

Fernando António Simões Iodice

LEUCOENCEFALOPATIA MULTIFOCAL PROGRESSIVA ASSOCIADA A FÁRMACOS NO TRATAMENTO DA ESCLEROSE MÚLTIPLA

Monografia realizada no âmbito da unidade de Estágio Curricular do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, orientada pelo Professor Doutor Francisco Batel Marques e apresentada à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra

Setembro 2016



UNIVERSIDADE DE COIMBRA

Fernando António Simões Iodice

LEUCOENCEFALOPATIA MULTIFOCAL PROGRESSIVA ASSOCIADA A FÁRMACOS NO TRATAMENTO DA ESCLEROSE MÚLTIPLA

Monografia realizada no âmbito da unidade de Estágio Curricular do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, orientada pelo Professor Doutor Francisco Batel Marques e apresentada à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra

Setembro 2016



UNIVERSIDADE DE COIMBRA

Eu, Fernando António Simões Iodice, estudante do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, com o nº 2010129614, declaro assumir toda a responsabilidade pelo conteúdo da Monografia apresentada à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, no âmbito do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas.

Mais declaro que este é um trabalho original e que toda e qualquer afirmação ou expressão, por mim utilizada, está referenciada na Bibliografia desta Monografia, segundo os critérios bibliográficos legalmente estabelecidos, salvaguardando sempre os Direitos de Autor, à exceção das minhas opiniões pessoais.

Coimbra, 15 de Setembro de 2016

(Fernando António Simões Iodice)

O Orientador da Monografia

(Professor Dr. Francisco Batel Marques)

O Orientando

(Fernando António Simões Iodice)

Os meus agradecimentos,

Ao Professor Dr. Francisco Batel Marques, por me orientar no decurso da monografia, Aos meus pais pelo apoio incondicional e por me darem a oportunidade de tirar um curso superior,

Aos meus irmãos, Nicola Iodice e Gonçalo Gomes, por tudo,

Aos meus amigos por estarem sempre presentes,

Um grande obrigado.

Índice

1. Abreviaturas	6
2. Resumo	7
3. Esclerose Múltipla.....	8
3.1. Epidemiologia.....	8
3.2. Manifestações clínicas	9
3.3. Diagnóstico	10
4. Leucoencefalopatia Multifocal Progressiva	10
4.1. Epidemiologia.....	11
4.2. O Vírus JC	12
4.3. Manifestações clínicas	13
4.4. Diagnóstico.....	15
4.5. Gestão da doença	16
4.5.1. Terapias farmacológicas disponíveis para a LMP.....	18
4.5.1.1. Terapias antivirais	18
4.5.1.2. Imunomoduladores.....	19
4.5.1.3. Estratégias de imunização	20
5. Fármacos usados no tratamento da Esclerose Múltipla	22
5.1. Fármacos associados a Leucoencefalopatia Multifocal Progressiva.....	23
5.1.1. Natalizumab	23
5.1.2. Fingolimod.....	25
5.1.3. Dimetil Fumarato	27
6. Perspetivas futuras	28
7. Conclusão	30
8. Referências Bibliográficas	31
9. Anexos	35
9.1. Anexo I	35
9.2. Anexo II	37
9.3. Anexo III	38
9.4. Anexo IV.....	39

I. Abreviaturas

BHE – Barreira hematoencefálica

DNA – Deoxyribonucleic Acid

EM – Esclerose Múltipla

EMA – European Medicines Agency

EMPP – Esclerose Múltipla Primária Progressiva

EMRR – Esclerose Múltipla Recidiva-Remitente

EMSP – Esclerose Múltipla Secundária Progressiva

FDA – Food and Drug Administration

HAART – Highly Antiretroviral Therapy

HIV – Human Immunodeficiency Virus

IFNB – Interferão Beta

IL-2 – Interleucina-2

IL-7 – Interleucina-7

IRM – Imagem por Ressonância Magnética

LCR – Líquido Cefalorraquidiano

LLC – Leucemia Linfocítica Crónica

LMP – Leucoencefalopatia Multifocal Progressiva

LTC – Linfócitos T Citotóxicos

MMD – Medicamentos Modificadores de Doença

PCR – Polymerase Chain Reaction

SIPR – Sphingosine-1-Phosphate Receptor

SIRI – Síndrome Inflamatório de Reconstituição Imune

SNC – Sistema Nervoso Central

VJC – Vírus John Cunningham

2. Resumo

A Esclerose Múltipla (EM) é uma doença neurológica autoimune, de caráter inflamatório e que envolve desmielinização e danos axonais/neuronais. Segundo a literatura internacional há quatro categorias clínicas nas quais se pode dividir esta patologia, sendo mais frequente apresentar-se na forma de esclerose múltipla recidivante-remitente (EMRR). O tratamento pode então consistir em três fases distintas: tratamento das exacerbações, diminuição da progressão da doença através de medicamentos modificadores da doença (MMD) e terapia sintomática. Mais recentemente, na classe dos MMD, fármacos imunossupressores tem sido largamente utilizados e, infelizmente, a sua utilização tem sido associada a casos de Leucoencefalopatia Multifocal Progressiva (LMP), um efeito adverso que, apesar de raro, pode ser fatal. Entre estes fármacos, pude identificar através de uma revisão da literatura, a associação de natalizumab, fingolimod, dimetil fumarato e, em menor escala, de alemtuzumab e rituximab a eventos de LMP. Assim sendo, são necessárias estratégias para melhorar os *outcomes* e a segurança dos tratamentos a que estes pacientes são sujeitos, o que pode passar pelo desenvolvimento de terapias mais seguras, terapias eficazes direcionados para a LMP e métodos de mitigação de riscos.

Abstract

Multiple sclerosis is an autoimmune neurological disease of inflammatory nature characterized by subsequent demyelination and axonal/neuronal damage. According to international literature, there are four clinic categories in which one can divide this pathology, being the relapsing-remitting multiple sclerosis the most common one. The medication can be addressed to treat three distinct phases of the disease: treatment of acute exacerbations, decrease multiple sclerosis progression by disease modifying therapies and symptomatic therapy. More recently, in the disease modifying therapies class, immunosuppressive drugs have been widely used and unfortunately, its use has been linked to cases of progressive multifocal leukoencephalopathy, an adverse effect that although rare, can be fatal. Amongst these drugs, I could identify through a literature review: natalizumab, fingolimod, dimethyl fumarate and, to a lesser extent, alemtuzumab and rituximab which were all associated to progressive multifocal leukoencephalopathy events. That being said, strategies are required to improve the outcomes and security of the treatments available for these patients, which may include the development of safer therapies, effective drugs targeting progressive multifocal leukoencephalopathy and risk mitigation methods.

3. Esclerose Múltipla

A esclerose múltipla é uma doença crônica neurodegenerativa, caracterizada por processos inflamatórios. Esta, de etiologia desconhecida, envolve um ataque ao sistema nervoso central (SNC) mediado pelos anticorpos do próprio doente, podendo-se então denominar esta patologia de autoimune. Conseqüentemente, segue-se uma desmielinização, ou seja, uma destruição parcial ou completa das bainhas de mielina protetoras das fibras nervosas, conduzindo assim a danos axonais ou/e neuronais, o que resulta nos quadros clínicos característicos desta doença (Hunter, 2016).

Há aproximadamente 2.5 milhões de pessoas no mundo que sofrem desta patologia altamente debilitante, sendo que são afetadas cerca do dobro das mulheres em relação aos homens e, habitualmente, o diagnóstico ocorre entre os 20 e os 50 anos, relativamente a ambos os sexos (Butler *et al.*, 2015). O diagnóstico em idades mais reduzidas ou avançadas em relação à supracitada, está também documentado, apesar da literatura indicar uma frequência muito menor nesses casos (Love, 2006).

3.1. Epidemiologia

Pensa-se que a EM será o resultado da combinação de fatores genéticos com ambientais, havendo também uma influência étnica e geográfica na preponderância desta doença (Hunter, 2016).

Apesar de complexo e variável, o papel da genética pode ser associado aos genes codificados no complexo major de histocompatibilidade, também denominado antígeno leucocitário humano, mais especificamente na região de classe 2 (Hunter, 2016). Segundo estudos, este complexo estará relacionado com os danos provocados por células leucocitárias T CD4+ (R. Parker Harp *et al.*, 2015), que em conjunto com as T CD8+ e as células B tem um papel de destaque na patologia da doença (Quintana, 2014). Acredita-se que o mecanismo do complexo supracitado esteja relacionado com os seus efeitos nas células apresentadoras de antígenos, alterando a reação do sistema imune a antígenos possivelmente relacionados com a estrutura da mielina (Hunter, 2016).

Quanto aos fatores ambientais, acredita-se que o tabaco, a melatonina, consumo de sal e certos agentes microbianos possam ter um papel na evolução clínica desta doença, nomeadamente no desenvolvimento do processo inflamatório (Fernández *et al.*, 2016).

Das mais de setecentas mil pessoas com EM na Europa (Fernández *et al.*, 2016), as de descendência nórdica tem um risco mais elevado de desenvolver a anterior em comparação

com outros grupos étnicos a viver nas mesmas latitudes, validando assim a influência da etnia (Hunter, 2016).

Existe um grande número de estudos que abordam a distribuição desigual de doentes afetados por esta patologia pelo mundo, concluindo que há uma maior prevalência em maiores latitudes (Hunter, 2016). O facto de o risco de se apresentar EM ser maior nestes casos, pode estar associado com a deficiência em vitamina D nestas latitudes, onde as pessoas estão menos expostas à luz solar e, conseqüentemente, são mais susceptíveis a uma deficiência desta vitamina, possuidora de um importante papel imunomodulador. Apesar da abundância de estudos que correlacionam a vitamina D com a esclerose múltipla, serão necessários estudos mais conclusivos para ter bases sólidas capazes de corroborar esta teoria (Alharbi, 2015).

3.2. Manifestações clínicas

A evolução da EM não é igual em todos os doentes, sendo caracterizada por uma série de sintomas que vão ser dependentes do local onde ocorrem as lesões no SNC (podendo ser monofocais ou multifocais), da extensão e da gravidade dos danos provocados (Hunter, 2016).

As manifestações sintomáticas podem variar desde fraqueza, ataxia, disfunções motora autonómicas, depressão, dificuldades cognitivas, distúrbios psiquiátricos, entre outros que podem ser relacionados com o desenvolvimento das lesões (Fernández *et al.*, 2016).

De modo a permitir uma melhor distinção e seguimento, esta patologia foi dividida em 4 tipos clínicos diferenciados: esclerose múltipla recidivante-remitente (EMRR), a mais comum e que afeta cerca de 85% dos doentes, havendo muitas vezes evolução deste tipo para o tipo secundário progressivo (enunciado de seguida); EM secundária progressiva (EMSP), definida pelo agravamento dos sintomas e da incapacidade, podendo haver recidivas/exacerbações ou não; EM primária progressiva (EMPP), caracterizada igualmente por agravamento gradual da condição, sem recidivas distintas e constituindo cerca de 15% dos casos; síndrome clínico isolado, que consiste num episódio sintomático que dura cerca de 24h que poderá ser ou não indicativo do início de EM, sendo igualmente caracterizado por inflamação ou lesões mono ou multifocais no SNS (Butler *et al.*, 2015).

