lékem schváleným pro léčbu RS byl interferon beta, který je produkován E. coli za použití rekombinantní DNA technologie. Způsob výroby a povaha tohoto léku

byla natolik odlišná od chemicky syntetizovaných molekul, že si vyžádala zavedení termínu **biologická léčba** (*biologicals*). Na úrovni Evropské lékové agentury EMA formálně tyto léky nyní patří do kategorie tzv. ATMPs (*advanced therapy medicinal products* = léčivé přípravky pro moderní terapii). Dalším termínem zavedeným s příchodem interferonu byla zkratka **DMD** (*disease modifying drugs*), neboli léky zasahující přímo do patofyziologie nemoci a modifikující průběh onemocnění. Používání těchto termínů nám umožňuje zdůraznit, že se jedná o léky bránící progresi onemocnění, a ne o léky symptomatické, které jen mírní příznaky RS, ale nemají vliv na jejich rozvoj.

Za posledních 20 letů bylo v léčbě RS vyzkoušeno mnoho molekul, které zasahují do patogeneze RS na různých úrovních a mají více či méně specifické imunomodulační a imunosupresivní účinky. Přehled léků typu DMD u roztroušené sklerózy je uveden v tabulce níže.

Skupina léků a její představitelé	Mechanismus účinku	Nežádoucí účinky
Interferon beta 1a Avonex 30 µg i.m. 1x týdně Plegridy 125 µg s.c. 2x týdně Rebif 22 µg s.c. 3x týdně Rebif 44 µg s.c. 3x týdně	❖ Snížení aktivace lymfocytů snížením prezentace antigenu změnou exprese cytokinů ❖ Snížení permeability hematoencefalické bariéry	Chřipkové příznaky, reakce v místě vpichu, hepatopatie, leukopenie, deprese, thyreopatie
Interferon beta 1b Betaferon 250 µg s.c. ob den Extavia 250 µg s.c. ob den	blokádou matrixových metaloproteináz a snížením adheze lymfocytů	
Glatiramer acetat Copaxon 20 mg s.c. denně Copaxon 40 mg s.c. 3x týdně Generické glatiramoidy (neschválené v ČR)	❖ Směs polymerů aminokyselin napodobujících antigeny myelinu ❖ Působí imunomodulačně neúplně jasným mechanismem	Reakce v místě vpichu, náhlá poinjekční histaminová reakce, lymfadenopatie
Teriflunomid Aubagio 14 mg tab p.o. 1-0-0	❖ Cytostatikum. Inhibitor syntézy pyrimidinu de novo brání proliferaci buněk	Lymfopenie, průjem, nevolnost, hepatopatie, hypertenze, teratogenicita
Dimethylfumarát Tecfidera 240mg cps p.o. 1-0-1	❖ Antioxidační efekt aktivací nukleárního faktoru Nrf2. ❖ Protizánětlivý efekt snížením aktivace NF kappa B	Zažívací obtíže, rudnutí, lymfopenie
Fingolimod Gilenya 0.5mg cps p.o. 1-0-0	❖ Modulátor S1P receptoru brání vycestování cirkulujících lymfocytů z lymfatických uzlin ❖ Možný efekt v CNS	Transientní bradykardie, lymfopenie, hepatopatie, makulární edém, hypertenze, VZV infekce

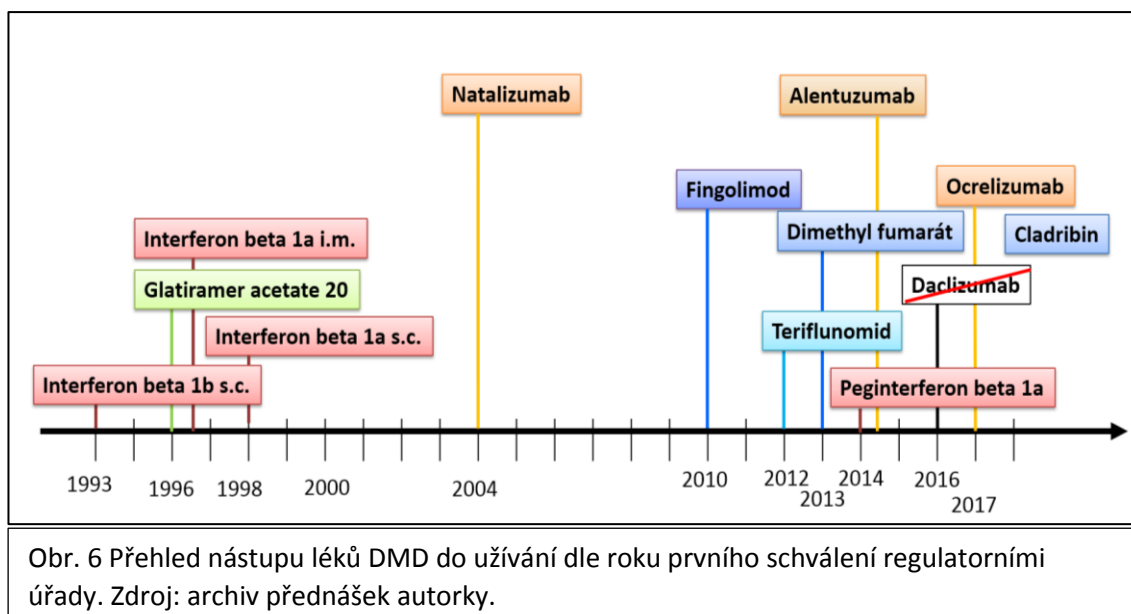
Natalizumab Tysabri 300 mg i.v. á měsíc	❖ Monoklonální protilátka proti α 4-integrinu ❖ Blokuje funkci adhesivních molekul na lymfocytech a brání přestupu přes HEB	Infuzní reakce, progresivní multifokální leukoencefalopatie
Alemtuzumab Lemtrada 12 mg i.v. denně po dobu 5 dnů v 1. roce, a po dobu 3 dnů v dalším roce	❖ Monoklonální protilátka proti CD-52 vede k destrukci T a B lymfocytů, monocytů, makrofágů a dendritických buněk.	Infuzní reakce, herpetické infekce, autoimunitních reakce (hyperthyreóza, ITP, glomerulonefritida apod)
Ocrelizumab Ocrevus 300 mg i. v. á 14 dní na počátku, dále 600 mg i. v. á 6 měsíců	❖ Humanizovaná monoklonální protilátka proti CD-20 vede k destrukci B lymfocytů.	Infuzní reakce, infekce horních cest dýchacích, herpetické infekce
Cladribine Mavenclad 10 mg tbl p.o. celková dávka 3,5 mg/kg/2 roky léčby podávané v 5 deních cyklech	❖ Cytostatikum. Analog deoxyadeninu vede k selektivní depleci T a B lymfocytů	Lymfopenie, herpetické infekce, teratogenní

Tab. 2 Přehled DMD léků

Volba vhodného léčebného prostředku pro pacienta s RS se v současné době řídí nejen medicínskými hledisky, které jsou shrnuty v doporučeních EAN/ECTRIMS (*European Academy of Neurology/European Consortium for Treatment and Research on Multiple Sclerosis*) vydaných v roce 2018 (Montalban, Gold et al. 2018) a v Klinickém standardu pro diagnostiku a léčbu RS a NMO České neurologické společnosti z roku 2012, ale i tím, zda je v České republice lék na seznamu léků hrazených z veřejného zdravotního pojištění a za jakých podmínek. U nově diagnostikovaných pacientů s CIS nebo RR RS jsou ve skupině léků hrazených jako první „pokus“ o léčbu RS, tzv. léků první linie zařazeny interferony, glatiramer acetát a teriflunomid. Jiné léky nejsou v této fázi nemoci (až na specifické případy) hrazeny. V případě, že je u pacienta dokumentováno selhání této léčby, je hrazena tzv. eskalace na lék 1,5 linie, kam nyní patří dimethyl fumarát a fingolimod. V dalším stupni můžeme přikročit k použití léků tzv. druhé linie, k nimž patří natalizumab a alemtuzumab. Léky, které jsou v tuto chvíli v procesu schvalování výše úhrady (což je prakticky hlavní kritérium, podle kterého jsou léky řazeny do tzv. linií) ještě své umístění nenašly. Důvody, proč na počátku léčby nezařadit léky tzv. 1,5 linie, jsou spíše finanční než medicínské a odpovídají specifické situaci v ČR, podobně jako důvody, proč nelze

přejít na léky nižší linie, ačkoliv je to z medicínského hlediska pro pacienta žádoucí, například z důvodu plánování gravidity.

Významný rozvoj v oblasti léčebných možností pro RS v posledních letech je ilustrován na obr. 6.



1.6.4 Způsoby hodnocení efektivity léčby

Jednoznačným měřítkem úspěchu léčby je stabilizovaný stav pacienta ve smyslu fyzické i kognitivní výkonnosti po celou dobu nezkráceného života. Vzhledem k heterogenitě průběhu a délce nemoci by hodnocení účinnosti léčby jen pomocí invalidity vyžadovalo extrémní dobu a znemožňovalo by hodnocení léků ve vývoji. Proto při hodnocení účinnosti léčby v klinických studiích i v reálné praxi používáme i další známky aktivity nemoci.

Protože dosud neznáme faktor, který spouští proces roztroušené sklerózy, neexistuje ani kauzální léčba. Naším cílem zatím je dosáhnout stavu, kdy onemocnění sice vyžaduje léčbu, ale nemá žádné nové projevy. Takový stav nyní označujeme jako **NEDA (no evidence of disease activity)**. S poznáním patofyziologie RS a rozvojem vyšetřovacích metod se vyvíjí i názor, jak nejlépe měřit efektivitu léčby a mění se i definice NEDA.

1.6.4.1 Relapsy jako první měřítko efektivity léčby

V době příchodu prvních DMD léků na trh v 90. letech bylo měřítkem úspěchu léčby snížení frekvence relapsů. Ataka je první klinickou známkou nemoci, vede k diagnóze, a proto je pochopitelné, že prvotním cílem léčby bylo zabránit dalším relapsům.

Interferon beta 1b (Betaseron/Betaferon) byl schválen regulačními agenturami k léčbě relabující roztroušené sklerózy na základě studie fáze III probíhající v letech 1988-1993(1993). V této pěti leté studii bylo randomizováno 372 pacientů do tří ramen léčby, tj. na interferon beta-1b s.c. v dávce 250 ucg ob den, interferon beta 1b s.c. v dávce 50 ucg ob den nebo na placebo. Frekvence relapsů (primární cíl studie) klesla ve skupině léčené 250 ucg interferonu beta-1b oproti placebu o 33%, dvakrát se snížil podíl středně závažných a závažných relapsů a podíl pacientů bez relapsů se na léčbě oproti placebu zvýšil ze 16% na 31%.

Po více než 25 letech od uvedení Betaferonu na trh se nám tato studie jeví jako velmi malá (schválenou dávkou bylo léčeno jen 125 pacientů) a dnes by byla považována za nedostačující, protože efekt léčby byl prokázán jen snížením průměrné roční frekvence relapsů, zatímco změna na EDSS škále ve smyslu zpomalení progresu neurologických příznaků byla vyčíslena jen jako statisticky nevýznamný trend. Přesto tato studie znamenala revoluci v přístupu k RS, protože přivedla do praxe první DMD.

Relaps sám o sobě figuruje jako hlavní ukazatel efektivity léčby (primární cíl studie) například v situaci, kdy studie testují, zda lék oddálí konverzi onemocnění ze stadia CIS (klinicky izolovaný syndrom) do stadia relabující roztroušené sklerózy. Snížení rizika dosažení stadia RR RS u pacientů s CIS hodnotily například studie PreCISe (Comi, Martinelli et al. 2009), BENEFIT (Kappos, Traboulsee et al. 2006), CHAMPS (Jacobs, Beck et al. 2000) nebo ETOMS (Filippi, Rovaris et al. 2004).

Průměrná roční frekvence relapsů je kvantifikována ve všech klinických studiích u RS, avšak není sama o sobě akceptována regulačními agenturami jako dostatečný průkaz efektu léku. Od léků je očekáván průkaz oddálení progresu invalidity.

1.6.4.2 EDSS jako nástroj hodnocení invalidity a měřítko efektivity léčby

Od DMD léků vstupujících na trh očekáváme zastavení, oddálení či zpomalení postupu invalidity, typicky hodnocené na škále EDSS (*Expanded Disability Status*

Scale). V klinických studiích je progres invalidity vyjádřena často ve formě analýzy nevratného zhoršení skóre EDSS o klinicky významnou hodnotu trvající více než 3 nebo 6 měsíců, nebo ve formě změny EDSS skóre za dobu pozorování.

Numerickou škálu od 0 do 10 kvantifikující postižení nervového systému u pacientů s RS navrhl J. F. Kurtzke v roce 1955 a nazval ji DSS (Disability Status Scale) (Kurtzke 1955). V roce 1983 publikoval popis tzv. EDSS (Expanded Disability Status Scale), která obsahuje rozšíření o půlbody (0, 1.0, 1.5, 2.0, 2.5 atd), a je používána dodnes (Kurtzke 1983). Motivací k zavedení jednotné škály hodnotící neurologické postižení v rámci RS byl rozvoj léků a potřeba hodnotit jejich efekt. Škála EDSS převádí neurologické vyšetření do sedmi (FS) funkčních systémů (zrakový, kmenový, pyramidový, mozečkový, sensitivní, sfinktery, cerebrální) a samostatně hodnotí schopnost a dosah chůze v tzv. *ambulation indexu* (AI). Výsledné EDSS skóre je v rozmezí 0–3.5 definováno kombinací FS hodnot, v rozmezí 3.5–5.5 je určováno společně FS a AI, a EDSS v rozmezí 4.0–7.5 je determinováno prakticky jen parametry chůze, tj. vzdáleností a mírou opory při chůzi. EDSS skóre nad 7.5 (imobilní pacienti) je určeno podle stupně závislosti na pomoci okolí. Za klinicky významnou změnu je považováno zhoršení EDSS skóre o 1 celý stupeň v rozmezí EDSS 0–5.5 a o půl stupně u EDSS 6.0 a vyššího. O EDSS se nedá uvažovat jako o lineární škále, protože například skok z EDSS 0 na 1.0 je kvantitativně neporovnatelný se skokem mezi EDSS 2.5 a 3.5, a dále proto, že EDSS 4.0 a výše je skóre determinováno jen parametry chůze. To znamená, že změny zraku, funkce horních končetin, sensitivních funkcí, sfinkterových funkcí a další parametry nejsou v konečném skóre v určité části škály nijak zohledněny. Přes veškeré výhrady kliniků i vědců v oboru je škála EDSS základním kamenem v komunikaci o stavu pacienta a prakticky neexistuje RS studie, která by necharakterizovala pacienty pomocí EDSS.

1.6.4.3 Další klinické nástroje k měření postižení u RS

Vzhledem k tomu, že EDSS zdaleka nepostihuje všechny formy invalidity u RS, jsou v klinických studiích používány jako sekundární a terciární měření další škály k lepší kvantifikaci postižení. Multiple sclerosis functional composite (MSFC) je Z-skóre, které se vypočítává na základě výkonu ve třech testech: T25FW (*Timed 25 foot walk*) je test hodnotící za kolik sekund ujde pacient rychlou chůzí 7,6 metru. 9HPT (*9 hole peg*

test) je vyšetření zaměřené na funkci horních končetin, při němž se měří, za jak dlouho pacient přemístí devět tyčinek z misky do otvorů v desce a zpět do misky. Třetí složkou MSFC je test krátkodobé paměti a koncentrace zvaný PASAT (*Paced Auditory Serial Addition Test*), při němž pacienti sčítají z paměti čísla diktovaná po 2-3 sekundách.

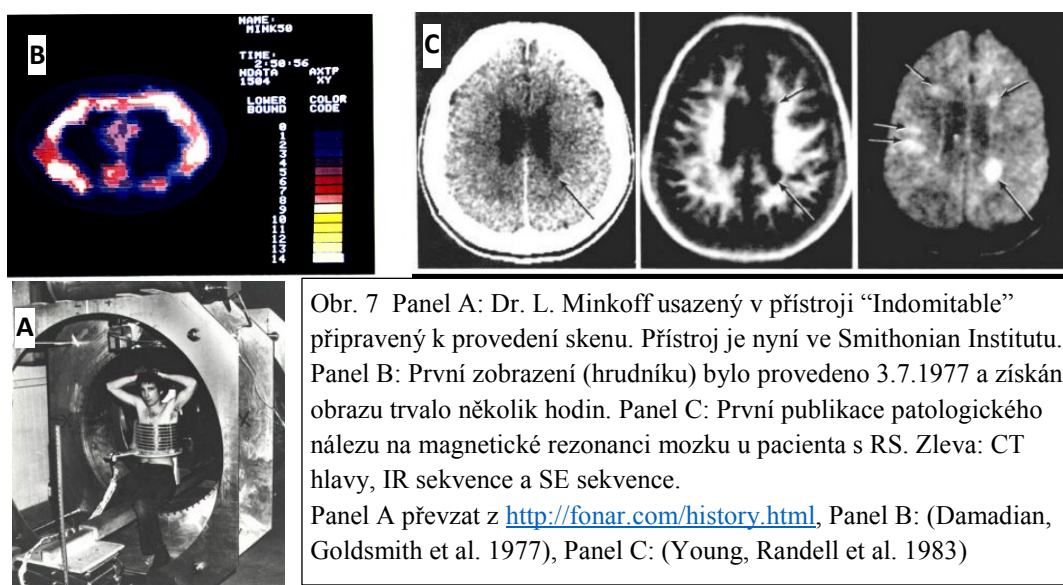
Velmi důležitou součástí postižení je změna kognitivních funkcí. Je přítomna již v časných fázích onemocnění a vede ke snížení pracovního výkonu. Kognitivní postižení je takřka neviditelné na škále EDSS a během neurologického vyšetření uniká pozornosti. Kognitivní výkon je u RS možno kvantifikovat validovanou baterií psychologických testů MACFIMS (*Minimal Assessment of Cognitive Function Impairment in MS*), která však vyžaduje významnou časovou investici neuropsychologa i pacienta (Benedict, Cookfair et al. 2006). Kratší baterie testů zvaná BICAMS (*Brief International Cognitive Assessment for MS*) je proveditelná za 20-30 minut a byla validována i do českého jazyka (Dušánková, Kalinčík et al. 2012). Skládá se z testu SDMT (*Symbol Digit Modality Test*), v němž pacient přiřazuje po dobu 2 minut dle vzoru znaky k číslům, dále z testu CVLT (*California Verbal Learning Testu*), v němž pacient prokazuje funkci krátkodobé paměti na vzorku 16 prezentovaných slov a konečně z testu BVMTR (*Brief Visuospatial Memory Test Revised*), kde má pacient za úkol nakreslit z paměti krátce shlédnuté obrazce a prokázat prostorovou představivost a paměť (Benedict, Amato et al. 2012). Samotný test SDMT je proveditelný i nepsychologem a je pro své dobré psychometrické vlastnosti zvažován jako součást MSFC místo testu PASAT (Benedict, Drake et al. 2016).

1.6.4.4 Magnetická rezonance jako nástroj hodnocení aktivity nemoci

Magnetická rezonance mozku je základní vyšetřovací metodou v diagnostice demyelinizačních onemocnění CNS (viz kapitola Diagnostická kritéria), slouží jako klinický nástroj k monitoraci aktivity onemocnění i jako biomarker účinnosti léčby v klinických studiích (Smith, Sorensen et al. 2003).

Od doby provedení první MR mozku u pacienta s roztroušenou sklerózou se metodologie MR významně vyvinula a stala se nedílnou součástí oboru. Sledování rozvoje magnetické rezonance jako zobrazovací metody a její vliv na porozumění etiologii RS skýtá mnohá poučení. Když Dr. Raymond Damadian publikoval v roce 1977 první zobrazení řezu trupem pomocí přístroje na principu magnetické rezonance (Damadian, Goldsmith et al. 1977, Damadian 1980), nedávala ještě kvalita obrazu tušit,

jakého významu metoda dojde (obr. 7). Již v roce 1983 konstatoval Young and Randell, že při použití spin-echo (SE) sekvence lze pomocí magnetické rezonance zobrazit mnohem více lézí v bílé hmotě pěti studovaných pacientů s RS, než na sekvenci IR (*inversion recovery*) a v porovnání s minimem lézí na postkontrastním CT hlavy (Young, Randell et al. 1983). V roce 1988 přišla na trh první kontrastní látka s gadoliniem pro použití při magnetické rezonanci (Lohrke, Frenzel et al. 2016) a s ní i možnost zobrazení porušené hematoencefalické bariéry. Ve stejné době již začínal nábor pacientů do první studie s interferonem u RS.



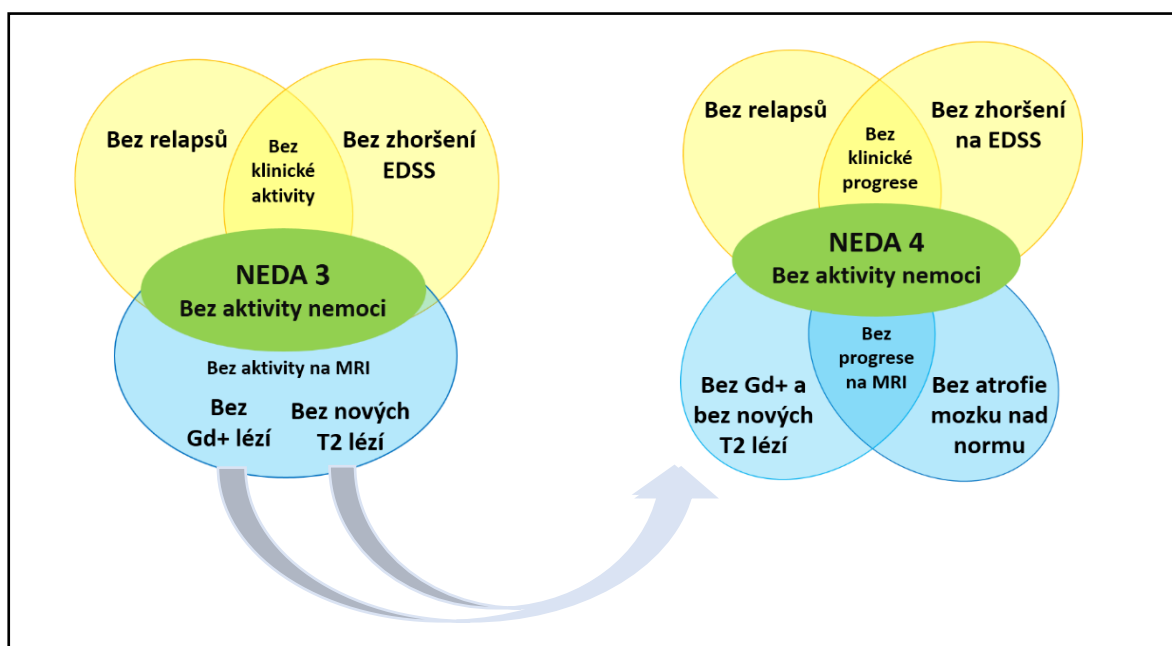
Asociace klinických projevů RS (relapsů) se vznikem nových lézí na MR mozku byla prokázána v roce 1989 (Willoughby, Grochowski et al. 1989). Jednou ze studií formující budoucnost MR jako biomarkeru aktivity roztroušené sklerózy byla práce týmu F. Barkhofa, která ukázala, že výskyt gadolinium (Gd) enhancujících lézí v mozku je mnohem vyšší než výskyt klinicky detekovatelných relapsů (Barkhof, Scheltens et al. 1992). Nález Gd enhancujících lézí indikuje zvýšení permeability hematoencefalické bariéry v místě aktivního zánětu a je používán v klinických studiích jako biomarker aktivity RS (Sormani, Bonzano et al. 2009).

Další studie potvrdily, že jak relapsy, tak průkaz nových lézí na MR mozku korelují s rizikem nástupu dalších nevratných neurologických příznaků (neboli zhoršení na EDSS). Průkaz nových nebo zvětšujících se lézí na T2W obraze nebo průkaz Gd enhancujících lézí je tedy považován za důkaz subklinických relapsů a je nutno je zahrnout v hodnocení aktivity nemoci (Bermel, You et al. 2013). Hodnocení aktivity

onemocnění jen pomocí jednoho z výše uvedených kritérií (relapsů nebo počtu enhancujících lézí či nových T2 lézí) bylo zjevně nedostačující a vyžadovalo změnu v přístupu k měřítkům účinnosti léčby.

1.6.4.5 NEDA 3

Nástup účinnějších léčiv vedl k rozvoji koncepce NEDA (no evidence of disease activity), zatím stále s velkou pozorností k zánětlivé aktivitě nemoci, ať již ve formě relapsů či nových lézí na MR mozku. NEDA 3 je definována jako stav, kdy dojde k potlačení výskytu relapsů, potlačení aktivity onemocnění na MR mozku (Gd enhancujících lézí nebo lézí na T2W obraze) a nedochází ke klinicky významnému zhoršení na škále EDSS (Giovannoni, Turner et al. 2015). Tato forma hodnocení účinnosti léčby byla poprvé použita v hodnocení účinnosti natalizumabu (Havrdová, Galetta et al. 2009, Havrdová, Galetta et al. 2010). Jak již bylo zmíněno, na patofyziologii RS se nepodílí jen zánět a s ním spojené akutní změny stavu pacienta a známky lézí na mozku, ale i proces neurodegenerace. O tom, zda je neuroaxonální poškození hlavně následkem zánětu proběhlého v minulosti, nebo zda jde i o samostatný proces probíhající i bez zánětu, se stále diskutuje. I tak je zřejmé, že v konceptu NEDA-3 jsou známky progresu poškození mimo epizody zánětu reprezentovány jen známkami nevratné invalidity na škále EDSS a biomarkery neurodegenerace chybí (obr. 8).



Obr. 8 Koncepce NEDA 3 a NEDA 4

NEDA 4

Zdokonalením koncepce NEDA je zahrnutí parametru atrofie mozku, která lépe koreluje s dlouhodobou invaliditou. NEDA 4 v sobě zahrnuje dva parametry klinické (relapsy a EDSS) a dva parametry zobrazovací (důkaz fokální zánětlivé aktivity nemoci pomocí Gd+ lézí nebo nové/zvětšující se T2 léze a ztrátu objemu mozku vyjadřující difuzní postižení CNS).

1.6.4.6 Atrofie mozkové tkáně jako biomarker RS

V klinické praxi nás často překvapí, jak počet a objem T2 lézí neodpovídá míře postižení pacienta. Tento jev, nazvaný „klinicko-radiologický paradox“ je ověřen i četnými radiologickými studiemi, které ukázaly, že korelace mezi nálezem na T2 váženém obraze a EDSS se pohybuje mezi 0.15 a 0.60 (Barkhof 1999). Část tohoto jevu bychom mohli přičíst nedokonalosti EDSS jako měřítku postižení. Jedním z důvodů je jistě to, že hyperintenzní léze na T2 váženém obraze odráží široké spektrum patologických procesů, včetně edému, zánětu, demyelinizace, remyelinizace a gliózy. Dalším důvodem je omezená schopnost konvenčních zobrazovacích metod identifikovat všechna místa, v nichž zánětlivá aktivita probíhá, což potvrzují sekvence MR zaměřené na kortikosubkortikální oblasti, zadní jámu (sekvence DIR – *double inversion recovery*) (Seewann, Vrenken et al. 2011, Geisseler, Pflugshaupt et al. 2016) a zobrazení míchy (Galler, Stellmann et al. 2016). A v neposlední řadě může být důvodem i to, že T2 léze neodrážejí tu nejpodstatnější a nevratnou patologii, kterou je ztráta nervové tkáně. Práce zaměřená na histologický podklad hypointenzních lézí na T1 váženém obraze (tzv. T1 black holes – černé díry) magnetické rezonance ukázala, že míra hypointenzity těchto lézí koreluje s denzitou axonů v oblasti zájmu a je odrazem závažnosti axonálního postižení následkem zánětu (van Waesberghe, Kamphorst et al. 1999). Projevem konečných následků patologie RS, procesů fokálních i difuzních, je atrofie tkáně CNS. Mozkovou atrofií lze měřit různými způsoby, například pomocí měření šířky třetí komory, avšak nejčastějším biomarkerem atrofie CNS je míra ztráty objemu mozkového parenchymu, ať již je nazývána BPF – brain parenchymal fraction (Fisher, Rudick et al. 2002), nebo jinak – dle použitého algoritmu měření. Korelace BPF s mírou postižení vyjádřenou škálou EDSS byla opakovaně demonstrována ve studiích napříč populacemi pacientů s RS i v longitudinálních studiích (Rocca, Comi et al. 2017). Podle

doporučení mezinárodní expertní skupiny MAGNIMS nemůže měření atrofie CNS sloužit jako diagnostický nástroj u RS (Rovira, Wattjes et al. 2015) , ale je vhodným biomarkerem k měření neuroprotektivního účinku léků v kontextu klinických studiích (Wattjes, Rovira et al. 2015). Na úrovni jednotlivých pacientů není měření atrofie CNS v klinické praxi zatím doporučeno (Wattjes, Rovira et al. 2015) ani běžně používáno pro obtížně udržitelnou kvalitu získaných dat.

Měření atrofie mozkového parenchymu není bezchybným biomarkerem axonálního poškození, protože se objem mozku mění v závislosti na dehydrataci, kouření a dalších faktorech běžně se vyskytujících v populaci, ale i na míře zánětu, edému tkáně, nedávného podání kortikoidů (efekt pseudoatrofie), možné remyelinizaci a dalších procesech přímo souvisejících s RS. Navíc je naprosto nezbytné, aby zobrazení mozku proběhlo na stejném MR přístroji a ve stejném protokolu, což je dodržitelné většinou jen v kontextu klinických studií, nebo v rámci disciplinované spolupráce radiologů a neurologů v jednom centru (Uher, Krásenský et al. 2018).

1.6.4.7 Co bude následovat po NEDA 4?

Následky RS jsou pozorovatelné i v kognitivní oblasti, což doposud není v koncepci NEDA zahrnuto. Profesor Gavin Giovannonni již v roce 2016 na svém blogu provokativně postuloval otázku, zda NEDA-5, zahrnující měření poškození kognice, by měla být naším další měřítkem úspěšnosti léčby u RS.

Dalším zlepšením konceptu NEDA by bylo nalezení a validace stabilnějšího biomarkeru atrofie CNS. Tím by mohlo být měření neuroaxonálních změn na sítnici pomocí optické koherenční tomografie (OCT). Přední část zrakové dráhy odráží patologii RS a pro svou dobrou přístupnost se stává modelem axonálního poškození u RS – viz kapitola OCT u RS.

Nejnovějším biomarkerem v oblasti RS jsou neurofilamenta. Přítomnost neurofilament v likvoru a krevním séru souvisí s porušením integrity neuronů a je proto zkoumána jako biomarker destrukce tkáně CNS (Petzold 2005). Na rozdíl od zobrazovacích metod mohou laboratorní biomarkery zachytit patologický proces ve fázi, kdy ještě nedošlo k ireverzibilní ztrátě tkáně, a tím posouvají diagnostiku do časnějších fází patologie.

2. Zánět očního nervu – neuritis nervi optici

2.1. Klinický obraz zánětu očního nervu

Přibližně u 20 % pacientů s RS je prvním klinickým příznakem zánět očního nervu (ON). Post-mortem studie poskytují svědectví o tom, že k postižení očního nervu dochází u více než 90 % pacientů s diagnózou RS (Ikuta and Zimmerman 1976, Toussaint, Perier et al. 1983).

Velké množství údajů o průběhu a prognóze zánětu očního nervu pochází z rozsáhlé studie *Optic neuritis treatment trial* (ONTT) provedené ve USA na přelomu 80. a 90. let (Beck, Cleary et al. 1992, Beck and Trobe 1995). Do studie bylo zařazeno 457 pacientů ve věku mezi 18 a 46 lety, kteří měli známky ON trvající maximálně 8 dní, podpořené nálezem relativního aferentního pupilárního defektu a defektu zorného pole v postiženém oku.

Klinická prezentace ON je celkem typická. Pacienti přichází s příznakem snížení centrální zrakové ostrosti, který nastupuje subakutně a zhoršuje se během hodin až dní. Typické je, že příznaky během dne nepolevují, a naopak kolísání zraku v průběhu dne, při čtení či zátěži svědčí proti diagnóze akutního zánětu očního nervu. Dalším častým příznakem při retrobulbární lokalizaci zánětu je bolest za okem provokovaná pohybem bulbu (u 92 % pacientů v ONTT), který je vysvětlován napínáním pochev očního nervu zduřelého zánětem. Při intraokulární lokalizaci zánětu může tento příznak chybět. V anamnéze může být přítomno prodělané virové onemocnění či jiná zátěž.

