

sinapse®

Publicação da Sociedade Portuguesa de Neurologia

SUPLEMENTO 1 | Volume 12 | Nº2 | Novembro de 2012

Suplemento
especial
Fingolimod

Editorial

Artigos

Esclerose Múltipla: epidemiologia, etiopatogenia, fisiopatologia e diagnóstico diferencial

Regulação da neuroinflamação através do controlo da retenção e migração de linfócitos T

Modo de ação do Fingolimod

Eficácia do Fingolimod na Esclerose Múltipla

Segurança e Protocolo de Monitorização do Tratamento com Fingolimod

Ressonância Magnética na Esclerose Múltipla e a Acção de Fingolimod a longo prazo

Index

Pág.

- Editorial**
3 João Sá
- Artigos**
5 **Esclerose Múltipla: epidemiologia, etiopatogenia, fisiopatologia e diagnóstico diferencial**
Pedro Abreu, Maria Teresa Mendonça, Joana Guimarães, Maria José Sá
- 15 **Regulação da neuroinflamação através do controlo da retenção e migração de linfócitos T**
Luís Graca
- 23 **Modo de ação do Fingolimod**
Susana Monteiro, João Cerqueira
- 30 **Eficácia do Fingolimod na Esclerose Múltipla**
Lívia M A F Diogo Sousa, Sónia Raquel Marques Batista, Luís Augusto Salgueiro e Cunha
- 35 **Segurança e Protocolo de Monitorização do Tratamento com Fingolimod**
Rita Moiron Simões, Paulo Alegria, José Vale
- 46 **Ressonância Magnética na Esclerose Múltipla e a Acção de Fingolimod a longo prazo**
Rui Pedrosa

Sociedade Portuguesa de Neurologia

Direcção

Presidente

Vitor Oliveira (Lisboa)

Vice-Presidentes

Ana Amélia Pinto - *Secretária-Geral*
(Amadora)

Carolina de Almeida Garrett (Porto)

Fernando Matias - *Tesoureiro* (Coimbra)

João Alcântara (Lisboa)

Mesa da Assembleia Geral

Presidente

Celso Pontes (Porto)

Vogais

João Ramalho Fontes (Braga)

Mário Rui Silva (Vila Real)

Conselho Fiscal

Presidente

Grilo Gonçalves (Coimbra)

Vogais

João Vasconcelos (Ponta Delgada)

Maria Antónia Ferro (Coimbra)

Sinapse®

Publicação da Sociedade Portuguesa de Neurologia

Órgão oficial de: Sociedade Portuguesa de Neurologia; Grupo de Estudos de Envelhecimento Cerebral e Demências; Grupo de Estudos de Esclerose Múltipla; Liga Portuguesa Contra a Epilepsia; Secção da Neurologia do Comportamento da SPN; Sociedade Portuguesa de Cefaleias; Sociedade Portuguesa de Doenças do Movimento; Sociedade Portuguesa de Estudos de Doenças Neuromusculares; Sociedade Portuguesa de Neurocirurgia; Sociedade Portuguesa de Neuropatologia; Sociedade Portuguesa de Neuropediatria

Versão electrónica: www.spneurologia.com

Indexada nas bases bibliográficas: EMBASE / Excerpta Medica Database (Elsevier), SCOPUS (Elsevier), www.indexrmp.com

Administração

Vitor Oliveira

Ana Amélia Pinto

Secretariado

Sónia Barroso

Anabela Mateus

Ficha Editorial

Director

Catarina Resende Oliveira (Coimbra)

Conselho Científico

Alexandre Castro Caldas (Lisboa)

António Bastos Lima (Porto)

António Freire Gonçalves (Coimbra)

Isabel Pavão Martins (Lisboa)

Luis Cunha (Coimbra)

José Ferro (Lisboa)

Paula Coutinho (Santa Maria da Feira)

Teresa Paiva (Lisboa)

Conselho Editorial

António Cerejo (Porto)

Cristina Januário (Coimbra)

Francisco Pinto (Lisboa)

Isabel Santana (Coimbra)

João de Sá (Lisboa)

João Maroco (Lisboa)

João Paulo Farias (Lisboa)

Joaquim Ferreira (Lisboa)

José Pimentel (Lisboa)

Mamede de Carvalho (Lisboa)

Patrícia Canhão (Lisboa)

Teresinha Evangelista (Lisboa)

Teresa Temudo (Porto)

Sinapse®

Campo Grande, 380, 3C (K),

Piso 0 - Escritório E

1700-097 LISBOA, Portugal

Tel./Fax: +351 218 205 854 | Tm.: +351 938 149 887

Correio electrónico:

res.spn@gmail.com - Submissão de Resumos

sinapse.spn@gmail.com - Revista Sinapse

Design: Isabel Monteiro, Next Color - Sol. Digitais, Lda., Porto

Imagem capa: Luis Pavão

Produção gráfica: Multitema - Sol. de Impressão, S.A., Porto

Propriedade: Sociedade Portuguesa de Neurologia

Registo de Marca: 358 268

(Instituto Nacional de Propriedade Industrial)

ISSN: 1645-281X

Depósito Legal: 172 674/01

Tiragem: 600 exemplares

Edição: Publicação semestral;

SUPLEMENTO 1 - Volume 12 - Número 2 - Novembro de 2012

Preço unitário: €10; **Assinatura anual:** €15

Os artigos publicados na Sinapse foram avaliados por membros do Conselho Editorial e outros colegas designados pelo Editor. Os resumos das comunicações na Reunião da Sociedade Portuguesa de Neurologia foram avaliados por revisores seleccionados pela Direcção da SPN a partir de um conjunto de peritos independentes. A revisão e avaliação dos resumos de outras reuniões incluídos neste número da Sinapse foram da responsabilidade das organizações promotoras. Os autores assumem as responsabilidades científica, ética, disciplinar e legal dos trabalhos publicados.

Editorial

João Sá
 Centro Hospitalar Lisboa Norte (CHLN)

Nos últimos anos assistimos a consideráveis e importantes avanços científicos no conhecimento da fisiopatologia da Esclerose Múltipla (EM). Contudo há ainda um número considerável de questões por responder. Atualmente pensa-se que se trata de uma doença autoimune que afeta o Sistema Nervoso Central (SNC), crónica, progressiva e incapacitante. Esta patologia afeta cerca de 2,1 milhões de pessoas em todo o Mundo, sendo que em Portugal existem cerca de 6500 doentes com EM. A doença pode apresentar-se de várias formas, sendo a sua forma de manifestação mais comum a Esclerose Múltipla Surto Remissão (EMSR), caracterizada pelo aparecimento de surtos, descritos por momentos de atividade inflamatória exacerbada, intercalados com períodos de remissão da doença, durante os quais se pode verificar a recuperação de alguns sintomas. Não se conhece ainda a etiologia da doença.

Maioritariamente, a EM aparece no jovem adulto, com idades compreendidas entre os 20 e os 50 anos, a sua evolução difere de indivíduo para indivíduo, sendo mais comum nas mulheres e nos indivíduos caucasianos que vivem em zonas temperadas.

O evento celular que despoleta o início da cascata de eventos patológicos que dão origem ao processo inflamatório autoimune e degenerativo, continua ainda a ser uma incógnita. Desta forma podemos afirmar que os doentes têm necessidade de terapêuticas que controlem a atividade inflamatória da doença e exerçam uma ação neuroprotetora no SNC.

As terapêuticas atualmente utilizadas para o tratamento da EM têm como principal alvo terapêutico a diminuição da atividade inflamatória e consequentemente do número de surtos através de um efeito imunomodulador ou, em formas mais agressivas da doença, um efeito imunossupressor.

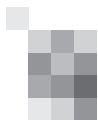
Foi aprovado para utilização hospitalar pelo Infarmed, o fingolimod, a mais recente inovação terapêutica para os doentes de Esclerose Múltipla (EM), sendo assim reconhecido o seu valor terapêutico acrescentado.

Um maior número de doentes portugueses pode agora ter acesso ao fingolimod, o único medicamento oral em todo mundo aprovado para o tratamento desta doença inflamatória crónica do sistema nervoso central.

O Fingolimod impede que os linfócitos-T autoreativos saiam dos gânglios linfáticos e entrem na corrente sanguínea migrando para o SNC. Desta forma o número de linfócitos que penetra no SNC para atacar as bainhas de mielina é reduzido.

Devido às suas propriedades lipofílicas e às reduzidas dimensões da molécula, o fingolimod atravessa a barreira hematoencefálica, tendo também uma ação a nível central. No futuro, a experiência irá trazer-nos mais informação sob a sua potencial ação neuroprotetora (desaceleração do processo degenerativo) em doentes com EM. A sua ação é rápida, seletiva e reversível.

O seu carácter seletivo, permite a retenção dos linfócitos T autoreativos, TCM e T naïve, sem comprometimento da resposta imunitária. O efeito do Fingolimod é reversível, uma vez que este não causa depleção celular, voltando ao normal, em média ao fim de 1 a 2 meses após finalização ou interrupção da terapêutica. Como tal o fingolimod é um imunomodulador e não um imunossupressor.



É crescente e considerável a experiência com este fármaco, com 34.000 doentes-ano de exposição em mais de 36.000 doentes tratados com fingolimod até à data.

Apesar da sua indicação ser de segunda linha na maioria dos países europeus, nos EUA, Austrália e Suíça está autorizado como terapêutica de primeira linha.

A nível de segurança, os efeitos adversos conhecidos são monitorizáveis, não há restrições a longo prazo (como por exemplo PML, cardiotoxicidade e leucemia). As áreas mais sensíveis e que requerem monitorização são: alterações transitórias na frequência cardíaca e pressão sanguínea, edema macular, infeções e gravidez.

O programa de desenvolvimento do fingolimod envolveu 2 estudos de fase III, um estudo a 2 anos versus placebo, estudo FREEDOMS, e um estudo a 1 ano versus INFβ-1a, estudo TRANSFORMS cujo principal objetivo era caracterizar o perfil de eficácia e segurança do fármaco.

Tendo em conta os dados obtidos até à data pode-se concluir que o fingolimod é bem tolerado e apresenta um perfil de segurança bem caracterizado, um mecanismo de ação único e seletivo. Da redução de surtos à atrofia cerebral, verificou-se uma redução relativa de 61% na taxa anualizada de surtos, de 37% no risco de progressão da incapacidade e 40% na taxa de atrofia cerebral.

É do conhecimento de todos que um dos principais objetivos do tratamento da EM é contenção da doença de modo a proporcionar aos doentes a máxima qualidade de vida possível.

No contexto da extensão dos estudos referidos, conclui-se que a introdução precoce de fingolimod em doentes pós interferon beta-1a tem efeitos benéficos. Os resultados de doentes tratados continuamente com fingolimod por 2 anos são superiores em comparação com doentes que apenas foram tratados com fingolimod após 1 ano inicial de interferon beta-1a.

Assim podemos dizer que com fingolimod se observa inovação no tratamento da EM, não só através de extraordinários resultados de eficácia, mas também através da fácil monitorização, preservando a qualidade de vida e dando aos doentes mais tempo de vida ativa. ■

- Cohen J et al 2010 "Oral Fingolimod vs. Intramuscular Interferon in Relapsing Multiple Sclerosis"; N Engl J Med 362(5)402
- Kappos L et al 2010 "Placebo-Controlled Study of Oral Fingolimod in Relapsing Multiple Sclerosis"; N Engl J Med 362(5)387
- Brinkmann et al 2010 "Fingolimod (FTY720): discovery and development of an oral drug to treat multiple sclerosis"; Nature Reviews Drug Discovery Vol.9, p883
- RCM Gilenya, 6.7.2012, http://www.ema.europa.eu/docs/pt_PT/document_library/EPAR_-_Product_Information/human/002202/WC500104528.pdf
- Relatório de avaliação prévia do medicamento para uso humano em meio hospitalar - DCI fingolimod, Infarmed 21.03.2012, http://www.infarmed.pt/portal/page/portal/INFARMED/MEDICAMENTOS_USO_HUMANO/AVALIACAO_ECONOMICA_E_COMPARTICIPACAO/MEDICAMENTOS_USO_HOSPITAL/DL_N_195_2006_3_OUT/RELATORIOS_AVALIACAO_PREVIA/Relat%F3rios%20de%20avalia%E7%E3o%20pr%E9via%20E0%20utiliza%E7%E3o%20em%20meio%20hospital/134_Gilenya_Parecer_net_deferir.pdf
- http://www.ema.europa.eu/ema/index.jsp?curl=pages/news_and_events/news/2012/01/news_detail_001425.jsp&mid=WC0b01ac058004d5c1&jsenabled=
- Khatri et al 2011 "Comparison of fingolimod with interferon beta-1a in relapsing-remitting multiple sclerosis: a randomised extension of the TRANSFORMS study"

Correspondência:

João Sá
Hospital de Santa Maria
Avenida Professor Egas Moniz
1649-035 LISBOA – Portugal
jcorreiasa@gmail.com



Esclerose Múltipla: epidemiologia, etiopatogenia, fisiopatologia e diagnóstico diferencial

Multiple Sclerosis epidemiology, ethiopathogenesis, physiopathology and differential diagnosis

Pedro Abreu^{1,2}, Maria Teresa Mendonça¹, Joana Guimarães^{1,2}, Maria José Sá^{1,3}

1-Serviço de Neurologia, Centro Hospitalar de São João, Porto; 2-Faculdade de Medicina da Universidade do Porto; 3-Faculdade de Ciências da Saúde da Universidade Fernando Pessoa, Porto.

Resumo

Os avanços científicos sobre a etiopatogenia e a fisiopatologia da esclerose múltipla desenvolvem-se a tal ritmo que se torna necessário uma revisão periódica dos conhecimentos. Acrescem novos dados epidemiológicos e identificação de critérios que permitem aperfeiçoar o diagnóstico diferencial.

Esta revisão tem como objetivo apresentar conceitos atualizados sobre a epidemiologia, a etiopatogenia, a fisiopatologia e o diagnóstico diferencial da esclerose múltipla.

A esclerose múltipla é uma doença inflamatória e desmielinizante crônica do sistema nervoso central mais frequente em idades jovens e no sexo feminino, com maior incidência à medida que a latitude aumenta. Estudos recentes indicam aumento da incidência e início em idades mais precoces nas mulheres. Sem causa conhecida, têm-se identificado fatores de risco genéticos e ambientais. O alelo HLA-DRB1*15 do sistema HLA é o fator genético mais fortemente associado ao risco de desenvolver a doença; os fatores ambientais melhor estabelecidos são a exposição ao vírus Epstein-Barr, o tabaco e os níveis de vitamina D. A combinação dos fatores ambientais com uma determinada predisposição genética individual desencadeia desregulação imunológica. Considerada uma doença mediada por células T, a sua fisiopatologia é complexa, participando diversos fatores imunológicos. Da imunidade adaptativa destaca-se o papel das populações Th17, com secreção de citocinas pró-inflamatórias, e T CD8+ de ação citotóxica, e dos linfócitos B. Também a imunidade inata participa na imunopatogenia da doença, sobretudo pela ativação da microglia. A ação dos vários fatores humorais e celulares leva à inflamação focal com desmielinização, e ao dano axonal, evidenciando uma dupla face – inflamatória e degenerativa – da doença. Apesar dos mecanismos naturais de reparação permitirem a remielinização e recuperação axonal, em fases tardias essa capacidade esgota-se e a doença progride. A ausência de biomarcadores específicos de diagnóstico de esclerose múltipla impõe a necessidade de se excluir outras doenças inflamatórias com envolvimento do sistema nervoso, sobretudo quando ocorre um primeiro evento desmielinizante – síndrome clínico isolado. Descrevem-se as principais manifestações neurológicas que permitem apoiar ou afastar o diagnóstico de esclerose múltipla perante um síndrome clínico isolado e apresentam-se dados clínicos e paraclínicos característicos doutras doenças desmielinizantes idiopáticas (neuromielite óptica, encefalomielite aguda disseminada, mielite transversa aguda, nevrite óptica) e de doenças inflamatórias sistêmicas com envolvimento neurológico (lúpus eritematoso sistémico, doença de Behçet, doença de Sjögren).

Em conclusão, o conhecimento dos fatores que podem desencadear esclerose múltipla e dos processos lesionais do sistema nervoso permite compreender melhor a doença e conduzir à descoberta de novos alvos imunoterapêuticos. A precisão diagnóstica requer a sistematização rigorosa dos diagnósticos diferenciais.

Palavras-chave: esclerose múltipla, epidemiologia, etiopatogenia, fisiopatologia, diagnóstico diferencial

Título de cabeçalho: Esclerose múltipla: da epidemiologia ao diagnóstico diferencial

Abstract

The scientific advances regarding the ethiopathogenesis and physiopathology of multiple sclerosis are so fast that periodic update of concepts is awaited. Moreover, new epidemiological data and criteria improving differential diagnosis have been described.

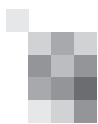
The objective of this review is to update concepts about epidemiology, ethiopathogenesis, physiopathology and differential diagnosis of multiple sclerosis.

Multiple sclerosis is a chronic inflammatory demyelinating disease of the central nervous system more frequent in young ages and in the female sex, the incidence of which increases with latitude. Recent studies indicate an increase in the incidence and earlier onset in women. Although the cause of the disease is unknown, genetic and environmental risk factors have been identified. The HLA allele HLA-DRB1*15 is the genetic factor more strongly associated with the risk of developing multiple sclerosis; the better established environmental factors are the exposition to the Epstein-Barr virus, smoking and vitamin D levels. The combination of environmental factors with a certain individual genetic predisposition, discloses an immunological dysregulation. Multiple sclerosis is considered to be mediated by T cells and its physiopathology is complex, intervening various immunological factors. From adaptive immunity, it must be emphasized the role of Th17 populations, with secretion of proinflammatory cytokines, cytotoxic T CD8+ and B lymphocytes. The innate immunity also participates in multiple sclerosis immunopathogenesis, mainly through microglia activation. The action of humoral and cellular changes induces focal inflammation with demyelination and axonal damage pointing to a dual face – inflammatory and degenerative – of the disease. Despite the natural repair mechanisms leading to remyelination and axonal recovery, in later stages this ability becomes exhausted and disease progresses. The absence of specific diagnostic biomarkers for multiple sclerosis imposes the exclusion of other inflammatory diseases with neurological involvement, especially when a first demyelinating event occurs – clinically isolated syndrome. The main neurological manifestations appearing in that condition that allow to support or reject the diagnosis of multiple sclerosis are described. The characteristic clinical and paraclinical data of other idiopathic demyelinating (neuromyelitis optica, acute disseminated encephalomyelitis, acute transverse myelitis, optic neuritis) and systemic inflammatory disorders with neurological involvement (systemic erythematosus lupus, Behçet's disease, Sjögren's disease) are presented.

In conclusion, the knowledge of the factors that contribute to the development of multiple sclerosis and the pathological processes taking place in the nervous system favours a better understanding of the disease and the discovery of new immunotherapeutic targets. The precise diagnosis of multiple sclerosis requires a rigorous systematization of differential diagnoses.

Key-words: multiple sclerosis, epidemiology, ethiopathogenesis, physiopathology, differential diagnosis

Short title: Multiple sclerosis: from epidemiology to differential diagnosis



Introdução

A esclerose múltipla (EM) é uma doença inflamatória crônica e progressiva do sistema nervoso central (SNC), mais frequente nas mulheres, que se inicia habitualmente entre os 20 e os 40 anos¹. Embora a sua etiologia permaneça desconhecida, sabe-se que resulta de uma interação complexa entre fatores genéticos e ambientais que determina alterações imunológicas, mais propriamente quebra da tolerância imunológica, desencadeando fenómenos de autoimunidade que têm por alvo a mielina^{2,3}. Inserindo-se, assim, no vasto grupo de doenças autoimunes humanas, a EM é a patologia desmielinizante primária mais frequente do SNC e a causa mais frequente de incapacidade por doença neurológica não traumática do adulto jovem. O processo lesional subjacente, de natureza inflamatória, afeta múltiplas regiões do neuroeixo, o que explica a diversidade de manifestações clínicas. As lesões comprometem predominantemente as vias longas da substância branca, mas também podem atingir regiões corticais e subcorticais. Além da perda da mielina, há evidência de que a doença provoque dano axonal, responsável pela persistência dos défices e conferindo-lhe um carácter também neurodegenerativo.

Clinicamente, a EM cursa, na maioria dos casos, com recorrências e remissões, e determina um grau de incapacidade variável de doente para doente, dependente dos défices neurológicos e do estadio da doença. Os estudos sobre a história natural da EM, indicam que, aproximadamente, 50% dos doentes requerem ajuda de marcha 15 anos após o início dos sintomas, valor que aumenta para cerca de 80% decorridos mais 15 anos⁴. Assim, face ao atingimento predominante de faixas etárias jovens, ao curso progressivo e imprevisível, e à ausência de cura conhecida, o impacto da doença em termos pessoais, familiares e socioeconómicos é considerável⁵. Importa todavia realçar que a EM é, desde há quase 20 anos, uma doença tratável com medicamentos específicos que modificam a sua história natural, tendo como alvo diferentes fases do processo imunológico e inflamatório subjacente, genericamente designados imunomoduladores^{2,6,7}. O leque das terapêuticas aprovadas é significativo e irá certamente continuar a crescer, com moléculas desejavelmente mais eficazes e mais seguras, com o objetivo de se conseguir obter um estado livre de doença (ausência de surtos e de progressão da incapacidade e estabilidade imagiológica).

Neste artigo faz-se uma revisão atualizada dos aspetos epidemiológicos, etiopatogénicos e fisiopatológicos da EM, apresentando-se ainda, de forma prática, os diagnósticos diferenciais mais frequentes.

Epidemiologia e Fatores de Risco para Esclerose Múltipla

Como acima referido, a EM afeta mais o sexo feminino que o masculino. Uma revisão sistemática de 28 estudos epidemiológicos encontrou que, de 1955 a 2000, a relação mulher/homem para a incidência de EM aumentou de 1.4 para 2.3⁸ e posteriormente uma revisão sistemática com meta-análise sugeriu ainda que a incidência de EM nas mulheres está a aumentar⁹. A razão para esta diferença entre os géneros é desconhecida, para além da observação de que as mulheres são mais susceptíveis a doenças autoimunes, e que esta predisposição pode estar relacionada com fatores hormonais.

A idade média de início da EM é aproximadamente aos 30 anos de idade, com 70% dos doentes a apresentarem sintomas entre os 20 e os 40 anos. A doença raramente se inicia antes dos 10 ou após os 60 anos. A idade de início é cerca de 5 anos mais cedo nas mulheres que nos homens. A forma surto-remissão tende a ter um início mais precoce, em média entre os 25 e os 29 anos. A idade média de início da forma primariamente progressiva é entre os 35 e os 39 anos.

A incidência e a prevalência da EM variam em termos de distribuição geográfica¹⁰. As maiores incidências tendem a ser nos extremos da latitude em ambos os hemisférios. As zonas de prevalência alta (≥ 60 por 100000) incluem a Europa, o sul do Canadá, o norte dos Estados Unidos, a Nova Zelândia e o Sul da Austrália. Esta variação geográfica pode ser explicada em parte por diferenças raciais; as populações brancas, em especial as do norte da Europa, são as mais susceptíveis. Pessoas de origem asiática, africana e os índios americanos são os que têm riscos mais baixos; os outros grupos têm riscos intermédios. Outra explicação possível para a associação da EM e da latitude é a exposição solar, que pode ser protetora, tanto pelo efeito da radiação ultravioleta como pela vitamina D. Esta hipótese é apoiada por estudos que encontraram uma relação inversa entre a luz solar e/ou exposição a radiação ultravioleta e a prevalência de EM¹¹.

Portugal era tradicionalmente considerado um país de baixa prevalência, mas um estudo realizado no distrito de Santarém mostrou uma prevalência de 46.3 por 100000, estimando-se existirem cerca de 5000 doentes com EM em Portugal¹².

Os estudos epidemiológicos têm tentado compreender a natureza, contribuição e interação dos fatores genéticos e ambientais na EM.

Fatores de Risco Genéticos

A influência genética na EM é claramente observada



em estudos com gêmeos, onde a taxa de concordância para EM em gêmeos monozigóticos é de 30% comparada com 5% para os dizigóticos. O risco de desenvolver EM em familiares de 1º grau é cerca de 1 em 40, o que é 20 vezes mais alto do que na população geral. Para parentes em 2º grau o risco desce para cerca de 1 em 100, ainda cerca de 10 vezes mais alto do que na população geral¹³. Observou-se também que membros de uma família não relacionados geneticamente, vivendo no mesmo ambiente, têm o mesmo risco da população geral. Assim na agregação familiar da EM a genética parece ser o principal fator. O fator genético mais fortemente associado ao risco de desenvolver EM encontra-se nos alelos do sistema HLA da classe II do complexo major de histocompatibilidade (MHC) humana, localizado no cromossoma 6, particularmente o *locus* HLA-DR2 (HLA-DRB1*15)¹⁴. Apesar desta associação, o risco relativo de um indivíduo HLA DR2 positivo desenvolver EM é relativamente baixo, dado que 35% da população geral é DR2 positiva, comparado com 60-70% dos doentes com EM. O alelo HLA-DRB1*15 também foi estabelecido como um marcador genético de risco para a EM numa população portuguesa, e associou-se a um melhor prognóstico da doença nessa população¹⁵.

Outros estudos genéticos, incluindo, estudos de associação de genoma, encontraram vários genes com susceptibilidade para EM, mas o seu efeito é modesto e nenhum é tão significativo como a associação HLA. A evidência sugere que a EM é uma doença poligénica. Atualmente é impossível estimar o risco de desenvolver EM com base apenas na susceptibilidade genética.

Fatores de Risco Ambientais

Há vários estudos que investigaram a associação entre fatores ambientais específicos e EM, mas muitas vezes os resultados não são reproduzíveis entre eles. Estes estudos são particularmente difíceis de realizar e interpretar, dado que os estudos migratórios evidenciaram que no movimento de indivíduos de áreas de alto risco para áreas baixo risco após a puberdade, estes mantêm o seu alto risco para a EM, enquanto que aqueles que emigraram antes da puberdade parecem ter o risco de EM associado à nova área de migração. Isto sugere que a altura de exposição aos fatores ambientais pode ser crítica para o risco subsequente de desenvolver a doença – hipótese da idade de vulnerabilidade.

Atualmente os fatores de risco ambientais associados à EM melhor estabelecidos são a exposição ao vírus Epstein-Barr (EBV), o tabaco e os níveis de vitamina D.

Têm-se investigado muitos agentes infecciosos como potencialmente associados à EM. O EBV é o único que

mostrou consistência, com mais de 99% dos doentes adultos com EM seropositivos para o vírus, valor significativamente mais alto que nos controlos saudáveis. Mas confirmar e investigar esta associação é complicado pela taxa elevada de infeção na população geral (cerca de 90%). Os níveis de anticorpos para o vírus também parecem importantes. Indivíduos com títulos altos de anticorpos anti-EBV têm um risco mais elevado de desenvolver EM comparado com quem tem títulos baixos¹⁶. E indivíduos com história de mononucleose infecciosa têm um risco aumentado de desenvolverem EM. Os mecanismos patogénicos desta associação não estão esclarecidos. As possibilidades sugeridas são a imortalização de células B autorreativas, mimetismo molecular com o SNC como alvo autoimune, e modificação da hipótese da higiene para o EBV.

Vários estudos sugeriram uma associação entre tabagismo e EM, aumentando o risco de EM em fumadores. Uma meta-análise mostrou um risco relativo estimado de desenvolver EM de 1,51, para os fumadores *versus* os que nunca fumaram¹⁷. O mecanismo patogénico desta associação também não é conhecido. Além disso, o tabagismo pode ser um fator de risco para a progressão da doença¹⁸.

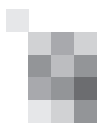
Os níveis séricos baixos de vitamina D foram associados a um aumento do risco de EM¹⁹. O gradiente latitudinal previamente descrito, observado na história natural da EM, pode ser uma consequência dos níveis baixos de vitamina D que se observam com a distância do equador. A vitamina D parece ter um efeito imunomodulador em modelos experimentais mas o seu mecanismo na EM ainda não está totalmente esclarecido.

A epidemiologia da EM não pode ser explicada por um fator causal único, sendo mais provável que a doença se desenvolva em populações geneticamente predispostas em resultado de determinadas exposições ambientais.

Fisiopatologia da Esclerose Múltipla

A EM é classicamente definida como uma doença inflamatória que tem como principal característica fisiopatológica a formação de placas desmielinizantes no SNC^{1,20}. A formação da placa desmielinizante representa o estadio final de vários processos patológicos que incluem (embora não necessariamente por esta ordem): a disrupção da barreira hematoencefálica (BHE), inflamação multifocal, desmielinização, remielinização, perda e depleção de oligodendrócitos, gliose reativa e degenerescência axonal e neuronal^{1,21,22}.

Na EM a combinação de diversos fatores ambientais com uma determinada predisposição genética individual subjacente conduzem ao aparecimento de vários clones de



linfócitos T autorreativos na circulação sanguínea e a uma desregulação dos processos reguladores imunológicos (falha na supressão imune destas células efetoras pelos linfócitos T reguladores) no sangue periférico e localmente no SNC (sobretudo na substância branca periventricular e subcortical, corpo caloso, córtex, estruturas da fossa posterior, nervos ópticos e medula)^{1,3}. Os linfócitos T autorreativos (sobretudo linfócitos TCD4+ reativos à mielina) migram posteriormente através da BHE para o SNC e, por um fator precipitante ainda desconhecido, estas células tornam-se ativas e através de mecanismo de mimetização molecular, ao encontrarem um antigénio específico (por exemplo: proteínas da mielina, neurofascína e alfa B-cristalina) desencadeiam uma resposta inflamatória através da produção de citocinas proinflamatórias e o recrutamento de outras células inflamatórias como os linfócitos B, macrófagos e as células microgliais^{1,3,23}. Na fase inflamatória inicial os astrócitos, células endoteliais e microgliais expressam antigénios do MHC (sobretudo da classe I: MHC-I), funcionando como células apresentadoras de antigénios de mielina às células imunomoduladoras, deste modo promovendo e estimulando a inflamação no SNC e alterando a permeabilidade da BHE^{3,24}.

Embora nos últimos anos se tenha valorizado a função dos linfócitos Th1 na patogénese desta doença, atualmente acredita-se que esse papel é sobretudo desempenhado por um subtipo particular de linfócito T, presente particularmente nos espaços perivasculares, o linfócito Th17. Esta célula segrega citocinas proinflamatórias, sobretudo interleucina (IL)-17 A e B (importantes na resposta inflamatória a patogénios e na imunidade intestinal) e IL-21 (que induz a ativação dos TH17 de maneira autócrina)²⁵. As IL-17 e 22 promovem a disrupção da BHE permitindo a penetração de linfócitos Th17 que causam a morte neuronal¹. A diferenciação e ativação destas células requerem a presença de ácido retinóico e de citocinas como a IL-1beta, o facto de transformação do crescimento beta, a IL-6 e a IL-23²⁵. As células T reconhecem várias componentes da mielina encefalitogénicas como a proteína básica da mielina, o protolípido e a sequência MOG 92-106 da glicoproteína associada ao oligodendrócito, entre outras, mas também não miélinicos como, a já referida, alfa B-cristalina e a contactina-2^{3,26}. Um outro tipo de linfócito, o linfócito T citotóxico CD8+ restrito da MHC-I, desempenha também um papel importante na fisiopatologia da EM. Estas células são uma classe de linfócitos autorreativos que predominam nas lesões desmielinizantes independentemente do estágio da doença, capazes de reconhecer e destruir de forma direta células do SNC, como os oligodendrócitos, ou axónios

que expressem na sua superfície antigénios MHC-I²⁰. O papel das células *Natural Killer* na EM ainda não está bem esclarecido podendo desempenhar uma função inflamatória ou o seu contrário²⁷. Os linfócitos T reguladores naturais ou induzidos (Th2 e Th3) são células imunomoduladoras e anti-inflamatórias que contrariam as ações dos Th17, necessitam do fator de transcrição Foxp3 para se diferenciar, sendo que as suas importantes funções parecem estar alteradas nesta doença^{25,27}.

