

## DESENVOLVIMENTO DE LEUCOENCEFALOPATIA MULTIFOCAL PROGRESSIVA ASSOCIADO AO USO DE ANTICORPO MONOCLONAL NO TRATAMENTO DA ESCLEROSE MÚLTIPLA

Juliana Araújo Ferreira<sup>1</sup>, Felipe Mactavisch da Cruz<sup>2</sup>

### Resumo

A Leucoencefalopatia Multifocal Progressiva (LEMP) é uma rara doença desmielinizante do Sistema Nervoso Central (SNC), causada pela reativação do vírus John Cunningham (VJC), que pode reativar em um ambiente de imunossupressão celular, se espalhar e levar a uma infecção dos oligodendrócitos e consequente desmielinização. Recentemente, foi descrito casos de LEMP em indivíduos com doenças autoimunes, como Esclerose Múltipla (EM) em tratamento com anticorpos monoclonais (mAb). A EM é a patologia desmielinizante mais comum do SNC, e nos últimos anos foram desenvolvidas terapias que permitiram o controle de recaídas clínicas. Dentre elas, destaca-se o Natalizumab, um mAb, responsável por impedir a adesão e a migração de linfócitos T ativados para o SNC. O Natalizumab obteve muitos êxitos no controle da fase inflamatória da doença, mas veio com riscos associados. Casos fatais de LEMP relacionados com infecção por VJC foram descritos durante o tratamento. O desenvolvimento desse novo fármaco trouxe uma melhora significativa nos casos de EM, mas ainda assim há necessidade de se fazer uma investigação sobre o histórico médico dos pacientes com esclerose múltipla, verificar a positividade para o VJC, avaliar e informar sobre o risco/ benefício de tratamento com Natalizumab. Evitando, dessa forma, expor os pacientes com EM ao risco de desenvolverem LEMP, uma doença progressiva e que pode ser fatal. Esta revisão bibliográfica tem como objetivo reunir dados para compreender a relação e os riscos associados entre o uso de Natalizumab e o desenvolvimento da LEMP.

**Palavras-chave:** Leucoencefalopatia Multifocal Progressiva, Esclerose Múltipla, Natalizumab, Virus John Cunningham

## DEVELOPMENT OF PROGRESSIVE MULTIFOCAL LEUCOENCEPHALOPATHY ASSOCIATED WITH THE USE OF MONOCLONAL ANTIBODY IN THE TREATMENT OF MULTIPLE SCLEROSIS

### Abstract

The progressive multifocal leukoencephalopathy (PML) is a rare demyelinating disease of the central nervous system (CNS) caused by reactivation of the John Cunningham virus (VJC), which can reactivate in a cell immunosuppression environment, spread and lead to an infection of oligodendrocytes and subsequent demyelination. Recently, it was reported cases of PML in patients with autoimmune diseases such as Multiple Sclerosis (MS) on treatment with monoclonal antibodies (mAbs). MS is the most common demyelinating disorder of the CNS, and in recent years therapies were developed that allowed control of clinical relapse. Among them, there is Natalizumab, a mAb, responsible for preventing the adhesion and migration of activated T lymphocytes into the CNS. The Natalizumab achieved many successes in controlling the inflammatory phase of the disease, but it came with associated risks. fatal cases of PML related to infection by VJC were reported during treatment. The development of this new drug brought a significant improvement in cases of MS, but still no need to make an investigation into the medical history of patients with multiple sclerosis,

<sup>1</sup> Doutor em Ciências (Microbiologia) pela Universidade Federal do Rio de Janeiro.

<sup>2</sup> Discente do Curso de Biomedicina do UGB/FERP

check positivity for VJC, assess and report on the risk / benefit treatment with Natalizumab. Avoiding thereby exposing MS patients at risk of developing PML, and a progressive disease which can be fatal. This literature review aims to gather data to understand the relationship and the risks of the use of Natalizumab and the development of PML.

**Keywords:** progressive multifocal leukoencephalopathy, multiple sclerosis, Natalizumab, John Cunningham Virus

## Introdução

A Leucoencefalopatia Multifocal Progressiva (LEMP) é uma rara doença desmielinizante do Sistema Nervoso Central (SNC), causada pela reativação do vírus John Cunningham (VJC), que pode ocorrer em um ambiente de imunossupressão celular. Este vírus pode infectar oligodendrócitos, levando à citada desmielinização. Recentemente, foi descrito casos de LEMP em pacientes com doenças autoimunes como Esclerose Múltipla (EM) em tratamento com anticorpos monoclonais (mAb - *Monoclonal Antibodies*) (FONSECA, 2006; LIMA, 2013).

