



UNIVERSIDADE DA BEIRA INTERIOR
Ciências da Saúde

Fisiopatologia e Tratamento da Miastenia Gravis Atualidade e Perspetivas Futuras

Sandra Cristiana Rodrigues Carneiro

Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em
Medicina
(ciclo de estudos integrado)

Orientador: Doutor Pedro Rosado

Covilhã, maio de 2012

Dedicatória

Aos meus pais e irmão.

Ao Vítor Hugo.

À minha prima.

Ao meu orientador.

Agradecimentos

Ao meu orientador, Doutor Pedro Rosado, pela orientação, disponibilidade, compreensão e dedicação que demonstrou ao longo da elaboração desta dissertação de mestrado.

À Faculdade de Ciências da Saúde, pela minha formação académica.

À Dra. Rosa Saraiva, pela ajuda na obtenção de alguns artigos científicos, essenciais ao desenvolvimento desta dissertação de mestrado.

À minha família, pela paciência, carinho e apoio incondicional, ao longo de toda a vida e especialmente durante esta fase final da minha formação académica.

Ao Vítor Hugo, por nunca desistir e por lutar sempre a meu lado. Pelo amor, carinho e confiança. Por toda a compreensão. Pelos momentos de diversão, mesmo nas alturas mais difíceis.

À minha prima Joana, que fez valer sua expressão “não importa o tempo que estamos separadas, mas sim a forma como o aproveitamos quando estamos juntas”.

Aos meus colegas de curso e amigos, especialmente os que sempre me ouviram e apoiaram ao longo desta reta final.

Resumo

A Miastenia Gravis é a doença autoimune da junção neuromuscular mais comum. Deve-se, maioritariamente, à produção de AC contra os recetores da acetilcolina pós-sinápticos, ou contra a tirosina quinase músculo-específica, que provocam alterações morfológicas e/ou fisiológicas da junção neuromuscular.

Do ponto de vista imunopatogénico, consiste num processo autoimune, dependente de células T, mediado por linfócitos B produtores de auto-AC. O timo parece estar implicado na perda de tolerância aos auto-antígenos, com consequente desenvolvimento da autoimunidade, mas muitos aspetos da patogénese desta doença continuam por decifrar.

Atualmente, várias opções terapêuticas estão disponíveis: timectomia, corticosteroides, imunossuppressores, plasmaferese, imunoglobulina intravenosa e imunoadsorção. Contudo, o perfil de efeitos adversos fica aquém do desejado, e nem todos os pacientes respondem ao tratamento atual.

O conhecimento cada vez mais detalhado da fisiopatologia e das bases moleculares da imunopatogénese da miastenia gravis tem permitido o desenvolvimento de tratamentos experimentais cada vez mais específicos. As novas modalidades terapêuticas atuam, nomeadamente, por inibição de certas citocinas, inibição do sistema complemento, manipulação de células dendríticas, indução de tolerância por via oral ou nasal, imunoadsorção antígeno-específica, modulação da acetilcolinesterase e bloqueio dos AChR por AC não patogénicos.

A investigação avança na tentativa de se encontrar uma solução eficaz, segura, com um perfil de efeitos adversos favorável, que corrija especificamente as alterações imunitárias causadoras da doença, sem comprometer o restante sistema imunitário.

Palavras-chave

Miastenia gravis, junção neuromuscular, fisiopatologia, autoimunidade, tratamento.

Abstract

Myasthenia Gravis is the most common autoimmune disease of the neuromuscular junction. It is due mostly to the production of antibodies against postsynaptic acetylcholine receptors or against the muscle-specific tyrosine kinase, which cause morphological and/or physiological changes in neuromuscular junction.

Immunopathogenically, is a T cell dependent autoimmune process, mediated by B lymphocytes producing self-antibodies. The thymus seems to be implicated in the loss of tolerance to self-antigens, with subsequent development of autoimmunity, but many aspects of the pathogenesis of this disease remain to be deciphered.

Currently, several therapeutic options are available: thymectomy, corticosteroids and other immunosuppressants, plasmapheresis and intravenous immunoglobulin, immunoadsorption, and thymectomy. However, the adverse event profile falls short, and not all patients respond to current treatment.

The increasingly detailed knowledge of the pathophysiology and molecular basis of the immunopathogenesis of MG has allowed experimental treatments becoming more specific. New therapeutic modalities act in particular by inhibition of certain cytokines, inhibiting the complement system, handling of dendritic cells, induction of oral or nasal tolerance, antigen-specific immunoadsorption, acetylcholinesterase modulation and acetylcholine receptor blocking by non-pathogenic antibodies.

The research progresses in an attempt to find an effective, safe treatment, with a favorable adverse event profile, specifically to correct disease-causing immune changes without compromising the rest of the immune system.

Keywords

Myasthenia Gravis, neuromuscular junction, pathophysiology, autoimmunity, treatment.