No desenvolver da EM, a evidência científica atual enfatiza a ação dos linfócitos B, plasmócitos e da imunidade inata na sua fisiopatologia^{27,28}. Os linfócitos B na EM predominam no tecido conjuntivo cerebral, como os espaços perivasculares e as meninges, enquanto os plasmócitos surgem no SNC numa fase mais tardia da doença persistindo mesmo após a inflamação veiculada pelos linfócitos T e B ter desaparecido, o que pode explicar a persistência de bandas oligoclonais (BOCs) no líquido cefalorraquidiano (LCR) ao longo das várias fases da doença²⁹. A presença de BOCs é, de fato, um dos mais consistentes achados imunológicos nos doentes com EM e refletem a ativação dos linfócitos B (com a consequente produção de anticorpos anti-mielina)^{3,28}. Os folículos de linfócitos B presentes nas meninges sustentam uma resposta imune humoral compartimentalizada que pode levar à produção de anticorpos intratecais e ao dano das células do córtex³⁰. A ideia da importância do envolvimento das células B na gênese desta doença parece ser reforçada pelo fato de os fatores de suscetibilidade ambientais (vitamina D e o vírus EBV) e genética (HLA-DRB1*1501) influenciarem a proliferação, função dos linfócitos B e a produção de BOCs; a presença de marcadores de ativação de células B no LCR predizer a conversão da síndrome clínico isolado para EM clinicamente definitiva e o tratamento com anticorpos monoclonais anti-CD20+ (i.e., rituximab, ocrelizumab, ofatumumab), que efetuam a depleção de linfócitos B, dramaticamente reduzem a atividade inflamatória da doença²⁸. Mais do que produzir autoanticorpos, os linfócitos B influenciam a resposta específica dos linfócitos T, uma vez que são células apresentadoras de antigénios (estudos demonstraram que os linfócitos B periféricos podem iniciar a ativação e proliferação das células T via apresentação direta de antigénios de mielina)^{27,28}. As células B podem também influenciar, através da produção de citocinas e quimiocinas (por exemplo: linfotóxina e fator de necrose tumoral alfa) a resposta e a passagem através da BHE das células T²⁸.

Para além do sistema imune adaptativo (representado maioritariamente pelas ações dos linfócitos T) também o



sistema imune inato (representado pelos monócitos, células periféricas dendríticas, astrócitos e células da microglia) participa de forma importante na imunopatogênese da EM²⁷ (Figuras 1 e 2). De fato, o sistema inato é o responsável, logo nas fases iniciais da doença, pela apresentação de antígenos (por exemplo: o autoantígeno específico da mielina) aos linfócitos T no contexto das células do MHC apresentadoras de antígenos e pela produção de citocinas e co-ativação requeridas para a diferenciação dos linfócitos T em células autorreativas²⁵. Uma vez ativados, a microglia e os astrócitos produzem IL-23 e osteopontina que por sua vez induzem os Th17 a segregarem IL-17 e fator de necrose tumoral alfa resultando no dano da mielina que protege os axônios²⁵. A ativação dos astrócitos induz também a produção de fatores de sobrevivência dos linfócitos B autorreativos e em conjunto com a microglia são fontes de radicais livres e de óxido nítrico que também contribuem para danificar os neurônios e a mielina²⁵. A microglia também é responsável pelas vias de transdução de sinais que regulam a atividade de fatores de transcrição como o NF- κ B e o AP-1 que medeiam a produção de moléculas efetoras e/ou

amplificadoras imunológicas (i.e. IL-1beta, IL-6, entre outras)²⁵. Na EM ocorre, ainda, uma ativação crônica da microglia, através de ciclos de retorno positivos (os neurônios necróticos libertam ATP, que por sua vez ativam mais células da microglia) o que implica a sua participação nas fases progressivas desta doença²⁵⁻²⁷.

A migração das células inflamatórias através dos vasos sanguíneos, necessária para o início da inflamação no SNC, efetua-se através da interação entre moléculas de adesão presentes na superfície leucocitária com os respectivos recetores nas células endoteliais vasculares e requer a participação de enzimas proteolíticas, em particular das metaloproteinasas da matriz (sobretudo da MMP-9) e seus indutores (como o indutor extracelular das metaloproteinasas da matriz - EMMPRIN CD147) e do aumento da expressão da integrina e de moléculas de adesão, nomeadamente as intercelulares 1 (ICAM-1) e celulares vasculares (VCAM)^{3,31,32}.

À medida que a inflamação prolifera existe o contacto entre a microglia ativada e macrófagos que fagocitam as componentes da unidade mielina-oligodendrócito (atra-

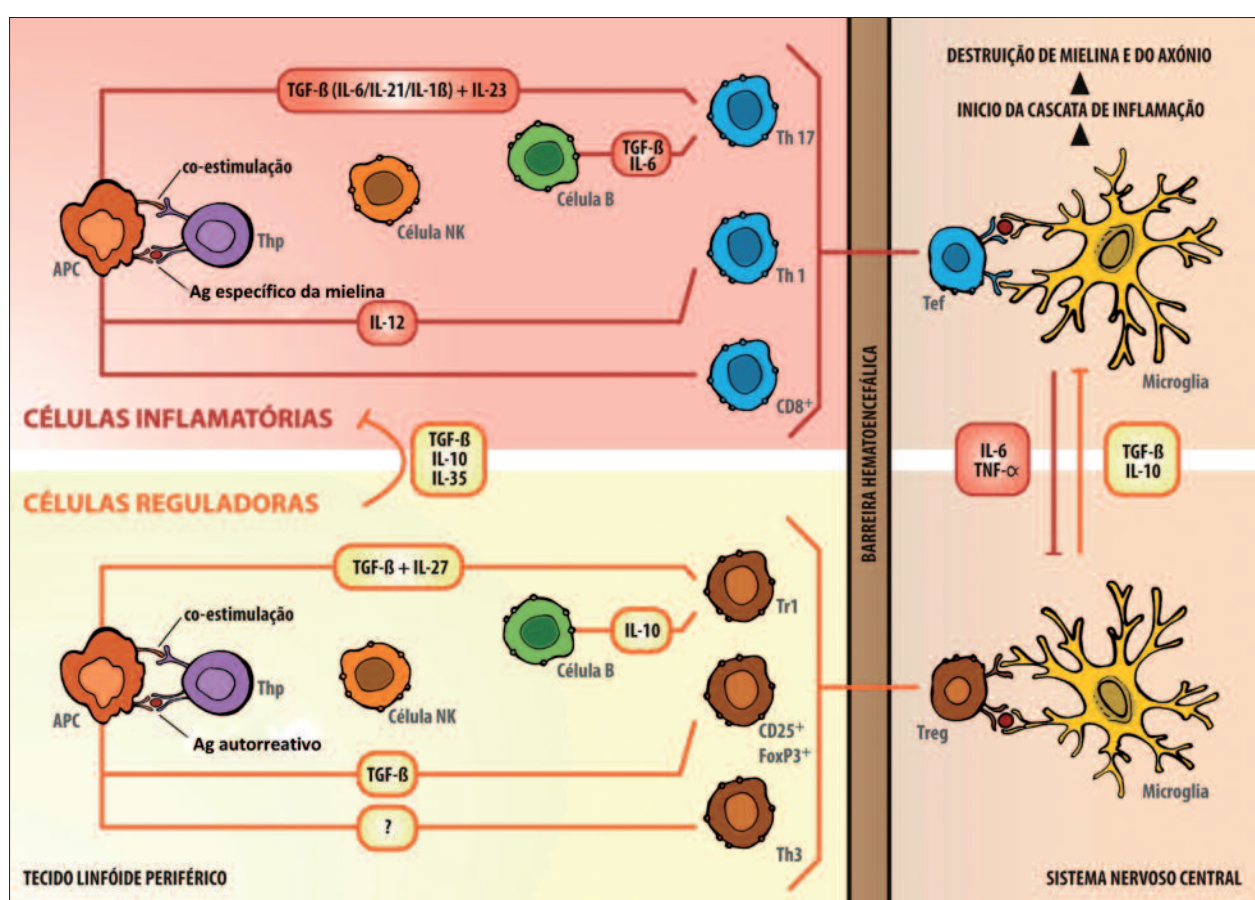


Figura 1. Sistema imune adaptativo (rosa) - representado maioritariamente pelas ações dos linfócitos T; Sistema imune inato (amarelo) - representado pelos monócitos, células periféricas dendríticas, astrócitos e células da microglia; APC- células apresentadoras de antígenos; IL- interleucinas; TGF- fator de transformador de crescimento; TNF- fator de necrose tumoral; Th- linfócitos T helper; Treg- linfócitos T reguladores; Tef- linfócitos T efetores, NK- células *Natural Killer*. Na EM os linfócitos T autorreativos, ativados pela apresentação de autoantígenos pelas células apresentadoras de antígenos, atravessam a barreira hemato-encefálica e iniciam a cascata de inflamação conduzindo à destruição da mielina e dos axônios. A atividade dos linfócitos T autorreativos na periferia e no SNC é regulada pelas as células T reguladoras. As atividades destes dois tipos de células T são reguladas, por sua vez, pelas células B e NK (adaptado de ref. 27).

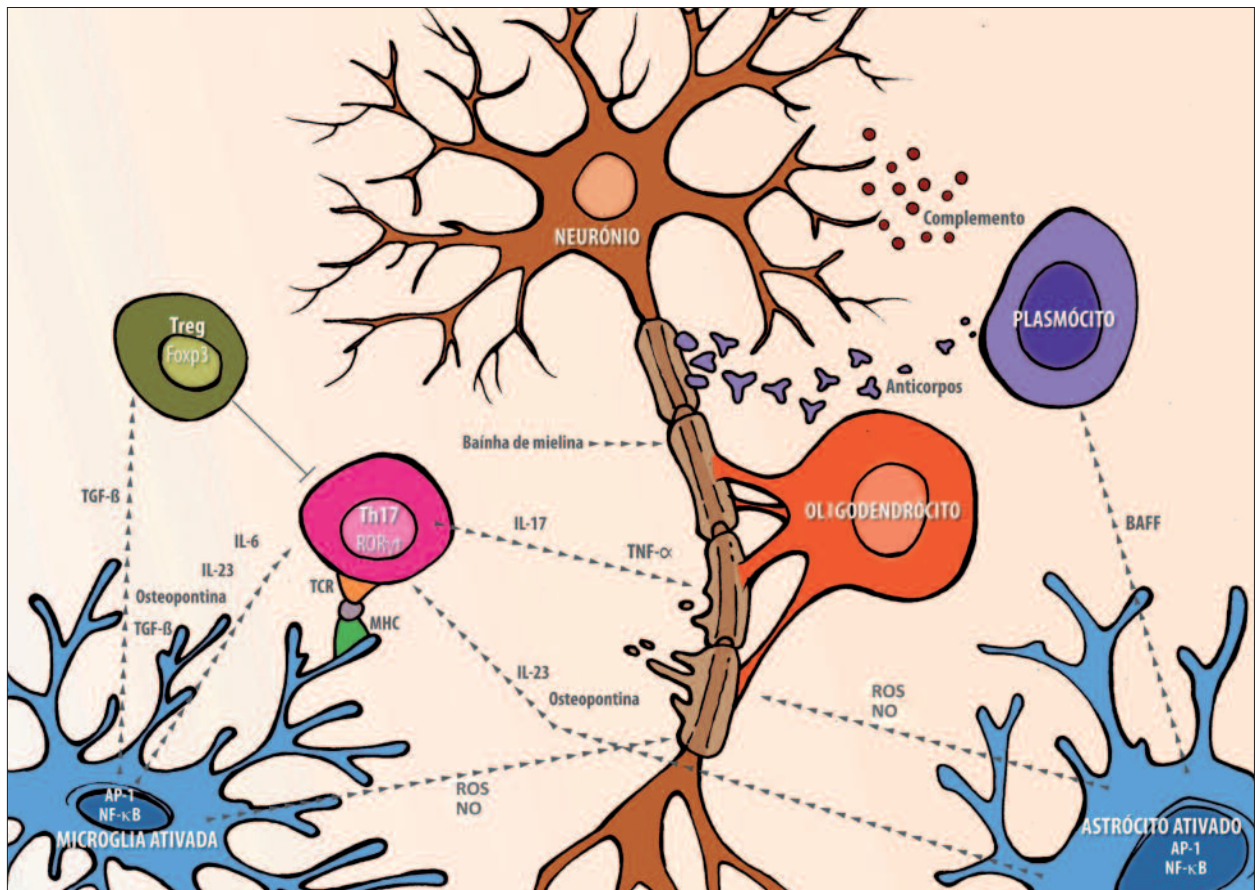


Figura 2. Inflamação na esclerose múltipla. Na EM a combinação de diversos fatores ambientais com uma determinada predisposição genética individual subjacente conduzem à ativação da microglia e astrócitos que promovem o aumento da atividade de fatores de transcrição como o NF- κ B e o AP-1 que medeiam a produção de citocinas pró-inflamatórias. Os linfócitos T na presença de antígenos derivados da mielina (apresentados por células MHC apresentadoras de antígenos) e na presença de interleucinas (IL) 6 e do TGF- β (factor de transformador de crescimento beta) são induzidos a expressar o receptor do ácido retinóico relacionado com o receptor órfão γ t (ROR γ t) e diferenciam-se em células Th 17. A microglia e astrócitos ativada secretam IL-23 e osteopontina que induzem os Th17 a produzirem IL-17 e TNF (fator de necrose tumoral) alfa e em consequência a danificarem a bainha de mielina. O BAFF é um fator de sobrevivência dos linfócitos B autorreativos produzido pelos astrócitos ativados e que permitem que os linfócitos B se diferenciem em plasmócitos que produzem anticorpos anti-mielina. A ativação dos astrócitos em conjunto com a microglia são fontes de radicais livres (ROS) e de óxido nítrico (NO) que também contribuem para danificar os neurónios e a mielina. Os linfócitos T reguladores naturais ou induzidos (Th2 e Th3) são células imunomoduladoras e anti-inflamatórias que contrariam as ações dos Th17, necessitam do fator de transcrição Foxp3 para se diferenciar (adaptado ref. 25).

vés de mecanismos como a opsonização) dando origem a várias áreas de desmielinização e, também, de destruição axonal¹. A não remielinização destas áreas parece ocorrer, em parte, devido à morte dos oligodendrócitos e à incapacidade das células precursoras dos oligodendrócitos em se conseguirem diferenciar neste tipo de células maduras³³. Um outro mecanismo, para além do inflamatório, que contribui para a desmielinização axonal e para a não remielinização parece ser a apoptose dos oligodendrócitos que ocorre sobretudo nas lesões agudas de EM e mais raramente nas lesões crônicas, existindo autores que consideram ser este o evento primordial que leva à formação de novas lesões desmielinizantes e a causa primária de inflamação iniciando, desta forma, que esta doença poderá apresentar uma forte componente neurodegenerativa^{24,33}. A caspase-1 poderá ser um dos putativos candidatos a agente causador deste tipo de doença, uma vez que os seus níveis estão elevados nos oligodendrócitos das

placas de desmielinização agudas, o que sugere que esta proteína poderá desempenhar uma ação importante nos processos inflamatórios e apoptóticos na EM³³.

Apesar de a desmielinização ser um dos aspetos mais importantes da EM a destruição axonal (i.e., a neurodegenerescência) é funcionalmente mais relevante, uma vez que ao contrário da mielina, eles não apresentam uma capacidade de regeneração tão fácil no SNC do adulto²³. A transecção axonal verifica-se nesta doença nos vários estádios da doença em várias regiões anatómicas, por exemplo: nas lesões agudas, subagudas e crônicas/inativas, na substância cinzenta cortical e subcortical, e inclusive na substância branca aparentemente normal (mesmo na ausência de desmielinização)²⁰⁻²³. Uma vez que a patologia axonal e o número de axónios que sofrem transecção nas lesões de EM agudas se correlacionam com o grau de inflamação pensa-se que a transecção axonal precoce ocorre devido à vulnerabilidade do axónio desmielinizado aos



fatores inflamatórios celulares (citotoxicidade direta mediada por linfócitos T) e humorais (anticorpos, metaloproteínas, citocinas e radicais livres)²¹⁻²³. Adicionalmente, as excitotoxinas libertadas por neurónios danificados ou pela microglia ativada podem destruir os axónios por via do recetor do ácido amino-3-hydroxi-5-metil-4-isoxazol propiónico (AMPA/kainato). O excesso de glutamato que se verifica nas lesões de EM agudas, também pode danificar o axónio, ao ativar recetores ionotrópicos e metabotrópicos que dão origem a uma acumulação tóxica de Ca²⁺ no citoplasma resultando na morte neuronal^{21,22}. Outros mecanismos possíveis poderão ser um ataque autoimune a componentes específicas do axónio e/ou alterações nos canais de sódio membranares²¹⁻²³. Como já foi referido também se encontra degenerescência axonal, embora que lenta, na placas de EM crónicas. Neste caso os mecanismos que presidem à perda dos axónios cronicamente desmielinizados são a perda de fatores tróficos de suporte derivados da mielina, um desequilíbrio entre as necessidades e a produção de energia celulares, desequilíbrios ionotrópicos (degenerescência axonal promovida pelo Ca²⁺) e a perda de moléculas importantes na propagação dos potenciais de ação²¹. A prevenção da destruição axonal (que acontece quando as lesões são remielinizadas de forma precoce) parece deste modo um importante e atrativo objetivo terapêutico²². As novas terapias poderiam tentar mimetizar ou exponenciar os vários mecanismos adaptativos e neuroprotetores que se verificam no SNC dos doentes com EM e que atrasam ou reprimem a neurodegenerescência, como, por exemplo: a ativação de novas áreas corticais que compensam a função de áreas cerebrais lesadas pelas lesões desmielinizantes; a geração de novos neurónios e interneurónios nas áreas lesadas; a redistribuição de canais de sódio no axónio desmielinizado e o aumento da expressão de fatores neurotróficos (como por exemplo, fatores contra o inibidor do recetor de crescimento neuronal - Nogo) pelas células imunes do SNC^{21,34}.

A EM começa, na maior parte dos doentes, como uma doença caracterizada por surto-remissões refletindo inflamação focal no SNC, que leva ao aparecimento de várias lesões desmielinizantes, em várias regiões anatómicas do neuroeixo, em paralelo iniciam-se vários processos neurodegenerativos progressivos que levam à destruição axonal e neuronal, sendo que a doença ao longo do tempo se torna compartimentalizada por detrás de uma BHE intacta/reparada afetando todo o neuroeixo²⁰. Quando se esgotam a capacidade dos processos adaptativos/reparadores do SNC, que permitem a remielinização e a recuperação axonal, o doente entra numa fase progressiva da sua doen-

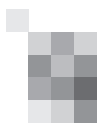
ça²⁰. Porém, os mecanismos inflamatórios são heterogêneos e diferentes entre os vários doentes e as diferentes fases da doença²⁰ como foi revelado pelo trabalho de Lucchinetti *et al*³⁴ que demonstrou a existência de quatro padrões histopatológicos, cada um dos quais refletindo um diferente mecanismo patogénico: tipo 1 (mediado por células T), tipo 2 (mediado por células T e fatores humorais), tipo 3 (apoptose oligodendroglial) e tipo 4 (distrofia oligodendroglial). Este trabalho demonstrou, ainda, que o padrão tipo 4 apenas se encontrava nas formas primárias progressivas, enquanto que os padrões 1-3 podiam ser encontrados nas formas surto-remissão e secundárias progressivas³⁵.

Perante a evidência da dupla face desta doença – inflamatória e degenerativa – e a existência de fatores adaptativos/neuroprotetores será de esperar que num futuro próximo se possam desenvolver novas terapêuticas que possam atuar nos vários aspetos patogénicos desta doença.

Diagnóstico Diferencial em Esclerose Múltipla

A EM até ao momento não apresenta um biomarcador específico associado ao seu diagnóstico³⁶. Na avaliação do doente com suspeita de EM é necessário procurar dados clínicos e paraclínicos a favor da doença, excluindo outros tipos de patologias. Os critérios de diagnóstico da doença têm sido revistos ao longo dos anos, e em todas as revisões há referência a que esclerose múltipla é um diagnóstico de exclusão³⁷⁻⁴⁰. Nomeadamente, os critérios de McDonald⁴⁰ reforçam esta ideia de que o diagnóstico de EM deve excluir outros processos patológicos que possam explicar a desmielinização. A EM é uma doença com heterogeneidade clínica e imagiológica, daí o processo de diagnóstico ser, por vezes, moroso e difícil. Até ao momento, não existem orientações de consenso sobre a bateria mínima de testes que se deve fazer quando se considera que existe a suspeita de EM. São várias as patologias que cursam com desmielinização do SNC que podem mimetizar não só do ponto de vista clínico, mas imagiológico e laboratorialmente, a EM⁴¹⁻⁴³.

No doente com uma apresentação neurológica considerada como manifestação de lesão desmielinizante, a favor de um síndrome clínico isolado, deve-se estar atento aos chamados *red-flags* clínicos e paraclínicos da doença. Assim a primeira etapa no diagnóstico de um doente com suspeita de desmielinização de SNC é tentar perceber se se está perante uma patologia inflamatória, desmielinizante primária do SNC, ou se se trata de um processo de desmielinização secundário a uma doença sistémica. São várias as doenças autoimunes sistémicas em que o quadro



neuroológico é a forma de apresentação, com é o caso por exemplo da doença de Behçet, lúpus eritematoso sistémico e síndrome de Sjögren⁴⁴⁻⁴⁷. Após a exclusão de patologias de carácter sistémico, e se é feito o diagnóstico de uma patologia inflamatória desmielinizante idiopática do SNC, numa segunda fase é preciso perceber se cumpre processo de desmielinização com disseminação no espaço e tempo de acordo com os critérios de McDonald³⁹. Na ausência destes critérios para o diagnóstico definitivo de EM, pode-se estar perante outro grupo de doenças desmielinizantes inflamatórias idiopáticas de SNC não-EM, estando englobadas neste grupo a neuromielite óptica, a encefalomyelite aguda disseminada, a mielite transversa aguda idiopática e a nevrite óptica isolada idiopática⁴⁸⁻⁵⁰. O algoritmo seguinte esquematiza esta abordagem geral do doente com suspeita de doença desmielinizante do SNC (Figura 3).

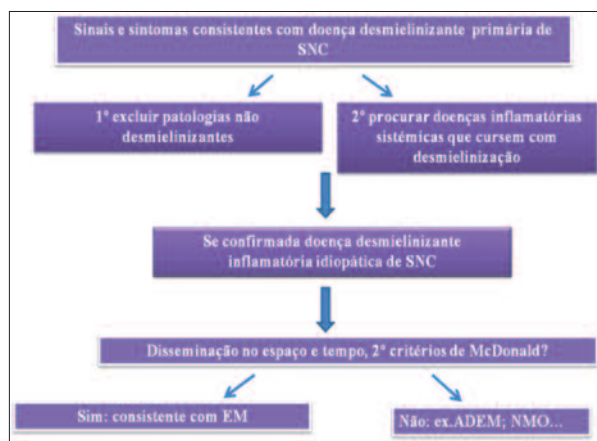


Figura 3. Algoritmo no diagnóstico diferencial de esclerose múltipla

O desafio de diagnóstico deste grupo de patologias surge no chamado síndrome clínico isolado em que o processo de desmielinização se traduz só por manifestações neurológicas em doente previamente saudável. As formas de manifestação mais frequentes destes síndromes clínicos isolados são: nevrite óptica, síndromes do tronco, síndromes hemisféricas e síndromes medulares. Cada um destes síndromes apresenta características que favorecem o diagnóstico de EM e outras consideradas *red-flags* para a doença. De seguida esquematizam-se os sinais e sintomas de cada um dos síndromes mais frequentemente associados à EM e aqueles que apontam para outro tipo de patologia subjacente (Tabela 1).

Além da história e do exame neurológico que permitem enquadrar cada um dos síndromes numa patologia a favor de EM, de seguida o estudo complementar vai ser fundamental para o diagnóstico definitivo. O estudo imagiológico com ressonância magnética cerebral e medular, o estudo laboratorial, nomeadamente com estudo do LCR, associados à clínica, vão permitir diferenciar cada um dos grupos de patologias e tentar enquadrar o diagnóstico num dos 3 grandes subgrupos: (1) Esclerose Múltipla, (2) doença desmielinizante inflamatória idiopática do SNC não-esclerose múltipla, (3) doença inflamatória sistémica com desmielinização secundária do SNC⁴⁸⁻⁵⁴.

A Tabela II esquematiza os dados clínicos e do estudo complementar que possam levar ao diagnóstico dos grupos de patologias que não a EM.

Existem muitas entidades autoimunes com apresentação clínica e/ ou imagiológica que podem “simular” EM. Além desta abordagem inicial, no seguimento destes doen-

Tabela I. Principais manifestações neurológicas das diferentes localizações de síndrome clínico isolado, que podem favorecer, ou não, o diagnóstico de EM³⁶.

	Sinais e sintomas a favor de esclerose múltipla	Sinais e sintomas de alarme para esclerose múltipla
Nevrite óptica	Unilateral Dor nos movimentos oculares Edema parcial da papila Perda parcial da acuidade visual	Dor contínua e severa Associada a neuroretinite Associada a uveíte Ausência de recuperação ao final de um mês
Síndrome do tronco	Oftalmoplegia internuclear bilateral Ataxia e nistagmo multidirecional Paresia isolada do VI par craniano	Oftalmoparesia externa crónica progressiva Paresia só de movimentos oculares verticais Distonia focal Síndromes vasculares do tronco cerebral
Síndrome medular	Mielite parcial Sinal de Lhermitte Paraparesia espástica assimétrica Urgência urinária	Mielite transversa Dor radicular Síndrome de cauda equina, síndrome de Brown-Sequard completo Paraparesia espástica simétrica progressiva Síndrome a cumprir território vascular (ex. artéria espinhal anterior)
Síndrome hemisférico	Hemiparesia Defeito cognitivo subcortical	Epilepsia Encefalopatia e sinais corticais



Tabela II. Diagnósticos diferenciais em Esclerose Múltipla

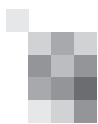
Patologia	Clínica	Padrão imagiológico	Dados laboratoriais
Doença desmielinizante idiopática de SNC que não EM			
Neuromielite óptica (NMO)	Nevrites ópticas graves e de repetição Mielites graves Quadros de encefalopatia Quadros típicos de soluços e vômitos	RM medular: mielite longitudinalmente extensa RM cerebral: normal na fase inicial ou com lesões em sítios de elevada expressão de AQP4, ex. hipotálamo, região periventricular; tronco cerebral	ATC NMO-IgG positivo Bandas oligoclonais de IgG presentes em 15-30% dos casos Mielites com linfocitose no LCR
Encefalomielite aguda disseminada	Monofásica, recorrente ou multifásica, com manifestações clínicas típicas (ex. encefalopatia, cefaleia, meningismo, epilepsia)	RM: Lesões “pseudotumorais”, confluentes, com edema; ou padrão de envolvimento bilateral, simétrico e sem realce com contraste	LCR: pleocitose, proteinorraquia Bandas oligoclonais ausentes ou positivas inicialmente (transitórias)
Mielite transversa aguda idiopática	Síndrome medular: sensitivo, motor, disautonômico com progressão entre 4h-21 dias Nível sensitivo evidente	RM medular: lesão inflamatória com realce com contraste RM cerebral: sem alterações relevantes	LCR: pleocitose moderada e aumento do Índice de IgG
Nevrite óptica idiopática isolada	Papilite mais pronunciada Por vezes com hemorragia ou exsudado retiniano	Estudo imagiológico sem alterações	Estudo laboratorial normal
Doenças inflamatórias sistêmicas com desmielinização do SNC			
Lúpus Eritematoso Sistémico	Síndromes medulares Nevrite óptica isolada é rara	Mielopatia lúpica: mielite transversa, que pode ser longitudinalmente extensa RM cerebral: hipersinal inespecífico em T2 da substância branca sem tradução em T1	Pode existir seropositividade para: ANA; anti-DNAs; anti-aPL; anti-SM; anti-nucleossoma Bandas oligoclonais de IgG no LCR transitórias
Doença de Behçet	Formas parenquimatosas e não parenquimatosas Nevrites ópticas Raro mielites	Formas parenquimatosas com lesões no tronco cerebral, núcleos da base, tálamo e substância branca	LCR: proteinorraquia, pleocitose e presença de bandas oligoclonais de IgG transitórias
Síndrome de Sjögren	Síndromes medulares (paraparesia espática); síndrome de Brown-Séquard Nevrite óptica Forma parenquimatosas com síndromes hemisféricos	9-60% dos doentes podem apresentar lesões de substância branca assintomáticas	ATC anti-SSA e anti-SSB ATC anti alfa-fodrina sérica

ATC, anticorpo; AQP4, aquaporina 4; ANA, antinucleares; aPL, antifosfolipídico; Anti-SM, anti-Smit; LCR, líquido cefalorraquidiano; RM, ressonância magnética.

tes será necessário estar sempre atento a outros sinais e sintomas, que apesar estarem ausentes numa primeira fase, podem surgir mais tarde. A revisão de diagnóstico deve ser considerada se a clínica, imagem e estudo laboratorial alertarem para uma evolução diferente da esperada para a EM. A terapêutica imunomoduladora aprovada para a EM é específica para a doença, assim o primeiro passo para tratamento eficaz é o diagnóstico certo.