V objektivním vyšetření postiženého oka kvantifikujeme poruchu zorného pole na perimetru, snížení zrakové ostrosti, poruchu barvocitu a relativní aferentní pupilární defekt (RAPD). Tvar výpadku zrakového pole na perimetru je u ON nespecifický, avšak altitudinální porucha zorného pole zvyšuje podezření na ischemickou etiologii. Závažnost snížení zrakové ostrosti se pohybuje od minimálního postižení až po těžkou monokulární ztrátu zraku se ztrátou detekce světla. Porucha barvocitu není typicky pacientem subjektivně vnímána. Při formálním testování barvocitu například pomocí 15Hue testu je detekovatelná desaturace červené barvy. Jednostranné postižení očního nervu vede k asymetrické reakci zornic při střídavém osvětlení jedné a druhé zornice (*swinging flash light test*) nazývané relativní aferentní pupilární defekt (RAPD). U

mladých jedinců s první atakou ON má RAPD prognostickou hodnotu. Těžké postižení zornicové reakce při relativně dobrém visu svědčí pro akutní lézi, která povede k prohloubení zrakového deficitu v dalších hodinách až dnech. Naopak minimální RAPD i při větší ztrátě visu je prognosticky příznivým faktorem pro restituci zrakových funkcí (Diblík, Kuthan et al. 2010). Na fundu může být zachycen edém papily (dle ONTT asi u 35 % pacientů) svědčící pro intraokulární lokalizaci ON. V ostatních případech nejsou na fundu zjevné v časných fázích ON žádné patologie, z čehož pochází populární rčení, že u ON „lékař ani pacient nic nevidí“ (pacient pro poruchu zraku a lékař nenachází patologii na fundu).

V diferenciální diagnóze ztráty centrální zrakové ostrosti zvláště při nepřítomnosti bolesti za okem při pohybu bulbu je nutno zvážit nejen etiologii demyelinizační, ale i infekční a toxickou, případně Leberovu neuropatii optiku, arteritickou a non-arteritickou formu akutní přední ischemie n. opticus (AION), zadní formu ischemie n. opticus (PION), trombózu v. centralis retinae, centrální serózní retinopatii, amoci sítnice a jiné vzácnější etiologie. V každém případě patří kompletní vyšetření a potvrzení diagnózy zánětu očního nervu do rukou oftalmologa.

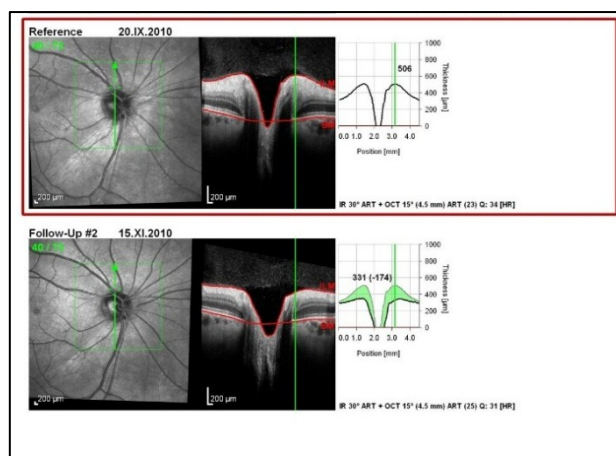
Při vyslovení podezření na zánět očního nervu autoimunitní etiologie je klíčová úzká spolupráce mezi neurologem a oftalmologem. ON může být prvním projevem roztroušené sklerózy, neuromyelitis optica nebo součástí chronického relabujícího zánětu očního nervu (CRION-*chronic relapsing inflammatory optic neuritis*). Pokud nenacházíme žádný důvod ani souvislost ON s jinými diagnózami, je ON klasifikována jako idiopatická. Ve všech případech je u ON indikováno včasné provedení magnetické rezonance mozku k vyloučení známek demyelinizačních lézí a objektivního neurologického vyšetření k vyloučení objektivních známek diseminace postižení nervového systému. Vyšetření orbity magnetickou rezonancí s kontrastní látkou ne vždy zobrazí infiltraci a ztlustění očního nervu v místě zánětu a nemá prediktivní hodnotu pro míru postižení zraku, ale je nutné zvláště v případě příznaků vzbuzujících pochybnosti o diagnóze typické pro ON autoimunitní etiologie. Lumbální punkce má význam v diagnostice RS i NMO, případně v diferenciální diagnóze atypických případů zánětu očního nervu k vyloučení infekční etiologie.

Příznaky typické ON	Příznaky atypické pro ON
Věk pacienta 20-40 let	Věk pacienta nad 50 let
Jednostranné subakutní snížení zraku	Současná oboustranná ztráta zraku
Bolest za okem akcentovaná pohybem oka	Nepřítomnost bolesti za okem
Normální nález na fundu	Hemoragie a další patologie fundu
Návrat zraku subjektivně do normy	Špatný návrat zrakové ostrosti
Izolovaný problém u jinak zdravého pacienta	Příznaky systémového onemocnění
CAVE: špatný návrat zrakové ostrosti, oboustranná a opakující se ON u NMO a NMO-SD	

Tab. 3 Příznaky typické a atypické ON

2.2 Následky ON

Asi u třetiny pacientů s ON můžeme pozorovat různý stupeň edému papily. Zvláště na OCT vyšetření je to velmi působivý nález (obr. 9), který vzbuzuje otázku, zda míra otoku papily u ON predikuje závažnější následky. Jedna z prvních studií, která se touto otázkou zabývala (Henderson, Altmann et al. 2010), ukázala, že míra otoku očního nervu (měřená jako rozdíl mezi tloušťkou peripapilární oblasti postiženého oka a vedlejšího oka pomocí SD-OCT) neurčuje míru snížení vrstvy RNFL následkem ON.



Obr. 9 Nález edému papily u pacienta v akutní fázi zánětu očního nervu.

V průběhu zánětu očního nervu předchází funkční změny změnám morfologickým. Snížení centrální zrakové ostrosti je největší na počátku epizody a postupně se zrak zlepšuje. K úpravě příznaků dochází během 4-6 týdnů a většina pacientů nepociťuje trvalý zrakový deficit. Podle výsledků studie ONTT (Optic Neuritis Treatment Trial) z roku 1997 dojde i bez léčby k úpravě zrakové ostrosti na 20/40 nebo lepší u 95 % pacientů (u 94 % s léčbou i.v. methylprednisolonem a u 91 % pacientů léčených prednisonem p.o. (Beck, Cleary et al. 1992). Léčba methylprednisolonem v dávce 1 g. i.v. po dobu 3-5 dní zkracuje délku trvání příznaků,

avšak jeho efekt na návrat zrakových funkcí není prokázán. Trvalé poškození retiny měřitelné optickou koherenční tomografií v peripapilární oblasti i v oblasti makuly se objevuje během 4-6 týdnů od počátku příznaků a dosahuje maxima do 3 – 6 měsíců od počátku příznaků (Costello, Hodge et al. 2008). S úbytkem RNFL koreluje snížení zrakové ostrosti měřené na nízkokontrastním Sloan testu (1 řádek na Sloan testu odpovídá 3,5 mikrometru RNFL) (Balcer and Frohman 2010). Pacienti mohou udávat drobné obtíže s rozeznáváním vzdálenosti či rychlých pohybů a zhoršení rozeznávání obrysů při nižším osvitu. Při zvýšení tělesné teploty pacienti často popisují přítomnost Uthoffova fenomenu, který není příznakem nového zánětu, ale pouze známkou funkčního deficitu poškozeného optického nervu (Scholl, Song et al. 1991).

Následky ON u NMO

Zánět očního nervu je jedním z kardinálních příznaků neuromyelitis optica (M. Devic), přičemž u většiny případů se u NMO vyskytuje opakovaně. Prezentace příznaků ON u NMO je neodlišitelná od příznaků ON u RS. Následky ON u NMO jsou většinou mnohem závažnější než u ON v rámci RS (Merle, Olindo et al. 2007) (Merle 2007). Významné a přetrvávající zhoršení zrakových funkcí po první ON by mělo vést provedení k diagnostickým testům k vyloučení NMO. Ke slepotě v jednom oku dochází u 22 % pacientů s NMO po první atace a u 60 % rekurentních ON u NMO (Wingerchuk, 1999). Vzorcem poškození sítnice u NMO a RS se zabývá cíl IV. této práce.

3. Oko, okno do CNS

3.1 Embryonální vývoj struktur oka

První základy oka se vytvářejí již ve třetím týdnu nitroděložního vývoje a struktury sítnice jsou plně charakterizovány v sedmém měsíci. Senzorická část sítnice spolu s retinálním pigmentovým epitelem a očním nervem se vyvinula z neuroektodermu (spolu s corpus ciliare, iris, svaly kolem iris, a částí corpus vitreum). Na počátku vývoje oka se párové oční ploténky v místě prosencefala (neuroektoderm) prohloubí v oční jamky, ty se vychlípují laterálně a s mediálně uloženým prosencefalem jsou spojeny stopkou, která je základem budoucího očního nervu. Z očního váčku se vchlípením vyvine oční pohárek s dvojitou stěnou, který zasahuje až do stopky, kam pronikají cévy a mezenchymové buňky. Interakcí očního pohárku s povrchovým ektodermem se vytvoří základ čočky (zahrnuje i mezenchymové buňky), ten se vchlípí do nitra pohárku a čočka se následně stane samostatným útvarům. Z povrchového epitelu (ektodermu) pochází rohovkový epitel, spojivky, kůže víčka a slzný aparát. Z hlavového mezenchymu se vyvine zpevněná skléra, bohatě prokrvená choroidea a obaly očního nervu (meningy). Konečně vrstvy sítnice se diferencují z dvojité stěny očního pohárku. Zevní vrstva pohárku se stane základem retinálního pigmentového epitelu. Vnitřní vrstva pohárku se diferencuje v tyčinky, čípky, gangliové buňky a Mullerovy buňky. Formování vrstev sítnice je v něčem podobné vývoji vrstev mozkové kůry, kdy multipotentní prekursor neuroblastů proliferují a migrují do cílové vrstvy dle typu diferenciace buňky (Reese 2011). Embryonálně je tedy sítnice součástí centrálního nervového systému.

3.2 Anatomie oka

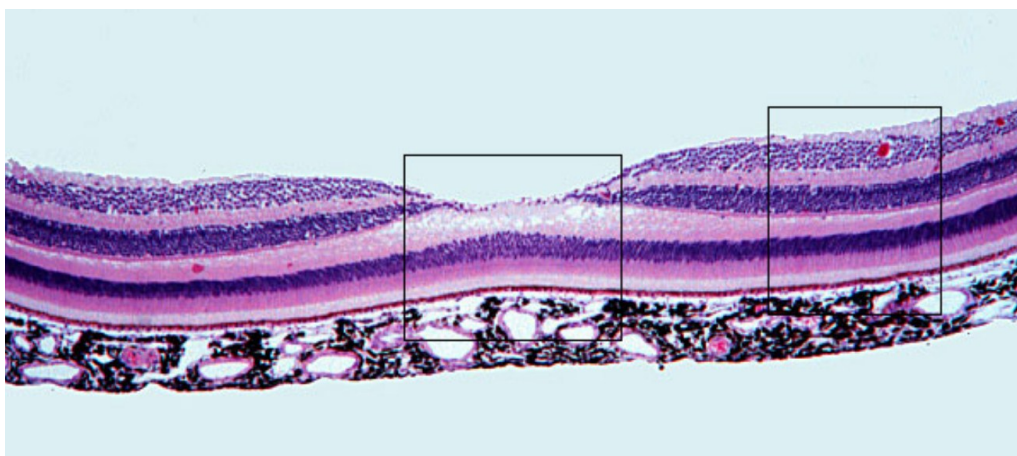
Sítnice je chráněna v očním bulbu vrstvou tunica fibrosa (tvořenou v přední části rohovkou a ve větší části bulbu sklérou) a vrstvou tunica vasculosa, tvořenou převážně choroideou, která v přední části přechází v iris a corpus ciliare. Choroidea je bohatě prokrvená, je tvořena řídkým kolagenním vazivem bohatým na fibroblasty a melanocyty, a je v těsném kontaktu s vrstvami sítnice. Choroidea má 4 vrstvy: lamina suprachoroidea (řídkého kolagenní vazivo), zona vasculosa, lamina choriocapillaris (anastomozující síť kapilár) a lamina vitrea (Bruchova membrána).

Sama sítnice, nazývaná histologicky tunica nervosa, je rozdělena na dvě části dle funkce. Ora serrata tvoří přechod mezi fotosensitivní částí sítnice (pars optica), která

pokrývá zadní 2/3 plochy bulbu, a tzv. slepou částí sítnice (pars caeca), která sahá vpředu až k vnitřnímu povrchu corpus ciliare (pars ciliaris retinae) a duhovky (pars iridica retinae). Sítnice na pohled vypadá jako jemná narůžovělá transparentní blána, která je volně položena na choroidei, a jen v místě ora serata a papily je pevně spojena s retinálním pigmentovým epitelem. Tloušťka sítnice se v blízkosti ora serata pohybuje okolo 0,1mm a při papile okolo 0,5 mm. Tato jemná struktura skrývá 10 specializovaných vrstev buněčných těl a vláken.

3.3. Vrstvy sítnice

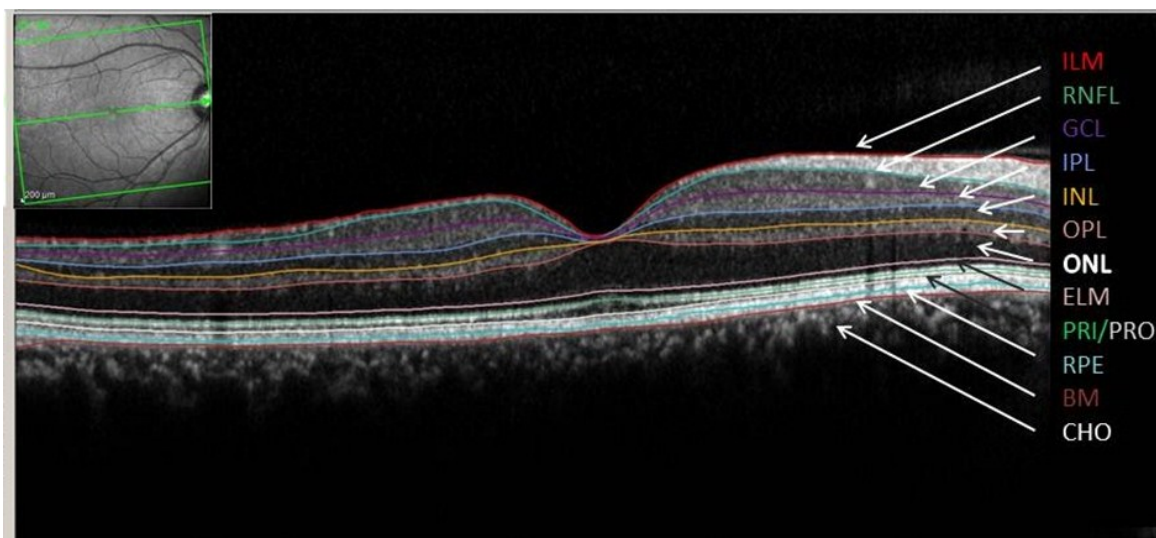
Histologicky lze rozlišit na sítnici 10 vrstev struktur (v pořadí od zevní vrstvy): retinální pigmentový epitel, vrstva tyčinek a čípků, zevní limitující membrána, zevní vrstva jádrová, zevní vrstva plexiformní, vnitřní vrstva jádrová, vnitřní vrstva plexiformní, vrstva gangliových buněk, vrstva nervových vláken, vnitřní limitující membrána (obr.10).



Obr. 10 Řez sítnicí napříč makulou (vertikálně) v barvení hematoxylin eosin. Na rozdíl od parafoveální oblasti nejsou v oblasti fovei zastoupeny všechny vrstvy sítnice. Zdroj: knihovna Boston University, <http://www.bu.edu/histology/p/079010oa.htm>

Díky rozdílné reflektivitě (odrazu světla) struktur sítnice, která je dána hustotou a uspořádáním membrán, organel, pigmentů a vláken, jsme schopni pomocí OCT vizualizovat jednotlivé vrstvy sítnice in-vivo (Němec, 2015). Vrstvy sítnice na OCT vysoce korelují s deseti vrstvami buněčných struktur sítnice, tak, jak jsou definovány na základě histologických nálezů a vzhledu sítnice pod mikroskopem. Za patologických stavů se reflektivita tkáně a tloušťka vrstev může měnit. Vrstvy sítnice jsou s výjimkou

místa prostupu vláken očního nervu v oblasti papily souvislé, ale mají v různých místech sítnice proměnlivou tloušťku (obr. 11).



Obr. 11 Lineární horizontální transfoveolární řez s vyznačením jednotlivých vrstev sítnice (Vnitřní limitující membrána – ILM, vrstva retinálních nervových vláken – RNFL, vrstva gangliových buněk – GCL, vnitřní plexiformní vrstva – IPL, vnitřní jaderná vrstva (bipolární buňky) INL, zevní plexiformní vrstva - OPL, zevní jaderná vrstva (vnitřní část receptorů) - ONL, zevní limitující membrána - ELM, vnitřní a zevní segmenty receptorů - PRI/PRO, retinální pigmentový epitel - RPE, bazální membrána - BM, choroidea – CHO). Ve výřezu je znázorněna pozice řezu makulou pravého oka u normální kontroly. Zdroj: archiv autorky, provedeno na SD-OCT Spectralis.

3.3.1 Retinální pigmentový epitel a Bruchova membrána

Pigmentový epitel je vrstva epitelových buněk pocházející z neuroektodermu, která leží nejbližší choroidei (je tedy nejzevnější vrstvou neurosítnice). Skládá se z jedné vrstvy kuboidních buněk s četnými melanosomy (granule s melaninem) v cytoplasmě. Díky nim je vrstva tzv. retinálního pigmentového epitelu (RPE) na OCT vysoce reflektivní. V oblasti fovei jsou buňky RPE menší a hustěji uspořádané. S věkem se denzita RPE snižuje. Na apikální straně je RPE v těsném kontaktu s fotoreceptory. Microvilli kuboidních buněk RPE se prolínají s vnějším segmentem tyčinek a čípků. Každá buňka RPE je v kontaktu se 40 fotoreceptory. RPE je vysoce metabolicky aktivní a má významnou roli v udržení extracelulárního prostředí na rozhraní RPE a fotoreceptorů a při transportu látek (například retinolu) z choriocapilaris. Další důležitou funkcí RPE je absorpce světla prošlého sítnicí, které by se odráželo zpět k

fotoreceptorům, což by zhoršovalo kvalitu obrazu. Na OCT obraze naopak tato absorpce zhoršuje kvalitu zobrazení struktur za RPE.

RPE je od choroidei oddělen elastickou vrstvou pojivové tkáně, tzv. Bruchovou membránou, která je také hyperreflektivní a může na OCT s RPE splývat, nebo se může jevit komplex RPE a Bruchovy membrány jako hyperreflektivní dvojvrstva.

3.3.2 Fotoreceptory

Na sítnici je asi 130 milionů světločivých buněk, které byly podle svého tvaru nazvány tyčinkami a čípky. Jsou první buňkou zrakové dráhy. Jejich úlohou je konverze světelného signálu na biochemický a dále na elektrický signál. Fotoreceptory nejsou na sítnici rozmístěny rovnoměrně. Topografické uspořádání fotoreceptorů úzce ovlivňuje zrakové funkce. 95 % fotoreceptorů (asi 125 milionů) tvoří tyčinky a méně četné jsou čípky (asi 6.5 milionu). Čípky jsou nahromaděny hlavně v oblasti fovea centralis, kde mají hustotu až 150 000 buněk na mm² a zajišťují centrální zrakovou ostrost. Dále od centra fovei (asi 1,3 mm) se začínají objevovat tyčinky a 3 mm od centra fovei je již denzita tyčinek nejvyšší a čípků je výrazně méně. Detekci světla ovlivňuje i přísné axiální uspořádání fotoreceptorů vůči dopadu paprsku na sítnici. Pokud je tato orientace porušena, například odchýlením sítnice a zvlněním vrstvy fotoreceptorů, dochází k patologickým zrakovým fenoménům jako je metamorfopsie nebo snížení centrální zrakové ostrosti.

Histologicky tělo fotoreceptorů dělíme na vnější a vnitřní segment. Vnější segment je v úzkém kontaktu s RPE a je u tyčinek a čípků tvarově odlišný. U čípků je kónický a dosahuje šířky až 6 mikrometrů (ale ve fovei, kde jsou čípky nahuštěné, mají průměr asi 1,5 mikronu). Tyčinky mají v průměru šířku kolem 2 mikronů. Velikost jednotlivých fotoreceptorů je výrazně pod transversální rozlišovací schopností (v rovině sítnice) současných OCT přístrojů, která je 12-20 mikronů. V axiální rovině, je rozlišovací schopnost 3-7 mikronů. Vnější segment tyčinek a vnější segment čípků v oblasti fovei jsou dlouhé 25-28 mikronů. Části fotoreceptorů o různé reflektivitě jsou na OCT rozeznatelné jako samostatné vrstvy (viz níže).

Vnější segment je vyplněn těsně uloženými membranózními disky obsahujícími fotopigment. U tyčinek jsou membrány vyplněny rodopsinem (skládající se z bílkoviny opsinu a chromoforu retinalu), který je nejcitlivější na modrozelené světlo vlnové délky kolem 500 nm. Rodopsin reaguje již na jeden foton a díky amplifikaci dochází ke

změně membránového potenciálu a ke generaci signálu. Tyčinky tedy reagují na světelné rozdíly i za nízkých hladin osvětlení a umožňují vidění za šera. Podobné barvivo (jodopsin) je obsaženo i v čípcích, které se podle citlivosti barviva na světlo určité vlnové délky rozdělují na tzv. modré (450 nm), zelené (530 nm) a červené (565 nm). Změna, kterou způsobí jeden foton v čítku, je mnohem menší a ke generaci signálu je potřeba kolem 100 fotonů. Funkce čípků se tedy uplatňuje za lepších světelných podmínek, kdy zajišťuje dobrou zrakovou ostrost a rozlišení barev. Červených čípků je nejvíce (63%) a jsou více zastoupené v nasální části sítnice. Zelených čípků je 32% a modrých jen 5%.

Mikrovilli buněk RPE se prolínají v interdigitální zóně s vnějším segmentem fotoreceptorů, ale nejsou mezi nimi vytvořena pevná spojení (tight junctions), takže se v této vrstvě vytváří extracelulární prostor, v němž se může hromadit tekutina při odchlípení sítnice.

Vnitřní segment fotoreceptorů je spojen s vnějším segmentem úzkým krčkem zvaným cilium naplněným mikrotubuly (zobrazitelné na úrovni elektronové mikroskopie), jehož hlavní funkcí je transport produktů do vnějšího segmentu. Vnější segment je neustále obměňován. Nové membránové disky se kontinuálně vytváří centrálně, vyžívají a putují na konec vnějšího segmentu. Vyčerpané membránové disky jsou fagocytovány buňkami RPE. Tento cyklus u tyčinek trvá asi 9-13 dní (Young 1976).

3.3.3 Membrana limitans externa

Zevní limitující membrána (ELM) je tenká hyperreflektivní vrstva sítnice. Nejedná se o skutečnou membránu, ale o místo spojení mezi fotoreceptory a Mullerovými buňkami. Plazmatická membrána fotoreceptorů i Mullerových buněk je v této úrovni diferencována tak, že umožňuje spojení buněk ve formě zonulae adherens. Zatímco se tyčinky a čípky mezi sebou téměř nikdy nedotýkají a jsou od sebe izolovány Mullerovými buňkami, samy Mullerovy buňky spolu navzájem spojení formují. Mezibuněčné spojení zabírá kolem 1 mikronu délky buňky. Přesný význam ELM není znám, ale předpokládá se, že bariéra mezi extracelulárním prostorem kolem fotoreceptorů a intercelulárním prostorem vnitřních vrstev sítnice hraje roli v transportu látek mezi RPE a fotoreceptory.

3.3.4 Zevní jaderná vrstva (Outer nuclear layer-ONL)

Morfologicky lze rozdělit vnitřní segment na část elipsoidní a myoidní. Elipsoidní část, obsahuje množství mitochondrií zodpovědných za energetickou funkci. Mitochondrie jsou zvláště u čípků v méně vaskularizované oblasti (foveola) velmi hustě uspořádány. Myoidní část vyplněná Golgiho aparátem, ribozomy a dalšími organelami, které se podílejí na produkci látek udržujících fotoreceptor schopný funkce, se nachází vně membrana limitans interna a udržuje přísně axiální orientaci.

Myoidní část vnitřního segmentu obsahující jádro se nachází asi 3-4 mikrony za membrana limitans externa, může být nakloněna do stran, a proto se tato vrstva jeví méně organizovaná. Jádra fotoreceptorů jsou na rozdíl od ELM hyporeflektivní a tvoří tzv. zevní jadernou vrstvu - *outer nuclear layer* (ONL). Jádra tyčinek leží v několika vrstvách dále od RPE než jádra čípků. ONL je nejsilnější v oblasti fovea centralis, kde je největší denzita fotoreceptorů. Axony fotoreceptorů pokračují dále dovnitř sítnice směrem k zevní plexiformní vrstvě a cestou formují tzv. vrstvu Henleho vláken. ONL a vrstva Henleho vláken je na OCT těžko rozlišitelná a jeví se jako jedna silná hyporeflektivní vrstva.

3.3.5 Zevní plexiformní vrstva (Outer plexiform layer-OPL)

V zevní plexiformní vrstvě dochází ke spojení fotoreceptorů s druhým neuronem zrakové dráhy – bipolární buňkou (souhrnně nazývána jako ganglion retinae). Tyčinky a čípky se liší tvarem synaptického zakončení. Čípky mají větší synaptické zakončení s triádou terminálů zvaných pedikl a tyčinky mají synaptické zakončení méně objemné nazvané sferula. Jednotlivé pedikly v parafoveální oblasti mají průměr kolem 7-8 mikronů a tvoří linii viditelnou ve světelném mikroskopu, která je zatím pod rozlišitelností současných OCT přístrojů. Ve formování zrakového signálu se v této vrstvě významně účastní i vlákna horizontálních a amakrinních buněk. Celá zevní plexiformní vrstva je hyperreflektivní na OCT.

Ne všechny bipolární buňky jsou zapojeny stejně a liší se i tvarem. Bipolární buňky jsou specializované buď pro tyčinky, nebo pro čípky. Nikdy však nedostávají signál od obou typů receptorů. Bipolární buňka v perifoveální oblasti získává impulsy od asi 50 tyčinek a v periférii sítnice až od několika set tyčinek. Konvergence signálu vysvětluje menší rozlišovací schopnost a větší citlivost na světlo v periferních částech sítnice. Každé zakončení tyčinky (sferula) je v kontaktu s jednou až čtyřmi bipolárními

buňkami. Bipolární buňky specializované pro tyčinky tvoří bohaté synapse i s amakriními buňkami. Opět se zde objevuje konvergence signálu, kdy mnoho tyčinkových bipolárních buněk je v kontaktu s jednou amakriní buňkou. Ta potom předává signál gangliovým buňkám.

Systém zapojení čípků je méně konvergentní. V oblasti foveoly platí, že jedna specializovaná bipolární buňka dostává signál od jednoho čípku a předává ho jedné gangliové buňce. Tím je maximalizována ostrost vidění. Čípky mají spojení i s dalšími, například horizontálními buňkami.

Na horizontální úrovni dochází k přenosu signálu pomocí tzv. horizontálních buněk. V triádě synaptického zakončení čípku je zapojena vždy jen jedna bipolární buňka a dva zbylé terminály jsou obsazeny horizontálními buňkami. Každá horizontální buňka kontaktuje jen jednu tyčinku, ale jedna tyčinka může být kontaktována více než jednou horizontální buňkou.

Horizontální buňky mají roli inhibiční a mají za úkol organizaci receptivních polí bipolárních a gangliových buněk). Receptivní pole je zóna zdroje signálu (na sítnici) vedoucí ke změně membránového potenciálu cílové buňky. V závislosti na tom, zda jsou receptory zapojeny na bipolární buňky přímo nebo přes horizontální buňky, se formuje receptivní pole typu střed-okolí, což nám umožňuje vnímat například kontrast.

Amakriní buňky hrají roli při integraci signálu z tyčinek a čípků, mají za úkol filtraci signálu, odstranění šumu a zpracování signálu v rámci receptivních polí (Dartt, Besharse et al. 2010).

3.3.6 Vnitřní jaderná vrstva (Inner nuclear layer-INL)

Tělo a jádra neuronů tvořících synapse v OPL a také tělo Mullerových buněk se nacházejí v tzv. vnitřní jaderné vrstvě, která se na OCT jeví hyporeflektivně.

Zatímco zevní vrstvy sítnice neobsahují žádné kapiláry a jsou vyživovány difuzí z choroidei, jsou vnitřní vrstvy sítnice počínaje od vnitřní vrstvy jader až po membránu limitans interna zásobeny z arteria centralis retinae. Její větve běží po vnitřní straně sítnice, větví se a koncové kapiláry se objevují až do úrovně vnitřní vrstvy jader. Hlavní větve a. centralis retinae brání průběhu paprsku a za nimi se tvoří signálový stín a deformace obrazu vrstev napříč sítnicí.

3.3.7 Vnitřní plexiformní vrstva (Inner plexiform layer-IPL)

Vnitřní plexiformní vrstva (IPL) je tvořena komplexní sítí vláken buněk přinášejících signál gangliovým buňkám. Histologicky jsou již od doby Cajala rozdělovány na 5-6 vrstev (laminae) podle morfologie průběhu vláken. Na OCT se jeví jako jedna hyperreflektivní vrstva. Vnitřní plexiformní vrstvou probíhá dlouhý terminál bipolárních buněk, vysoce větvené dendrity amakrinních buněk, výběžky gangliových buněk i Mullerových buněk. Objevují se zde i cévy.

3.3.8 Vrstva gangliových buněk (Ganglion cell layer-GCL)

Gangliová buňka je třetím neuronem zrakové dráhy. Normální sítnice člověka obsahuje kolem 1,2 milionu gangliových buněk. Těla gangliových buněk se nachází těsně vedle sebe v dobře viditelné vrstvě nazvané vrstva gangliových buněk. Jejich dendrity se obrací zevně a jsou součástí IPL, kde tvoří synapse s bipolárními a amakrinními buňkami. Dlouhé axony směřující ke corpus geniculatum laterale tvoří na sítnici vrstvu retinálních nervových vláken.

Tloušťka vrstvy gangliových buněk se na různých místech sítnice značně liší. Nasálně může mít tloušťku kolem 10-20 μm , ale v makule má i 60–80 mikronů. V centru fovei vrstva gangliových buněk zcela mizí, protože jádra gangliových buněk jsou odkloněna do stran do oblasti makuly, kde leží ve více vrstvách a tvoří vrstvu až několik desítek mikronů. V periferních částech sítnice je naopak tvořena jen jednou vrstvou jader gangliových buněk.

Gangliových buněk bylo identifikováno až 20 druhů. Buňky se dle své velikosti a množství výběžků dělí na difúzní a trpasličí gangliové buňky. Trpasličí gangliové buňky se také nazývají monosynaptické, nebo „*small area ganglion cells*“, protože vytvářejí synapse vždy jen s jednou trpasličí bipolární buňkou (a samozřejmě i s amakrinními buňkami). Ve fovei se jedna trpasličí bipolární buňka kontaktuje jen s jedním čípkem a předává informaci jen jedné trpasličí gangliové buňce. Difúzní gangliové buňky vytvářejí synapse se všemi typy bipolárních buněk, kromě trpasličích bipolárních buněk. Morfologicky lze odlišit mnoho typů difúzních gangliových buněk, ale není známo, že by se lišily ve své funkci.

Velmi specifickou skupinou gangliových buněk (0,3 %) jsou tzv. fotosenzitivní gangliové buňky, které obsahují pigment melanopsin, a jsou schopny přímé reakce na

fotony. Axony těchto gangliových buněk míří do diencefala a mezimozku, kde poskytují informaci pro pupilární reflex a cirkadiální rytmus.

3.3.9 Vrstva retinálních nervových vláken (Retinal nerve fiber layer – RNFL)

Vrstva retinálních nervových vláken (RNFL) je tvořena axony gangliových buněk, které se na sebe pokládají horizontálně podél sítnice a sbíhají se v oblasti papily, aby vystoupily ven ve formě očního nervu. Na periférii sítnice je vrstva tenká a směrem k papile se vrstva vláken zesiluje. Na OCT se vrstva jeví jako hyperreflektivní.

Z nasální strany míří vlákna k papile přímo radiálně. Z oblasti makuly se vlákna sbíhají v tzv. papilomakulární svazek a vstupují do očního nervu přímo. Axony jsou v tomto svazku tenčí než v ostatních částech retiny a projíká se hlavně do parvocelulární dráhy. Menší průměr těchto vláken (kolem 0,4 μm) je dán do souvislosti s jejich větší citlivostí a zranitelností při zánětu očního nervu. Vlákna z periferních částí sítnice temporálně vstupují do očního nervu v tzv. horním a dolním arkuátním svazku nervových vláken.

Axony gangliových buněk nejsou ve svém průběhu sítnicí až do průchodu lamina cribróza myelinizované. Jsou však obklopeny výběžky astrocytů a Mullerových buněk. Astrocyty se nacházejí jen v oblasti RNFL, což souvisí s jejich embryonálním původem. Astrocyty sítnice jsou morfologicky podobné astrocytům CNS (také mají plošší tělo s množstvím výběžků, které obklopují axony gangliových buněk a jsou GFAP pozitivní). Do vrstvy RNFL se dostávají ve fázi embryogeneze migrací podél vláken očního nervu.