3.3. Diagnóstico

O *International Panel on the Diagnosis of Multiple Sclerosis* desenvolveu os critérios de McDonald que vieram homogeneizar e facilitar o diagnóstico desta doença, providenciando guidelines com critérios sensíveis e específicos, que permitem uma identificação prematura da esclerose múltipla (Hunter, 2016), bem como a exclusão de outras patologias com sinais e sintomas semelhantes (Polman *et al.*, 2010), aspeto crítico para um seguimento correto do paciente (Noyes e Weinstock-Guttman, 2013). Este diagnóstico é caracterizado por uma avaliação clínica e paraclínica (Polman *et al.*, 2010) que envolve: imagem por ressonância magnética (IRM), análise do líquido cefalorraquidiano (LCR) e pode também ser apenas baseado em aspetos clínicos (Hunter, 2016; Noyes e Weinstock-Guttman, 2013). Este baseia-se na demonstração das lesões dessemeadas no tempo (curso da doença) e espaço (zonas do SNS afectadas) (Polman *et al.*, 2010).

A IRM é uma ferramenta indispensável para confirmação de diagnóstico de EM, possibilitando a deteção e confirmação de lesões no SNC, sendo também utilizada para monitorização dos pacientes e como meio de prognóstico (Hunter, 2016; Noyes e Weinstock-Guttman, 2013). A observação destas lesões é efetuada recorrendo comumente a imagens T2 (Polman *et al.*, 2010), podendo realçar as mesmas com recurso a gadolínio, o que permite uma diferenciação entre as lesões ativas (Noyes e Weinstock-Guttman, 2013), normalmente observadas durante os processos inflamatórios recentes devidos à ruptura da barreira hematoencefálica (BHE) (Hunter, 2016), e inativas (Noyes e Weinstock-Guttman, 2013).

Por outro lado, uma análise ao LCR que demonstre um index elevado de imunoglobulina G e duas ou mais bandas oligoclonais, é um instrumento importante de suporte ao diagnóstico da esclerose múltipla (Polman *et al.*, 2010).

Estes critérios apresentam guidelines diferenciadas para diagnosticar as diferentes formas de EM (Polman *et al.*, 2010).

4. Leucoencefalopatia Multifocal Progressiva

A leucoencefalopatia multifocal progressiva (LMP) é uma doença rara que afeta o SNC, caracterizada por uma desmielinização (tal como a EM) causada pela reativação do vírus JC (VJC) (Lima, 2013), iniciais pertencentes ao primeiro paciente do qual o vírus foi isolado (Tavazzi, Ferrante e Khalili, 2015). Estima-se que pelo menos 50% da população mundial esteja infetada de forma latente por este poliomavírus humano (Adang e Berger,

2015), sendo que a infecção primária pelo VJC ocorre comumente nas primeiras duas décadas de vida e é assintomática na maioria dos pacientes (Beltrami e Gordon, 2014; Lima, 2013), persistindo como infecção viral ao longo da vida toda (Lima, 2013).

O vírus permanece então latente nos rins, medula óssea e órgãos linfóides, havendo reativação em pacientes imunodeprimidos, quer seja devido a outras patologias ou a terapias imunossupressoras, infetando as células do SNC responsáveis pela produção de mielina, os oligodendrócitos (Beltrami e Gordon, 2014; Lima, 2013). Importante referir que, apesar de raros, há também casos de indivíduos imunocompetentes com desenvolvimento de LMP (M. van der Kolk *et al.*, 2015; Sanjo *et al.*, 2016).

Após infecção produtiva, inicia-se uma progressiva desmielinização dos axónios, tornando-os disfuncionais. À medida que a doença avança, vão aparecendo lesões focais desmielinizadas, levando a uma série de sintomas associados a incapacidades visuais, cognitivas e motoras, dependendo da área cerebral afetada (Beltrami e Gordon, 2014; Lima, 2013).

Pode-se distinguir na literatura uma diferença de prevalência desta patologia antes do surgir do vírus da imunodeficiência humana (HIV) e após, havendo um enorme aumento de casos na era pós-HIV, com posterior diminuição aquando o surgimento das terapias anti-retrovirais, mais especificamente, a Highly Active Antiretroviral Therapy (HAART) (Lima, 2013; Tavazzi, Ferrante e Khalili, 2015).

Não existem tratamentos eficazes no tratamento desta patologia, sendo a estratégia principal a restauração da imunodeficiência subjacente (Beltrami e Gordon, 2014), que no caso dos tratamentos imunossupressores como é o caso do Natalizumab, Dimetil Fumarato, Fingolimod, Rituximab e Alemtuzumab (M. Hart e Bainbridge, 2016) é conseguida a partir da suspensão dos mesmos, podendo recorrer-se a outras estratégias na gestão desta doença como é o caso da identificação de fatores de risco e o diagnóstico diferencial precoce (McGuigan *et al.*, 2016).

4.1. Epidemiologia

Possíveis eventos de LMP são descritos a partir de 1930, sendo que o primeiro caso desta patologia desmielinizante foi relatado pela primeira vez com esta denominação, num paciente com Leucemia Linfocítica Crónica (LLC) e linfoma de Hodgkin em 1958. Em 1959, foi então proposto como agente etiológico um agente viral devido à observação de inclusões no núcleo de oligodendrócitos do SNC e à teoria de que a distribuição das lesões localizadas na substância branca, eram indicadores de uma infecção viral atípica. Estas inclusões foram

observadas por microscópio eletrônico, chegando-se à conclusão de que tinham partículas em muito semelhantes aos poliomavirus conhecidos. Em 1971, este foi finalmente isolado numa cultura de células gliais num paciente chamado John Cunningham, cujas iniciais deram a denominação ao vírus (Ferenczy *et al.*, 2012).

Na era pré-HIV e antes da utilização de terapias imunossupressoras como as que são usadas na esclerose múltipla (Ferenczy *et al.*, 2012; M. Hart e Bainbridge, 2016), a LMP era uma doença extremamente rara, principalmente relacionada com patologias neoplásicas que comprometiam o sistema imunológico dos pacientes, sendo essencialmente associada a desordens linfoproliferativas das células B, teoricamente responsáveis pela passagem do vírus dos órgãos em que estabelece latência para o cérebro (Ferenczy *et al.*, 2012).

A epidemiologia desta doença foi variando, podendo-se distinguir temporalmente na era pré-HIV, pós-HIV e após as terapias imunossupressoras (Lima, 2013; M. Hart e Bainbridge, 2016; Tavazzi, Ferrante e Khalili, 2015). Assim, a emergência do HIV aumentou em cerca de 50 vezes a prevalência da LMP que afetava cerca de 5% dos pacientes afetados por esta patologia imunocomprometedora. Após o advento das terapias antiretrovirais HAART, a mortalidade por LMP e respetiva incidência na população de doentes com HIV diminuiu cerca de 4 vezes a partir de 1996 (Lima, 2013). Seja como for, a prevalência de LMP em doentes com HIV em tratamento com a HAART não diminuiu tão significativamente em relação a outras patologias oportunistas infecciosas (Ferenczy *et al.*, 2012; Lima, 2013).

Mais recentemente, a introdução de terapias imunomoduladoras e imunossupressoras no tratamento de tumores e doenças autoimunes (Lima, 2013), veio alterar a epidemiologia da LMP, sendo esta descrita a partir dos primeiros três casos associados ao Natalizumab em 2005, como uma complicação associada a este tipo de terapias (Berger, Houff e Major, 2009).

4.2. O Vírus JC

O VJC é um membro da família Polyomaviridae onde só o anterior e o vírus BK são capazes de uma infeção produtiva em humanos, com conseqüente evolução patológica (Jiang *et al.*, 2009; Tavazzi, Ferrante e Khalili, 2015). O genoma viral codifica seis proteínas virais: o antígeno T (pequeno e grande, funcionando como duas zonas reguladoras precoces), a agnoproteína (proteína reguladora que funciona como uma viroporina) e as proteínas da cápside VP1, VP2 e VP3 (Tavazzi, Ferrante e Khalili, 2015). Existe uma distinção entre a estirpe não patogénica, que pode ser detetada, por exemplo, nos rins e amígdalas, e a estirpe neurotrópica e patogénica, que deriva provavelmente da primeira através de rearranjos na

região de controlo não codificante altamente variável (Ferenczy *et al.*, 2012; Tavazzi, Ferrante e Khalili, 2015).

O modo pelo qual o VJC infeta os hóspedes não é ainda totalmente conhecido, havendo, no entanto, duas teorias preponderantes que procuram demonstrar o envolvimento das vias respiratórias superiores e do trato gastrointestinal como via primária de infeção (Tavazzi, Ferrante e Khalili, 2015). A primeira é fundamentada pela descoberta de VJC no estroma das amígdalas (Ferenczy *et al.*, 2012; Tavazzi, Ferrante e Khalili, 2015), sendo que o vírus também foi detetado em células epiteliais do trato gastrointestinal e esófago, apoiando assim a segunda teoria (Tavazzi, Ferrante e Khalili, 2015). Por outro lado, o VJC é capaz de infetar as células B linfocitárias circulantes, podendo as amígdalas e o trato gastrointestinal representar apenas locais de latência virais, ao invés de vias de infeção (Tavazzi, Ferrante e Khalili, 2015).

Como já foi referido, pensa-se que a infeção ocorra durante a infância pelas vias supracitadas, permanecendo latente em zonas diferentes, nomeadamente os rins, amígdalas, medula óssea e linfócitos B (Ferenczy *et al.*, 2012; Tavazzi, Ferrante e Khalili, 2015). Sob cenários de imunossupressão, como é o caso da utilização das terapias utilizadas na esclerose múltipla, o vírus pode iniciar a replicação ativa, levando ao início da LMP. O mecanismo pelo qual esta reativação tem lugar está ainda pouco esclarecido, existindo, no entanto, a teoria de que o VJC reativa periféricamente, procedendo à passagem da BHE através de, por exemplo, células B linfocitárias com vírus, infetando posteriormente astrócitos e oligodendrócitos com consequente lise destes últimos. Isto resulta numa desmielinização que envolve principalmente a substância branca (Ferenczy *et al.*, 2012; M. Hart e Bainbridge, 2016; Tavazzi, Ferrante e Khalili, 2015). Pensa-se que a replicação ativa preferencial em células da glia possa ser explicada pela conjugação de diversos aspectos, nomeadamente interações vírus-receptor e fatores de transcrição e replicação específicos das células hóspedes (Ferenczy *et al.*, 2012).

4.3. Manifestações clínicas

De maneira geral, a LMP tem uma evolução rápida e com um início caracterizado por vários sintomas, dos quais se podem destacar os défices motores, ataxia na marcha e disfunções visuais e cognitivas (Ferenczy *et al.*, 2012; Tavazzi, Ferrante e Khalili, 2015). O desenvolvimento dos sintomas é gradual, podendo levar à morte numa questão de meses (Tavazzi, Ferrante e Khalili, 2015).

Tal como na esclerose múltipla, os sintomas clínicos da LMP vão ser representativos das zonas afetadas no cérebro, havendo uma preferência desta patologia pelas zonas posteriores que incluem o cerebelo, lobo occipital e tronco cerebral, que podem sofrer lesões em simultâneo, demonstrando assim o carácter multifocal da doença (Ferency et al., 2012).

A LMP apresenta sintomas em comum com outras doenças neurodegenerativas, nomeadamente a EM, tornando-se importante, num contexto de diagnóstico diferencial, identificar quais os que permitem o reconhecimento da LMP de modo a conseguir alcançar um diagnóstico precoce (Augusto et al., 2015; Ferency et al., 2012). Os sintomas podem então depender da condição subjacente, apresentando no caso de pacientes com HIV, hemiparesia, disfunções visuais, afasia ou ataxia, auxiliando assim a diferenciar a LMP das alterações neurocognitivas associadas ao HIV e da encefalite por HIV (Ferency et al., 2012).