Conclusões

O conhecimento dos fatores que podem desencadear esclerose múltipla, e dos processos lesionais que se desenrolam no SNC, permite compreender melhor a doença e favorecer a descoberta de novos alvos imunoterapêuticos. A esclerose múltipla é uma doença heterogênea e complexa, sem biomarcador de diagnóstico específico, cujo processo de diagnóstico pode ser por vezes moroso e difícil. Daí a importância de uma sistematização rigorosa dos diagnósticos diferenciais e da vigilância apertada da evolução dos doentes. ■



Bibliografia

1. Compston A, Coles A. Multiple sclerosis. *Lancet*. 2008; 372: 1502–17.
2. Sá MJ, Guimarães J, Abreu P, Mendes A, Souto E. Etiopathogenesis, Classical Immunotherapy and Innovative Nanotherapeutics for Inflammatory Neurological Disorders. *Current Nanoscience* 2011, 7, 2-20.
3. Guimarães J, Sá MJ. Doenças Inflamatórias e Desmielinizantes do Sistema Nervoso Central. *Neurologia Clínica. Compreender as Doenças Neurológicas* (Sá MJ, coord.) 2009;285 – 333; 306-308. Porto. Edições Universidade Fernando Pessoa.
4. Renoux C, Vukusic S, Mikaeloff Y et al. Natural history of multiple sclerosis with childhood onset. *N.Engl. J. Med.* 2007, 356(25), 2603-13.
5. Costa D, Sá MJ, Calheiros JM. The effect of social support on the quality of life of patients with MS. *Arq Neuropsiquiatr.* 2012, 70(2):108-113.
6. Mendes A, Sá MJ. Classical immunomodulatory therapy in multiple sclerosis: how it acts, how it works. *Arq Neuropsiquiatr* 2011;69:536–543.
7. Hartung HP, Montalban X, Sorensen PS et al. Principles of a new treatment algorithm in multiple sclerosis. *Expert Rev Neurother.* 2011 Mar;11(3):351.
8. Alonso A, Hernán MA. Temporal trends in the incidence of multiple sclerosis: a systematic review. *Neurology* 2008; 71:129.
9. Koch-Henriksen N, Sørensen PS. The changing demographic pattern of multiple sclerosis epidemiology. *Lancet Neurol* 2010; 9:520.
10. Simpson S Jr, Blizzard L, Otahal P, et al. Latitude is significantly associated with the prevalence of multiple sclerosis: a meta-analysis. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2011; 82:1132.
11. Ramagopalan SV, Handel AE, Giovannoni G, et al. Relationship of UV exposure to prevalence of multiple sclerosis in England. *Neurology* 2011; 76:1410.
12. De Sá J, Paulos A, Mendes H, et al. The prevalence of multiple sclerosis in the District of Santarém, Portugal. *J Neurol.* 2006 Jul;253(7):914-8.
13. Willer CJ, Dyment DA, Risch NJ, et al. Twin concordance and sibling recurrence rates in multiple sclerosis. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2003;100(22):
14. International Multiple Sclerosis Genetics Consortium, Hafler DA, Compston A, et al. Risk alleles for multiple sclerosis identified by a genome-wide study. *N Engl J Med* 2007; 357:851.
15. Silva AM, Pereira C, Bettencourt A, et al. The role of HLA-DRB1 alleles on susceptibility and outcome of a Portuguese Multiple Sclerosis population. *J Neurol Sci.* 2007 Jul 15;258(1-2):69-74.
16. Levin LI, Munger KL, Rubertone MV, et al. Temporal relationship between elevation of Epstein-Barr virus antibody titers and initial onset of neurological symptoms in multiple sclerosis. *JAMA* 2005; 293:2496.
17. Hawkes CH. Smoking is a risk factor for multiple sclerosis: a meta-analysis. *Mult Scler* 2007;13(5):610
18. Hernán MA, Jick SS, Logroscino G, et al. Cigarette smoking and the progression of multiple sclerosis. *Brain* 2005; 128:1461.
19. Munger KL, Levin LI, Hollis BW, et al. Serum 25-hydroxyvitamin D levels and risk of multiple sclerosis. *JAMA* 2006;296(23):2832–8.
20. Lassmann H, Wolfgang B, Lucchinetti CE. The Immunopathology of Multiple Sclerosis: An Overview. *Brain Pathol* 2007;17: 210–218.
21. Dutta R and Trapp BD. Mechanisms of Neuronal Dysfunction and Degeneration in Multiple Sclerosis. *Prog Neurobiol.* 2011 January ; 93(1): 1–12
22. Trapp BD, Nave KA. Multiple sclerosis: an immune or neurodegenerative disorder? *Annu Rev Neurosci* 2008; 31: 247–269.
23. Lassman H. Mechanisms of multiple sclerosis. *Drugs Discovery Today* 2005, 2 (4), 447-452.
24. Nakahara J, Aiso S, Suzuki N. Autoimmune Versus Oligodendroglial Pathology: The Pathogenesis of Multiple Sclerosis. *Arch Immunol Ther Exp* 2010; 58: 325–333.
25. Glass CK, Saijo K, Winner B, Marchetto MC, Gage FH. Mechanisms Underlying Inflammation in Neurodegeneration. *Cell* 2010; 140(6): 918–934.
26. Wu GF, Alvarez E. The immuno-pathophysiology of multiple sclerosis. *Neurol Clin* 2011; 29(2): 257–278.
27. Weiner HL. The Challenge of Multiple Sclerosis: How Do We Cure A Chronic Heterogeneous Disease? *Annals of Neurology* 2009; 65 (3): 239-248.
28. Disanto G, Morahan JM, Barnett MH, et al. The evidence for a role of B cells in multiple sclerosis. *Neurology* 2012; 78: 823-832.
29. Frischer JM, Bramow S, Dal-Bianco A, et al. The relation between inflammation and neurodegeneration in multiple sclerosis brains. *Brain* 2009; 132: 1175–1189.
30. Magliozzi R, Howell O, Vora A, et al. Meningeal B-cell follicles in secondary progressive multiple sclerosis associated with early onset of disease and severe cortical pathology. *Brain* 2007; 130: 1089–104.
31. Yong VW, Zabad RK, Agrawal S, DaSilva AG, Metz LM. Elevation of matrix metalloproteinases (MMPs) in multiple sclerosis and impact of immunomodulators. *J Neurol Sci.* 2007 Aug 15;259(1-2):79-84.
32. Agrawal MS, Silva C, Tourtellotte WW, Yong VW. EMMPRIN: A Novel Regulator of Leukocyte Transmigration into the CNS in Multiple Sclerosis and Experimental Autoimmune Encephalomyelitis. *J Neurosci* 2011; 31(2):669–677.
33. Watzlawik J, Warrington AE, Rodriguez M. Importance of oligodendrocyte protection, blood brain barrier breakdown and inflammation for remyelination. *Expert Rev Neurother* 2010; 10(3): 441–457.
34. Frohman EM, Racke MK, Raine CS. Multiple Sclerosis-The Plaque and Its Pathogenesis. *N Engl J Med* 2006;354:942-955.
35. Lucchinetti C, Bruck W, Parisi J et al. Heterogeneity of multiple sclerosis lesions: implications for the pathogenesis of demyelination. *Ann Neurol* 2000; 47:707–717
36. Miller DH, Weinshenker BG, Filippi M et al.. Differential diagnosis of suspected multiple sclerosis: a consensus approach. *Mult Scler.* 2008. Nov;14(9):1157-74.
37. Poser CM, Paty DW, Scheinberg L, et al. New diagnostic criteria for multiple sclerosis: guidelines for research protocols. *Annals of neurology.* 1983;13(3):227–31.
38. McDonald WI, Compston A, Edan G, et al. Recommended diagnostic criteria for multiple sclerosis: guidelines from the International Panel on the diagnosis of multiple sclerosis. *Annals of neurology.* 2001;50(1):121–7.
39. Polman CH, Reingold SC, Edan G, et al. Diagnostic criteria for multiple sclerosis: 2005 revisions to the “McDonald Criteria”. *Annals of neurology.* 2005;58(6):840–6.
40. Polman CH, Reingold SC, Banwell B, et al. Diagnostic criteria for multiple sclerosis: 2010 revisions to the McDonald criteria. *Ann Neurol.* 2011 Feb;69(2):292-302.
41. Harrison's Neurology in Clinical Medicine. 16th edition, New York, McGraw-Hill, 2004, pp. 405-422.
42. Neurology in Clinical Practice. 5th edition, Amsterdam, Butterworth-Heinemann, Elsevier, 2008, pp. 1583-1613.
43. Kelly SB, Chaila E, Kinsella K, et al. Using atypical symptoms and red flags to identify non-demyelinating disease. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 2012 Jan;83(1):44-8.
44. Voss EV, Stangel M. Nervous system involvement of connective tissue disease: mechanisms and diagnostic approach. *Curr Opin Neurol.* 2012 Jun;25(3):306-15.
45. Unterman A, Nolte JE, Boaz M, Abady M, Shoenfeld Y, Zandman-Goddard G. Neuropsychiatric syndromes in systemic lupus erythematosus: a meta-analysis. *Semin Arthritis Rheum.* 2011 Aug;41(1):1-11.
46. Fauchais A-L, Magy L, Vidal E. Central and peripheral neurological complications of primary Sjögren's syndrome. *Presse médicale.* 2012;41(9 Pt 2):e485-93.
47. Peño IC, De las Heras Revilla V, Carbonell BP, et al. Neurobehçet disease: clinical and demographic characteristics. *European journal of neurology: the official journal of the European Federation of Neurological Societies.* 2012;19(9):1224–7.
48. Multiple Sclerosis 3. Blue books of neurology, Vol 35, Elsevier, 2009, pp. 19-42
49. Kim SH, Kim W, Li XF, Jung JJ, Kim HJ. Clinical spectrum of CNS aquaporin-4 autoimmunity. *Neurology.* 2012 Apr 10;78(15):1179-85
50. Brinar VV, Poser CM. Disseminated encephalomyelitis in adults. *Clin Neurol Neurosurg.* 2008 Nov;110(9):913-8.
51. Freedman MS, Thompson EJ, Deisenhammer F, et al. Recommended standard of cerebrospinal fluid analysis in the diagnosis of multiple sclerosis: a consensus statement. *Archives of neurology.* 2005;62(6):865–70
52. Tintoré, M., Rovira, A., Martínez, M.J. Isolated demyelinating syndromes: comparison of different MR imaging criteria to predict conversion to clinically definite multiple sclerosis. *Am J Neuroradiol.* 2005; 21, 702-706.
53. Wingerchuk DM, Lennon VA, Pittock SJ, Lucchinetti CE, Weinshenker BG. Revised diagnostic criteria for neuromyelitis optica. *Neurology.* 2006;66(10):1485–9.
54. Lebrun C, Bensa C, Debouverie M, et al. Association between clinical conversion to multiple sclerosis in radiologically isolated syndrome and magnetic resonance imaging, cerebrospinal fluid, and visual evoked potential: follow-up of 70 patients. *Arch Neurol.* 2009 Jul;66(7):841-6.

Correspondência:

Maria José Sá
Serviço de Neurologia
Centro Hospitalar de São João
Alameda Professor Hernâni Monteiro
4200-319 PORTO, Portugal
mjasa@med.up.pt

Regulação da neuroinflamação através do controlo da retenção e migração de linfócitos T

Regulation of T cell retention and migration in the control of neuroinflammation

Luis Graca

Instituto de Medicina Molecular, Faculdade de Medicina da Universidade de Lisboa, Lisboa, Portugal.

Resumo

Linfócitos T específicos para neuroantígenos são fatores fundamentais na patogénese da esclerose múltipla (MS). Deste modo, o controlo das populações de células T neuropatogénicas tem sido proposto como uma estratégia terapêutica promissora. Com este fim, diversos protocolos têm sido propostos e testados, explorando diferentes mecanismos de ação. O controlo de células T patogénicas é uma preocupação comum a outras doenças, não só autoimunes, mas também alérgicas e à transplantação. O controlo da saída de linfócitos T dos órgãos linfoides secundários (como os nódulos linfáticos) com fingolimod – agonista do recetor da esfingosina-1-fosfato (S1P) – representa um caso em que o controlo da migração celular conduz a benefício clínico. Este artigo revê o estado da arte na regulação do recrutamento de células T neuropatogénicas em MS.

Palavras-chave: Esclerose múltipla, linfócitos T, fingolimod, esfingosina-1-fosfato, migração celular.

Cabeçalho: Retenção de células T

Abstract

Effector neuroantigen-specific T cells are key factors in the pathogenesis of multiple sclerosis (MS). Thus, controlling neuropathogenic T cell has been proposed as a promising therapeutic strategy. To that end, several approaches have been proposed and tested, exploiting different mechanisms of action. Such control of potentially pathogenic T cells is a common concern in other diseases, not only autoimmune, but also allergic and also in transplant rejection. In this respect the control of T cell egress from secondary lymphoid tissue with fingolimod – a sphingosine-1-phosphate (S1P) receptor agonist represents a case where successful control of T cell migration can lead to clinical benefit. This article reviews the state of the art in regulating T cell participation in MS.

Keywords: multiple sclerosis, T cells, fingolimod, sphingosine-1-phosphate, cell migration.

Running title: T cell retention

Introdução

A Esclerose Múltipla (MS) é uma doença inflamatória do sistema nervoso central (SNC) associada a desmielinização progressiva e que é a principal causa de morbidade neurológica entre jovens adultos^{1,2}. Os estudos genéticos efetuados até à data têm indicado que o principal risco hereditário de MS está predominantemente associado a variantes alélicas de genes do sistema imunitário³⁻⁷. Para além disso, a associação mais forte é conferida pelo locus do antígeno leucocitário humano (HLA), que codifica as moléculas de MHC essenciais para ativação de linfócitos⁸, sugerindo assim o papel crucial destas células na patologia.

A resposta inflamatória associada a lesões desmielinizantes caracteriza-se por infiltração com células CD4, CD8 e macrófagos⁹. Acredita-se que esta resposta imunitária é autoimune, dirigida contra antígenos derivados do CNS¹⁰. A patogenicidade associada a este tipo de resposta imunitária tem sido reproduzida em modelos animais, sendo o mais utilizado a encefalomielite autoimune experimental (EAE) – uma doença desmielinizante progressiva de causa autoimune que pode ser induzida em animais suscetíveis após imunização com antígenos da mielina, tais como proteína básica da mielina (MBP) ou glicoproteína da mielina de oligodendrocitos (MOG)¹¹. Usando estes modelos animais tem sido possível demonstrar que existem linfócitos autoreactivos – B, CD4+ e CD8+ – que são células efetoras capazes de conduzir o processo de desmielinização do CNS. Nos últimos anos também se verificou que existem subtipos funcionais de células CD4 (Th1 e Th17) com características diferentes e que podem contribuir para lesão do CNS através de diferentes tipos de mediadores inflamatórios¹⁰. No entanto descobriu-se que uma citocina chave para a patogenicidade destas células é o GM-CSF¹²⁻¹⁴. Em sentido oposto, tem sido demonstrado que existe uma população de células T com capacidade imuno-reguladora – por esta razão designadas células T reguladoras (Treg) – que são capazes de prevenir ou limitar a neuroinflamação¹⁵⁻¹⁷. Também existem outras populações reguladoras, entre as quais as células T *natural killer* (NKT)¹⁸.

Dada a importância das células T na patogénese da MS, têm sido propostas várias estratégias terapêuticas que se baseiam no controlo destas células. Estas estratégias podem basear-se em eliminação física de células T, sua modulação ou sequestração.

A eliminação de células T pode ser conseguida através do tratamento com alemtuzumab – um anticorpo monoclonal (MAb) que provoca uma diminuição mantida de linfócitos T¹⁹; ou o acesso de células T ao SNC através do

bloqueio da integrina $\alpha 4^{20-22}$. Alguns outros alvos terapêuticos em desenvolvimento incluem moléculas dos linfócitos T entre os quais CD3 e moléculas envolvidas em co-estimulação²³⁻²⁶. O nosso grupo tem estudado em particular a molécula CD4 como potencial alvo terapêutico²⁷.

Uma estratégia alternativa para controlar células T autorreactivas consiste na sua sequestração em órgãos linfoides secundários, bloqueando a sua saída para o sangue e linfa²⁸⁻³¹. Este conceito foi inicialmente desenvolvido no campo da transplantação onde se procurou utilizar fingolimod (FTY720) como imunossupressor. Os resultados não foram tão positivos como no tratamento da MS, provavelmente devido ao diferente tipo de células envolvidas nas duas patologias e aos efeitos biológicos do fingolimod serem subtilmente diferentes em tipos celulares distintos, como explicado mais adiante (revisto em^{28,29}).

A importância das células T na patogénese da MS

O desenvolvimento de animais transgênicos com linfócitos T com recetores específicos para neuroantígenos veio favorecer o conhecimento do impacto destas células na neuroinflamação. Quando foram criados animais cujas células T são específicas para a MBP, verificou-se com surpresa que os animais permaneciam saudáveis apesar de terem mais de 90% dos linfócitos capazes de reconhecer estes antígenos do CNS³². Para além disso, estes linfócitos eram suficientes para causar inflamação pois quando os animais eram imunizados com MBP invariavelmente desenvolviam manifestações de EAE que evoluía em poucos dias para uma forma fatal. De igual modo, quando os ratinhos anti-MBP transgênicos foram cruzados com animais que não conseguem produzir outro recetor de células T para além do transgénico (deficientes em RAG), e passam a ter 100% de linfócitos T transgênicos, todos desenvolvem doença por volta dos 40 – 50 dias de vida que é rapidamente progressiva e fatal³². No entanto, a doença nestes animais pode ser evitada se forem transfundidos com linfócitos T de um animal *wild-type* congénico (geneticamente idêntico)³³. Estas experiências mostram de forma clara que não basta a existência de células T autorreactivas para originar patologia: é necessário que estas células sejam de algum modo ativadas (como no caso da imunização com MBP), ou que seja eliminado um importante mecanismo de controle – a presença de células Treg (que são eliminadas nos animais deficientes em RAG, e repostas com transfusão de células de animais normais). Note-se que a importância das células Treg em MS foi confirmada em humanos (ver revisão³⁴).

O desenvolvimento de outra linhagem de animais

transgênicos, com células T possuindo recetores específicos para MOG, veio permitir uma melhor compreensão da importância de tipos celulares distintos na patogênese da neuroinflamação³⁵. É possível isolar células destes animais (designados 2D2) e transferi-las para animais congênicos normais. Verificou-se que quando estas células são transferidas os recipientes permanecem saudáveis a menos que sejam imunizados com MOG (EAE ativa). No entanto, se as células 2D2 forem previamente incubadas *in vitro* com MOG e transferidas para animais normais apenas após sua ativação, então a doença surge espontaneamente sem ser necessário qualquer outra imunização dos recipientes (EAE passiva)²⁷. Deste modo torna-se possível estudar as características das células T que conseguem causar a doença. Sabe-se que em condições normais quer as células CD4, quer as CD8 contribuem para a doença³⁶. No entanto as células CD4 parecem ter um papel importante no início da patologia³⁷.

Inicialmente, pensava-se que a função das células CD4 efectoras se restringia a dois tipos: as Th2, produtoras de IL-4, IL-5 e IL-13, que conduzem à produção de IgE e estão muito associadas a patologia alérgica; e as células Th1 que se caracterizam pela produção de interferão- γ (IFN- γ) sob o controlo de um gene designado T-bet. Com efeito, é possível ativar células T de modo a torna-las Th1 (estimulando-as com antígeno na presença de IL-12), que induzem EAE após serem transferidas para um animal normal^{38,39}. Além disso IL-12 e IFN- γ são abundantes em lesões do SNC e no líquido céfalo-raquidiano (LCR) de doentes com MS^{40,41}. No entanto, apesar de claramente as células Th1 poderem causar neuroinflamação descobriu-se que estas células não são imprescindíveis para que a doença ocorra. Com efeito pode observar-se EAE em animais sem os genes para IL-12 ou para IFN- γ ⁴²⁻⁴⁴. Recentemente, outras populações de células CD4 com características funcionais distintas foram identificadas⁴⁵, entre as quais as células Th17⁴⁶. Verificou-se que existem muitas células CD4 produtoras de IL-17 em lesões de doentes com MS, e animais deficientes em células Th17 (por exemplo IL-23-/-) são muito resistentes ao desenvolvimento de EAE⁴⁶⁻⁵⁰. No entanto, existe alguma controvérsia quanto à possível existência de populações diferentes de células produtoras de IL-17 e à possibilidade de produção de IFN- γ por algumas células Th17⁵¹. Estudos mais recentes sugeriram que será a capacidade de produção de uma outra citocina pró-inflamatória – GM-CSF – que confere às células CD4 (quer Th1, quer Th17) a capacidade produzir doença¹²⁻¹⁴.

A importância de células T em diferentes tipos de lesão

Com o desenvolvimento de diferentes modelos animais para estudo de neuroinflamação começou a ser evidente que distintos tipos de células T efectoras conduzem a alterações na manifestação da doença. Com efeito, o rácio Th17:Th1 parece influenciar a localização anatómica das lesões – um predomínio de células Th17 favorece lesões no cérebro, enquanto um predomínio Th1 favorece lesões medulares⁵². De modo consistente, foi demonstrado que IFN- γ parece exacerbar a gravidade da inflamação na medula, enquanto tem um efeito oposto no cérebro⁵³. Por outro lado a IL-17 tem um efeito pro-inflamatório preferencial no cérebro⁵⁴.

Estas observações sugerem que diferentes tipos de linfócitos – nomeadamente Th1 e Th17 – poderão migrar preferencialmente para diferentes regiões anatómicas. Diferentes subtipos de células CD4, nomeadamente Th1 e Th17, expressam diferentes recetores de quimiocinas. Enquanto as células Th1 apresentam preferencialmente CXCR3 e CCR5, as células Th17 expressam preferencialmente CCR6⁵⁵. O ligando para CCR6 é CCL20 expresso com abundância nas células epiteliais do plexo coroide⁵⁶. Também os padrões de expressão de integrinas parecem variar em diferentes subpopulações de células CD4^{57,58}. Com efeito a integrina $\alpha 4$ (subunidade de VLA-4) é mais expressa em células Th1 que em Th17^{57,58}. Estes estudos sugerem ainda que $\alpha 4$ é particularmente importante para infiltração da medula mas não do cérebro. Deste modo VLA-4 será mais importante para infiltração da medula por células Th1 (com níveis mais elevados de $\alpha 4$).

Também as células Treg, até há pouco tempo considerada uma população homogênea, parecem ter subtipos com diferentes características funcionais⁴⁵. Com efeito descobriu-se que as células Treg especializadas em suprimir respostas imunes do tipo Th1 necessitam de expressar o mesmo fator de transcrição que é necessário para a função das células Th1, para além de Foxp3 – o fator de transcrição essencial para células Treg⁵⁹. De modo equivalente, também células Treg capazes de suprimir respostas Th2 parece terem que expressar um fator de transcrição (IRF4) desse tipo⁶⁰; e para suprimir respostas Th17 precisam de sinalização através de Stat3⁶¹. Como a produção de recetores de quimiocinas, importantes para a migração celular, depende da expressão de fatores de transcrição característicos de diferentes subpopulações de células T, tem sido sugerido que esta especialização de células Treg na supressão de diferentes tipos de respostas imunitárias pode estar associada à sua capacidade de migração. Assim, apenas células

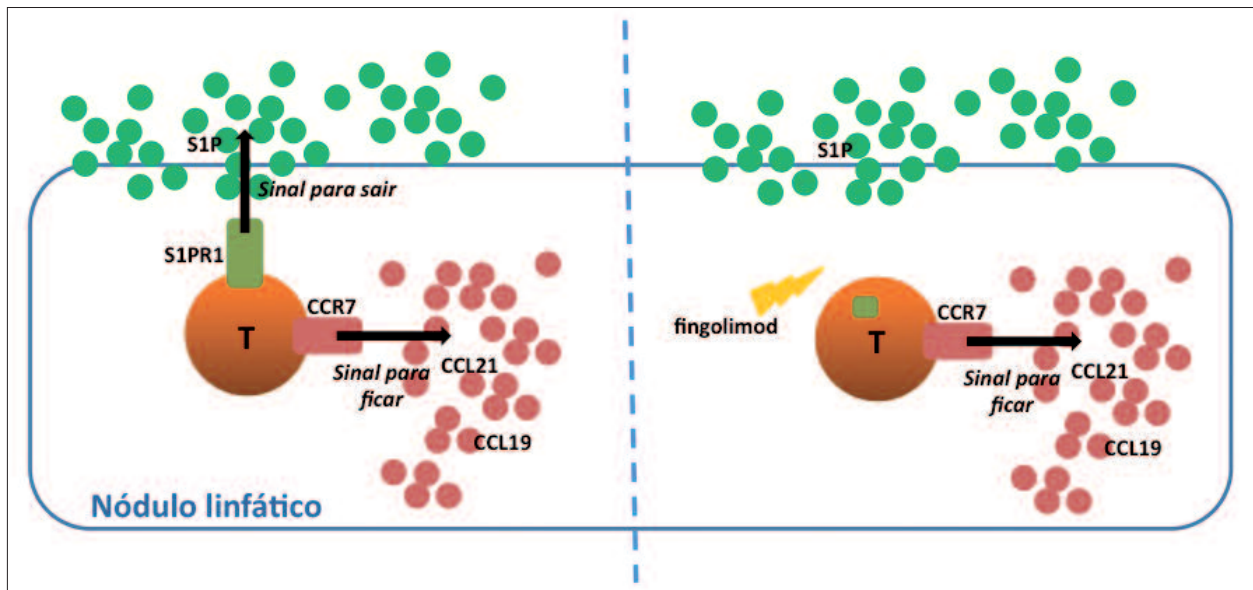


Figura 1. A decisão da célula T entre permanecer ou sair do NL depende de um balanço de sinais. Um linfócito enquanto está num NL tem na sua superfície receptores que influenciam a sua localização. Por um lado, o receptor CCR7 reconhece quimiocinas abundantes dentro do NL e fornece um sinal que mantém o linfócito junto dessas moléculas (sinal para ficar). Por outro lado, o receptor S1PR1 liga-se a S1P que é muito mais abundante fora do NL (no sangue e linfa) que dentro do nódulo. Deste modo este receptor fornece um sinal que atrai o linfócito para fora do NL na direção da maior concentração de S1P (sinal para sair). É um balanço entre estes dois sinais que determina o comportamento do linfócito. O fingolimod altera este balanço pois conduz ao desaparecimento de S1PR1 da superfície do linfócito. Deste modo a célula T apenas recebe sinais para ficar, passando a estar retida no NL. Um processo idêntico acontece no timo e em outros órgãos linfóides secundários.

Treg que expressam os mesmos receptores de quimiocinas que células Th1 (ou Th17), teriam acesso aos mesmos locais e teriam oportunidade de suprimir estas respostas. Mais uma vez a migração das células poderá ser o fator essencial para a regulação da resposta imunitária.

O papel da S1P no movimento dos linfócitos

A saída de linfócitos T do timo, onde são formados, e do baço e nódulos linfáticos (NL) é mediada por S1P²⁹. Os linfócitos têm na sua superfície um dos receptores de S1P, designado S1PR1⁶². Para a saída do timo e NL é necessário que haja um gradiente de S1P que dirija o movimento. Assim, a concentração de S1P no sangue e linfa é superior à sua concentração no fluido intersticial dos órgãos linfóides (Figura 1).

Os linfócitos entram nos NL através de vénulas de endotélio alto, sendo depois atraídos para as zonas de células T por ligandos de CCR7 (CCL21 e CCL19), enquanto os linfócitos B são atraídos para os folículos através de CXCL13 que é reconhecido por CXCR5. A saída dos linfócitos faz-se para os seios corticais do NL, num processo em que os S1PR1 têm um aspeto fundamental. Com efeito, o linfócito tem que tomar uma decisão com base nos sinais que recebe de CCR7 (que atrai a célula para ficar no NL) e de S1PR1 (que atrai a célula para o seio cortical por onde sai do NL). Deste modo a regulação destes receptores na superfície do linfócito é determinante para definir a permanência ou saída da célula do NL. Neste aspeto, a regu-

lação da quantidade de S1PR1 disponível na superfície da célula é determinante neste processo. Em condições habituais, num linfócito não ativado, as moléculas de S1PR1 são abundantes permitindo a sua recirculação através de diferentes órgãos linfóides. No entanto, quando um linfócito é ativado, perde CCR7 (o que favorece a sua saída no NL), mas passa a expressar CD69 durante cerca de dois dias. O CD69 é uma molécula que se liga a S1PR1 fomentando a sua degradação^{63,64}. Assim, uma célula ativada é forçada a permanecer cerca de 2 ou 3 dias no NL onde tem assim tempo para proliferar e influenciar a ativação de outras células. Após cerca de um dia do momento da ativação a produção de S1PR1 é fortemente reduzida, voltando a aumentar ao fim de três dias⁶⁵. Deste modo, só por volta de três dias após a ativação do linfócito passa a haver S1PR1, na ausência de CD69, podendo assim sair do NL.

Ao sair para o sangue onde existe uma grande concentração de S1P, que foi o fator que atraiu o linfócito, os receptores ficam rapidamente saturados ao ligar-se a S1P o que condiciona a internalização e degradação de S1PR1. Deste modo a célula volta a estar em condições para entrar num outro órgão linfóide (como um novo NL), completando-se assim o ciclo.

Mecanismo de ação de fingolimod

Fingolimod (ou FTY720) atua como um agonista de S1PR1 (e também dos receptores 3, 4 e 5)²⁸. Tratamento com fingolimod causa uma ligação desta molécula a S1PR1,

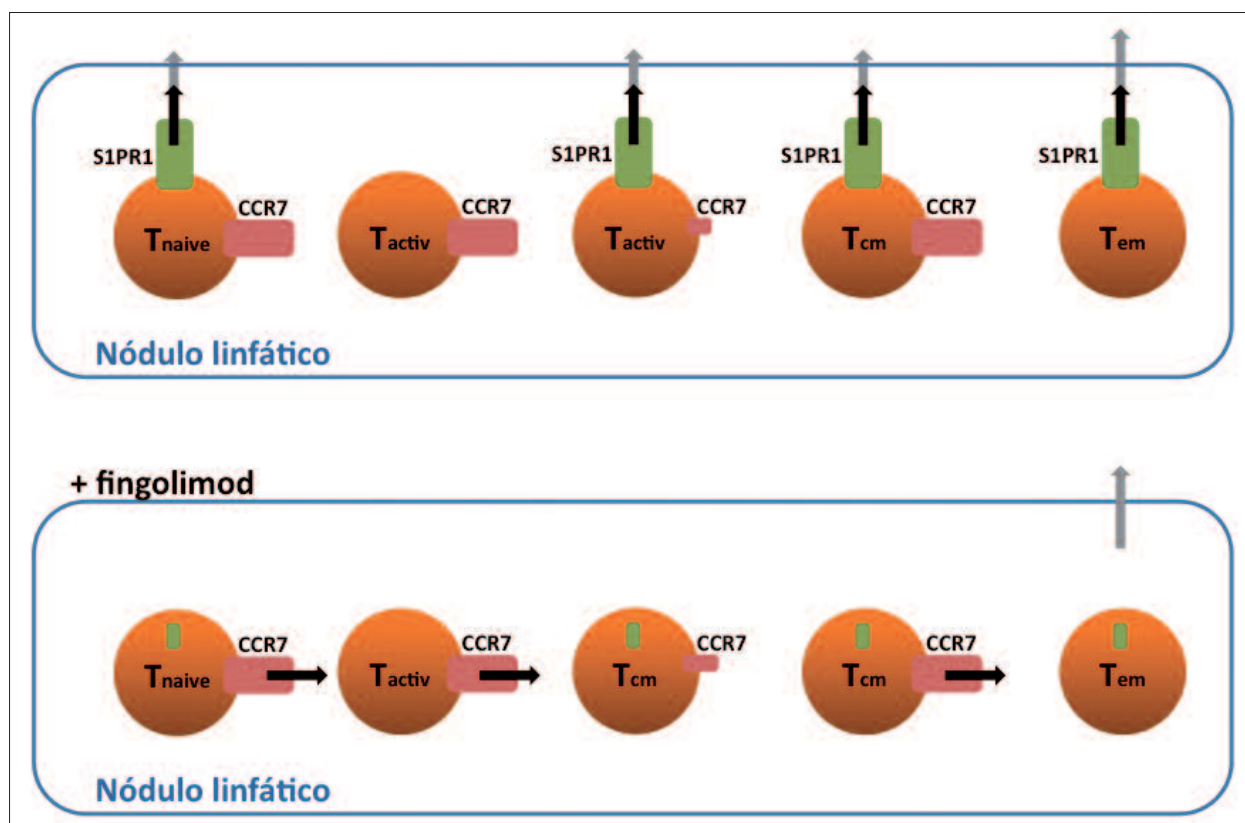


Figura 2. Diferentes tipos de células T são afetados de modo distinto por fingolimod. Uma célula T naiva (não ativada) tem na sua superfície S1PR1 e CCR7 o que lhe permite ir circulando entre vários NL, pois quando sai de um NL a abundância de S1P no sangue causa uma diminuição de S1PR1, o que lhe confere uma tendência para entrar no NL seguinte. Quando ativada, existe uma diminuição transitória de S1PR1 que serve para garantir que a célula T permaneça no NL enquanto sofre um período inicial de proliferação (o CD69 contribui para esta diminuição de S1PR1). No entanto, ao fim de 2 – 3 dias passa a expressar S1PR1 enquanto o CCR7 diminui na sua superfície, passando assim a célula a ter condições para sair do NL. Por outro lado, no decurso da resposta imunitária podem formar-se dois tipos de células de memória: Tcm e Tem que diferem na expressão de CCR7 (restrito às Tcm). O tratamento com fingolimod, ao diminuir o S1PR1 na superfície das células vai conduzir à retenção destes diferentes tipos celulares no NL. Apenas as células Tem, devido à ausência de CCR7 continuam a sair dos NL apesar do tratamento com fingolimod, uma vez que também não sofrem a ação de sinais retentores provenientes de CCR7.

que determina a sua internalização e degradação, levando a uma diminuição muito significativa de S1PR1 na superfície dos linfócitos⁶⁵. Os linfócitos ficam assim incapazes de detetar S1P na sua vizinhança e, deste modo, a sua saída dos órgãos linfóides é bloqueada (Figura 1).

Como referido acima, em situações normais um linfócito ativado permanece cerca de 2 ou 3 dias no NL antes de sair para a circulação e ganhar acesso ao tecido alvo. O tratamento com fingolimod impede esta saída mantendo as células que vão sendo ativadas sequestradas nos NL. Para além deste efeito, As células Treg também expressam S1PR1. Verificou-se que o tratamento com fingolimod aumenta a função de células Treg⁶⁶. Também alguns estudos recentes mostraram que fingolimod pode ter um ação benéfica ao atuar diretamente nos astrócitos do SNC (que expressam S1PR), por mecanismo ainda não totalmente clarificado⁶⁷.

Neste momento aceita-se a existência de dois tipos de células T de memória: as *central memory* (Tcm) e as *effector memory* (Tem, Figura 2). As células Tem são importantes para a imunidade protetora e formam-se após intera-

ções com antígenos de alta intensidade, migrando preferencialmente para inflamados na periferia e com ação efetora imediata. Por esta razão, enquanto as células Tcm mantêm a expressão de CCR7, as células Tem perdem a expressão de CCR7⁶⁸. Deste modo as células Tem têm uma menor dependência de S1P para sair dos NL pois não necessitam de ultrapassar os sinais de retenção determinados por CCR7⁶⁹.

As células Tcm, pelo contrário, são induzidas na sequência de estímulos de baixa intensidade ou curta duração e caracterizam-se por manterem expressão de CCR7. Devido a esta expressão de CCR7 migram para os NL onde aguardam restimulação para adquirir propriedades efetoras⁷⁰⁻⁷². A ação de fingolimod em sequestrar preferencialmente Tcm é particularmente relevante em MS, pois estes doentes acumulam no LCR um predomínio de Tcm enquanto as Tem estão praticamente ausentes⁷³.

Este pouco impacto de S1P nas células Tem poderá ainda explicar a razão pela qual a imunidade está mantida em doentes tratados com fingolimod, nomeadamente em

estudos efectuados com vacina da gripe⁷⁴⁻⁷⁷, pois as células Tem parecem importantes para as respostas protetoras antivirais⁷⁸.

