

FMUC FACULDADE DE MEDICINA
UNIVERSIDADE DE COIMBRA

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA – TRABALHO FINAL

TIAGO ANDRÉ DIAS DA COSTA E SILVA

***LEUCOENCEFALOPATIA MULTIFOCAL PROGRESSIVA INDUZIDA
PELA TERAPÊUTICA MODIFICADORA BIOLÓGICA***

ARTIGO DE REVISÃO

ÁREA CIENTÍFICA DE INFECIOLOGIA

Trabalho realizado sob a orientação de:
PROFESSOR DOUTOR JOSÉ GABRIEL SARAIVA DA CUNHA

FEVEREIRO/2019

LEUCOENCEFALOPATIA MULTIFOCAL PROGRESSIVA INDUZIDA PELA
TERAPÊUTICA MODIFICADORA BIOLÓGICA

Aluno: Tiago André Dias da Costa e Silva

Afiliação: Faculdade de Medicina, Universidade de Coimbra, Portugal

Endereço de Correio Electrónico: tiagodcsilva@hotmail.com

ÍNDICE

1. LISTA DE ABREVIATURAS.....	4
2. RESUMO.....	5
3. ABSTRACT.....	6
4. INTRODUÇÃO.....	7
5. MATERIAL E MÉTODOS.....	8
6. DESCRIÇÃO.....	9
6.1 O vírus John Cunningham.....	9
6.1.1 Descrição do vírus	9
6.1.2 O genoma viral.....	11
6.1.3 Fisiopatologia da infecção viral.....	12
6.1.4 Receptores virais e invasão da célula hospedeira.....	15
6.2 A doença – leucoencefalopatia multifocal progressiva.....	17
6.2.1 A evolução de uma doença antes considerada rara.....	17
6.2.2 Era dos anticorpos monoclonais.....	18
6.2.3 Condições e terapêuticas que predisõem à doença.....	21
7. MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS	24
8. DIAGNÓSTICO.....	26
8.1 Diagnóstico diferencial.....	26
8.2 Exames complementares de diagnóstico.....	27
9. TRATAMENTO E PROGNÓSTICO.....	30
10. DOENÇAS ASSOCIADAS À LEUCOENCEFALOPATIA MULTIFOCAL PROGRESSIVA	34
10.1 Esclerose múltipla.....	34
10.1.1 Natalizumab.....	34
10.1.1.1 Quantificação e gestão do risco.....	36
10.1.1.2 Papel da L-selectina (CD62L).....	38
10.1.2 Outros fármacos.....	39
10.2 Patologia gastrointestinal.....	39

10.3 Patologia dermatológica.....	40
10.4 Patologia reumatológica	42
10.5 Patologia hematológica reumatológica.....	45
10.6 Transplantes.....	47
11. DISCUSSÃO E CONCLUSÃO.....	48
12. AGRADECIMENTOS.....	50
13. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	51

1. LISTA DE ABREVIATURAS

ADN – Ácido desoxirribonucleico

AR – Artrite Reumatóide

BV – Brentuximab Vedotin

DC – Doença de Crohn

EM – Esclerose Múltipla

EMA – European Medicines Agency

EUA – Estados Unidos da América

FDA – Food and Drug Administration

FLAIR – Fluid-attenuated inversion recovery

HAART – Highly active antirretroviral therapy

HLA – Human leukocyte antigen

ICAM-1 – Intercelular adhesion molecule 1

IHC – Imunohistoquímica

LCR – Líquido cefalorraquidiano

LES – Lúpus Eritematoso Sistémico

LFA-1 – Leukocyte function-associated antigen type 1

LH – Linfoma de Hodgkin

LLC – Leucemia Linfocítica Crónica

LMP – Leucoencefalopatia multifocal progressiva

LTC – Linfócitos T citotóxicos

MACV-1 – Molécula de adesão das células vasculares

MAdCAM-1 – Mucosal addressin vascular cell adhesion molecule 1

NCCR – Noncoding control region

PCR – Polymerase Chain Reaction

R-CHOP – Rituximab + Ciclofosfamida + Doxorrubicina + Vincristina (Oncovin) + Prednisolona

SIDA – Síndrome da imunodeficiência adquirida

SIRI – Síndrome inflamatória de reconstituição imune

SNS – Sistema nervoso central

VJC – Vírus John Cunningham

VIH – Vírus da imunodeficiência humana

2. RESUMO

A leucoencefalopatia multifocal progressiva (LMP) é uma doença rara e desmielinizante do sistema nervoso central (SNC) que resulta da reactivação do vírus John Cunningham (VJC). Após a infecção primária, que geralmente ocorre na infância, este vírus dissemina-se por via hematogénica e atinge preferencialmente órgãos como o rim, tecido linfóide e cérebro onde persiste de forma latente. A reactivação do vírus ocorre em contexto de imunodeficiência ou em doentes a realizar tratamento com recurso à terapêutica imunomoduladora ou imunossupressora. Sintomas comuns nos doentes com LMP centram-se na afasia, disartria, ataxia e hemiparesia. O tratamento dirigido contra o vírus não revela quaisquer benefícios, deste modo o défice imune subjacente deve ser rapidamente revertido de forma a evitar uma rápida progressão da doença e consequências graves para o indivíduo.

Com o surgimento da pandemia VIH-SIDA o número de casos registados desta patologia aumentou exponencialmente; contudo, a introdução da terapia anti-retroviral altamente activa (HAART, em inglês *highly active antiretroviral therapy*) aumentou a taxa de sobrevivência dos pacientes infectados pelo VJC. Num paradigma diferente e mais actual emergiu um outro grupo de pacientes que apresentam um risco aumentado de desenvolver a LMP - aqueles que se encontram sob terapêutica modificadora biológica. Com o advento da descoberta dos anticorpos monoclonais e a sua capacidade para modular o sistema imunitário, estes têm vindo a ser cada vez mais empregues em certas áreas da medicina como o combate à rejeição de órgãos transplantados ou para tratar doenças auto-imunes como a esclerose múltipla (EM) e o lúpus eritematoso sistémico (LES). Consequentemente, revela-se de extrema importância estudar o impacto desta modalidade terapêutica no surgimento de novos casos de LMP, bem como de possíveis complicações iatrogénicas associadas. O objectivo deste artigo de revisão passa por estudar a influência da terapia modificadora biológica na indução da LMP que, apesar de rara, apresenta elevadas taxas de mortalidade e morbilidade.

PALAVRAS-CHAVE

Leucoencefalopatia multifocal progressiva; terapia modificadora biológica; anticorpos monoclonais.

3. ABSTRACT

Progressive multifocal leukoencephalopathy is a rare and demyelinating disease of the central nervous system that results from the reactivation of the John Cunningham virus. After primary infection, which usually occurs in childhood, this virus spreads by the hematogenous route and reaches organs such as the kidney, lymphoid tissue and brain, where it remains in latent form. Virus reactivation occurs in an immunodeficiency context or in patients undergoing treatment with immunomodulatory or immunosuppressive therapy. Common symptoms in patients with this disease are aphasia, dysarthria, ataxia and hemiparesis. There is no effective antiviral treatment available, thus the underlying immune deficit must be rapidly reversed in order to avoid the rapid progression of the disease and severe consequences for the patient.

With the emergence of the HIV-AIDS pandemic, the incidence of progressive multifocal leukoencephalopathy increased rapidly; however, the introduction of the highly active antiretroviral therapy led to an increase in the survival rates of infected patients. In a different and more recent paradigm, another group of patients emerged who have an increased risk of developing the disease – those undergoing biological modifying therapy. With the discovery of monoclonal antibodies and their ability to modulate the immune system, they are increasingly being used in certain areas of medicine, such as the prevention of organ rejection after transplant, or the treatment of autoimmune diseases, such as multiple sclerosis and systemic lupus erythematosus. Consequently, it is extremely important to study the impact of such therapy in the emergence of new cases of progressive multifocal leukoencephalopathy, as well as of possible associated iatrogenic complications. The aim of this review is to study the influence of biological modifying therapy in the induction of this disease, which, although rare, has high mortality and morbidity rates.

KEY WORDS

Progressive multifocal leukoencephalopathy; biological modifying therapy; monoclonal antibodies.

4. INTRODUÇÃO

A primeira descrição neuropatológica da LMP data de 1958, mas foi só na década de setenta que foi identificado o vírus inerente a esta patologia - o VJC. Estudos epidemiológicos indicam que a exposição a este vírus está globalmente difundida na população humana. Durante muitos anos a LMP foi considerada como complicação exclusiva de doenças linfoproliferativas ou tratamentos com recurso a quimioterapia, porém a sua incidência aumentou nitidamente na década de oitenta com a pandemia do VIH-SIDA. Mais recentemente a LMP tem sido descrita em pacientes com doenças auto imunes a realizar tratamento com a terapia modificadora biológica. Alguns exemplos desta associação são o natalizumab para a EM, o rituximab para o LES e o efalizumab para a psoríase.¹

É possível estabelecer quatro diferentes épocas associadas ao desenvolvimento da LMP: era pré-SIDA, era relacionada com a SIDA, era pós HAART e era dos anticorpos monoclonais. Esta revisão científica vai-se centrar nesta última época pois são inúmeros os casos de LMP já associados à terapia modificadora biológica, o que tem levantado preocupações no que concerne ao perfil de segurança destes agentes. O início da LMP após o uso dos anticorpos monoclonais tem fornecido elementos fundamentais e aberto portas para percebermos melhor a patogénese desta doença.² Estes agentes têm a capacidade para modelarem as funções do sistema imune; de facto, baixos níveis de CD4+ e CD8+ parecem ser o principal factor de risco associado ao seu uso.³

5. MATERIAL E MÉTODOS

A pesquisa da literatura científica foi efectuada com recurso à base de dados PubMed com filtros para a língua anglo-saxónica e artigos de revisão publicados nos últimos 15 anos. As palavras-chave pesquisadas foram “progressive multifocal leukoencephalopathy”, “monoclonal antibodies” e “biological therapy”. Sempre que justificável foram consultadas referências bibliográficas dos artigos resultantes da pesquisa.

6. DESCRIÇÃO

6.1 O VIRUS JOHN CUNNINGHAM

6.1.1 DESCRIÇÃO DO VÍRUS

O VJC é um vírus sem envelope e com ADN circular de cadeia dupla. Foi isolado em 1971 a partir do cérebro de um paciente com linfoma de Hodgkin (LH) e é o agente etiológico da LMP.² Faz parte de uma lista de agentes virais pertencentes à família dos polyomavirus sendo, juntamente com o vírus BK (responsável pela nefropatia nos doentes imunossuprimidos) e o polyomavirus das células de Merkel (associado ao carcinoma das células de Merkel na pele), o mais comum.⁴ É um vírus neurotrópico que apresenta distribuição ubíqua. Na verdade, estudos epidemiológicos realizados a partir de amostras de sangue colhidas de indivíduos saudáveis indicam que mais de metade da população adulta foi exposta a este vírus; com 19% a 27% destas pessoas a eliminarem-no através da urina.² Entre 60% a 80% da população humana produz anticorpos contra o VJC.⁵ A seroprevalência aumenta com a idade e aos 17 anos 65% da população é seropositiva. O VJC encontra-se bastante difundido na população humana, contudo a seropositividade também varia consoante a área geográfica. Em países mais desenvolvidos como o Japão ou a Alemanha 85% a 92% das pessoas são seropositivas.⁶ Vários testes têm sido usados para determinar a taxa de seroprevalência. Actualmente o uso de tecnologias mais sensíveis nas populações testadas, como o ensaio de imunoabsorção enzimática na proteína VP1 recombinante, têm demonstrado uma grande variabilidade na prevalência do vírus quer nas crianças quer nos adultos.² A reactividade cruzada com outros polyomavirus, com especial destaque para o vírus BK, não é provavelmente significativa.⁷ A aquisição deste vírus não está associada à síndrome clínica já que apenas uma pequena porção dos indivíduos afectados vão desenvolver a LMP, processo que ocorre apenas na presença de alterações subjacentes ao sistema imune.⁵

Apesar do VJC ser um vírus neurotrópico ainda não se encontram completamente esclarecidos os mecanismos através dos quais ocorre a transmissão inicial do vírus e a subsequente disseminação e infecção do SNC. Mantém-se o debate se a LMP é o resultado de uma infecção primária ou reactivação de uma infecção latente; contudo tem sido postulado que a doença é causada por uma forma mutante do vírus que entra no cérebro após reactivação secundária a uma infecção assintomática.^{6,8} A infecção primária, geralmente assintomática e que se pensa ocorrer durante a infância,⁹ pode ter origem em duas vias: através do tracto respiratório superior por contacto interpessoal ou tracto

gastrointestinal por via da ingestão de água ou comida contaminada.³ A presença de ADN viral nas células estromais das amígdalas e da orofaringe suporta a teoria primordial de que serão as amígdalas o local inicial da infecção.^{3,10} A segunda teoria é baseada na detecção do VJC nas células epiteliais gastrointestinais, plexo mioentérico e esófago.³ Potenciais modos alternativos de transmissão incluem a vida transplacentária e via transfusão sanguínea.² Após a infecção primária o vírus dissemina-se por via hematogénica¹⁰ e atinge determinados locais onde permanece de forma latente, tais como: rim, medula óssea, amígdalas, baço, nódulos linfóides, pulmão e cérebro.^{9,10} O tropismo que o VJC apresenta para os linfócitos B e a detecção do mesmo no tecido amigdalino levaram à postulação de que o vírus pode persistir nos linfócitos B circulantes e nos linfócitos pré-B. Células progenitoras hematopoiéticas CD34+ também podem representar um reservatório onde o vírus permanece de forma latente.⁸

Segundo evidência recente o vírus entra no cérebro nas fases iniciais da infecção e estabelece nas células glias uma infecção designada por não produtiva ou crónica. Sob condições particulares, geralmente associadas a imunossupressão, o VJC tem a capacidade para se replicar activamente no cérebro conduzindo à LMP. Uma vez na corrente sanguínea o vírus atravessa a barreira hematoencefálica através dos linfócitos B e células progenitoras hematopoiéticas CD34+ infectadas, entrando no sistema nervoso central e provocando a infecção dos astrócitos e a lise dos oligodendrócitos, com consequências graves ao nível da desmielinização.³ Os linfócitos B assumem um papel preponderante neste processo tendo até já sido descritos como “cavalos de Tróia”.^{8,11} A reactivação do vírus pode ocorrer após a terapia modificadora biológica já que esta leva a estados de imunossupressão com diminuição da mobilização das células CD4+ e CD8+. Anticorpos monoclonais como o natalizumab, rituximab e efalizumab afectam directa ou indirectamente a cinética dos linfócitos B provocando alterações no seu tráfico, aumentando a incidência da LMP.¹¹ O controlo da infecção do VJC por parte do sistema imunitário é baseado maioritariamente na resposta celular imunitária. Os linfócitos T CD8+ citotóxicos (LTC) reconhecem os epítomos de proteínas virais de células infectadas apresentados por HLA de classe I, impedindo a disseminação do vírus. Os LTC são geralmente encontrados no sangue de pacientes que sobreviveram à LMP; contudo são raramente detectados em pacientes com LMP que apresentam uma esperança média de vida de cerca de um ano. Células T CD4+ específicas foram detectadas no sangue de pacientes que sobreviveram à LMP e o número deste tipo de células correlaciona-se com a depuração do VJC no líquido cefalorraquidiano (LCR).² A imunidade humoral não confere protecção contra o desenvolvimento da doença; este facto é explicado à luz da detecção de altos títulos de anticorpos anti VJC em estados avançados da doença.¹⁰

6.1.2 O GENOMA VIRAL

O VJC é um vírus com ADN circular e de cadeia dupla composto por 5,13 Kb, sem envelope e com cápside icosaédrica. Mede aproximadamente 40 nm de diâmetro.^{2,5} O genoma viral encontra-se funcionalmente dividido em 3 regiões: região precoce codificante, região tardia codificante e região de controlo não codificante (NCCR, em inglês *noncoding control region*) também designada por região reguladora e que separa fisicamente as duas anteriores.⁶ A NCCR corresponde à porção do genoma viral que não codifica proteínas virais, mas que controla a transcrição viral e a replicação de DNA. Ao sofrer deleções e duplicações diferirá da variante tipicamente encontrada na urina.¹² A região precoce codifica as proteínas reguladoras do antígeno T e do antígeno t (necessárias para a transmissão viral e início da replicação do ADN) e está codificada no sentido anti-horário. De modo inverso, a região reguladora e a região tardia (codifica a proteína não estrutural agnoproteína e as três proteínas estruturais que compõem a cápside: VP1, VP2 e VP3) encontram-se codificadas no sentido horário.¹³ A região tardia contém ainda os epítomos para o reconhecimento dos anticorpos.⁶ Apenas a proteína estrutural VP1 está exposta na superfície da cápside determinando assim a especificidade do receptor.⁵ Mutações no gene desta proteína levam a alterações no sítio de ligação da proteína ao receptor o que pode favorecer o desenvolvimento da LMP.¹²

As regiões codificantes encontram-se íntegras no ADN viral e não foram associadas com o processo patogénico da doença; por outro lado a sequência da região reguladora do VJC é conhecida pela sua elevada variabilidade e contém factores determinantes para o neurotropismo e neurovirulência.¹³

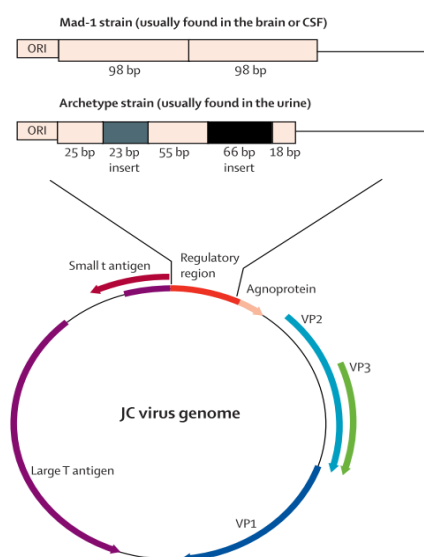


Figura 1: Representação do genoma do VJC (retirado de ¹³).

