

# LINFOPENIA INDOTTA DA DIMETILFUMARATO NELLA SCLEROSI MULTIPLA:

## UNA REVISIONE DELLA LETTERATURA

a cura della Dott.ssa Caterina Russo

### TAKE HOME MESSAGE

- Il dimetilfumarato (DMF) è impiegato nel trattamento della sclerosi multipla ed è associato al rischio di una grave e sostenuta linfopenia;
- Durante la terapia con DMF è stata osservata una alterazione di alcuni sottotipi di cellule immunitarie;
- La conta dei linfociti, eseguita nella pratica clinica, permette di individuare precocemente la linfopenia e costituisce una strategia di minimizzazione del rischio.

### INTRODUZIONE

Il dimetilfumarato (DMF) è un farmaco di prima linea prescritto per via orale nel trattamento della sclerosi multipla (SM). Le più comuni reazioni avverse consistono in rossore/flushing e disturbi gastrointestinali, tuttavia sono anche noti episodi di prolungata linfopenia moderata-severa (conta linfocitaria inferiore a  $0.8 \times 10^9/L$  per oltre 6 mesi) e di leucoencefalopatia multifocale progressiva (PML), di incidenza relativamente bassa (Jordan et al., 2020). Tale farmaco esercita un'attività immunomodulante, determinando la riduzione di diversi componenti del sistema immunitario (SI).

Il DMF è l'estere dell'acido fumarico approvato (dall'FDA nel 2013 e dall'EMA nel 2014) nel trattamento di pazienti affetti da sclerosi multipla recidivante-remittente (SMRR). I risultati ottenuti da due studi clinici di fase 3 dimostrano l'efficacia di tale farmaco.

Lo studio "DEFINE" (Gold et al., 2012) riporta una riduzione del 50% del rischio relativo di ricaduta rispetto al placebo, in pazienti affetti da SM a cui è stato somministrato due o tre volte al giorno (nessuna differenza significativa è stata riscontrata tra i due diversi regimi di dosaggio) DMF alla dose di 240 mg per due anni. In particolare, il 60% dei pazienti esaminati in questo studio era naïve al trattamento farmacologico mentre il 40% era stato sottoposto a precedenti trattamenti a base di interferone beta (IFN $\beta$ ), glatiramer acetato (GA) e natalizumab. Sono stati valutati come *endpoint* l'evoluzione radiologica della malattia, il tasso di ricaduta annuale e la progressione della disabilità, tutti influenzati positivamente dal DMF.

Lo studio "CONFIRM" (Fox et al., 2012) mostra che il trattamento con DMF è in grado di ridurre significativamente il tasso di ricaduta annuale nei soggetti con SMRR rispetto al placebo. È stato constatato un miglioramento nel numero di nuove lesioni radiologiche e nella progressione della disabilità. La maggior

parte della popolazione di studio (maggiore del 70%) era naïve al trattamento e l'efficacia del DMF è stata simile o superiore a quella del GA, impiegato in comparazione.

Un ulteriore studio, "ENDORSE" (Gold et al., 2017), ha ampiamente confermato l'efficacia a lungo termine del DMF nel trattamento della SMRR. Gli esteri dell'acido fumarico (FAEs), come il DMF, sono stati impiegati anche nel trattamento della psoriasi (Mrowietz et al., 1998) ed il DMF rappresenta il composto più efficace (Altmeyer et al., 1994). Nel 2017, l'EMA ha approvato la prima formulazione orale gastroresistente di DMF per il trattamento di pazienti adulti con psoriasi moderata e grave (Brück et al., 2018). Secondo quanto emerso dagli studi clinici, il DMF presenta un profilo di sicurezza favorevole. Le più comuni reazioni avverse consistono in rossore e disturbi gastrointestinali, come diarrea, nausea e dolore addominale superiore (Gold et al., 2012; Fox et al., 2012). Un aumento transitorio dei livelli di transaminasi è stato osservato nel 6% dei soggetti arruolati nello studio DEFINE e nei soggetti trattati con monoetilfumarato (MEF) (Nieboer et al., 1989). La ricaduta risulta l'evento avverso di maggiore frequenza nelle terapie a lungo termine a base di DMF (Gold et al., 2017).

In questo studio è stata condotta una revisione della letteratura sulla linfopenia indotta dal DMF, allo scopo di individuare i soggetti a più alto rischio e ideare possibili strategie per minimizzare il verificarsi di questa reazione avversa.