Índice

Dedicatória.....	iii
Agradecimentos	v
Resumo	vii
Abstract.....	ix
Lista de Figuras.....	xiii
Lista de Tabelas.....	xv
Lista de Acrónimos.....	xvii
1. Introdução	1
1.1 Objetivos	1
1.2 Métodos	2
2. Fisiopatologia da Miastenia Gravis	3
2.1 Anatomia e fisiologia da JNM (normal)	3
2.1.1 Do neurónio motor à JNM	3
2.1.2 Anatomia da JNM	3
2.1.3 O Recetor de Acetilcolina	4
2.1.4 A transmissão neuromuscular	5
2.2 Anatomia e fisiologia da JNM na MG	6
2.2.1 Anatomia da JNM na MG.....	6
2.2.2 Função da JNM na MG.....	7
3. Imunopatogénese.....	9
3.1 Os anticorpos na MG	9
3.1.1 O papel dos anticorpos anti-AChR	9
3.1.2 O papel dos anticorpos anti-MuSK	11
3.1.3 Anticorpos na MG duplamente seronegativa.....	11
3.1.4 Anticorpos anti-músculo estriado.....	12
3.1.5 Outros tipos de anticorpos	13
3.2 O Papel dos Linfócitos	13

3.3	O Papel do Timo	14
3.3.1	Hiperplasia do timo	14
3.3.2	Timoma.....	15
3.3.3	Alterações do timo em MG anti- MUSK e MG duplamente seronegativa	15
3.4	Possíveis Fatores Iniciadores da Resposta Autoimune	15
4.	Tratamento Atual da MG	17
4.1	Timectomia	18
4.1.1	MG com timoma	18
4.1.2	MG sem timoma.....	18
4.2	Corticosteroides	19
4.3	Imunossupressores.....	19
4.3.1	Inibidores da Síntese de DNA e RNA.....	19
4.3.2	Inibidores da via de Ativação dos Linfócitos T (inibidores da calcineurina)	21
4.3.3	Supressores dos Linfócitos B.....	22
4.4	Plasmaferese e IgIV	22
4.5	Inibidores da AChE	23
5.	Tratamento Futuro da MG	25
5.1	Etanercept (anti-TNF- α).....	25
5.2	Inibidores do complemento.....	25
5.3	Terapia celular.....	26
5.4	Tolerância Oral ou Nasal	26
5.5	Imunoadsorção / Aferese antigénio-específica	28
5.6	Modulação da AChE (Monarsen, EN101)	28
5.7	Prevenção da Modulação dos AChR.....	29
6.	Caso Clínico	31
6.1	Resumo da Fisiopatologia e Tratamento do Caso Clínico.....	33
7.	Conclusão e Perspetivas Futuras	35
8.	Referências.....	41
9.	Anexos.....	49

Lista de Figuras

Figura 1 - Anatomia da JNM.....	3
Figura 2 - Esquema do AChR do adulto.	4
Figura 3 - Estrutura da JNM normal e na MG.....	6
Figura 4 - Mecanismos de ação dos AC anti-AChR.....	10
Figura 5 - Etapas imunopatológicas da MG e opções terapêuticas.....	17
Figura 6 - Etapas imunopatológicas da MG e as opções terapêuticas atuais e futuras.	35

Lista de Tabelas

Tabela 1 - Estudo analítico do caso clínico.	32
Tabela 2 - Mecanismo de ação e indicação das modalidades terapêuticas atuais.	36
Tabela 3 - Mecanismo de ação e indicação das modalidades terapêuticas futuras.	38

Lista de Acrónimos

AC	Anticorpos
ACh	Acetilcolina
AChE	Acetilcolinesterase
AChR	Recetor de acetilcolina
APC	Células apresentadoras de antigénios
APRIL	Ligando indutor da proliferação
BAFF	Fator ativador de células B
BF-AChR	Recetor de acetilcolina recombinante, livre de epítomos de células B
CA	Antigénio do cancro
CHCB	Centro Hospitalar da Cova da Beira
DEC	Domínio extra-celular
DHPR	Diidropiridina
DNA	Ácido desoxirribonucleico
EAMG	Miastenia gravis autoimune experimental
EBV	Vírus Epstein-Barr
EMG	Eletromiografia
Fc	Fragmento cristalizável
GGT	Gama glutamil transpeptidase
GM-CSF	Fator estimulador de colónias granulocíticas e macrofagocíticas
HDL	Lipoproteína de alta densidade
IFN	Interferão
IgG	Imunoglobulina G
IgIV	Imunoglobulina intravenosa
IL	Interleucina
JNM	Junção neuromuscular
LDH	Lactato desidrogenase
LDL	Lipoproteína de baixa densidade

LKM-1	Fração microsomal renal e hepática tipo 1
Lrp4	Proteína 4 relacionada com o recetor da lipoproteína de baixa densidade
MG	Miastenia Gravis
MHC	Complexo major de histocompatibilidade
MIR	Região imunogénica principal
MuSK	Tirosina quinase músculo-específica
PPM	Potencial de placa motora
RM-CE	Ressonância magnética crânio-encefálica
RNA	Ácido ribonucleico
RNAm	RNA mensageiro
RyR	Rianodina
SIDA	Síndrome de imunodeficiência adquirida
TC	Tomografia Computorizada
TGF- β	Fator crescimento transformador β
Th	Linfócitos T “helper” ou auxiliares
TNF	Fator de necrose tumoral
TPMT	Tiopurina metiltransferase
Treg	Linfócitos T reguladores