6.1.3 FISIOPATOLOGIA DA INFECÇÃO VIRAL

Como referido anteriormente pensa-se que a LMP não seja causada por uma infecção primária cerebral ou reactivação do vírus dentro do cérebro, mas sim o resultado da entrada no cérebro de uma forma mutante do VJC após reactivação nos tecidos onde se encontra na sua forma latente. A sequência da região de controlo não codificante viral isolada a partir da urina, rim e amígdalas de indivíduos imunocompetentes apresenta uma estrutura básica designada por arquétipo.¹¹ Durante a reactivação a sequência arquétipo do VJC transforma-se na sua forma mutante designada por JC MAD-1 (designada por vírus neurotrópico ou protótipo). Esta apresenta deleções e duplicações na região promotora. Pacientes com LMP apresentam estruturas divergentes geradas por rearranjos a partir da sequência arquétipo.⁶ Em particular, é necessária a introdução de repetições tandem de 98 pares de base na região reguladora para esta se tornar neurotrópica e consequentemente replicar-se nos oligodendrócitos.^{5,7,14} A sequência original foi isolada a partir de um paciente com LMP na Universidade de Wisconsin-Madison, tendo sido designada por MAD-1. Sequências subsequentes têm sido designadas por MAD-2 e assim por diante de acordo com os locais de isolamento ou a sua associação com estados de imunossupressão.⁵ Foram relatados polimorfismos na região tardia codificante em resultado de modificações na VP1 (região envolvida no reconhecimento celular).⁶

O rearranjo genético que ocorre na sequência reguladora do VJC neurotrópico permite a ligação à proteína NF-1X. Esta proteína de ligação é partilhada pelos linfócitos B e pelas células gliais. Desta forma as células B são o local mais provável, embora ainda não comprovado, onde ocorre a mutação pois possuem o material genético (enzimas Rag1 e Rag2) que facilita os rearranjos através da adição e deleção de nucleotídeos.^{7,9,14} A família NF-I é um dos grupos de factores de transcrição mais estudados que modulam a replicação do VJC e a expressão de genes virais in vivo. A família NF-I contém quatro classes: A, B, C e X. A isoforma NF-IX aumenta a expressão genética viral.¹⁰

Patologias associadas às células B - leucemia linfocítica crónica (LLC) e LH, e distúrbios associados à activação de células B - LES, aumentam a susceptibilidade para o desenvolvimento da LMP. Adicionalmente o anticorpo monoclonal natalizumab, que acarreta o maior risco para o desenvolvimento da LMP entre os agentes biológicos, causa a mobilização de células tronco hematopoiéticas; particularmente a libertação de células B CD34+ imaturas da medula óssea.¹⁴

Após a supressão da mobilidade das células T CD4+ e CD8+ como consequência da terapia modificadora biológica o VJC entra no cérebro, seja dentro das células B ou como vírus

livre, onde infecta e destrói os oligodendrócitos, levando à desmielinização. A diminuição da vigilância por parte do sistema imune pode culminar no aumento da actividade do complexo proteico NF-kB que actua como factor de transcrição. Este encontra-se sob o controlo de citocinas pró-inflamatórias e pode aumentar a transcrição de genes virais nomeadamente o TAg por resposta à estimulação do TNF- α . C/EBP beta é uma proteína capaz de reprimir a transcrição viral e também se encontra sob controlo de citocinas pró-inflamatórias. Foi postulado que a modulação por parte das citocinas sobre a actividade do NF-kB e C/EBP beta pode controlar a reactivação do VJC no cérebro. A inibição da migração dos LTC operada pelo natalizumab pode agravar a disseminação viral. Não tão preponderantes são os fármacos caracterizados por apresentarem uma acção anti TNF- α . Entre outros efeitos estes são capazes de aumentar a sobrevivência das células T auto-reactivas periféricas, produzem citocinas pró-inflamatórias e causarem desmielinização. O bloqueio TNF- α , conseguido com fármacos como adalimumab ou infliximab, pode ser responsável por desfazer o equilíbrio existente entre o NF-kB e C/EBP beta, promovendo um estado latente viral ou mesmo a desmielinização do SNC. Adalimumab e infliximab são fármacos reconhecidos para o tratamento da artrite reumatóide, artrite psoriática, espondilite anquilosante e doença de Crohn.²

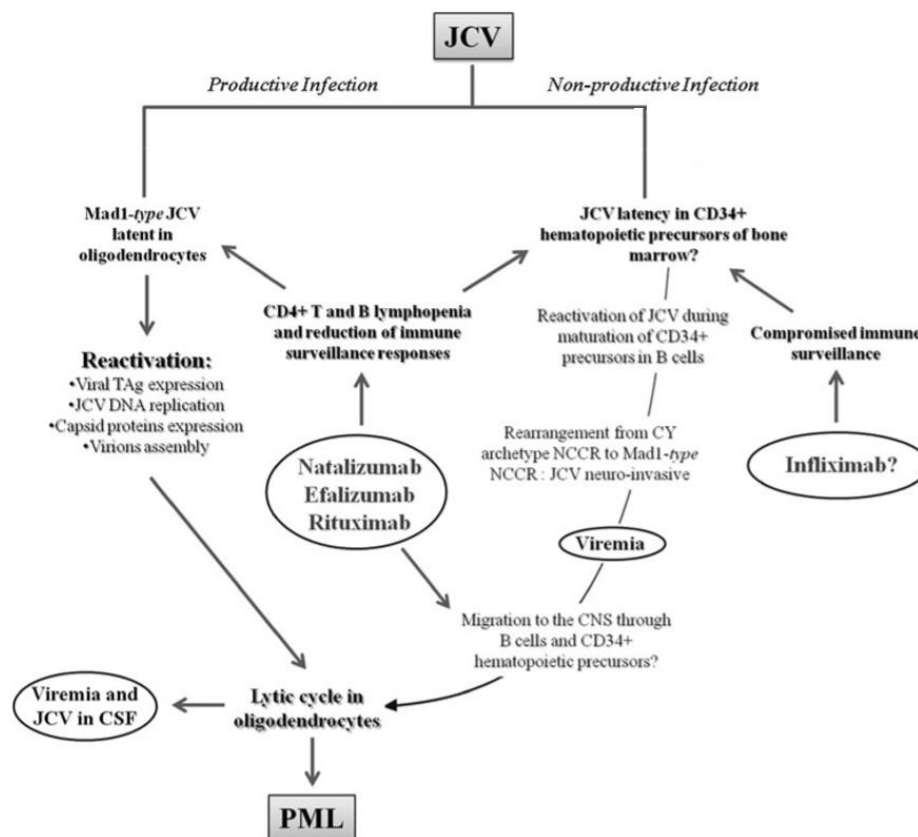


Figura 2: Modelo patogénico para o desenvolvimento da LMP baseado no compromisso imunológico após terapia modificadora biológica (adaptado de³).

Dados recolhidos de pacientes a realizar tratamento com natalizumab confirmaram a presença do VJC 6 a 180 meses antes do início da doença.⁴ Vários estádios são necessários para despoletar o início da LMP:⁷

1. Infecção inicial pelo VJC;
2. Estabelecimento de latência viral, especialmente nas células CD34 e células B;
3. Libertação das células B (imaturas e pré-B) a partir da medula óssea;
4. Replicação activa da forma neurotrópica do VJC na circulação:
 - a. Reactivação viral dentro das células B imaturas devido a factores de transcrição que são libertados durante a maturação das células B;
 - b. Mutação do VJC e consequente transformação para a sua forma neurotrópica dentro das células B que apresentam a maquinaria genética para que tal ocorra, nomeadamente mecanismos para o rearranjo genético.
5. Entrada no cérebro da forma neurotrópica;
6. Estabelecimento da infecção produtiva nos oligodendrócitos;
7. Desregulação dos mecanismos de imunovigilância:
 - a. Incapacidade para os linfócitos T citotóxicos específicos para o JVC entrarem no cérebro;
 - b. Incapacidade de processar os antigénios virais localizados no cérebro devido à depleção das células dendríticas perivasculares.

Mesmo tendo por base todas estas etapas ainda persistem algumas lacunas no nosso conhecimento relativo à fisiopatologia da infecção pelo VJC como o momento na qual a infecção viral se estende ao cérebro e qual o papel do sistema imune no controlo das alterações virais que levam à formação da forma neurotrópica do vírus. A forma exacta de como o vírus transita dos reservatórios onde se encontra latente, como o tecido renal ou a medula óssea, e o momento em que ocorre esta mudança é ainda matéria de debate.⁴ O VJC é um vírus neurotrópico e que só afecta humanos o que torna difícil o seu estudo. Desenvolve-se *in vivo* só em certos tipos de células (células gliais humanas fetais ou linhas celulares adultas de glioma ou neuroblastoma), desta forma a falta de um modelo animal dificulta a comprovação de teorias relativas a imunopatologia da LMP e até mesmo a formulação de novas estratégias terapêuticas.^{11,15-17} Ao contrário de outros polyomavirus, como vírus BK e SV40, a gama mais restrita de células hospedeiras que o VJC apresenta dificulta os estudos bioquímicos e moleculares.⁵

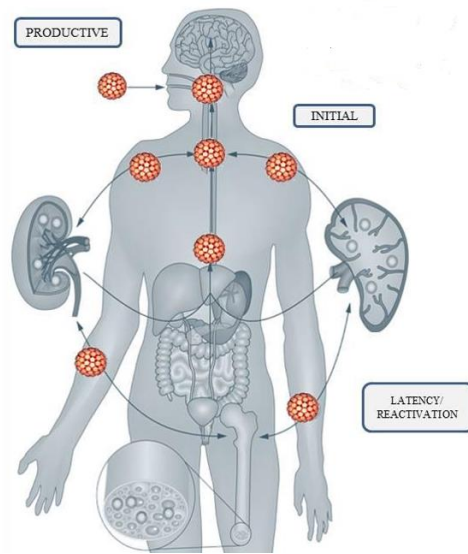


Figura 3: Etapas da infecção viral. Se o vírus permanece de forma latente no SNC é ainda controverso (adaptado de¹⁰).

6.1.4 RECEPTORES VIRAIS E INVASÃO DA CÉLULA HOSPEDEIRA

Inicia-se classicamente pela interacção entre a cápside viral e os receptores celulares de superfície da célula hospedeira. Seguidamente, partículas virias ligam-se aos receptores α -(2,6) - ácido siálico e α -(2,3) - ácido siálico. Além de usar o referido receptor o VJC pode também ligar-se ao receptor serotoninérgico 5HT2aR e assim infectar determinadas células humanas. Este processo foi demonstrado *in vitro* para as células da astroglia e *in vivo* para as células epiteliais de rim, linfócitos B, plaquetas, células gliais e neurónios. Observações iniciais centraram-se no facto de que certas drogas antipsicóticas como a clorpromazina e a clozapina foram consideradas potenciais inibidores da infecção viral.⁵ Após ocorrer a ligação a estes receptores específicos do vírus, as partículas virais utilizam um mecanismo de endocitose dependente da clatrina para serem transportadas para o citoplasma. Uma vez que o vírus entra na célula hospedeira, ele é transportado para o retículo endoplasmático e a proteína VP1 facilita a entrada no núcleo da referida célula ocorrendo a replicação viral. Os produtos virais finais são libertados através da lise das células hospedeiras.¹⁰

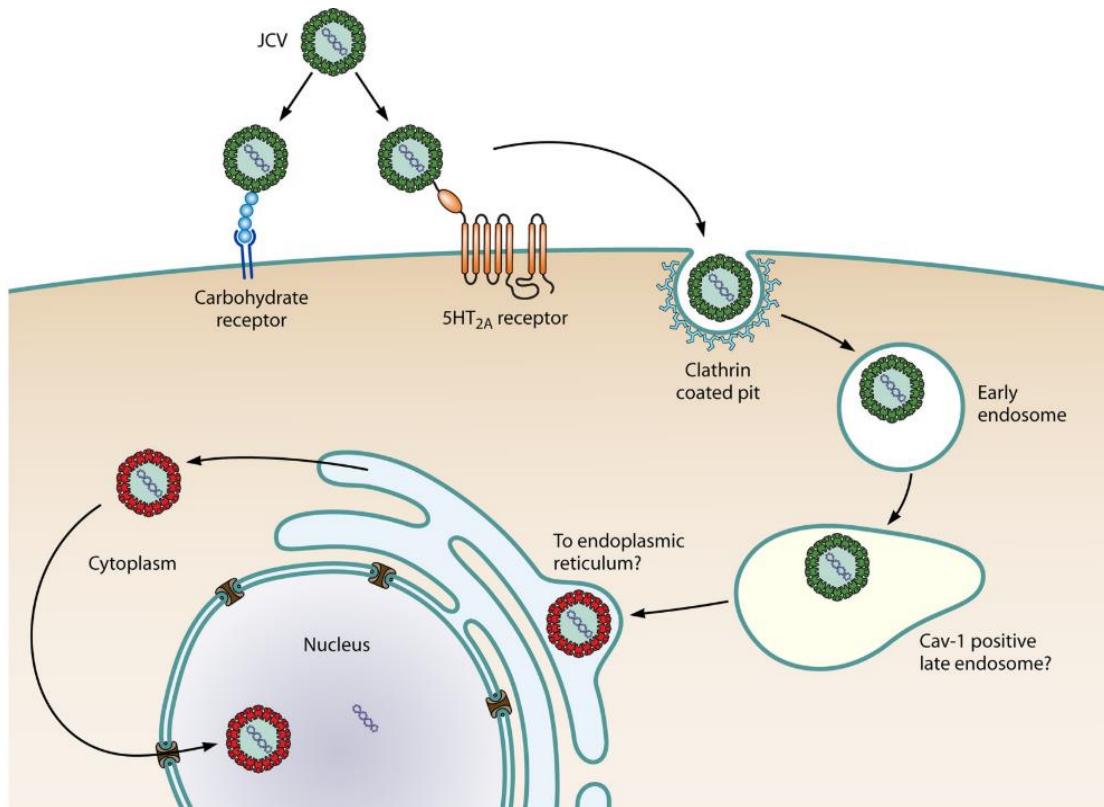


Figura 4: Mecanismos envolvidos na invasão viral na célula hospedeira (retirado de⁵).