No caso de pacientes com esclerose múltipla em tratamento com terapias imunossupressoras, como é o caso do natalizumab, o diagnóstico diferencial entre um episódio de uma recidiva e a LMP acaba por ser dificultado pela elevada semelhança entre sintomas como se pode observar no *anexo I*, já que podem existir distúrbios visuais, motores e ataxia em ambas. Contudo, caso ocorram mudanças de personalidade ou das capacidades cognitivas, convulsões ou afasia, pode-se suspeitar de LMP, recorrendo a investigação posterior para confirmação de diagnóstico. Existem, contudo, estratégias que aconselham uma monitorização periódica através de IRM, permitindo assim identificar precocemente a LMP (Ferency et al., 2012; McGuigan et al., 2016).

Tendo-se chegado à conclusão de que a reconstituição do sistema imunitário é a melhor opção no tratamento da LMP, é de extrema importância descontinuar as terapias imunossupressoras nos doentes com doenças autoimunes ou sujeitos a transplante de órgãos. Este processo de restauração leva à infiltração de linfócitos no cérebro, podendo resultar no síndrome inflamatório de reconstituição imune (SIRI) e na consequente inflamação deste órgão. A evolução inflamatória deste síndrome, mediada pelas células T (paradoxalmente necessárias para o controlo da replicação do VJC) pode provocar inchaço e lesões no cérebro, deteriorando os sintomas neurológicos dos pacientes e podendo mesmo levar à morte (Beltrami e Gordon, 2014; Ferency et al., 2012).

4.4. Diagnóstico

O diagnóstico da LMP é efetuado com recurso a um diverso leque de ferramentas que permitem aos profissionais de saúde e especialistas avaliar quase sempre corretamente a situação dos seus pacientes (Augusto *et al.*, 2015; Berger *et al.*, 2013; Miskin, Ngo e Koralnik, 2016). Assim, temos como métodos disponíveis: a avaliação das características histopatológicas de uma amostra de tecido de biópsia cerebral associados à demonstração da presença de VJC através de PCR (método mais sensível e específico); avaliação das características clínicas; utilização de técnicas de imagiologia, com preferência pela IRM; avaliação da presença de VJC no líquido cefalorraquidiano com recurso a PCR (Augusto *et al.*, 2015; Berger *et al.*, 2013). Assim sendo, existem duas abordagens que podem ser feitas de modo a efetuar um diagnóstico correto de LMP, consistindo a primeira em recorrer à técnica da biópsia tecidual com confirmação da presença de VJC. Como alternativa, poderão avaliar-se as características clínicas em conjunto com as descobertas imagiológicas e a confirmação da presença de VJC no LCR através de PCR, de modo a efetuar-se um diagnóstico definitivo de LMP (Augusto *et al.*, 2015; Berger *et al.*, 2013). O facto do vírus poder ser encontrado igualmente no cérebro de indivíduos saudáveis, torna a análise da presença neste no tecido da biópsia ou no LCR insuficiente no estabelecimento de um diagnóstico definitivo de LMP (Berger *et al.*, 2013). Mais recentemente, o diagnóstico apoiado na técnica de IRM tem cada vez mais relevância, uma vez que a biópsia cerebral, por ser um método invasivo, nem sempre é possível efetuar e a deteção de VJC no LCR está sujeita a uma baixa sensibilidade (Augusto *et al.*, 2015; Berger *et al.*, 2013). A tríade patológica de desmielinização, corpos de inclusão nos oligodendrócitos e astrócitos disformes são características específicas da LMP, tornando a biópsia cerebral e respetiva análise histopatológica o método preferencial de diagnóstico com uma elevada especificidade (maior que 98%) e sensibilidade (varia aproximadamente entre 68% e 90% devido maioritariamente a erros de amostragem) (Beltrami e Gordon, 2014). Contudo, o facto de ser um método invasivo e de nem todos os pacientes serem elegíveis para a execução do mesmo (Augusto *et al.*, 2015; Beltrami e Gordon, 2014), tornam a técnica de IRM em conjunto com a deteção da presença de DNA do VJC no LCR através de PCR (altamente específico) o método preferencial a usar no lugar da biópsia, recorrendo a este último na eventualidade de ser necessária uma confirmação (Beltrami e Gordon, 2014). Não obstante, é importante referir que a utilização da técnica de PCR para o diagnóstico de LMP é pouco sensível, tendo sido demonstrado que o resultado de VJC no LCR pode ser negativo apesar de se tratarem de pacientes já com diagnóstico definitivo de LMP, não podendo este ser um critério de

exclusão (Beltrami e Gordon, 2014; Berger *et al.*, 2013). Além disto, a carga viral tem tendência a ser mais baixa no caso de doentes com EM em tratamento com anticorpos monoclonais, como no caso do natalizumab por exemplo (Beltrami e Gordon, 2014).

O diagnóstico precoce desta patologia é importante de modo a prevenir complicações mais sérias e melhorar o prognóstico. No entanto, é difícil prever esta relação em doentes com HIV que tem co-morbilidades, sendo, por outro lado, possível nos restantes casos como é o caso de pacientes com LMP devido ao tratamento da esclerose múltipla com terapias imunossupressoras (Augusto *et al.*, 2015; M. Hart e Bainbridge, 2016). Neste grupo específico de doentes, é importante uma monitorização frequente através de, por exemplo, testes imagiológicos e serológicos, de modo a permitir um seguimento adequado dos mesmos e a deteção precoce de LMP (Augusto *et al.*, 2015).

No contexto da EM, o diagnóstico de LMP acaba por ser mais complexo, uma vez que a desmielinização que as duas condições têm em comum, pode resultar em achados imagiológicos e clínicos semelhantes, já que, muitas vezes, a LMP é confundida como sendo uma exacerbação da EM (Berger *et al.*, 2013; Lima, 2013). Assim, nestes pacientes é possível observar distúrbios motores, visuais e cognitivos, sendo estes últimos mais acentuados, provavelmente devido às lesões já presentes devido à EM. Os achados imagiológicos por IRM, por exemplo, em doentes em tratamento com natalizumab são muito semelhantes aos da LMP naqueles cuja causa não está relacionada com terapias imunossupressoras, com a exceção de que a observação de lesões com realce de contraste é mais frequente nos primeiros (Lima, 2013).

4.5. Gestão da doença

Hoje em dia, os pacientes com formas de esclerose múltipla recidivante-remitente em tratamento com natalizumab são a terceira população mais representativa de risco de ocorrência de LMP (*Anexo II*) (Pavlovic *et al.*, 2015), podendo ainda acrescentar a esta população os doentes em tratamento com dimetil fumarato e fingolimod, terapias sobre as quais há também evidência capaz de as correlacionar com eventos de LMP no tratamento de EM, não sendo, contudo, uma amostra significativa como se pode verificar no gráfico do anexo III (Dammeier *et al.*, 2015; Melorose, Perroy e Careas, 2015; Prosperini e Pontecorvo, 2016).

Desde o primeiro evento de LMP relacionado com o tratamento de EM, mais especificamente, com o natalizumab, em 2005, foram sendo descritos diversos casos que demonstraram que a deteção precoce da patologia nestes doentes é determinante na

sobrevivência e desenvolvimento de *outcomes* favoráveis (Augusto *et al.*, 2015; McGuigan *et al.*, 2016; Pavlovic *et al.*, 2015). Após diagnóstico, a abordagem mais comum relacionada com o natalizumab é a descontinuação do fármaco com subsequente utilização de plasmaferese para remover rapidamente o anticorpo monoclonal da circulação, incrementando, desta forma, as competências imunitárias dos pacientes com conseqüente aumento da vigilância do SNC (Dubey *et al.*, 2015; Pavlovic *et al.*, 2015). Os fatores de risco identificados no contexto do desenvolvimento desta complicação estão associados à presença de anticorpos anti-VJC, exposição prévia a outras terapias imunossupressoras e duração de tratamento igual ou superior a 2 anos (Gajofatto e Benedetti, 2015).

Pode-se então concluir empiricamente que o primeiro passo deverá consistir em descontinuar qualquer terapia imunossupressora, incluindo em casos no qual se desconfie de LMP no uso de fingolimod, dimetil fumarato, rituximab e alemtuzumab (Augusto *et al.*, 2015; Dammeier *et al.*, 2015; Ferenczy *et al.*, 2012; Melorose, Perroy e Careas, 2015; Pavlovic *et al.*, 2015; Prosperini e Pontecorvo, 2016).

Nos pacientes em tratamento com natalizumab, a descontinuação leva a que o sistema imunitário consiga aceder extensivamente ao SNC, representando um risco elevado para o desenvolvimento de SIRI. Desta feita, nestes indivíduos, é muito comum o aparecimento deste síndrome como complicação conseqüente da remoção da terapia imunossupressora, sendo o anterior observado em cerca de 70% dos doentes nestas condições. A taxa de sobrevivência associada a esta complicação (cerca de 77%), apesar de relativamente alta, deixa sequelas neurológicas nos sobreviventes. Pode-se então estabelecer uma relação causal entre a descontinuação da terapia imunossupressora e o SIRI que se apresenta como um agravamento dos sintomas da LMP, bem como a apresentação de novos sintomas (com destruição do tecido cerebral pelo sistema imunitário do próprio doente), sendo normalmente tratado com altas doses de corticosteróides, utilizados regularmente como padrão farmacoterapêutico nestes casos (Dubey *et al.*, 2015; Ferenczy *et al.*, 2012; Pavlovic *et al.*, 2015). A abordagem nas restantes populações com LMP e SIRI acaba por ser semelhante, incluindo restauração imunitária por terapia antirretroviral no caso de doentes com HIV e descontinuação de fármacos imunossupressores nos indivíduos com LMP sujeitos às mesmas, recorrendo igualmente a corticosteróides no caso de SIRI (Pavlovic *et al.*, 2015). Por vezes, devido à falta de ferramentas que permitam prever o início do síndrome inflamatório supracitado e, com a preocupação de que a terapia corticosteróide seja contraproducente relativamente à LMP, alguns especialistas decidem não utilizar a anterior até esta complicação ser devidamente identificada (Pavlovic *et al.*, 2015). Os resultados desfavoráveis nas populações com LMP devido ao uso de terapias imunossupressoras na

esclerose múltipla e nas restantes, torna necessária a descoberta de métodos eficazes de profilaxia e tratamento da respetiva (Ferency et al., 2012; Pavlovic et al., 2015).

4.5.1. Terapias farmacológicas disponíveis para a LMP

Existem vários fármacos candidatos ao tratamento da LMP, não havendo, no entanto, uma dimensão significativa de estudos e com resultados satisfatórios ou existindo mesmo a falta de evidência científica como se pode verificar na tabela do *anexo IV*. Assim, a grande maioria considera-se ineficaz, invocando a necessidade de estudos *in vivo* para comprovar o seu benefício (Beltrami e Gordon, 2014; Pavlovic et al., 2015).

Desta feita, podemos dividir os anteriores em três categorias diferentes: terapias antivirais, imunomoduladores e estratégias de imunização (Pavlovic et al., 2015).