1. Introdução

Apesar de ser uma doença relativamente rara,[1] a Miastenia Gravis (MG) constitui a doença autoimune da junção neuromuscular (JNM) mais comum.[2] A sua epidemiologia é estudada há mais de 60 anos, existindo uma grande variabilidade de dados relativos à sua frequência e distribuição.[3] Nos EUA, provavelmente devido aos progressos no diagnóstico e tratamento, a prevalência da doença tem aumentado, estimando-se 20 casos por 100.000 habitantes.[4]

Quanto à idade de início da doença, apresenta uma distribuição bimodal, correspondendo o primeiro pico à terceira década e o segundo pico à sexta década.[5]

Estudos desenvolvidos em diferentes países demonstraram um predomínio desta doença no sexo feminino.[6-8] Todavia, há evidências de que a disparidade entre sexos varia com a idade: em adultos com idade inferior a 40 anos, incidência da MG é três vezes maior em mulheres; na puberdade e após os 40 anos de idade as incidências são semelhantes em ambos os sexos; após os 50 anos de idade a doença predomina no sexo masculino.[9]

A MG apresenta-se como fraqueza muscular esquelética, não dolorosa, flutuante,[1] que agrava com a repetição de movimentos e melhora com o repouso.[10, 11] Os sintomas variam de dia para dia ou mesmo de hora para hora, e pioram tipicamente ao final do dia.[10, 11]

A ptose palpebral assimétrica, com diplopia, é a manifestação inicial mais comum e ocorre em aproximadamente 85% dos casos. Após 2 anos de doença, ocorre tipicamente a progressão para doença generalizada.[9] Para além das manifestações oculares, os pacientes podem apresentar vários graus de disartria, disfagia, dispneia, fraqueza facial, fraqueza dos membros ou axial.[11]

Já muito se sabe sobre a fisiopatologia da MG, sendo o tratamento atual eficaz e a mortalidade praticamente zero. Contudo, existem ainda grandes lacunas na compreensão da origem da MG, dos fatores que contribuem para a sua cronicidade e na forma de curar realmente a doença.[5]

1.1 Objetivos

Com esta dissertação pretendo fazer uma revisão teórica da fisiopatologia e tratamento da Miastenia Gravis, pautada pelos objetivos que se seguem:

1. Analisar o nível atual de conhecimento da *fisiopatologia* da MG relacionando-a com o mecanismo de ação *de terapias já existentes*, dando ênfase a *possíveis novas terapias*;
2. Discutir um caso clínico de MG.

1.2 Métodos

Para elaboração desta dissertação, efetuaram-se várias pesquisas na base de dados PubMed/Medline utilizando os seguintes conjuntos de palavras-chave:

- neuromuscular transmission, neuromuscular junction, neuromuscular junction diseases
- myasthenia gravis, pathogenesis, immunopathogenesis
- myasthenia gravis, treatment, future treatment, new treatment.

Inicialmente não foi feita nenhuma restrição de data ou de idioma. Deu-se primazia aos artigos mais recentes de cada área temática, escritos na língua inglesa ou portuguesa. Pela leitura do “abstract”, selecionaram-se os artigos com maior relevância, tendo-se incluído igualmente no estudo algumas publicações neles referenciadas.

Alguns livros de referência nesta área também foram utilizados para complemento do estudo.

Para a apresentação do caso discutido no final desta dissertação, foi consultado o processo clínico do paciente, tendo sido obtida autorização prévia por parte do Centro Hospitalar Cova da Beira, apresentada em anexo 1.

2. Fisiopatologia da Miastenia Gravis

Com o intuito de tornar a fisiopatologia da MG mais compreensível, começo por relembrar o trajeto do neurónio à JNM, a estrutura da JNM e o modo como ocorre habitualmente a transmissão nesta região. Por fim, descrevo as alterações fisiopatológicas da doença, a nível da JNM.

2.1 Anatomia e fisiologia da JNM (normal)

2.1.1 Do neurónio motor à JNM

Cada neurónio motor projeta um axónio mielinizado desde o corno ventral da espinhal medula ou tronco cerebral até a JNM. À medida que se aproxima do músculo, o axónio subdivide-se em vários ramos, cada um deles inervando uma única fibra motora, e depois cada ramo do axónio subdivide-se em pequenas terminações pré-sinápticas que contactam finalmente com a superfície muscular na JNM. [12, 13]

2.1.2 Anatomia da JNM

A JNM é uma estrutura especializada, com uma arquitetura celular e molecular complexa, que lhe permite transmitir os impulsos elétricos da terminação nervosa para o músculo esquelético, sob a forma de um neurotransmissor químico, a acetilcolina (ACh). [14] A JNM subdivide-se em três componentes principais: componente pré-sináptica, fenda sináptica e componente pós-sináptica. [15]