3.3.10 Vnitřní limitující membrána (internal limiting membrane-ILM)

Membrana limitans interna (ILM) je tvořena spojením plochých výběžků Mullerových buněk, zřejmě i za účasti astrocytů. Tloušťka této vrstvy se pohybuje v různých místech sítnice mezi 0,07 μm – 0,5 μm . Stejně jako vrstva RNFL je hyperreflektivní a nemusí být od předchozí vrstvy dobře odlišitelná. Elevace membrány změnou tvaru corpus vitreum, může vést k poruchám automatické segmentace vrstvy RNFL.

Mullerovy buňky jsou nejčastěji zastoupenou gliovou buňkou sítnice. Jejich tělo a jádro se nachází ve vnitřní plexiformní vrstvě. Výběžky Mullerových buněk se rozprostírají od membrana limitans externa (kde tvoří pevná desmosomální spojení

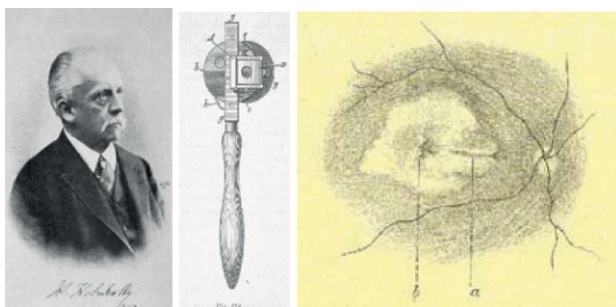
mezi sebou a s fotoreceptory) až po membrana limitans interna. V průběhu celé tloušťky sítnice Mullerovy buňky poskytují oporu neuronům, mají významnou metabolickou funkci (udržují iontovou rovnováhu, zpětné vychytávání neurotransmiterů) a izolují od sebe jednotlivé fotoreceptory a další neurony. Mullerovy buňky také pokrývají kapiláry a další cévy sítnice.

4. Optická koherenční tomografie

4.1. Starší způsoby zobrazení fundu

Přímá oftalmoskopie a fundus kamera

V neurologické praxi používáme přímou oftalmoskopii očního pozadí (obr. 12), která umožňuje shlédnutí vzhledu papily, makuly a cév sítnice. Hodnocení nálezu je značně závislé na zkušenosti pozorovatele, dilataci zornice a spolupráci pacienta a má omezenou výtěžnost.



Obr. 12: Hermann von Helmholtz (portrét), jeho oftalmoskop a kresba sítnice. Převzato z: The Ophthalmologist (2016), From von Helmholtz to the future, Holz, FG

Podrobnější zobrazení očního pozadí (fundu), obrazovou dokumentací a počítačové zpracování fotografie umožňuje vyšetření pomocí fundus kamery. Jde vlastně o sofistikovanou přímou vzpřímenou oftalmoskopii, která umožňuje dobře osvětlit fundus, korigovat i vysoké hodnoty ametropie ($\pm 35D$) a zvětšení obrazu 2-5x. Miotická zornice může být překážkou zobrazení sítnice.

Skenovací laserová oftalmoskopie

Vyšší úroveň detekce abnormalit otevírá zobrazení povrchu sítnice ve 3D. Skenovací laserový oftalmoskop (SLO) pracuje na principu konfokální mikroskopie, při které je laserový paprsek o jedné vlnové délce směřován na sítnici a odražený signál je zachycen detektory na velké ploše. Výsledkem je detailní 3D zobrazení topografie sítnice, které umožňuje další analýzu. Princip SLO se uplatňuje v přístrojích HRT (Heidelberský retinální topograf) I a II generace a TopSS (laserová skenovací topografie). Kvantifikace změn povrchu sítnice pro oblast papily (např. poměr cup/disc) a makuly našlo uplatnění zvláště v časně diagnostice glaukomu. I prosté zobrazení detailů topografie sítnice má velký význam při spojení obrazu s angiografií sítnice či autofluorescencí a dále ve spojení s optickou koherenční tomografií sítnice (viz níže).

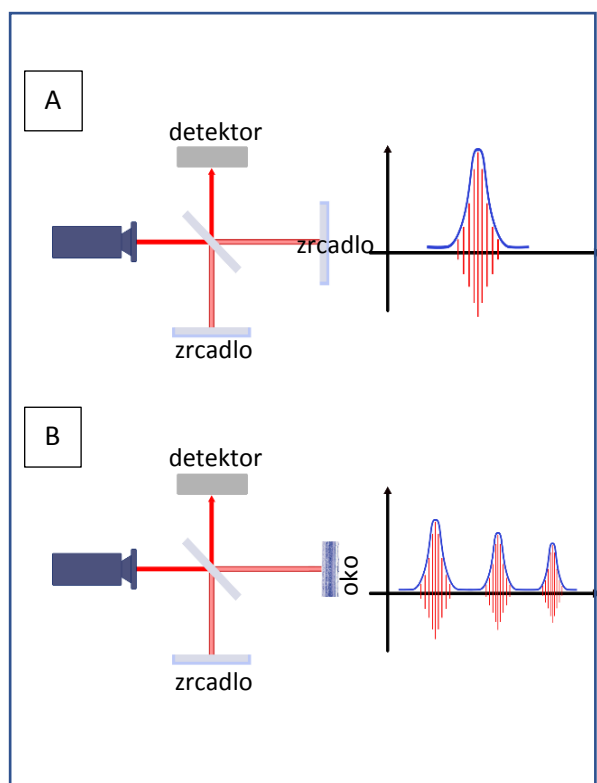
4.2. Princip OCT

Optická koherenční tomografie (OCT) využívá podobně jako ultrasonografie principu odrazu vlnění od vrstev tkáně. Na rozdíl od sonografie je u OCT zdrojem vlnění elektromagnetické záření v infračervené části spektra. Super luminiscenční dioda přístroje emituje světlo o určité vlnové délce (820-1050 nm dle typu přístroje), které prochází nebo se odráží od vrstev tkáně s různou reflektivitou, a odražené vlnění je zachyceno detektorem. Obraz vrstev tkáně vzniká analýzou získaného signálu. Optická koherenční tomografie dosahuje vysokého rozlišení a proniká až do hloubky několika milimetrů.

4.3. Time doménové OCT

Jednoduše řečeno, time doménové OCT (TD-OCT) vyhodnocuje časové zpoždění světelného signálu od jednotlivých struktur vůči referenčnímu paprsku přímo odraženému do snímače (obr. 13).

Aby bylo možno zkonstruovat obraz vrstev tkáně, přístroj musí získat informaci, ze kterého bodu fundu (osa X-Y) a od jak vzdálené vrstvy sítnice (osa Z) se paprsek do detektoru odrazil. Vzhledem k rychlosti světla je přímé měření rychlosti odraženého paprsku nerealistické, a proto TD-OCT používá k výpočtu zpomalení vlny odražené od tkáně oproti referenčnímu paprsku princip nízkokoherenční interferometrie. Světlo vycházející ze širokospektrého zdroje je rozštěpeno na referenční paprsek a diagnostický paprsek. Oba paprsky jsou odrazeny a setkají se zpět v detektoru. K interferenci paprsků dochází jen tehdy, když urazí oba stejnou vzdálenost, a proto výskyt interference vlnění slouží jako signál, jakou relativní vzdálenost paprsek urazil. Aby bylo možno získat informace z různých hloubek tkáně, je nutné, aby se zrcadlo odrážející referenční paprsek pohybovalo. To je jedním z omezení této, dnes již víceméně překonané, technologie.

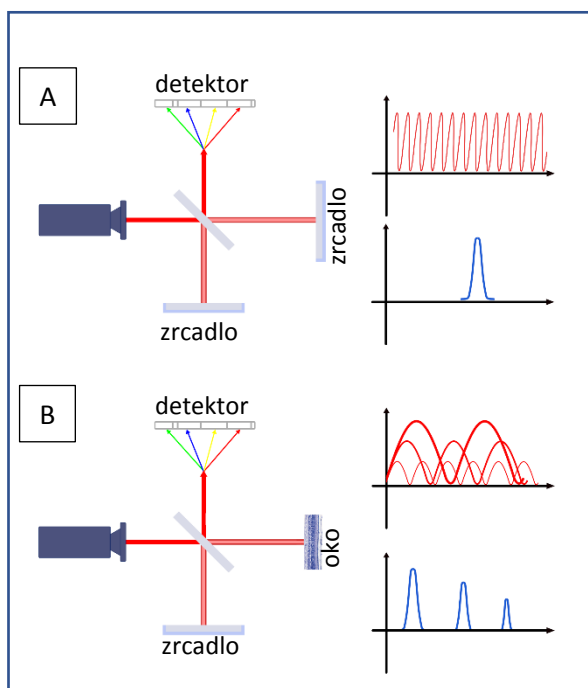


Obr. 13. TD-OCT: Panel A ukazuje princip nízkokorekční interferometrie na modelovém příkladu, kdy diagnostický paprsek a referenční paprsek jsou oba odraženy zrcadlem a urazí tak stejnou vzdálenost. Interference detekovaného vlnění nastává v jednom místě. Panel B ukazuje situaci, kdy je diagnostický paprsek odražen vrstvami tkáně a místa interference vlnění jsou signálem vzdálenosti jednotlivých vrstev. Adaptováno podle OCT tutoriálu <http://wasatchphotonics.com/>.

4.4. Spektrálně doménové OCT

Nástup generace tzv. spektrálně doménové optické koherenční tomografie (SD-OCT) znamenal velký kvalitativní skok v možnostech zobrazení sítnice. In-vivo zobrazení sítnice pomocí této technologie bylo poprvé představeno v roce 2002 (Wojtkowski, Leitgeb et al. 2002) a první komerční přístroje se objevily již v roce 2006.

SD-OCT vyhodnocuje pomocí Fourierovy transformace spektrální modulaci světelného signálu odraženého z tkáně (obr.14). Zrcadlo odrážející referenční paprsek zůstává stacionární. Vlnění referenčního a diagnostického paprsku je po návratu do detektoru analyzováno Michelsonovým interferometrem za použití Furierovy transformace a signálem o struktuře vyšetřované tkáně je přítomnost interferenčních proužků.



Obr. 14 SD-OCT: Panel A ukazuje modelovou situaci, kdy diagnostický i referenční paprsek urazí stejnou vzdálenost a výsledkem analýzy koherence vlnění Michelsonovým interferometrem je izolovaný interferenční proužek. Panel B ukazuje rozfázování vlnění při odrazu od vrstev vzorku a vznik výsledného signálu. Adaptováno podle OCT tutoriálu <http://wasatchphotonics.com/oct-tutorial/>.

Kvalitu zobrazení vrstev sítnice ovlivňují různé technické charakteristiky přístroje, včetně použité vlnové délky, rychlosti skenování, způsobu detekce signálu, rychlosti kamery a dalšího zpracování (postprocessing) signálu. Na trhu jsou k dispozici desítky SD-OCT přístrojů a technologie se rapidně vyvíjejí. Nejčastější OCT přístroje a jejich technické charakteristiky jsou uvedeny v tabulce X.

Čím menší je minimální šířka zornice nutná k provedení vyšetření, tím méně náročné je zajištění světelných podmínek k OCT vyšetření, avšak většina přístrojů v praxi nevyžaduje arteficiální mydriázu zornic. Hlavním kritériem kvality skenu je jeho rozlišovací schopnost. Tu je možno ovlivnit několika způsoby: Prvním je výběr vlnové délky paprsku. Čím delší je vlnová délka, tím lepší je axiální rozlišení. Zvýšení podrobnosti obrázku, tj. zmenšení velikosti pixelů, také vede ke zlepšení rozlišení tkání. Dalším způsobem maximalizace rozlišení obrazu je oversampling, tj. opakované skenování jednoho místa a sumace informace (funkce ART). Pokud přístroj dokáže zajistit, že je signál získán skutečně pouze ze stejného místa, vede oversampling ke zdokonalení zobrazení, pokud tomu tak není, vede ke zhoršení signal/noise poměru. Rozlišovací schopnost v rovině sítnice je u většiny přístrojů 12-20 μm a v ose oka (do hloubky) je 3-10 μm .

Při hodnocení výsledků studií používajících OCT jako biomarker je důležité si uvědomit, jakým způsobem (technologie a protokol) byla data získána. Podobně jako nemůžeme přímo porovnávat velikost struktur CNS změřených různými přístroji a protokoly pomocí magnetické rezonance, nemůžeme přímo porovnávat ani tloušťky a objemy vrstev sítnice změřených různými OCT přístroji. V oblasti roztroušené sklerózy a neuromyelitis optica našly největší uplatnění přístroje Spectralis a Cirrus, a většina multicentrických studií omezuje měření na tyto dva přístroje. Při spolupráci mezi neurologií a oftalmologií v klinické praxi se setkáváme s širším spektrem přístrojů (tab. 4).

Název přístroje	Výrobce	Vlnová délka zdroje	Rozlišovací schopnost v ose oka	Rychlost skenování skenů/min	Mini šířka zornice (mm)
Stratus (TD-OCT)	Heidelberg Engineering	820 nm	10 μ m	400	$\geq 3,2$
Cirrus, iVue, RTVue 3D OCT 2000	Carl Zeiss Meditec OptoVue Bioptigen, Inc	840 nm	5 μ m 5 μ m 6 μ m	27 000 25 000 50 000	≥ 2 ≥ 3 $\geq 2,5$
Copernicus HR	Optopol,	850 nm	3 μ m	52 000	≥ 3
Spectralis	Heidelberg Engineering	870 nm	7 μ m	40 000	≥ 2
RS-3000	Nidec Co., LTD	880 nm	7 μ m	53 000	$\geq 2,5$
DRI ss OCT	Topcon	1050 nm	8 μ m	100 000	$\geq 2,5$
3D OCT-1 Maestro	Topcon	850 nm	6 μ m	50 000	$\geq 2,5$

Tab 4 Přehled OCT přístrojů a jejich charakteristik

Optická koherenční tomografie není jedinou technologií, která umožňuje zobrazení vrstev sítnice. Například Zaveri a kol. v roce 2008 demonstroval, že snížení vrstvy retinálních nervových vláken u pacientů s RS (rsRNFL) oproti skupině normálních kontrol (nRNFL) je měřitelné jak pomocí TD-OCT tak pomocí laserové polarimetrie (GDx) a v obou případech měření korelovala s měřením zrakové ostrosti. Ukázal tím však také, jak moc se mohou lišit měření získaná různými technologiemi (GDx: rsRNFL 55.5 $\pm$ 15 μ m vs. nRNFL 58.0 $\pm$ 5 μ m, TD-OCT: rsRNFL 95.6 $\pm$ 15 μ m vs. nRNFL 104.6 $\pm$ 10.3 μ m). Techniky jako je GDx a RTA (retinal thickness analyzer) si nenašly cestu do neurologie, a proto jim zde není věnován další prostor.

4.5 Použití OCT u RS a NMO

Sítnice, odhalující unikátní vrstvu nemyelinizovaných axonů CNS (RNFL – retinal nerve fiber layer) a další struktury, se stala díky své přístupnosti pomocí OCT modelem míry postižení axonů u RS a novým teritoriem k hledání biomarkerů. Přední část zrakové dráhy odráží jak pomalu progredující změny související neurodegenerací, tak akutní poškození nervových struktur následkem zánětu očního nervu. První práci, která upozornila na tyto fenomény, publikoval Parisi již v roce 1999.(Parisi, Manni et al. 1999)

4.5.1 OCT a neuritis optiku u RS

Klinické známky zánětu očního nervu (ON) se objeví v průběhu RS až u 75 % pacientů. V roce 2006 Costello a kol. demonstrovali, že následkem ON dochází k poklesu tloušťky peripapilární RNFL (pRNFL) o 10 - 40 μ m. Úbytek pRNFL o 3,8 μ m odpovídá poklesu nízkokontrastní sensitivity o jeden řádek písmen na 2.5 % ETDRS Sloanově testu. Snížení vrstvy pRNFL pod 75 μ m koresponduje s poruchou zrakové funkce detekovatelné na perimetru.

Dynamika změn na OCT ukazuje na velmi krátký interval, ve kterém je možno do ON terapeuticky zasáhnout a zabránit nevratné ztrátě neuroaxonálních struktur. Na počátku klinických příznaků ON, kdy se objevuje bolest za okem a snížení centrální zrakové ostrosti, nemusí být na očním pozadí ani při vyšetření OCT zřejmá žádná patologie. Pokud je zánět lokalizován těsně retrobulbárně či intraokulárně, je na OCT vyšetření v akutní fázi nejnapadnější edém ve vrstvě RNFL, který překrývá počátek zániku nervových vláken. Přítomnost edému papily nemá prediktivní hodnotu. 90 procent úbytku pRNFL je dle Hendersona zjevných 2.4 měsíce po počátku ON. Poškození pRNFL je považováno za dokonané 6 měsíců po počátku příznaků ON. Segmentace vrstev sítnice na SD-OCT odhalila, že k nevratnému poškození vrstvy gangliových buněk a vnitřní plexiformní vrstvy (GCL + IPL) dochází již 15 $\pm$ 5 dní po prvních příznacích ON (Sanchez-Dalmau, Martinez-Lapiscina et al. 2017).

4.5.2 OCT a neuritis optiku u M. Devic

Zánět očního nervu může být prvním příznakem NMO i RS, avšak následky ON u NMO jsou mnohem závažnější. Neuromyelitis optica (NMO, Morbus Devic) byla dlouho považována za závažnou formu RS s predilekčně zasahující oční nerv a míchu.

Krátce po objevu patogenních autoprotilátek v roce 2004 byla objasněna patogeneze NMO jako primární astrocytopatie, která vede za účasti autoprotilátek proti akvaporinu 4 a komplementové kaskády k destrukci tkáně, a NMO byla definována jako samostatná nosologická jednotka (Tan, Mao et al. 2016). Pouze včasnou diagnózou a léčbou zacílenou proti produkci autoprotilátek je možno zabránit rozvoji nevratného poškození zraku a míšních funkcí u NMO.

Ztráta pRNFL po jedné epizodě ON u NMO je o 25 μm větší než následky ON u RS. Ve studii autorů z John Hopkins University byla průměrná tloušťka pRNFL u NMO-ON očí kolem 63 mikronů a zřetelná ostrost v postiženém oku 20/60, zatímco následkem ON u RS došlo k poklesu pRNFL na 88 mikronů a zřetelná ostrost zůstala na 20/20 (Ratchford, Quigg et al. 2009).

4.5.3 OCT a neurodegenerativní změny u RS

K poklesu tloušťky pRNFL dochází fyziologicky v rámci stárnutí, avšak u RS je tento proces akcelerovaný a míra poklesu pRNFL koreluje s délkou trvání RS a závažností neurologických příznaků.

Meta analýza kros-sekčních studií TD-OCT u RS ukázala, že pRNFL v očích bez anamnézy ON u pacientů s RS je v průměru o 7 mikronů tenčí, než u normálních kontrol (Petzold, de Boer et al. 2010). Longitudinální studie provedené v době TD-OCT ukázaly, že u pacientů s relabující RS dochází ke snížení pRNFL o 2 μm ročně (z normálních cca 100 μm), zatímco u kontrolní skupiny byl pokles 0.5 % za 3 roky sledování (Talman, Bisker et al. 2010). Parametry s tak malou změnou za rok v poměru k variabilitě měření na TD-OCT nejsou v reálném čase použitelné jako biomarker neurodegenerace. Zavedení SD-OCT a rozvoj algoritmů segmentace vrstev sítnice umožnilo lepší pochopení neuroaxonální patologie u RS.

Axonální postižení je přítomno již u pacientů v době prvních příznaků RS (klinicky izolovaný syndrom-CIS) a koreluje s atrofií šedé i bílé hmoty mozku (Ratchford, Saidha et al. 2013, Saidha, Sotirchos et al. 2013, Perez-Rico, Ayuso-Peralta et al. 2014).

4.5.4 OCT jako nástroj pochopení sítnicových změn u RS

Úbytek RNFL a gangliových buněk byl původně považován pouze za odraz poškození očního nervu akutním či subklinickým zánětem v rámci RS s následnou

anterográdní a retrográdní degenerací axonu (Green, McQuaid et al. 2010). Patologické změny na sítnici jsou mnohem komplexnější. Segmentace vrstev sítnice prokázala, že úbytek GCL předchází tenčení RNFL a je lepším a časnějším měřítkem neuronální integrity ve zrakové dráze než RNFL samotné. (Ratchford, Saidha et al. 2013) Kromě změn v GCL a RNFL, jsou pozorovatelné změny i v hlubších vrstvách sítnice, ve vnitřní (INL) a vnější (ONL) nukleární vrstvě. Saidha a kol. upozornili na přítomnost atrofie INL u 40 % pacientů s RS a indikovali, že by se mohlo jednat o primární sítnicovou patologii u RS (Saidha, Syc et al. 2011). V současné době ještě není jasné, zda jde o projev trans synaptické degenerace, nebo o primární neuronální postižení sítnice (Al-Louzi, Button et al. 2017).

CÍLE A HYPOTÉZY

Práce se týká souboru pacientů sledovaných v Centru pro demyelinizační onemocnění VFN v Praze a možností použití optické koherenční tomografie k zobrazení změn sítnice souvisejících s roztroušenou sklerózou a přidruženými diagnózami.

Na počátku této práce v roce 2009 nebyla metodika OCT v neurologii v ČR k dispozici, a proto bylo prvním cílem její zavedení, vytvoření protokolu pro sledování pacientů s těmito diagnózami a zavedení standardu kvality dat pro další zpracování.

Viz Cíl I. Zavedení metodiky a standardu kvality OCT v neurologii

Dále je práce složena ze 4 samostatných prací, z nichž dvě mají význam výzkumný (Cíl II a III) a další dvě demonstrují možné použití OCT v klinické praxi (Cíl IV a V).

Cíl II. Prediktivní hodnota OCT u RS

Retinal thickness measured with optical coherence tomography and risk of disability worsening in multiple sclerosis: a cohort study, Lancet Neurology 2016

Cíl III. Dlouhodobé následky zánětu očního nervu u RS

Do eyes with and without optic neuritis in multiple sclerosis age equally? Neuropsychiatric disease and treatment, 2018

Cíl IV. OCT jako nástroj diferenciální diagnózy u roztroušené sklerózy a neuromyelitis optica.

Topography of axonal loss post ON in MS and NMO, AAN 2011

Cíl V. OCT jako nástroj monitorace nežádoucích účinků fingolimodu:

Dynamika ústupu makulárního edému po vysazení fingolimodu sledovaná pomocí OCT, CSNS 2017

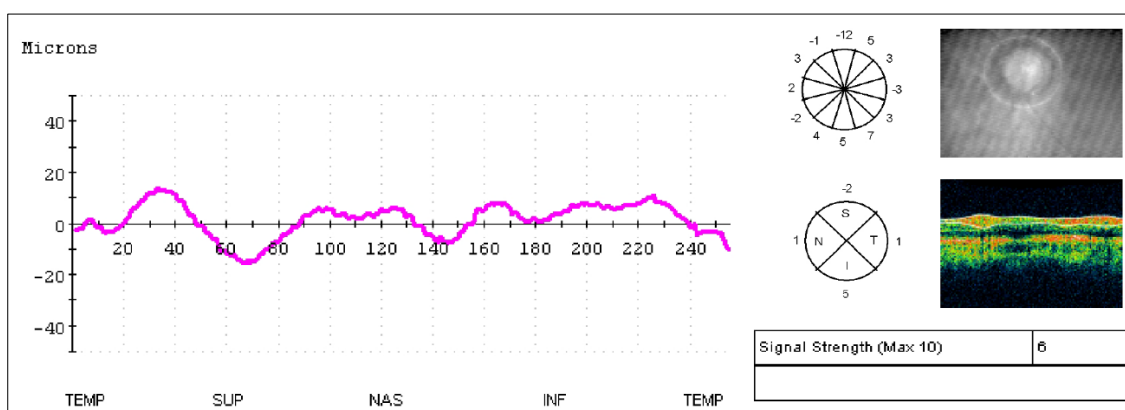
Jednotlivé hypotézy a jejich zdůvodnění, metodika, výsledky a závěry jsou přiřazeny ke každému cíli.

5. Cíl I. Zavedení metodiky a standardu kvality OCT u RS

5.1. Úvod

V roce 2009, kdy jsem začala na této metodice pracovat, nebylo vyšetřování pacientů s RS či NMO pomocí OCT běžné ve světě ani u nás. OCT jako vyšetřovací metoda byla výhradně doménou oftalmologů. Nejen, že neexistoval doporučený protokol pro vyšetření OCT v neurologii, ale použití OCT u RS nebylo výrobcí považováno za perspektivní, a proto pro tuto indikaci, na rozdíl například od glaukomu, nebyly vyvíjeny specifické nástroje a způsoby skenování. Použití TD-OCT u neurologických pacientů bylo neuspokojivé z důvodu velké variability měření (obr. 15). Příčinou variability u TD-OCT je relativně nízká rychlost skenování, během které se oko při sledování cíle přirozeně pohybuje a skenovací paprsek proto nezachycuje přímo cíl (kružnice centrovaná na papilu očního nervu), ale i oblasti v okolí cíle. Vzhledem k tomu, že pacienti s RS fixují cíl hůře než jiní pacienti, je variabilita měření ještě větší než například u pacientů s glaukomem. (Mallery, Poolman et al. 2018)

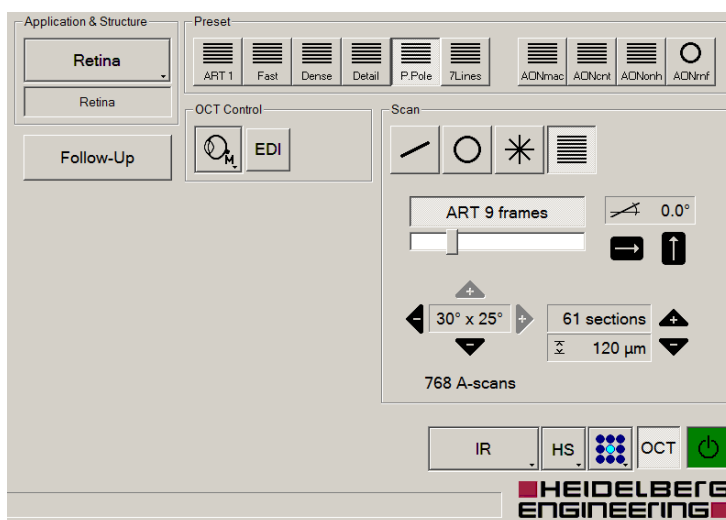
Po desetileté éře TD-OCT se v roce 2010 objevily na trhu přístroje na principu SD-OCT. Tato generace OCT přístrojů kompenzuje pohyby oka pomocí funkce Eye tracking a řádově vyšší rychlostí skenu.



Obr. 15 Ukázka variability měření na TD-OCT. Měření peripapilární vrstvy retinálních nervových vláken (pRNFL) bylo u pacientky s RS provedeno na přístroji TD-OCT Stratus, dvakrát bez re-pozice, tj. scan -rescan těsně po sobě během minuty. Graf vlevo ukazuje na ose Y rozdíl v měření tloušťky RNFL ve 256 bodech kružnice centrované na papilu očního nervu. Rozdíl měření pRNFL ve dvanáctinách kruhu byl v rozmezí -12 až +7 mikronů. (Zdroj: vlastní měření z června 2009 provedené na přístroji TD-OCT Stratus)

V roce 2010 jsem začala uvádět do provozu v RS centru přístroj SD-OCT Spectralis získaný za pomoci Nadačního fondu IMPULS a dedikovaný k výzkumu OCT

u pacientů s RS. Software na zpracování OCT výsledků Heyex (je součástí ovladače OCT přístroje) nabízí několik skenů běžně používaných v oftalmologii a dále nástroje, pomocí kterých je lze upravit či nastavit skeny vlastní (obr. 16). Na počátku rozvoje skenovacího protokolu jsem, stejně jako většina výzkumných týmů ve světě zabývajících se použitím OCT v neurologii, vyšla ze sekvencí běžně používaných v oftalmologii (v glaukomologii a vitreoretinální oftalmologii). Ovlivnily mne mé předchozí zkušenosti s použitím TD-OCT, debaty s ostatními neurologickými týmy pracujícími na stejné problematice (E. Frohman, P. Calabresi) a konzultace s týmem firmy Heidelberg. Tento protokol je proto výsledkem empirie a vývoje oboru.



Obr.16 Základní panel nástrojů přístroje SD-OCT Heidelberg Spectralis s nabídkou nástrojů k volbě skenovacího protokolu. Panel obsahuje možnost kruhového řezu o průměru 12°, lineární řez sítnicí horizontálně či vertikálně, rastr řezů volitelné délky a hustoty a hvězdičky o volitelném počtu ramen.

5.2 Skenovací protokol

5.2.1 Metodika: Vývoj protokolu a jeho nástroje

Při hledání správného protokolu bylo mým cílem splnění následujících podmínek:

- Zobrazit struktury oka důležité pro RS, NMO, ON, tj. papilu, makulu, PMB
- Maximalizovat kvalitu snímku
- Maximalizovat reprodukovatelnost
- Minimalizovat délku skenování a náročnost pro pacienta
- Zachovat proveditelnost v běžné klinické praxi mimo výzkumné podmínky
- Neokleštit protokol příliš, aby některé části sítnice neunikly zbytečně možnému explorativnímu výzkumu a vývoji oboru

- Pokud existuje více možností, jak získat stejné měření, přiklonit se k variantě kompatibilní s ostatními OCT centry

Nástroje nastavení protokolu:

Funkce ART

Jeden řez sítnicí na OCT se nazývá B sken. Tento řez je sestaven z řady bodů (A-skenů). V situaci, kdy diagnostický paprsek projede jednou nad zkoumanou oblastí, je B sken vytvořen minimálním počtem bodů, nebo může být B sken vytvořen sumací většího počtu dat z opakovaných průchodů paprsku nad zkoumanou oblastí. Sumaci dat je možno nastavit pomocí funkce ART (Automatic Real Time). Provedení jednoho B skenu má $ART = 1$. Funkce ART je významným nástrojem v optimalizaci zobrazení sítnice. Vysoké ART umožňuje lepší prokreslení vrstev sítnice, ale může být i zdrojem artefaktu anebo může příliš prodlužovat dobu skenování. Nízké ART umožňuje rychlé získání skenu – což je výhodou hlavně u pacientů, kteří nemohou splnit optimální podmínky skenování (nespolupráce, mimovolní pohyby, nefixují cíl).

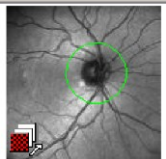
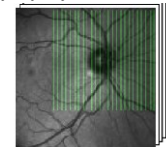
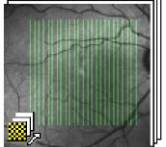
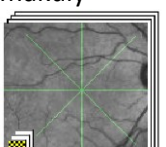
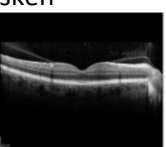
U cirkulárního skenu okolí papily (RNFL N sken v našem protokolu) jsme zvolili $ART = 100$ (maximální hodnota), přičemž přístroj umožňuje i uložení mezivýsledku s nižším ART v průběhu měření. Pokud nastane situace, že je provedení RNFL skenu u pacienta obtížnější, vybereme po ukončení skenování z uložených mezivýsledků ten s nejlepší kvalitou. Tento sken je označen jako referenční sken a při následném vyšetření máme za cíl dosažení stejného ART.

U objemových skenů papily a makuly nelze v průběhu skenování upravovat hodnotu ART. V našem protokolu je ART nastaveno na $ART = 20$. Vyšší hodnota ART nepřináší jasnou výhodu a prodlužuje skenovací dobu. Pokud je nedosažitelné dokončit objemový sken (makuly či papily) tak, jak je protokol nastaven, je nutné skenování přerušit, nastavit nižší požadovanou hodnotu ART případně snížit množství B skenů (řezů) skenovanou oblastí a provést zobrazení celé oblasti znovu.

Funkce „Follow up“

Přístroj umožňuje označení tzv. referenčního skenu, podle kterého se automaticky bez zásahu operátora pomocí zmapování anatomie cév sítnice zaměřují následující („follow up“) skeny. Tato funkce odstraňuje variabilitu způsobenou operátorem při manuálním označování vyšetřované oblasti a umožňuje automatickou kvantifikaci změn nálezu u takto identifikovaných skenů.