4.5.1.1. Terapias antivirais

As terapias antivirais podem ainda ser subcategorizadas em: inibidores da entrada de VJC nas células (cloropromazina, citalopram, risperidona, mirtazapina, etc), inibidores de transporte retrógrado de VJC das células (retro-2cycl, brefeldina A) e inibidores da replicação de DNA (brincidofovir, ganciclovir, leflunomida, mefloquina, etc.) (M. Hart e Bainbridge, 2016). Analisando comparativamente os vários agentes antivirais e tendo em conta a literatura internacional, o que apresenta resultados clínicos mais consistentes é a mirtazapina. Uma vez que a entrada do VJC nas células hóspedes é facilitada por receptores serotoninérgicos, este agente, comumente utilizado como antidepressivo, tem atividade antiviral (Epperla et al., 2014; Pavlovic et al., 2015). A mefloquina, um agente anti-malárico capaz de reduzir, *in vitro*, a replicação de VJC recorrendo a doses que geralmente conseguem atingir o cérebro de pacientes com malária, é também bastante utilizada, apesar do seu uso ser controverso e de estudos clínicos terem demonstrado resultados inconclusivos (Epperla et al., 2014; Pavlovic et al., 2015; Sanjo et al., 2016). Um agente antiviral, de modo a ser bem sucedido, deve ser capaz de demonstrar atividade contra o VJC *in vitro*, passar a BHE e apresentar um perfil de toxicidade adequado, acabando este último por ser o principal fator limitante dos agentes supramencionados, já que as doses mais altas toleradas têm demonstrado eficácia insuficiente na diminuição das taxas de VJC existente no cérebro (Pavlovic et al., 2015).

4.5.1.2. Imunomoduladores

O tratamento imunomodulador é direcionado para a inibição de respostas imunitárias exageradas (LMP-SIRI) e modulação da resposta do sistema imunitário contra o VJC (Pavlovic *et al.*, 2015).

O interferão α , apesar de eficaz em casos de LMP associada a doentes com HIV, demonstrou ser ineficaz em situações de LMP associada ao uso de imunossupressores, mais especificamente ao natalizumab (Pavlovic *et al.*, 2015).

Assim, numa tentativa de promover a resposta das células T em doentes com LMP, utilizou-se a interleucina-2 (IL-2) e interleucina-7 (IL-7), com efeitos benéficos já registados em *case reports* (Alstadhaug *et al.*, 2014; Dubey *et al.*, 2015; Pavlovic *et al.*, 2015; Sospedra *et al.*, 2014).

A IL-2 estimula a maturação de células T e outros linfócitos, providenciando também outros mecanismos de sinalização do sistema imunitário como o aumento da formação de perforinas e granzimas (Dubey *et al.*, 2015; Pavlovic *et al.*, 2015). Esta molécula, apesar de apresentar vantagens como agente terapêutico na LMP, aumenta o risco da ocorrência de SIRI e, teoricamente, pode colocar o paciente em risco de progressão da EM (Dubey *et al.*, 2015). Num estudo relativamente recente num paciente que desenvolveu LMP associado ao uso de natalizumab, foi administrada IL-2 concomitantemente com metilprednisolona intravenosa (administrada para diminuir o risco de ocorrência de SIRI), com progressão clínica favorável do paciente e sem ocorrência de efeitos adversos (Dubey *et al.*, 2015). Por outro lado, A IL-7 exerce o seu efeito através da proliferação, estimulação do desenvolvimento, regulação da sobrevivência e homeostase de todos os linfócitos. Há varios casos reportados que demonstram o benefício desta molécula em indivíduos com LMP, tanto em monoterapia como em associação com mirtazapina ou vacinas direcionadas ao VJC (Alstadhaug *et al.*, 2014; Pavlovic *et al.*, 2015; Sospedra *et al.*, 2014). Os imunomoduladores acima descritos não são agentes específicos direcionados para o VJC, estimulando de maneira geral o sistema imunitário, podendo ser úteis como meio de profilaxia ou tratamento. Contudo, estes não apresentam uma solução em certas populações com LMP, como é o caso dos doentes cujo sistema imunitário não pode ser estimulado devido a depressão crónica da medula óssea, risco de rejeição em transplantes de órgãos e risco de deterioração de pacientes com patologias autoimunes, como é o caso da esclerose múltipla, sendo necessários mais estudos para comprovar os benefícios nesta última população (Alstadhaug *et al.*, 2014; Dubey *et al.*, 2015; Pavlovic *et al.*, 2015; Sospedra *et al.*, 2014). Ainda dentro desta categoria, existem também os fármacos utilizados para reduzir respostas

imunes hiperreativas ao tecido cerebral infetado com o VJC. Desta feita, como já foi mencionado, os corticosteróides são utilizados comumente em casos de LMP-SIRI, não havendo, no entanto, estudos que evidenciem a sua eficácia. Um novo substituto dos corticosteróides, o maraviroc, antagonista do recetor do tipo 5 de quimiocinas, demonstrou claros benefícios num paciente com LMP-SIRI (este recetor parece estar implicado na patofisiologia deste síndrome) que apresentou uma progressão clínica favorável dependente da utilização deste fármaco, sem recorrer ao uso de corticosteróides (Barron e Rosenblatt, 2014; Pavlovic *et al.*, 2015).

4.5.1.3. Estratégias de imunização

As estratégias mais recentes dirigidas para a profilaxia e tratamento da LMP, consistem na imunização passiva ou ativa dos pacientes, podendo distinguir-se a primeira, na utilização de anticorpos monoclonais humanos recombinantes anti-VJC VP-I (neutralização do VJC) e numa terapia com recurso à utilização de linfócitos T citotóxicos (LTC) específicos para o VJC que se traduz na lise das células infetadas pelo vírus. A imunização ativa, por outro lado, compreende uma vacina conjunta da proteína da cápside VPI com IL-7 recombinante para estimular a resposta de células T específicas para o VJC e uma vacina oral de VJC com antigénios peptídicos adaptados para instigar uma resposta imune específica para o vírus no trato intestinal humano (Pavlovic *et al.*, 2015).

Os anticorpos monoclonais recombinantes anti-VJC estão a ser desenvolvidos e são patenteados pela empresa Neurimmune e são conseguidos a partir da clonagem de células B de memória de indivíduos que recuperaram da LMP, tendo sido geradas a partir do reportório de células B de indivíduos saudáveis e um paciente com LMP-SIRI associado ao uso de natalizumab. Estes anticorpos isolados (10 de indivíduos saudáveis e 20 de um doente que recuperou de LMP-SIRI associado ao uso de natalizumab) demonstraram afinidades de ligação diferentes às estirpes diferentes do VJC, reconhecimento das variantes de VP-I causadoras de LMP e neutralização do vírus. Quase todos os anticorpos com especificidade para o VJC, atividade neutralizadora, reconhecimento das estirpes causadoras de LMP e alta afinidade foram isolados de um paciente que tinha recuperado da LMP (Jelcic *et al.*, 2015; Pavlovic *et al.*, 2015).

Outra estratégia de imunização passiva recorre à aplicação de LTC específicos para o VJC. Esta foi utilizada num paciente que desenvolveu LMP após um transplante de células-tronco hematopoiéticas e a utilização de terapia imunossupressora, com um desenvolvimento clínico e imagiológico (por IRM) muito favorável, sem efeitos adversos associados e

eliminação completa do vírus do LCR (Balduzzi *et al.*, 2011; Pavlovic *et al.*, 2015). Estes linfócitos foram obtidos a partir de células mononucleares do sangue periférico do doador de células tronco a partir de estimulação *in vitro* com sobreposição de conjuntos de péptidos (proteína da cápside VP-I e antígeno T grande). Os LTC foram então transferidos para o paciente após a suspensão do tratamento imunossupressor, estabelecendo um regime de politerapia anti-VJC em conjunto com cidofovir e um inibidor seletivo de recaptção de serotonina, no entanto, o condutor do estudo atribui a progressão clínica favorável à terapia imunizante. O facto do paciente ter passado a possuir uma população específica de LTC direcionados para o VJC, contribuiu para o controlo viral sem a indução de SIRI. Isto pode ser explicado pela presença de imunidade específica em detrimento da ativação de células efetoras inespecíficas, possivelmente responsáveis pelo síndrome atrás referido. Contudo, estudos posteriores são necessários para avaliar a eficácia desta terapia nos doentes com EM sujeitos a terapias imunossupressoras (Balduzzi *et al.*, 2011).

Por outro lado, também foram reportados resultados positivos em relação à imunização ativa, mais especificamente relativamente à combinação de IL-7 humana recombinante com uma vacina composta por proteínas VP-I do VJC (utilizando como adjuvante um agonista do receptor do tipo toll 7). Esta terapia foi extremamente eficaz, demonstrando resultados satisfatórios traduzidos pela resolução da progressão da LMP como foi observado através da IRM, redução substancial da carga de DNA viral no LCR, indução da proliferação de células T CD4 específicas para a VP-I do VJC e melhorias clínicas. Esta terapia, apesar de tudo, não é indicada para os pacientes com LMP associado ao uso de natalizumab e outras terapias imunossupressoras no tratamento da esclerose múltipla, nos quais a reconstituição imune não é o fator limitante (uso de IL-7 não se justifica completamente), demonstrando, contudo, uma alternativa profilática que poderá beneficiar os pacientes vacinados com VP-I através da estimulação de células T CD4 específicas para a VP-I do VJC (Pavlovic *et al.*, 2015; Sospedra *et al.*, 2014).

Desta feita, apesar dos progressos feitos, são necessários mais estudos e com sujeitos elegíveis para caracterizar a eficácia e segurança destas terapias (Balduzzi *et al.*, 2011; Jelcic *et al.*, 2015; Pavlovic *et al.*, 2015; Sospedra *et al.*, 2014).

5. Fármacos usados no tratamento da Esclerose Múltipla

Uma gestão eficiente dos pacientes com EM abrange: o alívio dos sintomas inerentes à deterioração neurológica, o tratamento das exacerbações e a utilização de MMD com o objetivo de reduzir a progressão da doença (M. Hart e Bainbridge, 2016).

A abordagem relativamente aos sintomas varia de acordo com as necessidades individuais de cada paciente, sendo necessária uma correta classificação dos mesmos, já que há diversos mecanismos patogénicos dos mesmos que requerem terapias diferentes (como é o caso da dor que pode ser causada por vias diferentes) (M. Hart e Bainbridge, 2016).

O tratamento das exacerbações com recurso a altas doses intravenosas ou orais de corticosteróides, é a prática mais aceite pelos especialistas. Apesar de não terem efeitos benéficos no curso geral da EM, doses altas de corticosteróides administradas por via intravenosa demonstraram aliviar alguns sintomas, a função motora e diminuir o tempo de recuperação após as exacerbações (M. Hart e Bainbridge, 2016).

Os MMD aprovados pelas entidades reguladoras *European Medicine Agency* (EMA) e *Food and Drug Administration* (FDA) para a EM incluem: o interferão beta (IFNB) I-a e I-b, acetato de glatirâmero, natalizumab, teriflunomida, dimetil fumarato, fingolimod, mitoxantrona e o alemtuzumab (apenas a mitoxantrona não é indicada para casos de EMRR, sendo utilizada em pacientes com EMSP). Além destes, a azatioprina, a ciclofosfamida, o metotrexato e o rituximab são utilizados nalguns países como terapia *off-label* (Gajofatto e Benedetti, 2015). Os regimes farmacoterapêuticos deverão ser instituídos de forma precoce de modo a prevenir a acumulação de danos neurológicos irreversíveis e a reduzir a progressão geral da patologia. Desta feita, aquando a definição dos esquemas terapêuticos, é importante ter em conta 4 aspetos essenciais de medição da atividade patológica de forma a otimizar a terapia: recidivas, lesões existentes visualizadas por IRM, progressão da incapacidade dos pacientes, e perda de volume cerebral. Além dos aspetos mencionados, é de extrema importância considerar, aquando a escolha dos fármacos a utilizar nas terapias a instituir, os perfis de segurança, riscos associados ao uso prolongado, eficácia e preferências quanto às vias de administração por parte dos doentes (Gajofatto e Benedetti, 2015; M. Hart e Bainbridge, 2016; Ziemssen *et al.*, 2015).