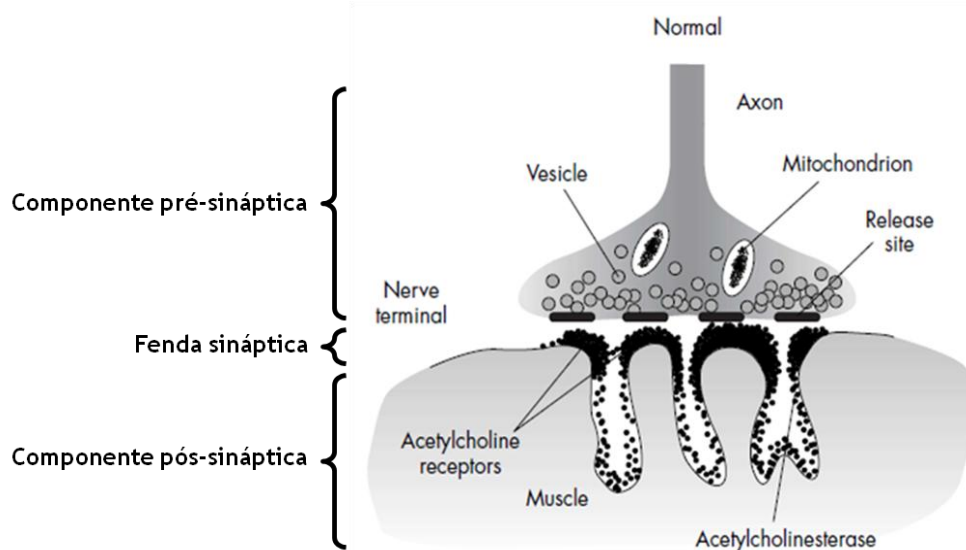


Figura 1 - Anatomia da JNM.
Imagem adaptada da referência. [5]

A **componente pré-sináptica**, também chamada de terminação nervosa, corresponde à zona terminal do neurônio motor. É neste local que ocorre a síntese, incorporação em vesículas e transporte da ACh para os locais de libertação ativa.[15] Os mecanismos subsequentes de ancoragem, fusão e exocitose da ACh são bastante complexos e os seus detalhes [16] fogem do âmbito desta dissertação. Na terminação nervosa, o revestimento de mielina do axônio é substituído por células Schwann, que detêm um papel preponderante na formação e função da JNM.[14]

A **fenda sináptica** é um espaço, com cerca de 50 nm de espessura, existente entre a membrana pré-sináptica e a superfície muscular. Esta zona contém a lâmina basal e uma matriz extracelular formada por grandes complexos moleculares responsáveis pela estabilização da ultra-estrutura da JNM. Para além disso, a fenda sináptica permite a rápida difusão da ACh e é o local de sua rápida degradação pela acetilcolinesterase (AChE) que se encontra ancorada na lâmina basal.[15]

A **componente pós-sináptica** corresponde à membrana muscular. Como é uma superfície bastante enrugada, com pregas primárias e secundárias possui uma grande área.[12] Os recetores da ACh (AChR) dispõem-se, em densos aglomerados, no topo das pregas.[13]

A área muscular que se segue à área juncional é chamada de **zona peri-juncional** e é crítica para a função da JNM. Contém uma mistura de recetores de ACh (AChR), em pequena quantidade, e canais de sódio, em grande quantidade, que lhe permitem produzir a onda de despolarização que levará finalmente à contração muscular.[12]

2.1.3 O Recetor de Acetilcolina

Os AChR são constituídos por cinco subunidades proteicas que rodeiam um poro central, o canal iónico.[15](figura 2)

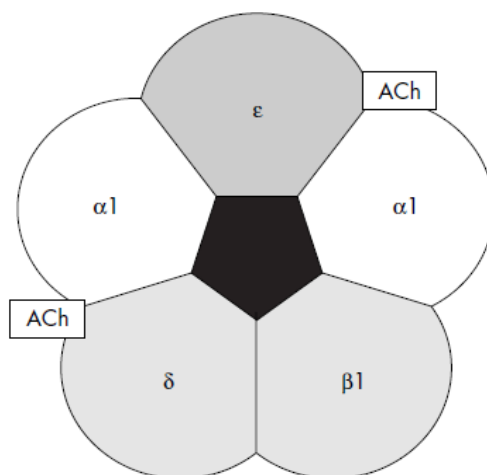


Figura 2 - Esquema do AChR do adulto. Imagem retirada da referência.[5]

Possuem duas subunidades α semelhantes, fundamentais como locais de ligação da ACh, e três subunidades diferentes, mas homólogas, denominadas β , ϵ (ou γ), e δ . O músculo expressa duas isoformas deste recetor: o AChR embrionário é formado por duas subunidades α , uma β , uma γ e uma δ ; no AChR adulto, a subunidade γ é substituída pela ϵ , formando-se um complexo de duas subunidades α , uma β , uma ϵ e uma δ . [13] Alguns músculos adultos, curiosamente os músculos extraoculares, ainda expressam AChR embrionário. [17]

Os AChR podem ser pré-sinápticos ou pós sinápticos. Os pré-sinápticos são responsáveis pelo aumento da libertação de ACh para a fenda sináptica durante a estimulação de alta frequência pela terminação nervosa. Os recetores pós-sinápticos causam a despolarização da membrana com conseqüente contração muscular. [15]

2.1.4 A transmissão neuromuscular

A acetilcolina é sintetizada no terminal nervoso, a partir de acetil-coenzima A e de colina, pela ação da colina-acetiltransferase. Posteriormente, é armazenada em vesículas com cerca de 8.000 a 13.000 moléculas de ACh, correspondentes a um *quantum*. [5]

Quando um potencial de ação chega à terminação nervosa provoca a abertura dos canais de cálcio, com conseqüente aumento abrupto do cálcio intracelular, resultando na libertação de ACh das vesículas. A ACh libertada difunde rapidamente pela fenda sináptica e liga-se aos recetores pós-sinápticos. Estes respondem com a abertura do seu canal de sódio, provocando um influxo de sódio para o músculo, que leva à sua despolarização gerando-se o chamado potencial de placa motora (PPM). Pela abertura dos canais de sódio ao longo do músculo, a despolarização propaga-se e culmina na contração muscular. [15]

Apesar de ser um potente mensageiro, a ACh tem uma duração de ação muito curta. A ACh que não se chega a ligar a um recetor ou que acaba de se desligar dele, é rapidamente hidrolisada pela AChE na fenda sináptica. A colina é reabsorvida pela terminação nervosa para voltar a ser usada na produção de ACh. [15]

A transmissão neuromuscular possui ainda duas características que necessitam ser exploradas antes de partirmos para a fisiopatologia da MG propriamente dita: o *fator de segurança* e o *esgotamento sináptico*.