Determinados factores moleculares associados ao hospedeiro podem desempenhar um papel importante ao aumentarem a susceptibilidade para a LMP. Estudos recentes têm-se focado no factor de transcrição Spi-B. O Spi-B é um activador da expressão genética do VJC e assim pode ser um factor que contribui para o desenvolvimento de LPM em pacientes submetidos a terapia imunomoduladora. O sítio de ligação Spi-B na região promotora do VJC encontra-se adjacente às proteínas de ligação TATA, essenciais para a transcrição da região tardia e precoce. Evidência de que alterações nos factores de transcrição podem afectar a transcrição viral podem ser encontradas em pacientes a realizar tratamento com o natalizumab já que em resposta a este ocorre o aumento da regulação de factores envolvidos na diferenciação das células B, incluído o Spi-B. Adicionalmente, alterações na NCCR podem levar à aquisição de sítios de ligação do factor de transcrição que são importantes na patogénese. Um exemplo recente foi descrito em pacientes submetidos ao infliximab. Nestes pacientes a NCCR arquétipo continha sítios com ligação ao Spi-B reconhecidos como importantes para a replicação viral.⁵

6.2 A DOENÇA – LEUCOENCEFALOPATIA MULTIFOCAL PROGRESSIVA

6.2.1 A EVOLUÇÃO DE UMA DOENÇA ANTES CONSIDERADA RARA

A LMP é uma doença rara e de carácter desmielinizante que acomete o SNC, ocorrendo predominantemente na população de indivíduos imunossuprimidos.⁴ Afecta actualmente quase 1 em cada 200,000 pessoas.² O seu agente etiológico é o VJC, um polyomavirus que se encontra largamente distribuído na população em geral na sua forma latente. Uma das várias etapas que leva ao estabelecimento da LMP consiste na reactivação do VJC, conduzindo esta à infecção e destruição do oligodendrócitos - células responsáveis pela produção de mielina⁴ e, a uma menor escala, dos astrócitos.¹⁰ A lise dos oligodendrócitos produz múltiplas regiões de carácter desmielinizante que acabam por se expandir e coalescer, formando lesões de grandes dimensões, histopatologicamente caracterizadas por corpos de inclusão e astrócitos bizarros.¹⁰

Em 1958, Astrom *et al.* descreveu os primeiros casos de LMP em dois pacientes com LLC e em um paciente com LH,¹⁸ que se apresentaram com uma rápida e atípica progressão da sua sintomatologia neurológica; mas foi só em 1971 que o vírus foi isolado a partir de uma cultura de células da glia⁵ de um paciente com LH.¹⁰ O vírus foi então designado de acordo com as iniciais do paciente.¹⁵ Durante um grande período de tempo a LMP foi considerada uma complicação associada a pacientes com doenças linfoproliferativas tratados com quimioterapia, apresentando uma incidência estimada em 0,07%.³ Uma causa viral para a LMP foi proposta em 1959 devido à observação de corpos de inclusão no núcleo de oligodendrócitos danificados. Através da microscopia electrónica foi possível identificar no núcleo destas células partículas similares às que até então eram conhecidas por polyomavirus.⁵ Esta hipótese foi confirmada por ZuRhein em 1965.¹⁴

Nos seus primórdios, desde 1958 a 1980, a LMP foi maioritariamente observada em pacientes submetidos a corticoterapia e outras terapêuticas imunossupressoras assim como em indivíduos com doenças hematológicas^{10,19} e inflamatórias sistémicas.¹⁰ Entre 1958 e 1984 foram identificados 230 casos de LMP na literatura inglesa, sendo que 95% dos pacientes apresentavam uma condição subjacente ao desenvolvimento da doença, contribuindo em larga escala os pacientes com patologias associadas às células B.¹⁴

Com o advento da pandemia VIH-SIDA em 1981 a incidência da LMP, antes considerada rara,⁵ mudou drasticamente e a infecção pelo VIH assumiu então um papel de destaque como principal condição que predispõem ao seu desenvolvimento. Novos casos surgiram e

registou - se um aumento exponencial na sua incidência em 50 vezes mais.^{10,19} A infecção por VIH é responsável por aproximadamente 85%³ dos casos de LMP e a sua incidência em pacientes portadores deste vírus varia na literatura entre 3 a 5%.^{3,5,10} O VIH cria um estado de défice imunológico que promove o início da LMP. Existem estudos que demonstram um papel sinérgico entre o VIH e o VJC a nível molecular,^{2,10} aumentando deste modo o risco de progressão da doença.

Desde o surgimento da HAART e a sua introdução nos protocolos de tratamento dos pacientes com SIDA que se assistiu a uma diminuição na incidência da LMP associada a esta síndrome.^{14,17} Um declínio na mortalidade dos pacientes com LMP associada à SIDA registou-se nos períodos entre 1992-1995 e 2002-2005 sendo este facto atribuído à HAART.¹⁷ Apesar da contribuição da HAART para o aumento da esperança média de vida destes pacientes a taxa de mortalidade continua a ser aproximadamente 50%¹⁰. Ainda não se encontra completamente esclarecida a razão pela qual a LMP é mais frequente nos pacientes com SIDA comparativamente aos outros pacientes que apresentam causas subjacentes de imunossupressão. Esta associação pode ser explicada com base em vários factores, tais como: duração da imunossupressão,² tráfico de células imunes, permeabilidade da barreira hemato-encefálica às células B infectadas pelo VJC, alteração na secreção de citocinas, interacção entre as proteínas virais nas células co-infectadas e dano cerebral causado pela infecção VIH⁵. De realçar que a incidência da LMP na população de indivíduos infectados por VIH tem diminuído numa escala inferior à registada em outras infecções oportunistas desde a introdução da HAART.^{5,17}

Em 2005 emergiu um novo e inesperado grupo de pacientes propensos a desenvolver LMP - doentes auto-imunes tratados com terapias biológicas que não actuam suprimindo directamente as funções imunológicas mas sim alteram drasticamente o normal funcionamento do sistema imunitário.¹ Um exemplo clássico desta associação são os pacientes com EM tratados com o natalizumab, anticorpo que visa diminuir a circulação de leucócitos para o tecido inflamado.

6.2.2 ERA DOS ANTICORPOS MONOCLONAIS

São várias os anticorpos relacionados com a LMP, mas assumem um papel de destaque o natalizumab, efalizumab, rituximab e infliximab.^{10,15} O primeiro relato de diagnóstico de LMP em consequência da terapia modificadora biológica surgiu em 2005 quando esta foi identificada em dois pacientes com EM e num paciente com doença de Crohn (DC) tratados com natalizumab.^{2,15} Após esta ocorrência o medicamento foi voluntariamente suspenso

do mercado pela Biogen Idec (Cambridge, MA, USA) e Elan (Gainesville, GA, USA).² Em 2006 o anticorpo foi reintegrado no mercado quer nos EUA pela Food and Drug Administration (FDA) quer na Europa pela European Medicines Agency (EMA) com rigorosos protocolos de vigilância;¹⁵ porém isto só foi possível após uma análise cuidada de benefício-risco com base em dados clínicos, imagiológicos e laboratoriais dos pacientes tratados com o natalizumab.² No que concerne ao efalizumab, três casos fatais de LMP foram registados em Outubro e Novembro de 2008, conduzindo desta forma à sua remoção do mercado americano e europeu em 2009. Desde 1997 a 2008 foram identificados 52 pacientes com doenças linfoproliferativas, 2 com LES, 1 com artrite reumatóide (AR), 1 com pancitopenia auto-imune e 1 com trombocitopenia auto-imune; todos eles apresentavam LMP relacionada com o tratamento com rituximab. Torna-se difícil determinar o risco efectivo que os doentes submetidos ao rituximab têm em desenvolver LMP, já que estes apresentam um défice imune subjacente tanto correlacionado com a sua doença primária ou secundário a outra terapia imunossupressora. A condição primária subjacente ao individuo associada à própria natureza do rituximab, que por si só já induz anomalias imunes, explica nitidamente a alta taxa de mortalidade que se verifica neste grupo de pacientes. Em contrapartida, a incidência da LMP em pacientes sob rituximab é consideravelmente mais baixa comparativamente ao natalizumab.¹⁴

Os fármacos modificadores biológicos tendem a ter efeitos mais específicos e a provocar uma acção mais precisa em um ou mais componentes do sistema imunitário comparativamente à terapêutica imunossupressora, que produz uma resposta mais ampla com consequências menos específicas ao nível da supressão do sistema imune do organismo. No entanto, a inibição específica de componentes isolados pode ter consequências imprevisíveis.¹² Deste modo torna-se preponderante estratificar os diferentes fármacos com base no risco inerente ao seu uso. O risco de desenvolver LMP não é igual entre os fármacos com aviso *black box*; este facto aliado à condição médica do doente assim como a presença ou historial de protocolos terapêuticos com base na imunossupressão, fazem com que seja mandatário um compromisso entre médico e doente para que se pesem os benefícios e riscos de qualquer terapia. Deste modo será possível estimar o risco de desenvolvimento de LMP.²⁰

Uma classificação com base no risco foi proposta em 2012 como forma de classificar os agentes e auxiliar o clínico na sua tomada de decisão. Três classes distintas de agentes foram identificadas, as diferenças entre elas foram estabelecidas com base na frequência na qual a LMP é observada, a natureza da condição subjacente a ser tratada (nomeadamente

se a patologia por si só já é um factor predisponente à LMP na ausência do fármaco) e o tempo entre o início do tratamento e o desenvolvimento da LMP.²⁰

Agentes pertencentes à classe 1 (alto risco) estão indicados para tratar patologias que não são conhecidas como factor que predispõe ao desenvolvimento da LMP²⁰ mas apresentam um risco inequívoco de originarem a doença no paciente em tratamento.¹⁴ Têm tipicamente um grande período de latência²⁰, o tempo que vai desde o início da toma do fármaco até a desenvolvimento da LMP pode ir de meses a anos.¹⁴ Desta classe fazem parte os anticorpos monoclonais natalizumab e efalizumab.

A classe 2 (baixo risco) contempla os fármacos usados para tratar doenças que por si só já originam a LMP. Muitos dos pacientes que desenvolvem a doença com fármacos pertencentes a esta classe já foram tratados no passado com outro tipo de medicação reconhecida como capaz de aumentar o risco de desencadear LMP.¹⁴ Geralmente, o desenvolvimento da doença após a instituição de agentes de classe 2 é um evento estocástico que não necessita de um período de latência.^{14,20} Rituximab, brentuximab vedotin (BV), e belimumab são anticorpos monoclonais pertencentes a esta classe. Agentes de classe 1 e classe 2 apresentam avisos *black box* pela FDA.¹⁴

Na classe 3 (muito baixo risco) integram-se os agentes terapêuticos que raramente foram reportados como associados à LMP e o risco de despoletarem a mesma é ainda incerto.¹⁴ Uso anterior de alguns dos agentes como a azatioprina, ciclofosfamida e metotrexato são factores de risco para a LMP em pacientes a realizar tratamento com o natalizumab.²⁰ Agentes modificadores biológicos pertencente a esta classe são: alentuzumab, adalimumab, etanercept e infliximab.

Tabela 1: Estratificação do risco de LMP por classes de agentes modificadores biológicos (adaptado de²⁰).

Agente terapêutico	Condição subjacente predispõe à LMP	Indicação
Classe 1	Não	
Natalizumab		Esclerose Múltipla e Doença de Crohn
Efalizumab		Psoríase (já não se encontra no mercado)
Classe 2	Sim	
Rituximab		Doenças linfoproliferativas, LES e AR
Brentuximab Vedotin		Linfoma de Hodgkin e linfoma anaplásico de grandes células
Belimumab		LES
Classe 3	Sim	
Alentuzumab		EM, neoplasias malignas e transplantes
Adalimumab		Psoríase e AR
Etanercept		Psoríase e AR
Infliximab		Psoríase e AR

6.2.3 CONDIÇÕES E TERAPÊUTICAS QUE PREDISPÕEM À DOENÇA

Estado de imunodeficiência – o denominador em comum para o desenvolvimento da LMP. Sabemos que esta doença afecta indivíduos que não possuem células T específicas para o VJC (positivas para CD4 e CD8) no cérebro, apesar de possuírem anticorpos contra o vírus.¹² Ocasionalmente pode ser encontrada em indivíduos com uma aparente função normal do sistema imune, sem factores de risco associados.^{4,12} É importante assegurar que a linfocitopenia CD4+ idiopática não está presente nestes casos.¹²

São várias as condições intrinsecamente ligadas ao desenvolvimento da LMP, tais como: a infecção por VIH, doenças hematológicas como o LH ou LLC, doenças auto-imunes como o LES, AR e algumas vasculites, neoplasias, doentes submetidos a transplante de órgãos,³ transplante de medula óssea, imunodeficiências congénitas¹² e até mesmo a sarcoidose e a tuberculose¹⁷. Recentemente um novo grupo de pacientes emergiu, são aqueles tratados

com terapias imunomoduladores para combater doenças auto-imunes ou malignas. Contudo, é possível identificar três grandes grupos de populações (Figura 5):

1. Pacientes infectados por VIH;
2. Doenças hematológicas malignas;
3. Pacientes com EM recidivante remitente tratados com Natalizumab.

PML population	Population size	PML-IRIS	Survival
HIV+	~80%	Observed Unknown frequency	70% up to 1 year 40-50% up to 2 years (pre-cART 9% up to 1 year)
Hematologic al malignancie s	~10%	Rare	10% beyond 2 months
RRMS patients treated with natalizumab	<5%*	Frequent (70%)	77% up to 3 years

*Estimate based on number of reported PML cases associated with natalizumab in the period 2005-2014 and assumption that contribution of PML cases by HIV+ and hematological malignancies populations remained stable since 2005.

PML, progressive multifocal leukoencephalopathy; IRIS, immune reconstitution inflammatory syndrome; cART, combined antiretroviral therapy; RRMS, relapsing–remitting multiple sclerosis

Figura 5: Características das três populações mais representativas da LMP (retirado de²¹)

Pacientes infectados por VIH são de sobremaneira a população mais representativa com uma incidência na ordem de 1.3/1000 (tabela 3). No segundo grupo temos os pacientes com doenças hematológicas malignas; eles constituem 10% de todos os casos de LMP no EUA. Este número é provavelmente subestimado em grande parte graças às complicações, que se instalam de forma rápida e progressiva, secundárias à condição maligna subjacente e à quimioterapia, bastante comuns nesta população. Este facto oculta o diagnóstico de LMP em muitos casos.²¹ O terceiro grupo centra-se nos pacientes com EM recidivante remitente tratados com natalizumab, apresentado uma incidência de 1/1000.⁹

Tabela 2: Incidência da LMP nas diferentes populações (adaptado de⁹).

Entidade clínica	Incidência (após 1996)
População geral	1 em 200.000
VIH	1,3 em 1000
Natalizumab	1 em 1000
Rituximab	1 em 32000

No que diz respeito à população negativa para VIH, a incidência da LMP é: 1/200000 para população em geral. Através da tabela 2 conseguimos objectivar que a incidência da LMP em pacientes a realizar tratamento com o natalizumab é quase similar à população VIH positivo. De uma perspectiva clínica torna-se fundamental saber como prevenir a reactivação da LMP. Para isso é necessário compreender os principais factores de risco para o desenvolvimento da LMP em pacientes com anticorpos monoclonais.⁹

O uso extensivo de drogas imunossupressoras, muitas vezes em regimes de combinação, e o recente surgimento de novos casos de LMP associada a drogas imunomoduladoras têm levado ao aumento de protocolos de vigilância nos últimos anos.¹²

7. MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS

Na génese da LMP está a infecção lítica dos oligodendrócitos e em menor escala dos astrócitos, levando a lesões subcorticais da substância branca de carácter desmielinizante. O processo de desmielinização é multifocal (pode ser unifocal numa fase inicial) e é passível de ocorrer em qualquer localização na substância branca, mas também em outras regiões do sistema nervoso central como o tronco cerebral e o cerebelo.²² Ataxia, dismetria e disartria são indicativos do envolvimento da fossa posterior.⁹ O nervo óptico e a medula espinhal não são geralmente afectados^{4,13} e o seu envolvimento deve sugerir diagnósticos alternativos. Contudo afecção da medula espinhal foi reportada num estudo *post-mortem*.¹³ As lesões da LMP podem ser classicamente descritas como confluentes, bilaterais, assimétricas e supratentoriais. O lobo mais afectado é o parietal seguido do frontal.²

Os pacientes exibem sinais e sintomas indicativos do envolvimento de múltiplas regiões do cérebro. Défices visuais, tais como a hemianopsia e a diplopia,⁴ são os sintomas mais comuns estando presentes entre 35% a 45% dos casos.²² De seguida, défices cognitivos podem ser vistos em um terço dos casos.²² Lentidão no raciocínio, desorientação, alterações comportamentais,¹ instabilidade emocional, problemas de memória e demência²² podem ser mesmo a primeira manifestação de LMP¹. Défices motores como a falta de coordenação, desequilíbrio na marcha, ataxia, hemiparesia¹ e a fraqueza muscular também são observados em um número considerável de doentes, cerca de 25% a 33% dos casos.²² A LMP é considerada uma doença subaguda, com início insidioso. A progressão é lenta, sendo fatal entre 4 a 6 meses depois do diagnóstico. Apesar de tudo a clínica do doente pode permanecer estável por longos períodos de tempo.²² Défice visual, prejuízo cognitivo e disfunção motora constituem então a tríade clássica de sinais clínicos que ajudam a orientar o médico para o diagnóstico de LMP.