Conclusões

Um fator importante no desenvolvimento de qualquer estratégia imunossupressora ou imunomoduladora consiste no balanço entre o efeito terapêutico que se procura e a suscetibilidade a infeções. Quando os mecanismos de doença dependem da função de linfócitos T, como em transplantação mas também em autoimunidade, é frequentemente difícil dissociar os efeitos benéficos das consequências adversas. A utilização de células Treg como terapia celular mostrou que parece possível obter uma dissociação entre a prevenção da doença do enxerto contra hospedeiro (GVHD) sem evitar o efeito benéfico da resposta imunitária do enxerto contra células tumorais do doente (GVL)^{79,80}. Do mesmo modo, um desafio é procurar o balanço entre a regulação dos linfócitos T patogénicos sem afetar os linfócitos que possam estar envolvidos na proteção contra infeções. O fato do fingolimod atuar preferencialmente na retenção de alguns tipos de células T mais associadas com a patogénese da doença (como as Tcm), sem afetar do mesmo modo as células Tem (que não expressam CCR7) sugere uma explicação para a manutenção de respostas anti-virais em doentes tratados com fingolimod. ■

Referencias

1. Compston A & Coles A (2008) Multiple sclerosis. (Translated from eng) *Lancet* 372(9648):1502-1517 (in eng).
2. Sospedra M & Martin R (2005) Immunology of multiple sclerosis. (Translated from eng) *Annu Rev Immunol* 23:683-747 (in eng).
3. Gregory SG, et al. (2007) Interleukin 7 receptor alpha chain (IL7R) shows allelic and functional association with multiple sclerosis. (Translated from eng) *Nat Genet* 39(9):1083-1091 (in eng).
4. Hafler DA, et al. (2007) Risk alleles for multiple sclerosis identified by a genomewide study. (Translated from eng) *N Engl J Med* 357(9):851-862 (in eng).
5. Jagodic M, et al. (2009) A role for VAV1 in experimental autoimmune encephalomyelitis and multiple sclerosis. (Translated from eng) *Sci Transl Med* 1(10):10ra21 (in eng).
6. Lundmark F, et al. (2007) Variation in interleukin 7 receptor alpha chain (IL7R) influences risk of multiple sclerosis. (Translated from eng) *Nat Genet* 39(9):1108-1113 (in eng).
7. Sawcer S, et al. (2011) Genetic risk and a primary role for cell-mediated immune mechanisms in multiple sclerosis. (Translated from eng) *Nature* 476(7359):214-219 (in eng).
8. Jersild C, Svejgaard A, & Fog T (1972) HL-A antigens and multiple sclerosis. (Translated from eng) *Lancet* 1(7762):1240-1241 (in eng).
9. Hauser SL, et al. (1986) Immunohistochemical analysis of the cellular infiltrate in multiple sclerosis lesions. (Translated from eng) *Ann Neurol* 19(6):578-587 (in eng).
10. Goverman J (2009) Autoimmune T cell responses in the central nervous system. (Translated from eng) *Nat Rev Immunol* 9(6):393-407 (in eng).
11. Gold R, Linington C, & Lassmann H (2006) Understanding pathogenesis and therapy of multiple sclerosis via animal models: 70 years of merits and culprits in experimental autoimmune encephalomyelitis research. (Translated from eng) *Brain* 129(Pt 8):1953-1971 (in eng).
12. Codarri L, et al. (2011) RORgammat drives production of the cytokine GM-CSF in helper T cells, which is essential for the effector phase of autoimmune neuroinflammation. (Translated from eng) *Nat Immunol* 12(6):560-567 (in eng).
13. El-Behi M, et al. (2011) The encephalitogenicity of T(H)17 cells is dependent on IL-1- and IL-23-induced production of the cytokine GM-CSF. (Translated from eng) *Nat Immunol* 12(6):568-575 (in eng).
14. Ponomarev ED, et al. (2007) GM-CSF production by autoreactive T cells is required for the activation of microglial cells and the onset of experimental autoimmune encephalomyelitis. (Translated from eng) *J Immunol* 178(1):39-48 (in eng).
15. Awasthi A, Murugaiyan G, & Kuchroo VK (2008) Interplay between effector Th17 and regulatory T cells. (Translated from eng) *J Clin Immunol* 28(6):660-670 (in eng).
16. Kohm AP, Carpentier PA, Anger HA, & Miller SD (2002) Cutting edge: CD4+CD25+ regulatory T cells suppress antigen-specific autoreactive immune responses and central nervous system inflammation during active experimental autoimmune encephalomyelitis. (Translated from eng) *J Immunol* 169(9):4712-4716 (in eng).
17. McGeachy MJ, Stephens LA, & Anderson SM (2005) Natural recovery and protection from autoimmune encephalomyelitis: contribution of CD4+CD25+ regulatory cells within the central nervous system. (Translated from eng) *J Immunol* 175(5):3025-3032 (in eng).
18. Monteiro M, et al. (2010) Identification of regulatory Foxp3+ invariant NKT cells induced by TGF-beta. (Translated from eng) *J Immunol* 185(4):2157-2163 (in eng).
19. Coles AJ, et al. (2008) Alemtuzumab vs. interferon beta-1a in early multiple sclerosis. (Translated from eng) *N Engl J Med* 359(17):1786-1801 (in eng).
20. Miller DH, et al. (2003) A controlled trial of natalizumab for relapsing multiple sclerosis. (Translated from eng) *N Engl J Med* 348(1):15-23 (in eng).
21. Polman CH, et al. (2006) A randomized, placebo-controlled trial of natalizumab for relapsing multiple sclerosis. (Translated from eng) *N Engl J Med* 354(9):899-910 (in eng).
22. Yednock TA, et al. (1992) Prevention of experimental autoimmune encephalomyelitis by antibodies against alpha 4 beta 1 integrin. (Translated from eng) *Nature* 356(6364):63-66 (in eng).
23. Howard LM, et al. (1999) Mechanisms of immunotherapeutic intervention by anti-CD40L (CD154) antibody in an animal model of multiple sclerosis. (Translated from eng) *J Clin Invest* 103(2):281-290 (in eng).
24. Kohm AP, et al. (2005) Treatment with nonmitogenic anti-CD3 monoclonal antibody induces CD4+ T cell unresponsiveness and functional reversal of established experimental autoimmune encephalomyelitis. (Translated from eng) *J Immunol* 174(8):4525-4534 (in eng).
25. Ochi H, et al. (2006) Oral CD3-specific antibody suppresses autoimmune encephalomyelitis by inducing CD4+ CD25- LAP+ T cells. (Translated from eng) *Nat Med* 12(6):627-635 (in eng).
26. Perruche S, et al. (2008) CD3-specific antibody-induced immune

- tolerance involves transforming growth factor-beta from phagocytes digesting apoptotic T cells. (Translated from eng) *Nat Med* 14(5):528-535 (in eng).
27. Duarte J, et al. (2012) T cell apoptosis and induction of Foxp3+ regulatory T cells underlie the therapeutic efficacy of CD4 blockade in experimental autoimmune encephalomyelitis. (Translated from eng) *J Immunol* 189(4):1680-1688 (in eng).
 28. Brinkmann V, et al. (2010) Fingolimod (FTY720): discovery and development of an oral drug to treat multiple sclerosis. (Translated from eng) *Nat Rev Drug Discov* 9(11):883-897 (in eng).
 29. Cyster JG & Schwab SR (2012) Sphingosine-1-phosphate and lymphocyte egress from lymphoid organs. (Translated from eng) *Annu Rev Immunol* 30:69-94 (in eng).
 30. Forster R, Braun A, & Worbs T (2012) Lymph node homing of T cells and dendritic cells via afferent lymphatics. (Translated from eng) *Trends Immunol* 33(6):271-280 (in eng).
 31. Spiegel S & Milstien S (2011) The outs and the ins of sphingosine-1-phosphate in immunity. (Translated from eng) *Nat Rev Immunol* 11(6):403-415 (in eng).
 32. Lafaille JJ, Nagashima K, Katsuki M, & Tonegawa S (1994) High incidence of spontaneous autoimmune encephalomyelitis in immunodeficient anti-myelin basic protein T cell receptor transgenic mice. (Translated from eng) *Cell* 78(3):399-408 (in eng).
 33. Olivares-Villagomez D, Wang Y, & Lafaille JJ (1998) Regulatory CD4(+) T cells expressing endogenous T cell receptor chains protect myelin basic protein-specific transgenic mice from spontaneous autoimmune encephalomyelitis. (Translated from eng) *J Exp Med* 188(10):1883-1894 (in eng).
 34. Lowther DE & Hafler DA (2012) Regulatory T cells in the central nervous system. (Translated from eng) *Immunol Rev* 248(1):156-169 (in eng).
 35. Bettelli E, et al. (2003) Myelin oligodendrocyte glycoprotein-specific T cell receptor transgenic mice develop spontaneous autoimmune optic neuritis. (Translated from eng) *J Exp Med* 197(9):1073-1081 (in eng).
 36. Saxena A, Martin-Blondel G, Mars LT, & Liblau RS (2011) Role of CD8 T cell subsets in the pathogenesis of multiple sclerosis. (Translated from eng) *FEBS Lett* 585(23):3758-3763 (in eng).
 37. Pierson E, Simmons SB, Castelli L, & Goverman JM (2012) Mechanisms regulating regional localization of inflammation during CNS autoimmunity. (Translated from eng) *Immunol Rev* 248(1):205-215 (in eng).
 38. Baron JL, Madri JA, Ruddle NH, Hashim G, & Janeway CA, Jr. (1993) Surface expression of alpha 4 integrin by CD4 T cells is required for their entry into brain parenchyma. (Translated from eng) *J Exp Med* 177(1):57-68 (in eng).
 39. Segal BM & Shevach EM (1996) IL-12 unmasks latent autoimmune disease in resistant mice. (Translated from eng) *J Exp Med* 184(2):771-775 (in eng).
 40. Lock C, et al. (2002) Gene-microarray analysis of multiple sclerosis lesions yields new targets validated in autoimmune encephalomyelitis. (Translated from eng) *Nat Med* 8(5):500-508 (in eng).
 41. Nicoletti F, et al. (1996) Elevated serum levels of interleukin-12 in chronic progressive multiple sclerosis. (Translated from eng) *J Neuroimmunol* 70(1):87-90 (in eng).
 42. Becher B, Durell BG, & Noelle RJ (2002) Experimental autoimmune encephalitis and inflammation in the absence of interleukin-12. (Translated from eng) *J Clin Invest* 110(4):493-497 (in eng).
 43. Ferber IA, et al. (1996) Mice with a disrupted IFN-gamma gene are susceptible to the induction of experimental autoimmune encephalomyelitis (EAE). (Translated from eng) *J Immunol* 156(1):5-7 (in eng).
 44. Gran B, et al. (2002) IL-12p35-deficient mice are susceptible to experimental autoimmune encephalomyelitis: evidence for redundancy in the IL-12 system in the induction of central nervous system autoimmune demyelination. (Translated from eng) *J Immunol* 169(12):7104-7110 (in eng).
 45. Agua-Doce A & Graca L (2012) Regulatory T cells and the control of the allergic response. (Translated from eng) *J Allergy (Cairo)* 2012:948901 (in eng).
 46. Cua DJ, et al. (2003) Interleukin-23 rather than interleukin-12 is the critical cytokine for autoimmune inflammation of the brain. (Translated from eng) *Nature* 421(6924):744-748 (in eng).
 47. Gonzalez-Garcia I, et al. (2009) IL-17 signaling-independent central nervous system autoimmunity is negatively regulated by TGF-beta. (Translated from eng) *J Immunol* 182(5):2665-2671 (in eng).
 48. Hofstetter HH, et al. (2005) Therapeutic efficacy of IL-17 neutralization in murine experimental autoimmune encephalomyelitis. (Translated from eng) *Cell Immunol* 237(2):123-130 (in eng).
 49. Kebir H, et al. (2007) Human TH17 lymphocytes promote blood-brain barrier disruption and central nervous system inflammation. (Translated from eng) *Nat Med* 13(10):1173-1175 (in eng).
 50. Komiyama Y, et al. (2006) IL-17 plays an important role in the development of experimental autoimmune encephalomyelitis. (Translated from eng) *J Immunol* 177(1):566-573 (in eng).
 51. Hirota K, et al. (2011) Fate mapping of IL-17-producing T cells in inflammatory responses. (Translated from eng) *Nat Immunol* 12(3):255-263 (in eng).
 52. Stromnes IM, Cerretti LM, Liggitt D, Harris RA, & Goverman JM (2008) Differential regulation of central nervous system autoimmunity by T(H)1 and T(H)17 cells. (Translated from eng) *Nat Med* 14(3):337-342 (in eng).
 53. Wensky AK, et al. (2005) IFN-gamma determines distinct clinical outcomes in autoimmune encephalomyelitis. (Translated from eng) *J Immunol* 174(3):1416-1423 (in eng).
 54. Domingues HS, Mues M, Lassmann H, Wekerle H, & Krishnamoorthy G (2010) Functional and pathogenic differences of Th1 and Th17 cells in experimental autoimmune encephalomyelitis. (Translated from eng) *PLoS One* 5(11):e15531 (in eng).
 55. Sallusto F, et al. (2012) T-cell trafficking in the central nervous system. (Translated from eng) *Immunol Rev* 248(1):216-227 (in eng).
 56. Reboldi A, et al. (2009) C-C chemokine receptor 6-regulated entry of TH-17 cells into the CNS through the choroid plexus is required for the initiation of EAE. (Translated from eng) *Nat Immunol* 10(5):514-523 (in eng).
 57. Glatigny S, Duhon R, Oukka M, & Bettelli E (2011) Cutting edge: loss of alpha4 integrin expression differentially affects the homing of Th1 and Th17 cells. (Translated from eng) *J Immunol* 187(12):6176-6179 (in eng).
 58. Rothhammer V, et al. (2011) Th17 lymphocytes traffic to the central nervous system independently of alpha4 integrin expression during EAE. (Translated from eng) *J Exp Med* 208(12):2465-2476 (in eng).
 59. Koch MA, et al. (2009) The transcription factor T-bet controls regulatory T cell homeostasis and function during type 1 inflammation. (Translated from eng) *Nat Immunol* 10(6):595-602 (in eng).
 60. Zheng Y, et al. (2009) Regulatory T-cell suppressor program co-opts transcription factor IRF4 to control T(H)2 responses. (Translated from eng) *Nature* 458(7236):351-356 (in eng).
 61. Chaudhry A, et al. (2009) CD4+ regulatory T cells control TH17 responses in a Stat3-dependent manner. (Translated from eng) *Science* 326(5955):986-991 (in eng).
 62. Schwab SR & Cyster JG (2007) Finding a way out: lymphocyte egress from lymphoid organs. (Translated from eng) *Nat Immunol* 8(12):1295-1301 (in eng).
 63. Bankovich AJ, Shioh LR, & Cyster JG (2010) CD69 suppresses sphingosine 1-phosphate receptor-1 (S1P1) function through interaction with membrane helix 4. (Translated from eng) *J Biol Chem* 285(29):22328-22337 (in eng).
 64. Shioh LR, et al. (2006) CD69 acts downstream of interferon-alpha/beta to inhibit S1P1 and lymphocyte egress from lymphoid organs. (Translated from eng) *Nature* 440(7083):540-544 (in eng).
 65. Matloubian M, et al. (2004) Lymphocyte egress from thymus and peripheral lymphoid organs is dependent on S1P receptor 1. (Translated from eng) *Nature* 427(6972):355-360 (in eng).
 66. Liu G, Yang K, Burns S, Shrestha S, & Chi H (2010) The S1P(1)-mTOR axis directs the reciprocal differentiation of T(H)1 and T(reg) cells. (Translated from eng) *Nat Immunol* 11(11):1047-1056 (in eng).
 67. Cohen JA & Chun J (2011) Mechanisms of fingolimod's efficacy and adverse effects in multiple sclerosis. (Translated from eng) *Ann Neurol* 69(5):759-777 (in eng).
 68. Sallusto F, Geginat J, & Lanzavecchia A (2004) Central memory and effector memory T cell subsets: function, generation, and maintenance. (Translated from eng) *Annu Rev Immunol* 22:745-763 (in eng).
 69. Pham TH, Okada T, Matloubian M, Lo CG, & Cyster JG (2008) S1P1 receptor signaling overrides retention mediated by G alpha i-coupled receptors to promote T cell egress. (Translated from eng) *Immunity* 28(1):122-133 (in eng).
 70. Iezzi G, Karjalainen K, & Lanzavecchia A (1998) The duration of antigenic stimulation determines the fate of naive and effector T cells. (Translated from eng) *Immunity* 8(1):89-95 (in eng).
 71. Masopust D, Vezys V, Marzo AL, & Lefrancois L (2001) Preferential localization of effector memory cells in nonlymphoid tissue. (Translated from eng) *Science* 291(5512):2413-2417 (in eng).
 72. Sallusto F, Lenig D, Forster R, Lipp M, & Lanzavecchia A (1999) Two subsets of memory T lymphocytes with distinct homing potentials and effector functions. (Translated from eng) *Nature* 401(6754):708-712 (in eng).
 73. Kivisakk P, et al. (2004) Expression of CCR7 in multiple sclerosis: implications for CNS immunity. (Translated from eng) *Ann Neurol* 55(5):627-638 (in eng).
 74. Cohen JA, et al. (2010) Oral fingolimod or intramuscular interferon for relapsing multiple sclerosis. (Translated from eng) *N Engl J Med* 362(5):402-415 (in eng).
 75. Comi G, et al. (2010) Phase II study of oral fingolimod (FTY720) in multiple sclerosis: 3-year results. (Translated from eng) *Mult Scler* 16(2):197-207 (in eng).
 76. Kappos L, et al. (2010) A placebo-controlled trial of oral fingolimod in relapsing multiple sclerosis. (Translated from eng) *N Engl J Med* 362(5):387-401 (in eng).

77. Mehling M, *et al.* (2011) Antigen-specific adaptive immune responses in fingolimod-treated multiple sclerosis patients. (Translated from eng) *Ann Neurol* 69(2):408-413 (in eng).
78. Appay V, van Lier RA, Sallusto F, & Roederer M (2008) Phenotype and function of human T lymphocyte subsets: consensus and issues. (Translated from eng) *Cytometry A* 73(11):975-983 (in eng).
79. Hippen KL, Riley JL, June CH, & Blazar BR (2011) Clinical perspectives for regulatory T cells in transplantation tolerance. (Translated from eng) *Semin Immunol* 23(6):462-468 (in eng).
80. Hoffmann P & Edinger M (2006) CD4+CD25+ regulatory T cells and graft-versus-host disease. (Translated from eng) *Semin Hematol* 43(1):62-69 (in eng).

Correspondência:

Luis Graca
Instituto de Medicina Molecular,
Faculdade de Medicina da
Universidade de Lisboa,
Av. Prof. Egas Moniz,
1649-028 LISBOA – Portugal.
lgraca@fm.ul.pt

Modo de ação do Fingolimod *Fingolimod mode of action*

Susana Monteiro^{2,3,4}, João Cerqueira^{1,2,3,4}

1-Serviço de Neurologia, Hospital de Braga; 2-Centro Clínico Académico - Braga; 3-Instituto de Investigação em Ciências da Vida e Saúde Escola de Ciências da Saúde da Universidade do Minho; 4-ICVS/ 3B's Laboratório Associado.

Introdução

O fingolimod é o primeiro agente oral aprovado para o tratamento da esclerose múltipla e o primeiro de uma nova família de fármacos, modeladores dos recetores da esfingosina-1-fosfato.

Objectivos

Neste artigo pretendemos rever os dados disponíveis sobre o modo de ação do fingolimod com ênfase nos efeitos observados no tratamento de doentes com esclerose múltipla.

Desenvolvimento

Depois de fosforilado, o fingolimod (fosfato) é um agonista dos recetores S1P1, S1P3, S1P4 e S1P5 da esfingosina fosfato de que é um análogo estrutural. Contudo, a maioria dos seus efeitos, sobretudo os mediados pelo recetor S1P1, devem-se ao facto do fingolimod mediar, quando ligado ao recetor, a sua internalização e destruição, atuando como um antagonista funcional. Nesta qualidade, o fingolimod induz uma lentificação do efluxo de linfócitos dos gânglios linfáticos que resulta numa redução seletiva de células T de memória central em circulação, em particular do subtipo Th17 autorreactivas, implicadas na patogénese da doença; pelo contrário, as células T de memória efetora residentes nos tecidos não linfáticos não são afetadas. Além do efeito nas células imunes, o fingolimod altera o equilíbrio das metaloproteinases de matriz, a favor da manutenção da barreira hematoencefálica, e atua também em células do sistema nervoso. Nestas últimas parece ser capaz de reduzir a astrogliose, frequentemente associada às lesões, diminuir a destruição axonal e a ativação da microglia e promover a remielinização. Finalmente, os efeitos do fingolimod em recetores do sistema esfingosina-fosfato ao nível dos miócitos auriculares, do endotélio vascular e do endotélio e músculo liso da árvore brônquica parecem também explicar alguns dos efeitos adversos reportados durante a utilização de fingolimod, em particular as alterações transitórias do ritmo cardíaco, da pressão arterial e da função respiratória, respetivamente.

Conclusões

O fingolimod constitui um fármaco de vanguarda no tratamento de doentes com esclerose múltipla, não só por ser o primeiro medicamento oral a ser aprovado, mas também pelo seu inovador mecanismo de ação, com efeitos moduladores do sistema imunitário e dos principais atores do sistema nervoso central, tendo o seu desenvolvimento contribuído para um melhor conhecimento da doença.

Palavras-chave: Esclerose múltipla, linfócitos, esfingosina, oligodendrócitos, tratamento, gânglios linfáticos.

Cabeçalho: Fingolimod: modo de ação

Introduction

Fingolimod is the first oral agent for the treatment of multiple sclerosis and the first of a new drug class, the modulators of sphingosine 1-phosphate receptors.

Objectives

In this paper we review available evidence of fingolimod mode of action, focusing on the effects observed in multiple sclerosis patients.

Development

After phosphorylation, fingolimod(-phosphate) is an agonist of S1P1, S1P3, S1P4 and S1P5 sphingosine-phosphate receptor, but its effects, mainly those mediated by S1P1, are due to the fact that fingolimod induces, upon receptor binding, its internalization and destruction, thereby acting as a functional antagonist. As such, fingolimod induces a slowing of lymphocyte egress from lymph nodes, resulting in a selective reduction of circulating central memory T cells, particularly of the Th17 autoreactive subtype, implicated in multiple sclerosis pathogenesis; on the contrary, effector memory T cells which reside in non-lymphatic tissues are not affected. Besides its action on immune cells, fingolimod changes the matrix metalloproteinase balance in favor of the preservation of the blood-brain-barrier, and targets central nervous system cells. In these, the drug seems to prevent astrogliosis, often associated with multiple sclerosis lesions, decreases axonal destruction and microglia activation and promotes remyelination. Finally, fingolimod actions in S1P receptors on atrial myocytes, vascular endothelium and endothelium and smooth muscle of the airway tree, seem to explain some of the transient adverse effects reported during fingolimod use in patients, including decreased heart rate, elevated blood pressure and decreased respiratory function, respectively.

Conclusions

Fingolimod is at the forefront of multiple sclerosis treatment, not only because it is the first approved oral treatment, but also because of its innovative mode of action, with modulatory effects on both the immune and the central nervous systems.

Key-words: Multiple sclerosis, lymphocytes, sphingosine, oligodendrocytes, treatment, lymph nodes.

Running title: Fingolimod: mode of action

Introdução

O fingolimod é o primeiro fármaco oral a receber aprovação para o tratamento da esclerose múltipla. Desenvolvido a partir da miriocina, uma substância produzida pelo fungo *Isaria sinclairii*, tem uma estrutura química semelhante à esfingosina, sendo o primeiro de uma nova classe de fármacos que atuam nos recetores da esfingosina fosfato¹. No presente artigo revemos a literatura sobre o mecanismo de acção do fingolimod, com especial ênfase nos efeitos relevantes para o tratamento dos doentes com esclerose múltipla.

Esfingosina-1-fosfato e os seus recetores

A esfingosina é um produto da degradação da esfingomielina, um componente muito abundantes nas membranas celulares de todo o organismo. Todas as células, durante o processo de renovação dos esfingolípido, são capazes de gerar esfingosina intracelular e de a fosforilar, através das esfingosinas cinase 1 e 2 (ShpK-1 e ShpK-2) em esfingosina-1-fosfato (S1P), a forma biologicamente ativa². A esfingosina fosfato é libertada das células através de transportadores da família das cassetes de ligação ao ATP que catalizam o transporte de lípidos do folheto interno para o externo da membrana plasmática³. No embrião, a S1P está envolvida no desenvolvimento dos sistemas cardiovascular e nervoso central^{4,5}. No adulto, existe um gradiente significativo de concentração de S1P entre o plasma, onde esta é mais elevada, e os tecidos⁶, que parece ser essencial para a manutenção da direcção dos movimentos de células imunitárias entre ambos os compartimentos⁷, a manutenção do tónus vascular e das barreiras endoteliais⁸ e a comunicação via “gap-junctions” nas células do sistema nervoso central⁹. No plasma, a S1P é produzida pelos eritrócitos e pelas plaquetas¹⁰ e circula ligada à albumina e particularmente às lipoproteínas de alta densidade¹¹. Um aumento de produção da S1P ocorre também em locais de inflamação, em resposta à ativação celular por moléculas pró-inflamatórias, incluindo a interleucina-1, o factor de necrose tumoral e o factor de crescimento vascular do endotélio⁹.

A S1P liga-se a cinco recetores ligados a proteína G, S1P1 a S1P5². O recetor S1P1, mas também os S1P2 e S1P3, são largamente expressos em células dos sistemas imune, cardiovascular e nervoso central¹², enquanto o recetor S1P4 é especificamente expresso no tecido linfóide¹³ e o S1P5 está presente no baço e na substância branca do sistema nervoso central, predominando nos oligodendrócitos¹⁴. A expressão dos recetores na membrana muda significativamente com o estado de ativação da célula⁷ sendo

por isso difícil de estudar, uma vez que não se dispõe de um anticorpo monoclonal específico¹⁵. Mais importante, a disponibilidade de recetores na superfície extracelular, sobretudo para os recetores S1P1, é criticamente dependente dos níveis de S1P presentes nos tecidos/fluidos biológicos¹⁶, sendo quase nula no plasma, em que as concentrações de S1P são muito elevadas. Como veremos, este é um dado essencial para compreender alguns dos efeitos do fingolimod.

O fingolimod

Após a absorção, o fingolimod é fosforilado pela SphK-2¹⁷, principalmente das plaquetas¹⁸, para originar a forma biologicamente ativa fingolimod-(S)-fosfato¹⁹. Este, tal como a S1P de que é um análogo estrutural, é exportado da célula por transportadores da família da casete de ligação ao ATP²⁰ para atuar nos recetores membranares. O estudo da atividade biológica do fingolimod e dos seus fosfato em ensaios *in vitro* mostrou que o fingolimod-(S)-fosfato, mas não a forma (L)-fosfato nem o fingolimod, se comporta como agonista dos recetores S1P1, S1P4 e S1P5, com cerca de 10 vezes menos potência do recetor S1P3 e não tem atividade no recetor S1P2^{17,19,21}. De notar que muitos dos efeitos do fingolimod, conforme reportado a seguir, são mimetizados pela deleção condicional de recetores S1P1 em diferentes linhas celulares^{7,22}, sugerindo que o fármaco atua como um antagonista funcional dos mesmos. Este facto está, provavelmente, relacionado com o fenómeno atrás referido de internalização do recetor em situações de excesso de agonista¹⁶, existindo evidência de que a ligação do fingolimod ao S1P1 promove não só a sua internalização²³, mas também, de um modo distinto da S1P, a sua degradação²⁴. Este parece ser um mecanismo crucial para uma das mais importantes acções do fingolimod, a regulação do efluxos dos linfócitos dos gânglios linfáticos.

O efluxo dos linfócitos dos gânglios linfáticos

Em condições normais, os linfócitos do sangue estão constantemente em trânsito pelos órgãos linfóides, em particular os gânglios linfáticos, onde entram por vénulas de endotélio alta para sair pelos vasos linfáticos eferentes²⁵. Após uma infecção ou um desafio antigénico num determinado tecido ou região, as células apresentadoras de antigénio migram até aos gânglios linfáticos que os drenam onde contactam com os linfócitos (T e B) e ativam aqueles cujos recetores reconhecem os epitopos apresentados²⁵. Nestas ocasiões, ocorre nos gânglios um fenómeno conhecido como “shutdown”²⁶, no qual a saída de linfócitos é muito lentificada aumentando o tempo de per-

manência dos mesmos e portanto as possibilidades de contacto com as células apresentadoras. Embora este fenómeno tivesse sido descrito há 50 anos, foi o facto de, em ratinhos transgênicos sem expressão de S1P1 nas células da linhagem hematopoiética, os linfócitos T se revelarem incapazes de abandonar os gânglios linfáticos (e os timócitos o timo)⁷, que revelou o papel da S1P e dos seus recetores no mesmo⁷. Adicionalmente, enquanto a eliminação da S1P através da deleção das SphKs em ratinhos também impediu o efluxo dos linfócitos, a restauração dos seus níveis no plasma dos mesmos animais promoveu a recuperação do fenómeno, mas apenas nos animais que possuíam linfócitos com S1P1 e não naqueles em que este recetor também havia sido deletado¹⁰. Um estudo mais detalhado do fenómeno mostrou que as células T sem S1P1 se aproximavam das células endoteliais dos seios corticais dos gânglios linfáticos, mas não entravam, enquanto que células T normais contactavam e entravam nos seios corticais, de onde fluíam para os seios medulares e a linfa eferente²⁷.

O tratamento de ratinhos com fingolimod tem um efeito semelhante ao da deleção do recetor S1P1 das células hematopoiéticas⁷, sugerindo fortemente que o fingolimod, ao causar a internalização e destruição do recetor, atua como um antagonista funcional do mesmo para impedir o efluxo dos linfócitos. Em ratinhos com encefalomielite autoimune experimental (EAE), este efeito do fingolimod retém as células T auto-reactivas nos gânglios linfáticos, reduzindo a sua recirculação através da linfa e do sangue para o sistema nervoso central, o que contribui para a ausência de surtos e redução da inflamação²⁸. (Figura 1)

Por outro lado, o tratamento de ratinhos com fingolimod não parece afetar a funcionalidade de células T, nem a motilidade de células T residentes no sistema nervoso central, nem a migração de precursores para o timo, ou o seu desenvolvimento e maturação, estando apenas reduzida a sua velocidade de efluxo^{29,30,31}. De notar que o facto das concentrações de fingolimod e fingolimod-fosfato serem 10 vezes maiores nos gânglios linfáticos do que no plasma poderá conferir alguma especificidade tecidual aos seus efeitos, impedindo o antagonismo dos recetores noutras situações³².

Dados experimentais sugerem que os linfócitos auto-ativos importantes para a gênese da esclerose múltipla são principalmente da subpopulação de células T de memória central³³. Em doentes com esclerose múltipla, o fingolimod afeta diferencialmente a recirculação de células T, promovendo uma redução seletiva de células T naïve e de memória central (que expressam o recetor CCR7 que lhes permite a entrada nos gânglios linfáticos, onde

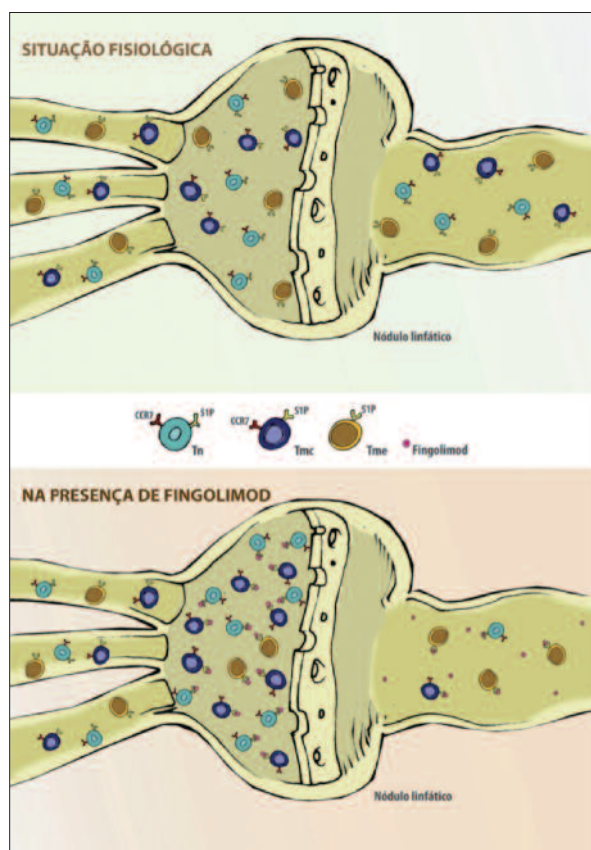


Figura 1. Retenção seletiva dos linfócitos nos nódulos linfáticos, após o tratamento com fingolimod. Em condições fisiológicas (acima) os linfócitos circulam livremente entre os nódulos e o sangue, devido ao gradiente de S1P entre ambos (mais alto no sangue, mais baixo nos gânglios). Durante o tratamento com fingolimod (abaixo), que funciona como antagonista funcional do receptor S1P1, os linfócitos deixam de responder ao gradiente e ficam retidos nos nódulos linfáticos. Este efeito é específico porque afeta apenas as células T naïve e T de memória central e não as T de memória efetora, que não expressam o receptor CCR7, responsável pela paragem dos linfócitos nos nódulos.

podem ser retidas pelo fingolimod) em detrimento das células T de memória efetora (que circulam por tecidos não linfóides), cuja proporção no sangue aumenta¹⁵. Estas células efetoras (dos epitélios digestivos, da lâmina própria do intestino, do pulmão, do fígado, do rim, do peritônio, da medula óssea e no sangue) estão envolvidas na contenção rápida de patógenos invasores locais³³ e, de modo importante, mantêm durante o tratamento com fingolimod a capacidade de produção de interferão-gama após estimulação (CD4+) ou a capacidade citolítica direta (CD8+)³⁴, constituindo um mecanismo de defesa não afetado pelo fármaco.

As células Th17 produzem a interleucina inflamatória IL-17 e têm sido implicadas na patogênese da esclerose múltipla³⁵. A periferia das lesões desmielinizantes apresenta abundantes células Th 17³⁶, que estão também enriquecidas no sangue periférico e LCR dos doentes^{37,38,39}. Estas células são capazes de atravessar a barreira hematoencefálica, rompendo junções apertadas^{35,40} e expressam granzima B, sendo citotóxicas para neurónios *in*

*vitro*³⁵. Nos doentes com esclerose múltipla tratados com fingolimod, os números de células Th17 em circulação foi praticamente abolido¹⁵, sendo de esperar que, à semelhança do modelo animal, muitas se encontrem retidas nos gânglios linfáticos⁴⁰.