## **METODOLOGIA DELLA RICERCA**

La ricerca della letteratura è stata condotta attraverso il database "PubMed". Sono stati selezionati 117 articoli, tra cui 17 casi di studio. Dei 100 articoli originali rimanenti, 66 riguardano l'uso del DMF nella SM e 34 nella psoriasi. Tra le 66 pubblicazioni sulla SM, 26 riportano informazioni epidemiologiche sulla linfopenia nella SMRR e 5 effettuano valutazioni sulle cellule del SI durante la terapia con DMF. Sono stati rilevati anche uno studio pediatrico (Makhani et al., 2016) e 2 studi relativi alla farmacogenetica (Gambichler et al., 2014; Gambichler et al., 2016). Tra i 34 studi sulla psoriasi, 15 riportano informazioni epidemiologiche sulla linfopenia durante il trattamento con FAEs o DMF nella psoriasi.

## **LINFOPENIA DA DMF NELLA SM**

Gli studi DEFINE e CONFIRM hanno riportato una riduzione della conta linfocitaria del 30% nei pazienti affetti da SM in terapia con DMF durante il primo anno di trattamento (Gold et al., 2012; Fox et al., 2012). Tuttavia, nel 5% dei pazienti è stata registrata una linfopenia grave (conta linfocitaria inferiore a  $0.5 \times 10^9/L$ ). Nello studio ENDORSE, riguardante l'impiego a lungo termine del DMF, è stata riportata un'augmentata incidenza di linfopenia grave (+6%) (Gold et al., 2017). È stato stimato che una linfopenia moderata-grave è associata ad un aumento dello 0.002% del rischio di PML (Gieselbach et al., 2017). Tuttavia, il rischio risulta basso se

paragonato a fingolimod (tre volte inferiore) e natalizumab (100 volte più basso) (Jordan et al., 2020). È stato anche ipotizzato che un'alterazione del microbiota intestinale provocata dal DMF possa aumentare il rischio di infezione (Perini et al., 2018). L'EMA raccomanda pertanto una valutazione completa dell'emocromo compresa la conta linfocitaria, prima di iniziare il trattamento con DMF, così da riconoscere i soggetti con basso numero di linfociti preesistente. È altresì raccomandato un monitoraggio ogni 3 mesi dall'inizio del trattamento con DMF e la sospensione dello stesso nei casi di linfopenia sostenuta e grave (conta linfocitaria inferiore a  $0.5 \times 10^9/L$  per oltre 6 mesi). Una ripresa della terapia con DMF è consigliabile solo dopo una fase di recupero e di monitoraggio dei livelli linfocitari.

I dati di una metanalisi relativi a 2513 soggetti affetti da SM e trattati con DMF riportano un'incidenza di linfopenia di grado 3 registrata per un periodo di oltre sei mesi del 2.2% (Fox et al., 2016). Uno studio condotto sugli stessi soggetti per un arco di tempo di 8 anni ha confermato questi dati (Mehta et al., 2019). Un'analisi preliminare riguardante una popolazione di studio di origine giapponese ha rilevato una linfopenia di grado 2 nel 6.1% dei soggetti dopo 6 mesi di trattamento con DMF mentre, una linfopenia di grado 3 è stata registrata nell'1.9% dei soggetti dopo 18 settimane di trattamento (Ochi et al. 2018). Ulteriori studi di *real-world* hanno valutato da un punto di vista epidemiologico la linfopenia nella SM. Uno di questi, condotto su 144 soggetti di cui 14 trattati con DMF ha evidenziato una linfopenia di grado 3 del 6%, che è aumentata sino al 28.6% per trattamenti superiori a 12 mesi (Longbrake & Cross, 2015). Ulteriori studi hanno messo in luce un tasso di linfopenia di grado 3 tra l'1 e il 7% ed una linfopenia di grado 4 (conta linfocitaria  $< 0.2 \times 10^9/L$ ) è stata riscontrata raramente con un tasso dello 0.2% (Baharnoori et al., 2018).

È stato osservato che i soggetti a più alto rischio di linfopenia grave e prolungata sembrano essere quelli con una rapida diminuzione dei linfociti nei primi 6 mesi di terapia (Fox et al., 2016). Una linfopenia grave si manifesta frequentemente nei soggetti con un numero di linfociti inferiore alla norma (Baharnoori et al., 2018; Longbrake et al. al., 2015) e per trattamenti superiori a 12 mesi (Longbrake & Cross, 2015; Longbrake et al., 2015). È stata anche osservata una correlazione tra la linfopenia da DMF ed età. La linfopenia è stata frequentemente diagnosticata nei soggetti di età pari o superiore a 55 anni (Mirabella et al., 2018) ed anche una precedente esposizione ad altre terapie aumenta il rischio di linfopenia da DMF. Infatti, risulta comune una linfopenia grave dopo una precedente esposizione a natalizumab (Longbrake et al., 2015). Sono stati valutati l'etnia e il genere come fattori di rischio per una grave linfopenia ed è stato rilevato che i soggetti di sesso femminile presentano minore probabilità di sviluppare la linfopenia rispetto agli uomini (Mirabella et al., 2018). Diversi studi hanno indicato che la linfopenia moderata e grave risulta sostenuta in fase di trattamento e reversibile al momento dell'interruzione del farmaco (Longbrake et al. 2015; Fox et al., 2016; Baharnoori et al., 2018). Tuttavia, l'età del soggetto, al momento della sospensione del DMF, può essere predittiva di un recupero tardivo dei linfociti (Briner et al., 2019).