Outros sintomas não tão comuns são as cefaleias, vertigem, défices sensoriais, parkinsonismo, afasia e as convulsões⁹ que se apresentam em 18% dos pacientes.⁴ Este achado é surpreendente porque uma explicação para o aparecimento de convulsões é que estas surgem a partir da matéria cinzenta cortical enquanto que a LMP é uma doença confinada à matéria branca. Este facto pode estar relacionado com a localização das lesões desmielinizantes imediatamente adjacentes ao córtex.¹³ Em alguns pacientes um diagnóstico inicial de exacerbação da EM, convulsões ou acidente vascular cerebral pode provocar um atraso na detecção da LMP.²³

No que diz respeito aos anticorpos monoclonais, mais especificamente ao natalizumab, as manifestações clínicas mais comuns que podem levantar ao diagnóstico de LMP associada à toma deste fármaco são a presença de sintomas cognitivos, motores, relacionados com a linguagem e o déficit visual.¹⁶ Nos pacientes com EM que desenvolvem LMP enquanto estão a realizar tratamento com natalizumab, o diagnóstico diferencial com uma recidiva da EM pode ser por vezes desafiante; já que os sintomas motores e as anormalidades visuais podem ocorrer em ambas as patologias. Contudo, uma alteração na personalidade e função cognitiva, instalação de convulsões de novo ou afasia fazem orientar o diagnóstico para a LMP, o que requer uma investigação futura.⁵ A maioria dos pacientes com LMP associada ao efalizumab apresentam-se com disfunções cognitivas e fraqueza muscular. Os sintomas iniciais de 57 pacientes tratados com rituximab centraram-se em: confusão mental (54%), hemiparesia (33%), perda da coordenação motora (25%), dificuldades no discurso (21%) e sintomas visuais (18%).¹³

8. DIAGNÓSTICO

8.1 DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL

A apresentação clínica da LMP contempla um espectro bastante alargado desde sintomatologia neurológica a psiquiátrica, dependentes do local onde se encontra a lesão.¹¹ Assim, é imperativo um exame neurológico seguido por testes laboratoriais e de imagem logo que haja a suspeita de LMP, ou seja, lesão subcorticais da matéria branca e clínica compatível.⁹ Existem evidências de que o diagnóstico precoce da LMP, mesmo antes do surgimento das manifestações clínicas, está associado a um melhor prognóstico. É concebível que até mesmo um tratamento eficaz possa falhar se a implementação do mesmo for adiada. Dependendo das estruturas cerebrais afectadas pela desmielinização, o dano pode ser irreversível no momento em que o diagnóstico da LMP é confirmado, tornando inútil qualquer tratamento terapêutico.²¹ Através do diagnóstico precoce é possível limitar o grau de dano cerebral permanente antes de ser atingida a reconstrução imunológica.²³

A confirmação do diagnóstico de LMP requer a identificação de alterações histopatológicas ou achados imagiológicos característicos da doença e a presença do VJC no LCR. Estas técnicas de diagnóstico invasivas são justificáveis apenas se outras causas de manifestações clínicas associadas ao SNC puderem ser excluídas com base no exame neurológico detalhado. Isso pode atrasar substancialmente o diagnóstico, o que provavelmente terá um impacto negativo no prognóstico.²¹ O diagnóstico de LMP permanece difícil especialmente em pacientes com EM; contrastando com esta, é extremamente raro o surgimento de neurite óptica e o envolvimento da medula espinhal.²⁴ Existem outros potenciais diagnósticos que podem ser difíceis de excluir nomeadamente em pacientes com patologia hematológica e transplantados tratados com imunossuppressores.¹¹ Outras apresentações clínicas da infecção neurológica por VJC e que se assumem como diagnósticos diferenciais são: neuropatia de células granulares pelo VJC, encefalite pelo VJC e meningite pelo VJC. Na tabela 3 são apresentadas as particularidades destas três doenças. Enquanto a LMP resulta da infecção das células da glia pelo VJC, a neuropatia das células granulares é causada pela infecção do vírus nos neurónios das células granulares do cerebelo. Áreas de perda celular na camada de células granulares foram descritas em quase 5% dos pacientes antes da epidemia do VIH. Pode ocorrer de forma isolada ou concomitante com a LMP.¹³

	Classic PML	PML-IRIS	JC virus granule cell neuronopathy	JC virus encephalopathy	JC virus meningitis
Onset	Subacute	Immune recovery	Chronic	Subacute	Acute
Radiological findings (MRI)	Asymmetric, well demarcated, non-enhancing subcortical white matter lesions, hyperintense in T2 and FLAIR, hypointense in T1	Contrast enhancement and mass effect	Cerebellar atrophy	Cortical lesions	No defined brain lesions, ventricular dilatation
Neurological symptoms	Based on location	Based on location and inflammation	Cerebellar syndrome	Encephalopathy	Headache, stiff neck, fever
Diagnosis	JC virus detection in the CSF, brain biopsy, radiographical findings and symptoms	JC virus in the CSF, brain biopsy, radiographical findings and symptoms	Cerebellar biopsy, JC virus in the CSF, radiographical findings and symptoms	Brain biopsy, JC virus PCR in the CSF, radiographical findings and symptoms	JC virus in the CSF and exclusion of other viruses
Histology	Demyelinating lesions often at grey/white junction, JC virus detected in enlarged oligodendrocytes, bizarre astrocytes	Demyelination similar to classic PML, with addition of inflammatory infiltrates	Lytic infection of granule cell neurons in the cerebellum by JC virus	Lytic infection of cortical pyramidal neurons and cortical astrocytes by JC virus	
Treatment	cART for HIV-positive patients, discontinue or decrease immunosuppression for HIV-negative patients, plasma exchange for natalizumab-treated patients	Similar to PML, consider steroids in cases with notable neurological worsening or signs of impending brain herniation	Similar to classic PML	Similar to classic PML	Similar to classic PML

cART=combined antiretroviral therapy. FLAIR=fluid-attenuated inversion recovery. IRIS=immune reconstitution inflammatory syndrome. PML=progressive multifocal leukoencephalopathy.

Figura 6: Apresentação clínica das infecções neurológicas pelo VJC (retirado de¹³).

8.2 EXAMES COMPLEMENTARES DE DIAGNÓSTICO

Biópsia Cerebral – É considerado o método *gold standard*⁹. Deve ser considerada quando há alta suspeição clínica e achados imagiológicos da RMN compatíveis com o diagnóstico de LMP; para além disso, a PCR para o ADN do VJC no LCR tem que ser repetidamente negativa.^{4,6} Alterações típicas são descritas como: áreas de desmielinização, oligodendrócitos infectados pelo VJC e com núcleos alargados e hiper cromáticos localizados à periferia, astrócitos bizarros reactivos e com tamanho aumentado e grau variável de resposta inflamatória linfocitária.^{4,6,9} A evidência da presença do VJC pode ser comprovada com recurso à imunohistoquímica (IHC), hibridização *in situ* e PCR.^{4,25} Os anticorpos utilizados na IHC geralmente são contra o SV40, que reage de forma cruzada com o VJC.²⁵ A IHC tem baixa sensibilidade e por isso deve ser combinada com outra técnica.⁴

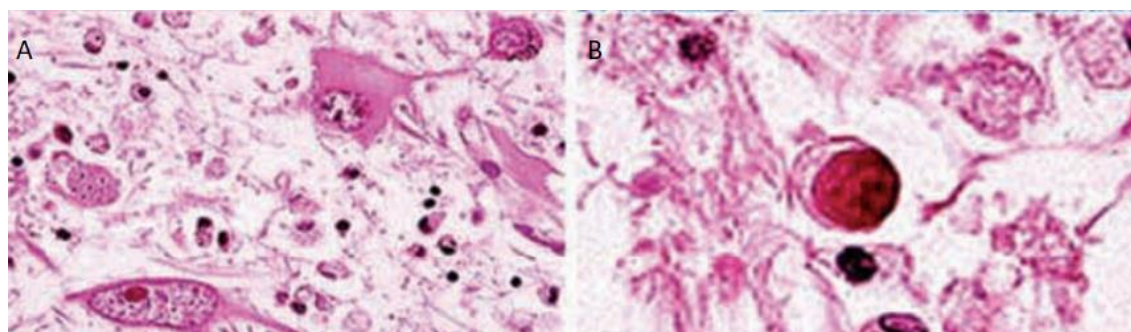


Figura 7: A) Zona de desmielinização com astrócitos gigantes reactivos e atipia nuclear. B) Oligodendrócitos de grandes dimensões com corpos de inclusão eosinofílicos intranucleares (adaptado de¹¹).

Análise do LCR – A capacidade de detectar o ADN do VJC através da PCR no LCR de pacientes com sintomas sugestivos da doença veio revolucionar o diagnóstico da LMP que no passado era essencialmente realizado através da biópsia cerebral.⁶ Basta a presença de apenas dez cópias de ADN viral no LCR para poder ser usada a técnica de PCR de forma eficaz.²⁴ Desta forma, a detecção do VJC pela PCR no LCR é o método chave para o diagnóstico da LMP na actualidade. Apresenta uma sensibilidade entre os 72% e 92% e uma especificidade perto dos 100%, contudo, um resultado negativo não exclui a patologia.⁴ Aproximadamente metade dos pacientes com LMP associada à toma do natalizumab apresenta uma carga viral inferior a 500 cópias/mL, o que pode originar falsos negativos e realça ao mesmo tempo a necessidade de existir um teste de PCR ultra-sensível. Este tipo de teste consegue detectar um número de cópias de ADN viral inferior a 50/ml.¹⁶

Detecção de anticorpos – pode ser usado para avaliar o risco de LMP antes do início da terapia imunomoduladora mas não tem significado diagnóstico. Pode mesmo ser detectada virémia na ausência de LMP.⁵

Exames imagiológicos – Desempenham um importante papel na avaliação diagnóstica e prognóstica da LMP. Imagens de tomografia computadorizada do cérebro podem revelar lesões hipodensas, sem efeito de massa e sem aumento do contraste localizadas na substância branca; no entanto, a ressonância magnética possui uma maior sensibilidade para detectar lesões associadas à LMP.^{4,9} Os achados típicos de ressonância magnética incluem lesões hiperintensas subcorticais assimétricas nas ponderações T2 e FLAIR (do inglês *fluid-attenuated inversion recovery*) e hipointensas na ponderação T1. Lesões supratentoriais são mais comuns do que as que acometem o tronco cerebral. O envolvimento talâmico e dos gânglios basais é menos frequente, mas já foi documentado. No que diz respeito à substância cinzenta esta pode estar envolvida de forma secundária em 25% dos pacientes com LMP. Tipicamente esta encontra-se poupada, mas presume-se que o seu atingimento seja devido ao envolvimento da fibra U na interface da matéria branca e cinza.⁴

Efeito de massa e realce do contraste não são achados comuns; no entanto em certos contextos, como no uso de terapias biológicas, podem ser observadas lesões inflamatórias que realçam em T1 após a administração de gadolínio.⁴ Esta característica pode ser observada em aproximadamente metade dos pacientes com LMP associada ao natalizumab.¹⁶ A neutralização do sistema imune provocado pelos anticorpos monoclonais pode levar a lesões cavitadas, excepcionalmente observadas em outras formas de apresentação da LMP.¹³

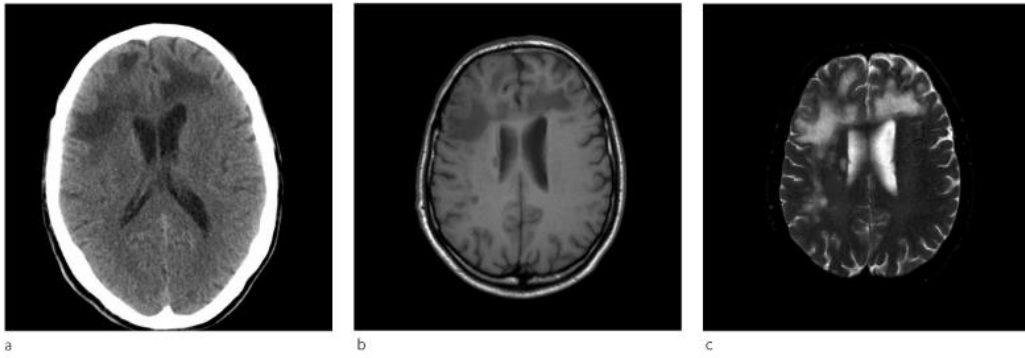


Figura 8: A) Tomografia computadorizada mostra áreas de hipodensidade bilaterais e confluentes localizadas na região frontal subcortical. B) Ponderação em T1. C) Ponderação em T2.

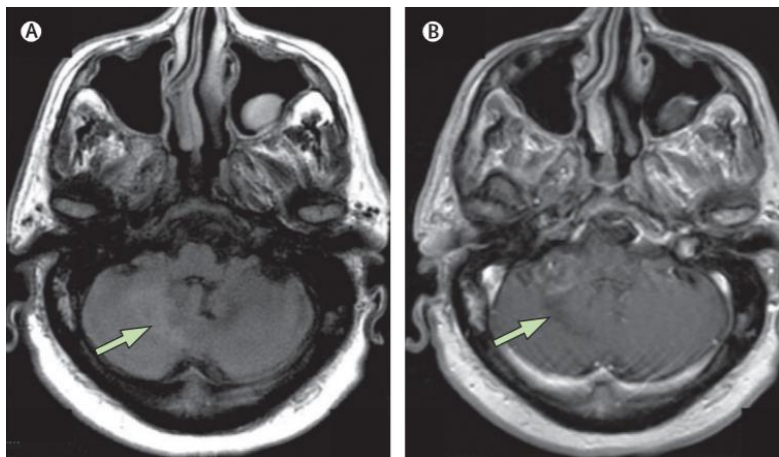


Figura 9: Homem de 69 anos com LLC tratado com quimioterapia e sucessivamente submetido ao rituximab. Apresentou-se com um quadro de declínio progressivo na coordenação da mão e perna direita. PCR do LCR foi positiva para o VJC. A) Áreas com sinal hiperintenso no hemisfério cerebeloso direito e pedúnculo cerebeloso na ponderação FLAIR. B) Áreas hipointensas em T1 (retirado de¹³).