Zkušební protokol obsahoval následující skeny (tab 5 níže):

Cíl	Název	Popis	Parametry, rozsah	Komentář
Papila	pRNFL	Cirkulární sken okolí papily 	Průměr kružnice 12° (3,4 mm), manuálně centrována na střed papily, ART100	Výhody: základní široce užívaný sken peripapilární RNFL. Umožňuje ukládání mezivýsledků s nižším ART Nevýhody: nezachycuje objem papily, neumožňuje re centraci
	ONH (Optic nerve head)	Objemový sken papily 	Série 25+ lineárních řezů, orientace vertikálně i horizontálně, 15° x 15°, manuálně centrována na oblast papily, ART < 20	Výhody: relativně rychlý, lze manuálně centrovat na papilu Dobře vizualizuje patologie papily Nevýhody: Software neumožňuje segmentaci a kvantifikaci šířky papily (až do r. 2017)
Makula	Makulární čtverec malý	Objemový sken makuly 	Série 25+ lineárních řezů, horizontálně či vertikálně, 15° x 15°, automaticky centrované na foveu dle fixace oka, ART 20	Výhody: Zachytí makulu a její patologie, relativně rychlý sken Nevýhody: oblast je malá, nelze prakticky provést repozici masky u chybně centrovaných skenů
	PP20 Zadní pól	Objemový sken zadního pólu 	Série 63 lineárních řezů Horizontálně (vertikálně) Délka, hustota Centrované na foveu ART 20	Výhody: zachytí celý zadní pól a jeho patologie, umožňuje repozici měřicí masky na centrum fovei. Měří objem makuly a umožňuje segmentaci vrstev. Nevýhody: delší sken, větší objem dat
	Makula hvězdice	Růžicovitý sken makuly 	6 ramenná růžice Centrována na foveu ART 20	Výhody: Rychlé hodnocení strukturálních změn viditelných okem na B skenu Nevýhody: neměří objem makuly Umístění je závislost na fixaci cíle Nezohledňuje osu oka
	Řez makulou	Lineární transfoveolární sken 	Lineární B sken na spojnici fovei a makuly	Výhody: rychlé zhodnocení patologie papily Nevýhody: nezachycuje patologie perifoveální oblasti mimo jeden řez a neumožňuje měření objemu makuly
PMB	PMB	Objemový sken papilomakulárního svazku 	Série 30+ lineárních řezů, orientace horizontálně, centrované automaticky na spojnici fovea-papila, ART 20	Výhody: kompatibilní s některými klinickými studiemi, detailní objemové hodnocení papilomakulárního svazku. Nevýhody: zachycuje malou oblast, časově náročné, klinicky málo výtěžné, chybuje při větším sklonu osy

Funkce zvýraznění hloubky ostrosti (EDI):

Funkce *Enhanced depth imaging* (EDI) je technika zobrazení umožňující zvýraznění hloubky ostrosti, která se používá k zobrazení cévnatky a hlubších struktur očního nervu (oblasti lamina cribrosa). V našem protokolu jsme tuto možnost nepoužili, protože vyžaduje zařazení samostatného skenu a manuální hodnocení změn.

5.2.2 Výsledky

Manuál OCT vyšetření pacientů s RS, NMO, ON

1. Provedení OCT vyšetření u neurologických pacientů

Příprava a instruktáž pacienta se u nekomplikovaných vyšetření neurologických pacientů neliší od běžné oftalmologické praxe. Vyšetření pomocí SD-OCT je pro pacienta dobře tolerovatelné, protože je provedeno v sedě, bez kontaktu s okem a běžně nevyžaduje dilataci zornice. Nekomplikované OCT vyšetření obou očí u pacienta s RS trvá cca 10 min. Hlavním úkolem pacienta při vyšetření je udržet hlavu v kontaktu s opěrkou přístroje a sledovat modře blikající bod v kameře OCT, díky čemuž může operátor správně nastavit laserový paprsek proti fundu. Aby se neměnila vzdálenost sítnice od snímáče signálu, je pacient požádán, aby nijak nepohyboval hlavou a nemluvil. Pacient může mrkat.

Překážky v provedení vyšetření a jejich kompenzace

U pacientů s neurologickým onemocněním se mohou projevovat mimovolné pohyby, třes končetin či hlavy, slabost svalstva trupu a krku, případně ptóza víčka, což vyžaduje zvýšenou asistenci operátora přístroje nebo pomoc další osoby. Při citlivé fixaci hlavy k opěrce přístroje či přidržení víčka, je až na výjimky možno vyšetření dokončit i za těchto okolností.

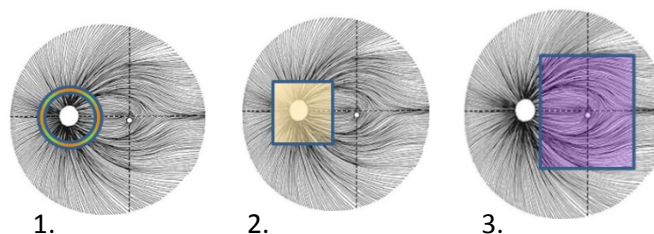
Při kompletní ztrátě zraku není vyšetřované oko schopno fixace bodu v kameře OCT. Ke správnému nasměrování fundu vůči laserovému paprsku použijeme externí fixační bod pro nevyšetřované oko, který vedeme tak, abychom pomocí konjugovaných očních pohybů nasměrovali vyšetřovanou sítnici do správné pozice.

Téměř nepřekonatelnou překážkou provedení OCT, je přítomnost nystagmu při pohledu dopředu, protože fundus se trvale míhá před kamerou a obraz nelze stabilizovat. Další obtížnou situací je úplná ztráta zraku v obou očích, kdy již nedochází k fixaci jednoho bodu, bulbus často není ve středním postavení a potřebná část sítnice nemusí být v dosahu přímého paprsku laseru. Přístroje s možností naklápění kamery mohou i v této situaci sítnici zobrazit.

Protokol

Protokol pro OCT vyšetření pacientů v RS centru se skládá z následujících skenů:

1. pRNFL N
2. ONH
3. PP 20



pRNFL-N – cirkulární sken okolí papily

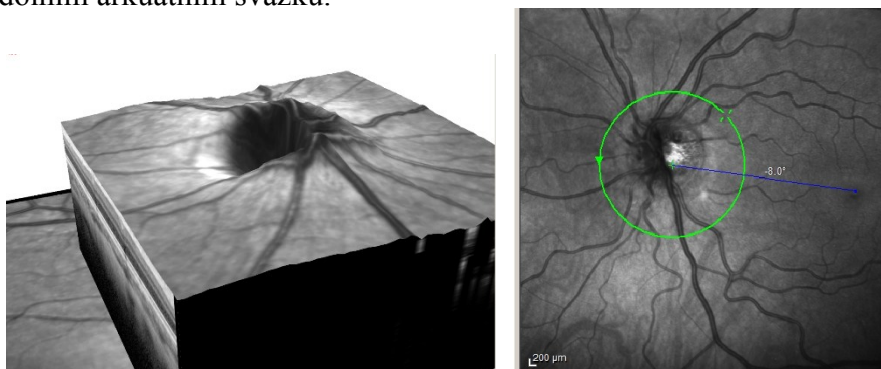
Použití: Základní sken, který nelze vynechat.

Technické parametry: Cirkulární sken o průměru 12° manuálně centrováný na střed papily očního nervu. Vysoké rozlišení, ART=100, fixační světlo umístěné nazálně. Cirkulární sken o průměru 12° je součástí základního nastavení Spectralis SD-OCT přístrojů (a většiny SD-OCT přístrojů). V nastavení je možno měnit stupeň rozlišení na vysoký a nízký (míra podrobnosti B skenů). Pro automatickou segmentaci vrstvy RNFL je žádoucí získání skenu v co nejvyšší kvalitě, proto provádíme sken ve vysokém rozlišení a ART=100.

pRNFL N sken začíná a končí nazálně, a proto je v centru pozornosti (uprostřed grafu) temporální kvadrant a papilomakulární svazek (PMB), kde očekáváme u RS a ON maximum změn. V oftalmologii bylo užíváno nastavení RNFL-S, kde je v centru hodnocení nazální kvadrant. Volbu mezi RNFL-N a RNFL-S lze provést v panelu výběru skenů.

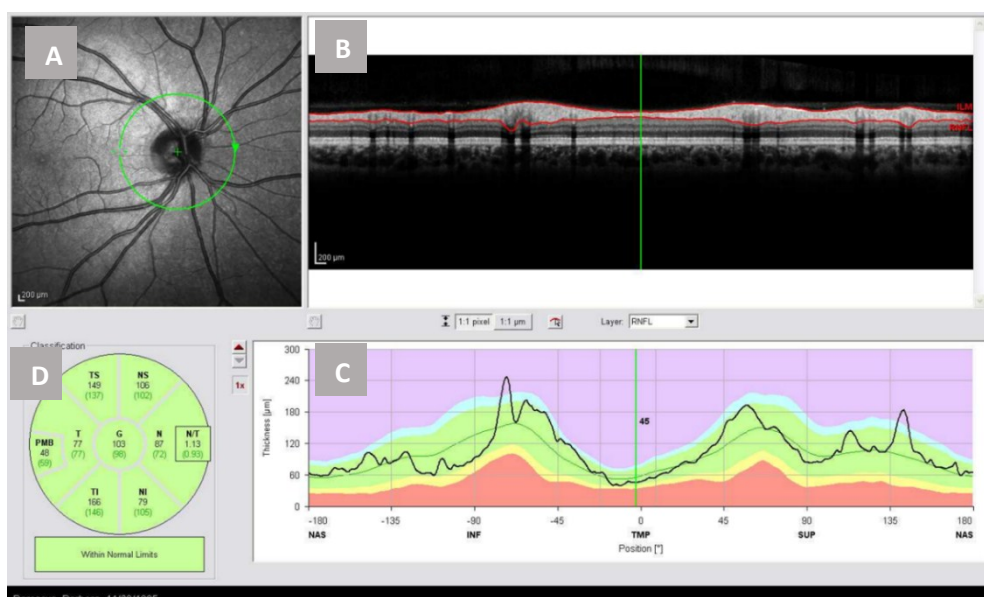
Provedení: Manuální centrace kruhu na střed papily je nejobtížnější částí provedení skenu. Operátor v náhledovém snímku vidí plochu fundu a umísťuje měřicí kruh dle svého odhadu středu papily. Topografie sítnice v okolí papily, kde se sbíhají

vlákna gangliových buněk a vystupují z oka jako svazek očního nervu připomíná kráter, a proto má správné centrování kruhu velký vliv na výsledek vyšetření (obr. 17, 27). Vlákna z nazální strany se sbíhají od místa svého původu přímo ke středu papily, zatímco vlákna z oblasti makuly a temporální části sítnice míří k papile v horním a dolním arkuátním svazku.



Obr.17 3D náhled na topografii sítnice v oblasti výstupu zrakového nervu (vlevo). Nesprávné, asymetrické zaměření cirkulárního skenu peripapilární oblasti (vpravo).

Grafický výstup a interpretace RNFL-N:

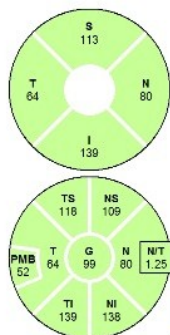
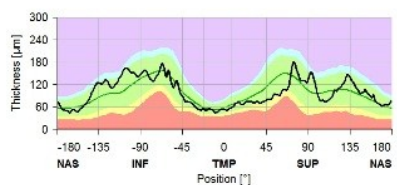
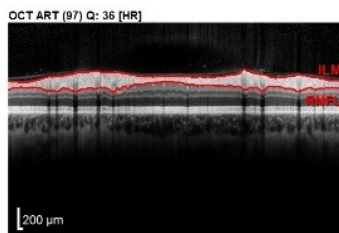
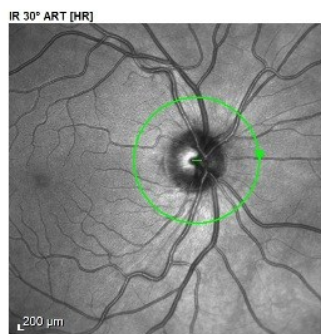


Obr.18 Panel A: Umístění masky pro cirkulární peripapilární sken na náhledovém snímku fundu (zelený kruh). Panel B: Rozvinutý řez sítnicí, na kterém je červeně ohraničena vrstva RNFL. Panel C: Tloušťka vrstvy RNFL je vyjádřena černou linií na barevném pozadí znázorňujícím normální hodnoty pro zadaný věk a pohlaví pacienta. Tloušťka RNFL je vyjádřena v percentilech: červeně < 1 %, žlutě 1-5 %, zeleně 5-95 %, modře 95-99 %, fialově > 99% normy. Panel D: Vyjádření průměrné tloušťky vrstvy RNFL v peripapilárních segmentech: T – temporální, TS – temporální horní, NS – nazální horní, N – nazální, NI – nazální spodní, TI – temporální spodní, PMB – papilomakulární svazek a v centru kruhu je umístěno RNFL G – průměrná tloušťka RNFL v peripapilárním skenu. V každém segmentu je černě změřená hodnota a zeleně normativní hodnota pro daný sken.

Patient ID: ---
 Diagnosis: ---

Exam.: 24.10.2012
 Comment: ---

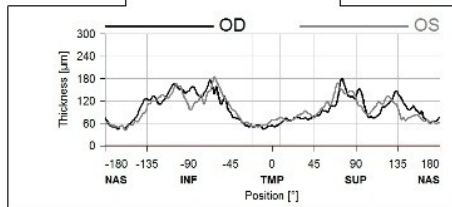
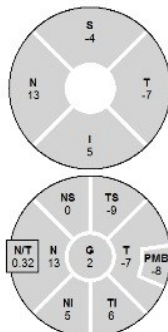
OD



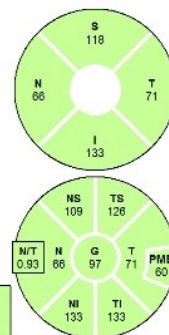
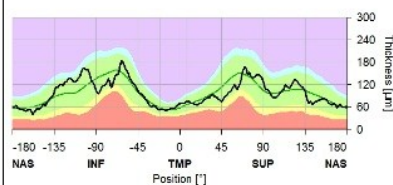
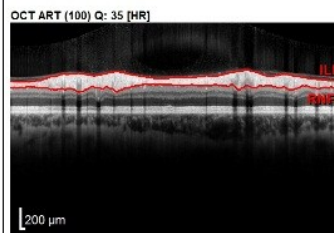
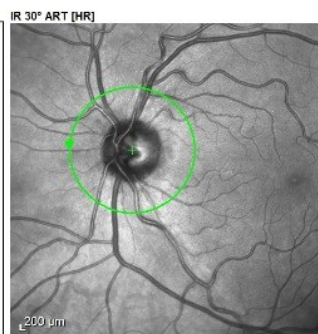
Classification OD

Within Normal Limits

**Asymmetry
 OD - OS**



OS



Classification OS

Within Normal Limits

Notes:

Date: 9.11.2015

Signature:

Software Version: 5.8.3

www.HeidelbergEngineering.com

Axonal Single Exam Report OU with FoDi™

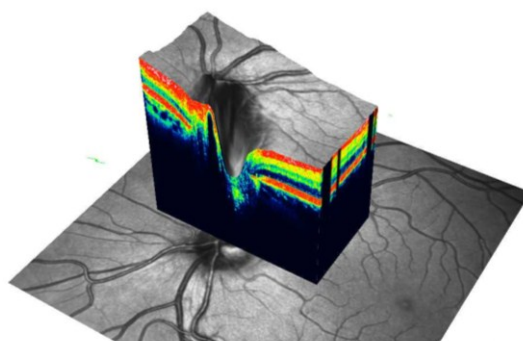
Obr.19 Výstup OCT vyšetření s měřením RNFL v peripapilární oblasti v pravém oku (OD) a v levém oku (OS) (SD-OCT Spectralis). Graf uprostřed ukazuje porovnání tloušťky RNFL v očích.

ONH sken – objemový sken okolí papily

Použití: Doplnkový sken. Při vyšetření pacientů s RS lze i vynechat, pokud pro něj není specifický důvod, nebo pokud je pacient obtížně vyšetřitelný. V oftalmologii je analýza papily zrakového nervu nedílnou součástí glaukomového protokolu a umožňuje komplexní sledování anatomických změn následkem glaukomu (Němec 2015). U RS je používán hlavně cirkulární sken RNFL.

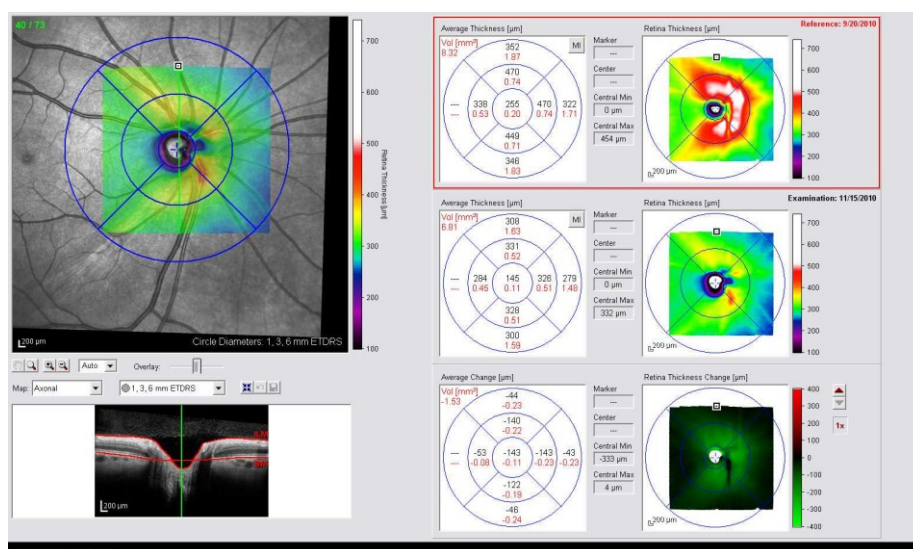
Technické parametry: Fixační světlo je nastaveno nazálně. Série lineárních řezů je centrovaná na oblast papily v délce $15^0 \times 15^0$ (obr. 20). Linie mohou být orientovány horizontálně či vertikálně. Pro běžné zobrazení topografie papily stačí 25 řezů s ART = 20 a nižší rozlišení skenů. Počet řezů je možno upravovat, avšak povede k prodloužení doby skenování.

Provedení skenu je relativně rychlé a dobře vizualizuje patologie v oblasti papily. Pokud je cílem zobrazit hlubší struktury v oblasti lamina cribrosa, je potřeba použít funkce EDI.



Obr. 20 Řez středem 3D zobrazení papily pomocí ONH skenu bez EDI názorně ilustruje topografii výstupu očního nervu.

Grafický výstup a interpretace:

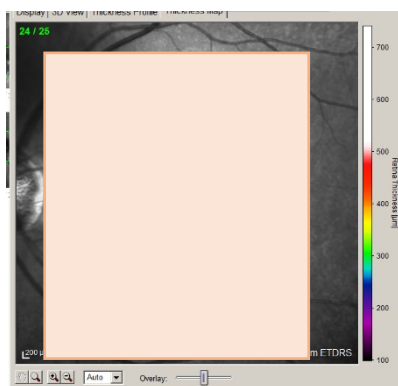
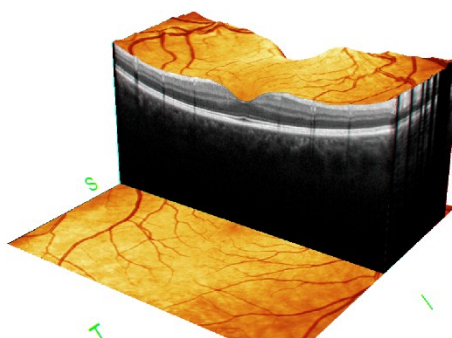


Obr. 21 Výstup ONH skenu provedeného opakovaně u pacienta se zánětem očního nervu a známkami edému papily (červeně ohraničené měření z 9/2010) a poté již bez známek edému papily (měření uprostřed z 11/2010). Dole vpravo je rozdílová mapa zvolených měření. Vlevo je náhledový snímek fundu v oblasti papily s barevně vyjádřenou mapou tloušťky sítnice (mezi bazální membránou a vnitřní limitující membránou). Vlevo dole je jeden z lineárních řezů papilou.

PP-20 – objemový sken makuly

Použití: Základní sken k zobrazení makuly. Je vhodný jako skriningový sken již při prvním vyšetření ke zmapování případných očních patologií, k vyloučení makulárních patologií při změnách centrální zrakové ostrosti neodpovídajících anamnézou ON, a dále k vyloučení makulárního edému jako komplikace léčby fingolimodem.

Technické parametry: Nastavení skenu zadního pólu (PP 20- *posterior pole*) je k dispozici jako jedna z předvoleb u SD-OCT Spectralis. Rozlišení je možno nastavit jako nižší, pokud je potřeba zkrátit skenovací dobu, ale je doporučeno ponechat nastavení vyšší, aby bylo data možno použít k segmentaci vrstev (tato funkce je k dispozici jako dodatek k původnímu softwaru). ART = 20. Ke spolehlivému získání obrazu z celé oblasti makuly jsme museli přejít od používání prosté makulární kostky ke skenu PP-20. Makulární sken $30^0 \times 30^0$ cílený na střed makuly byl často decentrovaný (obr. 23) a neumožňoval repozici ETDRS masky ke kvantifikaci tloušťky makuly v jednotlivých segmentech.

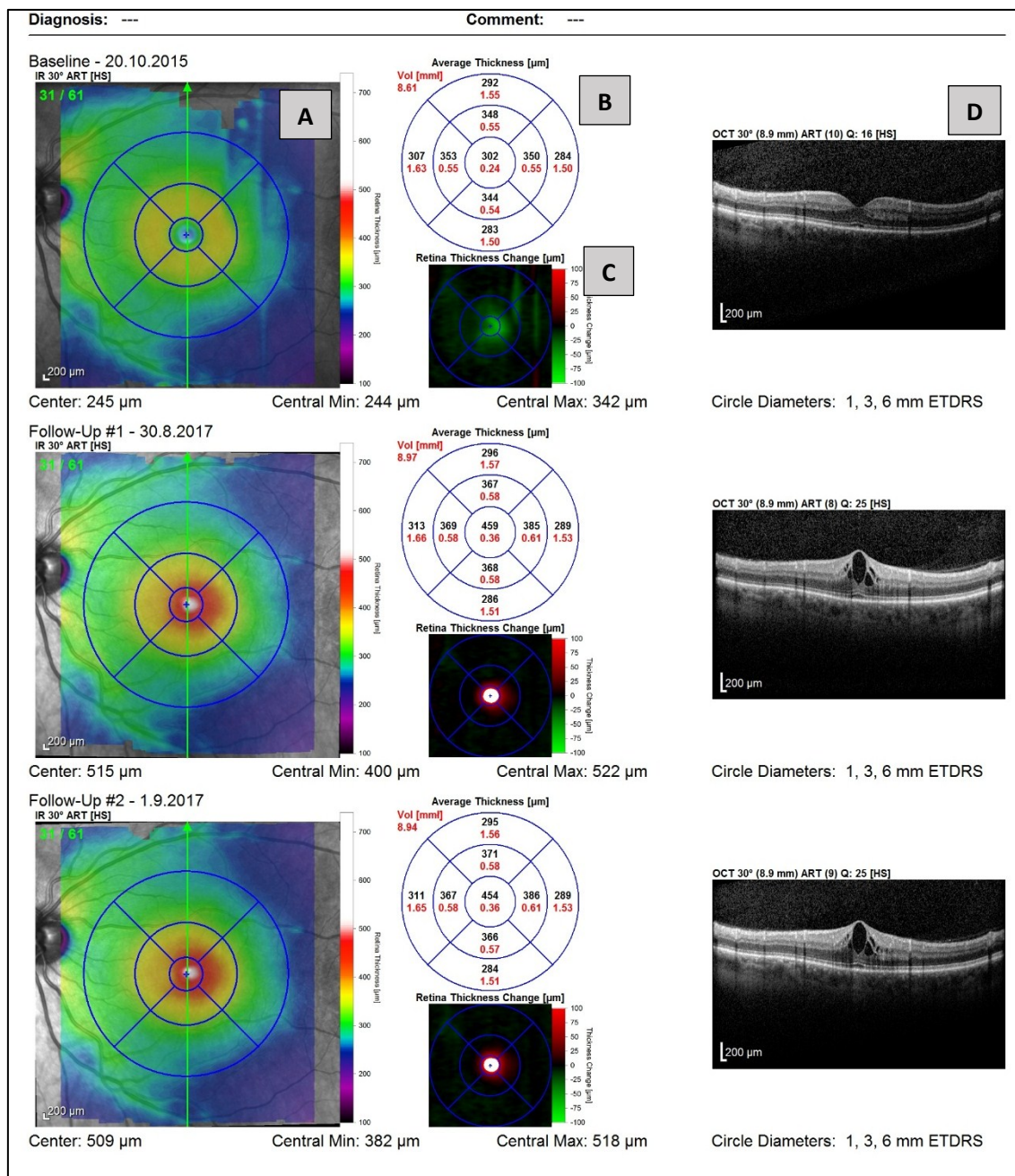


Obr. 23 Náhledový obrázek fundu s mapou tloušťky makuly. Měření bylo provedeno skenem makulární kostky, která ale není správně centrovaná (vlivem fixace oka). Maska ETDRS (modré linie) centrovaná na střed makuly proto nepokrývá celou oblast měření. Oranžově je vyznačena oblast PP-20, která této běžné chybě předchází tím, že pokrývá větší oblast (celý zadní pól oka).

Grafický výstup topografie makuly:

K vyjádření tloušťky makuly jsou v OCT přístroji k dispozici různé „masky“ používané zejména v glaukomologii ohraničující oblasti zájmu, v nichž je tloušťka vyjádřena. V oboru RS se uplatňuje maska ETDRS (soustředné kružnice o průměru

1mm, 3mm a 6mm, v jejichž prostoru je vyjádřena průměrná tloušťka i objem sítnice mezi bazální membránou a vnitřní limitující membránou) (obr. 24).



Obr. 24 Zobrazení makuly za použití skenu PP-20 a funkce follow up. Výstup obsahuje měření ze tří návštěv pacienta s makulárním edémem. Panel A: náhledový snímek makuly překrytý barevnou mapou tloušťky sítnice a umístěním masky ETDRS (modře). Panel B: Maska ETDRS s průměrnou tloušťkou v μm (černě) a průměrným objemem v mm^3 (červeně) v jednotlivých segmentech ETDRS masky. Panel C: rozdílová mapa mezi zvoleným základním vyšetřením a následujícím vyšetřením. Panel D: lineární řez makulou v místě označeném zelenou linií na náhledovém snímku.

5.2.3 Diskuze k zavedené metodice

Přístroje různých výrobců mají různá nastavení, a proto je tento protokol platný pro přístroj Spectralis, na kterém byl vyvinut a používán. Cíle a principy OCT u RS však zůstávají stejné a většina přístrojů umožňuje manuální nastavení sekvencí.

Protokol dobře zachycuje oblast papily i makuly, které jsou klíčové pro obor RS a je proveditelný v běžné klinické praxi u populace pacientů s RS, ON, NMO. V tomto protokolu je v naší laboratoři vyšetřeno v průměru 800 RS pacientů ročně. Pokud jsou dodrženy standardy kvality skenů, jsou získaná data použitelná i pro výzkumné účely.

Správnost nastavení a kvalitu tohoto OCT protokolu jsme si ověřili při spolupráci v konsorciu IMSVISUAL. Longitudinální data získaná v tomto režimu mezi léty 2010 a 2015 byla kompatibilní s daty získanými v jiných centrech na světě a použita v retrospektivní multicentrické studii. Protokol nám neumožňuje studovat změny cévnatky, protože nezahrnuje sken s použitím funkce EDI.

Ačkoliv mohou data z vyšetření na OCT provedená v neurologické ambulanci výrazně usnadnit diagnostiku očních komplikací RS, k jejich interpretaci je nezbytná velmi úzká spolupráce s oftalmology a dodržování zásady, že OCT je v RS ambulanci stále ještě experimentální vyšetřovací metoda, která nenahrazuje vyšetření oftalmologem. Protokol v této podobě například neumožňuje sledování pacientů s podezřením na glaukom v takové kvalitě, jak by bylo prováděno v glaukomové ambulanci, a proto je nutné pacienty, kteří vyslovují dotazy na diagnózu glaukomu důsledně odkazovat na příslušné odborné ambulance.

5.3. Standard kvality OCT skenů u RS

5.3.1 Úvod

Čím více se naše požadavky na detaily měření blíží technickým limitům přístroje, tím vzrůstá i důležitost kvality měření. Následkem zánětu očního nervu dochází ke snížení tloušťky peripapilární vrstvy nervových vláken (pRNFL) o 19 mikrometrů. Tato změna tloušťky pRNFL byla dobře měřitelná i v éře time doménového OCT (TD-OCT). Při sledování neurodegenerativních procesů jsou naše nároky vyšší. Průměrná roční ztráta tloušťky peripapilární vrstvy retinálních nervových vláken (RNFL) u pacientů s RS byla přepočítána na 1-2 mikrony a u zdravých kontrol

kolem 0,1 μm . S nástupem SD-OCT začalo být možné měřit v longitudinálních studiích i takto malé změny, ale jen za předpokladu, že maximalizujeme kvalitu získaných dat. Tak vznikla i potřeba definovat kritéria kvality OCT skenů.

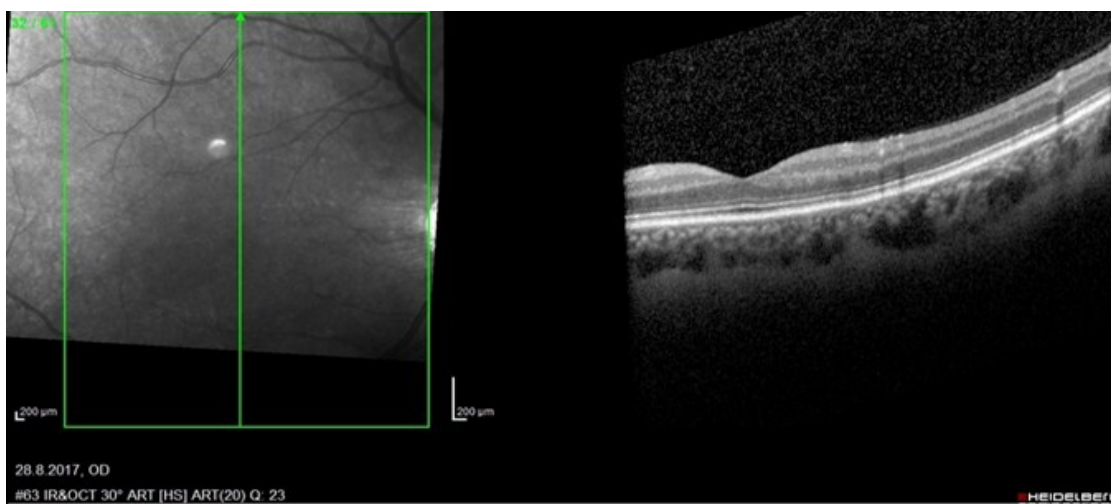
Formální kritéria kvality OCT skenů byla navržena v roce 2012 jako mezinárodní konsensus investigátorů pracujících na OCT studiích u RS. Další sekce představuje jednotlivá kritéria, jak se podílí na kvalitě skenu a navrhuje jejich český ekvivalent.

5.3.2. Manuál hodnocení kvality skenů OSCAR-IB kritéria

Ve studii, která vedla k definici kritérií, se hodnotitelé snažili dojít ke shodě ohledně kvality OCT dat dodaných ze 4 různých RS center. Jako modelový vzorek použili peripapilární cirkulární skeny o průměru 12 stupňů získané na SD-OCT přístrojích Spectralis (Tewarie, Balk et al. 2012, Schippling, Balk et al. 2014). Na základě těchto poznatků byla vypracována kritéria, která autoři nazvali akronymem OSCAR-IB (tab. 6).

O-obecný problém

Kritérium O (obvious) zahrnuje všechny zjevné chyby skenu, které nespádají do ostatních kategorií. Příkladem by mohlo být skenování chybné oblasti, nekompletní

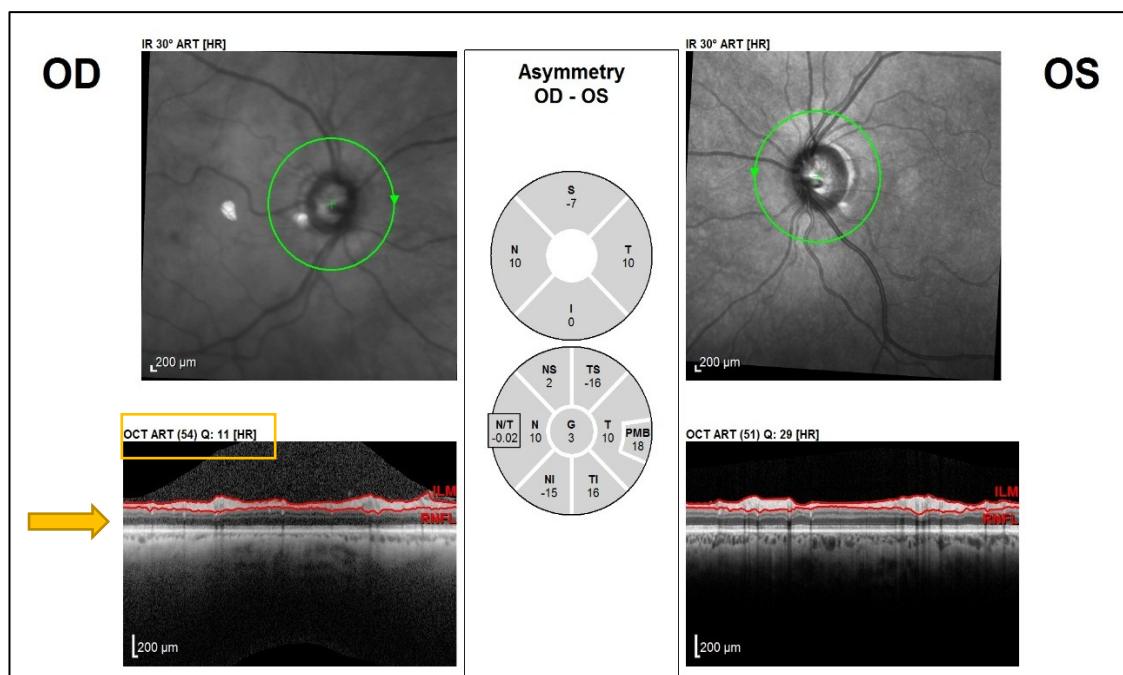


Obr. X. Příklad tzv. nekompletního zobrazení cílové oblasti. Na panelu vpravo je jeden z B skenů makulárního rastru, který je nekompletní. Příčinou bylo v tomto případě snížení centrální zrakové ostroty a změna schopnosti fixovat cíl. Proto nebylo možné zacílit skenovací paprsek na stejnou oblast makuly jako při předchozím skenu a zachycená oblast není kompletní. (Zdroj: vlastní data)

zachycení oblasti (obr. 25), záměna označení oka (například při importu snímků z jiného přístroje) a z toho plynoucí chyba hodnocení.