## RISULTATI DI LABORATORIO

Diversi studi sono stati condotti per definire l'entità dei cambiamenti indotti dal DMF e per identificare le cellule immunitarie maggiormente influenzate dal farmaco (Dello Russo et al., 2020). Questi studi riguardano un piccolo numero di soggetti (meno di 50), ad eccezione di una grande analisi retrospettiva che include 256 soggetti (Khatri et al., 2015) e dimostrano che il trattamento con DMF nella SM è associato ad una riduzione della conta dei leucociti e dei linfociti rispetto alla norma (Spencer et al., 2015; Wu et al., 2017). La riduzione della conta dei linfociti è stata più marcata rispetto a quella dei leucociti. I soggetti trattati con DMF possono presentare un numero di linfociti inferiore alla norma nonostante un normale conteggio dei leucociti. Per altro, nei soggetti *non-responder* al trattamento con DMF è stata riportata una conta dei linfociti più alta rispetto ai *responder* (Carlström et al., 2019). Ciò suggerisce che la riduzione dei linfociti è rilevante per l'efficacia del farmaco.

Come riportato nella Tabella 1, dopo un periodo di oltre 12 mesi di terapia con DMF si registra una riduzione delle cellule T CD3<sup>+</sup> di circa il 50% ed una maggiore riduzione di cellule circolanti T CD8<sup>+</sup> rispetto alle CD4<sup>+</sup> (*ratio* CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> elevata). Inoltre, il DMF riduce i livelli pro-infiammatori di cellule T attivate CD69<sup>+</sup> ed aumenta costantemente i livelli di cellule T non attivate CD62<sup>low</sup>. Risulta anche ridotto il numero di cellule T della memoria, mentre si verifica l'espansione delle cellule T naïve, CD4<sup>+</sup> e CD8<sup>+</sup>. Gli effetti del DMF sulle cellule T helper (Th) non sono completamente chiariti. La maggior parte degli studi mostra una riduzione delle cellule Th1 e Th17 (Longbrake et al., 2016; Wu et al., 2017) ed un aumento delle cellule Th2 (Wu et al., 2017;), effetti tipici di un ambiente antinfiammatorio. Al contrario, lo studio di Marastoni e collaboratori (Marastoni et al., 2019) ha riportato un aumento della popolazione Th1 nei primi 6-12 mesi di terapia, una riduzione delle cellule Th17 a 6 mesi e un lieve aumento a 12-24 mesi. Molti studi hanno dimostrato una riduzione tra il 20-50% dei livelli di cellule T regolatorie (Treg) (Longbrake et al., 2016; Wu et al., 2017; Marastoni et al., 2019). Tuttavia, uno studio ha riportato un aumento del 24.6% di cellule Treg a 6 mesi di trattamento con DMF (Gross et al., 2015). Altre popolazioni di cellule immunitarie sono influenzate da DMF, le cellule B CD19<sup>+</sup> sembrano essere significativamente ridotte durante il trattamento, così come le cellule B CD80<sup>+</sup> e le cellule B della memoria. Al contrario, è stata evidenziata un'espansione di cellule B naïve dopo oltre 18 mesi dall'inizio del trattamento (Longbrake et al., 2018). I dati sulle cellule NK CD56<sup>+</sup> sono contrastanti. È stato osservato un aumento del numero di monociti circolanti dopo 3 mesi di terapia con DMF e riduzioni del 4-20% sono state registrate in tempi successivi. Inoltre, è stata rilevata una significativa *up-regulation* di geni coinvolti nella risposta allo stress ossidativo nei monociti CD14<sup>+</sup>, dopo 6 mesi di terapia con DMF. Questo ha suggerito che i monociti CD14<sup>+</sup> costituiscono un bersaglio cellulare "precoce" del DMF. In risposta al DMF è stata anche osservata una riduzione dei livelli di eosinofili, basofili e neutrofili.

**Tabella 1. Principali risultati di laboratorio di pazienti con SM dopo la somministrazione di DMF** (Dello Russo et al., 2020).