Recentemente, as células B também foram implicadas na patogénese da esclerose múltipla⁴¹ e drogas que depletam seletivamente células B (por exemplo rituximab e ocrelizumab) mostraram resultados promissores no tratamento da doença^{42,43}. Tal como as células T, os linfócitos B também expressam recetores S1P e alguns expressam CD62L, que lhes permite entrar nos gânglios linfáticos e, por isso, ser retidos por acção do fingolimod⁴⁴. Além disto, os recetores S1P parecem ser também importantes para a manutenção dos linfócitos B esplénicos na zona marginal, onde estão expostos a novos antígenos e podem ser ativado⁴⁵. Estudos no modelo animal revelaram que o tratamento com fingolimod resulta numa depleção seletiva de linfócitos B da zona marginal do baço⁴⁶, e que a diminuição da imunidade mediada pelas células B contribui para a melhoria clínica da EAE induzida pelo tratamento⁴⁷.

Outras acções no sistema imune

As células dendríticas são a principal população apresentadora de antígeno, que é crucial para a indução de respostas imunes primárias. No entanto, apesar de expressarem RNA de todos os recetores de S1P, e em particular o S1P1 e S1P3 após estimulação⁴⁸, a sua actividade parece não ser afetada pelo fingolimod, uma vez que a activação e proliferação de células T e B específicas de antígeno, em modelos de vacinação e infeções víricas/bacterianas se encontra preservada^{29,49,50}. Contudo, apesar destes dados, o fármaco reduziu os números de células T naive antígeno-específicas que foram recrutadas de outros locais para os nódulos linfáticos que drenavam o antígeno⁵⁰ e diminuiu a velocidade de efluxos das células T ativadas pelo antígeno dos gânglios linfáticos^{29,49,50}, o que poderá aumentar o risco de infeções primárias em que ainda não há células T de memória efetora nos tecidos e órgãos não linfáticos^{49,51,52}. De notar, contudo, que estes efeitos parecem também depender do local de génese do antígeno, uma vez que o fármaco não afeta o efluxo de células do baço²¹, onde são apresentados antígenos de agentes transportados pelo sangue, mas apenas dos gânglios linfáticos, que filtram antígenos da pele e mucosas²⁶.

A redução da infiltração de células T no sistema nervoso central observada após o tratamento com fingolimod de ratinhos com EAE parece também estar relacionada com a diminuição da expressão do gene da metaloprotei-

nase de matrix-9 (MMP-9) e um aumento compensatório do inibidor tecidual da metaloproteínase (TIMP-1), resultando num equilíbrio de proteases em favor da preservação da integridade da barreira hematoencefálica^{53,54}.

Acções no sistema nervoso central

Os recetores S1P são também expressos em células do sistema nervoso central, incluindo neurónios⁵⁵, oligodendrócitos¹⁴, astrócitos^{56,57} e microglia⁵⁵, e é provável que a sua ativação esteja envolvida na patogénese da esclerose múltipla. De facto, estudos recentes em ratinhos com EAE sugerem um papel dos S1P1 das células neuronais na progressão da doença⁵⁸, enquanto outra evidência aponta para um metabolismo alterado dos esfingolípido em doentes com esclerose múltipla que poderia contribuir para a disrupção da mielina⁵⁹.

Tendo em conta estes dados, e o facto de que o fingolimod atravessa facilmente a barreira hematoencefálica atingindo elevadas concentrações no líquido cefalorraquidiano^{60,61}, é provável que o seu mecanismo de acção inclua também acções directas no sistema nervoso central.

Os astrócitos expressam S1P1 e S1P3 em abundância^{56,57} e parecem responder à S1P com aumento da expressão de GFAP e proliferação⁵⁶. De facto, uma injeção de S1P directamente no estriado de ratinhos induziu astrogliose⁵⁶, que é conhecida por inibir mecanismos de reparação endógenos como a remielinização. De notar que uma delecção condicional de S1P1 nos astrócitos atenuou a astrogliose nas lesões de EAE²² e que, de modo relevante, este efeito foi mimetizado pelo tratamento com fingolimod²².

Os recetores S1P são também expressos em áreas cerebrais com neurogénese ativa⁶² e a ativação dos S1P1 parece promover a migração de progenitores neuronais para áreas de lesão do sistema nervoso central⁵⁵. Estes dados sugerem um envolvimento dos receptores da S1P em processos de reparação do dano neuronal, e um possível modo de acção do fingolimod neste domínio. Neste sentido, o fingolimod aumenta os níveis de BDNF, um factor neurotrófico endógeno, em culturas de neurónios⁶³, enquanto num modelo de EAE crónica por surtos, no rato Dark-Agouti, o tratamento com fingolimod evita uma diminuição da densidade axonal no nervo óptico (que ocorre nos animais não tratados) e restaura as respostas eletrofisiológicas⁵⁴, conduzindo também a uma melhoria da função motora⁶⁴.

Os efeitos do fingolimod nos oligodendrócitos, que expressam abundantemente S1P5 e também S1P1¹⁴, são mais controversos, uma vez que parecem depender crucialmente da dose, tempo e do estado de maturação celular. Enquanto estudos *in vitro* mostram que a expressão de

S1P5 é crucial como factor de sobrevivência em células maduras, ratinhos sem expressão de S1P5 não apresentam défices de mielinização¹⁴. No entanto, a deleção do recetor S1P1 na linhagem oligodendrocítica resulta em corpo caloso ligeiramente mais fino e em animais mais susceptíveis à cuprizona, um reagente usado para induzir desmielinização⁶⁵. Apesar de faltar evidência *in vivo* de que a acção do fingolimod na esclerose múltipla é através dos recetores S1P5 dos oligodendrócitos, estudos *in vitro* mostram que o fingolimod influencia muitas respostas daquelas células, incluindo sobrevivência, proliferação, migração e diferenciação⁶⁶. Adicionalmente, em modelos animais de esclerose múltipla, a redução dos sinais da doença após tratamento com fingolimod é acompanhada de remielinização⁶⁷ ou redução da desmielinização⁶⁸, sendo necessários mais estudos para destrinçar o contributo dos diferentes recetores nas diferentes linhagens celulares para este fenótipo.

As células da microglia são residentes no sistema nervoso central e, após ativação, respondem imediatamente mediando processos neuroinflamatórios. As células da microglia expressam os recetores S1P1, S1P2, S1P3 e S1P5⁶⁹ e a sua ativação por um agente desmielinizante foi atenuada pelo antagonismo S1P1 e S1P5⁷⁰. Além disso, um aumento da ativação microglial na espinal medula de animais com EAE foi reduzida pelo fingolimod⁶⁷. Contudo, este efeito foi mimetizado também pela deleção de S1P1 em linhagens celulares do sistema nervoso central, onde a microglia não se inclui⁶⁷, o que sugere que a ativação da microglia pode ser modulada, pelo menos em parte, indiretamente, através da acção em recetores S1P1 noutras linhagens celulares.

Outras acções relevantes

Nos ensaios clínicos, o tratamento com fingolimod está associado a uma redução transitório da frequência cardíaca que desaparece com a exposição repetida. Este efeito parece estar relacionado com uma breve ativação, nos miócitos auriculares, do canal de potássio $I_{K_{ACh}}$ ligado à proteína G, que é dependente dos recetores S1P1 e que desaparece com a internalização ou dessensitização dos recetores após exposição repetida ao fármaco^{9,71}. Pelo contrário, o aumento ligeiro da pressão arterial observado nos doentes expostos a fingolimod parece estar relacionado com o antagonismo funcional dos mesmos recetores, que reduz a activação, pela S1P endógena, da sintase do óxido nítrico endotelial^{9,24}.

Menos estudadas, a acção do fingolimod nos recetores S1P das células endoteliais e no músculo liso das vias aéreas parece ser responsável pelo ligeiro decréscimo da

função pulmonar observado durante o início do tratamento⁷², enquanto uma acção ao nível do endotélio dos vasos retinianos, nomeadamente da barreira sangue-retina, parece estar envolvida no aumento do risco de edema macular observado, particularmente em doentes diabéticos nos quais os mecanismos de regulação da permeabilidade vascular já se encontram comprometidos⁷³.

Conclusão

Os dados mais recentes apontam o fingolimod como um antagonista funcional dos recetores da esfingosina fosfato, em particular do S1P1. Nos linfócitos, este efeito lentifica a sua saída dos gânglios linfáticos, em particular de células Th17 auto-reactivas, prevenindo a sua circulação até ao sistema nervoso central e contribuindo assim para a redução da inflamação. Nos astrócitos, por seu lado, este efeito parece reduzir a astrogliose, enquanto a acção nos S1P5 dos oligodendrócitos, onde actua como agonista, poderá favorecer a remielinização.

A biologia complexa dos recetores da esfingosina e o largo espectro de acção do fingolimod parecem indicar que a sua eficácia na esclerose múltipla resulta, não de um mecanismo de acção único, mas de um conjunto variado de acções em vários elos da cadeia de lesão que é característica da doença. Esta característica, aliada a um elevado perfil de segurança, derivado em parte da sua selectividade para populações e tecidos específicos, fazem deste um fármaco promissor no tratamento desta terrível doença. ■

Agradecimentos

Este trabalho foi suportado em parte por fundos do FEDER, através do programa de factores de competitividade (COMPETE), e por fundos nacionais, através da Fundação para a Ciência e Tecnologia, concedidos ao projeto PIC/IC/83231/2007.

SM é financiada pela bolsa de doutoramento SFRH/BD/69311/2010 da Fundação para a Ciência e Tecnologia.

Referências bibliográficas

1. Adachi K, Chiba K. FTY720 story: its discovery and the following accelerated development of sphingosine 1-phosphate receptor agonists as immunomodulators based on reverse pharmacology. *Perspect Medicin Chem* 2007;1:11-12.
2. Hla T. Physiological and pathological actions of sphingosine 1-phosphate. *Semin Cell Dev Biol* 2004;15: 513-520.
3. Van Meer G, Lisman Q. Sphingolipid transport: rafts and translocators. *J Biol Chem* 2012;277: 25855-25858.
4. Mizugishi K, Yamashita T, Olivera A, Miller GE, Spiegel S, Proia RL. Essential role for sphingosine kinases in neural and vascular development. *Mol Cell Biol* 2005;25: 11113-11121.
5. Allende ML, Yamashita T, Proia RL. G-protein-coupled receptor S1P1 acts within endothelial cells to regulate vascular maturation. *Blood* 2003;102: 3665-3667.
6. Kim RH, Takabe K, Milstien S, Spiegel S. Export and functions of sphingosine-1-phosphate. *Biochim Biophys Acta* 2009;1791: 692-696.
7. Matloubian M, Lo CG, Cinamon G, Lesneski MJ, Xu Y, Brinkmann V et al. Lymphocyte egress from thymus and peripheral lymphoid organs is dependent on S1P receptor 1. *Nature* 2004; 427: 355-360.
8. McVerry BJ, Garcia JG. In vitro and in vivo modulation of vascular barrier integrity by sphingosine 1-phosphate: mechanistic insights. *Cell Signal* 2004; 17: 131-139.
9. Brinkmann V. Sphingosine 1-phosphate receptors in health and disease: mechanistic insights from gene deletion studies and reverse pharmacology. *Pharmacol Ther* 2007; 115: 84-105.
10. Pappu R, Schwab SR, Cornelissen I, Pereira JR, Regard JB, Xu Y et al. Promotion of lymphocyte egress into blood and lymph by distinct sources of sphingosine-1-phosphate. *Science* 2007; 316: 295-298.
11. Okajima S. Plasma lipoproteins behave as carriers of extracellular sphingosine 1-phosphate: is this an atherogenic mediator or an anti-atherogenic mediator? *Biochim Biophys Acta* 2002; 1582: 132-137.
12. Chae SS, Proia RL, Hla T. Constitutive expression of the S1P1 receptor in adult tissues. *Prostaglandins Other Lipid Mediat* 2004; 73: 141-150.
13. Graeler M, Goetzl EJ. Activation-regulated expression and chemotactic function of sphingosine 1-phosphate receptors in mouse splenic T cells. *FASEB J* 2002;16: 1874-1878.
14. Jaillard C, Harrison S, Stankoff B, Aigrot MS, Calver AR, Duddy G et al. Edg8/S1P5: an oligodendroglial receptor with dual function on process retraction and cell survival. *J Neurosci* 2005; 25: 1459-1469.
15. Brinkmann V. FTY720 (fingolimod) in multiple sclerosis: therapeutic effects in the immune and the central nervous system *Br J Pharm* 2009;158:1173-82.
16. Shioh LR, Rosen DB, Brdicková N, Xu Y, An J, Lanier LL et al. CD69 acts downstream of interferon-alpha/beta to inhibit S1P1 and lymphocyte egress from lymphoid organs. *Nature* 2006;440: 540-544.
17. Brinkmann V, Davis MD, Heise CE, Albert R, Cottens S, Hof R et al. The immune modulator FTY720 targets sphingosine 1-phosphate receptors. *J Biol Chem* 2002; 277: 21453-21457.
18. Kihara A, Igarashi Y. Production and release of sphingosine 1-phosphate and the phosphorylated form of the immunomodulator FTY720. *Biochim Biophys Acta* 2008;1781: 496-502.
19. Albert R, Hinterding K, Brinkmann V, Guerini D, Mueller-Hartweg C, Knecht H et al. Novel immunomodulator FTY720 is phosphorylated in rats and humans to form a single stereoisomer. identification, chemical proof, and biological characterization of the biologically active species and its inactive enantiomer. *J Med Chem* 2005;48: 5373-77.
20. Honig SM, Fu S, Mao X, Yopp A, Gunn MD, Randolph GJ et al. FTY720 stimulates multidrug transporter- and cysteinyl leukotriene-dependent T cell chemotaxis to lymph nodes. *J Clin Invest* 2003;111: 627-637.
21. Mandala S, Hajdu R, Bergstrom J, Quackenbush E, Xie J, Milligan J et al. Alteration of lymphocyte trafficking by sphingosine 1-phosphate receptor agonists. *Science* 2002;296: 346-349.
22. Choi JW, Herr D, Lee C-W, Teo S, Kennedy G, Chun J. S1P1 receptor signalling on cells of astrocytic lineages in experimental autoimmune encephalomyelitis: a role in disease progression and the efficacy of fingolimod (FTY720). *World Congress on Treatment and Research in Multiple Sclerosis (ECTRIMS)* 2008, Montreal, Canada. Poster P29.
23. Pham TH, Okada T, Matloubian M, Lo CG, Cyster JG. S1P1 receptor signaling overrides retention mediated by G alpha i-coupled receptors to promote T cell egress. *Immunity* 2008;28: 122-133.
24. Oo ML, Thangada S, Wu MT, Liu CH, Macdonald TL, Lynch KR et al. Immunosuppressive and anti-angiogenic sphingosine 1-phosphate receptor-1 agonists induce ubiquitinylation and proteasomal degradation of the receptor. *J Biol Chem* 2007;282: 9082-9089.
25. Cyster JG, Schwab SR. Sphingosine-1-phosphate and lymphocyte egress from lymphoid organs *Annu Rev Immunol* 2012;30:69-94.
26. Schwab SR, Cyster JG. Finding a way out: lymphocyte egress from lymphoid organs. *Nat Immunol* 2007;8: 1295-1301.
27. Grigorova IL, Schwab SR, Phan TG, Pham TH, Okada T, Cyster JG. Cortical sinus probing, S1P1-dependent entry and flowbased capture of egressing T cells. *Nat Immunol* 2009;10: 58-65.
28. Fujino M, Funeshima N, Kitazawa Y, Kimura H, Amemiya H, Suzuki S et al. Amelioration of experimental autoimmune encephalomyelitis in Lewis rats by FTY720 treatment. *J Pharmacol Exp Ther* 2003;305: 70-77.
29. Kursar M, Jänner N, Pfeffer K, Brinkmann V, Kaufmann SH, Mittrücker HW. Requirement of secondary lymphoid tissues for the induction of primary and secondary T cell responses against *Listeria monocytogenes*. *Eur J Immunol* 2008;38: 127-138.
30. Bartholomäus I, Schläger C, Brinkmann V, Wekerle H, Flügel A. Intravital 2-photon imaging of encephalitogenic effector cells during fingolimod (FTY720) treatment of experimental autoimmune encephalomyelitis. *World Congress on Treatment and Research in Multiple Sclerosis (ECTRIMS)*, 2008, Montreal, Canada. Poster P7.
31. Metzler B, Gfeller P, Wieczorek G, Li J, Nuesslein-Hildesheim B, Brinkmann V. Modulation of T cell homeostasis and alloreactivity under continuous FTY720 exposure. *Int Immunol* 2008;20: 633-644.
32. Sensen SC, Bode C, Graler MH. Accumulation of FTY720 in lymphoid tissues contributes to prolonged efficacy. *J Pharmacol Exp Ther* 2008; 328: 963-969.
33. Brinkmann V, Metzler B, Matloubian M, et al. The mode of action of Fingolimod (FTY720), an oral sphingosine 1-phosphate receptor modulator that is highly effective in human multiple sclerosis (Phase II). *Mult Scler* 2006;12:S100.
34. Masopust D, Vezys V, Marzo AL, Lefrançois L. Preferential localization of effector memory cells in nonlymphoid tissue. *Science* 2001;291: 2413-2417.
35. Kebir H, Kreymborg K, Ifergan I, Dodelet-Devillers A, Cayrol R, Bernard M et al. Human TH17 lymphocytes promote bloodbrain barrier disruption and central nervous system inflammation. *Nat Med* 2007;13: 1173-1175.
36. Tzartos JS, Friese MA, Craner MJ, Palace J, Newcombe J, Esiri MM et al. Interleukin-17 production in central nervous system infiltrating T cells and glial cells is associated with active disease in multiple sclerosis. *Am J Pathol* 2008;172: 146-155.
37. Reboldi A, Coisne C, Baumjohann D, et al. C-C chemokine receptor 6-regulated entry of TH-17 cells into the CNS through the choroid plexus is required for the initiation of EAE. *Nat Immunol* 2009;10:514-523.
38. Brucklacher-Waldert V, Stürner K, Kolster M, Wolthausen J, Tolosa E. Phenotypical and functional characterization of T helper 17 cells in multiple sclerosis. *Brain* 2009;132:3329-3341.
39. Matusiewicz D, Kivisakk P, He B, et al. Interleukin-17 mRNA expression in blood and CSF mononuclear cells is augmented in multiple sclerosis. *Mult Scler* 1999;5:101-104.
40. Mehling M, Lindberg R, Kuhle J, et al. Oral fingolimod (FTY720) treatment reduces peripheral IL-17-producing TH17 cells in patients with multiple sclerosis. *Mult Scler* 2008;14:S234.
41. Disanto G, Morahan JM, Barnett MH, Giovannoni G, Ramagopalan SV. The evidence for a role of B cells in multiple sclerosis. *Neurology*. 2012;78:823-32.
42. Hauser SL, Waubant E, Arnold DL, et al.; HERMES Trial Group. B-cell depletion with rituximab in relapsing-remitting multiple sclerosis. *N Engl J Med*. 2008;358:676-88.
43. Kappos L, Li D, Calabresi PA, et al. Ocrelizumab in relapsing-remitting multiple sclerosis: a phase 2, randomised, placebo-controlled, multicentre trial. *Lancet*. 2011;378:1779-87.
44. Mehling M, Johnson TA, Antel J, Kappos L, Bar-Or A. Clinical immunology of the sphingosine 1-phosphate receptor modulator fingolimod (FTY720) in multiple sclerosis. *Neurology*. 2011;76(8 Suppl 3):S20-7.
45. Cinamon G, Matloubian M, Lesneski MJ, et al. Sphingosine 1-phosphate receptor 1 promotes B cell localization in the splenic marginal zone. *Nat Immunol* 2004;5:713-720.
46. Vora KA, Nichols E, Porter G, et al. Sphingosine 1-phosphate receptor agonist FTY720-phosphate causes marginal zone B cell displacement. *J Leukoc Biol* 2005;78:471-480.
47. Allende ML, Tuymetova G, Lee BG, Bonifacino E, Wu YP, Proia RL. S1P1 receptor directs the release of immature B cells from bone marrow into blood. *J Exp Med* 2010;207:1113-1124.
48. Czeloth N, Bernhardt G, Hofmann F, Genth H, Foerster R. Sphingosine-1-phosphate mediates migration of mature dendritic cells. *J Immunol* 2005;175: 2960-2967.
49. Pinschewer DD, Ochsenbein AF, Odermatt B, Brinkmann V, Hengartner H, Zinkernagel RM. FTY720 immunosuppression impairs effector T-cell peripheral homing without affecting induction, expansion, and memory. *J Immunol* 2000;164: 5761-5770.
50. Xie JH, Nomura N, Koprak SL, Quackenbush EJ, Forrest MJ, Rosen H. Sphingosine-1-phosphate receptor agonism impairs the efficiency of the local immune response by altering trafficking of naïve and antigen-activated CD4+ T cells. *J Immunol* 2003;170: 3662-3670.

51. Kappos L, Antel J, Comi G, et al. Oral fingolimod (FTY720) for relapsing multiple sclerosis. *N Engl J Med* 2006;355(11):1124–1140.
52. Kappos L, Antel J, Comi G, et al. Oral fingolimod (FTY720) in relapsing ms: 24-month results of the phase II study. *Mult Scler* 2006;12:S101.
53. Foster CA, Mechtcheriakova D, Storch MK, Balatoni B, Howard LM, Bornancin F et al. FTY720 rescue therapy in the Dark Agouti rat model of experimental autoimmune encephalomyelitis: expression of central nervous system genes and reversal of blood-brain-barrier damage. *Brain Pathol* 2009;9: 254–266.
54. Balatoni B, Storch MK, Swoboda EM, et al. FTY720 sustains and restores neuronal function in the DA rat model of MOG-induced experimental autoimmune encephalomyelitis. *Brain Res Bull* 2007;74: 307–316.
55. Kimura A, Ohmori T, Ohkawa R, et al. Essential roles of sphingosine 1-phosphate/S1P1 receptor axis in the migration of neural stem cells toward a site of spinal cord injury. *Stem Cells* 2006;25: 115–124.
56. Sorensen SD, Nicole O, Peavy RD, et al. Common signaling pathways link activation of murine PAR-1, LPA, and S1P receptors to proliferation of astrocytes. *Mol Pharmacol* 2003;64: 1199–1209.
57. Wu YP, Mizugishi K, Bektas M, Sandhoff R, Proia RL. Sphingosine kinase 1/S1P receptor signaling axis controls glial proliferation in mice with Sandhoff disease. *Hum Mol Genet* 2008;17: 2257–2264.
58. Gardell S, Choi JW, Anliker B, et al. Evidence for Neural S1P Receptor Signaling in EAE and FTY720 Efficacy. *Mult Scler* 2007;13:S70.
59. Wheeler D, Bandaru VV, Calabresi PA, et al. A defect of sphingolipid metabolism modifies the properties of normal appearing white matter in multiple sclerosis. *Brain* 2008;131(Pt 11):3092–3102.
60. Meno-Tetang GM, Li H, Mis S, et al. Physiologically based pharmacokinetic modeling of FTY720 (2-amino-2[2-(4-octylphenyl)ethyl]propane-1,3-diol hydrochloride) in rats after oral and intravenous doses. *Drug Metab Dispos* 2006;34:1480–1487.
61. Foster CA, Howard LM, Schweitzer A, et al. Brain penetration of the oral immunomodulatory drug FTY720 and its phosphorylation in the central nervous system during experimental autoimmune encephalomyelitis: consequences for mode of action in multiple sclerosis. *J Pharmacol Exp Ther* 2007;323: 469–475.
62. Harada J, Foley M, Moskowitz MA, et al. Sphingosine-1-phosphate induces proliferation and morphological changes of neural progenitor cells. *J Neurochem* 2004;88(4):1026–1039.
63. Deogracias R, Klein C, Matsumoto T, et al. Expression of brain-derived neurotrophic factor is regulated by FTY720 in cultured neurons. *Mult Scler* 2008;14:S243.
64. Giovannoni, G.; Al-Izki, S.; Pryce, G., et al. Control of chronic relapsing progressive EAE with fingolimod. AAN: 60th Annual Meeting of the American Academy of Neurology; Poster; 2008 12–17 April; Chicago, USA. 2008.
65. Kim HJ, Miron VE, Dukala D, et al. Neurobiological effects of sphingosine 1-phosphate receptor modulation in the cuprizone model. *FASEB J*. 2011;25:1509-18
66. Noguchi K, Chun J. Roles for lysophospholipid S1P receptors in multiple sclerosis. *Crit Rev Biochem Mol Biol*. 2011;46:2-10
67. Choi JW, Gardell SE, Herr DR, et al. FTY720 (fingolimod) efficacy in an animal model of multiple sclerosis requires astrocyte sphingosine 1-phosphate receptor 1 (S1P1) modulation. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2011;108:751-6.
68. Rau CR, Hein K, Sättler MB, et al. Anti-inflammatory effects of FTY720 do not prevent neuronal cell loss in a rat model of optic neuritis. *Am J Pathol*. 2011;178:1770-81.
69. Wei Y, Yemisci M, Kim HH, et al. Fingolimod provides long-term protection in rodent models of cerebral ischemia. *Ann Neurol*. 2011;69:119-29.
70. Miron VE, Ludwin SK, Darlington PJ, et al. Fingolimod (FTY720) enhances remyelination following demyelination of organotypic cerebellar slices. *Am J Pathol*. 2010;176:2682-94.
71. Mazurais D, Robert P, Gout B, Berrebi-Bertrand I, Laville MP, Calmels T. Cell type-specific localization of human cardiac S1P receptors. *J Histochem Cytochem* 2002;50: 661–670.
72. Brinkmann V, Baumruker T. Pulmonary and vascular pharmacology of sphingosine 1-phosphate. *Curr Opin Pharmacol* 2006;6(3):244–250.
73. Chun J, Hartung HP. Mechanism of action of oral fingolimod (FTY720) in multiple sclerosis. *Clin Neuropharmacol*. 2010;33:91-101.

Address:

João Cerqueira
 Escola de Ciências da Saúde,
 Campus de Gualtar,
 Universidade do Minho,
 4715-091 BRAGA
 jcerqueira@ecsau.uminho.pt

Eficácia do Fingolimod na Esclerose Múltipla *Fingolimod's efficacy in Multiple Sclerosis*

Lívia M A F Diogo Sousa, Sónia Raquel Marques Batista, Luís Augusto Salgueiro e Cunha
Serviço de Neurologia – Centro Hospitalar e Universitário de Coimbra.

Introdução

O fingolimod é um modulador dos recetores da esfingosina-1-fostato aprovado para a Esclerose Múltipla por Surto-Remissão. Apresenta um novo mecanismo de ação, retendo seletiva e reversivelmente linfócitos nos órgãos linfáticos.

Objetivos

Este artigo sumariza os dados de eficácia do fingolimod no tratamento da Esclerose Múltipla.

Desenvolvimento

Três grandes ensaios de fase III envolveram 3647 doentes, com resultados muito consistentes. Todos os estudos possuíram fases de extensão, estando já publicados resultados a 7 anos. Relativamente ao IFN β -1a, o fingolimod reduziu a taxa anualizada de surtos em 52%, reduziu a progressão da incapacidade medida nas subescalas MSFC, reduziu a atividade da doença avaliada por RM e reduziu a taxa de atrofia cerebral em 40%. Relativamente ao placebo, o fingolimod reduziu a taxa anualizada de surtos em 54%, reduziu a progressão da incapacidade em 37% na escala EDSS confirmada aos 6 meses e na MSFC, e reduziu a atividade da doença avaliada por RM. Reduziu igualmente a taxa de atrofia cerebral em 38%. Da análise de subgrupos de doentes definidos pela indicação do fingolimod na Europa, conclui-se que os doentes não respondedores a IFN- β 1a têm uma redução de 61% da taxa anualizada de surtos. O fingolimod apresenta resultados robustos de redução da taxa de atrofia cerebral nos três grandes estudos e nas extensões dos mesmos. Nestas e a longo termo, continua a verificar-se uma redução sustentada dos surtos, progressão da incapacidade e atividade inflamatória avaliada por RM com um benefício adicional se iniciado precocemente.

Conclusões

Atendendo à eficácia e consistência demonstrada nos vários estudos, incluindo a comparação com o interferão β -1a IM, poderemos afirmar que o fingolimod é uma nova arma terapêutica no combate à Esclerose Múltipla Surto-Remissão. O fingolimod demonstrou benefício em doentes não respondedores às terapêuticas de primeira linha e é superior quando utilizado precocemente.

Palavras-chave: Esclerose múltipla, fingolimod, eficácia, ensaios clínicos.

Cabeçalho: Eficácia do fingolimod na Esclerose Múltipla

Introduction

Fingolimod is an modulator of Sphingosine-1-phosphate receptors approved in Relapsing-Remitting Multiple Sclerosis. This drug has a new mode of action, causing a reversible and selective retention of circulating lymphocytes in the lymph nodes.

Objectives

This paper summarizes the available data on fingolimod efficacy in the treatment of Multiple Sclerosis.

Development

Three big phase III clinical trials randomized 3647 patients, with very consistent efficacy results. Patients were allowed to stay on fingolimod treatment in extension phases of all trials, resulting in a significant amount of long-term treatment data, with 7 year results already published.

Versus IFN β -1a, fingolimod reduced the annualized relapse rate by 52%, reduced the disability progression in all MSFC subscales and reduced disease activity evaluated by MRI. The brain atrophy rate was reduced by 40%. Against placebo, fingolimod reduced the annualized rate by 54%, reduced disability progression with 6-month confirmed EDSS by 37% and on all MSFC subscales. It also reduced disease activity evaluated by MRI and the brain atrophy rate by 38%.

A subgroup analysis of patients corresponding to the European label of fingolimod showed a 61% reduction of the annualized relapse rate in non-responders to IFN- β 1a. Fingolimod shows consistent brain atrophy reduction results across three big clinical trials. In the already published results from fingolimod trial extensions, the annualized relapse rate, disability progression, inflammatory activity and brain atrophy outcomes proved to be consistent and sustained in long term treatment with fingolimod, with an additional benefit with early treatment initiation.

Conclusions

Fingolimod showed consistent efficacy results across all studies, including a comparison with interferon β -1a IM. It is a new therapeutic option for Relapsing-Remitting Multiple Sclerosis patients. Fingolimod has shown high efficacy in patients non-responders to first line treatment, with increased benefit when is initiated early.

Key-words: Multiple sclerosis, fingolimod, efficacy, clinical trials.

Running title: Fingolimod's efficacy in Multiple Sclerosis

Introdução

O fingolimod é um fármaco com propriedades imunomoduladoras¹ de administração oral diária com um mecanismo de ação diferente dos imunossuppressores clássicos. É-lhe atribuído um efeito modulador do recetor da esfingosina-1-fosfato do qual resulta uma diminuição selectiva e reversível da saída dos linfócitos dos gânglios linfáticos. Nos estudos clínicos² demonstrou benefício na redução significativa da taxa de surtos e na atividade da doença medida por Ressonância Magnética (RM).

Desenvolvimento

Dados de Eficácia

O desenvolvimento do fármaco passou por todas as etapas exigidas pelas autoridades reguladoras. Uma vez determinada a sua segurança em estudos pré-clínicos e neste caso também com a experiência prévia na transplantação renal^{3,4} seguiram-se as diferentes fases dos ensaios clínicos. No estudo de fase II, com 281 doentes, o objetivo principal foi a demonstração do efeito do fármaco na atividade da doença medida pelos parâmetros da RM. Após a demonstração daquele benefício, seguiram-se três amplos estudos de fase III com um total de 3647 doentes. No estudo FREEDOMS, o fingolimod nas doses de 0,5 e 1,25mg foi comparado em dupla ocultação com o placebo durante dois anos. No estudo TRANSFORMS o fingolimod, naquelas doses, foi comparado com o Interferão beta 1-a IM semanal em dupla ocultação durante 1 ano. Fez parte do estudo uma fase de extensão, em que os doentes que no primeiro ano tinham estado sob interferão foram randomizados para uma das duas doses de fingolimod, mantendo os restantes as doses de fingolimod que já estavam a efetuar. O estudo FREEDOMS II foi um estudo com o mesmo desenho do FREEDOMS e foi realizado a pedido das autoridades de saúde norte-americanas. O fingolimod tem o maior programa de ensaios clínicos, no momento de submissão às autoridades de saúde, alguma vez feito na Esclerose Múltipla. Em todos os estudos o fingolimod atingiu todos os objetivos primários.