Normalmente, a amplitude do PPM é superior à necessária para produzir um potencial de ação que leve à contração muscular. A esta amplitude em excesso denominamos *fator de segurança*. [5] O *fator de segurança* depende de vários fatores: quantidade de ACh libertada, sensibilidade do AChR, atividade dos canais de sódio pós-sinápticos e arquitetura das pregas sinápticas. [14]

Na estimulação repetitiva, observa-se uma diminuição progressiva da quantidade de ACh libertada, resultando em PPMs com amplitudes cada vez menores. A este fenómeno denominamos *esgotamento sináptico*. [5] Em condições normais o esgotamento sináptico não é, por si só, capaz de impedir a formação de um potencial de ação, [14] mas quando o fator de segurança já está diminuído, isso pode ocorrer.

2.2 Anatomia e fisiologia da JNM na MG

2.2.1 Anatomia da JNM na MG

A MG afeta a JNM a nível pós-sináptico. As principais alterações anatómicas da JNM na MG são: 1) redução do número de AChR, levando à diminuição do comprimento da membrana pós-sináptica; 2) diminuição do comprimento das pregas sinápticas, devido à destruição das expansões terminais, e 3) alargamento das fendas sinápticas causado pela diminuição do comprimento das pregas. [5] Estas alterações resultam numa membrana pós-sináptica com uma estrutura menos complexa. (Figura 3)

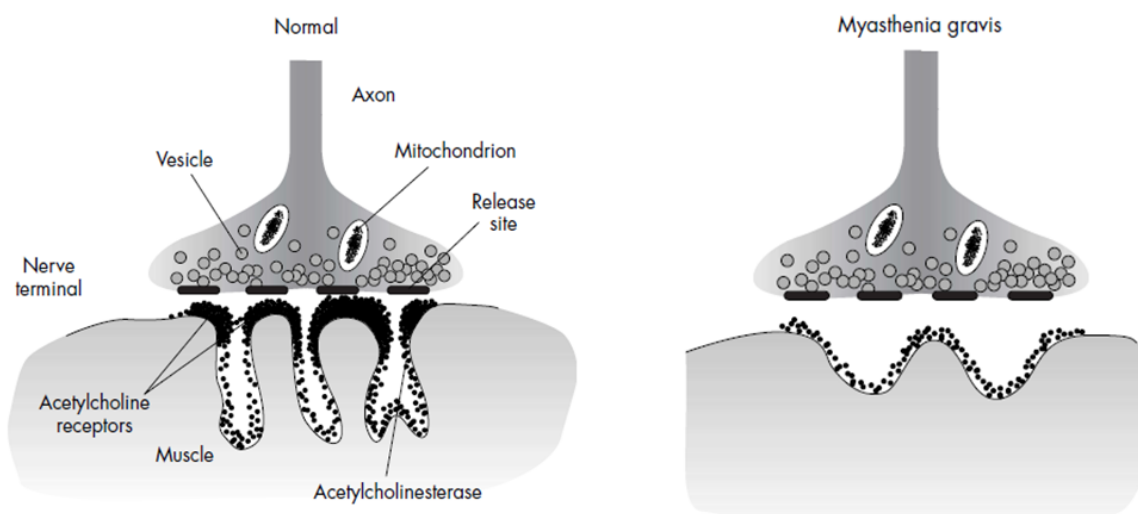


Figura 3 - Estrutura da JNM normal e na MG. À esquerda, esquema da JNM normal. À direita, esquema da JNM na MG: fenda sináptica alargada, redução do número de AChR e simplificação da membrana pós-sináptica. [5]

O primeiro estudo com biopsias musculares em pacientes com MG com anticorpos (AC) anti-MuSK demonstrou que AC anti-Musk não causam perda de AChR nem alterações da estrutura da JNM significativas. [18] Contudo, um estudo posterior revelou anormalidades pré e pós sinápticas (baixos níveis de libertação de ACh pré-sináptica e potenciais de placa motora mínimos menores), suportadas pela histologia que revelou áreas pós-sinápticas parcialmente desnervadas e alguma degeneração das pregas sinápticas. [19]

2.2.2 Função da JNM na MG

Devido às alterações anatómicas, a função da JNM fica comprometida. Na MG, como o número de AChR está reduzido, a quantidade de AChR abertos por cada quantum de ACh vai ser menor, resultando num PPM de menor amplitude. Este efeito, em conjunto com a diminuição das dobras sinápticas e dos canais de sódio dependentes de voltagem da JNM leva à redução do *fator de segurança*.^[14] A redução do *fator de segurança* associada ao fenómeno de *esgotamento sináptico* nas estimulações repetitivas leva à redução progressiva da amplitude do PPM, até que a transmissão neuromuscular é comprometida, surgindo a fraqueza miasténica, caracterizada por cansaço aos esforços.^[5]