Tipologia di cellule immunitarie	Valutazioni di laboratorio condotte dopo tempistiche differenti dall'inizio della terapia con DMF; % cambiamento	
	≤ 6 mesi	≥ 12 mesi
Leucociti	- 1.3-25%	- 23.4%
Linfociti	- 15-31%	- 35-50.1%
Cellule T CD3 <sup>+</sup>	- 5.7-35%	- 44.2-54%
Cellule T CD4 <sup>+</sup>	- 8.8-49.6	- 16.2-44%
Cellule T CD8 <sup>+</sup>	- 19.4-57.5	- 47.6-77%
Cellule T attivate: CD69 <sup>+</sup> CD4 <sup>+/-</sup> CD62 <sup>low</sup> CD4 <sup>+</sup> CD62 <sup>low</sup> CD8 <sup>+</sup>	↓ + 9.1% + 14.7%	
Cellule T della memoria: CD45RO <sup>+</sup> CD4 <sup>+</sup> CD45RO <sup>+</sup> CD8 <sup>+</sup>	- 31.13% - 29.90%	
Cellule T naïve: (CD45RO <sup>-</sup> CD27 <sup>+</sup> ) CD4 <sup>+</sup> (CD45RO <sup>-</sup> CD27 <sup>+</sup> ) CD8 <sup>+</sup>	+ 19.26-81.43% + 18.26-41.44%	
Cellule CD4 <sup>+</sup> Th1 Th17 Th2	- 36.77-38.5% (o + 47%) - 21.4-45.5% + 21.1%	+ 61.7% + 5.3% + 37.5%
Cellule T <sub>reg</sub>	- 19.6-52.7% (o + 24.6%)	- 50.0%
Cellule B CD19 <sup>+</sup>	- 15.7-49.8%	- 37.5-57%
Cellule B attivate CD80 <sup>+</sup>		↓
Cellule B della memoria (CD27 <sup>+</sup> )	- 52.6%	- 59%
Cellule B naïve		↑
Cellule NK CD56 <sup>+</sup>	+ 18.9-41.7% (o - 19.5%)	+ 75.3% (o -24.6%)
Monociti	+ 8.2%	- 4-20%
Eosinofili	- 11.8-50% (o + 15.3%)	- 54.1%
Basofili	- 39.5% (o + 18.4%)	- 21.1%
Neutrofili	- 15.9% (o +9-10.6%)	- 10.1%

## LINFOPENIA DA DMF NELLA PSORIASI

L'impiego della miscela di esteri dell'acido fumarico (FAEs) per il trattamento della psoriasi è stato associato ad una riduzione dei linfociti dovuta probabilmente alla presenza del DMF (Nieboer et al., 1989). Questa linfopenia è risultata reversibile alla sospensione del farmaco. Uno studio clinico randomizzato controllato e uno studio prospettico multicentrico (Altmeyer et al., 1994; Mrowietz et al., 1998) hanno evidenziato il profilo di sicurezza segnalando come comuni effetti collaterali i disturbi gastrointestinali e le vampate di calore. Nel secondo studio è stata rilevata una riduzione del numero di linfociti nel 9.9% dei soggetti trattati con la miscela per 4 mesi. Trattamenti prolungati a base di FAEs hanno ridotto il numero di linfociti nel 41-63% dei soggetti trattati (Thaçi et al., 2013). Inoltre, nella psoriasi è stato evidenziato un maggiore rischio di PML. L'incidenza di linfopenia grave sembra essere più alta tra le persone affette da psoriasi che da SM (Wain et

al., 2010), in quanto sono somministrate dosi più elevate di DMF per periodi di tempo più lunghi rispetto al DMF impiegato nel trattamento della SM.

Tuttavia, nella psoriasi la linfopenia è stata più comunemente riscontrata nei soggetti anziani e affetti da leucopenia o linfopenia all'inizio del trattamento (Dickel et al., 2019).

Gli effetti benefici della miscela di esteri dell'acido fumarico nella psoriasi e nella SM sono dovuti ad un effetto di modulazione del sistema immunitario (Mills et al., 2018). Nella SM, cambiamenti a livello delle cellule immunitarie determinati dalla malattia (riduzione dei linfociti T CD8<sup>+</sup> e linfociti B CD19<sup>+</sup>) possono condizionare la risposta al DMF (Fleischer et al., 2018). Al contrario, la linfopenia è associata ad una risposta al farmaco nella psoriasi, ed è stata osservata in un gruppo di soggetti trattati con DMF (van Hezik & Bovenschen, 2019). Uno studio osservazionale retrospettivo riguardante 371 soggetti con psoriasi ha evidenziato un miglioramento delle lesioni cutanee nei soggetti con basso numero di cellule T, CD4<sup>+</sup> e CD8<sup>+</sup>, inferiore a  $0.2 \times 10^9/L$  e  $0.14 \times 10^9/L$  rispettivamente (Dickel et al., 2019).