Estudo de fase II⁵

Neste estudo, 281 pacientes com Esclerose Múltipla com surtos foram randomizados em três grupos que receberam fingolimod oral na dose diária de 1,25 ou 5,0 mg ou placebo. Durante o período principal, duplamente cego, com duração de 6 meses foram efetuadas avaliações mensais por RM e clínica. O objetivo primário do estudo, demonstração de benefício nos parâmetros da atividade da doença medidos por RM, foi plenamente atingido veri-

ficando-se uma redução significativa do número total cumulativo por doente, de lesões captantes de contraste em T1 até ao sexto mês ($P < 0,001$ para a dose de 1,25mg e $P = 0,006$ para a dose de 5,0mg). Embora o estudo não tivesse poder (número de doentes e tempo) suficiente para a deteção de efeito clínico, houve uma redução relativa na taxa anual de surtos de 53% no grupo 5,0mg e de 55% no grupo de 1,25mg.

Após o período duplamente cego contra placebo seguiu-se a fase de extensão só com produto ativo, que foi projetada até o produto estar disponível no mercado. Apesar disso em vários centros tem sido dada oportunidade aos doentes para continuarem numa extensão para avaliação da segurança com a dose aprovada de 0,5mg a longo termo e comum aos vários estudos (LONGTERMS). Em Portugal estão a participar no estudo LONGTERMS 58 doentes em 7 centros distribuídos pelo Norte, Centro e Sul do país. Entre o mês 18 e 24 todos os doentes que estavam a tomar a dose de 5,0mg mudaram para a dose 1,25 mg por ser melhor tolerada com eficácia semelhante, e entre os meses 60 e 69 os doentes passaram todos para fingolimod 0,5mg, dose em que se mantém atualmente.

Periodicamente os resultados da extensão têm sido objeto de várias apresentações em reuniões Internacionais⁶⁻⁸. A extensão de 3 anos foi concluída por 69,2% dos doentes, 89,3% dos quais estava sem lesões ativas em T1 e em 75% não havia novas lesões em T2 nas RM. De salientar a muito baixa taxa anual de surtos de 0,2.

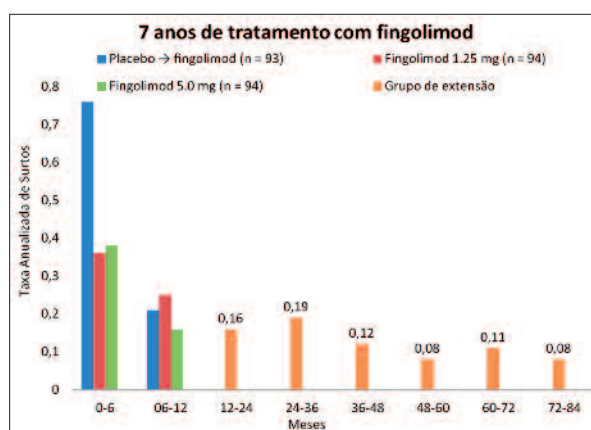


Figura 1. Taxa Anualizada de Surtos com fingolimod no estudo de fase II e sua extensão. Entre os meses 15 e 24 os doentes a fazer fingolimod 5,0mg passaram para fingolimod 1,25mg e entre os meses 60 e 69 os doentes passaram todos para fingolimod 0,5mg, dose em que se mantém atualmente.⁹

Na avaliação dos 7 anos⁹, 122 dos 281 doentes iniciais mantinham-se em tratamento por mais de 7 anos. Nestes, a permanência no tratamento resultou numa baixa a atividade da doença imagiológica avaliada por RM e da clínica,

com uma taxa de anualizada de surtos inferiores a 0,2. A taxa anualizada de surtos foi consistentemente baixa em todos os ensaios clínicos. Cerca de metade dos doentes mantiveram-se livres de surtos desde o início do estudo. Apesar do viés de seleção da amostra, há a salientar o benefício do fármaco a longo termo. (Figura 1)

Estudo FREEDOMS¹⁰

Estudo de fase III, randomizado duplamente cego contra placebo, do efeito de fingolimod em doentes com Esclerose Múltipla forma Surto-Remissão. Um total de 1272 doentes foi randomizado em três braços: fingolimod 0,5mg, 1,25mg ou placebo numa cápsula diária durante 24 meses.

Os doentes com Esclerose Múltipla Surto-Remissão apresentavam idades compreendidas entre os 18 a 65 anos. Fazia parte dos critérios de inclusão apresentarem doença ativa, definida como 1 surto no último ano, ou 2 ou mais surtos nos dois anos anteriores e incapacidade na EDSS de 0 a 5,5. Para 60% dos doentes foi o primeiro imunomodulador que efetuaram. Para além do médico que seguia o doente, um investigador independente, treinado e certificado efetuava as escalas de EDSS e MSFC. Este procedimento é comum a todos os ensaios em Esclerose Múltipla.

A análise final “intention to treat” (ITT), incidiu sobre os 1033 doentes, 81% dos que completaram o estudo. Comparativamente ao grupo placebo que apresentou uma taxa anual de surtos de 0,4, com o fingolimod verificou-se uma taxa anual de surtos de 0,18 (redução de 54%) com a dose de 0,5mg e de 0,16 (redução de 60%) com a dose de 1,25mg. Ambos os resultados foram estatisticamente significativos em relação ao placebo, mas sem diferença entre si. A taxa anualizada de surtos demonstrou ser bastante baixa e consistente no seu valor em todos os estudos. Na progressão da incapacidade aos 24 meses, objetivo secundário do estudo, houve redução significativa do risco relativamente ao placebo para ambas as doses (“hazard ratio” 0,70 e 0,68, $p=0,02$).

Na RM o fingolimod foi também superior ao placebo nas medidas de atividade da doença, outro dos objetivos secundários do estudo. Dentro dos parâmetros avaliados, destacam-se o menor número de lesões captantes de contraste (lesões ativas) nas RM efetuadas aos 6, 12 e 24 meses comparativamente ao grupo de controlo com $P < 0,001$. Aos 24 meses, na ponderação T2, houve também nos grupos com tratamento ativo menor aumento do número de novas lesões ou aumento das dimensões das lesões já existentes (número médio 2,5 para as doses de 0,5 e 1,25mg e 9,8 para o placebo; $p < 0,001$).

Dos 1033 doentes que chegaram até ao final dos 2 anos do estudo FREEDOMS, 90% completaram 3 anos de exten-

são e 45% completaram 4 anos antes de passarem para o estudo já referido LONGTERMS. Os resultados desta extensão foram apresentados na AAN de 2012¹¹. Os doentes que estiveram em placebo e mudaram para fingolimod apresentaram uma redução da taxa anual de surtos de 55% (0,29 vs. 0,13 $p < 0,001$). Dos doentes que de forma continuada e desde o início foram tratados com fingolimod, 59% mantiveram-se sem surtos vs. 37% dos que estiveram em placebo e mudaram. Também 74% vs 66%, res-

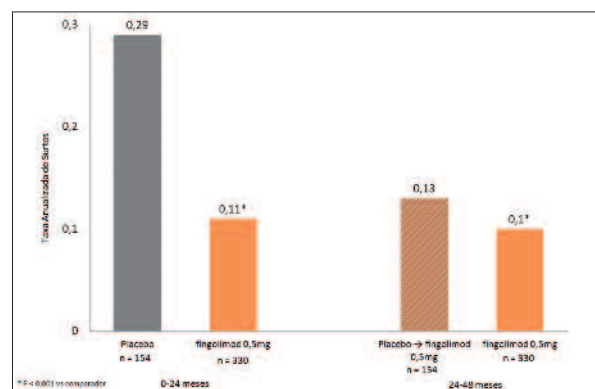


Figura 2. Extensão do estudo FREEDOMS até aos 4 anos. Os resultados são consistentes com os observados na extensão do estudo de fase II

pectivamente, não progrediram da incapacidade medida aos 3 meses. (Figura 2)

Na RM também se notou efeito favorável, particularmente na redução da taxa de atrofia cerebral ente os dois grupos de doentes (-1,67% vs -2,24%; $p=0,001$). No estudo principal, aos 2 anos, a redução com fingolimod vs placebo foi de 38%¹⁰.

Estudo TRANSFORMS¹³

Ensaio clínico de fase III, comparativo do fingolimod, nas doses de 0,5mg e 1,25mg por dia, com Interferão β -1a (IFN- β 1a) na dose de 30 μ g IM/semana (Avonex[®]). Neste estudo, que teve a duração de 12 meses, foram incluídos 1292 doentes com Esclerose Múltipla forma Surto-Remissão. Completaram o estudo 1153 doentes e destes 57% tinham sido previamente tratados com outros imunomoduladores.

No período de 12 meses de tratamento e comparativamente ao IFN- β 1a com uma taxa anual de surtos de (0,33), observou-se para o fingolimod uma redução de 52% (0,16) com a dose 0,5mg e de 38% (0,20) com a dose de 1,25mg, estatisticamente significativa ($p < 0,001$), sem diferença estatisticamente significativa entre ambas as doses. Permaneceram livre de surtos 80 e 83% dos doentes respetivamente nas doses de 0,5 e 1,25mg e 69% dos doentes no grupo do IFN β -1a ($p < 0,001$). A proporção de doentes com progressão da incapacidade confirmada aos 3 meses foi baixa e semelhante em todos os grupos (de 6 a 8%). Na RM aos 12 meses com fingolimod, em ambas as doses, houve

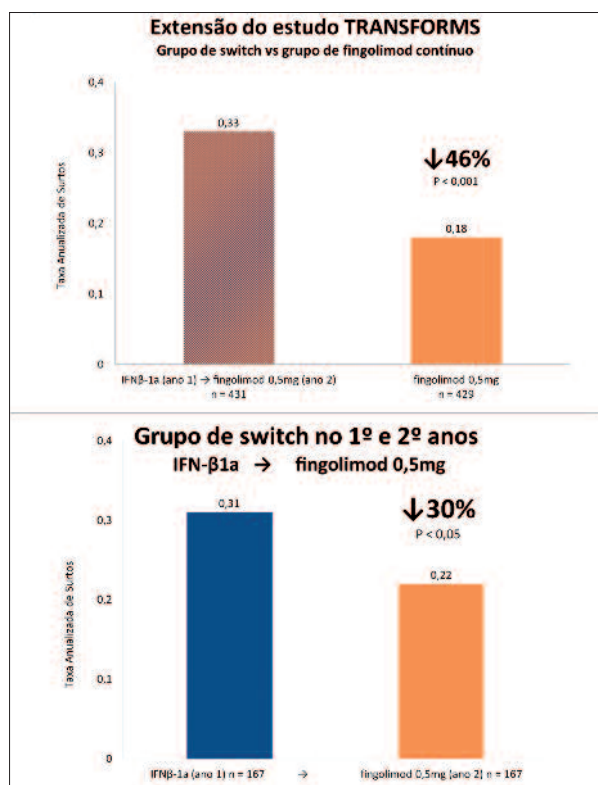


Figura 3. Os doentes que fizeram continuamente fingolimod, tiveram uma redução da Taxa Anualizada de Surto de 46%, relativamente aos doentes que fizeram IFN-β1a no 1º ano e fingolimod no 2ºano. Neste grupo de switch, houve uma redução de 30% da Taxa Anualizada de Surto, no ano em que fizeram fingolimod.

Resultado	FREEDOMS (2 ANOS) Fingolimod 0,5 mg	TRANSFORMS (1 ANO) Fingolimod 0,5 mg
Taxa Anualizada de Surto	↓ 54%***	↓ 52%***
Taxa Anualizada de Surto em doentes Não respondedores a IFN β	↓ 61%	↓ 71%* e 62% ^b
Tempo para primeiro surto (HR)	↑ 52%***	↑ 48%***
Doentes livres de surto	↑ 49%***	↑ 18%***
Progressão da Incapacidade confirmada aos 3 meses (HR)	↓ 30%*	↓ 29%
Progressão da Incapacidade confirmada aos 6 meses (HR)	↓ 37%**	-
Diferença média na escala MSFC (z-score)	↑ 0.09*	↑ 0.07*
Número de lesões T2	↓ 74%***	↓ 35%**
Número de lesões T1 Gd+	↓ 82%***	↓ 55%***
Perda de volume cerebral (atrofia)	↓ 38%***	↓ 40%***

Tabela I. Os estudos TRANSFORMS e FREEDOMS demonstraram uma eficácia consistente do fingolimod em parâmetros clínicos e imagiológicos. *p≤0.05; **p≤0.01; ***p≤0.001; HR, hazard ratio; MSFC, Multiple Sclerosis functional composite

- a- Doentes que apesar do tratamento com IFN β, tiveram no ano imediatamente anterior ao início do estudo um número de surtos igual ou superior 2 anos antes do início do estudo
- b- Doentes que apesar do tratamento com IFN β, tiveram no ano imediatamente anterior ao início do estudo pelo menos 1 surto e ou 1 lesão nova em T1 Gd+ ou 9 lesões T2^{11,13,17}

menos lesões novas ou aumentadas em T2 do que no grupo do IFN β-1a (número médio de lesões 1,7 para a dose 0,5 mg; 1,5 para a dose 1,25 mg; 2,6 para o IFN β-1a (p = 0.004 e p <0.001, respetivamente 0,5mg e 1,25mg). Os doentes tratados com o fingolimod apresentaram ainda menor número de lesões captantes de contraste em T1 e o número de doentes com RM sem sinais de actividade foi superior. De igual forma, foi menor a redução de volume

cerebral (atrofia) no braço do Fingolimod (p <0,01). No final dos 12 meses da fase central do estudo, 1027 doentes entraram na fase de extensão e 882 completaram 24 meses de estudo¹⁴. Os 341 doentes que estavam sob IFN β-1a foram randomizados em dois braços recebendo fingolimod na dose de 0,5mg (167) ou 1,25mg (174). Os restantes 886 doentes mantiveram-se nas doses com que estavam na fase principal. Para estes doentes que receberam continuamente o fingolimod, o benefício foi mantido. Na dose de 0,5mg (356) a taxa anual de surtos que tinha sido de 0,12 no primeiro ano, foi de 0,11 no segundo ano; para a dose 1,25mg (330) a taxa de surtos foi respetivamente de 0,15 e 0,11. Nos doentes que mudaram de interferão para fingolimod 0,5mg, a taxa anual de surtos baixou 29% (0,31 para 0,22, p= 0,049); com a dose de 1,25mg houve uma redução de 37.9% (0,29 para 0,18, p=0,024). Os estudos por RM mostraram também de uma forma clara uma redução do número de lesões captantes em T1 (dose 0,5mg p=0,02), (dose 1,25mg, p=0,011) e do número e/ou aumento do volume das lesões em T2 (p <0,001), para ambas as doses.

Apesar do benefício na redução da taxa anual de surtos ao 2º ano para os doentes que mudaram de interferão para fingolimod, este foi significativamente inferior em comparação com os doentes que iniciaram o fingolimod desde o início para ambas as doses (p <0,0001). (Figura 3)

Estudo FREEDOMS II¹²

Estudo de fase III, randomizado duplamente cego contra placebo, do efeito de fingolimod em doentes com Esclerose Múltipla forma Surto-Remissão. Foi um estudo com o mesmo desenho do FREEDOMS para o qual foram randomizados 1083 doentes, dos quais 95% foram recrutados nos Estados Unidos da América e 75% já tinham feito outros tratamentos para a Esclerose múltipla. Os resultados deste estudo vieram reforçar os dados de eficácia já fornecidos pelos estudos FREEDOMS e TRANSFORMS.

Aprovação pela FDA, EMA e NICE

Após a conclusão dos dois ensaios nucleares de fase III, TRANSFORMS e FREEDOMS, foi decidido pelo grupo técnico que liderou estes estudos submeter às autoridades regulamentares o pedido para autorização de comercialização do fingolimod na dose oral de 0,5mg/dia, dose que aliou a eficácia ao melhor perfil de efeitos adversos.

Em 2010 a FDA¹⁵ aprovou o fármaco naquela dose para terapêutica de primeira linha para a EM Surto-Remissão. Por sua vez em 2011 a EMA¹⁶ aprova a mesma dose para terapêutica de 2ª linha. Esta indicação resultou de uma avaliação efectuada pelo Committee for Medicinal Products for Human use (CHMP) dos benefício/riscos ine-

rentes á utilização do fármaco. Esta por sua vez é consubstanciada por análises de subgrupo dos ensaios apresentadas em reuniões Internacionais^{17,18}. Já durante o corrente ano o NICE também deu um parecer favorável á utilização do fármaco neste mesmo subgrupo de doentes¹⁹.

Conclusões

Atendendo à eficácia e consistência demonstrada nos vários estudos, incluindo a comparação com o interferão β -1a IM, poderemos afirmar que o fingolimod é uma nova arma terapêutica no combate à Esclerose Múltipla Surto-Remissão. O fingolimod demonstrou benefício em doentes não respondedores às terapêuticas de primeira linha e é superior quando utilizado precocemente. ■

Referências

1. Brinkmann V, Davis MD, Heise CE, et al. The immune modulator FTY720 targets sphingosine 1-phosphate receptors. *The Journal of biological chemistry* 2002 Jun;277(24):21453-7.
2. Mansoor M, Melendez AJ. Recent trials for FTY720 (fingolimod): a new generation of immunomodulators structurally similar to sphingosine. *Reviews on recent clinical trials* 2008 Jan;3(1):62-9.
3. Webb M, Tham C-S, Lin F-F, et al. Sphingosine 1-phosphate receptor agonists attenuate relapsing-remitting experimental autoimmune encephalitis in SJL mice. *Journal of neuroimmunology* 2004 Aug;153(1-2):108-21.
4. Salvadori M, Budde K, Charpentier B, et al. FTY720 versus MMF with cyclosporine in de novo renal transplantation: a 1-year, randomized controlled trial in Europe and Australasia. *Am J Transplant*. 2006 Dec; 6(12):2912-21.
5. Kappos L, Antel J, Comi G, et al. Oral fingolimod (FTY720) for relapsing multiple sclerosis. *The New England journal of medicine* 2006 Sep;355(11):1124-40.
6. O'Connor P, Comi G, Montalban X, et al. Oral fingolimod (FTY720) in multiple sclerosis: two-year results of a phase II extension study. *Neurology* 2009 Jan;72(1):73-9.
7. Comi G, O'Connor P, Montalban X, et al. Phase II study of oral fingolimod (FTY720) in multiple sclerosis: 3-year results. *Multiple sclerosis* 2010 Feb;16(2):197-207.
8. Montalban X, Connor PO, Antel J, et al. Oral fingolimod (FTY720) shows sustained low rates of clinical and MRI disease activity in patients with relapsing multiple sclerosis: 4-year results from a phase II extension. *AAN* 2009;Seattle(April):P06.128.
9. Antel J, Montalban X, Connor PO, et al. Long-Term (7-Year) Data from a Phase 2 Extension Study of Fingolimod in Relapsing Multiple Sclerosis. *Neurology* 2012;78(Meeting Abstracts 1):P01.129.
10. Kappos L, Radue E-W, O'Connor P, et al. A placebo-controlled trial of oral fingolimod in relapsing multiple sclerosis. *The New England journal of medicine* 2010 Feb;362(5):387-401.
11. Kappos L. Long-term Efficacy and Safety of Fingolimod (FTY720) in Relapsing-Remitting Multiple Sclerosis (RRMS): Results from the Extension of the Phase III FREEDOMS Study. *AAN* 2012;New Orleans(April):Abstract.
12. Calabresi PA, Radue E, Goodin D, et al. Efficacy and safety of fingolimod in patients with relapsing-remitting multiple sclerosis (RRMS): Results from an additional 24-month double-blind, placebo-controlled study (FREEDOMS II Study). *AAN* 2012;
13. Cohen JA, Barkhof F, Comi G, et al. Oral fingolimod or intramuscular interferon for relapsing multiple sclerosis. *The New England journal of medicine* 2010 Feb;362(5):402-15.
14. Khatri B, Barkhof F, Comi G, et al. Comparison of fingolimod with interferon beta-1a in relapsing-remitting multiple sclerosis: a randomized extension of the TRANSFORMS study. *Lancet neurology* 2011 Jun;10(6):520-9.
15. FDA approves the first oral drug for reducing multiple sclerosis relapses. *Harvard women's health watch* 2010;18(4):5.
16. EMA. Gilenya fingolimod - Summary of opinion (initial authorization) [Internet]. Committee for medicinal products for human use (CHMP) 2011;(January):EMA/26661/2011.
17. Havrdová E, Kappos L, Cohen JA, et al. Clinical and magnetic resonance imaging outcomes in subgroups of patients with highly active relapsing-remitting multiple sclerosis treated with fingolimod (FTY720): results from the FREEDOMS and TRANSFORMS phase 3 studies. Poster presented at ECTRIMS 2011;Amsterdam(October):P473.
18. Devonshire V, Havrdova E, Radue EW, et al. Relapse and disability outcomes in patients with multiple sclerosis treated with fingolimod: subgroup analyses of the double-blind, randomised, placebo-controlled FREEDOMS study. *Lancet neurology* 2012 May;11(5):420-8.
19. NICE. Fingolimod for highly active relapsing – remitting multiple sclerosis NICE technology appraisal guidance 254 2012;(April) Available from: www.nice.org.uk/guidance/TA254

Correspondência:

Lívia M A F Diogo Sousa
 Departamento de Neurologia
 Centro Hospitalar e Universitário de Coimbra
 Praceta Prof. Mota Pinto
 3000-075 COIMBRA, Portugal
livadiogousou@gmail.com

Segurança e Protocolo de Monitorização do Tratamento com Fingolimod *Safety Data and Monitoring Guidelines for Fingolimod Treatment*

Rita Moiron Simões, Paulo Alegria, José Vale
Serviço de Neurologia, Hospital Beatriz Ângelo, Loures

Introdução

O fingolimod, imunossupressor seletivo, foi recentemente aprovado pela Agência Europeia do Medicamento para o tratamento de formas muito ativas de esclerose múltipla tipo surto-remissão. Estudos clínicos avaliaram a segurança e a tolerabilidade do fármaco, estando disponíveis dados em 10,000 indivíduos e 16,500 doentes-ano de exposição.

Objetivos

Revisão dos resultados de segurança do fingolimod e proposta de protocolo de monitorização do tratamento com este fármaco.

Desenvolvimento

Os eventos adversos mais frequentes do fingolimod são linfopenia, alteração dos testes hepáticos e efeitos cardiovasculares. A linfopenia é explicada por mecanismos farmacodinâmicos e valores $<200/\mu\text{L}$ são frequentes, obrigando à suspensão transitória da medicação. As alterações hepáticas ocorrem no início da medicação e exigem vigilância, resolvendo espontaneamente na maioria dos casos, sem necessidade de intervenção. Os efeitos cardiovasculares incluem bradicardia transitória e frequentemente assintomática, ligeiro aumento da pressão arterial em 1/3 mmHg estável no tempo e ligeiro prolongamento persistente do intervalo QT. Alterações eletrocardiográficas, como bloqueios auriculoventriculares, podem ocorrer no início da terapêutica, mas são geralmente transitórias. O edema da mácula teve uma incidência de 0.4% aos 3-4 meses de tratamento, sendo reversível na maioria dos casos após suspensão do fármaco. Houve maior frequência de infeções respiratórias e infeções herpéticas graves. Não houve frequência superior à esperada de neoplasias, mas o risco mutagénico não está estabelecido, uma vez que pode ser um efeito tardio do fármaco. Teratogenicidade demonstrada em modelos animais obriga a contraceção eficaz durante o tratamento. O potencial para interações farmacocinéticas é baixo, mas interações farmacodinâmicas, sobretudo com antiarrítmicos, poderão ser potencialmente graves.

Conclusões

O fingolimod é relativamente seguro, mas exige cuidados específicos de monitorização clínica, para minimizar riscos identificados, e planos de farmacovigilância focados em áreas de incerteza que só serão clarificadas com a exposição de longo termo numa população não selecionada.

Palavras-chave: fingolimod, segurança, imunossupressão, esclerose múltipla, ensaios clínicos

Título de cabeçalho: Segurança do tratamento com fingolimod

Background

Fingolimod, a selective immunosuppressor, was recently approved by the European Medicines Agency for the treatment of highly active forms of recurrent-relapsing multiple sclerosis. Clinical studies have evaluated the safety and the tolerability of fingolimod. Till date, there is data available for 10,000 patients and 16,500 patient-years of exposure.

Aims

Review of safety data on fingolimod and proposal of monitoring guidelines for patients treated with this medication.

Review

The most frequent adverse events of fingolimod are lymphopenia, liver toxicity and cardiovascular effects. Lymphopenia is explained by pharmacodynamic mechanisms and values $<200/\mu\text{L}$ are frequent, prompting transitory treatment suspension. Change in liver tests occur at the beginning of treatment and require vigilance, mostly resolving spontaneously without intervention. Cardiovascular effects include transitory bradycardia usually asymptomatic, a small increase of 1/3 mmHg in arterial blood pressure and a modest but persistent QT prolongation. Electrocardiographic abnormalities, such as AV blocks, may occur after the first dose, but are usually transient. Macular edema had an incidence of 0.4% at 3-4 months of treatment, and was usually reversible after treatment interruption. There was a higher incidence of respiratory and severe herpetic infections. The incidence of malignancies was not superior to the expected in general population, but the mutagenic risk is not established as it may be a late effect of medication. Teratogenicity, which was found in animal models, enforces the need for adequate contraception during treatment. There is a low risk for pharmacokinetic interactions, but pharmacodynamic interactions, mainly with antiarrhythmics, are potentially dangerous.

Conclusions

Fingolimod is a relatively safe medication. It requires specific care in clinical monitoring in order to minimize known risks and needs pharmacosurveillance plans focused in uncertain risks that will be clarified only after longterm exposure of a non-selected population.

Keywords: fingolimod, safety, immunosuppression, multiple sclerosis, clinical trials

Running title: Safety of fingolimod treatment

Introdução

O fingolimod é o primeiro fármaco oral e o mais recentemente aprovado pela Agência Europeia do Medicamento (EMA) para o tratamento em monoterapia de formas muito ativas de esclerose múltipla tipo surto-remissão.

É um fármaco modulador dos recetores da esfingosina-1-fosfato (S1P), localizados nos linfócitos B e linfócitos T *náïve* e de memória central, os quais necessitam da ativação dos recetores S1P1 para emigrarem dos órgãos linfóides periféricos¹. Sendo o fingolimod um potente agonista destes recetores, vai induzir a sua internalização e consequente diminuição da expressão, levando à sequestração dos linfócitos nos gânglios linfáticos e placas de Peyer, diminuindo assim a migração de linfócitos 'auto-agressivos' para o SNC. Por não afetar os linfócitos T de memória efetora, não interfere com o papel que estes desempenham na vigilância imunitária. Os recetores S1P são também expressos nas células da glia, nos neurónios, nos miócitos cardíacos, nos miócitos das vias aéreas, nas células endoteliais e nos neutrófilos, acreditando-se que parte do efeito terapêutico do fármaco possa resultar também da sua ação nos astrócitos².

O fingolimod é classificado como imunossupressor seletivo pela EMA (código ATC: L04AA27). Atendendo ao efeito imunossupressor e à sua ação em várias populações celulares, os aspetos de segurança do fármaco têm merecido uma extensa avaliação.

Neste artigo pretende-se fazer uma revisão dos resultados de segurança do fingolimod e propor um protocolo clínico de acompanhamento dos doentes em tratamento com este fármaco.

Metodologia

Numa primeira parte serão revistas as reações adversas documentadas nos principais ensaios clínicos aleatorizados e em dupla-ocultação (um ensaio de fase II³, dois ensaios de fase III^{4,5}) e em estudos de segurança em fase aberta disponíveis no *EU Safety Risk Management Plan*⁶.

Até Fevereiro de 2012, contabilizavam-se cerca de 10,000 indivíduos com esclerose múltipla expostos ao fingolimod, com 16,500 doentes-ano de exposição, 2868 doentes com exposição superior a 1 ano e 130 doentes com 6 anos de tratamento⁶.

Na segunda parte do artigo, a vigilância clínica dos achados previamente descritos é enquadrada num protocolo de monitorização adaptado à realidade da prática clínica, que pretende tornar-se num instrumento útil para ajudar a prevenir, diagnosticar precocemente e tratar efeitos adversos conhecidos.

Resultados de segurança

Perfil global de segurança do fingolimod

Os estudos FREEDOMS⁴ e TRANSFORMS⁵, ensaios clínicos multicêntricos de fase III, estabeleceram a eficácia do fingolimod na esclerose múltipla ao demonstrarem a superioridade deste fármaco no controlo de vários parâmetros clínicos e imagiológicos da doença por comparação, respetivamente, com placebo e com imunomodulador com eficácia demonstrada (interferão β 1a IM). Os mesmos ensaios clínicos tiveram como objetivos secundários a avaliação da segurança e da tolerabilidade do fármaco.

Da revisão dos ensaios clínicos de fase II e III, verificou-se que a frequência de eventos adversos e eventos adversos graves foi semelhante nos grupos de placebo e nas duas dosagens de fingolimod (dose de 0.5 mg, atualmente comercializada, e dose de 1.25 mg). A frequência de efeitos adversos em geral foi de cerca de 90% nos três grupos e a frequência de efeitos adversos graves variou entre 9.4% no grupo com fingolimod na dose de 0.5 mg e 13.4% no grupo placebo^{4,5}. Os efeitos adversos que demonstraram uma frequência diferente entre os braços do estudo (RR > 1 com IC 95%) foram, no estudo FREEDOMS, um maior incidência no grupo fingolimod em comparação ao placebo de alteração das provas hepáticas, leucopenia e linfopenia, crises de enxaqueca, infeções (*tinea versicolor* e bronquite), dispneia, alteração da visão tipo visão turva, hipertensão arterial, diarreia e lombalgia⁴ (figura 1). No

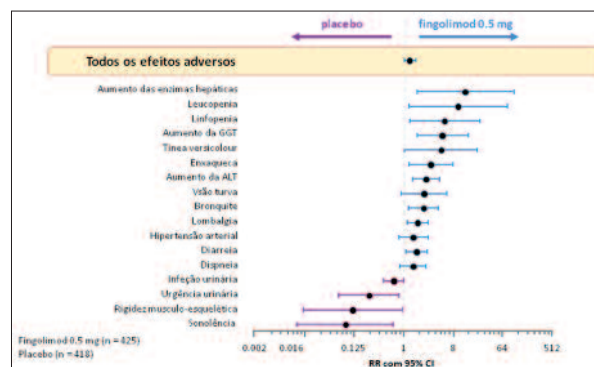


Figura 1. Efeitos adversos documentados no estudo FREEDOMS⁴.

estudo TRANSFORMS, o fingolimod demonstrou maior risco de alterações hepáticas, hipertensão arterial e bronquite do que o IFN β 1a, poupando os doentes das reações cutâneas tóxicas decorrentes da forma de administração e da sintomatologia sistémica do IFN⁵ (figura 2).

Ocorreram 2 mortes no grupo placebo (total de 418 doentes)⁴ e 5 mortes no grupo com fingolimod (total de 2478 doentes), exclusivamente no grupo com dose de 1.25 mg³⁻⁵. As mortes no grupo do fingolimod incluíram dois casos de infeção por vírus herpes (encefalite herpética pelo

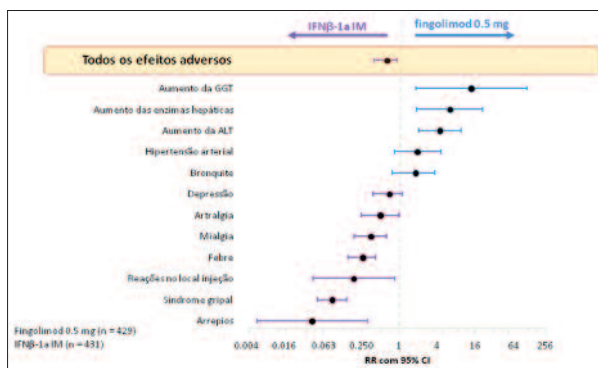


Figura 2. Efeitos adversos documentados no estudo TRANSFORMS⁵.

vírus herpes simples tipo 1, herpes *zoster* disseminado)⁵, um acidente de viação³, um caso de encefalomielite aguda disseminada³, depressão e suicídio^{4,5}. Houve duas mortes adicionais após a finalização do ensaio TRANSFORMS no grupo de doentes que tinham feito a dose de 1.25 mg, e cujas causas foram: esclerose múltipla com deterioração progressiva apesar de tratamento (motivo pelo qual este foi suspenso) e carcinoma do ovário estágio IV⁵.

Alterações laboratoriais

Os parâmetros analíticos mais frequentemente alterados nos doentes tratados com fingolimod foram o leucograma e os testes hepáticos.

Verificou-se uma diminuição da contagem de linfócitos no sangue periférico para 75% do valor inicial às 4-6 horas após a primeira toma de fingolimod 0.5 mg. Com a continuação do tratamento, a contagem de linfócitos foi diminuindo durante duas semanas até atingir um valor mínimo correspondente a 30% do valor inicial (cerca de 500/ μ L). Este valor mínimo manteve-se com a administração crónica⁶. Dezoito por cento dos doentes tiveram, em pelo menos uma determinação, uma contagem mínima inferior a 200/ μ L que obrigou a suspender a medicação até a contagem linfocitária normalizar. Na maioria dos doentes a reconstituição linfocitária periférica após descontinuação do fármaco ocorreu em 2-4 semanas⁷.

A exposição crónica ao fingolimod diminuiu também a contagem de neutrófilos para cerca de 80% do valor inicial, não afetando as outras populações leucocitárias.