S-síla signálu

Softwarové zpracování snímků vyžaduje vysokou kvalitu řezů (B-skenů), která je závislá i na síle signálu v průběhu měření. Minimální síla signálu byla na základě zkušeností se segmentací vrstvy RNFL arbitrárně stanovena na 15 dB, což však nezaručuje, že kvalita dat bude dostačující pro segmentaci ostatních vrstev. Sken nebude segmentovatelný, pokud nejsou po získání skenu jednotlivé hypo a hyper reflektivní vrstvy sítnice dobře rozeznatelné (obr.26). Použití funkce ART umožňuje sumaci dat a vede ke zlepšení definice vrstev, ale při vysokých hodnotách může vést i k nežádoucí sumaci šumu signálu. Síla signálu úzce souvisí s osvětlením fundu.

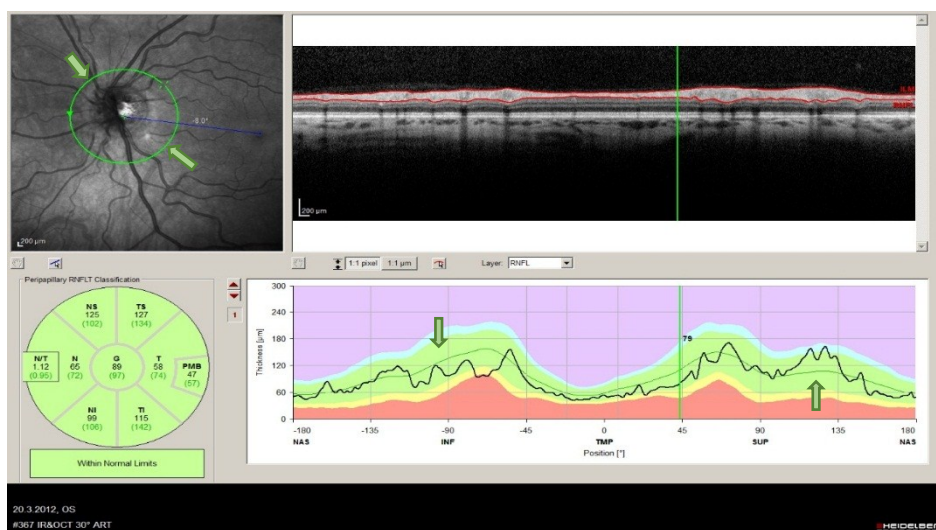


Obr. 26. Výřez z výsledku vyšetření OCT. Panel napravo zobrazuje správně zaostřený a správně centrováný cirkulární pepapilární sken levé papily-OS (kvalita snímku Q=29 při ART 54). Panel vlevo zobrazuje správně centrováný, avšak nezaostřený cirkulární peripapilární sken pravé papily (kvalita snímku je nízká, Q=11 při ART 51, což je porovnatelné s levým okem). Vrstvy sítnice po vyšetření pravého oka nejsou od sebe dobře rozeznatelné (šipka). Zdroj: vlastní data.

C-centrování skenu

Rozhodnutí, jak umístit cirkulární na náhledovém snímku fundu skenovací masku o průměru 12° správně okolo středu papily, je značně subjektivní a je zdrojem

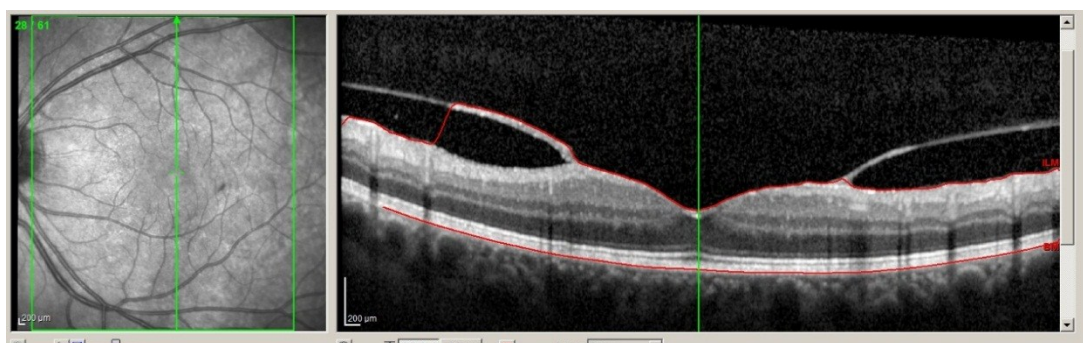
intra i inter rater variability. De-centrovaný cirkulární sken papily očního nervu nemůže být porovnáván s normativní databází přístroje, a proto je prakticky bezcenný (obr. 27).



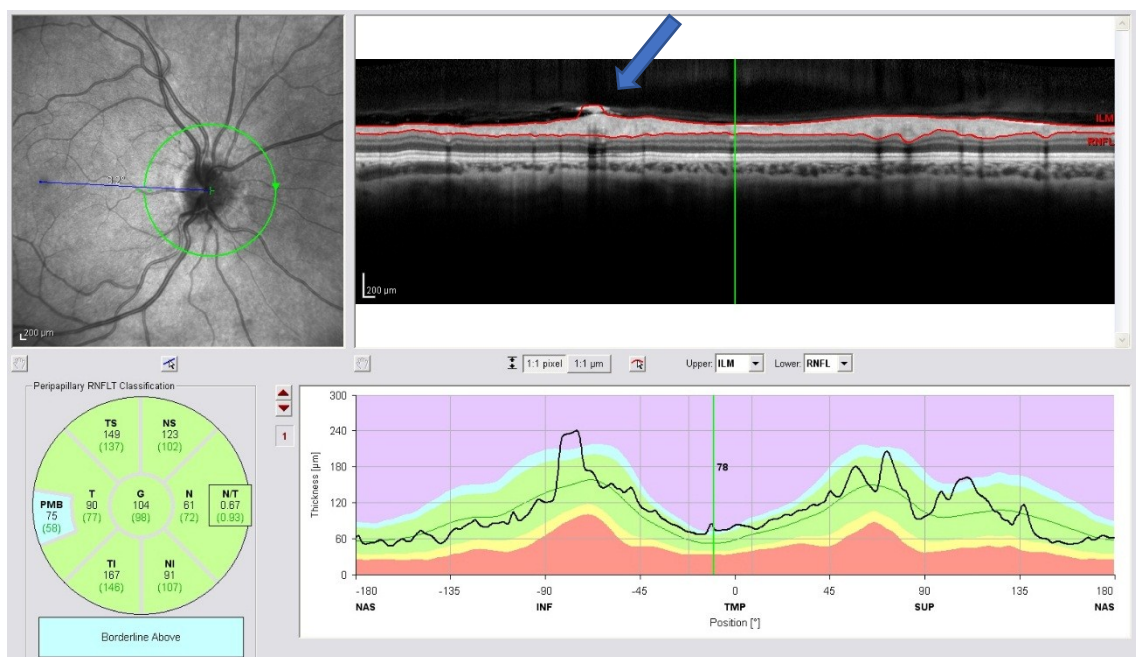
Obr. 27 Chybně centrovaný cirkulární peripapilární RNFL sken. Šipky označují místa, kde je nejvíce zjevný artefakt měření tloušťky RNFL.

A-automatická analýza

Tento parametr hodnotí, zda automatická analýza vrstev (segmentace) proběhla kompletně a správně. Příčinou selhání algoritmu detekce hranic vrstev mohou být signálové artefakty, slabý signál v částech skenu, epiretinální membrána, křížení cév v místě řezu a další důvody (obr. 28, 29). Hranice vrstev lze opravit manuálně, což však s sebou nese i zvýšenou variabilitu a časovou náročnost.



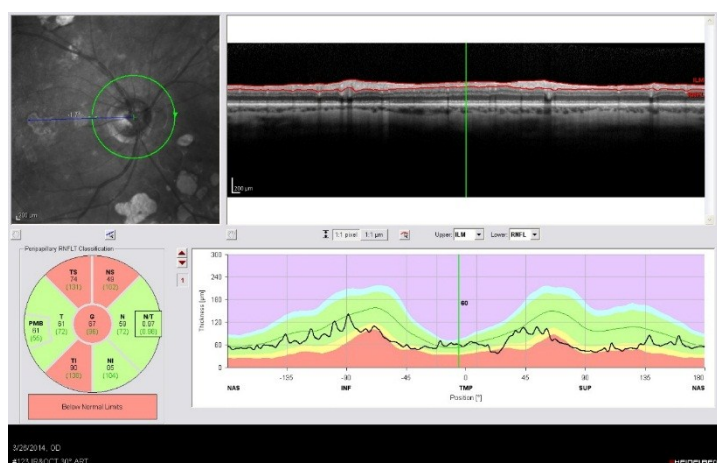
Obr. 28: Lineární řez makulou s chybným měřením tloušťky sítnice pro identifikaci části průběhu epiretinální membrány místo membrány limitans interna jako hranice sítnice.



Obr. 29 Ukázka selhání automatické analýzy vrstvy retinálních nervových vláken (RNFL) na cirkulárním skenu papily pravého oka. Hyperreflektivní epiretinální membrána v e spodním kvadrantu byla identifikována jako součást RNFL.

R-retinální patologie

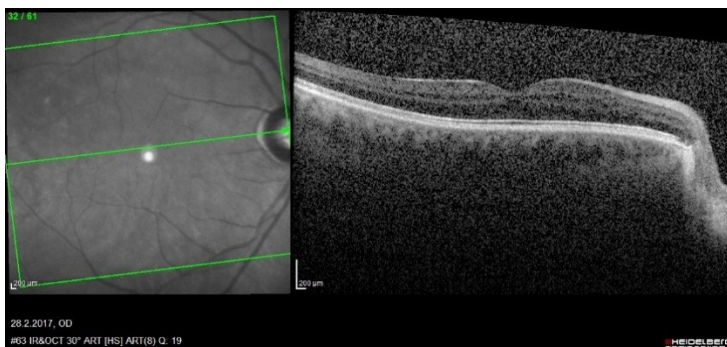
Efekt jiných procesů na sítnici, než je studovaná diagnóza, je nežádoucí a je důvodem k vyloučení skenu z další analýzy. K důvodům, které jsou často vylučovacími kritérii vstupu do studií s OCT patří diabetes, hypertenze, uveitis, jiná systémová onemocnění postihující sítnici atd (obr.30). Do této kategorie se řadí i těžká myopie nad 6D, která je asociována s elongací oka, což vede k artefaktu měření.



Obr. 30 Nález ložisek atrofie RPE neznámé etiologie u pacienta s diagnózou RS.

Kritérium I- (Illumination) osvětlení fundu

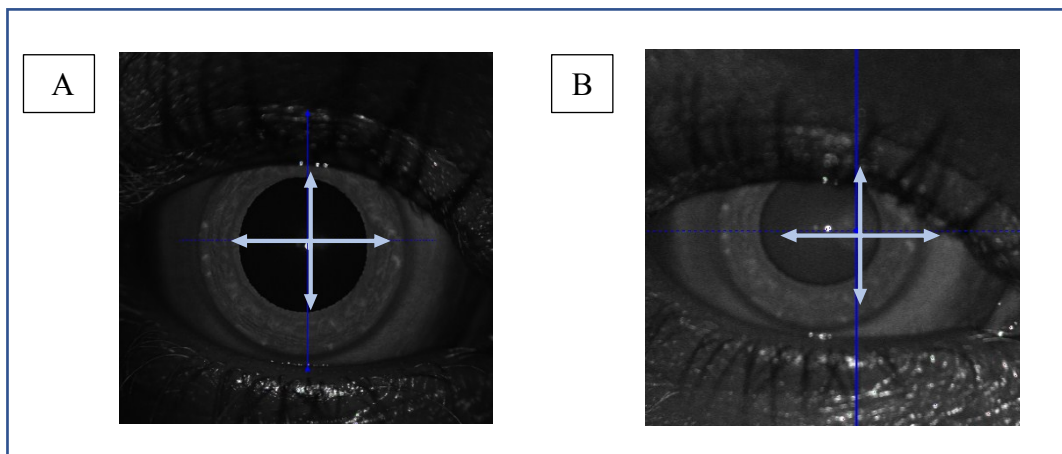
Nedostatečné osvětlení fundu vede ke snížení kvality signálu nebo k výpadku části obrazu. Překážkou v osvětlení fundu mohou být netransparentní oční média (zákaly rohovky, čočky (obr. 31), sklivce, intraokulární krvácení), neodložené kontaktní čočky, stín řas, miotická zornice atd.



Obr. 31 Lineární řez makulou a papilou se sníženou kvalitou osvětlení fundu pro rozvoj katarakty.

Kritérium B- (beam) vedení paprsku

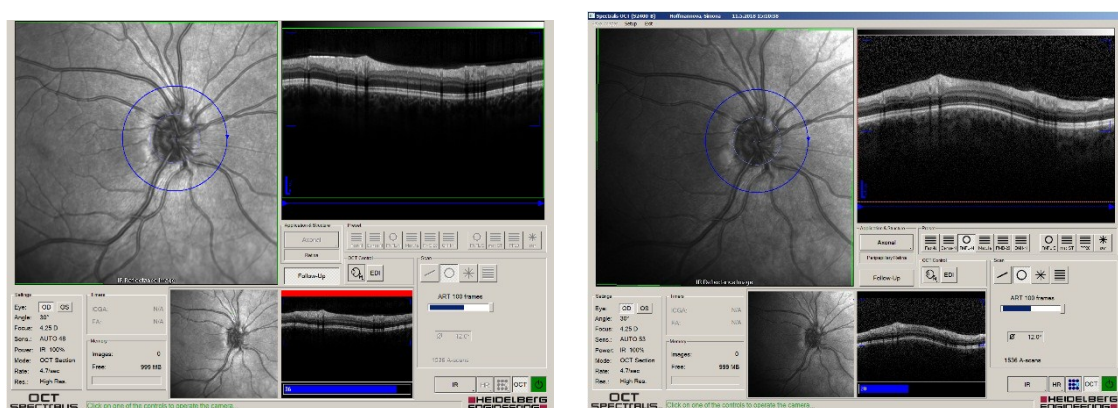
Laserový paprsek by měl být namířen na cílenou oblast co nejpříměji (obr. 32).



Obr. 32. Panel A zachycuje zornici s odleskem fixačního světla a modrý kříž indikující zaměření paprsku procházející středem zornice, což indikuje, že diagnostický paprsek je veden na sítnici přímo středem zornice. Panel vpravo zachycuje nesprávné vedení diagnostického paprsku na sítnici. Na příkladu stejného oka je ukázána situace, kdy odlesk fixačního světla je ve středu zornice, avšak modrý kříž je umístěn příliš nazálně.

Profesor Axel Petzold je autorem přirovnání, že paprsek laseru by měl na sítnici směřovat přímo, jako bychom jej chtěli provést středem hlavně zbraně (agent 007) namířené na cíl ((Petzold 2016).

Paprsek dopadající na sítnici šikmo se odráží od vrstev tkáně jinak než paprsek dopadající přímo, což vede k odchylce měření a změně reflektivity tkání. Úhel, pod kterým je namířen paprsek na sítnici, ovlivňuje tvar a orientaci B-skenu na obrazovce a operátor se jím může řídit při korekci skenu (obr. 33).



Obr. 33 Vlevo je ukázka správně vedeného diagnostického paprsku, tak jak obraz vidí operátor na obrazovce. Vpravo je ukázka chybného vedení diagnostického paprsku příliš nazálně, což vede ke konkávnímu zvlnění B skenu.

Paprsek odchylující se od centra směrem temporálně vede ke konvexnímu tvaru B skenu (vypoulení středu nahoru), výchylka osy nazálně vede ke konkávnímu tvaru, a paprsek směřující shora či zdola vede ke zvlnění B skenu jedním či druhým směrem. Když dosáhneme přímého průběhu paprsku středem zornice, je B sken na obrazovce rovný. Za správnost techniky měření je u tohoto parametru zcela zodpovědný operátor, protože ve výsledném zobrazení sítnice již není tvar B skenu patrný a hodnotitel již na výsledku nevidí, jak bylo měření provedeno. Po uložení dat můžeme kvalitu zaměření skenu hodnotit jen dle (ne)homogenity reflektivity vrstvy ONL, což je obtížné.

Lisanne Balk v roce 2012 ukázala vliv této zdánlivě drobné odchylky v technice na kvantitativní analýzu peripapilární RNFL. Variabilita měření vlivem této chyby dosáhla až 42 mikronů, ale ve většině případů byla kolem $\pm 9 \mu\text{m}$ (95%CI) (Balk, de Vries-Knoppert et al. 2012). Hariri ukázal, k jakým odchylkám měření dochází při šikmém zaměření makuly. Změna objemu makuly a jejích segmentů se pohybovala do 10 %, přičemž k největší chybě vedlo zaměření paprsku šikmo z temporální strany. (Hariri, Lee et al. 2012).

OSCAR- IB kritéria kvality OCT skenů v neurologii			
Kritérium kvality			Popis kritéria
	Název	Český ekvivalent (ne doslovný překlad)	
O	Obvious problem	Obecný problém	Je zjevný problém se skenem, který není zahrnutý v dalších hodnotících kritériích a který činí sken nepoužitelným? Např. skenování L místo P oka atd.
S	Strength of signal	Síla signálu	Je síla OCT signálu dostatečná, tj. > 15 dB se zapnutou funkcí ART (Automatic Real Time)?
C	Centered scan	Centrování skenu	Je kruhový sken centrován správně v okolí papily?
A	Algorithm failure	Automatická analýza vrstev	Proběhla automatická detekce hranic jednotlivých vrstev sítnice správně a v celé délce řezu?
R	Retinal pathology	Retinální patologie	Je zjevná patologie sítnice (jiná než RS či ON), která ovlivňuje tloušťku RNFL? Některé diagnózy ovlivňující RNFL a další vrstvy sítnice jsou přímo vylučujícím kritériem OCT studií u RS. Může jít i o náhodný nález. Table 2
I	Illumination of fundus	Osvětlení fundu	Je fundus správně osvětlený? Nejsou překážky v průchodu paprsku? Jsou struktury fundu dobře viditelné?
B	Beam placement	Paprsek	Směřuje paprsek laseru na sítnici kolmo? T.j. je dosaženo homogenní reflektivity ONL?

Tab. 6 Tabulka OSCAR IB kritérií

Upraveno podle Tewarie P, Balk LJ, Costello F, et al. The OSCAR-IB Consensus Criteria for Retinal OCT Quality Assessment. PLoS One 2012; 7:e34823 a podle Schippling, S; Balk, L; Costello, et al.; (2015) Quality control for retinal OT in multiple sclerosis validation of the OSCAR-IB criteria. Multiple Sclerosis Journal, 21 (2) pp. 163-170.

5.3.3 Diskuze OSCAR IB kritérií a jejich užití v praxi

Cílem kritérií není stanovit jeden jediný důvod, proč zkoumaný sken nesplňuje požadavky kvality, ale slouží jako vodítko při hodnocení skenů. Jeden sken tak nemusí vyhovět svým provedením i více parametrům najednou.

Navržená kritéria vychází z hodnocení cirkulárního skenu centrovaného na papilu (což je vlastně jeden B sken) a nezahrnují možné odchylky specifické pro oblasti makuly (objemový sken složený ze série B skenů). Kritérium C by mohlo být doplněno o ustanovení, že při zobrazení makuly hodnotíme, zda je sken dobře centrován na cílovou strukturu a zobrazuje ji v požadovaném rozsahu. Ostatní kritéria jsou uplatnitelná i pro hodnocení skenů makuly.

OSCAR-IB kritéria nezahrnují jako podmínku kvality dat jeden z hlavních nástrojů longitudinálních měření, kterým je použití funkce „follow up“ (zopakování skenu anatomicky přesně v místě skenu referenčního). V klinických studiích s OCT u RS je použití této funkce povinné. U retrospektivní analýzy OCT dat je nutné ověřit, zda byla při jejich získávání použita funkce follow up. Porovnávání skenů z anatomicky ne zcela identických oblastí je nepřesné a z principu chybné i v klinické praxi. Kritéria bychom mohli doplnit o písmeno F s otázkou, zda byla uplatněna technika „Follow up“ a používat akronym OSCAR-IBF.

Další praktickou otázkou je, kdy a jak tato kritéria používat, a zda je realistické a účelné vždy trvat na splnění všech kritérií kvality. V reálné praxi nemusí stav pacienta dovolit zobrazení sítnice v požadované kvalitě, a přesto může být vyšetření OCT použitelné a významné. Jde zejména o případy, kdy pacient ztratí v průběhu sledování schopnost plné spolupráce při vyšetření nebo dojde k takovému snížení tloušťky vrstev sítnice, že algoritmus neprobíhá správně. V těchto případech by bylo možné doplnit měření scan-rescan variability a data hodnotit s vědomím (se znalostí) jejich omezené interpretace.

Jisté je, že použití navržených kritérií a pečlivé zhodnocení kvality snímků, místo prostého zahrnutí všech získaných dat do analýzy, zvýší kvalitu výzkumných závěrů a zabrání prezentování přesné analýzy nepřesných měření.

6. Cíl II. Prediktivní hodnota OCT u RS

Retinal thickness measured with optical coherence tomography and risk of disability worsening in multiple sclerosis: a cohort study, Lancet Neurology 2016

6.1 Hypotéza

Cílem studie bylo ověřit, zda má jedno vyšetření pomocí OCT (peripapilární RNFL nebo makulárního objemu) prediktivní hodnotu pro riziko zhoršení invalidity u pacientů s RS.

6.2 Metody:

Tato observační studie byla provedena sběrem dat v rámci spolupráce center sdružených v konsorciu IMSVISUAL – International Multiple Sclerosis Visual System Consortium (www.imsvisual.org), jehož jsme členem. Všichni pacienti z našeho centra zařazení do souboru studie podepsali informovaný souhlas k dlouhodobému sledování v RS centru pomocí OCT. Soubor anonymizovaných dat poskytnutých pro tuto studii obsahoval údaje k datu prvního měření: věk pacienta, pohlaví, délka trvání RS, typ RS, EDSS, anamnéza ON, a způsob léčby RS a změny anamnézy ON, EDSS a léčby RS k datu každého následného OCT vyšetření.

Inclusion a exclusion kritéria: Do studie byli zahrnuti pacienti s diagnózou klinicky izolovaného syndromu nebo roztroušené sklerózy, starší než 16 let, kteří jsou v RS centrech dlouhodobě sledováni pomocí OCT a EDSS. Ze souboru byli vyloučeni pacienti, kteří měli anamnézu zánětu očního nervu (ON) v obou očích (tj. neměli ani jedno oko bez následků ON), pacienti s refrakční vadou nad 6 dioptrií, s diagnózou glaukomu, diabetu či jiných významných očních onemocnění.

Měření pomocí OCT zahrnovalo pro každé oko průměrnou tloušťku RNFL v peripapilární oblasti (pRNFL) a objem makuly v kruhu o průměru 6 mm centrovaném na střed makuly. Zhoršení EDSS jako parametr progresy invalidity bylo definováno jako změna skóre EDSS o nejméně jeden bod pro EDSS v rozmezí 0-5.0 nebo o půl bodu pro EDSS 5.5 a výše, které přetrvává do další návštěvy, nejméně však po dobu 3 měsíců a je následkem RS.

Pro statistické testování byla zvolena 5 % hladina významnosti. Pro provedení analýzy přežití jsme použili Coxův model poměrného rizika.

6.3 Výsledky:

Z našeho centra bylo do studie zařazeno 165 pacientů a dalších 25 nesplnilo kritérium zánětu očního nervu. Celkem byla ve studii použita data od 879 pacientů z 18 center. Studie zahrnuje 295 mužů a 584 žen se vstupními parametry: průměrný věk 41 let (SD 11,5), průměrná délka onemocnění (DD) 9 roků (SD 8,3) a medián EDSS 2,0 (IQR 1,5–3,5). Délka sledování zařazených pacientů se pohybovala mezi 0,5 až 5 roky (medián 2,0, IQR 1,3 – 3,0). Charakteristika populace je shrnuta v tabulce 7.

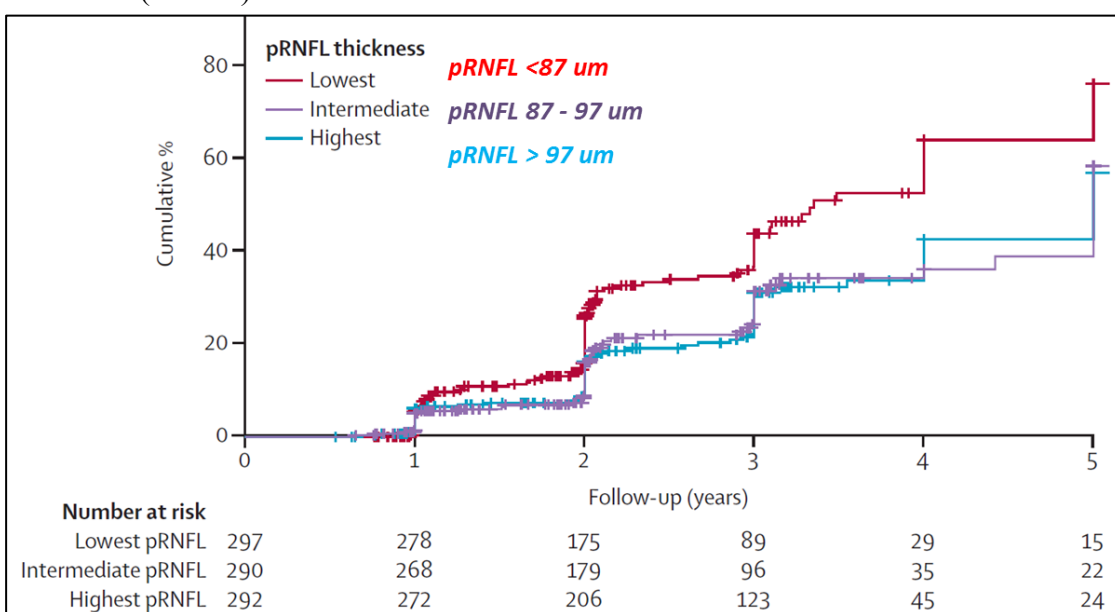
Tabulka 7 Demografické údaje a charakteristika populace

Populace studie	(N=879)
Pohlaví, ženy n (%)	584 (66)
Věk (roky)	40,6 [32,5-48,7; 16,2]
Délka onemocnění (roky)	6,5 [2,7-13,4; 10,7]
Typ RS	
CIS, n (%)	74 (8)
RRMS, n (%)	664 (76)
SPMS, n (%)	83 (9)
PPMS, n (%)	58 (7)
Bez anamnézy zánětu očního nervu, n (%)	598 (68)
Biologická léčba (n: 557)	
Bez léčby, n (%)	150 (17)
Interferon B 1b s.c., n (%)	61 (7)
Interferon B 1a s.c., n (%)	81 (9)
Interferon B 1a i.m., n (%)	98 (11)
Glatiramer Acetát, n (%)	81 (9)
Fingolimod, n (%)	14 (2)
Natalizumab, n (%)	45 (5)
Jiná léčba, n (%)	27 (3)
EDSS	2 [1,5-3,5; 2]
pRNFL (μm) Spectralis® (n: 726)	92,1 [84,0-99,7; 15,7]
Objem makuly (mm³) Spectralis® (n: 418)	8,5 [8,2-8,8; 0,6]

Kritérium progresu na škále EDSS splnilo 252 pacientů (EP skupina) a 627 pacientů bylo přiřazeno do kategorie pacientů stabilních (ES skupina). Porovnání skupin EP a ES je vyjádřeno v tabulce 8. Ve skupině EP byli statisticky významně více zastoupeni pacienti s diagnózou progresivní RS (primárně či sekundárně progresivní RS).

V prvním kroku analýzy jsme testovali, zda je hodnota pRNFL na počátku sledování asociována s progresí nemoci, tedy se zařazením do skupiny ES nebo EP. Výsledkem analýzy pro pRNFL je odhad míry rizika HR 0,98 (95 % CI 0,97-0,99, $p < 0,0001$). Tento odhad ukázal, že vyšší hodnota pRNFL je asociována s nižším rizikem progresu. Výsledek HR potvrdil významnost vztahu pRNFL s progresí nemoci i po zohlednění věku, délky nemoci, anamnézy ON, vstupního EDSS a léčby (tab. 9).

V dalším kroku jsme hledali, jak významné snížení hodnoty pRNFL nám umožní identifikovat pacienty v riziku progresu. Protože jsme předpokládali, že k poklesu pRNFL nemusí docházet lineárně, rozdělili jsme hodnoty proměnné na tercily: spodní tercil pRNFL $\leq 87 \mu\text{m}$, střední tercil pRNFL $>87-97 \mu\text{m}$ a horní tercil pRNFL $>97 \mu\text{m}$. Pro každý tercil pRNFL jsme pomocí Kaplan-Meierovy analýzy odhadli funkci přežití kumulativního výskytu zhoršení EDSS během 5 let sledování. Významnost rozdílů křivek pro jednotlivé tercily jsme porovnali za použití Harrel C statistiky. Pacienti ve spodním tercilu pRNFL měli téměř 2x vyšší riziko zhoršení EDSS během následujících 5 let v porovnání s pacienty s pRNFL v horním tercilu (HR 1,96, 95 % CI 1,39–2,76, $p=0,00013$). Toto riziko bylo pozorovatelné ve všech letech po 1 roce sledování (obr. 34)



Tab. 8 Porovnání vstupních charakteristik skupiny pacientů bez zhoršení EDSS a skupiny pacientů se zhoršením EDSS v průběhu studie.

	Stabilní EDSS (ES) (n: 627)	Progrese EDSS (EP) (n: 252)	P
Pohlaví, ženy n (%)	420 (67)	164 (65)	0,636
Věk (roky)	39,6 [31,9 -47,9; 16,0]	43,3 [33,6-50,2; 16,6]	0,001
Délka nemoci (roky)	6,0 [2,3-12,8; 10,5]	7,37 [3,3-15,0; 11,7]	0,008
EDSS na počátku	2,0 [1,5-3; 1,5]	2,5 [1,5-4; 2,5]	0,002
Progresivní RS n (%)	75 (12)	66 (26)	<0,001
DMD, léčeno n (%)	299 (75)	108 (68)	0,091
Anamnéza ON	223 (36)	58 (23)	<0,001

Sledované parametry jsou vyjádřené ve formě medián [P25-P75; IQR], pokud není definováno jinak.

Tab. 9 Výsledky analýzy rizika progrese EDSS v závislosti na pRNFL

	n/N	HR (95% CI)	p
Model 1. pRNFL (faktor: věk, délka nemoci, anamnéza ON, vstupní EDSS)	187/726	0,98 (0,97-0,99)	0,006
Model 2. pRNFL (faktor: model 1 + léčba)	94/408	0,97 (0,95 – 0,99)	0,001

n= počet událostí, N= počet subjektů v riziku

6.4 Diskuze:

Studie ukázala, že pacienti v nejnižším tercilu tloušťky RNFL měli téměř 2x vyšší riziko zhoršení EDSS během následujících 5-ti let než pacienti s vyššími hodnotami RNFL, přičemž toto zhoršení EDSS bylo pozorovatelné již od druhého roku sledování. Výsledky studie podporují roli OCT jako biomarkeru postižení následkem RS. Jde o první studii tohoto druhu a její výsledky zatím neumožňují zařadit měření OCT do algoritmu rozhodování o léčbě RS. Další studie prediktivní hodnoty OCT měření u specifických skupin pacientů, například v době diagnózy, nyní probíhají.

7 Cíl III. Dlouhodobé následky zánětu očního nervu u RS

7.1 Úvod

Přední část zrakové dráhy je v průběhu RS zasažena nejen procesem neurodegenerace, ale i epizodami zánětu. Až 75 % pacientů s diagnosou RS je postiženo během života jednou či více epizodami zánětu očního nervu (ON). Následkem ON dojde během šesti měsíců ke ztenčení peripapilární vrstvy RNFL v průměru o 20 μm . K největšímu úbytku dochází v temporálním kvadrantu a v papilomakulárním svazku.

Studie zabývající se analýzou změn sítnice jako měřítkem neurodegenerace očí s anamnézou ON často z analýzy vylučují a zaměřují se na oči bez anamnézy ON (bez ohledu na to, zda vedlejší oko má či nemá anamnézu ON), nebo je analyzují jako samostatné podskupiny. Studie sledující dynamiku poškození zrakových funkcí a zrakových struktur v průběhu ON u RS ukázaly, že ke změnám ve strukturách sítnice dochází časně během prvních týdnů, a konečný stav postižení sítnice je hodnocen 6 měsíců po počátku ON. Pokud jsou následky ON po 6 měsících dokonané, pak by se dalších letech měly v očích po ON projevovat projevy stárnutí a další neurodegenerativní změny ve stejné míře jako v očích bez ON, a v longitudinálních studiích by měření z těchto struktur mohla být považována za rovnocenná.