9. TRATAMENTO E PROGNÓSTICO

Actualmente não existe um fármaco antiviral específico contra o VJC. O melhor tratamento para a LMP reside na restauração do sistema imune, embora não seja o ideal já que pode levar à síndrome inflamatória de reconstituição imune (SIRI). Daí que esteja recomendada uma rigorosa monitorização dos pacientes durante qualquer tipo de intervenção com vista a recuperar a função do sistema imune, como o início de anti-retrovirais nos indivíduos infectados por VIH ou a remoção de agentes destinados à quimioterapia.⁵ Caso se verifique o desenvolvimento de SIRI este deve ser tratado com altas doses de metilprednisolona.¹²

A terapia com HAART tem diminuído a mortalidade associada à infecção por VJC nos casos de infecção por VIH e o prognóstico nestes casos é altamente influenciado pelos níveis de linfócitos T CD4+. ¹² A mortalidade cai de 90% para 50% durante os três primeiros meses de terapia.¹¹

A gestão do paciente com LMP associada ao uso de natalizumab implica o uso de plasmaférese. Assim que se levante a suspeição de LMP nestes doentes o natalizumab deve ser de imediato suspenso e instituídos protocolos de troca de plasma com ou sem imunoadsorção. Cinco trocas de plasma têm mostrado provocar uma diminuição do natalizumab no plasma para níveis inferiores a 1µg/ml,^{16,24} concentração essa que origina uma saturação da integrina α4 inferior a 50%.²⁴ A plasmaférese tem mostrado acelerar a remoção do natalizumab do soro através da dessaturação do receptor da integrina α4 culminado na reacquirição da transmigração leucocitária.¹⁶

Uma das consequências deste tratamento pode ser a SIRI;^{16,24} esta pode ser observada até 2 a 6 semanas após a suspensão do fármaco.¹⁶ Após estar rapidamente restaurada a capacidade das células T em atravessarem a barreira hematoencefálica pode haver uma infiltração maciça nas lesões da LMP por parte das células T activadas, onde se incluem os LTC com especificidade para o VJC. Mesmo que, em última instância, o principal factor para um desfecho favorável da LMP seja a reconstituição imune, no caso de ocorrer SIRI pode haver um agravamento transitório dos sintomas devido à inflamação maciça. Alguns autores encontraram um efeito *rebound* nos pacientes submetidos ao natalizumab por um período de dois a três meses. Em contraste, 23 pacientes pertencentes aos estudos AFFIRM e SENTINEL que receberam o fármaco durante 30 meses, não manifestaram nenhum sinal de *rebound* 14 meses após a cessação do mesmo. Estes dados sugerem que nos pacientes a realizar tratamento por um longo período de tempo é pouco provável que ocorra um *rebound*

súbito. Contudo, é importante realçar que os participantes nos estudos acima mencionados possuíam uma forma menos activa de EM.²⁴

Nos pacientes com doença associada ao natalizumab a mortalidade ronda os 20%, bem abaixo da que se verifica com outras causas de LMP. As principais razões apontadas são o rápido diagnóstico e a descontinuação do fármaco, através da plasmáfereze removendo-o da circulação, associada à terapia com esteróides no caso de SIRI.¹²

A eficácia demonstrada pela plasmáfereze no natalizumab ainda não foi comprovada para outras terapias biológicas. É improvável que os doentes a realizar tratamento com o rituximab tenham benefícios em recorrer a esta técnica já que o intervalo que tipicamente existe entre a última dose de rituximab e o desenvolvimento da LMP é de 5 meses.⁴ Devido à sua farmacocinética o rituximab apresenta tempos de semivida de 14 a 20 dias o que torna a plasmáfereze inefectiva porque não iria acelerar o processo de retorno dos linfócitos B CD19 para a circulação periférica. Nos casos de LMP associada a este fármaco a melhor opção passa por estimular a medula óssea a produzir mais células B de forma a restaurar o sistema imune.¹⁶

O dimetil fumarato e o fingolimod são duas possíveis estratégias alternativas a usar nos doentes a realizar tratamento com natalizumab e que desenvolvem sintomas compatíveis com a LMP. Um estudo realizado com 39 pacientes com EM recidivante remitente, com alto risco de desenvolverem LMP, consistiu na mudança de tratamento do natalizumab para o dimetil fumarato. Este mostrou ser eficaz na redução da sintomatologia já que quase 80% dos pacientes não apresentaram evidência de actividade da doença no final do tratamento.²⁶ O fingolimod foi proposto como alternativa nos casos de remoção do natalizumab.²⁷

Os agentes análogos de nucleosídeos são outra modalidade terapêutica já estudada devido à sua capacidade de actuar na replicação do ADN e inibirem a replicação do VJC.⁵ Muitos foram testados mas é sem dúvida a citosina arabinosídeo, mais conhecida por citarabina, que apresenta maior eficácia com o VJC *in vitro*.¹¹ Contudo apresenta efeitos adversos tais como náusea, febre e toxicidade para a medula óssea¹¹ e o ensaio clínico ACTG 243 não mostrou benefícios na taxa de sobrevivência dos pacientes com LMP tratados com este fármaco quer por via intratecal ou intravenosa.⁵ Outro estudo também não encontrou benefícios acrescidos relativamente aos que são atingidos pela HAART. Terapêuticas com recurso à IL-2 e interferão α também não mostraram ser efectivas no controlo da infecção por VJC.¹¹

Mais recentemente, o CMX001 (nucleótido lipofílico conjugado a partir do cidofovir) mostrou inibir a replicação do VJC numa cultura de células de cérebro fetal. Foi usado em 2010 em associação com a IL-7 para tratar um paciente com linfocitopenia CD4+ idiopática, resultando numa diminuição da carga viral e melhoria dos sintomas clínicos em 8 semanas.⁵

Outro possível alvo terapêutico inclui a inibição da entrada do vírus na célula hospedeira limitando a natureza progressiva da doença. Como discutido anteriormente o VJC entra na célula hospedeira através da ligação do vírus ao receptor primário que apresenta uma glicoproteína de ligação N ligada ao α -(2,6)-ácido siálico e ao receptor secundário, que é um receptor serotoninérgico 5-HT_{2a}.⁵ Assim que esta relação foi estabelecida foi especulada a possibilidade do uso de antagonistas do receptor 5-HT_{2a} como a risperidona e ziprasidona¹¹ (antipsicóticos com mais maior afinidade para o referido receptor). Foi demonstrado que a mirtazapina pode ser eficaz em algumas situações.^{9,11}

A mefloquina é um anti-malárico capaz de atravessar a barreira hematoencefálica e acumular-se no cérebro. Mostrou ser capaz de inibir a replicação do VJC *in vitro* mas não existe um ensaio clínico que comprove a sua eficácia *in vivo*.⁵

Embora o curso da LMP já não seja uma fatalidade o prognóstico continua pobre e as opções terapêuticas são escassas e raramente eficazes. A retirada do imunossupressor nos pacientes não infectados por VIH e da HAART nos pacientes infectados por VIH foi associada com a reconstituição imune no cérebro e controlo da replicação viral. Uma rápida reconstituição imune é importante na vigilância do SNC, contudo deve estar sempre presente que a SRI pode ter um desfecho fatal. A baixa contagem de células T e um grande número de cópias de ADN do VJC presentes no LCR são factores de risco para a morte. O uso precoce da terapia anti-retroviral combinada mostrou melhorar a sobrevida o que está directamente relacionado com o aumento da resposta das células T específicas para o VJC e redução do ADN viral no LCR.⁵ Na era pré-HAART menos de 10% dos pacientes estavam vivos um ano após o início dos sintomas.¹⁹ Com o recurso à HAART a sobrevida em um ano aumentou 50%, contudo, como o processo de remielinização dos oligodendrócitos não ocorre nas áreas afectadas, cerca de 80% dos sobreviventes acabam por ficar com sequelas neurológicas graves e baixa qualidade de vida.²⁵ Todos os pacientes diagnosticados com LMP devem ser rastreados para VIH, pois representa uma causa subjacente tratável para o desenvolvimento da mesma.⁴

O sistema imune tem assim um papel fundamental quer no desenvolvimento da LMP quer no controlo da replicação do VJC. Como resultado, o desenvolvimento de terapias futuras para a LMP deve concentrar-se não apenas no bloqueio da replicação viral mas também na

reconstituição de uma resposta efectiva da célula T contra o vírus no cérebro.⁵ São várias os factores que se correlacionam com o aumento da sobrevivência dos doentes com LMP tais como: áreas de disseminação limitada, idade jovem,¹² baixa carga viral no LCR (50-100 cópias/micrómetro), contagens de linfócitos T CD4+ superiores a 300/mm³, presença de LTC que reconhecem dois epítomos restritos ao antígeno humano A*0201 presente na VP1²⁵ e aumento das lesões após contraste.^{4,25} A resposta imune ao ocorrer dentro do SNC causa inflamação, que, por sua vez, leva a um colapso da barreira hematoencefálica e ao realce do contraste na ressonância magnética. Embora a maioria das pessoas possua anticorpos contra VJC, a resposta imune humoral não é capaz de impedir a reactivação deste vírus e o desenvolvimento da LMP. Por outro lado, a imunidade celular mediada pelas células T CD8+ e facilitada pelas T CD4+, tem um papel decisivo na contenção da doença. O desenvolvimento de novas lesões de LMP é sempre possível em caso de colapso do sistema imunológico, como por exemplo, em pacientes VIH positivos que param ou se tornam resistentes à HAART.²⁵

Duas grandes populações de doentes em risco de desenvolverem LMP são os pacientes com doenças reumatológicas e os pacientes submetidos a natalizumab. Não se encontram estabelecidas estratégias preventivas em relação ao desenvolvimento de LMP em pacientes com doenças reumáticas, além do uso criterioso de terapias imunossupressoras. Pelo contrário, um algoritmo construído com base na estratificação do risco em desenvolver a doença tem sido amplamente usado para prever o desenvolvimento de LMP em pacientes com EM a realizar tratamento com o natalizumab.⁴

10. DOENÇAS ASSOCIADAS À LEUCOENCEFALOPATIA MULTIFOCAL PROGRESSIVA

10.1 ESCLEROSE MÚLTIPLA

10.1.1 NATALIZUMAB

O natalizumab (Tysabri; Biogen/Idec, MA, USA) é um anticorpo monoclonal humanizado que se liga directamente à cadeia da integrina $\alpha 4$ da integrina $\alpha 4\beta 1$ também conhecida por VLA-4 (do inglês *very late antigen-4*). VLA-4 é expresso nas células progenitoras hematopoiéticas, células B e T, monócitos, células NK, eosinófilos e neutrófilos. A integrina $\alpha 4$ também tem a capacidade para se heterodimizar com a integrina $\beta 7$ para formar o complexo $\alpha 4\beta 7$.¹⁵ A ligação do natalizumab à integrina $\alpha 4\beta 1$ impede a sua ligação à molécula de adesão das células vasculares (MACV-1) e consequentemente a transmigração dos linfócitos activos para os locais de inflamação através da barreira hematoencefálica. O bloqueio da integrina $\alpha 4\beta 7$ previne a adesão dos linfócitos T activos à MAdCAM-1 (do inglês *mucosal addressin vascular cell adhesion molecule 1*) e o seu extravasamento para a mucosa gastrointestinal. O tratamento com o natalizumab resulta no aumento dos níveis de células progenitoras CD34+ no cérebro e na medula óssea. Também apresenta a capacidade de aumentar as células pré B e B circulantes na periferia e impede o retorno das células progenitoras CD34+ à medula óssea e das células pré B aos gânglios linfáticos marginais.^{2,5}

A EM é caracterizada por uma infiltração crónica dos leucócitos no cérebro. O natalizumab bloqueia esta infiltração ao prevenir o extravasamento através da ligação à MACV-1.⁵ Este anticorpo monoclonal humanizado foi aprovado para o tratamento da EM recidivante remitente em Novembro de 2004. A aprovação foi baseada no primeiro ano de resultados dos estudos AFFIRM e SENTINEL (ambos foram completados em Fevereiro de 2005). Nos três a quatro meses que separaram a aprovação do anticorpo e o término dos referidos estudos aproximadamente 7000 pacientes com EM recidivante remitente realizaram tratamento com o referido fármaco. Em Fevereiro de 2005 três casos de LMP associados à toma do natalizumab (dois pacientes com EM e um paciente com DC) foram identificados o que culminou na suspensão abrupta do mesmo, ficando pendente de uma revisão extensa do seu perfil de segurança. Um estudo de segurança avaliou 3,116 pacientes que receberam natalizumab numa exposição média de 17,9 doses mensais. O estudo não identificou nenhum caso adicional de LMP e concluiu que o risco em desenvolver a doença

era de aproximadamente 1 em 1,000 pacientes. A interrupção abrupta do natalizumab também permitiu a avaliação sistemática do comportamento da doença após a interrupção do tratamento. Em 1,866 pacientes, que receberam o anticorpo durante os ensaios clínicos e que procederam à sua descontinuação após o diagnóstico da LMP, verificaram-se recidivas da EM e as lesões reforçadas pelo gadolínio regressaram aos níveis basais 4 a 7 meses após a suspensão do natalizumab.²⁷ Em 2006 o seu uso foi novamente aprovado mas recomendado e restringido às formas recidivantes e remitentes da EM com mais de duas recidivas graves por ano e em pacientes que não respondem ou toleram o tratamento com IFN-B-1a, IFN-B-1b e acetato de glatirâmero.¹⁵

A LMP é a única infecção oportunista que foi associada de forma consistente com o natalizumab.^{3,28} O aumento do número de células progenitoras CD34+ na corrente sanguínea após a sua toma juntamente com o facto de estas serem consideradas como reservatórios para o VJC latente sugere um cenário no qual o anticorpo promova a migração do vírus para o cérebro.¹⁵

Entre Julho de 2006 e Novembro de 2009 foram registados 28 casos de LMP em pacientes com EM tratados com natalizumab, dos quais 8 foram fatais.³ Em Agosto de 2011 este número ascendeu para 150 em mais de 88,000 pacientes a realizar tratamento com esta terapia. A mortalidade da LMP associada ao natalizumab foi de 19% (29 mortes entre os 150 casos confirmados) em 4 de Agosto de 2011. Muitos dos pacientes que sobreviveram ficaram com grave morbilidade e incapacidade, embora a interpretação desta seja difícil porque o comprometimento funcional é uma característica da EM independente da LMP.¹⁶ Em 2012 um total de 212 casos foram identificados em 99,571 pacientes, no final de 2013 registaram-se mais de 400 casos²⁹, 698 casos em 161,300 pacientes em Dezembro de 2016³⁰ e em Março de 2017 foram reportados 708 casos.¹² Existe desta forma um risco cumulativo em desenvolver a doença associado à toma deste fármaco e estima-se que 1 novo caso seja diagnosticado a cada semana.¹⁵

A EM *per se* não parece ser um factor de risco para a LMP, mas é necessária vigilância durante o tratamento, pois todos os agentes modificadores da doença afectam directa ou indirectamente as respostas imunes associadas às células T e têm em si associadas um o potencial risco de causar LMP. O anticorpo monoclonal natalizumab, no entanto, é um caso singular e portanto encontra-se sujeito a uma monitorização específica.¹² É actualmente a única terapia modificadora biológica com critérios específicos para a estratificação do risco²⁹, tendo sido criado um algoritmo com base nos factores de risco para o desenvolvimento da LMP nestes pacientes.^{12,28} Não foram reportados casos de LMP em pacientes com EM antes da introdução da terapia com o natalizumab.^{15,30}

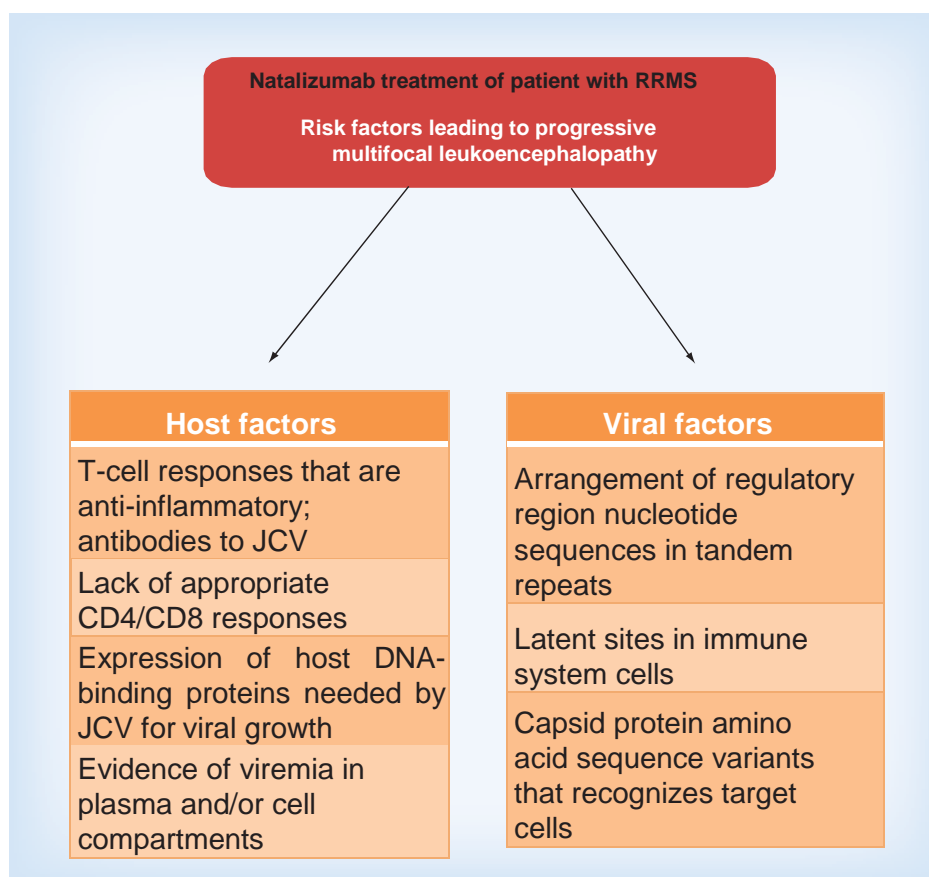


Figura 10: Factores de risco imunológicos associados aos pacientes submetidos ao natalizumab (adaptado de¹⁵).