Houve alteração das provas hepáticas (GGT, bilirrubina e ALT) com valores superiores a três vezes o limite superior do normal (LSN) em 8.0-11.7% dos doentes sob fingolimod parecendo este efeito ser dose-dependente. Nos ensaios aleatorizados, verificou-se uma tendência para o aumento da ALT até ao sexto mês de tratamento, estabilizando a partir de então⁶. Valores mais elevados (\geq 5 vezes o LSN), que condicionaram descontinuação do fármaco,

ocorreram em 1.5% dos doentes com dose mais baixa de fingolimod e em 2.6 % de doentes com dose superior. Aumentos superiores a \geq 10 vezes o LSN foram raros (0.2-0.3%). A maioria destas alterações ocorreu nos primeiros 3-4 meses de tratamento e normalizou 2 meses após descontinuação da terapêutica. Considerando os estudos de segurança, foram documentados três casos preenchendo critérios bioquímicos da lei de Hy (esta lei prediz mortalidade de 10-50% por hepatotoxicidade se aumento de AST ou de ALT $>$ 3 vezes o LSN + aumento da bilirrubina total $>$ 2 vezes o LSN sem outros parâmetros de colestase + ausência de outra explicação)⁸: dois desses casos estavam sob 1.25 mg de fingolimod e um caso sob 0.5 mg de fingolimod. Dois destes tinham o diagnóstico de síndrome de Gilbert e as alterações neles detetadas foram assintomáticas e reversíveis. O outro caso foi posteriormente diagnosticado com hepatite aguda pelo vírus da hepatite E⁶. Nestes casos foi encontrada explicação alternativa para a alteração bioquímica, pelo que deixaram de cumprir os critérios da lei de Hy.

Infeções

Considerando o efeito directo do fingolimod em alguns componentes do sistema imunitário, o eventual risco de infeções tem sido amplamente avaliado e discutido. Como atrás referido, os linfócitos T de memória efetora não são, contudo afetados pelo fingolimod e permanecem na circulação periférica, mantendo a vigilância imunológica. Este aspeto poderá justificar o facto da frequência de infeções (63.9-72.0%) e de infeções graves (2.5-3.4%) não ter sido superior nos doentes com fingolimod em relação aos doentes com placebo⁹.

No entanto, quando analisados os subtipos de infeção, verificou-se uma maior frequência de infeções respiratórias baixas (bronquite e pneumonia) nos doentes com medicação ativa (6.0% vs. 8.5 - 10.0%), sobretudo no grupo com maior dose de fingolimod. Não foi demonstrada correlação com a contagem linfocitária⁶.

As infeções herpéticas tiveram frequência semelhante nos diferentes grupos, mas infeções herpéticas graves ocorreram exclusivamente nos doentes tratados com fingolimod (0.3-0.6%). As infeções pelo vírus *varicella-zoster* foram mais frequentes em doentes tratados com fingolimod, sobretudo com doses mais elevadas (1% no grupo placebo vs. 1.9% no grupo sob 0.5 mg de fingolimod vs. 2.5% no grupo sob 1.25 mg de fingolimod).

Houve dois casos fatais de infeção herpética disseminada em doentes com dose 1.25 mg de fingolimod: um caso de encefalite herpética pelo vírus herpes simples tipo

1 e um caso de infeção disseminada pelo vírus *varicella-zoster* em doente sem imunidade prévia e concomitantemente medicado com metilprednisolona. Um caso de varicela com envolvimento cutâneo e pulmonar recuperou totalmente^{5,6}.

Considerando as extensões dos ensaios clínicos principais, as infeções graves mais frequentemente documentadas foram: a) apendicite - 11 casos [cinco (0.3%) no grupo fingolimod 0.5 mg, cinco (0.3%) no grupo fingolimod 1.25 mg e um (0.7%) no grupo fingolimod 5 mg] e b) infeções a herpes zoster - nove casos [dois (0.1%) no grupo fingolimod 0.5 mg, seis (0.3%) no grupo fingolimod 1.25 mg e um (0.7%) no grupo com fingolimod 5 mg]⁶.

Dados após comercialização revelaram a notificação de 362 eventos graves até Fevereiro de 2012, dos quais três resultaram em morte (dados sobre etiologia não disponíveis)⁶.

Nos ensaios clínicos e nos estudos abertos subsequentes não foi documentado nenhum caso de leucoencefalopatia multifocal progressiva (LEMP). Após comercialização, foi notificado o primeiro caso de LEMP num doente previamente tratado com natalizumab durante 3.5 anos, que iniciou fingolimod 6 semanas após a última infusão de natalizumab⁶. À luz dos conhecimentos actuais, a LEMP não seria um efeito adverso esperável do fingolimod uma vez que, estando os linfócitos T de memória em circulação, se esperaria que controlassem a reativação de uma infeção latente pelo vírus JC.

Reações adversas cardiovasculares

O fingolimod tem um efeito cronotrópico negativo por ativação de canais de potássio através dos recetores S1P1 nos miócitos auriculares, o que conduz à hiperpolarização das membranas e reduz a excitabilidade celular¹⁰. Modula também a reatividade vascular, por aumento do influxo intracelular de cálcio e por ativação da sintase de óxido nítrico endotelial¹⁰.

A monitorização cardíaca nos ensaios clínicos permitiu concluir que o efeito cronotrópico negativo do fingolimod é dose-dependente e mais evidente nas 6 horas após a toma da primeira dose, com valor mínimo de frequência cardíaca às 5 horas. Este feito condicionou bradicardia sintomática em 0.6% dos doentes sob fingolimod 0.5 mg (vs. 2.7% na dose de 1.25 mg). Os valores de frequência cardíaca em repouso retomaram e persistiram no valor basal com tratamento crónico ao fim de 1 mês⁶.

Nestas primeiras 6 horas após início da medicação foram registadas alterações ECG em < 5% dos doentes com dose de 0.5 mg de fingolimod, que incluíram bloqueios auriculoventriculares (BAV) de 1º e de 2º grau tipo

Wenckebach [6]. Foi documentado um único caso de BAV de 3º grau, transitório, após a toma de 1.25 mg de fingolimod⁶. Estas mesmas alterações já não foram evidentes em registos um mês depois. Existiu um aumento das extrassístoles auriculares, mas não se demonstrou aumento de outras disritmias auriculares, ventriculares ou ectópicas. O efeito bradicardizante do fingolimod é revertido pela atropina e pelos agonistas beta.

Nos ensaios aleatorizados de fase II e III, verificou-se nos doentes cronicamente expostos um prolongamento do QT em 30-60 mseg, mas foram raros os casos de intervalos QTc > 450 mseg (nos homens) ou > 470 mseg (nas mulheres)⁶. Este efeito parece ser indireto e resultante de um aumento compensatório do tono adrenérgico secundário à diminuição da frequência cardíaca. Não parece haver aumento do risco de arritmias ventriculares.

O fingolimod também não afetou a resposta autonómica cardíaca, nomeadamente a variação circadiana da frequência cardíaca ou a resposta ao esforço.

Após comercialização, foram notificados, até Outubro de 2011, 620 casos de bradidisritmias, a maioria no primeiro dia da toma de medicação e cerca de metade classificados como graves, incluindo 1 caso de assistolia com duração de 7.5 segundos. Em dois casos havia potencial interação com metoprolol. Houve ainda notificação de uma morte súbita de causa desconhecida nas primeiras 24 horas após início do tratamento, num doente com HTA e medicado com metoprolol, amlodipina e temazepam e cuja relação de causalidade com o fármaco não está esclarecida⁶. Estas notificações conduziram à reformulação das recomendações de monitorização cardíaca no início da terapêutica pela EMA (Abril de 2012, www.ema.europa.eu/).

Verificou-se ainda, nos ensaios clínicos randomizados e nos estudos de segurança, que houve aumento da pressão arterial em 8.8% dos doentes medicados com fingolimod 0.5 mg, em média de 3 mm Hg na pressão arterial sistólica e de 1 mm Hg na pressão arterial diastólica, aumento este mais evidente e persistente a partir dos 2 meses de tratamento^{4,6}. Este efeito também foi dose-dependente. Após comercialização, e até Fevereiro de 2012, foram reportados mais 281 casos de hipertensão arterial, dos quais 147 considerados graves. Houve cinco casos fatais (AVC, dois casos de pneumonia, tromboembolismo pulmonar, tamponamento cardíaco) nos quais foi notificado pelo menos um episódio de hipertensão arterial⁶.

Foram ainda reportados três casos de leucoencefalopatia posterior reversível em doentes com esclerose múltipla tratados com fingolimod: um num doente tratado com fingolimod 5 mg no ensaio de fase II e dois casos após comercialização, todos parcialmente reversíveis com a

descontinuação da terapêutica⁶. A leucoencefalopatia posterior reversível está descrita com fármacos que induzem disfunção endotelial, tendo sido sugerido que o efeito nas células endoteliais induzido pelo fingolimod pode estar na gênese desta alteração¹¹.

Reações adversas respiratórias

Estudos pré-clínicos evidenciaram um efeito constritor direto da S1P no músculo liso das vias aéreas. A ocorrência de possíveis efeitos respiratórios foi rigorosamente avaliada nos ensaios clínicos, com recurso a espirometria, resposta a broncodilatadores e capacidade de difusão de monóxido de carbono (DLCO). Verificaram-se efeitos dose-dependentes, que ocorrem ao longo do primeiro mês, estabilizando ao fim desse período, reversíveis após suspensão do tratamento, e que são a diminuição de débito expiratório forçado (FEV1) e da DLCO⁶. Nos ensaios de fase III, aos 2 anos de tratamento mantinha-se diminuição do FEV1 de 3.1% relativamente aos valores iniciais nos doentes com fingolimod 0,5 mg e de 2.0% nos doentes com placebo, redução esta que não foi clinicamente significativa, permanecendo o valor de FEV1 dentro dos valores de referência considerados normais. A DLCO também persistiu diminuída em 3.8% nos doentes sob fingolimod 0.5 mg e em 2.7% nos doentes em placebo, ao 24º mês de tratamento⁶. Assim, o fingolimod parece induzir um ligeiro aumento da resistência das vias aéreas no início da terapêutica, reversível e sem implicações clínicas. O fingolimod foi administrado a dez doentes com asma moderada, não se tendo documentado efeitos adversos⁶.

Reações adversas oftalmológicas

A ocorrência de edema macular em ensaios prévios com fingolimod em transplantados renais levou a monitorização oftalmológica rigorosa nos ensaios clínicos posteriores¹².

A função da barreira hematorretiniana é regulada por recetores S1P1 e S1P3. Os recetores S1P1 são responsáveis por aumentar as *adherent junctions* enquanto os recetores S1P3 diminuem as *tight junctions*. Apesar da afinidade do fingolimod ser cerca de 10 vezes superior para os recetores S1P1, a diminuição das *tight junctions* pela modulação dos recetores S1P3 pode ser crítica na gênese de edema macular, sobretudo se existir lesão prévia¹⁰.

O edema macular foi documentado em 22 dos doentes com esclerose múltipla com tratamento ativo nos ensaios de fingolimod: 17 nos doentes tratados com dose de 1.25 mg (1.1%) e 5 nos doentes tratados com dose de 0.5 mg

(0.4%), o que corresponde a um risco seis vezes superior no grupo com maior dose (efeito dose-dependente). O diagnóstico ocorreu tipicamente (75% casos) 3-4 meses após ter sido iniciada a terapêutica. Alguns doentes apresentaram sintomatologia sugestiva (visão enevoada), mas outros foram assintomáticos. Numa meta-análise verificou-se que 25% dos doentes que desenvolveram edema macular tinham antecedentes de uveíte¹³, contrastando com a prevalência conhecida de uveíte de <1% nos doentes com esclerose múltipla¹⁴. Após a suspensão da terapêutica, a maioria recuperou sem sequelas⁶.

Após comercialização, e até Fevereiro de 2012, foram reportados mais 131 casos de edema da mácula com o mesmo perfil temporal já identificado e correspondendo a uma frequência de 748/100,000 doentes-ano⁶.

Gelfand et al (2012) documentou, num estudo recente, que 4.7% (15/318) dos doentes de uma população hospitalar com esclerose múltipla sem fatores de risco para edema macular (nomeadamente sem diabetes ou uveíte), apresentavam um padrão microquístico de edema da mácula. Curiosamente, a presença deste padrão associava-se a uma maior incapacidade (EDSS mediano=4) e uma acuidade visual mais reduzida. O edema macular ocorria preferencialmente do lado previamente afetado por nevríte ótica¹⁵. Estes achados poderão ter implicações na monitorização clínica de doentes medicados com fingolimod.

Eventos tromboembólicos

Documentou-se uma frequência de AVC de 0.4% em todos os grupos dos estudos, sem diferenças significativas entre grupos e sem dose-dependência⁶. A frequência de enfartes do miocárdio foi muito baixa, envolvendo cinco doentes nos ensaios randomizados (sem diferenças significativas entre grupos) e sete doentes nos estudos de segurança⁶. Considerando a totalidade de eventos isquémicos e trombóticos, manteve-se a ausência de diferenças estatisticamente significativas. A incidência destes eventos é consistente com a incidência na população em geral. Além disso, o fingolimod não parece ter efeito na ativação ou na agregação plaquetar, pelo que não lhe é atribuível, com estes dados, um efeito protrombótico.

Neoplasias

Estudos pré-clínicos em ratos, revelaram um aumento da incidência de linfomas, sarcomas histiocíticos, hemangiomas e hemangiossarcomas aos 2 anos de exposição a uma dose equivalente a 2-20 vezes a dose terapêutica humana⁶. No entanto, não se documentou efeito carcinogénico em ratinhos nem em primatas.

Tabela 1. Neoplasias documentadas no globalidade de ensaios clínicos realizados com fingolimod, excluindo neoplasias cutâneas, adaptado de *EU safety risk management plan*⁶

Neoplasia	Ensaio randomizado e duplamente cegos (fases II e III)					Ensaio de segurança
	fingolimod 5 mg N=94 n (%)	fingolimod 1.25 mg N=1313 n (%)	fingolimod 0.5 mg N=1212 n (%)	placebo N=866 n (%)	IFN N=431 n (%)	fingolimod N=3553 n (%)
Carcinoma da mama	0 (0.0)	3 (0.2)	2 (0.2)	3 (0.3)	0 (0.0)	11 (0.3)
Carcinoma pavimento-celular <i>in situ</i>	0 (0.0)	1 (0.1)	1 (0.1)	0 (0.0)	0 (0.0)	4 (0.1)
Melanoma <i>in situ</i>	0 (0.0)	0 (0.0)	2 (0.2)	1 (0.1)	0 (0.0)	3 (0.1)
Carcinoma da mama <i>in situ</i>	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (0.1)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (0.0)
Carcinoma do colo do útero	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (0.1)	0 (0.0)	1 (0.0)
Carcinoma tiroideu	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (0.1)	1 (0.1)	0 (0.0)	4 (0.1)
Carcinoma epitelial do ovário	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (0.0)
Carcinoma do ovário metastizado	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (0.0)

Após terem sido reportados os primeiros casos de neoplasias cutâneas nos ensaios clínicos com fingolimod, passou a ser implementado um rastreio ativo destas patologias. Considerando a população de todos os ensaios clínicos e estudos de segurança, foram documentadas 72 neoplasias cutâneas (2%), das quais: 54 basaliomas, 8 melanomas e 10 carcinomas pavimentocelulares. Todos os casos eram localizados e foram totalmente excisados.

Adicionalmente, documentaram-se 17 casos de neoplasias (excetuando os basaliomas) nos ensaios randomizados e duplamente cegos e mais 26 casos nos estudos de segurança⁶. Não houve diferença significativa em relação à frequência de neoplasias no grupo com placebo (10/418)⁴. Houve três mortes relacionadas com neoplasias, duas das quais diagnosticadas após suspensão do fingolimod (tabela 1).

Foram reportados três casos de linfoma em doentes tratados com fingolimod, um dos quais um linfoma de células B associado ao vírus de Epstein-Barr (VEB)¹⁶. Não é possível estabelecer relação de causalidade, mas a associação ao VEB é potencialmente preocupante uma vez que as neoplasias induzidas por este vírus ocorrem preferencialmente em doentes imunodeprimidos. Da análise dos dois principais ensaios clínicos, não parece haver aumento do risco de neoplasias associado ao uso do fingolimod nos primeiros 2 anos de exposição ao fármaco. Todavia, só uma monitorização a longo prazo poderá afirmar com maior segurança uma ausência de relação entre estes dois fatores.

Gravidez e lactação

Em modelos animais, o fingolimod foi associado a um aumento da taxa de embriões e fetos inviáveis em ratinhos e coelhos, a atraso de crescimento intrauterino em coelhos e foi teratogénico em ratinhos (*truncus arteriosus* persistente e defeito do septo ventricular), mas não em coelhos. O mecanismo subjacente é desconhecido, mas sabe-se que os receptores S1P1 participam na neurogénese e na vasculogénese embrionárias¹⁷. É no entanto difícil extrapolar estes resultados para os humanos. O fingolimod não foi testado nesta população específica em ensaios clínicos. Foram registados, até Outubro de 2011, 74 casos de gravidez em que o fingolimod foi descontinuado menos de 3 meses antes do início da mesma. Ocorreram 26 interrupções voluntárias (uma por tetralogia de Fallot) e 10 abortos espontâneos⁶. A incidência de aborto espontâneo foi consistente com a esperada para uma população semelhante sem terapêutica com fingolimod. Em 31 casos, a gravidez e o parto decorreram sem problemas⁶. Foram documentados três casos de malformações congénitas, dois com fingolimod na dose de 0.5 mg (malformação da tibia e acrania) e um com fingolimod na dose de 1.25 mg (tetralogia de Fallot)¹⁸. Uma vez que a incidência de malformações congénitas é de 3-4% na população geral, estes dados não são conclusivos quanto a um efeito teratogénico do fingolimod em humanos.

Após comercialização foram espontaneamente reportadas mais 53 gravidezes em doentes tratadas com fingolimod, das quais quatro foram voluntariamente interrompidas (nenhum por malformação congénita), em três ocor-

Tabela 2. Resultados de toxicidade em estudos pré-clínicos do fingolimod que não tiveram correlação nos estudos clínicos até a data, constituindo áreas de incerteza para as quais é necessário estar alerta

Resultados de toxicidade do fingolimod em estudo pré-clínicos ⁶
<ul style="list-style-type: none"> ▪ Diminuição da taxa de embriões e fetos viáveis em ratinhos e coelhos e atraso de crescimento intra-uterino em coelhos. ▪ Teratogênese em ratinhos (<i>truncus arteriosus</i> persistente e defeito do septo ventricular). ▪ Vasculopatia generalizada em ratinhos Wistar com exposição equivalente a 3.5x a dose terapêutica de fingolimod na esclerose múltipla e vasculopatia exclusivamente cardíaca em cães. ▪ Hipertrofia do músculo liso nos bronquíolos terminais de ratos e macacos, estável e reversível com a interrupção da terapêutica. ▪ Carcinogênese em ratos - linfomas, sarcomas histiocíticos, hemangiomas e hemangiossarcomas, aos 2 anos de exposição a dose equivalente a 2-20x a dose terapêutica humana, mas não em ratinhos ou primatas.

reu aborto espontâneo e duas foram gravidezes de termo e sem intercorrências. Não há dados disponíveis em relação aos restantes casos.⁶

Não há dados de secreção do fármaco para o leite materno em humanos, mas estudos em ratinhos revelaram que 2% da dose administrada era secretada no leite⁶.

Interações Medicamentosas

O fingolimod é metabolizado por múltiplas isoformas do citocromo P450, pelo que se espera que inibidores específicos de uma das isoformas tenham efeito pouco significativo. Estudos com inibidores da CYP2D6 (fluoxetina, paroxetina) e indutor do CYP3A (carbamazepina) não conduziram a alterações significativas na concentração de fingolimod-fosfato⁶. Há interação documentada com cetoconazol, que é inibidor da CYP4F e da CYP3A⁶. O fingolimod foi estudado em voluntários saudáveis em associação com o atenolol e o diltiazem, tendo-se verificado um decréscimo adicional de 15% na frequência cardíaca no início do tratamento, apenas com o atenolol⁶.

Um estudo recente com 31 mulheres em idade fértil concluiu que a associação etinilestradiol / levonorgestrol e o fingolimod não interagem farmacocineticamente, podendo esta combinação ser usada com segurança como contraceptivo durante o tratamento com este fármaco¹⁹.

Em doentes com esclerose múltipla tratados com imunomoduladores de primeira linha, a transição para tratamento com fingolimod sem período de *washout* foi segura. Não há experiência documentada na transição de tratamento com natalizumab para fingolimod. Há um caso recentemente

reportado de reativação da doença às 2 semanas de tratamento com fingolimod numa doente previamente tratada com natalizumab e que havia efectuado a última infusão 3.5 meses antes do início do fingolimod²⁰. Sugeriu-se assim um período de *washout* inferior a 3 meses.

Áreas de incerteza

Os estudos pré-clínicos evidenciaram toxicidade para a qual não foi encontrada, posteriormente correlação clínica. A maioria dos casos corresponde a alterações identificadas apenas em alguns modelos animais e não reproduzíveis em outras espécies⁶. A tabela 2 resume os principais resultados de toxicidade do fingolimod em modelos animais que não se traduziram em alterações nos ensaios clínicos até à data (tabela 2).

Houve ainda eventos reportados numa frequência muito baixa, não permitindo estabelecer relação de causalidade com o fármaco, e que incluem: um caso fatal de encefalomielite aguda disseminada, crises epiléticas com

Tabela 3. Principais riscos identificados e potenciais associados ao uso do fingolimod

Estado do risco	Tipo de risco
Riscos identificados	Bradiarritmia após a primeira dose Hipertensão arterial Aumento das transaminases hepáticas Leucoencefalopatia posterior reversível Edema macular Infecções Leucopenia e linfopenia Toxicidade reprodutora Broncoconstrição
Riscos Potenciais	Neoplasias cutâneas Outras neoplasias Eventos tromboembólicos Prolongamento do intervalo QT Convulsões Encefalomielite aguda disseminada Leucoencefalopatia multifocal progressiva Reativação de infecções virais crónicas Edema pulmonar Insuficiência renal Uso <i>off-label</i>
Interações potenciais	Atenolol Cetoconazol
Ausência de informação	Idosos Idade pediátrica Grávidas e lactentes Doentes com diabetes <i>mellitus</i> Doentes com doenças cardiovasculares Risco a longo termo de morbilidade e mortalidade cardíaca Risco a longo termo de morbilidade e mortalidade por neoplasias Mortes não explicadas

(adaptado de EU Safety Risk Management Plan, Abril 2012)

múltiplos fatores confundentes, edema agudo do pulmão e insuficiência renal aguda⁶. Na tabela 3 estão resumidos os principais riscos identificados e potenciais do uso do fingolimod⁶ (tabela 3).

Contra-indicações e precauções especiais na prescrição de fingolimod

A população incluída nos ensaios clínicos não representa a prática clínica e os resultados não podem ser transpostos diretamente para a população que vai usufruir da terapêutica. Os doentes selecionados para os ensaios clínicos têm uma comorbilidade mínima e são acompanhados em condições ideais, que também não são as reais. Assim, há subgrupos da população geral que podem apresentar maior risco de reações adversas, nomeadamente extremos etários, doentes com diabetes ou insuficiência hepática ou renal ou doença cardíaca, e doentes polimedicados.

Tendo em conta as reações adversas atrás descritas e os mecanismos fisiopatológicos do fingolimod, a prescrição deste fármaco em doentes imunodeprimidos, com neoplasias, com infeções crónicas e com compromisso grave da função hepática (Tabela 4) está contraindicado, uma vez que o risco de complicações pode ultrapassar o benefício no controlo da doença. Em doentes com doença cardíaca conhecida e/ou sob medicação antiarrítmica deve

Tabela 4. Contraindicações ao uso do fingolimod

Contraindicações ao uso de Fingolimod
<ul style="list-style-type: none"> ▪ Síndrome de imunodeficiência hereditária ou adquirida ▪ Terapêutica crónica com imunossupressores ▪ Infeções crónicas (hepatite, tuberculose) ▪ Insuficiência hepática classe C de Child-Pugh ▪ Neoplasias ativas (excepto carcinoma basocelular) ▪ História de bradicardia significativa ou síncope recorrente, doença do nodo sinusal, doença isquémica do miocárdio, doença cerebrovascular, história de enfarte agudo do miocárdio, insuficiência cardíaca congestiva, história de paragem cardíaca, hipertensão arterial não controlada, apneia obstrutiva do sono grave ▪ Holter / ECG com BAV de 2º grau Mobitz tipo 2, BAV 3º grau, síndrome do nodo sinusal, bloqueio aurículo-sinusal, prolongamento do intervalo QT significativo (QTc > 470 ms nas mulheres ou > 450 ms nos homens) ▪ Terapêutica concomitante com antiarrítmicos, especialmente de classes Ia (quinidina, disopiramida) e III (amiodarona, sotalol), mas também beta-bloqueantes, inibidores dos canais de cálcio e outros fármacos com efeito cronotrópico negativo (digoxina, anticolinesterásicos e pilocarpina). ▪ Hipersensibilidade à substância ativa ou excipiente

ser tomada extrema precaução. As últimas recomendações da EMA (Abril de 2012, www.ema.europa.eu) contraindicam a prescrição de fingolimod a doentes com doença cardíaca (isquémica, insuficiência cardíaca congestiva, história de paragem cardiorrespiratória, síncope ou bradicardia sintomática recorrente, hipertensão arterial não controlada ou apneia obstrutiva do sono grave), doença cerebrovascular ou alterações ECG que incluam prolongamento do QT ou bloqueios auriculoventricular, aurículo-sinusal ou doença do nodo sinusal (Tabela 4).

O fingolimod, devido ao seu efeito cronotrópico negativo, exige extrema precaução na decisão de administração a doentes medicados com antiarrítmicos de qualquer classe, nomeadamente classe I (ex.: quinidina, disopiramida), classe II (beta-bloqueantes), classe III (ex.: amiodarona, sotalol) e classe IV (antagonistas dos canais de cálcio: ex. verapamilo, diltiazem, ivabradina) e outros agentes bradicardizantes como anticolinesterásicos e digoxina. Os antiarrítmicos de classes Ia e III estão associados a disritmia ventricular do tipo *torsades de pointes* em doentes com bradicardia. Como atrás se referiu, o fingolimod potencia o efeito bradicardizante do atenolol, mas não do diltiazem⁶, mas não há experiência da administração concomitante de fingolimod e outros fármacos antiarrítmicos, pelo que esta associação é desaconselhada pelo elevado risco de bradicardia sintomática, bloqueio auriculoventricular e *torsades de pointes*. Assim, se o benefício superar o risco antecipado, e não for possível interrupção ou substituição da medicação antiarrítmica, é aconselhada monitorização prolongada (≥24 horas) da primeira toma.

A EMA, em Janeiro de 2012, publicou recomendações sobre monitorização cardíaca da primeira toma de fingolimod. Estas recomendações foram atualizadas em Abril de 2012 na sequência da notificação de uma morte súbita após a primeira toma de fingolimod, relevando monitorização cardíaca mais agressiva e com indicações e contraindicações mais detalhadas.

A próxima tabela (Tabela 5) resume os principais efeitos adversos descritos e medidas de segurança decorrentes a implementar na prática clínica.

Protocolo de monitorização do tratamento com fingolimod

As próximas recomendações são baseadas na revisão dos principais efeitos adversos, no *Safety Risk Management Plan* (Abril 2012) proposto pela Novartis, e nas recomendações da EMA (Abril de 2012).

Tabela 5. Resumo dos principais efeitos adversos do fingolimod e medidas de segurança a instituir na prática clínica

Categoria de Efeito Adverso	Efeitos adversos do Fingolimod	Medidas de Segurança e Monitorização
Alterações do hemograma	Linfopenia persistente correspondente a 30% da contagem prévia à medicação	Hemograma ao fim de 1 mês, e depois de 3-3 meses Suspender medicação se valores < 200 linfócitos/ μ L e repetir hemograma regularmente. Reinstaurar terapêutica quando valores normalizarem
Alterações hepáticas	Alteração das provas hepáticas	Avaliação analítica (ALT, AST, GGT) antes do início e ao fim de 1 mês, 3 meses e depois cada 3 meses Se aumento para valores < 5x LSN, fazer monitorização mais frequente e incluir bilirrubina e fosfatase alcalina. Suspender terapêutica se valores \geq 5x LSN confirmados e reinstaurar apenas após normalização
Infeções	Maior frequência de infeções respiratórias baixas, infeções pelo vírus varicella-zoster e infeções herpéticas graves	Garantir imunidade contra vírus <i>varicella-zoster</i> se não houver história de varicela (administração de vacina na ausência de imunidade antes de iniciar tratamento) Avaliar e alertar para o risco de infeções herpéticas por herpes simples tipos 1 e 2. Evitar administração de vacinas vivas atenuadas, como vacina anti varicela, vacina oral da poliomielite, vacinas anti sarampo, rubéola e parotidite, VASPR (associação das 3 anteriores), febre amarela. (Nota: A vacina da gripe é uma vacina inativada)
Efeitos Cardiovasculares	Bradycardia nas 6 horas após a primeira dose Alterações ECG (BAV) nas primeiras 6 horas Aumento da pressão arterial (PA) persistente após 2 meses de início da terapêutica	Vigilância clínica e monitorização da frequência cardíaca e da PA durante 6 horas após a primeira dose de medicação Registo ECG prolongado prévio e após o início da medicação Vigilância da PA e avaliação de necessidade de reajuste de medicação antihipertensora a partir dos 2 meses de tratamento. Contraindicado se doença cardíaca ou HTA não controlada, aconselhamento com cardiologista. Se medicação antiarrítmica ou outra com efeito bradicardizante concomitante, promover interrupção ou substituição e, se não for possível e se mantiver indicação para uso de fingolimod antecipando riscos, realizar monitorização prolongada da primeira toma (incluindo período noturno).
Efeitos Oftalmológicos	Edema da mácula, geralmente 3-4 meses após início do tratamento	Consulta de Oftalmologia aos 3-4 meses. Vigilância oftalmológica regular em doenças que predisponham a desenvolvimento de edema macular como a diabetes mellitus. Observação oftalmológica sempre que sintomatologia visual. Suspender a medicação se desenvolvimento de edema da mácula
Neoplasias	Linfomas, sarcomas, hemangiomas em ratos, aos 2 anos de exposição. Não parece haver aumento do risco de neoplasias nos 2 primeiros anos de exposição ao fingolimod.	Sem programa de rastreio específico
Gravidez e lactação	Não foi testado nesta população em ensaios clínicos. Teratogénico em ratinhos. Diminuição do número de embriões viáveis em ratinhos e coelhos.	Teste de gravidez no início da terapêutica Contraceção segura durante o tratamento. Se doente pretender engravidar, a medicação deve ser suspensa 2 meses antes, mantendo contraceção segura durante esse período. O aleitamento materno deve ser evitado se reintrodução de fingolimod no puerpério.

Recomendações antes do início da medicação

- avaliação analítica com <6 meses: hemograma e provas hepáticas (AST, ALT, GGT, bilirrubina)
- serologia para vírus *varicella-zoster* se não houver segura história de infeção no passado
- ECG
- teste de gravidez e contraceção eficaz

▪ considerações especiais:

- observação oftalmológica em doentes com diabetes *mellitus* ou uveíte
- se cirurgia intraocular, o início de fingolimod deve ser adiado 3 meses, segundo alguns autores²¹.
- avaliação por cardiologista em doentes com doença cardíaca, fatores de risco cardiovascular ou

medicação antiarrítmica.

- se não se confirmar imunidade para vírus *varicella-zoster*, o início da terapêutica deve ser adiado e deve ser administrada vacina. O tratamento poderá ser iniciado 1 mês após a vacinação.
- infecção ativa grave deve ser tratada antes de iniciar terapêutica.
- medicação prévia com imunomoduladores de primeira linha não necessita de intervalo livre sem medicação. No caso do doente estar previamente medicado com natalizumab é recomendado adiar a introdução de fingolimod para 2-3 meses após suspensão do natalizumab.

Recomendações de monitorização da primeira toma de fingolimod (e sempre que se reintroduz o fármaco após interrupção superior a 14 dias) (EMA, Abril de 2012)

- medição da pressão arterial e da frequência cardíaca antes e a cada hora durante 6 horas,
- ECG de 12 derivações antes e 6 horas após a primeira toma,
- monitorização contínua ECG durante 6 horas, se possível.
- a monitorização cardíaca deve ser prolongada durante pelo menos mais 2 horas se a frequência cardíaca às 6 horas for a mais baixa desde a administração da primeira dose do fármaco. A monitorização deve ser continuada até a frequência cardíaca aumentar novamente.
- critérios para prolongar a monitorização cardíaca, pelo menos durante o período noturno, e até recuperação:
 - ocorrência, **em qualquer momento** durante o período de monitorização após a toma, de BAV de 3º grau ou efeito cardíaco clinicamente importante
 - presença das seguintes situações **no final do período de monitorização** após a primeira toma:
 - frequência cardíaca inferior a 45 bpm
 - BAV de 2º grau persistente, Mobitz 1 ou de grau superior
 - intervalo QTc \geq 500 msec
- se bradicardia grave e/ou sintomática, seguir algoritmo da figura 3.