A EM é a patologia desmielinizante autoimune mais comum do SNC em que a maioria dos pacientes não tratados desenvolve um padrão de agravamento progressivo que leva ao comprometimento físico e mental, os quais trazem impactos sociais aos pacientes e a seus familiares (DA SILVA, NASCIMENTO, 2014; KORNEK, 2015).

Em 2005, passou a ser comercializado um novo medicamento para tratamento da EM, o *Natalizumab* responsável por impedir a adesão e a migração de linfócitos T ativados para o SNC, inibindo, assim, a citada patologia desmielinizante autoimune. Este medicamento teve muito êxito em pacientes com EM, porém não veio sem riscos associados. Há relatos de casos de LEMP fatais em pacientes com EM tratados com *Natalizumab*. Embora esta terapia seja eficaz para a sua utilização pretendida, a incidência da LEMP, uma doença fatal sem tratamento aprovado, limita a sua utilização (FERENCZY et al, 2012; DE SÁ, 2014).

Sendo assim, esta revisão bibliográfica tem como objetivo reunir dados para compreender a relação e os riscos associados entre o uso de *Natalizumab* e o desenvolvimento da LEMP.

### **Vírus *John Cunningham* e Leucoencefalopatia Multifocal Progressiva**

O vírus *John Cunningham* (VJC) é um poliomavírus humano com uma cadeia dupla de DNA circular (RAMIREZ, PALACIO, 2013). Sua prevalência é estimada em 80% na população mundial, sendo considerado ubíquo em todo o mundo (NALI et al, 2014). É responsável por produzir infecções assintomáticas na infância, podendo permanecer latente principalmente nos rins e órgãos linfóides, no entanto, a imunidade humoral é suficiente para prevenir a disseminação do vírus ao SNC. Apenas quando há um ambiente de imunossupressão, o VJC pode ser replicado de forma que cause no indivíduo o desenvolvimento da doença conhecida como LEMP (GOULD et al, 2005; FERNANDEZ, 2010; SORENSEN et al, 2012; RAMIREZ, PALACIO, 2013).

Há um certo tropismo celular do vírus. Provavelmente, o vírus entra no corpo através da transmissão respiratória, sendo o tecido tonsilar o potencial local para a infecção inicial. Uma vez dentro do SNC, o VJC destrói seletivamente os oligodendrócitos, iniciando um processo de desmielinização da substância branca cerebral (FERNANDEZ, 2010).

Segundo Fonseca (2006), LEMP é uma doença descrita na literatura como uma complicação em determinadas condições que afetam o sistema imune celular e se caracteriza por múltiplos focos de desmielinização causada pela infecção lítica dos oligodendrócitos.

Segundo Hatchwell (2015), parece haver três principais critérios para que ocorra LEMP: (1) a presença do VJC; (2) a presença de algum tipo de imunossupressão celular, seja devido à doença sistêmica subjacente ou o tratamento com imunossupressores; (3) a genética do hospedeiro em relação à suscetibilidade de desenvolver LEMP;

Os sintomas da LEMP são geralmente insidiosos no início, os pacientes apresentam um déficit neurológico multifocal, juntamente com um comprometimento cognitivo. Afeta principalmente a mielina dos lobos parietal e occipital, o que explica os distúrbios visuais e a apraxia como os sintomas mais frequentes, além de também apresentar problemas motores.

Os sintomas continuam a progredir gradualmente ao longo de dias e semanas. A LEMP é

geralmente fatal dentro de um ano após o início dos sintomas. Não há atualmente nenhuma terapia específica, e as abordagens de tratamento primário dependem de reconstituição da própria resposta imune do paciente (FERNANDEZ et al, 2010; FERENCZY et al, 2012; CHEN, 2015).

A LEMP continua a ser uma doença rara, embora importante por causa das sequelas clínicas e da associação recente com uma variedade de terapias úteis, como o *Natalizumab* para EM (HATCHWELL, 2015).