10.1.1.1 QUANTIFICAÇÃO E GESTÃO DO RISCO

O risco estimado de um paciente desenvolver LMP é aproximadamente 1 em 1000 pessoas após 17,8 meses de terapia. Foram identificados três factores de risco independentes para o desenvolvimento da LMP associada ao natalizumab: exposição ao vírus e positividade para os anticorpos virais, duração da terapia e uso de terapia imunossupressora anterior ao início da terapia modificadora biológica (é recomendado a descontinuação de qualquer terapia imunossupressora 6 meses antes do inicio do tratamento). O risco permanece muito baixo para pacientes seronegativos independentemente da duração do tratamento. Para pacientes com anticorpos positivos o risco é baixo nos primeiros 24 meses de terapia, na verdade a LMP não foi observada antes dos 8 meses e é rara antes dos 12 meses. O risco aumenta significativamente após 2 anos em pacientes seropositivos, especialmente nos submetidos a terapia imunossupressora prévia.²⁰ O risco de desenvolver LMP é máximo entre os 25-36 meses de terapia.²⁸ A incidência de um paciente seropositivo e com historial de terapia imunossupressora é similar à estimada para o paciente com VIH.¹⁵ Pacientes submetidos a terapia imunossupressora prévia devem providenciar consentimento informado para continuarem com esta terapia após 24 doses e devem ser outra vez informados

relativamente ao risco acrescido em desenvolverem LMP. Após a 24 dose todos os pacientes devem ser reavaliados para perceber qual estratégia terapêutica a adoptar, isto é; mudar para um tratamento de primeira ou segunda linha para a EM ou continuar com o natalizumab. Os pacientes devem estar informados que pode ocorrer um declínio da sintomatologia após a descontinuação do fármaco. Contudo a descontinuação do fármaco é altamente recomendada especialmente em pacientes com um alto título de anticorpos, que receberam pelo menos 24 doses do anticorpo e que se submeteram previamente a protocolos de imunossupressão³⁰

O nível de anticorpos específicos para o VJC pode também auxiliar a estratificar o risco que estes pacientes apresentam em desenvolver a LMP. Pacientes com anticorpos positivos, sem recurso prévio à imunossupressão e com um índice $\leq 1,5$ apresentam um risco significativamente mais baixo comparado com os que apresentam um índice $> 1,5$.²⁰

Tabela 3: Incidência estimada da LMP estratificada com base nos três factores de risco associados à terapêutica com o natalizumab (adaptado de²⁰).

Duração do tratamento com natalizumab	Risco de LMP		
	Anti-VJC+	Anti-VJC-	
		Sem imunossupressão prévia	Com imunossupressão prévia
1-24 meses	<1/1000	<1/1000	1/1000
25-48 meses		3/1000	13/1000
49-72 meses		7/1000	9/1000

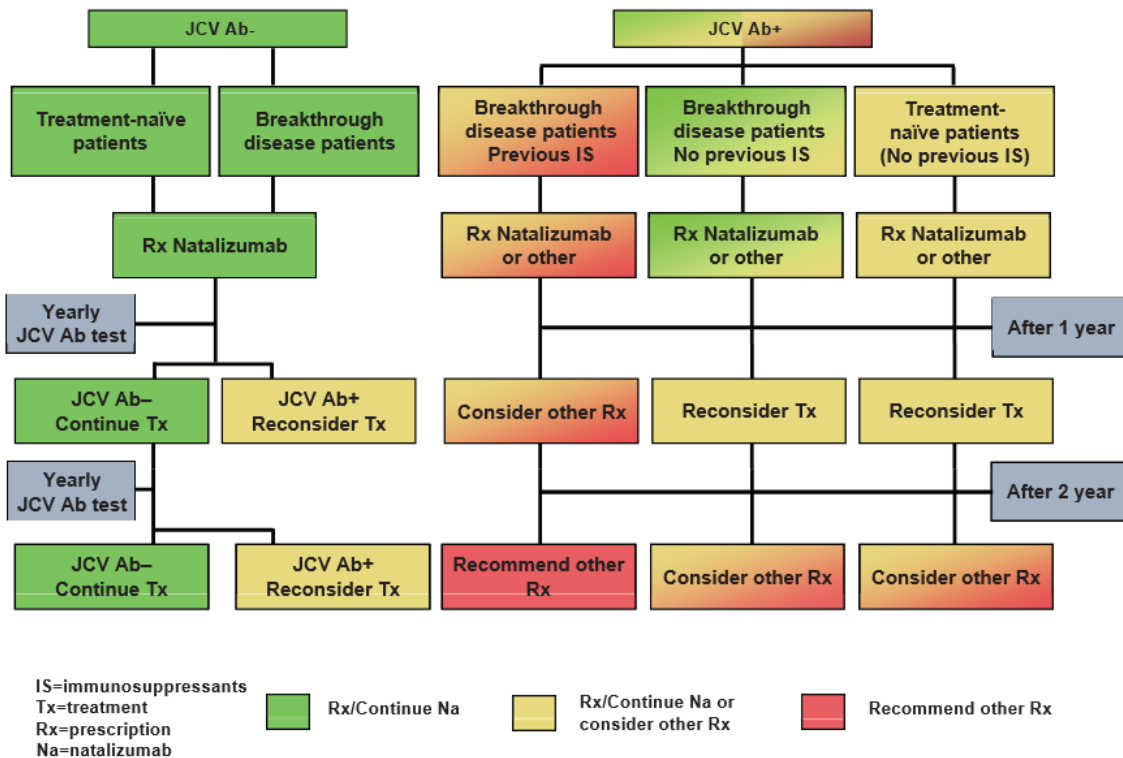


Figura 11: Fluxograma do tratamento dos pacientes submetidos ao natalizumab com base no perfil de anticorpos anti-VJC, uso prévio de imunossupressores e duração da terapia (retirado de²⁸).

Detecção rápida dos sintomas compatíveis com a LMP leva a um diagnóstico precoce, o que é de extrema importância para um bom prognóstico da doença. Para além da atenta vigilância clínica, a educação do paciente e a sua avaliação no que concerne à capacidade e disposição em revelar novos sintomas devem ser tidas em consideração na avaliação do risco da LMP. O risco de desenvolvimento é muito baixo durante os primeiros 12 meses de tratamento com o natalizumab e, portanto, qualquer paciente, independente do seu perfil serológico ou uso prévio de imunossupressores, pode ser tratado com segurança por 12 meses. A decisão de continuar com o natalizumab ou mudar para outra terapêutica alternativa deve basear-se sempre numa relação benefício/risco em todos os pacientes.

10.1.1.2 PAPEL DA L-SELECTINA (CD62L)

A L-selectina (CD62L) é uma molécula de adesão celular expressa nos linfócitos T, e que desempenha um papel importante na sua adesão, migração e reentrada nos nódulos linfáticos secundários. Já foi proposta como possível biomarcador de inflamação cerebral. Uma redução drástica da expressão de L-selectina foi identificada em pacientes tratados com natalizumab que desenvolveram LMP, demonstrando desta forma uma correlação entre a baixa expressão de L-selectina e um alto risco de doença.³¹

10.1.2 OUTROS FÁRMACOS

Outros fármacos usados na EM também têm capacidade para desencadear a LMP. Vários casos foram relatados após o tratamento com fingolimod e fumarato de dimetilo, sendo que ambos podem originar linfocitopenia prolongada.¹² O primeiro caso de LMP num paciente submetido ao fingolimod registou-se em 2013. Antes de iniciar a terapia este encontrava-se a realizar tratamento para a EM com azatioprina e interferão ao longo de um mês.²⁹

O daclizumab foi aprovado recentemente para o tratamento das formas recidivante e remitente da EM. O anticorpo bloqueia o receptor de IL-2 em células T activadas. Não existem relatos de LMP associados a este fármaco.¹²

10.2 PATOLOGIA GASTROINTESTINAL

A DC é uma doença inflamatória intestinal crónica cada vez mais prevalente na população e reflecte a interacção de pelo menos três componentes: predisposição genética, factores ambientais e desregulação da resposta imune.³² Como referido anteriormente o natalizumab foi suspenso do mercado após a descoberta de 3 casos de LMP associados à sua toma, um dos quais era um paciente com DC inicialmente diagnosticado com astrocitoma em 2003. Depois de uma análise exaustiva dos casos prévios de pacientes tratados com o natalizumab foi confirmado que mais nenhum caso de LMP associado ao fármaco ocorreu.³³ Até Março de 2017 foram reportados 3 casos de LMP em pacientes tratados com o natalizumab para a DC.¹²

A recente introdução de anticorpos monoclonais com actividade anti-TNF α como o infliximab no controlo da DC tem sido associada a infecções potencialmente fatais. O mecanismo através do qual os fármacos anti-TNF α desencadeiam fenómenos desmielinizantes ainda não é claro. A exposição ao fármaco poderá, entre outros efeitos, aumentar a sobrevivência das células T periféricas auto-reactivas que penetram no SNC e produzem citocinas pró-inflamatórias.²⁴

Bellizzi *et al.* realizou um estudo para investigar a possibilidade da reactivação do VJC em 18 pacientes com DC em idade pediátrica a realizarem tratamento com infliximab. O ADN viral foi detectado em amostras de urina de 33% dos pacientes, percentagem que subiu para 55% durante o tratamento com o anticorpo referido.³²

Verbeeck *et al.* recolheu amostras de urina, soro, plasma e *buffy coat* com o intuito de investigar a carga viral de 125 pacientes com DC tratados com infliximab e outras terapias

imunossupressoras. A seroprevalência global do VJC foi de 65%. Cópias de ADN viral foram detectadas na urina de 29%-44% dos participantes (indivíduos com DC e grupo de controlo). A média da carga viral foi substancialmente superior no grupo com DC e foi detectada virémia em dois pacientes.³⁴

10.3 PATOLOGIA DERMATOLÓGICA

A psoríase afecta aproximadamente 2% da população mundial e caracteriza-se por uma inflamação crónica da pele o que resulta em eritema, prurido e placas que podem apresentar um carácter doloroso. As opções de tratamento passam pela corticoterapia, análogos da vitamina D, fototerapia, medicação imunossupressora como o metotrexato e ciclosporina e por fim, os agentes biológicos. Entre os agentes biológicos aprovados pela FDA para o tratamento da psoríase estão: adalimumab, alefacept, etanercept, infliximab, ustekinumab e efalizumab.³⁵

O efalizumab é um anticorpo monoclonal que foi aprovado para o tratamento das formas moderadas a severas da psoríase em placas e mostrou ser capaz de melhorar os sintomas de forma sustentado durante 36 meses de terapia contínua.^{7,14} É um anticorpo monoclonal humanizado que se liga ao domínio I da subunidade α do CD11, induzindo mudanças conformacionais no antígeno 1 associado à função leucocitária (LFA-1, do inglês *leukocyte function-associated antigen type 1*), uma molécula de adesão dos linfócitos T. O LFA-1 liga-se à molécula de adesão intercelular 1 (ICAM-1, do inglês *intercellular adhesion molecule 1*), o que permite a migração dos linfócitos T da circulação para locais de inflamação.^{5,7,14} Também tem a capacidade para diminuir a activação da VLA-4 provocando uma hiper-resposta das células T.⁵ Foi voluntariamente retirado do mercado em 2009 devido à ocorrência de LMP com uma incidência associada de 1/500.²

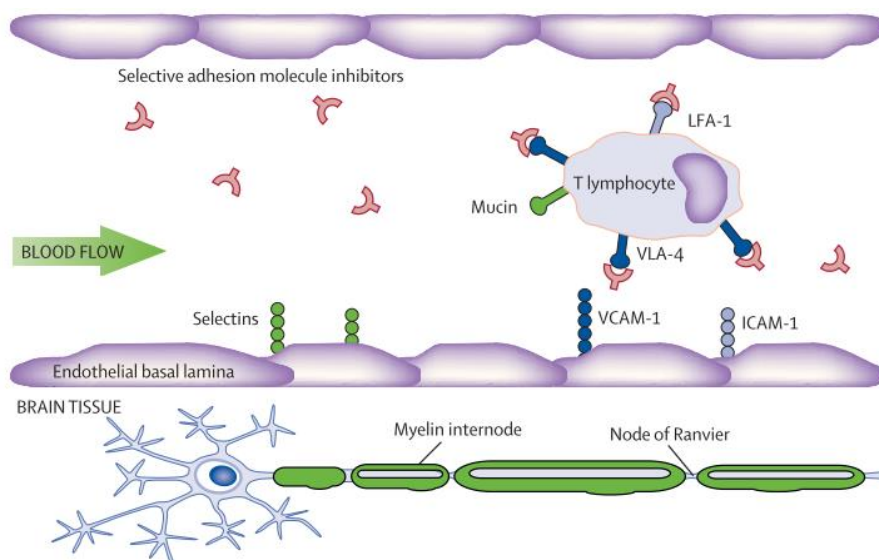


Figura 12: Representação da inibição do tráfego dos linfócitos T operada pelo efalizumab e também pelo natalizumab (retirado de⁸).

Esta terapia pode afectar a apoptose, a citotoxicidade e proliferação celular, a produção de citocinas, a apresentação de antígenos e a activação genética. Este conjunto de eventos está contemplado na fisiopatologia da psoríase em múltiplos níveis sendo talvez o mais importante a inibição inicial das células T nos nódulos linfáticos, impedindo a ligação das mesmas às células endoteliais. Isto leva ao bloqueio do tráfego das células T para a pele e evita a sua reactivação na camada dérmica e epidérmica.⁷ Em modelos animais o bloqueio de CD11 α conduziu a uma diminuição da resposta a agentes patogénico virais. Esta diminuição da resposta das células T é completamente reversível após o *wash out* do fármaco.¹⁴ O tratamento com o natalizumab e efalizumab resulte num aumento dos leucócitos no sangue periférico nomeadamente das células T CD8+. O efalizumab também reduz as células dendríticas cutâneas mas o seu efeito nas células dendríticas perivasculares cerebrais é ainda desconhecido.⁷

Mais de 6000 pacientes foram submetidos a protocolos de tratamento com base no efalizumab antes da sua remoção do mercado Americano e Europeu na primavera de 2009. Destes, apenas 166 realizaram mais de 3 anos de terapia. Uma revisão dos efeitos do tratamento com este fármaco não demonstrou haver aumento da taxa de infecção em 2335 pacientes a realizar tratamento contínuo durante 12 semanas, 1115 pacientes a realizarem em 24 semanas e 170 pacientes a realizarem em 108 semanas. Contudo este período de *follow up* não tem uma duração adequada.⁷ Kothary *et al.* realizou um estudo com 72 pacientes com psoríase, 13 dos quais desenvolveram LMP após um período médio de 3 anos.⁹ Tal como na EM, não foram previamente registados casos de LMP em pacientes com psoríase. A diminuição da resposta das células T a antígenos virais pode ser a explicação

para o aumento do risco da LMP associada ao efalizumab. O bloqueio da entrada no cérebro dos LTC específicos para o VJC também pode contribuir para tal.⁷

O efalizumab e o natalizumab são terapias biológicas que impedem a migração das células T para o SNC e as respostas imunes subsequentes, contudo algumas diferenças foram propostas nos mecanismos pelos quais estas despoletam a LMP. O natalizumab causa a libertação das células progenitoras da medula óssea na circulação, efeito que não se observa no efalizumab. Devido à diminuição da migração das células T através da barreira hematoencefálica imposta pelo natalizumab, 70% da contagem celular do LCR está diminuída. Por sua vez, o efalizumab actua inibindo as células apresentadoras de antigénios e a reactivação das células T CD4+ e CD8+.¹⁴