Recomendações de monitorização durante o tratamento

- hemograma e provas hepáticas ao fim de 1 mês e depois a cada 3 meses
 - se linfopenia $< 200/\mu\text{L}$ confirmada deve ser interrompida medicação
 - se provas hepáticas aumentadas:
 - $< 5x$ LSN - vigiar com maior frequência
 - $\geq 5x$ LSN confirmada - interromper medicação.

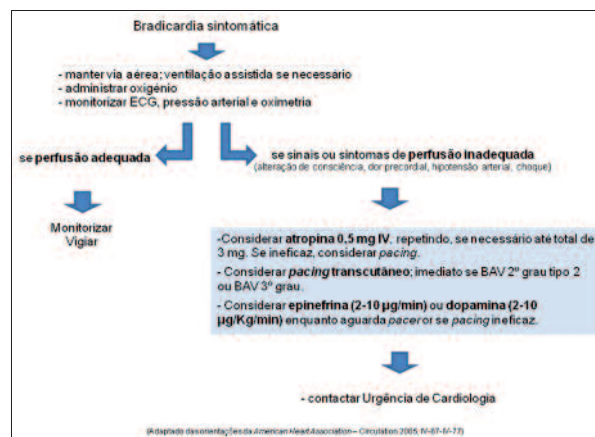


Figura 3. Algoritmo de abordagem de bradicardia sintomática²².

- consulta de oftalmologia aos 3-4 meses para todos os doentes, regular nos doentes com diabetes *mellitus* e uveíte e sempre que existam alterações da visão.
- vigilância de frequência cardíaca, pressão arterial, infeções.
- vigilância de alterações da visão como diminuição da acuidade visual ou metamorfopsias
- garantir contraceção eficaz e planejar gravidez antecipadamente.
- lembrar contraindicação para vacinação com vacinas vivas (rubéola, parotidite, sarampo, poliomielite).
- critérios para interrupção do tratamento:
 - infecção grave
 - gravidez
 - edema da mácula
 - aumento confirmado das transaminases para $> 5x$ LSN
 - contagem linfocitária confirmada < 200 células / μL .

Recomendações após interrupção do tratamento

- se a terapêutica for interrompida durante um período superior a 14 dias, a sua reintrodução deve ser acompanhada de monitorização durante 6 horas, equivalente à da primeira toma.
- o doente deve comunicar infeções e outras reações adversas no período até 2 meses após a interrupção do tratamento
- as mulheres em idade fértil devem manter contraceção eficaz no período até 2 meses após interrupção do tratamento. ■

Referências bibliográficas

1. Chun, J. and H.P. Hartung, *Mechanism of action of oral fingolimod (FTY720) in Multiple Sclerosis*. Clin Neuropharmacol, 2010. **33**(2): p. 91-101.
2. García-Merino, J. and A. Sánchez, *Basic mechanisms of action of fingolimod in relation to multiple sclerosis*. Rev Neurol, 2012. **55**(1): p. 31-37.
3. Comi, G., et al., *Phase II study of oral fingolimod (FTY720) in multiple sclerosis: 3-year results*. Mult Scler, 2010. **16**(2): p. 197-207.
4. Kappos, L., et al., *A placebo-controlled trial of oral fingolimod in relapsing multiple sclerosis*. N Engl J Med, 2010. **362**(5): p. 387-401.
5. Cohen, J.A., et al., *Oral fingolimod or intramuscular interferon for relapsing multiple sclerosis*. N Engl J Med, 2010. **362**(5): p. 402-15.
6. Dong, V., et al., *EU Safety Risk Management Plan*, Novartis, Editor. 2012.
7. Johnson, T.A., et al., *Reconstitution of circulating lymphocyte counts in FTY720-treated MS patients*. Clin Immunol, 2010. **137**(1): p. 15-20.
8. Temple, R., *Hy's law: predicting serious hepatotoxicity*. Pharmacoepidemiol Drug Saf, 2006. **15**(4): p. 241-3.
9. Cervera, C., *Infections and fingolimod*. Rev Neurol, 2012. **55**(4): p. 227-37.
10. Brinkmann, V., *Sphingosine 1-phosphate receptors in health and disease: mechanistic insights from gene deletion studies and reverse pharmacology*. Pharmacol Ther, 2007. **115**: p. 84-105.
11. Wong, R., et al., *Tacrolimus-associated posterior reversible encephalopathy syndrome after allogeneic haematopoietic stem cell transplantation*. Br J Haematol, 2003. **122**: p. 128-134.
12. Salvadori, M., et al., *FTY720 versus MMF with cyclosporine in de novo renal transplantation: a 1-year, randomized controlled trial in Europe and Australasia*. Am J Transplant, 2006. **6**(12): p. 2912-21.
13. Zarbin, M., A. Reder, and Collins, *Ophthalmologic evaluations in clinical studies of fingolimod (FTY720) in MS (suppl 4:P03.208)*. Presented at the American Academy of Neurology annual meeting., 2011. **Honolulu, HI**.
14. Le Scannf, J., et al., *Uveitis associated with multiple sclerosis*. Mult Scler, 2008. **14**: p. 415-17.
15. Gelfand, J.M., et al., *Microcystic macular oedema in multiple sclerosis is associated with disease severity*. Brain, 2012. **135**(Pt 6): p. 1786-93.
16. EMA, Gilenya™ *European Public Assessment Report*. February 2011.
17. Mizugishi, K., T. Yamashita, and A. Olivera, *Essencial role for sphingosine kinases in neural and vascular development*. Mol Cell Biol, 2005. **25**(24): p. 11113 - 21.
18. Collins, W., *Poster P07.184*. 2011, AAN.
19. David, O., et al., *Pharmacokinetics of fingolimod (FTY720) and a combined oral contraceptive coadministered in healthy women: drug-drug interaction study results*. Int J Clin Pharmacol Ther, 2012. **50**(August): p. 540-544.
20. Daelman, L., et al., *Severe multiple sclerosis reactivation under fingolimod 3 months after natalizumab withdrawal*. Mult Scler, 2012. **epub ahead of print**.
21. Jain, N. and M.T. Bhatti, *Fingolimod-associated macular edema: Incidence, detection and management*. Neurology, 2012. **78**: p. 672-680.
22. AHA, Part 7.3: *Management of Symptomatic Bradycardia and Tachycardia*. Circulation, 2005. **112**: p. IV-67-IV-77.

Correspondência
 Rita Moiron Simões
 Assistente Hospitalar de Neurologia,
 Serviço de Neurologia,
 Hospital Beatriz Ângelo, Loures
 Avenida Carlos Teixeira nº 3
 2674-514 LOURES – Portugal
 rita_moiron_simoes@hotmail.com

Ressonância Magnética na Esclerose Múltipla e a Acção de Fingolimod a longo prazo

MRI in Multiple sclerosis and long term action of fingolimod

Rui Pedrosa

Diretor de Serviço de Neurologia, Serviço de Neurologia, Centro Hospitalar de Lisboa Central, Hospital de Santo António dos Capuchos, Lisboa, Portugal.

Resumo

A Ressonância Magnética é um meio complementar de diagnóstico fundamental no diagnóstico e no estudo da esclerose múltipla. As sequências chamadas tradicionais são muito sensíveis na detecção da actividade inflamatória, permitindo também avaliar a eficácia da terapêutica. A relação entre as lesões visíveis imagiologicamente e a evolução clínica é apenas modesta, mas a sua presença determina um alto risco de evolução para doença definitiva em casos de síndrome clínico desmielinizante isolado, a evidência de novas lesões indica persistência de actividade inflamatória e falência de eventual terapêutica em curso, e a extensão total das lesões está relacionada com a incapacidade a longo prazo. O estudo volumétrico permite avaliar a evolução da atrofia cerebral, aparentemente muito frequente e já evidenciável desde o início da doença, podendo vir a ser um objectivo importante em futuros ensaios clínicos para definir a eficácia de novas terapêuticas. Outras sequências já importantes na investigação da doença fornecem dados quantitativos e revelam alterações não visíveis nas tradicionais, mas ainda não são utilizadas na avaliação clínica de rotina ou como objectivo primário de ensaios clínicos, por falta de uniformidade dos resultados e de estandardização. Várias destas técnicas virão provavelmente a curto ou médio prazo alterar significativamente os métodos de avaliação da doença.

O Fingolimod é um novo medicamento, administrado por via oral e com um modo de acção original, que provoca retenção dos linfócitos nos gânglios linfáticos reduzindo a infiltração de células auto-reactivas no sistema nervoso central. O receptor da esfingosina-1-fosfato sobre o qual actua o Fingolimod não se encontra apenas nos linfócitos mas também em outras células, nomeadamente ao nível do sistema nervoso, com alguns dados de investigação sugerindo que o medicamento possa ter acção directa a este nível, com capacidade neuro-protectora e reparativa. Os estudos realizados até agora demonstram actividade anti-inflamatória significativa e persistente, e aparente actividade neuro-protectora superior a outras terapêuticas acessíveis.

Palavras-chave: Esclerose Múltipla, Ressonância Magnética, Técnicas de Ressonância Magnética, Terapêutica da Esclerose Múltipla, Fingolimod, Neuroprotecção, Atrofia Cerebral.

Abstract

Magnetic resonance imaging (MRI) is a fundamental technique for the diagnosis and study of multiple sclerosis. The so called traditional sequences are very sensitive to the detection of inflammatory activity, also permitting the assessment of treatment efficacy. The relationship between visible lesions and clinical evolution is only modest, but their presence determines a high risk of progression to definite disease in cases of clinically isolated demyelinating syndrome. Evidence of new lesions denotes persistent inflammatory activity and failure of the current treatment, while the total extent of the lesions is related to long-term disability.

Volumetric studies enable the evaluation of brain atrophy development, an apparently very frequent phenomenon evidenced since the onset of disease. This may become an important efficacy end-point objective in future clinical trials. Other sequences of importance in disease research provide quantitative data and reveal changes which are not visible in the traditional ones, but are still not used in routine clinical evaluation or as a primary endpoint in clinical trials, due to the lack of uniformity and standardization of results. Several of these techniques are likely to significantly alter the methods of disease assessment in the short or medium term.

Fingolimod is a new drug, taken orally and with a unique mode of action, which causes retention of lymphocytes in the lymph nodes reducing the infiltration of pathogenic lymphocytes into the central nervous system. The sphingosine-1-phosphate receptor upon which fingolimod acts is not only located on lymphocytes but also in other cells, including in the nervous system. Several studies results suggest that the drug may have a direct action at this level, with neuroprotective and reparative capacities. The studies conducted so far demonstrate a significant and persistent anti-inflammatory activity, and an apparent neuroprotective activity superior to other available therapies.

Key-words: Multiple sclerosis, Magnetic Resonance Imaging, MRI, Magnetic Resonance Imaging techniques, Multiple sclerosis treatment, Fingolimod, Neuroprotection, Brain atrophy.

Introdução

A Ressonância Magnética (RM) tem uma função bem estabelecida no diagnóstico da Esclerose Múltipla (EM), e vem assumindo cada vez maior importância na avaliação da evolução clínica e na investigação da doença, nomeadamente no estudo de novas terapêuticas. Em termos clínicos, é usada como rotina no estudo do síndrome clínico desmielinizante isolado (SCI), no estabelecimento do diagnóstico de Esclerose Múltipla Clinicamente Definida (EMCD) e na avaliação da evolução da doença. É também útil na escolha da terapêutica inicial e na avaliação da sua eficácia.

As sequências tradicionais, DP/T2, FLAIR (fluid-attenuated inversion-recovery) e T1 sem e com administração endovenosa de produto de contraste paramagnético, têm sensibilidade considerada alta na detecção das lesões da EM. As lesões visíveis em T2, hiperintensas, são pouco específicas porque processos patológicos diferentes como edema, desmielinização, gliose e até mesmo remielinização podem ser indistinguíveis. As lesões persistentemente visíveis em T1, hipointensas, embora em menor número que as lesões em T2, são associadas a alterações como desmielinização e perda axonal definitivas e têm maior relação com a evolução clínica, aparentemente com maior capacidade prognóstica. A acentuação da intensidade do sinal após a administração do produto de contraste com gadolínio define a lesão como "activa", com aumento da permeabilidade da barreira hemato-encefálica por inflamação em evolução.

A RM no diagnóstico de EM

A RM foi introduzida formalmente no processo diagnóstico em doentes com suspeita de EM através da definição de características típicas de morfologia e localização das lesões, e da enunciação de critérios imagiológicos de disseminação no espaço e no tempo.

São lesões geralmente ovais ou elípticas, localizadas assimetricamente na substância branca periventricular e justa-cortical cerebral, corpo caloso, região infratentorial mais frequentes na ponte e cerebelo que no bolbo raquidiano ou pedúnculos cerebrais. Na medula são mais frequentes na região cervical, com extensão não maior que dois corpos vertebrais, periféricas e com menos de metade da área medular, não definidas em T1¹³.

Inicialmente os critérios de diagnóstico que incluem os dados da RM foram estabelecidos com atenção primordial à sua especificidade, com eventual redução da sensibilidade. A atitude actual tem sido de simplificar estes critérios tornando-os mais simples de usar e com maior sensibili-

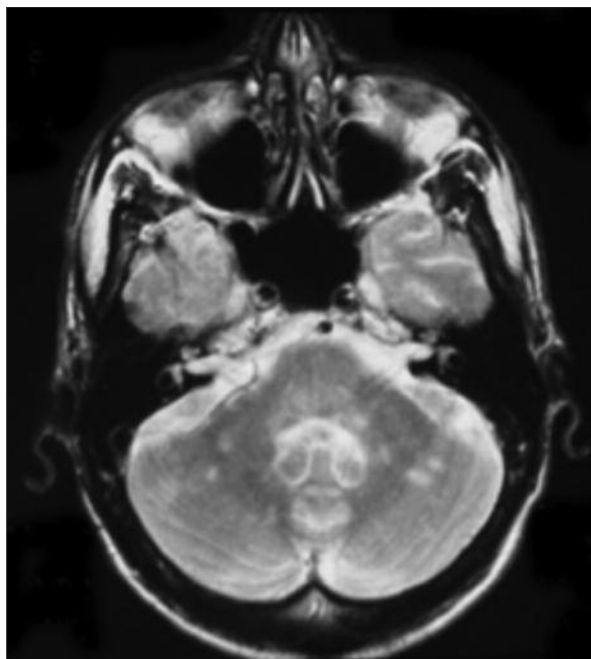


Figura 1. Lesões típicas na fossa posterior em T2.

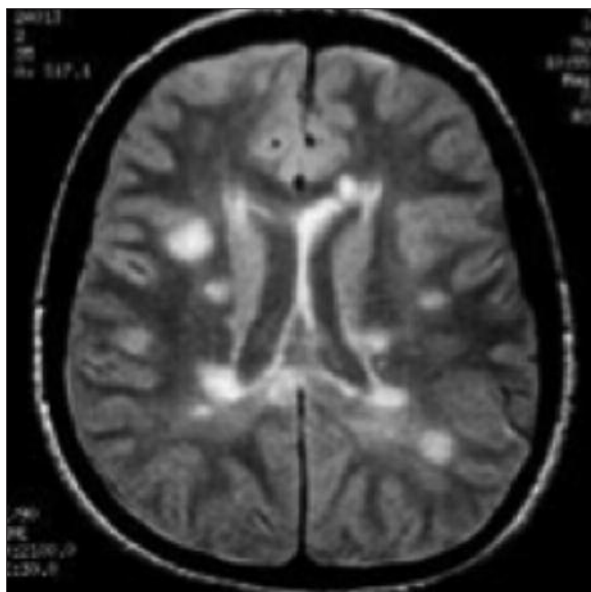


Figura 2. Lesões típicas nos hemisférios cerebrais em FLAIR.

dade, mantendo no entanto a especificidade⁶.

Um grupo reunido em 2001 (McDonald e colaboradores) propôs a consideração do diagnóstico quando se reunissem 3 de 4 critérios: 9 lesões T2 ou 1 lesão activa, pelo menos 3 periventriculares, pelo menos 1 justa-cortical, pelo menos 1 na fossa posterior. Uma lesão medular poderia substituir uma cerebral. Disseminação no tempo definida por nova lesão T2 surgida pelo menos 3 meses depois de uma RM de referência ou uma lesão "activa" 3 meses depois do início do síndrome clínico isolado que provocou a suspeita de EM.

Posteriormente novos critérios foram propostos ten-

tando aumentar a sensibilidade sem prejuízo da especificidade. Em 2006 (Swanton e colaboradores), uma ou mais lesões em pelo menos duas localizações consideradas típicas, periventricular, justa-cortical, fossa posterior e medula espinal, com a disseminação no tempo aceite com uma lesão T2 nova em RM realizada em qualquer momento após o estudo inicial¹⁵. Recentemente (Rovira e colaboradores, MAGNIMS) a presença simultânea de lesões assintomáticas activas e não activas em qualquer exame foi aceite como disseminação no tempo, permitindo o diagnóstico de EM em doentes com síndrome clínico isolado e uma primeira RM mostrando os dois tipos de lesão^{4,5,16}.

Estes critérios mais recentes demonstraram sensibilidade ligeiramente maior que os originais de McDonald e da sua revisão de 2005 continuando ainda com alta especificidade. A sua utilização conduz a alguma redução do potencial no diagnóstico diferencial devendo ser utilizados com cuidado em doentes com idade mais avançada.⁷

Em todos os casos se mantém a necessária exclusão de etiologias alternativas que podem ser confundidas com EM, realizando as análises ou outros exames adequados quando as imagens revelam algum aspecto menos típico.

A RM no Síndrome Clínico Isolado

O conceito de SCI adquiriu grande importância dado que muito frequentemente é o primeiro episódio de uma EM, e a avaliação dos resultados da terapêutica tem confirmado que a eficácia é tanto maior quanto mais precoce o início, sugerindo que deva ser instituída logo nesta fase.

Considera-se este diagnóstico quando surge um primeiro episódio de défice neurológico sugestivo de doença desmielinizante com as características típicas de EM e por convenção com duração igual ou superior a 24 horas. Em cerca de 85% dos casos a EM inicia-se por um SCI com sintomas/sinais de lesão do nervo óptico, medula espinal ou tronco cerebral.⁶

Na avaliação do SCI são fundamentais os dados da RM, na demonstração da natureza provavelmente desmielinizante do episódio, na exclusão de outras etiologias possíveis, e na definição do risco de evolução para EMCD. Quando não existem lesões assintomáticas visíveis esse risco é inferior a 20%, enquanto que a existência de 2 ou mais dessas lesões assinala um risco da ordem dos 80%¹⁷. Além do número também a extensão total de lesões visíveis em T2, a presença de lesões infratentoriais e a existência de acentuação do sinal pelo contraste estão acentuadamente relacionadas com a probabilidade de evolução para EMCD. A extensão total das lesões ("lesion burden") está também associada à gravidade da incapacidade clínica a longo prazo^{14,18}.

A RM na avaliação da evolução da EM

O componente inflamatório da patologia da EM pode ser apreciado na RM observando o aparecimento de novas lesões em T2, ou aumento de dimensões de outras pré-existentes, e de novas lesões "activas" em exames repetidos, com acentuação do sinal em T1 após o gadolínio. Estas lesões novas representam inflamação recente e relacionam-se com a incidência de surtos clínicos a curto prazo. A extensão total das lesões em T2, mensurável por técnicas apropriadas dá uma ideia geral da gravidade da doença mas, além de não haver especificidade com o tipo de patologia não há também relação bem definida com a situação e a evolução clínicas.

O outro componente da patologia da doença, neurodegenerativo, pode ser também avaliado por técnicas de RM convencional, estudando a extensão dos chamados "buracos negros", lesões persistentemente hipointensas em T1, que se pensa representar zonas de destruição definitiva da matriz tecidual^{8,9}, e estudando o volume cerebral, aceitando-se que a atrofia cerebral, muitas vezes já visível e significativa desde o início da doença, é consequência de lesão neuro-axonal permanente¹².

A atrofia cerebral tem sido relacionada significativamente com o grau de incapacidade, não só cognitiva mas também motora, e tem aparentemente maior valor prognóstico da incapacidade futura do que a extensão total das lesões focais definidas em T1 e T2¹¹. É presentemente considerada como um marcador útil na avaliação da progressão da doença^{12,13}.

O volume cerebral não pode no entanto ser considerado só por si um reflexo de neurodegenerescência, também se observa redução significativa do volume como efeito de terapêutica anti-inflamatória e anti-edematosa, aspecto considerado pseudo-atrofia, no entanto o estudo da evolução da doença mostra em geral uma redução contínua em relação a grupos controlo, e desde a fase inicial da doença.

Uma questão ainda não esclarecida é a parte de responsabilidade da substância branca e da substância cinzenta, cortical e/ou subcortical, nesta atrofia.

Alguns dados publicados sugerem predomínio da redução do volume da substância cinzenta, particularmente da subcortical, nomeadamente do tálamo¹⁰.

Novas técnicas de RM

A associação dos dados de RM convencional com as manifestações clínicas e com a evolução é apenas modesta devido aparentemente à baixa especificidade quanto à patologia, insensibilidade para alterações tecidulares

além das lesões focais (a chamada substância branca ou cinzenta aparentemente normal), e insensibilidade em identificar e quantificar os processos de reparação que também estão presentes. Novas técnicas de RM, por vezes chamadas técnicas sofisticadas, têm sido apontadas como capazes de fornecer indicações quantitativas estruturais, metabólicas e funcionais de grande interesse na caracterização da doença e poderão vir a ser a curto prazo novos marcadores da eficácia da terapêutica e eventualmente constituir novos objectivos nos ensaios clínicos.

Destas técnicas salienta-se a transferência de magnetização, um dos métodos de evidenciar o tecido cerebral aparentemente normal e com dados que sugerem poder vir a ser um bom marcador do prognóstico funcional, e a utilização de meios de contraste com pequenas partículas de óxido de ferro, que tendem a ser absorvidas por células do tipo macrófago e monócito dando uma imagem da infiltração por células inflamatórias, imagem que não é coincidente com a do gadolínio, esta relacionada com a lesão da barreira hemato-encefálica. Também a utilização de campos magnéticos mais potentes parece vir a ser a norma a curto ou médio prazo, com maior definição das lesões e, particularmente, a capacidade de revelar lesões corticais cujo número e extensão tem sido relacionada com a evolução e a gravidade da doença¹⁹. As técnicas de estudo da difusão, nomeadamente com o uso do tensor de difusão, e a espectroscopia, são também apontados como muito promissoras.

A RM nos ensaios clínicos

Nos doentes com EM, nomeadamente incluídos em ensaios clínicos, as denominadas sequências convencionais de RM revelam dados objectivos, mensuráveis, que permitem avaliar a actividade da doença e a sua progressão.

Em ensaios clínicos, os dados de imagem por RM são utilizados como objectivos primários em estudos de fase II, avaliando em exames sucessivos o número de novas lesões identificadas em T2, a extensão total das lesões em T2, número e extensão de lesões em T1 com acentuação da intensidade do sinal pelo contraste, enquanto que em estudos de fase III são considerados objectivos secundários, dado a relação pouco definida da imagem RM convencional com a evolução clínica; o "paradoxo clínico-radiológico"¹. Nestes ensaios os únicos objectivos primários aceites são clínicos, número de surtos e acentuação de incapacidade definitiva, negando o valor dos parâmetros de RM como substitutos válidos²⁰. No entanto, a análise dos dados dos grandes ensaios de eficácia terapêutica demonstra que embora a nível individual não haja relação entre a actividade na RM e o aparecimento de surtos, a

nível de grupos de doentes o efeito médio do tratamento no número de lesões visíveis na RM está acentuadamente relacionado com o efeito clínico²¹.

A atrofia cerebral é detectável desde as fases iniciais e parece evoluir progressivamente durante o curso da doença²², constituindo um marcador da agressividade do processo patológico. Tem sido apontada como tendo uma relação mais precisa com a incapacidade e com o défice cognitivo do que os outros parâmetros imagiológicos, nomeadamente no que respeita à substância cinzenta²³. Pode ser avaliada e quantificada em imagens ponderadas em T1 de forma relativamente fácil e reprodutível, e tem sido proposta como marcador de neuro-protecção em ensaios clínicos¹¹.

Fingolimod no tratamento da EM

Fingolimod é um medicamento de uma nova classe administrado por via oral que actua como modulador do receptor da esfingosina-1-fosfato. Impede a saída de linfócitos dos gânglios linfáticos reduzindo a infiltração de células potencialmente agressivas no sistema nervoso central. Existem também evidências de que pode ter acção protectora e reparativa no sistema nervoso central através da modulação dos receptores da esfingosina-1-fosfato presentes em células neurais²⁵.

Foi aprovado para terapêutica da EM forma surto-remissão na dose de 0,5 mg/dia, com base em ensaios clínicos contra placebo e contra interferão beta 1a (FREEDOMS e TRANSFORMS), em que se observou redução significativa do número de surtos (ARR - "annualized relapse rate" - com redução de 52% em relação ao interferão ao longo de um ano). A progressão da incapacidade foi também significativamente reduzida em 2 anos em relação ao grupo placebo no ensaio FREEDOMS^{25,26}.

Além dos objectivos clínicos, também os objectivos imagiológicos foram significativamente positivos, com redução da actividade inflamatória atestada por novas lesões em T2 ou por lesões "activas", redução da extensão total das lesões tanto em T2 como em T1, e efeito também significativo sobre a redução do volume cerebral, em ambos os ensaios clínicos, tanto em relação ao placebo como ao interferão beta 1a^{9,25,26}. Os resultados de RM seriadas dos 0-6 meses do ensaio clínico de fase II, comprovam um efeito rápido de fingolimod. A eficácia anti-inflamatória foi evidente na avaliação aos 6 meses e mantida durante toda a duração dos estudos, e o efeito sobre a redução do volume cerebral foi também significativa não só em relação ao placebo mas também ao interferão⁹.

Dados recentes sugerem que a actividade anti-inflamatória se mantém ao mesmo nível em doentes tratados até

5 anos com fingolimod, com mais de 75% sem novas lesões identificadas na RM e também sem novos surtos²⁶. O estudo de extensão a 7 anos confirma estes dados com baixa frequência de surtos (AAR - Annualized relapse rate – de 0.16, 55-66% de doentes sem surtos, 76-87% sem sinais imagiológicos de progressão da doença no grupo que tomou fingolimod desde o início²⁷.

Este efeito sobre a progressão da atrofia cerebral, considerada actualmente como um marcador muito útil da progressão da doença, é muito interessante dado que não foi verificado em estudos semelhantes de fase III com interferão beta ou com natalizumab, em todos os casos sem diferença relevante do placebo ao fim dos dois anos⁹. ■

Bibliografia

- Filippi M, Rocca M - MR Imaging of Multiple Sclerosis, Radiology: Volume 259: Number 3-June 2011
- McDonald WI, Compston A, Edan G et al Recommended diagnostic criteria for multiple sclerosis: guidelines from the international panel on the diagnosis of multiple sclerosis. *Ann Neurol* 2001; 50 (1): 121 – 127
- Swanton JK, Fernando K, Dalton CM, et al Modification of MRI criteria for multiple sclerosis in patients with clinically isolated syndromes. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2006; 77 (7): 830 – 833
- Rovira A, Swanton J, Tintoré M, et al A single, early magnetic resonance imaging study in the diagnosis of multiple sclerosis. *Arch Neurol* 2009; 66 (5): 587 – 592.
- Montalban X, Tintoré M, Swanton J, et al MRI criteria for MS in patients with clinically isolated syndromes *Neurology* 2010; 74 (5):427 – 434
- Tumani, H, I. Sapunova-Mayer, et al. CIS case studies. *J Neurol Sci* 2009; 287 Suppl 1: S7-10
- Bakshi R, Thompson A, Rocca M, et al MRI in multiple sclerosis: current status and future prospects *Lancet Neurol* 2008; 7: 615–25
- Sahraian MA, Radue EW, Haller S, et al. Black holes in multiple sclerosis: definition, evolution, and clinical correlations. *Acta Neurol Scand.* 2010;122 (1):1-8.
- Radue E-W, O'Connor P, Polman C, et al: Impact of Fingolimod Therapy on Magnetic Resonance Imaging Outcomes in Patients With Multiple Sclerosis - *Arch Neurol.* July 2012
- Shiee N, Bazin P-L, Zackowski KM, et al (2012) Revisiting Brain Atrophy and Its Relationship to Disability in Multiple Sclerosis. *PLoS ONE* 7(5): e37049. doi: 10.1371/journal.pone.0037049
- Barkhof F, Calabresi PA, Miller DH, et al Imaging outcomes for neuroprotection and repair in multiple sclerosis trials. *Nat Rev Neurol* 2009;5(5):256-266.
- Bermel RA, Bakshi R. The measurement and clinical relevance of brain atrophy in multiple sclerosis. *Lancet Neurol.* 2006;5(2):158-170.
- De Stefano N, Giorgio A, Battaglini M, et al. Assessing brain atrophy rates in a large population of untreated multiple sclerosis subtypes. *Neurology.* 2010;74(23):1868-1876
- Filippi M, Rocca M. The role of magnetic resonance imaging in the study of multiple sclerosis: diagnosis, prognosis and understanding disease pathology. *Acta Neurol. Belg.* 2011, 111, 89-98
- Swanton JK, Rovira A, Tintore M et al. MRI criteria for multiple sclerosis in patients presenting with clinically isolated syndromes: a multicentre retrospective study. *Lancet Neurol.* 2007, 6:677-686.
- Polman C, Reingold SC, Banwell B. et al. Diagnostic criteria for multiple sclerosis: 2010 revision to the "McDonald criteria". *Ann Neurol.* 2011, 69:292-302
- Fisniku IK, Brex PA, Altman DR. et al. Disability and T2 MRI lesions: a 20-year follow-up of patients with relapse onset of multiple sclerosis. *Brain.* 2008;131:808-817.
- Tintore M, Rovira A, Rio J. et al. Baseline MRI predicts future attacks and disability in clinically isolated syndromes. *Neurology.* 2006;67:968-972
- Calabrese M, Rocca M, Atzori M. et al. A three-year MRI study of cortical lesions in relapse-onset multiple sclerosis. *Ann Neurol.* 2010;67:376-383
- Petkau J, Reingold S, Held U, et al. Magnetic Resonance imaging as a surrogate outcome for multiple sclerosis relapses. *Mult Scler* 2008;14:770-778
- Sormani, M, Bonzano L, Roccatagliata L. et al Magnetic Resonance Imaging as a potential surrogate for relapses in multiple sclerosis: a meta-analytic approach. *Ann Neurol* 2009;65:268-275
- Filippi M, Rocca M. et al Magnetic Resonance Techniques in Multiple Sclerosis: The present and the future. *Arch Neurol.* 2011;68(12):1514-1520
- Fisniku IK, Chard DT, Jackson JS, et al Gray matter atrophy is related to long-term disability in multiple sclerosis *Ann Neurol.* 2008; 64(3):247-254
- Kappos L, Radue E, O'Connor P et al Placebo-controlled trial of oral fingolimod in relapsing multiple sclerosis *N Eng J Med* 2010;362:387-401
- Cohen J, Barkhof F, Comi, G et al Oral Fingolimod or Intramuscular Interferon for Relapsing Multiple Sclerosis *N Engl J Med* 2010; 362:402-415
- Montalban X, O'Connor P, Izquierdo G et al Long-term fingolimod (FTY720) in relapsing Multiple Sclerosis: 5-year results from an extension of a phase II, multicenter study show a sustained low level of disease activity poster - 5th Joint Triennial Congress of the European and Americas Committees for Treatment and Research in Multiple Sclerosis, Amsterdam 2011
- Jack Antel, Xavier Montalban, Paul O'Connor et al, Long-Term (7-Year) Data from a Phase 2 Extension Study of Fingolimod in Relapsing Multiple Sclerosis - Poster presented at 64th AAN Annual Meeting, New Orleans, USA

Correspondência

Rui Pedrosa
 Serviço de Neurologia,
 Centro Hospitalar de Lisboa Central,
 Hospital de Santo António dos Capuchos
 Alameda Santo António dos Capuchos
 1169-050 LISBOA, Portugal
 rui pedrosa@netcabo.pt

www.spneurologia.com

Órgão oficial de:

Sociedade Portuguesa de Neurologia
Grupo de Estudos de Envelhecimento Cerebral e Demências
Grupo de Estudos de Esclerose Múltipla
Liga Portuguesa Contra a Epilepsia
Secção da Neurologia do Comportamento da SPN
Sociedade Portuguesa de Cefaleias
Sociedade Portuguesa de Doenças do Movimento
Sociedade Portuguesa de Estudos de Doenças Neuromusculares
Sociedade Portuguesa de Neurocirurgia
Sociedade Portuguesa de Neuropatologia
Sociedade Portuguesa de Neuropediatria

Versão electrónica: www.spneurologia.com

Indexada nas bases bibliográficas:

EMBASE / Excerpta Medica Database (Elsevier)

EMBASE.com (Elsevier)

SCOPUS (Elsevier)

www.indexrmp.com

Com o apoio de:

 **NOVARTIS**

ISSN: 1645-281X