## **RISULTATI DI LABORATORIO**

I dati relativi ai cambiamenti delle cellule immunitarie dopo il trattamento con FAEs nella psoriasi sono coerenti con quanto osservato nella SM. Sono state evidenziate riduzioni dei linfociti e dei leucociti, delle cellule T soppressorie (Ts) che portano ad aumenti significativi del rapporto Th/Ts (equivalente al rapporto CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup>). Sono stati rilevati anche livelli di linfociti B ridotti, una diminuzione del numero di cellule T CD3<sup>+</sup> e CD8<sup>+</sup>, di cellule T attivate, di cellule B ed NK.

## **CONCLUSIONI**

In conclusione, il DMF svolge complesse azioni immunomodulanti tra cui, una riduzione dei diversi componenti del sistema immunitario.

Complessivamente determina:

- ✓ un depauperamento delle cellule T della memoria (principali cellule T autoreattive nella SM);
- ✓ una diminuzione delle cellule T attivate (che sostengono il processo infiammatorio);
- ✓ un'espansione delle cellule T naïve;
- ✓ analoghi cambiamenti della componente cellulare B.

Tuttavia, non è chiaro il motivo per cui alcuni soggetti sviluppano una grave e prolungata linfopenia dopo trattamento con DMF. I soggetti linfopenici sono di solito più anziani e presentano una minore conta basale di leucociti rispetto ai non linfopenici.

La tossicità del DMF sembra essere tempo e dose-dipendente, con maggiori riduzioni dei linfociti osservate per trattamenti prolungati e nei soggetti affetti da psoriasi e trattati alle dosi più elevate di FAEs.

Nei soggetti linfopenici si evidenziano marcate riduzioni di cellule T CD8<sup>+</sup>, le più sensibili al DMF.

Il monitoraggio della conta dei linfociti rimane attualmente la migliore strategia per limitare la tossicità dei farmaci ed identificare i soggetti a più alto rischio di sviluppare una grave linfopenia.

## **BIBLIOGRAFIA**

- Altmeyer, P. J., Matthes, U., Pawlak, F., Hoffmann, K., Frosch, P. J., Ruppert, P., ... & Lutz, G. (1994). Antipsoriatic effect of fumaric acid derivatives. Results of a multicenter double-blind study in 100 patients. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 30(6), 977-981.
- Baharmoori, M., Gonzalez, C. T., Chua, A., Diaz-Cruz, C., Healy, B. C., Stankiewicz, J., ... & Chitnis, T. (2018). Predictors of hematological abnormalities in multiple sclerosis patients treated with fingolimod and dimethyl fumarate and impact of treatment switch on lymphocyte and leukocyte count. *Multiple sclerosis and related disorders*, 20, 51-57.
- Blewett, M. M., Xie, J., Zaro, B. W., Backus, K. M., Altman, A., Teijaro, J. R., & Cravatt, B. F. (2016). Chemical proteomic map of dimethyl fumarate-sensitive cysteines in primary human T cells. *Science signaling*, 9(445), rs10-rs10.
- Briner, M., Bagnoud, M., Miclea, A., Friedli, C., Diem, L., Chan, A., ... & Salmen, A. (2019). Time course of lymphocyte repopulation after dimethyl fumarate-induced grade 3 lymphopenia: contribution of patient age. *Therapeutic advances in neurological disorders*, 12, 1756286419843450.
- Brück, J., Dringen, R., Amasuno, A., Pau-Charles, I., & Ghoreschi, K. (2018). A review of the mechanisms of action of dimethylfumarate in the treatment of psoriasis. *Experimental dermatology*, 27(6), 611-624.
- Carlström, K. E., Ewing, E., Granqvist, M., Gyllenberg, A., Aeinehband, S., Enoksson, S. L., ... & Gustafsson, M. (2019). Therapeutic efficacy of dimethyl fumarate in relapsing-remitting multiple sclerosis associates with ROS pathway in monocytes. *Nature communications*, 10(1), 1-13.
- Dello Russo, C., Scott, K. A., Pirmohamed, M. (2020). Dimethyl fumarate induced lymphopenia in multiple sclerosis: A review of the literature. *Pharmacology and Therapeutics*, 20, 107710.
- Dickel, H., Bruckner, T., Höxtermann, S., Dickel, B., Trinder, E., & Altmeyer, P. (2019). Fumaric acid ester-induced T-cell lymphopenia in the real-life treatment of psoriasis. *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology*, 33(5), 893-905.
- Fleischer, V., Friedrich, M., Rezk, A., Bühler, U., Witsch, E., Uphaus, T., ... & Zipp, F. (2018). Treatment response to dimethyl fumarate is characterized by disproportionate CD8+ T cell reduction in MS. *Multiple Sclerosis Journal*, 24(5), 632-641.
- Fox, R. J., Chan, A., Gold, R., Phillips, J. T., Selmaj, K., Chang, I., ... & Marantz, J. L. (2016). Characterizing absolute lymphocyte count profiles in dimethyl fumarate-treated patients with MS: Patient management considerations. *Neurology: Clinical Practice*, 6(3), 220-229.
- Fox, R. J., Miller, D. H., Phillips, J. T., Hutchinson, M., Havrdova, E., Kita, M., ... & Vigiotta, V. (2012). Placebo-controlled phase 3 study of oral BG-12 or glatiramer in multiple sclerosis. *New England Journal of Medicine*, 367(12), 1087-1097.
- Gambichler, T., Kreuter, A., Susok, L., Skrygan, M., Rotterdam, S., Höxtermann, S., ... & Lahner, N. (2014). Glutathione-S-transferase T1 genotyping and phenotyping in psoriasis patients receiving treatment with oral fumaric acid esters. *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology*, 28(5), 574-580.
- Gambichler, T., Susok, L., Zankl, J., & Skrygan, M. (2016). Val/Val glutathione-S-transferase P1 polymorphism predicts nonresponders in psoriasis patients treated with fumaric acid esters. *Pharmacogenetics and genomics*, 26(5), 248-253.
- Gerdes, S., Shakery, K., & Mrowietz, U. (2007). Dimethylfumarate inhibits nuclear binding of nuclear factor  $\kappa$ B but not of nuclear factor of activated T cells and CCAAT/enhancer binding protein  $\beta$  in activated human T cells. *British Journal of Dermatology*, 156(5), 838-842.