### **Esclerose Múltipla X Natalizumab**

A EM é uma doença crônica progressiva caracterizada por episódios agudos de desmielinização, transação axonal, e neurodegeneração progressiva do SNC, que conduz a incapacidade a longo prazo e afeta cerca de 2,5 milhões de pessoas em todo o mundo (RUBIN, 2013; DE SÁ, 2014; HOEPNER et al, 2014).

A faixa etária para o desenvolvimento inicial da EM é ampla (20-40 anos de idade), mas geralmente acontece no início da idade adulta. Não existem sintomas característicos da EM, eles variam de paciente a paciente, de acordo com a área de desmielinização acometida e evolução da doença. Em cerca de 85-90% das pessoas com EM ocorrem recaídas e remissões dos sintomas neurológicos, principalmente no início da doença (ALVES et al, 2014; DA SILVA, NASCIMENTO, 2014; KORNEK, 2015).

Segundo Ferreira (2014), tendo como referência os últimos 5 anos, o desenvolvimento de novas drogas para o tratamento da EM tornou-se complexo pois vários aspectos devem ser considerados na escolha da gestão da terapêutica, como o uso prévio de imunossupressores, tempo de tratamento e, mais recentemente, carga viral.

A maior alteração ao longo dos últimos 20 anos no tratamento da EM tem sido o desenvolvimento de medicamentos modificadores da doença em sua evolução, reduzindo o risco de recaídas e outras progressões (PRICE, 2009; RUBIN, 2013)

O *Natalizumab* foi aprovado pela *Food and Drug Administration* (FDA) em 2005 como mais um medicamento para o tratamento da EM. Entretanto, o desenvolvimento de LEMP como um efeito colateral dessa terapia imunomoduladora vem sendo uma preocupação crescente para pacientes com EM (FERENCZY et al, 2012; DE SÁ, 2014). Este imunomodulador é um mAb dirigido para a integrina  $\alpha 4\beta 1$  e  $\alpha 4\beta 7$ , subunidades de uma molécula de adesão expressa na superfície de linfócitos T. Ele bloqueia a associação dessas integrinas com receptores vasculares, o que impede a migração de linfócitos T do sangue para o SNC através da barreira hematoencefálica, atenuando os efeitos inflamatórios autoimunes e se mostrando eficaz no combate a EM (DEMASTERS, 2005; LIMA, 2013; NALI et al, 2014).

### **Desenvolvimento de LEMP Associada ao *Natalizumab***

Nali e colaboradores (2014) relatam que LEMP em pacientes que receberam *Natalizumab* foi diagnosticada pela primeira vez em 2005, em três indivíduos durante os estudos clínicos, fazendo com que *Natalizumab* fosse retirado do mercado. Em 2006, *Natalizumab* foi reintroduzido e aprovado como monoterapia para o tratamento de formas recorrentes de EM. Segundo Sorensen (2015), a reintrodução de *Natalizumab* nos Estados Unidos e seu lançamento na Europa foi em conjunto com um plano de gestão de risco global.

Na reintrodução de *Natalizumab*, foi recomendado que ele fosse administrado sozinho (sem a combinação com outros imunomodulados). Mesmo assim, isso não impediu que ocorressem casos de LEMP adicionais (RUBIN, 2013).

Estatísticas demonstram que, entre 118 mil pacientes em uso de *Natalizumab*, 401 ou (0,34%) desenvolveram LEMP (FERREIRA, 2014). Globalmente, a incidência de LEMP em pacientes tratadas com *Natalizumab* foi estimada em 2,1 / 1000 (0,21%) pacientes, mas o risco depende da sorologia para VJC, duração do tratamento com *Natalizumab* e uso anterior de imunossupressor (LIMA, 2013).

A LEMP ocorre, principalmente, em pacientes com sorologia positiva para VJC e que já receberam esquemas de tratamento anteriores com drogas imunossupressoras. Alguns autores, entretanto, têm mostrado que a reativação subclínica do VJC muda e aumenta quando os

pacientes começam a terapia com *Natalizumab*, mesmo sem uso prévio de imunossupressores (FRAGOSO et al, 2013). Um exemplo é o trabalho de Vennegoor e colaboradores (2015), no qual 193 pacientes que apresentavam EM foram tratados com *Natalizumab*. Quatro (7,72%) pacientes desenvolveram LEMP, e nenhum destes tinha utilizado medicação imunossupressora prévia. Estes dados sugerem que apesar de ser mais comum o *Natalizumab* provocar o desenvolvimento de LEMP em quem já utilizou imunossupressor previamente, há um risco para todos os pacientes, já que o desenvolvimento LEMP não se restringe apenas a pacientes que tenham utilizado imunossupressor antes de receberem o *Natalizumab* (KAPPOS et al, 2011).