7.2 Hypotéza

U pacientů s RS se v očích s anamnézou ON, od níž uběhlo více než 6 měsíců, projevují neurodegenerativní změny ve stejné míře jako v očích bez ON.

7.3 Metody:

Z kohorty pacientů sledovaných v RS centru VFN pomocí OCT i klinických vyšetření (na základě informovaného souhlasu k dlouhodobému sledování schválenému Etickou komisí VFN), jsme vybrali pacienty (z části abecedy K až R) s diagnózou roztroušené sklerózy nebo klinicky izolovaného syndromu, kteří měli v anamnéze aspoň jednu epizodu zánětu očního nervu (N=409). Diagnóza byla u všech pacientů potvrzena nálezem na magnetické rezonanci a vyšetřením mozkomíšního moku. Anamnéza choroby včetně diagnózy a data zánětu očního nervu byla získána retrospektivním

sběrem dat z chorobopisů a v průběhu sledování pacientů v RS centru. Neurologické vyšetření vyjádřené pomocí skóre EDSS bylo provedeno neurologem specializovaným na RS.

V rámci OCT protokolu byl při každém měření na SD-OCT přístroji (Heidelberg Spectralis) proveden cirkulární sken (průměr 3,4 mm, ART 100) manuálně centrovaný na papilu očního nervu. Vyšetření bylo vždy provedeno bez dilatace zornic v místnosti s přitlumeným denním světlem, za použití funkce follow up a stejného vyšetřovacího protokolu. Tloušťka vrstvy RNFL byla automaticky změřena softwarem (Heyex verze 5.8.3.0), který je součástí přístroje, a je vyjádřena v μm jako průměrná tloušťka v temporálním segmentu (RNFL-T), v nazálním segmentu (RNFL-N) a jako průměrná tloušťka vrstvy RNFL v peripapilární oblasti (RNFL-G), která zahrnuje měření z temporálního, nazálního, horního i dolního kvadrantu okolo papily. Z tohoto souboru dat jsme vyloučili pacienty, kteří splnili během sledování jedno z vylučovacích kritérií: anamnéza více než jedné epizody ON během života, anamnéza diabetes mellitus, glaukomu, uveitidy nebo jiného významného očního onemocnění nebo refrakční vada nad 6 dioptrií. Dále jsme vyloučili skeny získané během 6 měsíců od počátku ON a také skeny, které svou kvalitou nesplnily kritéria OSCAR-IB, například pro chybné centrování skenu, selhání algoritmu segmentace nebo nedostatečné osvětlení fundu. Ze 130 pacientů, jejichž data splnila výše uvedená kritéria, jsme dále vybrali jen ty, kteří měli aspoň 4 použitelná měření v obou očích zároveň. Podmínku 4 a více měření jsme stanovili proto, abychom získali nejméně 3 body k vytvoření individuálního lineárního regresního modelu na každý pár očí (jedno měření je ztraceno jako základní měření k němuž se vztahují následná měření). Parametry splnilo 56 pacientů (párů očí) u nichž byla provedena analýza.

Ve statistické analýze jsme nejprve porovnávali OCT parametry očí s anamnézou zánětu očního nervu (oči ON) a parametry jejich párových očí (oči FL) v době prvního zařazeného měření (Baseline) a v průběhu sledování (absolutní i relativní změny OCT parametrů) za použití Welchova jedno výběrového testu pro proměnné s normálním rozdělením a za použití Mann-Whitneyho testu pro proměnné s nerovnoměrným rozdělením. Ve druhém kroku jsme ověřovali, že obě oči v páru (ON a FL patřící jednomu pacientovi) vykazují stejné změny sledovaných parametrů po dobu sledování. V postupu analýzy jsme odhadli trend absolutních rozdílů mezi relativními změnami u ON a FL očí každého pacienta za pomoci lineárních regresních modelů se

smíšenými efekty. Testovaný regresní koeficient beta 1 je rovný nule, pokud platí, že relativní změna zkoumaných parametrů mezi Baseline a následným měřením je u obou párových očí stejná. Statistická významnost výsledku (koeficientu beta 1) byla otestována t-testem pro regresní koeficienty (graf 1.) Ke statistické analýze byl použit statický software R (r-project.org).

7.4 Výsledky

V souboru bylo zahrnuto 56 pacientů, 15 mužů a 41 žen, průměrného věku 39 let, se střední hodnotou EDSS 2.5 (1.0–5.5). K datu prvního skenu zařazeného do studie (Baseline) mělo 6 pacientů diagnózu CIS, 49 relabujících RS a 1 pacient sekundárně progresivní RS. Základní demografické údaje a klinické charakteristiky souboru jsou uvedeny v tabulce 3.1.

Průměrná doba sledování pacientů byla 4,57 let během kterých bylo získáno u každého pacienta 4-10 OCT vyšetření. Průměrná doba, která uplynula mezi počátkem zánětu očního nervu a datem prvního skenu zařazeného do studie byla 5,65 let. Charakteristika OCT parametrů na počátku a změny v průběhu sledování jsou uvedeny v tabulce 3.2.

Průměrná tloušťka vrstvy peripapilární RNFL T i RNFL G byla významně nižší v ON očích než ve FL očích (53,93 vs. 65,02 μ m, $p < 0,001$). ON a FL oči se nelišily v míře poklesu RNFL (Delta RNFL) v absolutních ani relativních hodnotách za dobu sledování. Výsledky jsou uvedeny v tabulce 11.

Tab 10 Základní demografické údaje a klinické charakteristiky souboru

Počet pacientů	56
Pohlaví (poměr muži : ženy)	15:41
Délka onemocnění, roky (průměr (SD))	10,01 (6,60)
EDSS (medián [rozsah])	2,50 [1,00, 5,50]
Typ RS, n (%)	
CIS	6 (10,7)
RR RS	49 (87,5)
SP RS	1 (1,8)
Léčba RS na počátku studie, n (%)	
Interferon	16 (28,8)
Glatiramer acetát	6 (10,7)
Azathioprine	2 (3,6)
Intravenózní imunoglobuliny	2 (3,6)
Fumarát	1 (1,8)
Natalizumab	9 (16,1)
Bez biologické léčby	20 (35,7)
Věk na počátku ON, roky (průměr (SD))	29,07 (7,95)
Věk na počátku studie, roky (průměr (SD))	39,08 (7,79)
Počet OCT návštěv (medián [rozsah])	5,00 [4,00, 10,00]
Délka OCT sledování, roky (průměr (SD))	4,57 (1,44)
Medián (IQR) [rozsah]	4,42 (3,67 - 5,49) [2,03 - 7,29]
Interval mezi ON a prvním OCT, roky (průměr (SD))	5,65 (5,05)
Medián (IQR) [rozsah]	4,15 (2,24 - 7,30) [0,53 - 23,35]

Tab. 11 Charakteristika parametrů RNFL při prvním zařazeném měření (Baseline) a porovnání jejich změn v očích po zánětu očního nervu (ON oči) a vedlejších očí (FL oči) v průběhu sledování

	ON oči	FL oči	p-value
Počet očí (N)	56	56	
RNFL G Baseline, μm (průměr (SD))	81,02 (13,02)	90,88 (10,79)	<0,001
RNFL T Baseline, μm (průměr (SD))	53,93 (13,46)	65,02 (13,39)	<0,001
RNFL N Baseline, μm (průměr (SD))	59,86 (12,99)	65,70 (14,09)	0,025
Delta RNFL G, μm (medián [rozsah])	-2,00 [-14,00, 2,00]	-1,00 [-12,00, 2,00]	0,620*
Delta RNFL T, μm (medián [rozsah])	-2,00 [-14,00, 3,00]	-2,00 [-8,00, 2,00]	0,404*
Delta RNFL N, μm (medián [rozsah])	-0,50 [-8,00, 6,00]	-1,00 [-28,00, 6,00]	0,346*
Delta RNFL G, % (medián [rozsah])	-0,02 [-0,18, 0,03]	-0,01 [-0,12, 0,02]	0,386*
Delta RNFL T, % (medián [rozsah])	-0,01 [-0,16, 0,36]	-0,02 [-0,36, 0,11]	0,440*
Delta RNFL N, % (medián [rozsah])	-0,04 [-0,25, 0,03]	-0,03 [-0,11, 0,04]	0,058*

Legenda: RNFL Baseline byly testovány za použití parametrického t-testu, * pro parametry s nerovnoměrnou distribucí byl použit Mann-Whitney test. Delta RNFL = rozdíl v tloušťce RNFL mezi počátkem a koncem sledování pro sledované parametry.

Tab. 12 Výsledky testování rozdílu mezi ON a FL očima v modelu se smíšenými efekty

	Odhad beta1	Střední chyba	p hodnota
RNFL G	-0.001965	0,001749	0,262
RNFL N	-0,000215	0,001569	0,891
RNFL T	-0,006963	0,006633	0,295

7.5 Diskuze:

Optická koherenční tomografie umožňuje unikátní způsob vyšetření struktur přední části zrakové dráhy a její měření se stávají biomarkery axonálního poškození u RS. Biomarkery obecně mají největší hodnotu, pokud jsou široce použitelné. Proto je

důležité se zabývat tím, zda je nutné omezovat jejich použití u určitých podskupin pacientů, například u očí s anamnézou ON.

V této studii jsme ukázali, že dlouhodobé změny v tloušťce RNFL u očí po zánětu očního nervu a jejich sousedních očí nepostižených zánětem očního nervu probíhají ve stejné míře, a proto je možné je zahrnout společně do dlouhodobých studií neurodegenerativních změn u RS za podmínky, že použijeme měření mimo 6-ti měsíční fázi akutních změn po ON. K otestování hypotézy, zda oči po ON a bez ON stárnou stejně, jsme použili data z párových očí sledovaných dle stejného protokolu a na stejném přístroji, abychom eliminovali co nejvíce přidružených faktorů, jako je délka nemoci, aktivita nemoci, anamnéza léčebných zásahů a technické faktory sledování.

Rozdíl v tloušťce RNFL u očí po ON v porovnání s očima bez ON v naší studii byl pro RNFL G 81,02 (13,02) vs. 90,88 (10,79), $p < 0,001$, a pro RNFL T 53,93 (13,46) vs. 65,02 (13,39), $p < 0,001$, což je očekávaný nález typický pro následky ON u RS, jejichž maximum se projevuje v temporálním kvadrantu a jeho papilomakulárním svazku. Publikovaná pozorování o změnách tloušťky RNFL následkem zánětu očního nervu potvrzují, že ke strukturálním změnám dochází časně a neměli bychom očekávat jejich pokračování po uplynutí akutní fáze 6 měsíců. Henderson a kol. sledovali následky ON prospektivně až do 18 měsíce po počátku příznaků a ukázali, že 99% změn RNFL se odehrává do 6 měsíce po počátku příznaků ON (Henderson, Altmann et al. 2010). Také Garcia a kol. pomocí sledování očí po ON po dobu 24 měsíců došli k závěru, že anamnéza ON není rizikovým faktorem pro míru neurodegenerativních změn u pacientů s RS po uplynutí akutní fáze změn (Garcia-Martin, Pueyo et al. 2011). Přesto v oboru přetrvává nejistota, že anamnéza ON interferuje s dlouhodobým sledováním neurodegenerativních změn u RS (Zimmermann, Freing et al. 2013) a oči s anamnézou ON jsou vylučovány ze sledování (Martinez-Lapiscina, Arnow et al. 2016) nebo jsou analyzovány samostatně (Saidha, Al-Louzi et al. 2015). Naše studie poskytuje sledování změn RNFL v očích mezi cca 5 – 10 rokem po ON a potvrzuje, že chování změn RNFL je i s odstupem několika let od ON v párových očích identické, což doplňuje data dosud dostupná v literatuře.

Závěry naší studie jsou omezené na hodnocení vrstvy RNFL. Nedostupnost měření ostatních vrstev sítnice (jako je vrstva GCL, IPL atd) tuto studii jednoznačně limituje, a neumožňuje nám udělat stejný závěr i ohledně stárnutí ostatních vrstev

sítnice. Nelze vyloučit, že ve vrstvě GCL + IPL je dynamika změn po ON jiná než u RNFL (Saidha, Al-Louzi et al. 2015).

Výsledky této studie jsou v tisku:

Do eyes with and without optic neuritis in multiple sclerosis age equally? (2018) J

Lizrova Preiningerova, A Grishko, L Sobisek, M Andelova, B Benova, K Kucerovala, E

Kubala Havrdova; Neuropsychiatric disease and treatment (in press)

8 Cíl IV. OCT jako nástroj diferenciální diagnózy mezi ON u RS a ON u NMO

8.1 Hypotéza:

Zánět očního nervu vede u pacientů s neuromyelitis optica (NMO) k závažnějšímu poškození vrstvy RNFL a k jinému vzorci poškození peripapilární RNFL než zánět očního nervu u pacientů s roztroušenou sklerózou (2011).

8.2 Metody:

Do této pilotní průřezové analýzy jsme zařadili 10 pacientů s diagnózou NMO či NMO-SD, kteří měli v séru přítomnost patogenních autoprotilátek proti AQP4 potvrzenou nejméně v jednom testu. V době zařazování pacientů byla užívána Wingerchukova kritéria pro diagnózu NMO z roku 2006 (Wingerchuk, Lennon et al. 2006) a definice NMO-SD z roku 2007 (Wingerchuk, Lennon et al. 2007).

Měření jsme rozdělili na skupinu očí po proběhlém zánětu očního nervu v rámci NMO (NMO-ON, N=15) a na skupinu očí v nichž zánět očního nervu neproběhl (NMO- NON, N=5). Do skupiny pacientů s RS jsme zahrnuli 30 pacientů s diagnózou RS dle McDonaldových kritérií z roku 2010 (Polman, Reingold et al. 2011) spárované s NMO skupinou podle věku ($\pm$ 5 let), pohlaví a anamnézy zánětu očního nervu. Měření OCT u pacientů s RS jsme přiřadili do skupiny očí, v nichž proběhl zánět očního nervu (RS-ON, N=30) a do skupiny očí bez anamnézy zánětu očního nervu u pacientů s RS (RS-NON, N=10). Všichni pacienti zařazení do sledování v RS centru pomocí OCT a klinických měření podepsali informovaný souhlas schválený Etickou komisí VFN.

Provedený OCT protokol zahrnoval základní měření zavedená v RS centru (viz Cíl I.). V rámci tohoto protokolu byl při každém měření na SD-OCT přístroji (Heidelberg Spectralis) proveden cirkulární sken (průměr 3.4 mm, ART variabilní dle zrakového deficitu pacienta) manuálně centrováný na papilu očního nervu. Vyšetření bylo vždy provedeno bez dilatace zornic v místnosti s přitlumeným denním světlem. Tloušťka vrstvy RNFL byla automaticky změřena softwarem (Heyex verze 5.8.3.0), který je součástí přístroje, a je vyjádřena v μ m jako průměrná tloušťka v temporálním segmentu (RNFL-T), v nazálním segmentu (RNFL-N), nebo je vypočítána jako průměr segmentů NI a TI pro spodní segment (RNFL-I), a jako průměr segmentů NS a TS pro horní segment (RNFL-S). Průměrná tloušťka vrstvy RNFL v peripapilární oblasti

(RNFL-G) zahrnuje měření z temporálního, nazálního, horního i dolního kvadrantu okolo papily. Žádný pacient ze souboru NMO pacientů nebyl vyřazen pro diagnózu refrakční vady nad 6 dioptrií, diagnózu glaukomu, uveitidy či diabetu. Při párování pacientů s diagnózou RS pacienti s výše uvedenými souběžnými diagnózami projevujícími se na sítnici nebyli zvažováni pro zařazení do studie. K porovnání s normálními hodnotami RNFL byla použita data z normativní databáze centra pro 4. dekádu věku.

8.3 Výsledky

Ve skupině pacientů s dg. NMO byli 3 muži a 7 žen, průměrného věku 45 let. U pěti pacientů proběhl zánět očního nervu oboustranně a data z obou očí byla zařazena do skupiny NMO-ON. U pěti pacientů s NMO proběhl zánět očního nervu jen v jednom oku a nepostižené oko bylo analyzováno ve skupině NMO-NON. Demografické údaje pacientů zařazených do skupin dle anamnézy zánětu očního nervu jsou v tabulce 13.

Vzhledem k tomu, že se jedná o pilotní analýzu, v níže je malý počet pozorování v podskupinách (zvláště vzácný je záchyt očí bez ON, u již stanovené diagnózy NMO) byla provedena jen popisná analýza skupin a nebyly prováděny statistické testy.

Tab. 13 Charakteristika skupin očí ve studii

	NMO ON	RS ON	NMO NON	RS NON
Počet očí, n	15	30	5	10
Počet pacientů, n	10	30	5	10
Věk, (roky) průměr (SD)	45,27 (9,9)	44,06 (10,25)	40 (5,3)	36,56 (6,45)
Pohlaví, ženy	70 %	73 %	80 %	80 %

Legenda: NMO – neuromyelitis optica, NON - oko bez anamnézy zánětu očního nervu, ON – oko s anamnézou zánětu očního nervu, SD – směrodatná odchylka,

RS-ON versus NMO-ON

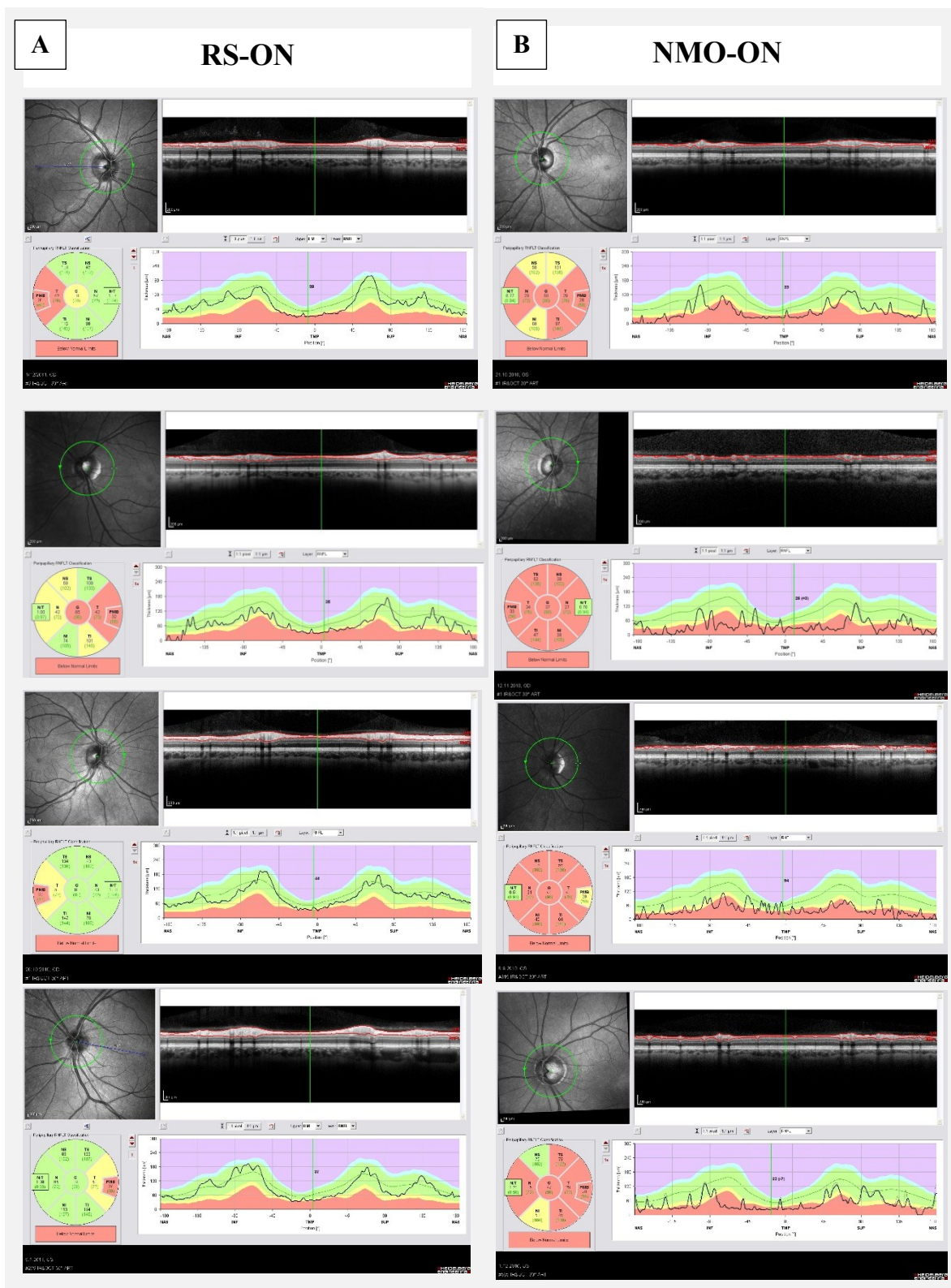
V RS-ON očích je snížení vrstvy RNFL zjevné zejména v temporálním segmentu a v papilomakulárním svazku. V NMO-ON očích je hodnota RNFL v těchto segmentech vždy nižší, než v RS-ON očích (NMO-ON: RNFL-T 36,2 (7,1) vs., RS-ON RNFL-T 49,8 (11,3)). V NMO-ON očích je vrstva RNFL ve všech segmentech nižší než v RS-ON očích (tab. 14).

Tab. 14 Tloušťka peripapilární vrstvy retinálních nervových vláken ve sledovaných skupinách. Nejnížší a nejvyšší hodnota pro každou proměnnou je vyznačena tučně.

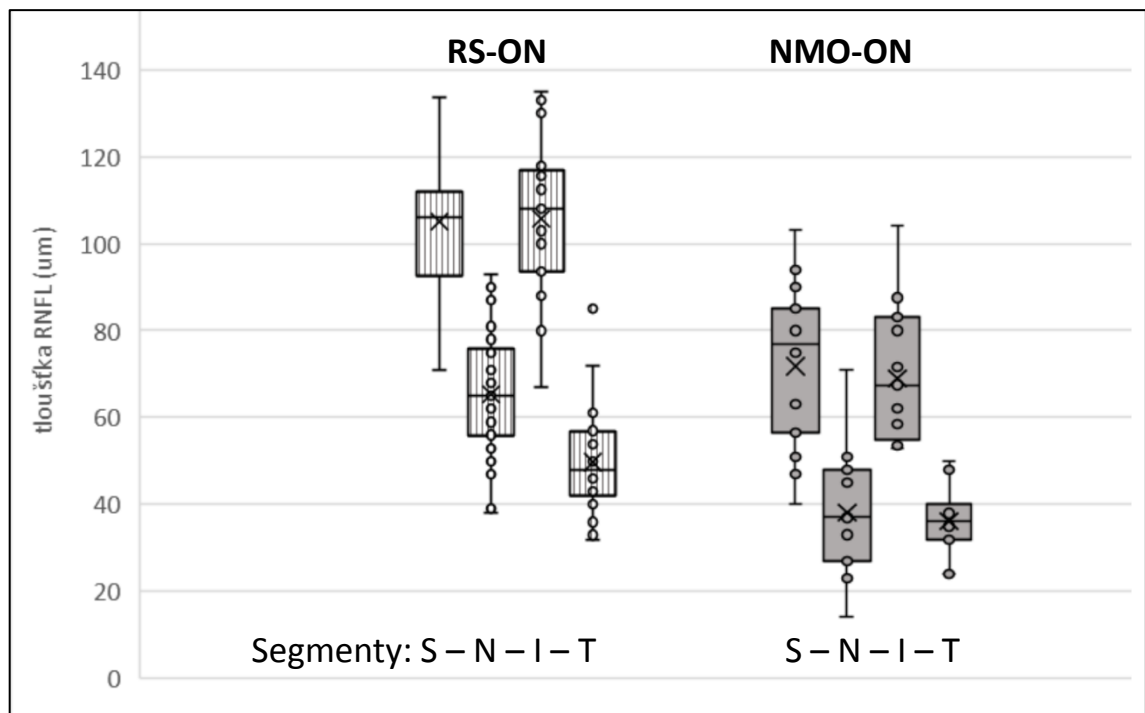
	NMO ON	RS ON	NMO NON	RS NON	Norma
RNFL-G (μm)	53,9 (9,9)	81,6 (10,9)	103,4 (9,9)	90,7 (6,1)	100,4 (9,7)
RNFL-T (μm)	36,2 (7,1)	49,8 (11,3)	73,7 (2,5)	60,9 (4,7)	68,9 (11,4)
RNFL-PMB (μm)	27,8 (4,6)	37,3 (7,4)	60,0 (3,6)	45,9 (3,2)	53,4 (8,8)
RNFL-S (μm)	71,8 (17,9)	105,1 (14,4)	129,0 (5,1)	114,1 (7,3)	124,5 (17,2)
RNFL-N (μm)	38,1 (13,6)	65,4 (13,8)	83,3 (10,1)	60,9 (4,7)	78,2 (17,4)
RNFL-I (μm)	69,1 (15,0)	105,8 (14,4)	129,0 (8,6)	119,4 (13,9)	130,0 (22,6)

Legenda: hodnoty jsou ve formátu: průměr (směrodatná odchylka), RNFL – vrstva retinálních nervových vláken, RNFL-T – temporální segment, RNFL-I – dolní segment, RNFL-N – nazální segment, RNFL-S – horní segment, RNFL-PMB – papilomakulární svazek

Hodnotíme-li postižení následkem ON podle míry poklesu RNFL vůči normě přístroje, můžeme využít vyjádření pomocí barevné škály. Hodnoty mezi 5. - 95. percentilem normy jsou označeny zeleně, hodnoty mezi 1. – 5. percentilem jsou žlutě a hodnoty pod 1. percentilem normy jsou červeně V RS-ON očích jsou typicky hodnoty tloušťky RNFL ve žlutých či červených číslech v temporálním segmentu, případně v temporálním horním a temporálním dolním segmentu. (obr. 35, panel A). Vzorec postižení v NMO-ON očích je typický tím, že dochází k poklesu ve všech peripapilárních segmentech (obr. 35, panel B).



Obr. 35 Výsledky měření peripapilární vrstvy RNFL pomocí SD-OCT Spectralis. Snížení vrstvy na hodnoty mezi 1-5 percentilem normy je žlutě, a pod 1 percentil normy je červeně. Panel A (sloupec vlevo) ukazuje výsledky vyšetření RS-ON očí a panel B (sloupec vpravo) výsledky vyšetření NMO-ON očí.



Obr. 36: Tloušťka vrstvy RNFL ve sledovaných segmentech po zánětu očního nervu u pacientů s RS a s NMO. Segmenty peripapilární RNFL jsou pojmenovány S-horní (superior), N- nazální, I- dolní (inferior), T-temporální

NMO-NON vs. RS-NON

V našem souboru jsme zachytili 5 očí pacientů s NMO, v nichž neproběhl zánět očního nervu. Měření v tak malém souboru je nutno posuzovat velmi konzervativně, i přesto generují několik otázek. Hodnoty RNFL ve všech segmentech NMO-NON očí jsou vyšší než hodnoty RNFL v RS-NON očí. Průměrná tloušťka peripapilární RNFL (RNFL-G) v NMO-NON je 90,7 (6,1) oproti RS-NON 81,6 (10,9). Posuzujeme-li tloušťku RNFL v NMO-NON a RS-NON očích vůči normě přístroje, je hodnota RNFL-G i hodnoty ve všech segmentech v mezích normy (značené zeleně). Porovnáme-li NMO-NON s normativní databází RS centra, vidíme, že tloušťka RNFL-G i RNFL ve většině segmentů u NMO-NON je vyšší než RNFL-G pro normální kontroly ve stejné dekádě věku (NMO-ON RNFL-G 103,4 (9,9) vs. normy RNFL-G 100,4 (9,7)) (tab. 14).

8.4 Diskuze:

Tato pilotní analýza podpořila naši (tehdejší) hypotézu, že u pacientů s NMO dochází k poškození sítnice následkem zánětu očního nervu v mnohem větším rozsahu a v jiném vzorci než u pacientů s RS. Z pilotní průřezové analýzy nemůžeme pro její mnohé limitace dělat rozsáhlé závěry. S těmito limitacemi byla prezentována jako poster na AAN 2011 (viz příloha).

Otázka diferenciální diagnózy prvního zánětu očního nervu je pro pacienta kritická. Léčba RS a léčba NMO se zásadně liší jak v okamžiku akutního zánětu očního nervu, tak v dlouhodobém přístupu (Kimbrough, Fujihara et al. 2012). Zánět očního nervu u NMO vede k ireverzibilnímu poškození nervových struktur oka a ztrátě zrakové ostroty až slepotě. Léčba zánětu očního nervu u NMO musí být co nejčasnější a nejdůležitější (Nakamura, Nakazawa et al. 2010). Poškození tkáně se u NMO účastní patogenní autoprotilátky proti akvaporinu 4 a kaskáda komplementu, a proto je indikováno časné použití plazmaferézy (Batra and Periyavan 2017). Sledování vzorce poškození pomocí OCT může přispět k časnému vyslovení podezření, že se u probíhajícího zánětu očního nervu může jednat o první známky NMO -SD. Rozdílný vzorec poškození sítnice u NMO a RS je dnes již důkladně popsán v literatuře (Schneider, Zimmermann et al. 2013).

Vysvětlení pro rozdílný vzorec poškození u NMO a RS poskytují imunohistochemické studie buněk sítnice. Klíčem k pochopení jak rozsahu destrukce, tak lehkého navýšení tloušťky RNFL v NMO očích bez anamnézy zánětu očního nervu jsou zřejmě Mullerovy buňky a astrocyty sítnice. Axony gangliových buněk jsou obklopeny výběžky astrocytů a Mullerových buněk. Astrocyty se nacházejí v oblasti RNFL, což souvisí s jejich embryonálním původem a jsou morfologicky podobné astrocytům CNS. Mullerovy buňky obklopují neurony ve vrstvách sítnice, izolují je od sebe a jsou zodpovědné za udržování iontové rovnováhy a pohyb molekul vody. Mullerovy buňky také pokrývají kapiláry a další cévy sítnice. AQP4 se bohatě vyskytuje na membránách Mullerových buněk, a ty jsou v úzkém kontaktu s astrocyty a kapilárami (Zeka, Lassmann et al. 2017). Proces destrukce tkáně CNS v průběhu ON je zřejmě zprostředkován jak interakcí patogenních autoprotilátek s výběžky Mullerových buněk a astrocytů v kontaktu s kapilárami, tak i T-lymfocyty pronikajícími do vnitřní plexiformní vrstvy sítnice (Bradl, Reindl et al. 2018).

9 Cíl V. OCT jako nástroj monitorace nežádoucích účinků fingolimodu na sítnici

9.1. Úvod:

Aktivní metabolit fingolimodu (fingolimod 1- fosfát) se váže na receptory pro sfingosin-1- fosfát (S1P receptory), způsobuje internalizaci a degradaci těchto receptorů a následně selhání funkce S1P gradientu, pomocí kterého lymfocyty vycestovávají z lymfoidních tkání zpět do oběhu. Navozená lymfopenie v periferní krvi je reverzibilní při vysazení léčby. Možnou roli v efektu fingolimodu u RS může kromě snížení recirkulace autoagresivních lymfocytů hrát i přímý efekt fingolimodu v CNS, kde se S1P receptory nacházejí na glii a nervových buňkách. S1P receptory se nacházejí na mnoha tkáních v těle a řadíme je do několika podtypů – zejména S1P2 je považován za ubikvitní. Fingolimod má nejvyšší afinitu k podtypu S1P1 (nacházející se na lymfocytech, nervových buňkách a kardiovaskulárním systému) a S1P5 (nacházející se na oligodendroglia, nervových buňkách, NK buňkách) a méně se váže na S1P3, S1P4 a S1P2. Fingolimod je užíván perorálně jednou denně v dávce 0,5 mg. K možným nežádoucím účinkům léčby fingolimodem patří klinicky významná lymfopenie v periferní krvi, elevace jaterních enzymů, závažná infekce virem varicela zoster, přechodná bradykardie při nasazování terapie a vzácně i rozvoj cystoidního makulárního edému (Jain and Bhatti 2012).

Makulární edém (ME) je tvořen abnormální akumulací extracelulární tekutiny ve vrstvách sítnice následkem deregulace vstupu a výstupu tekutiny do tkáně. Při cystoidním makulárním edému dochází k akumulaci tekutiny zejména v zevní plexiformní vrstvě sítnice. Ač je nazýván „cystoidní“, neobsahuje epitelální výstelku. ME je asociovaný s diabetickým postižením sítnice, okluzí centrální retinální vény, choroidní neovaskularizací, pooperačním zánětem sítnice, centrální serózní chorioretinopatií, uveitidou a věkem podmíněnou makulární degenerací. K lékům asociovaným s ME patří latanoprost, epinefrin, rosiglitazon, timolol, niacin, a fingolimod. Nárůst edému může vést k přerušení nervových buněk a gliovým změnám, přičemž horší prognózu má akumulace tekutiny v zevních vrstvách sítnice.

Součástí běžných vyšetření před započatím léčby fingolimodem a sledování v průběhu léčby je oční vyšetření a/nebo vyšetření pomocí OCT k vyloučení makulárního edému.

9.2 Cíl sledování

Cílem sledování pacienta, u něhož byl zachycen nález makulárního edému v průběhu léčby fingolimodem, bylo zmapovat, jak rychle dochází k ústupu nálezu.