- Gieselbach, R. J., Muller-Hansma, A. H., Wijburg, M. T., de Bruin-Weller, M. S., van Oosten, B. W., Nieuwkamp, D. J., ... & Murk, J. L. (2017). Progressive multifocal leukoencephalopathy in patients treated with fumaric acid esters: a review of 19 cases. *Journal of neurology*, 264(6), 1155-1164.
- Gold, R., Arnold, D. L., Bar-Or, A., Hutchinson, M., Kappos, L., Havrdova, E., ... & Sweetser, M. T. (2017). Long-term effects of delayed-release dimethyl fumarate in multiple sclerosis: interim analysis of ENDORSE, a randomized extension study. *Multiple sclerosis journal*, 23(2), 253-265.
- Gold, R., Kappos, L., Arnold, D. L., Bar-Or, A., Giovannoni, G., Selmaj, K., ... & Dawson, K. T. (2012). Placebo-controlled phase 3 study of oral BG-12 for relapsing multiple sclerosis. *New England Journal of Medicine*, 367(12), 1098-1107.
- Gross, C. C., Schulte-Mecklenbeck, A., Klinsing, S., Posevitz-Fejfar, A., Wiendl, H., & Klotz, L. (2016). Dimethyl fumarate treatment alters circulating T helper cell subsets in multiple sclerosis. *NeurologyNeuroimmunology Neuroinflammation*, 3(1), e183.
- Gupta, S., Young, T., Yel, L., Su, H., & Gollapudi, S. (2007). Differential sensitivity of naïve and subsets of memory CD4+ and CD8+ T cells to hydrogen peroxide-induced apoptosis. *Genes & Immunity*, 8(7), 560-569.
- Jordan, A. L., Yang, J., Fisher, C. J., Racke, M. K., & Mao-Draayer, Y. (2020). Progressive multifocal leukoencephalopathy in dimethyl fumarate-treated multiple sclerosis patients. *Multiple sclerosis (Houndmills, Basingstoke, England)*, 1352458520949158. Advance online publication.
- Katz Sand, I., Zhu, Y., Ntranos, A., Clemente, J. C., Cekanaviciute, E., Brandstadter, R., ... & Knight, R. (2019). Disease-modifying therapies alter gut microbial composition in MS. *NeurologyNeuroimmunology Neuroinflammation*, 6(1), e517.
- Khatri, B. O., Garland, J., Berger, J., Kramer, J., Sershon, L., Olapo, T., ... & Rehn, E. (2015). The effect of dimethyl fumarate (Tecfidera™) on lymphocyte counts: a potential contributor to progressive multifocal leukoencephalopathy risk. *Multiple sclerosis and related disorders*, 4(4), 377-379.
- Kornberg, M. D., Bhargava, P., Kim, P. M., Putluri, V., Snowman, A. M., Putluri, N., ... & Snyder, S. H. (2018). Dimethyl fumarate targets GAPDH and aerobic glycolysis to modulate immunity. *Science*, 360(6387), 449-453.
- Lehmann, J. C., Listopad, J. J., Rentzsch, C. U., Igney, F. H., von Bonin, A., Hennekes, H. H., ... & Docke, W. D. F. (2007). Dimethylfumarate induces immunosuppression via glutathione depletion and subsequent induction of heme oxygenase 1. *Journal of Investigative Dermatology*, 127(4), 835-845.
- Linden, J. R., Ma, Y., Zhao, B., Harris, J. M., Rumah, K. R., Schaeren-Wiemers, N., & Vartanian, T. (2015). Clostridium perfringens epsilon toxin causes selective death of mature oligodendrocytes and central nervous system demyelination. *MBio*, 6(3), e02513-14.
- Linker, R. A., Lee, D. H., Ryan, S., van Dam, A. M., Conrad, R., Bista, P., ... & Ellrichmann, G. (2011). Fumaric acid esters exert neuroprotective effects in neuroinflammation via activation of the Nrf2 antioxidant pathway. *Brain*, 134(3), 678-692.
- Longbrake, E. E., & Cross, A. H. (2015). Dimethyl fumarate associated lymphopenia in clinical practice. *Mult Scler*, 21(6), 796-797.
- Longbrake, E. E., Cantoni, C., Chahin, S., Cignarella, F., Cross, A. H., & Piccio, L. (2018). Dimethyl fumarate induces changes in B-and T-lymphocyte function independent of the effects on absolute lymphocyte count. *Multiple Sclerosis Journal*, 24(6), 728-738.