Kothary *et al.* identificou 12 casos sugestivos de LMP em pacientes submetidos a terapia modificadora biológica aprovada pela FDA para a psoríase. Todos os casos diagnosticados de LMP foram em pacientes tratados com o efalizumab sendo que os outros casos ocorreram em pacientes a realizar protocolos de imunossupressão para outras condições que não a psoríase.³⁵ De realçar que foram reportados 2 casos de síndrome de leucoencefalopatia posterior reversível associada ao ustekinumab. Esta síndrome é caracterizada por um quadro de cefaleias, alteração do estado mental, distúrbios na visão e convulsões.³⁶

O risco de LMP associada ao efalizumab é maior comparativamente a outras terapias modificadoras biológicas e deve ser sempre considerado neste grupo de pacientes quando apresentam sintomas sugestivos.⁹ É desta forma imperativo que os dermatologistas se encontrem familiarizados com a apresentação clínica, avaliação e critérios diagnósticos das complicações neurológicas associada aos agentes biológicos usados no tratamento da psoríase.³⁶

10.4 PATOLOGIA REUMATOLÓGICA

O rituximab é um anticorpo monoclonal IgG1 quimérico anti CD20.^{2,5,8,13} A ligação do anticorpo a este antigénio da superfície celular, expresso nas células B, resulta na apoptose das células B CD20+ o que provoca a sua depleção no sangue periférico e LCR.^{2,5} A recuperação das células B no sangue periférico ocorre aproximadamente entre os 6 e os 9 meses após a administração do rituximab. Este tempo para a reconstituição das células B depende da depuração do composto e da capacidade regenerativa da medula óssea. O grau de depleção das células B no sangue periférico tem sido correlacionado com a

resposta clínica ao fármaco. A administração repetida do anticorpo induz frequentemente uma redução das imunoglobulinas, particularmente da IgG, o que acarreta um aumento do risco para infecções.³⁷ A recuperação dos níveis de células B periféricas leva ao predomínio de células B imaturas que, ao estarem infectadas por VJC, contribuem para o início da LMP. O tempo que leva ao desenvolvimento da patologia após a terapia com o rituximab é consistente com o tempo de reconstituição da população das células B.⁷

Foi aprovado nos EUA em 1997 e na Europa em 1998, sendo por isso um dos anticorpos mais antigos no mercado.¹³ Inicialmente aprovado a nível mundial para tratar o linfoma não Hodgkin e a LLC, foi posteriormente aprovado em combinação com o metotrexato para o tratamento de pacientes adultos com AR moderada a grave que apresentam uma resposta inadequada à terapia com pelo menos um inibidor do factor de necrose tumoral. Mais tarde, obteve aprovação em combinação com os glucocorticóides para a indução de remissão das vasculites associadas ao auto-anticorpo anticitoplasma de neutrófilo: granulomatose com poliangeíte e poliangeíte microscópica. Foi também aprovado na Europa para o tratamento de pacientes com LLC previamente não tratada em combinação com a quimioterapia.⁸ Este anticorpo monoclonal tem sido utilizado em *off-label* para alguns tratamentos tais como: LES e trombocitopenia imune.^{8,9}

Carson *et al.* identificou 57 casos de LMP associada à terapia com rituximab e outros agentes no período de tempo de 1997-2008. Destes, 52 tinham doenças linfoproliferativas, 2 tinham LES, 1 tinha AR, 1 tinha pancitopenia auto-imune idiopática e 1 tinha trombocitopenia imune. A esperança média de vida após o diagnóstico foi de dois meses e a taxa de mortalidade foi de 90%.³⁸

Até 2008 foram reportados 76 casos⁸ de LMP associada ao rituximab, número que ascendeu para 114 em 2013; contudo é importante salientar que o fármaco foi sempre usado em combinação com outras terapias de carácter imunossupressor.² A incidência da LMP em pacientes a realizar tratamento com o rituximab é de 1/32000.⁹

No grupo das doenças reumatológicas são várias as que já foram associadas com a LMP como o LES, AR, granulomatose com poliangeíte ou dermatomiosite.³⁹ Em 2006 dois casos de pacientes com LES a realizarem tratamento com o rituximab tiveram um desfecho fatal o que levou a FDA a emitir um alerta relativo à sua utilização em *off-label*. Ambos os pacientes apresentavam um largo historial de tratamentos imunossupressores, o que por si só já é factor desencadeador da LMP.³⁹ Em 2008 um terceiro paciente com AR faleceu com LMP, após 18 meses de tratamento com rituximab, corticoesteróides e metotrexato.⁴

O sucesso da terapia centrada na depleção das células B no tratamento da AR ao longo da última década reforçou a ideia das células B assumirem um papel fundamental como mediadores chave na fisiopatologia da AR. Contudo este papel ainda não se encontra bem definido; pensa-se que pode ter origem no facto das células B produzirem o factor reumatóide e outros auto-anticorpos como o anticorpo antipeptídeo citrulinado. Mais, as células B podem actuar como células apresentadoras de antígenos e têm a capacidade de produzirem inúmeras citocinas pró-inflamatórias como a IL-6 e TNF- α . Nos anos recentes, um grande número de agentes biológicos com a capacidade para diminuir os níveis de células B foi desenvolvido com vista ao tratamento de doenças auto-imunes. Contudo, o rituximab é o único fármaco que se encontra regularizado para o tratamento da AR. Outros como o ocrelizumab, ofatumumab, belimumab e atacicep foram considerados inefectivos ou retirados do mercado por preocupações relativas ao seu perfil de segurança.³⁷ Clifford *et al.* realizou um estudo de caso com 129,000 pacientes submetidos ao tratamento com o rituximab para a AR. Destes, 4 desenvolveram LMP. Todos eles eram mulheres com mais de 50 anos e com um historial de síndrome de Sjogren associado. Uma das pacientes nunca tinha sido sujeita a terapia biológica e a terapia imunossupressora que realizou foi mínima. Estes casos suportam a ideia do aumento do risco de LMP neste grupo de pacientes para cerca de 1/25000 indivíduos.⁴⁰ A taxa de mortalidade nos pacientes com AR a realizar tratamento com o rituximab é de 90%, e 100% quando a LMP é diagnosticada até 3 meses depois da última dose do fármaco.⁴¹

Um outro grupo de fármacos modificadores da actividade biológica, nomeadamente aqueles com actividade anti TNF- α como o infliximab, o adalimumab e o etanercept, têm sido usados no tratamento da AR, artrite psoriática e espondilite anquilosante.²⁴ Sammut *et al.* descreveu um caso de um paciente do sexo feminino de 69 anos com AR com factor reumatóide positivo que se apresentou com uma deterioração progressiva da função cognitiva após tratamento com infliximab e metotrexato.⁴² Uma mulher de 66 anos com AR desenvolveu LMP após dois anos de monoterapia com o adalimumab. Este foi usado em mais de 700,000 pacientes em todo o mundo.⁴³ Os últimos dois casos clínicos descritos têm em comum um período terapêutico superior a pelo menos dois anos o que sugere que o efeito cumulativo da exposição a este tipo de anticorpos pode ser um importante factor de risco.⁴² No que concerne ao etanercept, Molloy *et al.* descreveu dois casos de LMP em pacientes do sexo feminino com 74 e 23 anos a realizarem tratamento com este anticorpo para a AR e LES respectivamente.⁴³

Em 2012 foram reportados à FDA 34 casos de LMP em pacientes com doenças auto-imunes reumatológicas. Destes, 17 eram pacientes com LES e 5 estavam a realizar tratamento com terapia biológica, nomeadamente o rituximab.⁴¹

Tabela 4: Doenças auto-imunes reumatológicas primárias entre 34 pacientes que desenvolveram LMP após terapia imunossupressora (adaptado de⁴⁴).

Doenças auto-imunes reumatológicas primárias	Nº total de pacientes	Nº de pacientes submetidos a agentes biológicos	Nº de pacientes submetidos a outros agentes
LES	17	5	12
AR	10	7	3
Dermatomiosite	3	1	2
Vasculite crioglobulinémica	2	2	0
Granulomatose com poliangeíte	2	0	2
Total	34	15	19

Os resultados descritos na tabela 4 são consistentes com o facto dos pacientes com LES apresentarem uma maior susceptibilidade para a doença. Ainda se encontra por esclarecer o mecanismo pelo qual estes doentes apresentam uma maior propensão para a LMP; pensa-se que pode ser devido à linfopenia (comum neste tipo de pacientes) ou à associação com a terapia imunossupressora.⁴⁴ O risco de LMP na população de doentes com LES é 10 vezes maior que na AR e 20 vezes maior que na população em geral.⁴ O LES é uma doença auto-imune com atingimento multissistémico, significativamente mais comum no sexo feminino. O primeiro fármaco biológico aprovado para o tratamento desta patologia foi o belimumab. É um anticorpo monoclonal dirigido contra o estimulador solúvel do linfócito B, um factor de crescimento essencial para a maturação e crescimento das células B. Foi aprovado em 2011 pela FDA para o tratamento dos casos de LES (com auto-anticorpos positivos) refractários ao tratamento. Fredericks *et al.* reportou um caso de uma mulher de 40 anos com LES diagnosticada com LMP. Após receber 10 infusões de belimumab (desde Agosto de 2012 a Abril de 2013) a paciente começou a sofrer um declínio neurológico progressivo associado a um episódio de distonia e sintomas autonómicos.⁴⁵

10.5 PATOLOGIA HEMATOLÓGICA

O rituximab encontra-se aprovado para o tratamento de doenças hematológicas malignas CD20+ como o linfoma não Hodgkin e a LLC. Também é utilizado como terapia de manutenção para o linfoma folicular. O antígeno CD20+ é expresso em quase 90% das células B do linfoma não Hodgkin e numa proporção menor das células da LLC, contudo não

é expresso nas células tronco hematopoiéticas. Tuccori *et al.* num estudo retrospectivo realizado com pacientes com LNH tratados com rituximab encontrou uma incidência de LMP de 0,1-4,3/1000 pacientes por ano. Este número excede aquele que se verifica nos pacientes infectados por VIH ou na LLC, doenças tradicionalmente associadas a um maior risco de LMP. Contudo este estudo pode ter sido afectado por algumas limitações, o que resultou numa sobrestimação do risco. A administração do rituximab pode aumentar o risco de LMP, porém o risco absoluto é baixo e não suplanta o benefício que este fármaco possui neste grupo de pacientes.⁴⁶ São raros os casos de LMP associados à terapia com R-CHOP. Al Tawfiq *et al.* descreveu um caso de um paciente masculino com 52 anos com um linfoma que recebeu seis ciclos de R-CHOP. Após seis ciclos o paciente desenvolveu convulsões tónico-clónicas e a biópsia confirmou o diagnóstico de LMP.⁴⁷

Calcular o risco exacto que este grupo de pacientes possui é complicado, já que muitas doenças malignas das células B já acarretam por si só um risco independente para a LMP. A maioria dos casos de LMP associados ao rituximab são predominantemente encontrados em pacientes com doenças linfoproliferativas.⁴⁶ Até 2015 foram identificados 137 casos neste grupo de doentes.²⁹

Alemtuzumab é um anticorpo monoclonal humanizado contra o antigénio CD52, uma glicoproteína presente na maioria das células mononucleares periféricas. É um fármaco aprovado para doenças hematológicas malignas, rejeição pós-transplante e tem sido estudado como tratamento para a EM. Causa uma profunda redução dos linfócitos B e T após a sua administração. As células B recuperam em 3 meses, todavia a depleção provocada nos linfócitos T pode permanecer por mais de 5 anos. Assim como com o rituximab, a LMP foi reportada no contexto de malignidade ou imunossupressão grave devido à co-administração de terapia imunossupressora. Dois casos de LMP foram descritos com o alemtuzumab em pacientes com LLC.¹⁴

BV é um anticorpo monoclonal conjugado quimérico com actividade anti-CD30 e foi aprovado em 2011 para o tratamento do linfoma anaplásico de grande células e LH, duas condições conhecidas pelo seu risco de LMP.⁹ O mecanismo proposto pelo qual este diminui a vigilância imune do SNC centra-se na diminuição da função das células T. Devido às condições subjacentes tratadas com este agente, é difícil saber até que ponto o BV é responsável por aumentar o risco de doença nos poucos casos já observados.²⁰ Tem mostrado altas taxas de remissão no LH, especialmente em pessoas com idade superior a 60 anos. O tratamento com BV é considerado actualmente um tratamento padrão para pacientes com linfoma anaplásico de grandes células recidivante ou refractário e para

pacientes com LH recidivante ou refractário após transplante autólogo de células tronco ou pelo menos dois regimes de quimioterapia prévia.⁹

Existem características clínicas importantes associadas a este anticorpo que diferem das que se encontram nos pacientes que desenvolvem LMP após exposição ao natalizumab, efalizumab ou rituximab. Carson *et al.* descreveu 5 casos de LMP associada à terapia com BV. Todos os pacientes tinham neoplasias linfóides. O tempo que decorreu até ao início dos sintomas característicos da LMP e a duração da terapia foram muito menores nestes pacientes. Três dos pacientes com esta patologia revelaram-se sintomáticos após 2 ou 3 doses do fármaco (administrada a cada 3 semanas).⁴⁸

10.6 TRANSPLANTES

Belatacept é uma proteína de fusão solúvel recombinante composta pelo fragmento Fc da IgG1 ligada ao domínio extracelular CTLA-4. Foi aprovada pela FDA para a profilaxia da rejeição do transplante renal. Dois casos de LMP foram associados ao seu uso. Um após transplante renal e outro após transplante hepático.⁴⁴

Steurer *et al.* descreveu o primeiro caso de LMP associada à terapia com rituximab após transplante alogénico de células tronco hematopoiéticas.⁴⁹

Um caso de LMP associado ao alentuzumab foi identificado num receptor de transplante de pulmão.¹⁴

11. DISCUSSÃO E CONCLUSÃO

O uso cada vez mais frequente da terapia modificadora biológica (o rituximab é utilizado numa ampla gama de doenças imunológicas, o natalizumab demonstrou benefícios no tratamento da EM e da DC e o efalizumab diminui o tamanho e a gravidade das lesões cutâneas associadas à psoríase em placas moderada a grave),⁸ e a emergência da LMP associada a esta, faz com que seja imperativo a criação de protocolos de farmacovigilância, de modo a monitorizar o doente ao longo de todo o tratamento.