Segundo De Sá (2014), nos doentes soronegativos para anticorpos anti-VJC antes do início do tratamento e nos quais a soronegatividade persiste durante algum tempo, o risco de LEMP é desprezível ( $< 0,09/1000$ ) e o fármaco pode ser usado com toda a segurança. Nos doentes soropositivos para VJC, tratados há mais de 24 meses com *Natalizumab* e sem terapêuticas imunossupressoras prévias o risco de LEMP é intermediário (3,7-5,6/1000), requerendo nesta população uma avaliação partilhada de risco e uma vigilância clínica e imagiológica. Nos doentes soropositivos para VJC, previamente tratados com imunossupressores, acima dos 24 meses de tratamento com *Natalizumab*, o risco de LEMP é muito elevado (8,3-14,5/1000) e, nesta população, e o fármaco deverá ser descontinuado.

A ausência de anticorpos anti-JCV está associado com um risco relativamente baixo de desenvolver LEMP, porém, esse fator não exclui a possibilidade do desenvolvimento de LEMP em pacientes tratados com *Natalizumab*, uma vez que a soroconversão para anti-JCV positivo deve ser considerada (HOEPNER et al, 2014).

Fragoso e colaboradores (2013) relatam que foi realizado um estudo onde os resultados foram obtidos a partir de investigações da viremia DNA-VJC em 168 pacientes com EM submetidos ao tratamento com *Natalizumab*. O DNA-VJC foi detectável em 86 (51,2%) pacientes. Relatórios publicados mostram que de 51% a 58,8% dos pacientes onde o DNA-VJC foi detectado são soro positivos para anti-VJC. Também verificou-se relatos de LEMP causada pelo VJC em doentes tratados com *Natalizumab* em que os resultados de testes foram negativos para anti-VJC. Em relação a sorologia anti-VJC dos pacientes com EM, os resultados podem subestimar os níveis de infecção uma vez que as taxas de falsos negativos

foram calculados em 37%. Isto demonstra que um resultado negativo do anticorpo anti-VJC não deve ser confundida com ausência de infecção pelo VJC.

MAJOR e colaboradores (2013) realizaram um estudo com amostra de plasma sanguíneo de 49 pacientes com EM em tratamento com *Natalizumab* para verificação da presença de anticorpos VJC e DNA-VJC. Desses 49 pacientes, em 17 (35%) foi detectado viremia. E dos 17 pacientes com viremia, 11 eram soropositivos (65%) e 6 foram soronegativos para presença de anticorpos VJC (35%). Evidenciando, mais uma vez, que o status sorológico por si só não pode ser um predileto para o risco de LEMP. A observação de que a viremia pode ocorrer em pacientes com resultados negativos para anticorpos anti-VJC levanta outros problemas. Para estabelecer algoritmos de estratificação de risco para LEMP em pacientes que recebem terapias imunomoduladoras potentes, uma única medida de atividade viral, tal como um ensaio para anticorpos anti-VJC pode ser útil, mas não é suficiente para avaliar risco.

Segundo Kornek (2015), apesar da implementação da estratificação do risco, a incidência LEMP não diminuiu desde 2010. As razões para isso são presentemente desconhecidas. Embora associada ao *Natalizumab*, a LEMP é fatal em aproximadamente 20% dos casos, a maioria dos pacientes que sobrevive fica com significativa morbidade e incapacidade irreversível. A detecção precoce de LEMP, ou mesmo a detecção de LEMP em pacientes clinicamente assintomáticos através de exames de Imagem de Ressonância Magnética, conduz a melhores resultados funcionais e redução da mortalidade.

Hoepner e colaboradores (2014), afirmam que atualmente, segue-se um protocolo de tratamento padronizado que inclui a iniciação de cinco sessões Troca de Plasma (PLEX – Plasma Exchange) após o diagnóstico de LEMP, a fim de acelerar o apuramento de *Natalizumab*. Porém, Kornek (2015) demonstra que esse tratamento é muitas vezes dificultado pela ocorrência de Síndrome Inflamatória da Reconstituição Imune (IRIS).