A eficácia, tolerabilidade e perfil de segurança dos MMD aprovados pela FDA e EMA variam um pouco, sendo caracterizados tanto por exibirem uma eficácia modesta e um bom perfil de segurança, como por serem altamente eficazes mas associadas a efeitos adversos graves que podem ser fatais (Gajofatto e Benedetti, 2015), como é o caso da LMP relacionada com o uso de natalizumab, alemtuzumab, dimetil fumarato, fingolimod e

rituximab (este último utilizado como *off-label* em casos de EMPP). A imputabilidade dada a estes fármacos no desenvolvimento de LMP, bem como a frequência dos casos associados a cada uma das moléculas varia imenso (*Anexo III*) (Agency, [s.d.], 2015, 2015, 2015; Major e Nath, 2016; McGuigan *et al.*, 2016; Torkildsen, Myhr e Bø, 2016; Ziemssen *et al.*, 2015). Desta feita, até ao momento, apenas o natalizumab, fingolimod e dimetil fumarato foram associados definitivamente ao desenvolvimento de LMP em pacientes com EM (Agency, 2015, 2015, 2015; M. Hart e Bainbridge, 2016). O rituximab e alemtuzumab apesar de serem associados, na literatura internacional, a casos de LMP, não existe uma relação causal definitiva entre os fármacos e a doença, uma vez que os pacientes referidos sofriam de condições patológicas conhecidas por aumentarem o risco de desenvolvimento da mesma, como é o caso da LLC (Agency, [s.d.]; M. Hart e Bainbridge, 2016).

Tendo em conta considerações baseadas em evidência científica, o IFNB, acetato de glatirâmero, teriflunomida e o dimetil fumarato são sugeridos como tratamentos de primeira linha para o tratamento de EMRR e de casos de síndrome clínico isolado. Por outro lado, o natalizumab, fingolimod (primeira linha nos EUA) e alemtuzumab são utilizados como tratamento de segunda linha, que poderão ser utilizados como primeira opção em situações de EM com altos índices de atividade (Gajofatto e Benedetti, 2015; Ziemssen *et al.*, 2015).

5.1. Fármacos associados a Leucoencefalopatia Multifocal Progressiva

5.1.1. Natalizumab

O natalizumab (Tysabri®300mg para administração intravenosa) é um anticorpo monoclonal recombinante utilizado na EMRR em pacientes nos quais a doença é altamente ativa (Ziemssen *et al.*, 2015). Presumidamente, as lesões surgem na EM quando as células do sistema imunitário do indivíduo responsáveis pela inflamação atravessam a BHE (M. Hart e Bainbridge, 2016). Este fármaco impede que estas células atravessem a BHE através do bloqueio da subunidade 4 da integrina, componente das anteriores responsável pela sua adesão às células endoteliais do tecido vascular e consequente migração para o SNC (Torkildsen, Myhr e Bø, 2016). Teoricamente, o facto do natalizumab apenas bloquear a migração destas células sem depleção das mesmas, apresenta o risco de efeito *rebound* da atividade de EM associado à discontinuação da terapia com este fármaco, sendo necessários mais estudos para comprovar este efeito (M. Hart e Bainbridge, 2016; Ziemssen *et al.*, 2015).

A eficácia do natalizumab é comprovada por diversos estudos clínicos, nomeadamente o AFFIRM (*Natalizumab Safety and Efficacy in Relapsing-Remitting Multiple Sclerosis*) e o SENTINEL (*Safety and Efficacy of Natalizumab in Combination with Interferon Beta-1a in Patients with Relapsing Remitting Multiple Sclerosis*). Num contexto pós-marketing, o estudo TOP (*TYSABRI Observational Program*), com duração de 10 anos e atualmente em progresso, confirma a diminuição das recidivas anuais através dos dados obtidos nos primeiros 5 anos (Ziemssen *et al.*, 2015). Num ensaio clínico randomizado prospetivo no qual se pretendeu observar a evolução da EM após a descontinuação de natalizumab em doentes estáveis, observou-se que havia deterioração após a substituição deste por IFNB, acetato de glatirâmero ou corticosteróides. Realizaram-se estudos semelhantes, substituindo a terapia com natalizumab por fingolimod ou dimetil fumarato, demonstrando a mesma tendência. Apesar de tudo, o período de seguimento nestes estudos é limitado e falta informação relativa ao impacto da descontinuação do natalizumab na progressão da incapacidade dos doentes (Ziemssen *et al.*, 2015, 2016).

O natalizumab pode-se então considerar uma opção eficaz no tratamento de EMRR, sendo associado, no entanto, a um perfil de segurança preocupante, visto que o risco de desenvolvimento de LMP impede que este seja um fármaco de primeira linha (Major e Nath, 2016; Ziemssen *et al.*, 2015, 2016). Até 3 de junho de 2015, 138800 pacientes já tinham sido tratados com natalizumab, estimando-se que a incidência de LMP nos mesmos fosse de 3.96 por cada 1000 pacientes (McGuigan *et al.*, 2016). O risco de desenvolvimento de LMP é maior nos pacientes que receberam tratamento com natalizumab por mais de dois anos, são seropositivos relativamente a anticorpos anti-VJC e foram previamente expostos a terapias imunossupressoras, sendo necessário ter em consideração estes fatores de risco previamente ao início da administração deste fármaco (Hoepner *et al.*, 2014; Ziemssen *et al.*, 2016).

Os mecanismos pelos quais o risco de desenvolvimento de LMP aumenta com o uso prolongado de natalizumab não são ainda totalmente conhecidos. Contudo, um grupo de investigadores conseguiu criar um elo de ligação satisfatório entre a toma do natalizumab e o comprometimento da imunovigilância relativamente ao VJC na periferia ou cérebro, elucidando também a relação temporal com o aumento de risco de desenvolvimento de LMP. Estes observaram que o natalizumab regula a expressão de genes nas células do sistema imunitário que podem ser alvos da infeção por VJC previamente à sua entrada no cérebro, neste caso, as células B. A expressão de genes nas células T CD4 e T CD8 também é regulada, mas o papel principal é atribuído às células B, já que estas poderão ser responsáveis pelo transporte do vírus através da BHE. Esta investigação concluiu que a família de fatores de transcrição POU2AF1, que inclui a proteína de ligação SpiB, eram

sobrerregulados nos pacientes com EM em tratamento com Natalizumab. O POU2AF1 é de extrema relevância na diferenciação de células B e o elo de ligação ao VJC é a SpiB que tem um papel na expressão genética do VJC e, conseqüentemente, na sua atividade. A sobrerregulação anteriormente mencionada foi cada vez mais acentuada ao longo de 2 anos e este efeito mostrou-se mais marcado em pacientes com LMP do que nos sem LMP, não sendo observado em pacientes não tratados com natalizumab. Além do mais, nos doentes cuja terapia foi descontinuada por 8 semanas ou mais, os fatores de transcrição voltaram aos valores normais, corroborando esta teoria (Meira *et al.*, 2016).

A monitorização de pacientes em tratamento com natalizumab é importante, havendo recomendações que incentivam a realização de uma IRM de rotina de forma periódica (dependente da duração do tratamento, com maior frequência após dois anos), de modo a conseguir uma deteção precoce de LMP, o que pode resultar num melhor prognóstico (McGuigan *et al.*, 2016). A presença de anticorpos anti-VJC são biomarcadores que auxiliam na estratificação de risco, no entanto, deve-se ter em conta que a seronegatividade não exclui por completo o risco de desenvolvimento de LMP, pelo que a seroconversão de indivíduos seronegativos deve ser considerada (Hoepner *et al.*, 2014). Mais recentemente, surgiu a oportunidade de considerar o Spi-B um biomarcador passível de identificar o risco de desenvolvimento de LMP, já que a elevada expressão de mRNA Spi-b foi identificada em pacientes com a patologia. Contudo, mais estudos e amostras longitudinais de pacientes previamente e posteriormente ao episódio e diagnóstico de LMP são necessários para avaliar este elemento como um marcador preditivo (Meira *et al.*, 2016)

Como já foi referido, o tratamento atual da LMP associada ao uso de natalizumab baseia-se na suspensão do tratamento com posterior recurso à plasmaferese com o objetivo de acelerar o processo de eliminação do fármaco da circulação. Adicionalmente, poderá recorrer-se à utilização das terapias farmacológicas mencionadas nos pontos anteriores, não havendo, no entanto, um consenso sobre quais os fármacos preferenciais (Beltrami e Gordon, 2014; Hoepner *et al.*, 2014; Pavlovic *et al.*, 2015).

5.1.2. Fingolimod

O fingolimod (Gilenya®) é um modulador do receptor de esfingosina 1-fosfato (S1PR), sendo o primeiro MMD oral aprovado utilizado no tratamento da EMRR (Kappos *et al.*, 2015). Este fármaco, após fosforilação, liga-se com alta afinidade ao S1PR, levando à sua internalização e degradação em diversos tecidos e células, incluindo linfócitos (Torkildsen,

Myhr e Bø, 2016). Este processo leva ao impedimento da saída dos linfócitos dos gânglios linfáticos, reduzindo o número de células T *naive* e de memória circulatórias disponíveis para entrar no SNC e regular o processo patológico da EM (M. Hart e Bainbridge, 2016; Torkildsen, Myhr e Bø, 2016). Este fármaco parece também atuar nos receptores de esfingosina do SNC exercendo um efeito neuroprotector e remielinizante, não se conhecendo ao certo o mecanismo e a extensão deste efeito (M. Hart e Bainbridge, 2016).

A dosagem de 0.5mg e 1.25mg foi testada em 3 ensaios clínicos de fase 3 randomizados com dupla ocultação em pacientes com EMRR: TRANSFORMS (análise comparativa de interferão injetável vs fingolimod), FREEDOMS (avaliação da eficácia diária oral do fingolimod na EM) e FREEDOMS II, tendo sido demonstrada a sua eficácia superior comparativamente a um grupo placebo ou em tratamento com interferão (Kappos *et al.*, 2015).

Os indivíduos sujeitos a um regime farmacoterapêutico com fingolimod deverão ser monitorizados relativamente à LMP (M. Hart e Bainbridge, 2016), uma vez que em 2015, ocorreram os primeiros 3 casos confirmados de LMP associados ao uso do fármaco em pacientes que não haviam sido tratados previamente com natalizumab e cujo desenvolvimento da doença não estava associado a outras patologias (Agency, 2015; Melorose, Perroy e Careas, 2015). Estima-se que de cerca de 20000 pacientes que receberam tratamento com fingolimod após a descontinuação de natalizumab, 17 desenvolveram LMP, não se podendo, contudo, atribuir causalidade definitiva entre o uso do fármaco e o evento adverso, uma vez que é conhecido o alto risco de desenvolvimento da doença em doentes tratados com o natalizumab (Agency, 2015; Torkildsen, Myhr e Bø, 2016).

Segundo a EMA, ao reduzir a atividade do sistema imunitário, mais especificamente das células T, o fingolimod acarreta o risco de desenvolvimento de infeções, incluindo a LMP (Agency, 2015). É então recomendada a realização de uma IRM previamente ao início do tratamento, de modo a poder usar como referência comparativamente aos IRM de rotina, a realizar com o objetivo de conseguir um diagnóstico precoce da patologia. Caso se suspeite de LMP, o fingolimod deve ser imediatamente descontinuado com posterior confirmação do diagnóstico (Agency, 2015; Melorose, Perroy e Careas, 2015).