3. Imunopatogénese

3.1 Os anticorpos na MG

A MG é uma doença autoimune com produção de AC contra vários constituintes da JNM. Cerca de 80% dos pacientes com MG têm AC anti-AChR e os restantes 20% foram chamados de seronegativos.[20] Até 50% dos pacientes negativos para os AC anti-AChR possuem AC anti-MuSK.[21] Os restantes pacientes são duplamente seronegativos, negativos para AC anti-AChR e AC anti-MuSK, e destes, descobriu-se que alguns possuem outros tipos de AC não identificáveis pelos testes de rotina, tais como, AC anti-AChR de baixa afinidade [22] e AC anti-Lrp4.[23] Também foram descritos AC contra outras proteínas da JNM e contra o músculo estriado esquelético.[24, 25]

Apesar de terem sido descritos tantos tipos de AC na MG, até agora apenas se comprovou o papel patogénico dos AC anti-AChR e anti-MuSK, responsáveis por cerca de 90% dos casos de MG,[26] e dos AC anti-Lrp4.[23]

3.1.1 O papel dos anticorpos anti-AChR

São várias as linhas de evidência que comprovam o papel destes AC na patogénese da MG [5, 27, 28]:

1. Os AC estão presentes em 80-90% dos pacientes com doença generalizada;
2. Encontram-se AC anti-AChR em casos de MG neonatal transitória e o título de AC diminui à medida que o paciente recupera;
3. A transferência passiva de AC de pacientes miasténicos para um modelo animal produz doença clinicamente semelhante;
4. A redução nos níveis de AC por plasmaferese, relaciona-se com a melhoria da doença;
5. Os AC ligam-se ao AChR na JNM;
6. Pode ser produzido um modelo experimental de MG (EAMG) pela imunização de vários animais com AC anti-AChR purificados.

Os AC anti-AChR comprometem a transmissão nervosa pelos seguintes mecanismos: ativação do complemento, modulação antigénica e bloqueio funcional do AChR.[29] (figura 4)