- Longbrake, E. E., Mao-Draayer, Y., Cascione, M., Zielinski, T., Bame, E., Brassat, D., Chen, C., Kapadia, S., Mendoza, J. P., Miller, C., Parks, B., Xing, D., & Robertson, D. (2020). Dimethyl fumarate treatment shifts the immune environment toward an anti-inflammatory cell profile while maintaining protective humoral immunity. *Multiple sclerosis (Houndmills, Basingstoke, England)*, 1352458520937282. Advance online publication.
- Longbrake, E. E., Naismith, R. T., Parks, B. J., Wu, G. F., & Cross, A. H. (2015). Dimethyl fumarate-associated lymphopenia: risk factors and clinical significance. *Multiple Sclerosis Journal—Experimental, Translational and Clinical*, 1, 2055217315596994.
- Makhani, N., & Schreiner, T. (2016). Oral dimethyl fumarate in children with multiple sclerosis: a dual-center study. *Pediatric neurology*, 57, 101-104.
- Marastoni, D., Buriani, A., Pisani, A. I., Crescenzo, F., Zuco, C., Fortinguerra, S., ... & Monaco, S. (2019). Increased NK cell count in multiple sclerosis patients treated with dimethyl fumarate: a 2-year longitudinal study. *Frontiers in immunology*, 10, 1666.
- Mehta, D., Miller, C., Arnold, D. L., Bame, E., Bar-Or, A., Gold, R., ... & Phillips, J. T. (2019). Effect of dimethyl fumarate on lymphocytes in RRMS: Implications for clinical practice. *Neurology*, 92(15), e1724-e1738.
- Mills, E. A., Ogradnik, M. A., Plave, A., & Mao-Draayer, Y. (2018). Emerging understanding of the mechanism of action for dimethyl fumarate in the treatment of multiple sclerosis. *Frontiers in neurology*, 9, 5.
- Mirabella, M., Prosperini, L., Lucchini, M., Boffa, L., Borriello, G., Buscarinu, M. C., ... & Elia, G. (2018). Safety and efficacy of dimethyl fumarate in multiple sclerosis: an Italian, multicenter, real-world study. *CNS drugs*, 32(10), 963-970.
- Miyake, S., Kim, S., Suda, W., Oshima, K., Nakamura, M., Matsuoka, T., ... & Morita, H. (2015). Dysbiosis in the gut microbiota of patients with multiple sclerosis, with a striking depletion of species belonging to clostridia XIVa and IV clusters. *PLoS one*, 10(9).
- Mohan, S., & Gupta, D. (2018). Crosstalk of toll-like receptors signaling and Nrf2 pathway for regulation of inflammation. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 108, 1866-1878.
- Mrowietz, U., Christophers, E., & Altmeyer, P. (1998). Treatment of psoriasis with fumaric acid esters: results of a prospective multicentre study. *British Journal of Dermatology*, 138(3), 456-460.
- Mrowietz, U., Morrison, P. J., Suhrkamp, I., Kumanova, M., & Clement, B. (2018). The pharmacokinetics of fumaric acid esters reveal their *in vivo* effects. *Trends in pharmacological sciences*, 39(1), 1-12.
- Nieboer, C., De Hoop, D., Van Loenen, A. C., Langendijk, P. N. J., & Van Dijk, E. (1989). Systemic therapy with fumaric acid derivatives: new possibilities in the treatment of psoriasis. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 20(4), 601-608.
- Ochi, H., Niino, M., Onizuka, Y., Hiramatsu, K., Hase, M., Yun, J., ... & Torii, S. (2018). 72-week safety and tolerability of dimethyl fumarate in Japanese patients with relapsing-remitting multiple sclerosis: Analysis of the randomised, double blind, placebo-controlled, phase III APEX study and its open-label extension. *Advances in therapy*, 35(10), 1598-1611.
- Perini, P., Rinaldi, F., Puthenparampil, M., Marcon, M., Perini, F., & Gallo, P. (2018). Herpes simplex virus encephalitis temporally associated with dimethyl fumarate-induced lymphopenia in a multiple sclerosis patient. *Multiple sclerosis and related disorders*, 26, 68-70.
- Qu, X., Tang, Y., & Hua, S. (2018). Immunological approaches towards cancer and inflammation: a cross talk. *Frontiers in immunology*, 9, 563.