Segundo Lima, (2013) IRIS é definida como um agravamento paradoxal de processos já existentes. O seu quadro clínico é marcado por um agravamento transitório ou desenvolvimento de novos sintomas neurológicos. Kappos e colaboradores (2011) relatam que em pacientes com LEMP que foram submetidos a troca de plasma ou imunoabsorção para

remover *Natalizumab* do plasma para acelerar a reconstituição da vigilância imunológica, a IRIS se desenvolveu em cerca de 2-12 semanas após a cessação do *Natalizumab*.

Pelo desenvolvimento da IRIS, devido ao aumento a passagem de leucócitos para o SNC para apuramento do VJC, é aconselhável iniciar o tratamento profilaticamente com corticosteróides (FERNANDEZ et al, 2010).

É de maior importância desenvolver medidas para prevenir e tratar LEMP, incluindo a compreensão dos fatores que permitem às pessoas adquirir VJC, sendo um requisito para o risco de mais tarde desenvolverem LEMP (SUNDQVIST et al, 2014).

Segundo Major e colaboradores (2013), a observação de alguns pacientes que tiveram a viremia e foram soronegativos para anti-VJC demonstra que é preciso uma estratégia de redução de risco mais abrangente, como uma monitorização periódica ao longo da intervenção terapêutica.

Segundo De Sá (2014), o risco de um doente com esclerose múltipla desenvolver LEMP depende da positividade do vírus JC, do tempo de exposição ao fármaco e da terapia prévia com imunossupressores. Deste modo, vigilância clínica é a forma mais importante para detectar LEMP. A história e padrão de sintomas e sinais anteriores e atuais irão facilitar tanto a gestão do paciente como a avaliação do potencial de LEMP (KAPPOS et al, 2011).

### **Considerações Finais**

*Natalizumab* provou ser um tratamento altamente eficaz para pacientes com EM que não responderam bem a outros tratamentos e o seu surgimento representou, para esses pacientes, um grande ganho em termos de uma melhor qualidade de vida. Devido ao risco do desenvolvimento de LEMP, para sua utilização deve ser levado em conta alguns fatores de risco como uso prévio de imunossupressores, duração do tratamento e soropositividade para anti-VJC. Sendo imprescindível uma abordagem mais abrangente uma vez que o estado sorológico para anti-VJC, não é suficiente para estimar o risco de desenvolvimento de LEMP. Para um risco potencialmente menor, poderia ser levado em conta além dos testes para

deteção de anticorpos anti-VJC, a verificação da presença de viremia nesses pacientes.

Levando em consideração esses fatores, o risco de LEMP fica reduzido, mas ainda sim o paciente não fica livre da possibilidade do desenvolvimento de LEMP. Por isso, um acompanhamento rigoroso deve ser feito durante o tratamento com *Natalizumab*, e o médico deve permanecer atento aos sintomas e relatos dos pacientes para que, a qualquer indício de LEMP, o tratamento com *Natalizumab* seja descontinuado.

## Referências

ALVES, Beatriz da Costa Aguiar et al. **Esclerose múltipla: revisão dos principais tratamentos da doença.** Saúde Meio Ambiente. v. 3, n. 2, p. 19-34, dez 2014.

CHEN, Gang et al. **Synthetic antibodies and peptides recognizing progressive multifocal leukoencephalopathy-specific point mutations in polyomavirus JC capsid viral protein 1.** Mabs. v. 7, n. 4, 2015.

DA SILVA, Décio F; NASCIMENTO, Valdete M. S. **Esclerose múltipla: imunopatologia, diagnóstico e tratamento – artigo de revisão.** Interfaces Científicas - Saúde e Ambiente. v. 2, n. 3, p. 81 – 90, Jun 2014.

DEMASTERS, B. K. Kleinschmidt; TYLER, Kenneth L. **Progressive Multifocal Leukoencephalopathy Complicating Treatment with Natalizumab and Interferon Beta-1a for Multiple Sclerosis.** The New England Journal of Medicine. v. 353, n. 4, p. 369-374, Jul 2005.