5.1.3. Dimetil Fumarato

O DMF (Tecfidera[®]) é um fármaco oral de libertação prolongada, utilizado na dosagem de 240mg como terapia de primeira linha na EM. Este é um éster lipofílico do ácido fumárico que após a toma é rapidamente metabolizado no seu metabolito monometil fumarato pelas esterases intestinais (Prosperini e Pontecorvo, 2016). Através do seu mecanismo de ação que não é totalmente compreendido (M. Hart e Bainbridge, 2016; Prosperini e Pontecorvo, 2016), o DMF modifica o fenótipo das células T circulantes com redução das células de memória e aumento das células *naive*. Através das observações possibilitadas pela experiência pós-marketing, foi possível averiguar que com a toma deste fármaco, há uma redução de cerca de um terço da contagem absoluta de linfócitos, sendo a diminuição mais relevante atribuída às células CD8 e CD19 (40% e 48%, respetivamente) (Prosperini e Pontecorvo, 2016).

Dois ensaios clínicos pivot de fase III randomizados duplo cegos foram conduzidos em pacientes com EMRR (DEFINE e CONFIRM), comprovando a eficácia do DMF em comparação com um grupo placebo e com pacientes em tratamento com acetato de glatirâmero durante um período de 2 anos. Atualmente, a eficácia e segurança do DMF a longo termo estão a ser estudadas numa fase de extensão com a duração de oito anos, que inclui os pacientes de ambos os ensaios clínicos mencionados (Prosperini e Pontecorvo, 2016).

Até agora, quatro casos de LMP (um dos quais fatal) foram reportados em pacientes com mais de 50 anos tratados com DMF para a EM não tratados previamente com outras terapias associadas ao risco de desenvolvimento da patologia, existindo, no entanto, mais evidências do desenvolvimento deste síndrome em pacientes tratados com DMF para a psoríase. Três destes pacientes tinham linfopenia de grau 3 e o último tinha linfopenia de grau 2 previamente ao desenvolvimento de LMP, destacando o papel preponderante da redução linfocitária no desenrolar do efeito adverso (Agency, 2015; Prosperini e Pontecorvo, 2016). Estes casos ocorreram em pacientes sob tratamento prolongado com DMF que possuíam um número muito reduzido de linfócitos, consequência da terapia instituída. Outro mecanismo proposto para o desenvolvimento de LMP como consequência do tratamento com DMF consiste na sua capacidade de reduzir a ligação de células mononucleares do sangue periférico a moléculas de adesão vascular, o que pode não só comprometer o papel do sistema imunitário no controlo das células infetadas pelo VJC, como pode também induzir a libertação de células B prematuras da medula óssea o que

pode estar implicado na transformação e expressão viral (Prosperini e Pontecorvo, 2016).

Com o objetivo de reduzir o risco de desenvolvimento de LMP nos pacientes em tratamento com DMF, a EMA sugeriu uma série de recomendações passíveis de serem ajustadas consoante as orientações vigentes a nível nacional ou local. Desta feita, previamente ao início do tratamento com este fármaco, deverá ser efetuada uma contagem de células sanguíneas (incluindo uma contagem linfocitária) e uma IRM para usar no futuro como referência. Após iniciar a terapia, a contagem de células sanguíneas deverá ser feita a cada três meses. Caso a contagem linfocitária revele números muito reduzidos por mais do que seis meses, a suspensão do tratamento deverá ser equacionada, devendo o paciente ser seguido e monitorizado no caso da decisão final ser a continuação da terapia. Assim que se suspeite do desenvolvimento de LMP, o DMF deverá ser imediatamente suspenso (Agency, 2015; Prosperini e Pontecorvo, 2016).

6. Perspetivas futuras

Tendo em conta que os MMD são as terapias mais eficazes na gestão e tratamento da EM e que os mesmos estão associados a perfis de segurança pouco satisfatórios, nomeadamente nos pacientes que desenvolvem LMP como consequência da sua utilização (principalmente no caso do natalizumab), é de extrema importância desenvolver fármacos com eficácia superior ou equivalente e cuja segurança não seja comprometedor. Atualmente decorrem estudos clínicos relativos a novas terapias promissoras, como é o caso do ocrelizumab (600 mg por via intravenosa a cada 6 meses), daclizumab (150 mg por via subcutânea a cada 4 semanas) e o laquinimod (0.6mg diárias por via oral) (M. Hart e Bainbridge, 2016; Sorensen e Blinkenberg, 2016).

Outra estratégia passará pela identificação de biomarcadores que possam identificar de modo mais fiável o risco dos pacientes desenvolverem LMP, seleccionando assim de modo individualizado o MMD mais adequado para doentes específicos. Tal como já foi mencionado no capítulo 5.1.1. o Spi-B parece ser um biomarcador passível de identificar o risco de um paciente em tratamento com natalizumab desenvolver LMP, não existindo, por enquanto, evidência suficiente que possa apoiar este método (Meira *et al.*, 2016).

Por último, o desenvolvimento de meios de profilaxia e tratamento eficazes relativamente à LMP é essencial. Contudo, os estudos efetuados e publicados até ao momento permitem identificar uma série de obstáculos que revelam as dificuldades

inerentes ao estudo de potenciais terapias. Desta feita, a seleção e identificação de possíveis candidatos e a avaliação do seu impacto é dificultada pela dificuldade de utilização de modelos animais, progressão rápida da doença, tempo necessário para efetuar um diagnóstico definitivo, difícil recrutamento de indivíduos devido à raridade da doença e altas taxas de replicação do VJC. Os imunomoduladores tal como a IL-2 e IL-7 são promissores como meios de profilaxia e tratamento mas, no entanto, o seu uso nas populações que desenvolvem LMP concomitantemente com doenças autoimunes (EM) não é especificamente indicado, uma vez que nestes pacientes, a estimulação da resposta imunitária pode provocar a deterioração da patologia subjacente. Contudo, nestes pacientes, a imunização passiva por anticorpos monoclonais humanos recombinantes anti-VJC VP-I (neutralização do VJC) ou pela utilização de linfócitos T citotóxicos específicos para o VJC (traduzindo-se na lise das células infetadas pelo vírus) parece ser uma alternativa que promete resultados, sendo necessários mais estudos para avaliar a eficácia e segurança dos mesmos, como já havia sido referido anteriormente (Pavlovic *et al.*, 2015).

7. Conclusão

Iniciando esta monografia com uma abrangente abordagem relativamente a conhecimentos sobre a esclerose múltipla, procurei interligar esta patologia com a leucoencefalopatia multifocal progressiva como efeito adverso associado à utilização de medicamentos modificadores da doença dirigidos a pacientes com a forma recidivante-remitente de EM.

Através de uma revisão de literatura atual, foi-me possível identificar o natalizumab, fingolimod e dimetil fumarato como causadores deste efeito adverso potencialmente fatal nos doentes com EM, através de diferentes mecanismos que comprometem a imunocompetência destes indivíduos, destacando-se com grande preponderância o natalizumab como principal agente responsável por estes casos.

Um diagnóstico precoce da doença vai favorecer os *outcomes* dos indivíduos afetados, sendo que o passo seguinte consiste na reconstituição do sistema imunitário por forma a limitar a progressão da infeção, através da suspensão das terapias imunossupressoras (recorrendo à plasmaferese no caso do natalizumab com o objetivo de uma mais rápida eliminação da circulação).

A identificação de fatores de risco previamente ao início da terapia com estes três fármacos é de extrema importância, tal como a avaliação de exposição anterior a terapias imunossupressoras, a realização de testes serológicos a anticorpos anti-VJC e uma contagem de células sanguíneas (incluindo uma contagem linfocitária) no caso do dimetil fumarato. A monitorização dos doentes, essencialmente com recurso à IRM é importante para avaliar periodicamente o aparecimento de lesões características da LMP, especialmente em pacientes tratados com natalizumab por um período igual ou superior a dois anos, com o objetivo de melhorar o prognóstico da doença.

Apesar dos esforços recentes, o desenvolvimento de terapias direcionadas para a LMP apresentam diversos obstáculos, podendo no entanto referir a imunização passiva como uma estratégia promissora, apesar de necessitar de mais fundamentação com relevância científica de forma a avaliar a sua eficácia nas populações com LMP associada aos MMD no tratamento da EM. Outras estratégias poderão passar pela utilização do Spi-B como biomarcador identificativo de risco de desenvolvimento de LMP e pelo desenvolvimento de fármacos com eficácia igual ou superior aos existentes no tratamento da EM (melhorando o perfil de segurança).

Em jeito de conclusão, poderá apontar-se a falta de estudos como o principal fator limitante na investigação relativa à LMP, sendo urgente o investimento nesta área.

8. Referências Bibliográficas

- ADANG, Laura; BERGER, Joseph - Progressive Multifocal Leukoencephalopathy. **F1000 Faculty Rev.** . ISSN 0014-3022. 2015). doi: 10.12688/f1000research.7071.1.
- AGENCY, European Medicines - Alemtuzumab summary of product characteristics. [s.d.] 1–40.
- AGENCY, European Medicines - Updated recommendations to minimise the risk of the rare brain infection PML with Tecfidera Related recommendations apply to other fumarate medicines. 44:October (2015) 1–4.
- AGENCY, European Medicines - PRAC recommendations on signals for update of product information. 4-7 May (2015) 1–3.
- AGENCY, European Medicines - New recommendations to minimise risks of the rare brain infection PML and a type of skin cancer with Gilenya Cases of PML reported in patients who had not been previously treated with. December (2015) 1–3.
- ALHARBI, Fatimah M. - Update in vitamin D and multiple sclerosis. **Neurosciences.** . ISSN 13196138. 20:4 (2015) 329–335. doi: 10.17712/nsj.2015.4.20150357.
- ALSTADHAUG, Karl B. *et al.* - Treatment of progressive multifocal leukoencephalopathy with interleukin 7. **JAMA neurology.** . ISSN 2168-6157. 71:8 (2014) 1030–1035. doi: 10.1001/jamaneurol.2014.825.
- AUGUSTO, Luis *et al.* - Clinical and Radiological Characterization of Progressive Multifocal Leukoencephalopathy in HIV-Infected Patients: A Retrospective Analysis and Review of the Literature. **Revista científica da ordem dos médicos.** 2015) 286–296.
- BALDUZZI, A *et al.* - Polyomavirus JC-targeted T-cell therapy for progressive multiple leukoencephalopathy in a hematopoietic cell transplantation recipient. **Bone marrow transplantation.** . ISSN 1476-5365. 46:7 (2011) 987–992. doi: 10.1038/bmt.2010.221.
- BARRON, Hal; ROSENBLATT, Michael - Maraviroc and JC Virus–Associated Immune Reconstitution Inflammatory Syndrome. **The New England Journal of Medicine.** . ISSN 1533-4406. 370:5 (2014) 486–488. doi: 10.1056/NEJMc1315673.
- BELTRAMI, Sarah; GORDON, Jennifer - Immune surveillance and response to JC virus infection and PML. **Journal of Neurovirology.** . ISSN 0163-4453. 9:2 (2014) 38–48. doi: 10.1007/s13365-013-0222-6.Immune.
- BERGER, Joseph R. *et al.* - PML diagnostic criteria: Consensus statement from the AAN neuroinfectious disease section. **Neurology.** . ISSN 00283878. 80:15 (2013) 1430–1438. doi: 10.1212/WNL.0b013e31828c2fa1.
- BERGER, Joseph R.; HOUFF, Sidney A.; MAJOR, Eugene O. - Monoclonal antibodies and progressive multifocal leukoencephalopathy. **mAbs.** . ISSN 19420862. 1:6 (2009) 583–589. doi: 10.4161/mabs.1.6.9884.
- BUTLER, Mary *et al.* - **Decisional Dilemmas in Discontinuing Prolonged Disease-Modifying Treatment for Multiple Sclerosis.**
- DAMMEIER, Nele *et al.* - **Case report of a patient with progressive multifocal leukoencephalopathy under treatment with dimethyl fumarate.** [S.l.] : BMC Neurology, 2015.