Em 2007 foi implementado um protocolo avançado de farmacovigilância para o rituximab nos EUA. Este consiste em actividades de minimização do risco, tais como: vigilância contínua após a comercialização, avaliação do número de casos reportados, incidência, morbidade e mortalidade da LMP e possíveis factores de risco. Em Janeiro de 2008 a FDA aprovou um guia de medicação que descreve os efeitos adversos do rituximab e inclui também uma lista de sintomas precoces da LMP. Em 2009 a EMA aprovou o rituximab como tratamento para a LLC. Nesse mesmo ano foi proposto um sistema de cartão de alerta para os pacientes com AR tratados com o rituximab. No cartão estão registados os nomes dos pacientes, médicos e as datas do tratamento. O cartão fornece também informações sobre os sintomas da LMP.⁸

TOUCH (*TYSABRI Outreach: Unified Commitment to Health*) é um programa obrigatório projectado para diminuir o risco da LMP. Foi introduzido nos EUA quando o natalizumab regressou ao mercado. Recomenda-se que o natalizumab não seja administrado concomitantemente com outras terapias imunossupressoras.⁷ Na Europa está recomendada a realização de ressonância magnética cerebral até 3 meses após o início da terapia com o natalizumab. Os pacientes recebem também um cartão de alerta e são aconselhados a mantê-lo durante o tratamento e até 6 meses após a última dose.⁸ TYGRIS (*TYSABRI Global Observational Program in Safety*) é um programa de observação com o intuito de determinar quais os potenciais riscos existentes com a administração do natalizumab. É um programa à escala global com registo voluntário.⁷ STRATIFY JCV[®] DxSelect[™] (Focus Diagnostics, Cypress, CA, USA) é um teste ELISA de segunda geração disponível apenas para pacientes com EM a realizar tratamento com o natalizumab. Nenhum outro teste serológico usado para determinar anticorpos anti-VJC é suficientemente preciso para confirmar o diagnóstico da LMP.⁴¹

A LMP é de extrema relevância para os reumatologistas já que pode mimetizar as manifestações neuro-inflamatórias das doenças auto-imunes reumatológicas. Pode ser

complicado diferenciar a LMP de complicações relativas ao SNC neste tipo de patologias. Dificuldades no diagnóstico são particularmente salientes nas formas de LES que têm envolvimento neurológico e nas vasculites que afectam o SNC.⁴ Este dado sugere que a LMP pode ser subdiagnosticada neste grupo de pacientes. O elemento chave para a sobrevivência na LMP é a reversão do estado de imunossupressão. É crucial ter isto presente nos pacientes com diagnóstico prévio de LES, uma vez que aproximadamente 50% destes foram diagnosticados erradamente e inicialmente expostos a protocolos de imunossupressão.⁵⁰ O algoritmo desenvolvido para o natalizumab, ainda que sub-óptimo, pode servir de modelo para os agentes biológicos usados nos pacientes reumatológicos.⁴¹ A LMP associada ao rituximab é considerada um efeito adverso raro. Ao contrário do que se observa no natalizumab e efalizumab, não existe uma relação directa entre o aumento do risco de desenvolver LMP e o aumento da dose e duração da exposição ao rituximab; o que enfatiza o desconhecimento que existe relativo aos mecanismos fisiopatológicos associados a este anticorpo.⁴⁴ Uma melhor compreensão destes mecanismos poderá ajudar na predição do risco de LMP e a guiar a selecção dos pacientes candidatos a esta terapia biológica.⁴ À medida que surgem novos casos de LMP em pacientes a realizar tratamento com o rituximab surge também a necessidade de uma vigilância contínua durante todo o processo.⁴⁴ Os médicos que prescrevem rituximab e natalizumab e os pacientes que recebem estes fármacos devem estar cientes do potencial de imunossupressão, reactivação do VJC e desenvolvimento de LMP. Todos os casos diagnosticados de LMP devem ser comunicados ao fabricante do medicamento e às autoridades reguladoras apropriadas. Investigações futuras centradas na identificação dos factores de risco para a reactivação do VJC são fundamentais, de forma a compreendermos melhor quais os mecanismos que levam à LMP durante o tratamento com estas terapias imunomoduladoras.⁸

Numa perspectiva clínica a LMP deve ser sempre considerada em qualquer paciente a realizar um longo tratamento com recurso a anticorpos monoclonais. Estes pacientes devem ser monitorizados se surgirem novos sintomas relacionados com o SNC e, caso isto suceda, deve-se proceder aos exames necessários para descartar a doença.⁹

Por fim, devemos ter sempre presente que a LMP é uma doença rara o que torna difícil inscrever pacientes em ensaios duplamente cegos e ensaios clínicos randomizados de fase 3; assim, devem ser encontradas outras formas de avaliação da doença¹¹ de forma a identificar os pacientes que têm um risco acrescido antes de se iniciar a terapêutica com agentes modificadores biológicos.

12. AGRADECIMENTOS

Agradeço ao Professor Doutor Saraiva da Cunha pela sua disponibilidade e profissionalismo, bem como pelo acompanhamento e orientação que tornaram possível a realização deste trabalho. Esta dissertação de Mestrado significa o culminar de um percurso de seis anos e o concretizar de um sonho – ser médico.

Agradeço à minha família por tornar tudo isto possível e aos meus amigos por estarem sempre presentes nas noites intermináveis de estudo e nas noites intermináveis de boémia.

“Don’t ever let somebody tell you, you can’t do something” – The Pursuit of Happyness

Este trabalho foi escrito de acordo com o antigo acordo ortográfico.

13. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Major EO. Progressive Multifocal Leukoencephalopathy in Patients on Immunomodulatory Therapies. *Annu Rev Med.* 2010;61(1):35–47. Available from: <http://www.annualreviews.org/doi/10.1146/annurev.med.080708.082655>
2. Bellizzi A, Anzivino E, Rodio DM, Palamara AT, Nencioni L, Pietropaolo V. New insights on human polyomavirus JC and pathogenesis of progressive multifocal leukoencephalopathy. *Clin Dev Immunol* ;2013:839719. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3652120&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
3. Bellizzi A, Nardis C, Anzivino E, Rodio DM, Fioriti D, Mischitelli M, et al. Human polyomavirus JC reactivation and pathogenetic mechanisms of progressive multifocal leukoencephalopathy and cancer in the era of monoclonal antibody therapies. *J Neurovirol.* 2012;18(1):1–11.
4. Molloy ES, Calabrese CM, Calabrese LH. The Risk of Progressive Multifocal Leukoencephalopathy in the Biologic Era: Prevention and Management. *Rheum Dis Clin North Am.* 2017;43(1):95–109.
5. Ferenczy MW, Marshall LJ, Nelson CDS, Atwood WJ, Nath A, Khalili K, et al. Molecular biology, epidemiology, and pathogenesis of progressive multifocal leukoencephalopathy, the JC virus-induced demyelinating disease of the human brain. *Clin Microbiol Rev.* 2012;25(3):471–506.
6. Keene DL, Legare C, Taylor E, Gallivan J, Cawthorn GM, Vu D. Monoclonal antibodies and progressive multifocal leukoencephalopathy. *Can J Neurol Sci.* 2011;38(4):565–71.
7. Berger JR. Progressive multifocal leukoencephalopathy and newer biological agents. *Drug Saf.* 2010;33(11):969–83.
8. Carson KR, Focosi D, Major EO, Petrini M, Richey EA, West DP, et al. Monoclonal antibody-associated progressive multifocal leukoencephalopathy in patients treated with rituximab, natalizumab, and efalizumab: a Review from the Research on Adverse Drug Events and Reports (RADAR) Project. *Lancet Oncol [Internet].* 2009;10(8):816–24. Available from: [http://dx.doi.org/10.1016/S1470-2045\(09\)70161-5](http://dx.doi.org/10.1016/S1470-2045(09)70161-5)
9. Bohra C, Sokol L, Dalia S. Progressive Multifocal Leukoencephalopathy and Monoclonal Antibodies: A Review. *Cancer Control.* 2017;24(4):1–9.
10. Pietropaolo V, Prezioso C, Bagnato F, Antonelli G. John Cunningham virus: an overview on biology and disease of the etiological agent of the progressive multifocal leukoencephalopathy Valeria. *New Microbiol.* 2018;41(3):179–86.

11. Focosi D, Marco T, Kast RE, Maggi F, Ceccherini-Nelli L, Petrini M. Progressive multifocal leukoencephalopathy: Whats new? *Neuroscientist*. 2010;16(3):308–23.
12. Oversikt K, Alstadhaug KB, Myhr K-M, Rinaldo CH. Progressive multifocal leukoencephalopathy. *Tidsskr Den Nor Laegeforening*. 2017;137(23–24):1894–9.
13. Tan CS, Koranik IJ. Progressive multifocal leukoencephalopathy and other disorders caused by JC virus: clinical features and pathogenesis. *Lancet Neurol* [Internet]. 2010;9(4):425–37. Available from: [http://dx.doi.org/10.1016/S1474-4422\(10\)70040-5](http://dx.doi.org/10.1016/S1474-4422(10)70040-5)
14. Zaheer F, Berger JR. Treatment-related progressive multifocal leukoencephalopathy: Current understanding and future steps. *Ther Adv Drug Saf*. 2012;3(5):227–39.
15. Monaco MCG, Major EO. The link between VLA-4 and JC virus reactivation. *Expert Rev Clin Immunol*. 2012;8(1):63–72.
16. Fox R. Advances in the management of PML: Focus on natalizumab. *Cleve Clin J Med*. 2011;78(SUPPL. 2):33–7.
17. Haley SA, Atwood WJ. Progressive Multifocal Leukoencephalopathy: Endemic Viruses and Lethal Brain Disease. *Annu Rev Virol* [Internet]. 2017;4(1):349–67. Available from: <http://www.annualreviews.org/doi/10.1146/annurev-virology-101416-041439>
18. Aström K-E, Mancall EL, Richardson EP, Jr. Progressive multifocal leukoencephalopathy a hitherto unrecognized complication of chronic lymphatic leukaemia and hodgkin's disease. *Brain a J Neurol*. 1958;81(1):93–111.
19. Lima MA. Leucoencefalopatia multifocal progressiva: Novos conceitos. *Arq Neuropsiquiatr*. 2013;71(9 B):699–702.
20. Chahin S, Berger JR. A risk classification for immunosuppressive treatment-associated progressive multifocal leukoencephalopathy. *J Neurovirol*. 2014;21(6):623–31.
21. Pavlovic D, Patera AC, Nyberg F, Gerber M, Liu M. Progressive multifocal leukoencephalopathy: Current treatment options and future perspectives. *Ther Adv Neurol Disord*. 2015;8(6):255–73.
22. Saribas AS, Ozdemir A, Lam C, Safak M. JC virus-induced Progressive Multifocal Leukoencephalopathy. *Future Virol* [Internet]. 2010;5(3):313–23. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21731577%0Ahttp://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=PMC3128336>
23. Clifford DB, DeLuca A, Simpson DM, Arendt G, Giovannoni G, Nath A. Natalizumab-associated progressive multifocal leukoencephalopathy in patients with multiple sclerosis: lessons from 28 cases. *Lancet Neurol*. 2010;9(4):438–46.
24. Lysandropoulos AP, Du Pasquier RA. Demyelination as a complication of new immunomodulatory treatments. *Curr Opin Neurol*. 2010;23(3):226–33.

25. Koralnik IJ. Progressive multifocal leukoencephalopathy revisited: Has the disease outgrown its name? *Ann Neurol.* 2006;60(2):162–73.
26. Calabrese M, Pitteri M, Farina G, Bajrami A, Castellaro M, Magliozzi R, et al. Dimethyl fumarate: A possible exit strategy from natalizumab treatment in patients with multiple sclerosis at risk for severe adverse events. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 2017;88(12):1073–8.
27. Rudick RA. Multiple sclerosis, natalizumab, and PML: Helping patients decide. *Cleve Clin J Med.* 2011;78(Suppl. 2):S:18–23.
28. Sørensen PS, Bertolotto A, Edan G, Giovannoni G, Gold R, Havrdova E, et al. Risk stratification for progressive multifocal leukoencephalopathy in patients treated with natalizumab. *Mult Scler J.* 2012;18(2):143–52.
29. Faulkner M. Risk of progressive multifocal leukoencephalopathy in patients with multiple sclerosis. *Expert Opin Drug Saf [Internet].* 2015;14(11):1737–48. Available from: <http://www.tandfonline.com/doi/full/10.1517/14740338.2015.1093620>
30. Clerico M, Artusi CA, Di Liberto A, Rolla S, Bardina V, Barbero P, et al. Natalizumab in multiple sclerosis: Long-term management. *Int J Mol Sci.* 2017;18(5):1–12.
31. Lanza Cariccio V, Bramanti P, Mazzon E. Biomarkers identification for PML monitoring, during Natalizumab (Tysabri®) treatment in Relapsing-Remitting Multiple Sclerosis. *Mult Scler Relat Disord [Internet].* 2018;20:93–9. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.msard.2018.01.011>
32. Bellizzi A, Anzivino E, Ferrari F, Di Nardo G, Colosimo MT, Fioriti D, et al. Polyomavirus JC reactivation and noncoding control region sequence analysis in pediatric Crohn's disease patients treated with infliximab. *J Neurovirol.* 2011;17(4):303–13.
33. Vermeer NS, Straus SMJM, Mantel-Teeuwisse AK, Hidalgo-Simon A, Egberts ACG, Leufkens HGM, et al. Drug-induced progressive multifocal leukoencephalopathy: Lessons learned from contrasting natalizumab and rituximab. *Clin Pharmacol Ther.* 2015;98(5):542–50.
34. Verbeeck J, Van Assche G, Ryding J, Wollants E, Rans K, Vermeire S, et al. JC viral loads in patients with Crohn's disease treated with immunosuppression: Can we screen for elevated risk of progressive multifocal leukoencephalopathy? *Gut.* 2008;57(10):1393–7.
35. Kothary N, Diak IL, Brinker A, Bezabeh S, Avigan M, Dal Pan G. Progressive multifocal leukoencephalopathy associated with efalizumab use in psoriasis patients. *J Am Acad Dermatol [Internet].* 2011;65(3):546–51. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jaad.2010.05.033>

36. Lin EJ, Reddy S, Shah V V, Wu JJ. A review of neurologic complications of biologic therapy in plaque psoriasis. *Cutis* [Internet]. 2018;101(1):57–60. Available from: <http://ezproxy.bangor.ac.uk/login?url=http://search.ebscohost.com/login.aspx?direct=true&db=cmedm&AN=29529105&authtype=shib&site=ehost-live>
37. Chi Chiu Mok. Rituximab for the treatment of rheumatoid arthritis: an update. *Drug Des Devel Ther*. 2014;87–100.
38. Carson KR, Evens AM, Richey EA, Habermann TM, Focosi D, Seymour JF, et al. Progressive multifocal leukoencephalopathy following rituximab therapy in HIV negative patients : a report of 57 cases from the Research on Adverse Drug Event and Reports (RADAR) project Progressive multifocal leukoencephalopathy following rituximab the. *Blood*. 2009;113(20):4834–40.
39. Boren EJ, Cheema GS, Naguwa SM, Ansari AA, Gershwin ME. The emergence of progressive multifocal leukoencephalopathy (PML) in rheumatic diseases. *J Autoimmun*. 2008;30(1–2):90–8.
40. Clifford DB. Rituximab-Associated Progressive Multifocal Leukoencephalopathy in Rheumatoid Arthritis. *Arch Neurol* [Internet]. 2011;68(9):1156. Available from: <http://archneur.jamanetwork.com/article.aspx?doi=10.1001/archneurol.2011.103>
41. Clavel G, Moulignier A, Semerano L. Progressive multifocal leukoencephalopathy and rheumatoid arthritis treatments. *Jt Bone Spine* [Internet]. 2017;84(6):671–5. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jbspin.2017.03.002>
42. Sammut L, Wallis D, Holroyd C. Progressive Multifocal Leukoencephalopathy Associated with infliximab. *J R Coll Physicians Edinb* [Internet]. 2016;46(3):163–5. Available from: <http://www.nejm.org/doi/full/10.1056/NEJMc1302135?af=R&rss=currentIssue>
43. Molloy OE, Foley CC, Lally A, Moriarty B, Collins P, O’Gorman J, et al. Progressive multifocal leukoencephalopathy and psoriasis. *Br J Dermatol*. 2017;177(1):271–2.
44. Molloy ES, Calabrese LH. Progressive multifocal leukoencephalopathy associated with immunosuppressive therapy in rheumatic diseases: Evolving role of biologic therapies. *Arthritis Rheum*. 2012;64(9):3043–51.
45. Fredericks CA, Kvam KA, Bear J, Crabtree GS, Josephson SA. A case of progressive multifocal leukoencephalopathy in a lupus patient treated with belimumab. *Lupus*. 2014;23(7):711–3.
46. Valentina Felli, Alessandra Di Sibio Ma, Gennarelli A, Patrizia Sucapane As, Catalucci A, Carmine Marini Mg. Progressive Multifocal Leukoencephalopathy Lymphoma HIV-Negative Patient with Non-Hodgkin Following Treatment with Rituximab in an A Case Report and Literature Review. *Neuroradiol J*. 2014;27:657–64.

47. Al-Tawfiq JA, Banda RW, Daabil RA, Dawamneh MF. Progressive multifocal leukoencephalopathy (PML) in a patient with lymphoma treated with rituximab: A case report and literature review. *J Infect Public Health* [Internet]. 2015;8(5):493–7. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jiph.2014.11.006>
48. Carson KR, Newsome SD, Kim EJ, Wagner-Johnston ND, Von Geldern G, Moskowitz CH, et al. Progressive multifocal leukoencephalopathy associated with brentuximab vedotin therapy: A report of 5 cases from the Southern Network on Adverse Reactions (SONAR) project. *Cancer*. 2014;120(16):2464–71.
49. Steurer M, Clausen J, Gotwald T, Gunsilius E, Stockhammer G, Gastl G, et al. Progressive multifocal leukoencephalopathy after allogeneic stem cell transplantation and posttransplantation rituximab [1]. *Transplantation*. 2003;76(2):435–6.
50. Molloy ES, Calabrese LH. Progressive multifocal leukoencephalopathy in patients with rheumatic diseases: Are patients with systemic lupus erythematosus at particular risk? *Autoimmun Rev* [Internet]. 2008;8(2):144–6. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.autrev.2008.07.006>