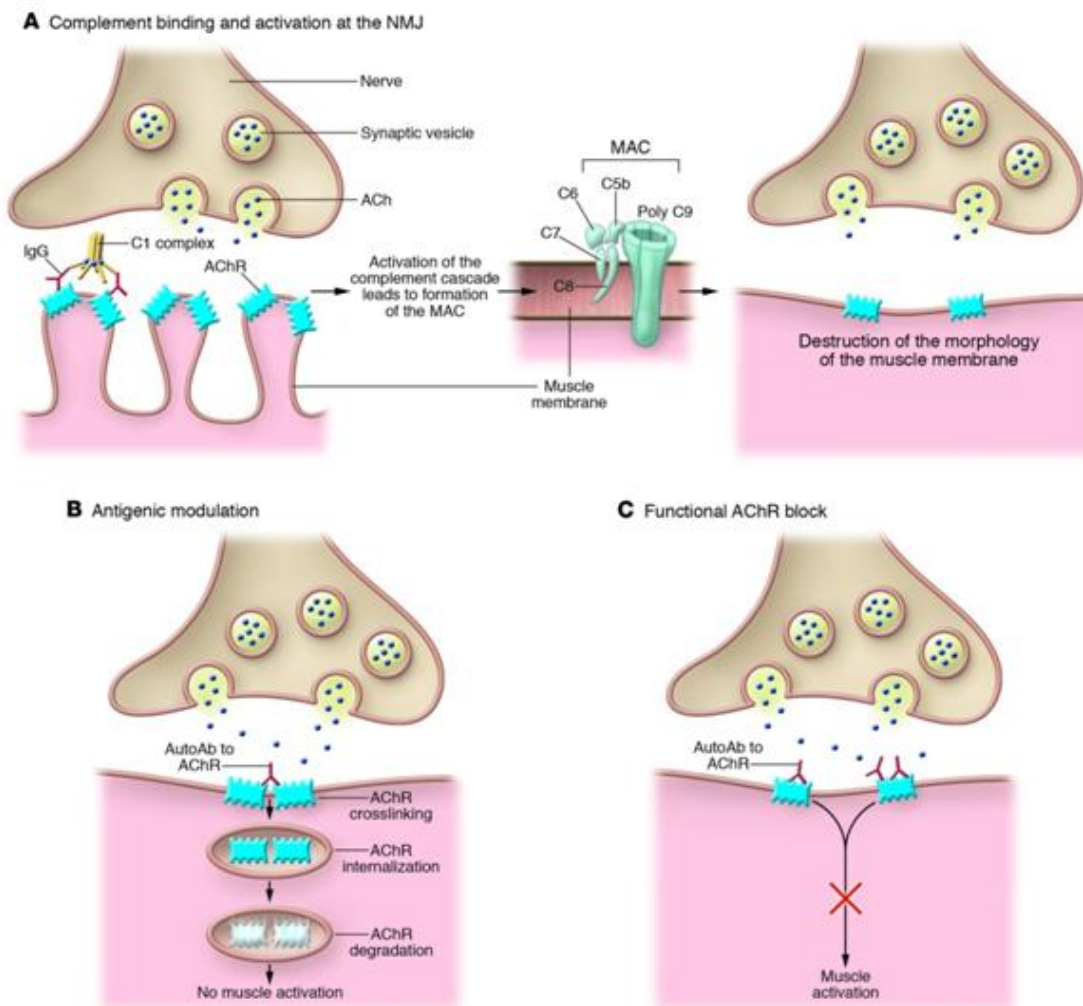


Figura 4 - Mecanismos de ação dos AC anti-AChR. ACh, acetilcolina; AChR, recetor de acetilcolina; AutoAb, auto-anticorpos; IgG, imunoglobulina G; MAC, Complexo de Ataque à Membrana. NMJ, junção neuromuscular. Imagem retirada da referência.[13]

A **modulação antigénica** consiste na ligação cruzada do AC com duas moléculas antigénicas neste caso, 2 AChR, que induz uma mudança na conformação do AChR, desencadeando uma via de sinalização que resulta na endocitose acelerada e degradação dos recetores.[13, 29]

Nem todos os AC anti-AChR causam modulação antigénica. Por vezes, a localização do epítipo na superfície do AChR impede a capacidade dos AC estabelecerem uma ligação cruzada com uma segunda molécula de AChR. A modulação antigénica é consequência da natureza bivalente dos auto-AC IgG1, IgG2 e Ig3. Os AC IgG4 são monovalentes, o que significa que não conseguem fazer a ligação cruzada.[29]

A **ativação do complemento** danifica a membrana pós-sináptica. As pregas pós-sinápticas perdem-se, devido à lise pelo complexo de ataque à membrana.[30]

O **bloqueio funcional** do AChR devido à ligação dos AC é um mecanismo patogénico incomum na MG mas pode ser clinicamente importante, causando fraqueza muscular aguda e severa em roedores sem inflamação ou necrose da JNM.[31]

3.1.2 O papel dos anticorpos anti-MuSK

MuSK é essencial para iniciar a aglomeração dos AChR durante o desenvolvimento do músculo atuando na via *Agrin/Lrp4/MuSK/Rapsyn/AChR*. A diferenciação da membrana pós-sináptica depende da *Agrin*, um proteoglicano produzido no neurónio motor e libertado pela terminação nervosa. *Agrin* forma um complexo com a *Lrp4* e ativa a *MuSK*. Através da associação com uma proteína citoplasmática chamada *Rapsyn*, a *MuSK* leva finalmente à aglomeração dos AChR e de outros componentes pós-sinápticos.[32]

Para além de exercer um papel fundamental no desenvolvimento da JNM, a MuSK também é essencial na manutenção da integridade estrutural e funcional da JNM do adulto.[33]

Como AC anti-MuSK não pareciam causar perda substancial de AChR ou deposição de complemento,[18] sugeriu-se que os mecanismos patogénicos na MG anti-MuSK diferiam dos da MG anti-AChR. Um estudo posterior investigou os efeitos do soro de pacientes com MG, contendo AC anti-MuSK, em culturas de células musculares. Neste estudo observou-se que alguns soros inibiam a proliferação celular e diminuía a expressão das subunidades de AChR, Rapsyn, e de outras proteínas musculares.[34]

Os AC anti-MuSK ligam-se aos domínios extracelulares da MuSK. Ao contrário dos AC anti-AChR (IgG1 e IgG3), os AC anti-MuSK são principalmente IgG4, não se ligando eficientemente ao complemento.[35] Contudo, sugeriu-se recentemente que os pacientes com AC anti-MuSK poderão ter no soro um fator ativador do complemento e que via alternativa do complemento poderá estar envolvida na patogénese da doença.[36]

3.1.3 Anticorpos na MG duplamente seronegativa

O facto das características clínicas da MG seronegativa se assemelharem mais à MG anti-AChR do que à MG anti-MuSK resultou na colocação da seguinte hipótese: nesses pacientes, os AC anti-AChR teriam níveis muito baixos ou baixa afinidade para o recetor e, portanto, os testes de rotina não os detetavam e eram classificados como seronegativos, sem realmente o serem. Esta hipótese foi confirmada num estudo de Angela Vincent e seus colaboradores [22] que, usando um teste inovador, revelou AC anti-AChR de baixa afinidade em 2/3 dos pacientes anteriormente classificados como seronegativos.

Para além disso, descobriu-se que cerca de metade dos pacientes com MG duplamente negativa (negativa para os AC anti-AChR e AC anti-MuSK) têm AC anti-Lrp4. Os AC anti-Lrp4 são patogénicos e causam fraqueza muscular interferindo no complexo Agrin/Lrp4/MuSK. [23] Estes AC impedem a ligação de Lrp4 ao seu ligando e pertencem predominantemente à subclasse IgG1, um ativador do complemento. Estes achados indiciam o envolvimento de AC anti-Lrp4 na patogénese da AChR MG-anticorpo negativo. [37]

3.1.4 Anticorpos anti-músculo estriado

Alguns pacientes com MG possuem AC que se ligam ao tecido muscular cardíaco e esquelético e são chamados de AC anti-músculo estriado. [24]