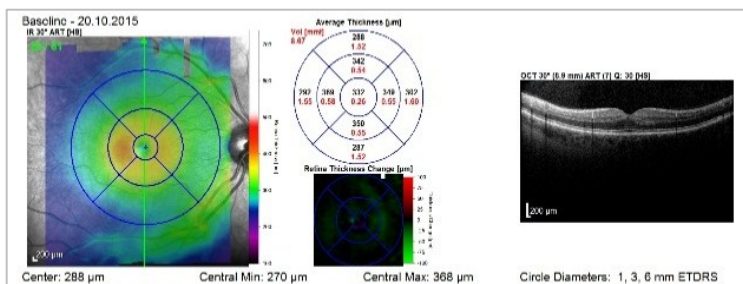
9.3 Metodika:

Nejpřesnější neinvazivní metodou sledování změn struktur sítnice je SD-OCT. Při sledování změn sítnice pomocí OCT byla použita metodika zavedená v RS centru – viz Cíl I. Výsledky pro N=1 jsou reportovány formou kazuistiky.

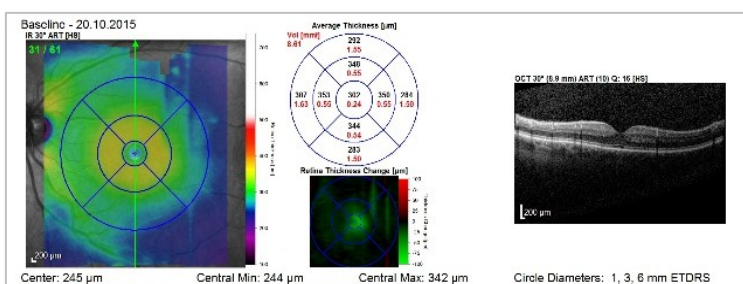
Kazuistika

Diagnosa RR RS u 55-letého pouze anglicky hovořícího muže, s anamnézou dvou episod sensorimotorických příznaků na končetinách, byla podpořena přítomností oligoklonálních proužků v likvoru a charakteristickým nálezem na magnetické rezonanci. V době započetí první biologické terapie interferonem beta 1a intramuskulárně 1x týdně v lednu 2014 bylo neurologické postižení kvantifikováno na škále EDSS jako 2.0. V dubnu 2014 pacient měl pacient míšní ataku (pocit sevření kolem trupu), která se upravila po přeléčení pulsem methylprednisolonu. V říjnu 2010 prodělal středně těžkou ataku (slabost dolních končetin, neurogenní měchýř, zhoršení EDSS na 3.5) s částečnou úpravou po pulsu methylprednisolonu. Vzhledem k manifestaci dvou atak v průběhu prvního roku léčby lékem první linie a zhoršení EDSS následkem atak byla indikována eskalace terapie. Pacient byl léčen pro hypertenzi, měl pozitivní protilátky proti JCV a velkou averzi k rizikům 2. linie, a proto byla v roce 2015 započata perorální léčba dimethylfumarátem 240 mg 2x denně. Pacient toleroval léčbu velmi dobře a byl plně spolupracující v režimu léčby. V červnu 2015 u pacienta proběhla míšní ataka s únavou a zhoršením EDSS opět na 3.5 a v srpnu 2015 ztuhlost dolních končetin, pocit slabosti levé dolní končetiny a snížení dosahu chůze v kilometrech. Ataka nevedla ke změně EDSS, které zůstalo 3.5 před i po léčbě pulsem methylprednisolonu. Pacientovi byla doporučena změna léčby na fingolimod a v rámci přípravy došlo i ke změně léčby hypertenze. První dávka fingolimodu byla podána 25. srpna 2015. Pacient započetí léčby toleroval dobře, bez nežádoucích účinků. Během 14 dnů nové léčby se u pacienta objevila lehká míšní ataka se ztuhlostí v prstech dolních končetin a nového pocitu vibrací v oblasti trupu. Příznaky ustoupily po podání methylprednisolonu. EDSS bylo i nadále 3.5. Protože se pacient nedostavil na

doporučené preventivní vyšetření OCT na počátku terapie, bylo toto vyšetření doplněno při kontrole po atace, 20. října 2015 (8 týden léčby).



Obr. 37 Výsledek OCT vyšetření v pravém oku (nahore) a v levém oku (dole) v 8. týdnu léčby fingolimodem.



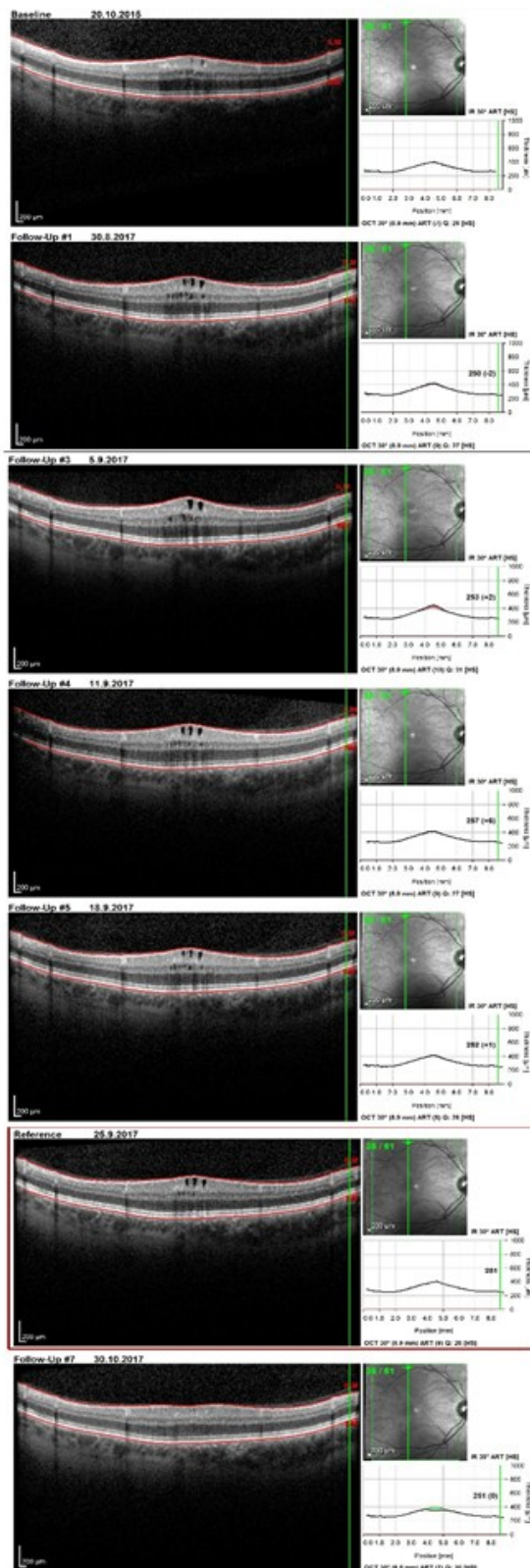
Po 3 měsících léčby pacient začal popisovat ústup únavy a pocit větší výkonnosti. EDSS se změnilo na 3.0. Po 9 měsících léčby, v květnu 2016, bylo EDSS 2.5 a pacient si jako jeden z mála příznaků v běžném životě uvědomoval občasné brnění v končetinách či trupu při zátěži, ale jinak popisoval dobrou výkonnost včetně plavání v rámci udržení dobré kondice. V dalším roce se neurologický nálezneměnil, pacient neměl ataky ani další nové obtíže. Pacient nikdy neměl obtíže se zrakem. Na doporučená vyšetření OCT v měsíci 3 a 12 léčby se nedostavil.

30. srpna 2017 se pacient dostavil na kontrolu po 2 letech léčby. Ačkoliv pacient neměl zrakové obtíže, bylo v den kontroly provedeno vyšetření OCT v rámci komprehenzivního sledování pacientů léčených fingolimodem. Na OCT byl detekován asymptomatický makulární edém v obou očích.

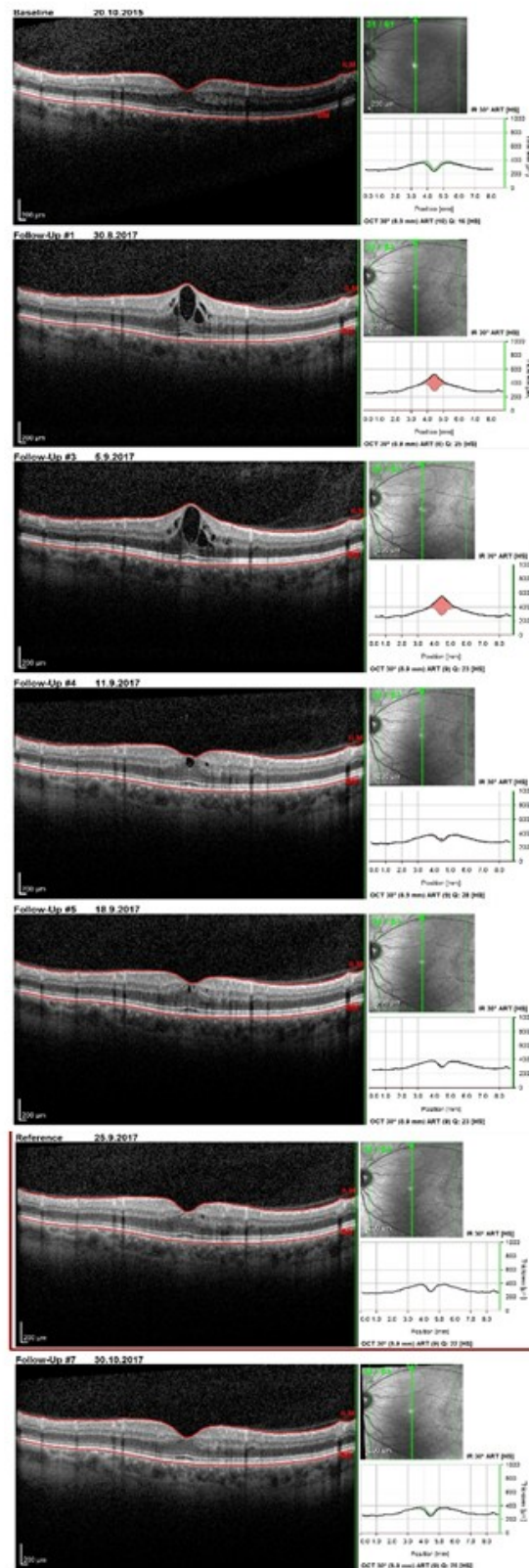
9.4 Výsledky:

Pacient byl vyšetřen neuro-oftalmologem, který potvrdil diagnózu cystoidního makulárního edému v obou očích. Vyšetření Amslerovou mřížkou bylo negativní, perimetr v obou očích bez defektu. Oční lékař potvrdil, že přítomnost ME je nejspíše poléková, protože pacient neměl žádné rizikové faktory pro rozvoj ME, jako je diabetes, uveitida, nebo užívání jiných léků spojených s makulárním edémem. Léčba fingolimodem byla vysazena 30. srpna, 2017.

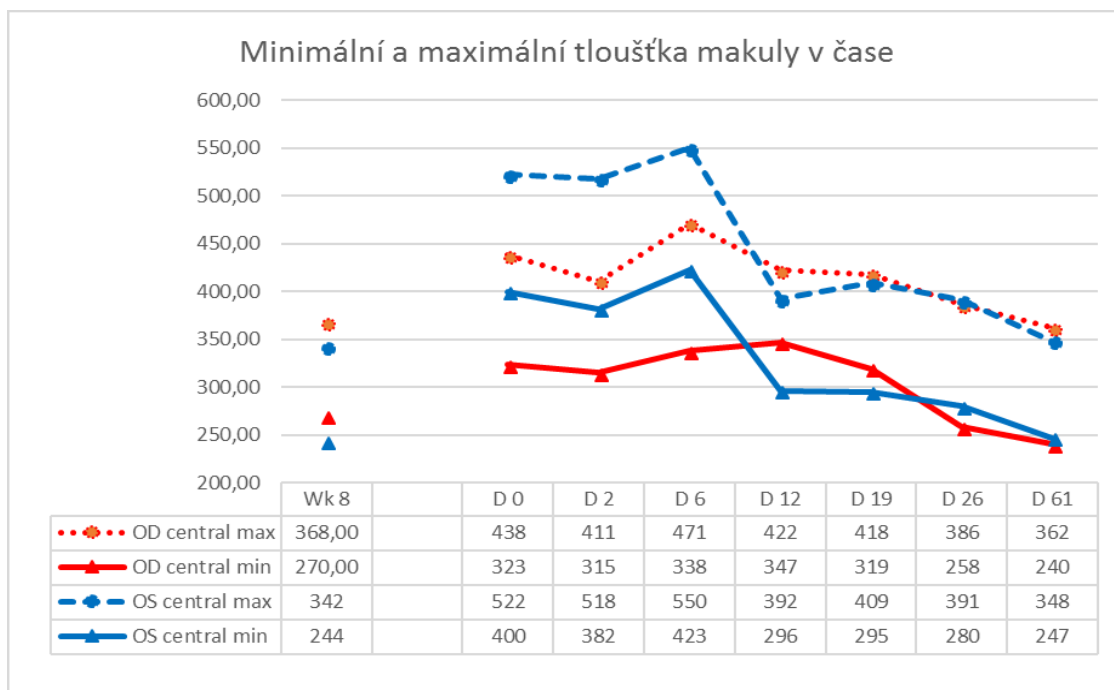
Oko pravé



Oko levé



Obr. 38 Ústup makulárního sledování v průběhu sledování po vysazení léčby. Pro každou návštěvu je ukázán jeden řez makulou pro pravé oko a jeden řez pro levé oko.



Obr. 39 Legenda: OD – pravé oko, OS – levé oko, Wk 8 – osmý týden po započetí fíngolimodu, D 0 až D 61 – dny sledování po vysazení léku.

9.5 Diskuze:

Cystoidní makulární edém jako nežádoucí účinek léčby fíngolimodem (FAME – Fíngolimod associated macular edema) je vzácný. V klinických studiích fáze 2 a 3 byla u pacientů léčených fíngolimodem v dávce 0,5 mg denně incidence 0,3 % - 0,9 %.(Jain and Bhatti 2012)

V literatuře je několik kazuistik popisujících průběh FAME. Akiyama et al publikoval případ 66leté Japonky s diagnózou hypertenze, steroidy indukovaného diabetu a roztroušené sklerózy léčené fíngolimodem. U této pacientky se začal rozvíjet 2 týdny po nasazení léčby ME v jednom oku a postupně získal cystoidní vzhled. U pacientky nedošlo ke změně zrakové ostrosti či distorzi obrazu, léčba nebyla vysazena a autoři dokumentovali spontánní zlepšení ME bez léčebných zásahů. ME mohl souviset s fíngolimodem i diagnózou diabetu (Akiyama, Suzuki et al. 2016).

Pull a kol publikoval případovou studii pacientky s RS, diabetes mellitus I. typu s neúplnou kompenzací hladin, hypertenzí a obezitou s BMI 34, u níž se rozvinula porucha visu 4 týdny po započetí léčby fíngolimodem. Tloušťka centrální makuly v době diagnózy byla 463 μ m a 2 týdny po vysazení léčby progredovala na 709 μ m spolu s

výrazným zhoršením visu. Autoři dokumentovali úspěšnou léčbu ME intraokulární aplikací ranibizumabu (Pul, Osmanovic et al. 2016).

V naší kazuistice jsme u pacienta kromě léčby fingolimodem neidentifikovali jiné rizikové faktory pro vznik ME. Oboustranné známky postižení ME jsou u polékové etiologie typické. Rozvoj ME u léčby fingolimodem může souviset s modulací receptorů S1P1 v endoteliálních buňkách. Lokalizace ME v okolí fovei zřejmě úzce souvisí s anatomii fovei a makuly. Specifický tvar průběhu Mullerových buněk sítnice ve tvaru Z v oblasti fovei, může vést k akumulaci proteinů a následně i vody onkotickým tlakem. Mullerovy buňky jsou nejčastěji zastoupenou gliovou buňkou sítnice. Jejich tělo a jádro se nachází ve vnitřní plexiformní vrstvě. Výběžky Mullerových buněk se rozprostírají od membrana limitans externa (kde tvoří pevná desmosomální spojení mezi sebou a s fotoreceptory) až po membrana limitans interna. V průběhu celé tloušťky sítnice Mullerovy buňky poskytují oporu neuronům, mají významnou metabolickou funkci (udržují iontovou rovnováhu, zpětné vychytávání neurotransmiterů) a izolují od sebe jednotlivé fotoreceptory a další neurony.

Kazuistika vyzdvihuje hodnotu sledování změn sítnice u všech pacientů léčených fingolimodem. Zároveň je zřejmé, že přítomnost či rozvoj ME u pacientů léčených fingolimodem, u nichž nejsou přítomna další rizika rozvoje ME, nemusí být nezbytně indikací k okamžitému vysazení fingolimodu.

Kazuistika byla prezentována na CSNS 2017, Dynamika ústupu makulárního edému po vysazení fingolimodu sledovaná pomocí OCT.

10. ZÁVĚR

Optická koherenční tomografie definitivně vstoupila jako nová zobrazovací technika do oboru roztroušené sklerózy a neurologie. Od pionýrských dob zavádění prvních spektrálně doménových OCT přístrojů do praxe v roce 2010 se stala již známou výzkumnou metodou při zobrazování přední části zrakové dráhy. Je definována ustáleným skenovacím protokolem a standardy kvality snímků (Cíl I).

OCT vyšetření má nyní roli výzkumnou (doslova explorativní), posouvá se do role biomarkeru u RS a začíná být používáno i v klinické praxi na pomezí neurologie a oftalmologie.

Prognostickou hodnotu měření tloušťky vrstvy retinálních nervových vláken (RNFL) v peripapilární oblasti jsme hodnotili v rámci mezinárodní spolupráce RS center konsorcia IMSVISUAL (Cíl II). Studie prokázala, že již při jednom měření tloušťky peripapilární vrstvy RNFL napříč studovanou populací má tloušťka RNFL prognostickou hodnotu pro odhad rizika progresu EDSS v následujících pěti letech. Pacienti v nejnižším tercilu tloušťky peripapilární RNFL měli 2x vyšší riziko progresu invalidity oproti pacientům zařazených do vyšších tercilů RNFL.

Studiem tloušťky RNFL (jako biomarkeru neurodegenerace) po proběhlém zánětu očního nervu (ON) u pacientů s RS se zabýval Cíl III této práce. Kladli jsme si otázku, zda je anamnéza ON u RS rizikovým faktorem pro míru degenerace RNFL v následujících letech. Studie potvrdila, že dlouhodobé změny tloušťky RNFL probíhají v očích po ON zcela stejně jako v očích bez anamnézy ON. To znamená, že v longitudinálních studiích můžeme považovat oči bez ON a oči po ON (mimo období prvních 6 měsíců akutních změn) z hlediska stárnutí a neurodegenerace za rovnocenné.

Další část práce demonstruje možné použití OCT v klinické praxi. Cíl IV se týká použití OCT jako nástroje diferenciální diagnózy zánětu očního nervu u roztroušené sklerózy a neuromyelitis optica. V pilotní studii 10 pacientů s NMO jsme ukázali rozdílný vzorec úbytku peripapilární RNFL po zánětu očního nervu u pacientů s NMO a u pacientů s RS. U pacientů s přítomností protilátek proti AQP4 dochází po proběhlém

zánětu očního nervu k úbytku peripapilární vrstvy RNFL o 40-50 mikronů a ztenčení vrstvy RNFL do subnormálních hodnot je patrné ve všech peripapilárních segmentech (= vzorec postižení). U pacientů s RS se tloušťka RNFL dostává do subnormálních hodnot zvláště v temporálním segmentu, a projeví se ztenčením průměrné peripapilární RNFL o 17-19 mikronů. Časná a správná diagnóza NMO je zásadním faktorem v ovlivnění nepříznivé prognózy NMO, a proto je tento nález na OCT signálem k důkladnému zvážení diferenciální diagnózy NMO versus RS.

Cíl V je ukázkou použití OCT jako nástroje monitorace nežádoucích účinků fingolimodu. V kazuistice přinášíme popis asymptomatického makulárního edému u pacienta léčeného fingolimodem. Makulární edém u tohoto pacienta byl diagnostikován díky zavedenému protokolu preventivních OCT vyšetření u všech pacientů léčených fingolimodem. V dalším sledování pomocí OCT jsme demonstrovali dynamiku ústupu edému po vysazení léku.

POUŽITÁ LITERATURA

1. (1993). "Interferon beta-1b is effective in relapsing-remitting multiple sclerosis. I. Clinical results of a multicenter, randomized, double-blind, placebo-controlled trial. The IFNB Multiple Sclerosis Study Group." Neurology **43**(4): 655-661.
2. Akiyama, H., Y. Suzuki, D. Hara, K. Shinohara, H. Ogura, M. Akamatsu and Y. Hasegawa (2016). "Improvement of macular edema without discontinuation of fingolimod in a patient with multiple sclerosis: A case report." Medicine (Baltimore) **95**(29): e4180.
3. Al-Louzi, O., J. Button, S. D. Newsome, P. A. Calabresi and S. Saidha (2017). "Retrograde trans-synaptic visual pathway degeneration in multiple sclerosis: A case series." Mult Scler **23**(7): 1035-1039.
4. Alam, S. M., T. Kyriakides, M. Lawden and P. K. Newman (1993). "Methylprednisolone in multiple sclerosis: a comparison of oral with intravenous therapy at equivalent high dose." J Neurol Neurosurg Psychiatry **56**(11): 1219-1220.
5. Alcalde-Cabero, E., J. Almazan-Isla, A. Garcia-Merino, J. de Sa and J. de Pedro-Cuesta (2013). "Incidence of multiple sclerosis among European Economic Area populations, 1985-2009: the framework for monitoring." BMC Neurol **13**: 58.
6. Balcer, L. J. and E. M. Frohman (2010). "Evaluating loss of visual function in multiple sclerosis as measured by low-contrast letter acuity." Neurology **74 Suppl 3**: S16-23.
7. Balk, L. J., W. A. de Vries-Knoppert and A. Petzold (2012). "A simple sign for recognizing off-axis OCT measurement beam placement in the context of multicentre studies." PLoS One **7**(11): e48222.
8. Bareš, M. (2002). "Evokované potenciály v diagnostice roztroušené sklerózy mozkomíšní." Neurologie pro praxi **3**(5): 244-248.
9. Barkhof, F. (1999). "MRI in multiple sclerosis: correlation with expanded disability status scale (EDSS)." Mult Scler **5**(4): 283-286.
10. Barkhof, F., P. Scheltens, S. T. Frequin, J. J. Nauta, M. W. Tas, J. Valk and O. R. Hommes (1992). "Relapsing-remitting multiple sclerosis: sequential enhanced MR

- imaging vs clinical findings in determining disease activity." AJR Am J Roentgenol **159**(5): 1041-1047.
11. Barnett, M. H. and J. W. Prineas (2004). "Relapsing and remitting multiple sclerosis: pathology of the newly forming lesion." Ann Neurol **55**(4): 458-468.
 12. Batra, A. and S. Periyavan (2017). "Role of low plasma volume treatment on clinical efficacy of plasmapheresis in neuromyelitis optica." Asian J Transfus Sci **11**(2): 102-107.
 13. Beck, R. W. (1992). "The optic neuritis treatment trial. Implications for clinical practice. Optic Neuritis Study Group." Arch Ophthalmol **110**(3): 331-332.
 14. Beck, R. W., P. A. Cleary, M. M. Anderson, Jr., J. L. Keltner, W. T. Shults, D. I. Kaufman, E. G. Buckley, J. J. Corbett, M. J. Kupersmith, N. R. Miller and et al. (1992). "A randomized, controlled trial of corticosteroids in the treatment of acute optic neuritis. The Optic Neuritis Study Group." N Engl J Med **326**(9): 581-588.
 15. Beck, R. W. and J. D. Trobe (1995). "The Optic Neuritis Treatment Trial. Putting the results in perspective. The Optic Neuritis Study Group." J Neuroophthalmol **15**(3): 131-135.
 16. Benedict, R. H., M. P. Amato, J. Boringa, B. Brochet, F. Foley, S. Fredrikson, P. Hamalainen, H. Hartung, L. Krupp, I. Penner, A. T. Reder and D. Langdon (2012). "Brief International Cognitive Assessment for MS (BICAMS): international standards for validation." BMC Neurol **12**: 55.
 17. Benedict, R. H., D. Cookfair, R. Gavett, M. Gunther, F. Munschauer, N. Garg and B. Weinstock-Guttman (2006). "Validity of the minimal assessment of cognitive function in multiple sclerosis (MACFIMS)." J Int Neuropsychol Soc **12**(4): 549-558.
 18. Benedict, R. H., A. S. Drake, L. N. Irwin, S. E. Frndak, K. A. Kunker, A. L. Khan, V. M. Kordovski, R. W. Motl and B. Weinstock-Guttman (2016). "Benchmarks of meaningful impairment on the MSFC and BICAMS." Mult Scler **22**(14): 1874-1882.
 19. Bermel, R. A., X. You, P. Foulds, R. Hyde, J. H. Simon, E. Fisher and R. A. Rudick (2013). "Predictors of long-term outcome in multiple sclerosis patients treated with interferon beta." Ann Neurol **73**(1): 95-103.
 20. Bradl, M., M. Reindl and H. Lassmann (2018). "Mechanisms for lesion localization in neuromyelitis optica spectrum disorders." Curr Opin Neurol **31**(3): 325-333.

21. Comi, G., V. Martinelli, M. Rodegher, L. Moiola, O. Bajenaru, A. Carra, I. Elovaara, F. Fazekas, H. P. Hartung, J. Hillert, J. King, S. Komoly, C. Lubetzki, X. Montalban, K. M. Myhr, M. Ravnborg, P. Rieckmann, D. Wynn, C. Young, M. Filippi and C. s. g. Pre (2009). "Effect of glatiramer acetate on conversion to clinically definite multiple sclerosis in patients with clinically isolated syndrome (PreCISe study): a randomised, double-blind, placebo-controlled trial." Lancet **374**(9700): 1503-1511.
22. Compston, A. (2005). The story of multiple sclerosis. McAlpine's Multiple Sclerosis. A. Compston, Elsevier: 992.
23. Costello, F., W. Hodge, Y. I. Pan, E. Eggenberger, S. Coupland and R. H. Kardon (2008). "Tracking retinal nerve fiber layer loss after optic neuritis: a prospective study using optical coherence tomography." Mult Scler **14**(7): 893-905.
24. Damadian, R. (1980). "Field focusing n.m.r. (FONAR) and the formation of chemical images in man." Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci **289**(1037): 489-500.
25. Damadian, R., M. Goldsmith and L. Minkoff (1977). "NMR in cancer: XVI. FONAR image of the live human body." Physiol Chem Phys **9**(1): 97-100, 108.
26. Dartt, A. D., J. C. Besharse and R. Dana (2010). Encyclopedia of the Eye. Oxford, UK; San Diego, CA Elsevier Academic Press. **2**: 330-337.
27. Diblík, P., P. Kuthan and P. Sklenka (2010). "[Optic neuritis in patients with multiple sclerosis]." Neurol Prax **12**(2).
28. Dušánková, J. B., T. Kalinčík, E. Havrdová and R. H. Benedict (2012). "Cross cultural validation of the Minimal Assessment of Cognitive Function in Multiple Sclerosis (MACFIMS) and the Brief International Cognitive Assessment for Multiple Sclerosis (BICAMS)." Clin Neuropsychol **26**(7): 1186-1200.
29. Elovaara, I., M. Lalla, E. Spare, T. Lehtimäki and P. Dastidar (1998). "Methylprednisolone reduces adhesion molecules in blood and cerebrospinal fluid in patients with MS." Neurology **51**(6): 1703-1708.
30. Evangelou, N., D. Konz, M. M. Esiri, S. Smith, J. Palace and P. M. Matthews (2001). "Size-selective neuronal changes in the anterior optic pathways suggest a differential susceptibility to injury in multiple sclerosis." Brain **124**(Pt 9): 1813-1820.
31. Filippi, M., M. Rovaris, M. Inglese, F. Barkhof, N. De Stefano, S. Smith and G. Comi (2004). "Interferon beta-1a for brain tissue loss in patients at presentation

- with syndromes suggestive of multiple sclerosis: a randomised, double-blind, placebo-controlled trial." Lancet **364**(9444): 1489-1496.
32. Fisher, E., R. A. Rudick, J. H. Simon, G. Cutter, M. Baier, J. C. Lee, D. Miller, B. Weinstock-Guttman, M. K. Mass, D. S. Dougherty and N. A. Simonian (2002). "Eight-year follow-up study of brain atrophy in patients with MS." Neurology **59**(9): 1412-1420.
 33. Freedman, M. S., E. J. Thompson, F. Deisenhammer, G. Giovannoni, G. Grimsley, G. Keir, S. Ohman, M. K. Racke, M. Sharief, C. J. Sindic, F. Sellebjerg and W. W. Tourtellotte (2005). "Recommended standard of cerebrospinal fluid analysis in the diagnosis of multiple sclerosis: a consensus statement." Arch Neurol **62**(6): 865-870.
 34. Gale, C. R. and C. N. Martyn (1995). "Migrant studies in multiple sclerosis." Prog Neurobiol **47**(4-5): 425-448.
 35. Galler, S., J. P. Stellmann, K. L. Young, D. Kutzner, C. Heesen, J. Fiehler and S. Siemonsen (2016). "Improved Lesion Detection by Using Axial T2-Weighted MRI with Full Spinal Cord Coverage in Multiple Sclerosis." AJNR Am J Neuroradiol **37**(5): 963-969.
 36. Garcia-Martin, E., V. Pueyo, J. R. Ara, C. Almarcegui, J. Martin, L. Pablo, I. Dolz, E. Sancho and F. J. Fernandez (2011). "Effect of optic neuritis on progressive axonal damage in multiple sclerosis patients." Mult Scler **17**(7): 830-837.
 37. Geisseler, O., T. Pflugshaupt, L. Bezzola, K. Reuter, D. Weller, B. Schuknecht, P. Brugger and M. Linnebank (2016). "The relevance of cortical lesions in patients with multiple sclerosis." BMC Neurol **16**(1): 204.
 38. Giovannoni, G., B. Turner, S. Gnanapavan, C. Offiah, K. Schmierer and M. Marta (2015). "Is it time to target no evident disease activity (NEDA) in multiple sclerosis?" Mult Scler Relat Disord **4**(4): 329-333.
 39. Green, A. J., S. McQuaid, S. L. Hauser, I. V. Allen and R. Lyness (2010). "Ocular pathology in multiple sclerosis: retinal atrophy and inflammation irrespective of disease duration." Brain **133**(Pt 6): 1591-1601.
 40. Hansen, T., A. Skytthe, E. Stenager, H. C. Petersen, K. O. Kyvik and H. Bronnum-Hansen (2005). "Risk for multiple sclerosis in dizygotic and monozygotic twins." Mult Scler **11**(5): 500-503.
 41. Hariri, A., S. Y. Lee, H. Ruiz-Garcia, M. G. Nittala, F. M. Heussen and S. R. Sadda (2012). "Effect of angle of incidence on macular thickness and volume

- measurements obtained by spectral-domain optical coherence tomography." Invest Ophthalmol Vis Sci **53**(9): 5287-5291.
42. Havrdová, E. (2013). Roztroušená skleróza. Praha, Mladá Fronta.
 43. Havrdová, E., S. Galetta, M. Hutchinson, D. Stefoski, D. Bates, C. H. Polman, P. W. O'Connor, G. Giovannoni, J. T. Phillips, F. D. Lublin, A. Pace, R. Kim and R. Hyde (2009). "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 **8**(3): 254-260.
 44. Havrdová, E., S. Galetta, D. Stefoski and G. Comi (2010). "Freedom from disease activity in multiple sclerosis." Neurology **74 Suppl 3**: S3-7.
 45. Heesen, C., J. Bohm, C. Reich, J. Kasper, M. Goebel and S. M. Gold (2008). "Patient perception of bodily functions in multiple sclerosis: gait and visual function are the most valuable." Mult Scler **14**(7): 988-991.
 46. Henderson, A. P., D. R. Altmann, A. S. Trip, C. Kallis, S. J. Jones, P. G. Schlottmann, D. F. Garway-Heath, G. T. Plant and D. H. Miller (2010). "A serial study of retinal changes following optic neuritis with sample size estimates for acute neuroprotection trials." Brain **133**(9): 2592-2602.
 47. Ikuta, F. and H. M. Zimmerman (1976). "Distribution of plaques in seventy autopsy cases of multiple sclerosis in the United States." Neurology **26**(6 PT 2): 26-28.
 48. Jacobs, L. D., R. W. Beck, J. H. Simon, R. P. Kinkel, C. M. Brownschidle, T. J. Murray, N. A. Simonian, P. J. Slasor and A. W. Sandrock (2000). "Intramuscular interferon beta-1a therapy initiated during a first demyelinating event in multiple sclerosis. CHAMPS Study Group." N Engl J Med **343**(13): 898-904.
 49. Jain, N. and M. T. Bhatti (2012). "Fingolimod-associated macular edema: incidence, detection, and management." Neurology **78**(9): 672-680.
 50. Kantarci, O. and D. Wingerchuk (2006). "Epidemiology and natural history of multiple sclerosis: new insights." Curr Opin Neurol **19**(3): 248-254.
 51. Kappos, L., A. Traboulsee, C. Constantinescu, J. P. Eralinna, F. Forrestal, P. Jongen, J. Pollard, M. Sandberg-Wollheim, C. Sindic, B. Stubinski, B. Uitdehaag and D. Li (2006). "Long-term subcutaneous interferon beta-1a therapy in patients with relapsing-remitting MS." Neurology **67**(6): 944-953.
 52. Kimbrough, D. J., K. Fujihara, A. Jacob, M. A. Lana-Peixoto, M. I. Leite, M. Levy, R. Marignier, I. Nakashima, J. Palace, J. de Seze, O. Stuve, S. N. Tenenbaum, A.