DUBEY, D. *et al.* - Use of interleukin-2 for management of natalizumab-associated progressive multifocal leukoencephalopathy: case report and review of literature. **Therapeutic Advances in Neurological Disorders**. . ISSN 1756-2856. 9:3 (2015) 211–215. doi: 10.1177/1756285615621029.

EPPERLA, Narendranath *et al.* - **Mirtazapine and mefloquine therapy for non-AIDS-related progressive multifocal leukoencephalopathy**

FERENCZY, M. W.; MAJOR, E. O. - Contamination of SVG p12 cells with BK polyomavirus occurred after deposit in the American Type Culture Collection. **Journal of Virology**. . ISSN 0022-538X. 88:21 (2014) 12928–12929. doi: 10.1128/JVI.01600-14.

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**. . ISSN 08938512. 25:3 (2012) 471–506. doi: 10.1128/CMR.05031-11.

FERNÁNDEZ, Óscar *et al.* - Review of the novelties from the 31st ECTRIMS Congress , 2015 , presented at the 8th Post-ECTRIMS meeting. 62:12 (2016) 559–569.

GAJOFATTO, Alberto; BENEDETTI, Maria Donata - Treatment strategies for multiple sclerosis: When to start, when to change, when to stop? **World journal of clinical cases**. . ISSN 2307-8960. 3:7 (2015) 545–555. doi: 10.12998/wjcc.v3.i7.545.

HOEPNER, Robert *et al.* - Efficacy and Side Effects of Natalizumab Therapy in Patients with Multiple Sclerosis. **Journal of Central Nervous System Disease**. 6:(2014) 41–49. doi: 10.4137/JCnsD.s14049.RECEivEd.

HUNTER, Samuel F. - Overview and Diagnosis of Multiple Sclerosis. 22:6 (2016) 141–150.

JELCIC, Ivan *et al.* - Broadly neutralizing human monoclonal JC polyomavirus VPI– specific antibodies as candidate therapeutics for progressive multifocal leukoencephalopathy. **Science Translational Medicine**. . ISSN 1471-0072. 7:306 (2015) 223–230. doi: 10.1038/ja.2013.113.Venturicidin.

JIANG, Mengxi *et al.* - The role of polyomaviruses in human disease. **Virology**. . ISSN 00426822. 384:2 (2009) 266–273. doi: 10.1016/j.virol.2008.09.027.

KAPPOS, Ludwig *et al.* - Long-term effects of fingolimod in multiple sclerosis: the randomized FREEDOMS extension trial. **Neurology**. . ISSN 1526-632X. 84:(2015) 1582–91. doi: 10.1212/WNL.0000000000001462.

LIMA, Marco A. - Progressive multifocal leukoencephalopathy: new concepts. **Arquivos de neuro-psiquiatria**. . ISSN 1678-4227. 71:9B (2013) 699–702. doi: 10.1590/0004-282X20130154.

LOVE, S. - Demyelinating diseases. **Journal of clinical pathology**. . ISSN 0021-9746. 59:2006) 1151–1159. doi: 10.1136/jcp.2005.031195.

M. HART, Felecia; BAINBRIDGE, Jacquelyn - **Current and Emerging Therapies of Multiple Sclerosis** [Em linha], atual. 2016. Disponível em WWW:<URL:http://dx.doi.org/10.1142/9789814271325_0006>.

M. VAN DER KOLK, Nicolien *et al.* - Progressive multifocal leukoencephalopathy in an immunocompetent patient. **Annals of Clinical and Translational Neurology**. . ISSN 1662680X. 5:3 (2015) 226–232. doi: 10.1159/000354828.

MAJOR, Eugene O.; NATH, Avindra - A link between long-term natalizumab dosing in MS and PML: Putting the puzzle together. **Neurology: Neuroimmunology & Neuroinflammation**. . ISSN 2332-7812. 3:3 (2016) 1–3. doi: 10.1212/NXI.0000000000000235.

MCGUIGAN, C. *et al.* - Stratification and monitoring of natalizumab-associated progressive multifocal leukoencephalopathy risk: recommendations from an expert group. **Journal of neurology, neurosurgery, and psychiatry**. . ISSN 1468-330X. 87:2016) 117–125. doi: 10.1136/jnnp-2015-311100.

MEIRA, Maria *et al.* - Natalizumab-induced POU2AF1/Spi-B upregulation. **Neurology - Neuroimmunology Neuroinflammation**. . ISSN 2332-7812. 3:3 (2016) 1–9. doi: 10.1212/NXI.0000000000000223.

MELOROSE, J.; PERROY, R.; CAREAS, S. - **FDA drug safety communication: FDA warns about cases of rare brain infection with MS drug Gilenya (Fingolimod) in two patients with no prior exposure to immunosuppressant drugs**

MISKIN, Dhanashri P.; NGO, Long H.; KORALNIK, Igor J. - Diagnostic delay in progressive multifocal leukoencephalopathy. **Annals of Clinical and Translational Neurology**. . ISSN 23289503. 3:5 (2016) 386–391. doi: 10.1002/acn3.301.

NOYES, Katia; WEINSTOCK-GUTTMAN, Bianca - Impact of diagnosis and early treatment on the course of multiple sclerosis. **American Journal of Managed Care**. . ISSN 10880224. 19:17 SUPPL. (2013) 321–331.

PAVLOVIC, Dejan *et al.* - Progressive multifocal leukoencephalopathy: current treatment options and future perspectives. **Therapeutic advances in neurological disorders**. . ISSN 1756-2856. 8:6 (2015) 255–273. doi: 10.1177/1756285615602832.

POLMAN, Chris H. *et al.* - Diagnostic criteria for multiple sclerosis: 2010 Revisions to the McDonald criteria. **Annals of Neurology**. . ISSN 03645134. 69:2 (2010) 292–302. doi: 10.1002/ana.22366.

PROSPERINI, Luca; PONTECORVO, Simona - Dimethyl fumarate in the management of multiple sclerosis: Appropriate patient selection and special considerations. **Therapeutics and Clinical Risk Management**. . ISSN 1178203X. 12:2016) 339–350. doi: 10.2147/TCRM.S85099.

QUINTANA, Francisco J. - Inmunopatología de la Esclerosis Múltiple. **Medicina**. 074 (2014) 404–410.

R. PARKER HARP, Chelsea *et al.* - B cell antigen presentation is sufficient to drive neuroinflammation in an animal model of multiple sclerosis. **Journal of Immunology**. . ISSN 1471-0072. 67:3 (2015) 223–230. doi: 10.1038/ja.2013.113.Venturicin.

SANJO, Nobuo *et al.* - Progressive Multifocal Leukoencephalopathy with Balanced CD4/CD8 T-Cell Infiltration and Good Response to Mefloquine Treatment. **Internal Medicine**. . ISSN 0918-2918. 55:12 (2016) 1631–1635. doi: 10.2169/internalmedicine.55.6051.

SORENSEN, P. S.; BLINKENBERG, M. - The potential role for ocrelizumab in the treatment of multiple sclerosis: current evidence and future prospects. **Therapeutic Advances in Neurological Disorders**. . ISSN 1756-2856. 9:1 (2016) 44–52. doi: 10.1177/1756285615601933.

SOSPEDRA, Mireia *et al.* - Treating progressive multifocal leukoencephalopathy with interleukin 7 and vaccination with JC virus capsid protein VPI. **Clinical Infectious**

Diseases. . ISSN 15376591. 59:11 (2014) 1588–1592. doi: 10.1093/cid/ciu682.

TAVAZZI, E.; FERRANTE, P.; KHALILI, K. - **Progressive multifocal leukoencephalopathy: an unexpected complication of modern therapeutic monoclonal antibody therapies**

TORKILDSEN, O.; MYHR, K. M.; BØ, L. - Disease-modifying treatments for multiple sclerosis - a review of approved medications. **European Journal of Neurology**. . ISSN 14681331. 23:2016) 18–27. doi: 10.1111/ene.12883.

ZIEMSEN, Tjalf *et al.* - Optimizing therapy early in multiple sclerosis: An evidence-based view. **Multiple Sclerosis and Related Disorders**. . ISSN 22110356. 4:5 (2015) 460–469. doi: 10.1016/j.msard.2015.07.007.

ZIEMSEN, Tjalf *et al.* - Design of TRUST, a non-interventional, multicenter, 3-year prospective study investigating an integrated patient management approach in patients with relapsing-remitting multiple sclerosis treated with natalizumab. **BMC Neurology**. . ISSN 1471-2377. 16:98 (2016) 1–9. doi: 10.1186/s12883-016-0625-0.

9. Anexos

9.1. Anexo I – Tabela de características clínicas e de IRM que podem ser consideradas num diagnóstico diferencial de EM e LMP.

<i>Característica</i>	<i>Esclerose Múltipla</i>	<i>Leucoencefalopatia Multifocal Progressiva</i>
Características Clínicas		
Início	Agudo	Subagudo
Evolução	<ul style="list-style-type: none"> - Ao longo de horas ou dias - Normalmente estabiliza - Resolução espontânea das exacerbações mesmo sem terapia 	<ul style="list-style-type: none"> - Ao longo de semanas - Progressiva
Manifestações	<ul style="list-style-type: none"> - Diplopia - Parestesia - Neurite óptica - Mielopatia 	<ul style="list-style-type: none"> - Afasia - Alterações comportamentais e neuropsicológicas - Défices visuais do retrochiasma - Hemiparesia - Convulsões
Características de IRM		
Aspeto e localização de novas lesões	<ul style="list-style-type: none"> - Focais - Geralmente com uma localização periventricular - Lesões ocorrem em todas as áreas do cérebro, particularmente no corpo caloso e medula espinhal 	<ul style="list-style-type: none"> - Difusas - Geralmente lesões > 3cm com distribuição monofocal, multifocal ou dispersa - Localização subcortical em detrimento da periventricular - Afeta fibras em U e estendem-se até ao giro - Envolvimento da substância cinzenta em 50% dos casos - Fossa posterior local menos frequente - Apresentações na medula espinhal são raras
Margens	<ul style="list-style-type: none"> - Margens bem definidas, maioritariamente redondas ou em forma de chama (especialmente as lesões periventriculares) - Confluentes com outras lesões - Fibras em U podem estar envolvidas 	<ul style="list-style-type: none"> - Forma irregular - Margem mal definida na direção da substância branca - Margem bem definida na direção da substância cinzenta
Modo de extensão	<ul style="list-style-type: none"> - Inicialmente focais, as lesões aumentam de dimensão ao longo de dias ou semanas e mais tarde diminuem de dimensão ao longo de meses 	<ul style="list-style-type: none"> - O volume das lesões aumenta continuamente, por vezes de forma rápida para regiões contíguas (multifocais) e não contíguas (dispersas) confinadas aos tratos da substância branca, poupando o cortex
Imagens T2	<ul style="list-style-type: none"> - Hiperintensidade homogénea 	<ul style="list-style-type: none"> - Hiperintensidade difusa - Lesões de aparência microcística apresentadas como pontos