DE SÁ, João. **A propósito do artigo: O tratamento da esclerose múltipla com Natalizumab: Análise de uma Coorte Hospitalar.** Acta Med Port. v. 27, n. 4, p. 409-410, Ago 2014.

FERENCZY, Michael W., et al. **Molecular Biology, Epidemiology, and Pathogenesis of Progressive Multifocal Leukoencephalopathy, the JC Virus-Induced Demyelinating Disease of the Human Brain.** Clinical Microbiology Reviews. v. 25, n. 3, p. 471-506, Jul 2012.

FERNÁNDEZ, Ana Maria, et al. **El virus JC y la leucoencefalopatía multifocal progresiva: implicaciones em el tratamiento actual de la esclerosis múltiple.** Revista Espanola de Esclerosis Multiple. n. 16, p. 34-42, Dez 2010.

FERREIRA, Maria L. B. **Natalizumab Treatment for multiple sclerosis.** Arquivos de Neuro-Psiquiatria, v. 72, n. 12, p. 911–912, Dez 2014.

FONSECA, Alexandre L. A.; FONSECA, Fernando L. A. **A Importância da Investigação Laboratorial do Vírus JC (Vírus Polyoma) e sua Interpretação Clínica.** News Lab. v. 78, p. 140-148, 2006.

FRAGOSO, Yara D., et al. **Nearly one-half of Brazilian patients with multiple sclerosis using natalizumab are DNA-JC virus positive.** Arquivos de Neuro-Psiquiatria. v. 71, n. 10, p. 780–2, Out 2013.

GOULD, Annette Langer, et al. **Progressive Multifocal Leukoencephalopathy in a Patient Treated with Natalizumab.** The New England journal of medicine. v. 353, n. 4, p. 375-381, Jul 2005.

HATCHWELL, Eli. **Is there a (host) genetic predisposition to progressive multifocal leukoencephalopathy?** Frontiers in Immunology. v. 6, n. 216, Maio 2015.

HOEPNER, Robert, et al. **Efficacy and Side Effects of Natalizumab Therapy in Patients with Multiple Sclerosis.** Journal of Central Nervous System Disease. v. 6, p. 41–49, 2014.

KAPPOS, Ludwig, *et al.* **Natalizumab treatment for multiple sclerosis: updated recommendations for patient selection and monitoring.** *Lancet Neurol.* v. 10, p. 745–58, Ago 2011.

KORNEK, Barbara. **An update on the use of Natalizumab in the treatment of multiple sclerosis: appropriate patient selection and special considerations.** *Patient Preference and Adherence.* p. 675-684, Maio. 2015.

LIMA, Marco. **Progressive multifocal leukoencephalopathy: new concepts.** *Arq Neuropsiquiatria.* v. 71, n. 9-B, p. 699-702, 2013.

MAJOR, Eugene O.; FROHMAN, Elliot; DOUEK, Daniel. **JC Viremia in Natalizumab - Treated Patients with Multiple Sclerosis.** *New England Journal of Medicine,* v. 368, n. 23, p. 2240-2241, Jun 2013.

NALI, Luiz H. S., *et al.* **Natalizumab treatment for multiple sclerosis: updates and considerations for safer treatment in JCV positive patients.** *Arq Neuropsiquiatria.* v.72, n. 12, p. 960-965, 2014.

RAMIREZ, Basilio Vagner; PALACIO Viviana Castaño. **JC virus: A brief review.** *World Journal of Neuroscience.* v. 3, p. 126-130, 2013.

RUBIN, Susan M. **Management of multiple sclerosis: An overview.** *Disease-a-Month.* v. 59, p. 253–260, 2013.

SORENSEN, Per S., *et al.* **Risk stratification for progressive multifocal leukoencephalopathy in patients treated with natalizumab.** *Multiple Sclerosis Journal.* v. 18, n. 2, p. 143-152, 2012.

SUNDQVIST, Emilie, *et al.* **JC Polyomavirus Infection Is Strongly Controlled by Human Leucocyte Antigen Class II Variants.** *PLOS Pathogens.* v. 10, n. 4, Abril. 2014.

VENNEGOOR, Anke. *et al.* **Longitudinal JCV serology in multiple sclerosis patients preceding natalizumab-associated progressive multifocal leukoencephalopathy.** *Multiple Sclerosis Journal.* p. 1-4, 2015.