- Rostami-Yazdi, M., Clement, B., & Mrowietz, U. (2010). Pharmacokinetics of anti-psoriatic fumaric acid esters in psoriasis patients. *Archives of dermatological research*, 302(7), 531-538.
- Rumah, K. R., Vartanian, T. K., & Fischetti, V. A. (2017). Oral multiple sclerosis drugs inhibit the in vitro growth of epsilon toxin producing gut bacterium, *Clostridium perfringens*. *Frontiers in cellular and infection microbiology*, 7, 11.
- Sauma, S., & Casaccia, P. (2020). Gut-brain communication in demyelinating disorders. *Current Opinion in Neurobiology*, 62, 92-101.
- Sheikh, S. I., Nestorov, I., Russell, H., O’Gorman, J., Huang, R., Milne, G. L., ... & Dawson, K. T. (2013). Tolerability and pharmacokinetics of delayed-release dimethyl fumarate administered with and without aspirin in healthy volunteers. *Clinical therapeutics*, 35(10), 1582-1594.
- Spencer, C. M., Crabtree-Hartman, E. C., Lehmann-Horn, K., Cree, B. A., & Zamvil, S. S. (2015). Reduction of CD8+ T lymphocytes in multiple sclerosis patients treated with dimethyl fumarate. *Neurology-Neuroimmunology Neuroinflammation*, 2(3), e76.
- Thaçi, D., Weisenseel, P., Philipp, S., Rosenbach, T., Rotterdam, S., Augustin, M., ... & Reich, K. (2013). Efficacy and safety of fumaric acid esters in patients with psoriasis on medication for comorbid conditions—a retrospective evaluation (FACTS). *JDDG: Journal der Deutschen Dermatologischen Gesellschaft*, 11(5), 429-435.
- van Hezik, D. F. C., & Bovenschen, H. J. (2019). Association of lymphopenia and eosinophilia with dimethylfumarate treatment efficacy and tolerability in psoriasis: a retrospective study. *Journal of Dermatological Treatment*, 1-4.
- von Glehn, F., Dias-Carneiro, R. P., Moraes, A. S., Farias, A. S., Silva, V. A., Oliveira, F. T., ... & Santos, L. M. (2018). Dimethyl fumarate downregulates the immune response through the HCA2/GPR109A pathway: implications for the treatment of multiple sclerosis. *Multiple sclerosis and related disorders*, 23, 46-50.
- Wain, E. M., Darling, M. I., Pleass, R. D., Barker, J. N. W. N., & Smith, C. H. (2010). Treatment of severe, recalcitrant, chronic plaque psoriasis with fumaric acid esters: a prospective study. *British Journal of Dermatology*, 162(2), 427-434.
- Wu, Q., Wang, Q., Mao, G., Dowling, C. A., Lundy, S. K., & Mao-Draayer, Y. (2017). Dimethyl fumarate selectively reduces memory T cells and shifts the balance between Th1/Th17 and Th2 in multiple sclerosis patients. *The Journal of Immunology*, 198(8), 3069-3080.