Imagens T1	<ul style="list-style-type: none"> - Lesões agudas: hipointensas (devido a edema) ou isointensas - Aumento da intensidade do sinal ao longo do tempo em cerca de 80% - Diminuição da intensidade do sinal (perdas axonais) em cerca de 20% 	<ul style="list-style-type: none"> - Ligeiramente hipointensas no início, com a intensidade do sinal a diminuir ao longo do tempo nas áreas afetadas - Sem reversão para intensidade de sinal isointensa
Sequência FLAIR	<ul style="list-style-type: none"> - Hiperintensa - Bem delineada 	<ul style="list-style-type: none"> - FLAIR é a sequência preferida no diagnóstico de LMP, devido à sua localização subcortical
Realce de contraste	<ul style="list-style-type: none"> - Lesões agudas: realce homogêneo nodular ou em forma de anel, com margens bem definidas - Lesões crônicas: sem realce 	<ul style="list-style-type: none"> - Menos de metade dos casos até hoje mostraram algum tipo de realce, normalmente com uma aparência em forma de pontos ou irregular
Imagem de difusão por ressonância magnética	<ul style="list-style-type: none"> - Lesões agudas: hiperintensas - Lesões crônicas: isointensas - Está de acordo com a forma das lesões observadas por FLAIR e imagens T2 	<ul style="list-style-type: none"> - Lesões agudas são hiperintensas mas não específicas para LMP - Útil para detetar novas lesões da LMP
Atrofia	<ul style="list-style-type: none"> - Atrofia focal possível, devido à degeneração focal da substância branca - Sem progressão 	<ul style="list-style-type: none"> - Sem atrofia focal inicialmente, podendo ser observada em fases mais tardias da progressão da LMP

Tabela traduzida e adaptada de (McGuigan et al., 2016)

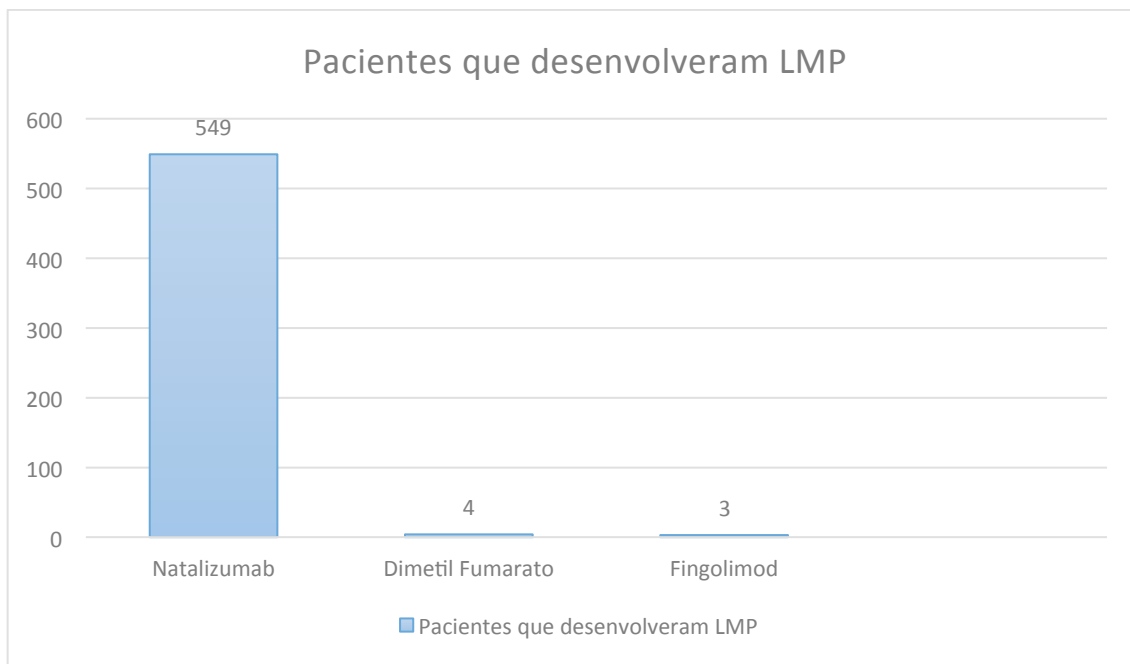
9.2. Anexo II – Características das três populações mais representativas de LMP.

<i>População com LMP</i>	<i>Dimensão</i>	<i>LMP-SIRI</i>	<i>Taxa de Sobrevivência</i>
HIV+	~80%	Frequência desconhecida	- 70% até um ano - 40-50% até dois anos (no período anterior ao advento das terapias antirretrovirais a taxa de sobrevivência era de 9% até o primeiro ano)
Desordens Hematológicas	~10%	Raro	- 10% após 2 meses
Pacientes com EMRR tratados com Natalizumab	<5%*	Frequente (~70%)	- 77% até 3 anos

**Percentagem baseada no número de casos reportados de LMP associados ao uso de natalizumab no período de 2005-2014, assumindo que a contribuição das populações com HIV e desordens hematológicas para com os casos de LMP permaneceram estáveis desde 2005.*

Traduzido e adaptado de (Pavlovic et al., 2015)

9.3. Anexo III – Gráfico de incidência comparativa de LMP associada aos fármacos natalizumab, dimetil fumarato e fingolimod



Natalizumab – O número de casos de LMP baseia-se numa amostra de 138800 pacientes que até 3 de junho de 2015 correspondia sensivelmente ao número de pacientes que já tinham sido submetidos ao tratamento com natalizumab.

Dimetil Fumarato – O número de casos de LMP baseia-se numa amostra superior a 100000 pacientes que até 9 de abril de 2015 correspondia sensivelmente ao número de pacientes que já tinham sido submetidos ao tratamento com dimetil fumarato.

Fingolimod – O número de casos de LMP baseia-se numa amostra de 130000 pacientes que até 11 de agosto de 2016 correspondia sensivelmente ao número de pacientes que já tinham sido submetidos ao tratamento com fingolimod.

9.4. Anexo IV – Fármacos candidatos ao tratamento de LMP

Classe	Fármaco	Mecanismo de ação	Evidência pré-clínica	Experiência clínica	
Terapias antivirais					
	Inibidores da entrada de VJC nas células	Cloropromazina	Bloqueio dos receptores de serotonina	Inibe a infecção e replicação do VJC numa cultura de tecido com células da glia	
		Citalopram	Bloqueio dos receptores de serotonina	Bloqueia entrada do VJC em linhagens de células transfectadas com o receptor serotoninérgico 5HT2AR*	
		Mirtazapina	Bloqueio dos receptores de serotonina	Bloqueia entrada do VJC em linhagens de células transfectadas com o receptor serotoninérgico 5HT2AR	Quatro <i>case report</i> onde foi demonstrado benefício
		Risperidona	Bloqueio dos receptores de serotonina	A risperidona falhou em prevenir a infecção pelo VJC de células gliais <i>in vitro</i>	Um <i>case report</i> onde foi demonstrado benefício
	Ziprasidona	Bloqueio dos receptores de serotonina		Um <i>case report</i> onde não foi demonstrado qualquer benefício	
Inibidores do transporte retrógrado	Retro-2cycl	Inibe o transporte retrógrado dos poliomavírus para o retículo endoplasmático	Inibe a infecção inicial e a disseminação em culturas de células		
	Brefeldin A	- Inibe a arf1 GTPase*. - Inibe o transporte para o retículo endoplasmático e a desmontagem do vírus	Tratamento de células SVG-A* com este fármaco, reduziu em 50% a infectividade do VJC		
Inibidores da replicação de DNA	Cidofovir	Inibe a replicação viral ao incorporar-se no		Estudo clínico em pacientes com LMP e	

		DNA viral e ao inibir as DNA polimerases virais		dados de meta-análise clínica não demonstraram qualquer benefício
	Brincidofovir	Éster derivado do cidofovir	Inibe a replicação do VJC em linhagens de células derivadas do cérebro humano	Um case reportonde foi demonstrado benefício
	Citarabina	- Inibe as RNA* e DNA polimerases - Inibe as redutases nucleotídicas	Eficaz a diminuir a replicação de VJC <i>in vitro</i>	Estudo clínico em pacientes com LMP não demonstrou qualquer benefício
	Ganciclovir	Inibe as DNA polimerases virais	Inibição concomitante da replicação de citomegalovírus e VJC em fibroblastos humanos	Um case reportonde foi demonstrado benefício
	Leflunomida	Inibe a síntese de RNA e DNA ao inibir a enzima mitocondrial dihydroorotate dehydrogenase envolvida na biossíntese de pirimidinas	Supressão <i>in vitro</i> de vírus BK e VJC	Um case reportonde foi demonstrado benefício
	Topotecan	Inibe a replicação de DNA ao induzir quebras da dupla cadeia durante a replicação do DNA	Supressão da replicação de DNA do VJC numa linhagem de células de glioblastoma humano	Estudo clínico inconclusivo
Anti-maláricos	Mefloquina	Desconhecido	Inibe a infeção e replicação do VJC numa cultura de células em concentrações que atingem o cérebro dos pacientes com malária	Estudo clínico terminado prematuramente devido à falha de demonstração de benefício em comparação com o grupo controlo
Inibidores da poli(ADP-ribose)polimerase-1	3-aminobenzamida	Inibe a replicação do DNA ao inibir a reparação das quebras das	Supressão <i>in vitro</i> da replicação e propagação de VJC numa	

		cadeias simples de DNA	linhagem de células de neuroblastoma	
Inibidores da tirosina cinase	Imatinib	Mecanismo desconhecido na infecção por VJC		
siRNA	Ag122	siRNA* contra a agnoproteína do VJC	O tratamento com Ag122 inibe a infecção por VJC <i>in vitro</i> em células SVG-A. O siRNA injetado no cérebro de ratos 4 dias após a injeção de células VJC positivas, reduziu significativamente a percentagem de células infetadas com VJC em comparação com os tratamentos do grupo de controlo	
Imunomoduladores				
Citocinas	IFN-alfa	Estimula as respostas imunes inatas e adaptativas mediadas por células		-Estudo retrospectivo sugeriu sobrevivência aumentada em comparação com grupos controlo - Estudo clínico piloto prospetivo em pacientes com LMP não demonstrou qualquer benefício
	IL-2	Estimula o desenvolvimento de células linfocitárias T e providencia outro tipo de sinalização bioquímica ao sistema imunitário		Benefício observado em <i>case reports</i> individuais
	IL-7	Estimula a proliferação de todas as células		Benefício observado em <i>case reports</i>

		da linhagem linfóide e o respetivo desenvolvimento, sobrevivência e homeostase		individuais
Inibidores da inflamação	Maraviroc	Bloqueia a inflamação dos tecidos mediada pelo receptor de quimiocinas C-C		Benefício observado num <i>case report</i>
	Glucocorticóides	Supressão geral do sistema imunitário		Benefício observado em <i>case reports</i> individuais
Estratégias de Imunização				
Imunização passiva	Anticorpos humanos monoclonais recombinantes anti-VJC VP-I	Neutralização do VJC	Neutraliza as estirpes selvagens de VJC Mad-4 (patogénicas) e previne a infeção de células SVG-A	
	LTC específicos para o VJC	Lise e <i>clearance</i> das células infetadas pelo VJC		Benefício observado num <i>case report</i>
Imunização ativa	IL-7 + vacina VJC VPI	Proteína da cápside do VJC + IL-7 recombinante de forma a estimular a resposta de células T específicas para o VJC		Benefício observado em dois <i>case reports</i>
	Vacina oral de VJC	Antígenos peptídicos do VJC adaptados de forma a estimular uma resposta imune específica para o VJC no trato intestinal humano		

A preto – Sem dados . **Arf1** – ADP-ribosylation factor 1. **GTPase** – Guanosine triphosphatase
Células SVG-A – Células originalmente obtidas a partir de uma cultura de células da glia fetais (Ferenczy e Major, 2014). **RNA** – Ribonucleic acid
siRNA – Small interfering RNA ou RNA de silenciamento

Tabela traduzida e adaptada de (Pavlovic et al., 2015)