- Traboulsee, E. Waubant, B. G. Weinshenker, D. M. Wingerchuk, C. C. Gjc and Br (2012). "Treatment of Neuromyelitis Optica: Review and Recommendations." Mult Scler Relat Disord **1**(4): 180-187.
53. Kurtzke, J. F. (1955). "A new scale for evaluating disability in multiple sclerosis." Neurology **5**(8): 580-583.
 54. Kurtzke, J. F. (1983). "Rating neurologic impairment in multiple sclerosis: an expanded disability status scale (EDSS)." Neurology **33**(11): 1444-1452.
 55. Lassmann, H. and J. van Horssen (2011). "The molecular basis of neurodegeneration in multiple sclerosis." FEBS Lett **585**(23): 3715-3723.
 56. Lohrke, J., T. Frenzel, J. Endrikat, F. C. Alves, T. M. Grist, M. Law, J. M. Lee, T. Leiner, K. C. Li, K. Nikolaou, M. R. Prince, H. H. Schild, J. C. Weinreb, K. Yoshikawa and H. Pietsch (2016). "25 Years of Contrast-Enhanced MRI: Developments, Current Challenges and Future Perspectives." Adv Ther **33**(1): 1-28.
 57. Longbrake, E. E. and D. A. Hafler (2016). "Linking Genotype to Clinical Phenotype in Multiple Sclerosis: In Search of the Holy Grail." JAMA Neurol **73**(7): 777-778.
 58. Lovato, L., S. N. Willis, S. J. Rodig, T. Caron, S. E. Almendinger, O. W. Howell, R. Reynolds, K. C. O'Connor and D. A. Hafler (2011). "Related B cell clones populate the meninges and parenchyma of patients with multiple sclerosis." Brain **134**(Pt 2): 534-541.
 59. Lublin, F. D. and S. C. Reingold (1996). "Defining the clinical course of multiple sclerosis: results of an international survey. National Multiple Sclerosis Society (USA) Advisory Committee on Clinical Trials of New Agents in Multiple Sclerosis." Neurology **46**(4): 907-911.
 60. Lublin, F. D., S. C. Reingold, J. A. Cohen, G. R. Cutter, P. S. Sorensen, A. J. Thompson, J. S. Wolinsky, L. J. Balcer, B. Banwell, F. Barkhof, B. Bebo, Jr., P. A. Calabresi, M. Clanet, G. Comi, R. J. Fox, M. S. Freedman, A. D. Goodman, M. Inglese, L. Kappos, B. C. Kieseier, J. A. Lincoln, C. Lubetzki, A. E. Miller, X. Montalban, P. W. O'Connor, J. Petkau, C. Pozzilli, R. A. Rudick, M. P. Sormani, O. Stuve, E. Waubant and C. H. Polman (2014). "Defining the clinical course of multiple sclerosis: the 2013 revisions." Neurology **83**(3): 278-286.
 61. Lucas, R. M., A. L. Ponsonby, K. Dear, P. Valery, M. P. Pender, J. M. Burrows, S. R. Burrows, C. Chapman, A. Coulthard, D. E. Dwyer, T. Dwyer, T. Kilpatrick, M. L. Lay, A. J. McMichael, B. V. Taylor, I. A. van der Mei and D. Williams (2011).

- "Current and past Epstein-Barr virus infection in risk of initial CNS demyelination." Neurology **77**(4): 371-379.
62. Lucas, R. M., A. L. Ponsonby, K. Dear, P. C. Valery, M. P. Pender, B. V. Taylor, T. J. Kilpatrick, T. Dwyer, A. Coulthard, C. Chapman, I. van der Mei, D. Williams and A. J. McMichael (2011). "Sun exposure and vitamin D are independent risk factors for CNS demyelination." Neurology **76**(6): 540-548.
 63. Lucchinetti, C., W. Bruck, J. Parisi, B. Scheithauer, M. Rodriguez and H. Lassmann (2000). "Heterogeneity of multiple sclerosis lesions: implications for the pathogenesis of demyelination." Ann Neurol **47**(6): 707-717.
 64. Mallery, R. M., P. Poolman, M. J. Thurtell, J. M. Full, J. Ledolter, D. Kimbrough, E. M. Frohman, T. C. Frohman and R. H. Kardon (2018). "Visual Fixation Instability in Multiple Sclerosis Measured Using SLO-OCT." Invest Ophthalmol Vis Sci **59**(1): 196-201.
 65. Mameli, G., G. Madeddu, A. Mei, E. Uleri, L. Poddighe, L. G. Delogu, I. Maida, S. Babudieri, C. Serra, R. Manetti, M. S. Mura and A. Dolei (2013). "Activation of MSRV-type endogenous retroviruses during infectious mononucleosis and Epstein-Barr virus latency: the missing link with multiple sclerosis?" PLoS One **8**(11): e78474.
 66. Martinez-Lapiscina, E. H., S. Arnow, J. A. Wilson, S. Saidha, J. L. Preiningerova, T. Oberwahrenbrock, A. U. Brandt, L. E. Pablo, S. Guerrieri, I. Gonzalez, O. Outteryck, A. K. Mueller, P. Albrecht, W. Chan, S. Lukas, L. J. Balk, C. Fraser, J. L. Frederiksen, J. Resto, T. Frohman, C. Cordano, I. Zubizarreta, M. Andorra, B. Sanchez-Dalmau, A. Saiz, R. Bermel, A. Klistorner, A. Petzold, S. Schippling, F. Costello, O. Aktas, P. Vermersch, C. Oreja-Guevara, G. Comi, L. Leocani, E. Garcia-Martin, F. Paul, E. Havrdova, E. Frohman, L. J. Balcer, A. J. Green, P. A. Calabresi, P. Villoslada and I. consortium (2016). "Retinal thickness measured with optical coherence tomography and risk of disability worsening in multiple sclerosis: a cohort study." Lancet Neurol **15**(6): 574-584.
 67. Merle, H., S. Olindo, M. Bonnan, A. Donnio, R. Richer, D. Smadja and P. Cabre (2007). "Natural history of the visual impairment of relapsing neuromyelitis optica." Ophthalmology **114**(4): 810-815.
 68. Metz, I., S. D. Weigand, B. F. Popescu, J. M. Frischer, J. E. Parisi, Y. Guo, H. Lassmann, W. Bruck and C. F. Lucchinetti (2014). "Pathologic heterogeneity persists in early active multiple sclerosis lesions." Ann Neurol **75**(5): 728-738.

69. Metz, L. M., D. Sabuda, R. J. Hilsden, R. Enns and J. B. Meddings (1999). "Gastric tolerance of high-dose pulse oral prednisone in multiple sclerosis." Neurology **53**(9): 2093-2096.
70. Mirzaei, F., K. B. Michels, K. Munger, E. O'Reilly, T. Chitnis, M. R. Forman, E. Giovannucci, B. Rosner and A. Ascherio (2011). "Gestational vitamin D and the risk of multiple sclerosis in offspring." Ann Neurol **70**(1): 30-40.
71. Montalban, X., R. Gold, A. J. Thompson, S. Otero-Romero, M. P. Amato, D. Chandraratna, M. Clanet, G. Comi, T. Derfuss, F. Fazekas, H. P. Hartung, E. Havrdova, B. Hemmer, L. Kappos, R. Liblau, C. Lubetzki, E. Marcus, D. H. Miller, T. Olsson, S. Pilling, K. Selmaj, A. Siva, P. S. Sorensen, M. P. Sormani, C. Thalheim, H. Wiendl and F. Zipp (2018). "ECTRIMS/EAN Guideline on the pharmacological treatment of people with multiple sclerosis." Mult Scler **24**(2): 96-120.
72. Nakamura, M., T. Nakazawa, H. Doi, T. Hariya, K. Omodaka, T. Misu, T. Takahashi, K. Fujihara and K. Nishida (2010). "Early high-dose intravenous methylprednisolone is effective in preserving retinal nerve fiber layer thickness in patients with neuromyelitis optica." Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol **248**(12): 1777-1785.
73. Němec, P. (2015). OCT, Klinický atlas sítnicových patologií. Praha, Mladá Fronta.
74. Parisi, V., G. Manni, M. Spadaro, G. Colacino, R. Restuccia, S. Marchi, M. G. Bucci and F. Pierelli (1999). "Correlation between morphological and functional retinal impairment in multiple sclerosis patients." Invest Ophthalmol Vis Sci **40**(11): 2520-2527.
75. Perez-Rico, C., L. Ayuso-Peralta, L. Rubio-Perez, I. Roldan-Diaz, J. Arevalo-Serrano, D. Jimenez-Jurado and R. Blanco (2014). "Evaluation of visual structural and functional factors that predict the development of multiple sclerosis in clinically isolated syndrome patients." Invest Ophthalmol Vis Sci **55**(10): 6127-6131.
76. Petzold, A. (2005). "Neurofilament phosphoforms: surrogate markers for axonal injury, degeneration and loss." J Neurol Sci **233**(1-2): 183-198.
77. Petzold, A. (2016). Optical Coherence Tomography in Multiple Sclerosis, Springer International Publishing.

78. Petzold, A., J. F. de Boer, S. Schippling, P. Vermersch, R. Kardon, A. Green, P. A. Calabresi and C. Polman (2010). "Optical coherence tomography in multiple sclerosis: a systematic review and meta-analysis." Lancet Neurol **9**(9): 921-932.
79. Polman, C. H., S. C. Reingold, B. Banwell, M. Clanet, J. A. Cohen, M. Filippi, K. Fujihara, E. Havrdova, M. Hutchinson, L. Kappos, F. D. Lublin, X. Montalban, P. O'Connor, M. Sandberg-Wollheim, A. J. Thompson, E. Waubant, B. Weinshenker and J. S. Wolinsky (2011). "Diagnostic criteria for multiple sclerosis: 2010 revisions to the McDonald criteria." Ann Neurol **69**(2): 292-302.
80. Poser, C. M., D. W. Paty, L. Scheinberg, W. I. McDonald, F. A. Davis, G. C. Ebers, K. P. Johnson, W. A. Sibley, D. H. Silberberg and W. W. Tourtellotte (1983). "New diagnostic criteria for multiple sclerosis: guidelines for research protocols." Ann Neurol **13**(3): 227-231.
81. Pul, R., A. Osmanovic, H. Schmalstieg, A. Pielen, K. Pars, P. Schwenkenbecher, K. W. Suhs, O. Yildiz, B. Frank, M. Stangel and T. Skripuletz (2016). "Fingolimod Associated Bilateral Cystoid Macular Edema-Wait and See?" Int J Mol Sci **17**(12).
82. Ratchford, J. N., M. E. Quigg, A. Conger, T. Frohman, E. Frohman, L. J. Balcer, P. A. Calabresi and D. A. Kerr (2009). "Optical coherence tomography helps differentiate neuromyelitis optica and MS optic neuropathies." Neurology **73**(4): 302-308.
83. Ratchford, J. N., S. Saidha, E. S. Sotirchos, J. A. Oh, M. A. Seigo, C. Eckstein, M. K. Durbin, J. D. Oakley, S. A. Meyer, A. Conger, T. C. Frohman, S. D. Newsome, L. J. Balcer, E. M. Frohman and P. A. Calabresi (2013). "Active MS is associated with accelerated retinal ganglion cell/inner plexiform layer thinning." Neurology **80**(1): 47-54.
84. Reese, B. E. (2011). "Development of the retina and optic pathway." Vision Res **51**(7): 613-632.
85. Rocca, M. A., G. Comi and M. Filippi (2017). "The Role of T1-Weighted Derived Measures of Neurodegeneration for Assessing Disability Progression in Multiple Sclerosis." Front Neurol **8**: 433.
86. Rodriguez, M., W. E. Karnes, J. D. Bartleson and A. A. Pineda (1993). "Plasmapheresis in acute episodes of fulminant CNS inflammatory demyelination." Neurology **43**(6): 1100-1104.

87. Rosenberg, G. A., J. E. Dencoff, N. Correa, Jr., M. Reiners and C. C. Ford (1996). "Effect of steroids on CSF matrix metalloproteinases in multiple sclerosis: relation to blood-brain barrier injury." Neurology **46**(6): 1626-1632.
88. Rovira, A., M. P. Wattjes, M. Tintore, C. Tur, T. A. Yousry, M. P. Sormani, N. De Stefano, M. Filippi, C. Auger, M. A. Rocca, F. Barkhof, F. Fazekas, L. Kappos, C. Polman, D. Miller, X. Montalban and M. s. group (2015). "Evidence-based guidelines: MAGNIMS consensus guidelines on the use of MRI in multiple sclerosis-clinical implementation in the diagnostic process." Nat Rev Neurol **11**(8): 471-482.
89. Saidha, S., O. Al-Louzi, J. N. Ratchford, P. Bhargava, J. Oh, S. D. Newsome, J. L. Prince, D. Pham, S. Roy, P. van Zijl, L. J. Balcer, E. M. Frohman, D. S. Reich, C. Crainiceanu and P. A. Calabresi (2015). "Optical coherence tomography reflects brain atrophy in multiple sclerosis: A four-year study." Ann Neurol **78**(5): 801-813.
90. Saidha, S., E. S. Sotirchos, J. Oh, S. B. Syc, M. A. Seigo, N. Shiee, C. Eckstein, M. K. Durbin, J. D. Oakley, S. A. Meyer, T. C. Frohman, S. Newsome, J. N. Ratchford, L. J. Balcer, D. L. Pham, C. M. Crainiceanu, E. M. Frohman, D. S. Reich and P. A. Calabresi (2013). "Relationships between retinal axonal and neuronal measures and global central nervous system pathology in multiple sclerosis." JAMA Neurol **70**(1): 34-43.
91. Saidha, S., S. B. Syc, M. A. Ibrahim, C. Eckstein, C. V. Warner, S. K. Farrell, J. D. Oakley, M. K. Durbin, S. A. Meyer, L. J. Balcer, E. M. Frohman, J. M. Rosenzweig, S. D. Newsome, J. N. Ratchford, Q. D. Nguyen and P. A. Calabresi (2011). "Primary retinal pathology in multiple sclerosis as detected by optical coherence tomography." Brain **134**(Pt 2): 518-533.
92. Sanchez-Dalmau, B., E. H. Martinez-Lapiscina, R. Torres-Torres, S. Ortiz-Perez, I. Zubizarreta, I. V. Pulido-Valdeolivas, S. Alba-Arbalat, A. Guerrero-Zamora, D. Calbet and P. Villoslada (2017). "Early retinal atrophy predicts long-term visual impairment after acute optic neuritis." Mult Scler: 1352458517718628.
93. Seewann, A., H. Vrenken, E. J. Kooi, P. van der Valk, D. L. Knol, C. H. Polman, P. J. Pouwels, F. Barkhof and J. J. Geurts (2011). "Imaging the tip of the iceberg: visualization of cortical lesions in multiple sclerosis." Mult Scler **17**(10): 1202-1210.
94. Sellebjerg, F., D. Barnes, G. Filippini, R. Midgard, X. Montalban, P. Rieckmann, K. Selmaj, L. H. Visser, P. S. Sorensen and E. T. F. o. T. o. M. S. Relapses (2005).

- "EFNS guideline on treatment of multiple sclerosis relapses: report of an EFNS task force on treatment of multiple sclerosis relapses." Eur J Neurol **12**(12): 939-946.
95. Sharma, R., M. T. Fischer, J. Bauer, P. A. Felts, K. J. Smith, T. Misu, K. Fujihara, M. Bradl and H. Lassmann (2010). "Inflammation induced by innate immunity in the central nervous system leads to primary astrocyte dysfunction followed by demyelination." Acta Neuropathol **120**(2): 223-236.
 96. Schippling, S., L. Balk, F. Costello, P. Albrecht, L. Balcer, P. Calabresi, J. Frederiksen, E. Frohman, A. Green, A. Klistorner, O. Outteryck, F. Paul, G. Plant, G. Traber, P. Vermersch, P. Villoslada, S. Wolf and A. Petzold (2014). "Quality control for retinal OCT in multiple sclerosis: validation of the OSCAR-IB criteria." Mult Scler.
 97. Schneider, E., H. Zimmermann, T. Oberwahrenbrock, F. Kaufhold, E. M. Kadas, A. Petzold, F. Bilger, N. Borisow, S. Jarius, B. Wildemann, K. Ruprecht, A. U. Brandt and F. Paul (2013). "Optical Coherence Tomography Reveals Distinct Patterns of Retinal Damage in Neuromyelitis Optica and Multiple Sclerosis." PLoS One **8**(6): e66151.
 98. Scholl, G. B., H. S. Song and S. H. Wray (1991). "Uhthoff's symptom in optic neuritis: relationship to magnetic resonance imaging and development of multiple sclerosis." Ann Neurol **30**(2): 180-184.
 99. Schumacher, G. A., G. Beebe, R. F. Kibler, L. T. Kurland, J. F. Kurtzke, F. McDowell, B. Nagler, W. A. Sibley, W. W. Tourtellotte and T. L. Willmon (1965). "Problems of Experimental Trials of Therapy in Multiple Sclerosis: Report by the Panel on the Evaluation of Experimental Trials of Therapy in Multiple Sclerosis." Ann N Y Acad Sci **122**: 552-568.
 100. Smith, J. J., A. G. Sorensen and J. H. Thrall (2003). "Biomarkers in imaging: realizing radiology's future." Radiology **227**(3): 633-638.
 101. Sormani, M. P., L. Bonzano, L. Roccatagliata, G. R. Cutter, G. L. Mancardi and P. Bruzzi (2009). "Magnetic resonance imaging as a potential surrogate for relapses in multiple sclerosis: a meta-analytic approach." Ann Neurol **65**(3): 268-275.
 102. Sriram, S. and I. Steiner (2005). "Experimental allergic encephalomyelitis: a misleading model of multiple sclerosis." Ann Neurol **58**(6): 939-945.
 103. Talman, L. S., E. R. Bisker, D. J. Sackel, D. A. Long, Jr., K. M. Galetta, J. N. Ratchford, D. J. Lile, S. K. Farrell, M. J. Loguidice, G. Remington, A. Conger, T.

- C. Frohman, D. A. Jacobs, C. E. Markowitz, G. R. Cutter, G. S. Ying, Y. Dai, M. G. Maguire, S. L. Galetta, E. M. Frohman, P. A. Calabresi and L. J. Balcer (2010). "Longitudinal study of vision and retinal nerve fiber layer thickness in multiple sclerosis." Ann Neurol **67**(6): 749-760.
104. Tan, C. T., Z. Mao, W. Qiu, X. Hu, D. M. Wingerchuk and B. G. Weinshenker (2016). "International consensus diagnostic criteria for neuromyelitis optica spectrum disorders." Neurology **86**(5): 491-492.
105. Tawari, P., L. Balk, F. Costello, A. Green, R. Martin, S. Schippling and A. Petzold (2012). "The OSCAR-IB consensus criteria for retinal OCT quality assessment." PLoS One **7**(4): e34823.
106. Thompson, A. J., B. L. Banwell, F. Barkhof, W. M. Carroll, T. Coetzee, G. Comi, J. Correale, F. Fazekas, M. Filippi, M. S. Freedman, K. Fujihara, S. L. Galetta, H. P. Hartung, L. Kappos, F. D. Lublin, R. A. Marrie, A. E. Miller, D. H. Miller, X. Montalban, E. M. Mowry, P. S. Sorensen, M. Tintore, A. L. Traboulsee, M. Trojano, B. M. J. Uitdehaag, S. Vukusic, E. Waubant, B. G. Weinshenker, S. C. Reingold and J. A. Cohen (2018). "Diagnosis of multiple sclerosis: 2017 revisions of the McDonald criteria." Lancet Neurol **17**(2): 162-173.
107. Toussaint, D., O. Perier, A. Verstappen and S. Bervoets (1983). "Clinicopathological study of the visual pathways, eyes, and cerebral hemispheres in 32 cases of disseminated sclerosis." J Clin Neuroophthalmol **3**(3): 211-220.
108. Trapp, B. D., J. Peterson, R. M. Ransohoff, R. Rudick, S. Mork and L. Bo (1998). "Axonal transection in the lesions of multiple sclerosis." N Engl J Med **338**(5): 278-285.
109. Uher, T., J. Krásenský, L. Sobíšek, Z. Seidl, N. Bergsland, M. G. Dwyer, E. Kubala Havrdová, R. Zivadinov, D. Horaková and M. Vanečková (2018). "The Role of High-Frequency MRI Monitoring in the Detection of Brain Atrophy in Multiple Sclerosis." J Neuroimaging **28**(3): 328-337.
110. van Waesberghe, J. H., W. Kamphorst, C. J. De Groot, M. A. van Walderveen, J. A. Castelijns, R. Ravid, G. J. Lycklama a Nijeholt, P. van der Valk, C. H. Polman, A. J. Thompson and F. Barkhof (1999). "Axonal loss in multiple sclerosis lesions: magnetic resonance imaging insights into substrates of disability." Ann Neurol **46**(5): 747-754.
111. Varade, J., M. Garcia-Montojo, B. de la Hera, I. Camacho, M. A. Garcia-Martinez, R. Arroyo, R. Alvarez-Lafuente and E. Urcelay (2015). "Multiple sclerosis

- retrovirus-like envelope gene: Role of the chromosome 20 insertion." BBA Clin **3**: 162-167.
112. Wattjes, M. P., A. Rovira, D. Miller, T. A. Yousry, M. P. Sormani, M. P. de Stefano, M. Tintore, C. Auger, C. Tur, M. Filippi, M. A. Rocca, F. Fazekas, L. Kappos, C. Polman, B. Frederik, M. Xavier and M. s. group (2015). "Evidence-based guidelines: MAGNIMS consensus guidelines on the use of MRI in multiple sclerosis--establishing disease prognosis and monitoring patients." Nat Rev Neurol **11**(10): 597-606.
 113. Willoughby, E. W., E. Grochowski, D. K. Li, J. Oger, L. F. Kastrukoff and D. W. Paty (1989). "Serial magnetic resonance scanning in multiple sclerosis: a second prospective study in relapsing patients." Ann Neurol **25**(1): 43-49.
 114. Wingerchuk, D. M., V. A. Lennon, C. F. Lucchinetti, S. J. Pittock and B. G. Weinshenker (2007). "The spectrum of neuromyelitis optica." Lancet Neurol **6**(9): 805-815.
 115. Wingerchuk, D. M., V. A. Lennon, S. J. Pittock, C. F. Lucchinetti and B. G. Weinshenker (2006). "Revised diagnostic criteria for neuromyelitis optica." Neurology **66**(10): 1485-1489.
 116. Wojtkowski, M., R. Leitgeb, A. Kowalczyk, T. Bajraszewski and A. F. Fercher (2002). "In vivo human retinal imaging by Fourier domain optical coherence tomography." J Biomed Opt **7**(3): 457-463.
 117. Young, I. R., C. P. Randell, P. W. Kaplan, A. James, G. M. Bydder and R. E. Steiner (1983). "Nuclear magnetic resonance (NMR) imaging in white matter disease of the brain using spin-echo sequences." J Comput Assist Tomogr **7**(2): 290-294.
 118. Young, R. W. (1976). "Visual cells and the concept of renewal." Invest Ophthalmol Vis Sci **15**(9): 700-725.
 119. Zeka, B., H. Lassmann and M. Bradl (2017). "Muller cells and retinal axons can be primary targets in experimental neuromyelitis optica spectrum disorder." Clin Exp Neuroimmunol **8**(Suppl Suppl 1): 3-7.
 120. Zhang, P., R. Wang, Z. Li, Y. Wang, C. Gao, X. Lv, Y. Song and B. Li (2016). "The risk of smoking on multiple sclerosis: a meta-analysis based on 20,626 cases from case-control and cohort studies." PeerJ **4**: e1797.

121. Ziemssen, T., T. Derfuss, N. de Stefano, G. Giovannoni, F. Palavra, D. Tomic, T. Vollmer and S. Schippling (2016). "Optimizing treatment success in multiple sclerosis." J Neurol **263**(6): 1053-1065.
122. Zimmermann, H., A. Freing, F. Kaufhold, G. Gaede, E. Bohn, M. Bock, T. Oberwahrenbrock, K. L. Young, J. Dorr, J. T. Wuerfel, S. Schippling, F. Paul and A. U. Brandt (2013). "Optic neuritis interferes with optical coherence tomography and magnetic resonance imaging correlations." Mult Scler **19**(4): 443-450.

Identifikační záznam:

LÍZROVÁ PREININGEROVÁ, Jana. Optická koherenční tomografie u roztroušené sklerózy. [Optical coherence tomography in multiple sclerosis]. Praha, 2018. 118 s., 2 příl. Disertační práce (Ph.D.). Univerzita Karlova, 1. lékařská fakulta, Neurologická klinika a centrum klinických neurověd, Vedoucí práce Kubala Havrdová, Eva.

Seznam publikací autorky:

1. publikace in extenso, které jsou podkladem disertace

a) s IF (kumulativní IF: 28,85)

- **Lizrova Preiningerova, J.**, A. Grishko, L. Sobisek, M. Andelova, B. Benova, K. Kucerovala and E. Kubala Havrdova (2018). "Do eyes with and without optic neuritis in multiple sclerosis age equally? ." *Neuropsychiatric Disease and Treatment* accepted for publication May **2018** (article number 169638). **IF 2,198** (last published)
- Martinez-Lapiscina, E. H., S. Arnow, J. A. Wilson, S. Saidha, **J. L. Preiningerova**, T. Oberwahrenbrock, A. U. Brandt, L. E. Pablo, S. Guerrieri, I. Gonzalez, O. Outteryck, A. K. Mueller, P. Albrecht, W. Chan, S. Lukas, L. J. Balk, C. Fraser, J. L. Frederiksen, J. Resto, T. Frohman, C. Cordano, I. Zubizarreta, M. Andorra, B. Sanchez-Dalmau, A. Saiz, R. Bermel, A. Klistorner, A. Petzold, S. Schippling, F. Costello, O. Aktas, P. Vermersch, C. Oreja-Guevara, G. Comi, L. Leocani, E. Garcia-Martin, F. Paul, E. Havrdova, E. Frohman, L. J. Balcer, A. J. Green, P. A. Calabresi, P. Villoslada and I. consortium (**2016**). "Retinal thickness measured with optical coherence tomography and risk of disability worsening in multiple sclerosis: a cohort study." *Lancet Neurol* 15(6): 574-584. **IF 26,284**
- Matušková, V., **J. Lizrová Preiningerová**, D. Vysloužilová, M. Michalec, Z. Kasl and E. Vlková (**2016**). "Použití optické koherenční tomografie u roztroušené sklerózy." *Cesk Slov Neurol N* 79(1): 33-40. **IF 0,368**

b) bez IF (kapitoly do knihy)

- Kasl, Z., **J. Lizrova Preiningerova** and Š. Rusňák (2018). Použití optické koherentní tomografie v neurooftalmologické diagnostice. *Trendy soudobé oftalmologie*. P. Rozsival. 11: 83-101.
- **Lizrova Preiningerova, J.** (2013). Oftalmologické vyšetření včetně OCT nálezů u RS a NMO. *Roztroušená skleróza*. E. Havrdova. Praha, Mladá Fronta: 213 - 217.
- **Preiningerova, J.**, R. Bomprezzi, T. Vollmer and S. G. Waxman (2009). *Multiple Sclerosis*. eLS, Wiley Online Library.

2. publikace in extenso bez vztahu k tématu disertace

a) s IF (kumulativní IF: 72,7)

- **Preiningerova, J. L.** and M. Vachova (2017). "Daclizumab high-yield process in the treatment of relapsing-remitting multiple sclerosis." *Ther Adv Neurol Disord* 10(1): 67-75. **IF 4,192** (pro 2016)
- **Lizrová Preiningerová, J.**, K. Novotná, J. Ruzs, L. Suchá, E. Růžicka and E. Havrdová (2015). "Spatial and temporal characteristics of gait as outcome measures in multiple sclerosis (EDSS 0 to 6.5)." *Journal of neuroengineering and rehabilitation* 12(-): 14-14. **IF 3,516**

- **Preiningerova, J. L.**, U. Baumhackl, T. Csepany, A. Czaplinski, F. Deisenhammer, T. Derfuss, T. H. Fabjan, F. Fazekas, S. Fuchs, E. Havrdova, A. H. Ledinek, Z. Illes, S. S. Jazbec, E. Klimova, S. Komoly, E. Kurca, M. Linnebank, L. Lisy, J. Mares, L. Prochazkova, R. Csilla, J. Szilasiova, P. Stourac, R. Talab, P. Turcani, M. Vachova, L. Vecsei, D. Vodusek, O. Zapletalova and T. Berger (2013). "Recommendations for the use of prolonged-release fampridine in patients with multiple sclerosis (MS)." *CNS Neurosci Ther* 19(5): 302-306. **IF 3,931** (pro 2014)
- **Preiningerova, J.** (2009). "Oral laquinimod therapy in relapsing multiple sclerosis." *Expert Opin Investig Drugs* 18(7): 985-989. **IF 4,218**
- Kadrnozkova, L., M. Vaneckova, L. Sobisek, B. Benova, K. Kucerovala, J. Motyl, M. Andelova, K. Novotna, **J. Lizrova Preiningerova**, J. Krasensky, E. Havrdova, D. Horakova and T. Uher (2018). "Combining clinical and magnetic resonance imaging markers enhances prediction of 12-year employment status in multiple sclerosis patients." *J Neurol Sci* 388: 87-93. **IF 2,295**
- Crommelin, D. J., K. Broich, C. Holloway, B. Meesen, **J. Lizrova Preiningerova**, J. L. Prugnaud and B. Silva-Lima (2016). "The regulator's perspective: How should new therapies and follow-on products for MS be clinically evaluated in the future?" *Mult Scler* 22(2 Suppl): 47-59. **IF 4,840**
- Kopal, A., E. Mejzlikova, **J. L. Preiningerova**, D. Brebera, O. Ulmanova, E. Ehler and J. Roth (2015). "Changes of retina are not involved in the genesis of visual hallucinations in Parkinson's disease." *Parkinsons Dis* 2015: 709191. **IF 1,702**
- Waubant, E., D. Pelletier, M. Mass, J. A. Cohen, M. Kita, A. Cross, A. Bar-Or, T. Vollmer, M. Racke, O. Stuve, S. Schwid, A. Goodman, N. Kachuck, **J. Preiningerova**, B. Weinstock-Guttman, P. A. Calabresi, A. Miller, M. Mokhtarani, D. Ikle, S. Murphy, H. Kopetskie, L. Ding, E. Rosenberg, C. Spencer, S. S. Zamvil, I. T. N. S. S. Group and I. A. S. M. Team (2012). "Randomized controlled trial of atorvastatin in clinically isolated syndrome: the STAyCIS study." *Neurology* 78(15): 1171-1178. **IF 3,47**
- Ford, C., A. D. Goodman, K. Johnson, N. Kachuck, J. W. Lindsey, R. Lisak, C. Luzzio, L. Myers, H. Panitch, **J. Preiningerova**, A. Pruitt, J. Rose, H. Rus and J. Wolinsky (2010). "Continuous long-term immunomodulatory therapy in relapsing multiple sclerosis: results from the 15-year analysis of the US prospective open-label study of glatiramer acetate." *Mult Scler* 16(3): 342-350. **IF 4,230**
- Ding, Z., **J. Preiningerova**, C. J. Cannistraci, T. L. Vollmer, J. C. Gore and A. W. Anderson (2005). "Quantification of multiple sclerosis lesion load and brain tissue volumetry using multiparameter MRI: methodology and reproducibility." *Magn Reson Imaging* 23(3): 445-452. **IF 2,25**

- Vollmer, T., L. Key, V. Durkalski, W. Tyor, J. Corboy, S. Markovic-Plese, **J. Preiningerova**, M. Rizzo and I. Singh (2004). "Oral simvastatin treatment in relapsing-remitting multiple sclerosis." *Lancet* 363(9421): 1607-1608. **IF 28,6**
- Rizzo, M. A., O. C. Hadjimichael, **J. Preiningerova** and T. L. Vollmer (2004). "Prevalence and treatment of spasticity reported by multiple sclerosis patients." *Mult Scler* 10(5): 589-595. **IF 2,77**
- Vollmer, T. L., O. Hadjimichael, **J. Preiningerova**, W. Ni and J. Buenconsejo (2002). "Disability and treatment patterns of multiple sclerosis patients in United States: a comparison of veterans and nonveterans." *J Rehabil Res Dev* 39(2): 163-174. **IF 0,79**
- Kohama, I., K. L. Lankford, **J. Preiningerova**, F. A. White, T. L. Vollmer and J. D. Kocsis (2001). "Transplantation of cryopreserved adult human Schwann cells enhances axonal conduction in demyelinated spinal cord." *J Neurosci* 21(3): 944-950. **IF 5,92**