Os AC anti-titin, anti-RyR e anti-Kv1.4. têm sido bastante estudados por diversos investigadores. Titin é uma proteína gigante, abundante nos sarcómeros dos músculos esquelético e cardíaco e participa na montagem e elasticidade do sarcómero [26, 38]; RyR é um canal de cálcio localizado no retículo endoplasmático que participa na contração muscular através da libertação de cálcio do sarcolema para o citoplasma [26, 39] e o Kv1.4 é uma subunidade- α do canal de potássio dependente de voltagem que se localiza principalmente no cérebro, nervos periféricos e músculos esqueléticos e cardíaco. [40]

Os AC anti-titin, anti-RyR e anti-Kv1.4 encontram-se frequentemente em pacientes com MG de início tardio e com timoma e podem estar relacionados com a severidade da doença. [24, 26, 40, 41] Estes três tipos de AC apresentam-se frequentemente em pacientes com miosite e/ou miocardite. [24] O AC anti-Kv1.4 é um marcador útil para o desenvolvimento potencial de miocardite autoimune fatal e da resposta a inibidores da calcineurina. [24]

Embora os AC anti-titin e anti-RyR possam ativar o complemento *in vitro* pela via mediada pelo IgG1 [42] e a presença de AC anti-titin se correlacione com evidências eletromiográficas de miopatia [43] isto não prova que os AC anti-músculo esquelético possam ter realmente algum papel patogénico na MG. [39]

Na realidade, é sobretudo a nível diagnóstico e prognóstico que se encontra a relevância destes AC. Testes conjuntos para AC anti-AChR, anti-AChE, anti-titin e anti-RyR poderão ser um método de diagnóstico superior à deteção isolada de cada tipo de AC. Para além disso, a combinação do AC anti-titin com a Tomografia Computorizada melhora o diagnóstico de timoma. [41]

3.1.5 Outros tipos de anticorpos

O AC contra o recetor diidropiridina (DHPR) foi encontrado em 37% dos pacientes com MG e timoma. Este AC é um marcador adicional do timoma na MG e pode ter algum papel nos sintomas clínicos relacionados com o acoplamento excitação-contração muscular.[44]

AC neutralizadores do GM-CSF, IFN- α , IFN- Ω e IL-12 podem estar presentes na MG com timoma ou de início tardio, tal como os AC anti-titin e anti-RyR. A origem e o papel patogénico destes AC não são claros mas sugeriu-se uma autossensibilização do tecido do timoma contra as citocinas derivadas de células dendríticas.[45]

Um grande número de AC adicionais, tem sido registado nos pacientes com MG: AC contra outras proteínas e canais da JNM, proteínas de choque térmico, recetores β -adrenérgicos, complemento, trombócitos, fosfatase alcalina ou associados a outras doenças autoimunes, mas o seu significado é incerto.[46]

3.2 O Papel dos Linfócitos

Os linfócitos T são as células principais da imunidade celular e têm um papel determinante na síntese de AC anti-AChR.[13]

A síntese de AC pressupõe a interação de linfócitos T CD4⁺ com os linfócitos B que, conseqüentemente, produzem AC anti-AChR de baixa afinidade. Isto desencadeia mutações somáticas dos genes de imunoglobulinas que produzem um grande leque de linfócitos B. Os linfócitos B que se ligam fortemente ao antígeno são selecionados positivamente, culminando-se finalmente na síntese de AC de alta afinidade.[13]

Os linfócitos T “helper” (Th) ajudam outras células imunitárias a desempenharem as suas funções, nomeadamente os linfócitos B a produzirem AC.[47]

Em condições normais, o sistema imunitário possui um mecanismo de manutenção da tolerância imunitária a antígenos do próprio organismo. Ao longo do seu desenvolvimento, linfócitos T e B que reajam contra o próprio, são eliminados por seleção negativa. Por outro lado, existem também os linfócitos T reguladores (Treg) capazes de suprimir respostas imunológicas específicas.[47] Na MG o mecanismo de tolerância falha e são produzidos auto-AC contra um antígeno principal, o AChR.

Há vários estudos que evidenciam o papel dos linfócitos na MG. Pacientes com MG apresentam, no sangue e no timo, linfócitos T CD4⁺ com função de Th específicos para o AChR [48] e melhoram com AC anti-CD4⁺. [49] Para além disso, em pacientes com SIDA e MG, a redução das contagens de CD4⁺ melhora os sintomas de MG.[50] Cobaias com deficiência genética de linfócitos T CD4⁺ não desenvolvem EAMG.[51]

3.3 O Papel do Timo

É no timo que ocorre o reconhecimento dos antígenos do próprio organismo. Eles são apresentados aos linfócitos T pelas células apresentadoras de antígenos (APC) associadas ao complexo major de histocompatibilidade (MHC). Este processo é fundamental na modulação do repertório de linfócitos T que ficarão posteriormente disponíveis para reconhecimento de antígenos estranhos (seleção positiva) e na eliminação de células T auto-reativas (seleção negativa). Após a maturação e seleção, os linfócitos T CD4+ e CD8+ deixam o timo e migram para o sistema imune periférico. Os linfócitos T desempenham um papel importante na diferenciação dos linfócitos B em plasmócitos, com a consequente produção de AC.[52]

Sendo o timo essencial para a produção de AC e responsável por manter a tolerância dos AC ao próprio organismo, pensa-se que ele seja determinante no desenvolvimento da MG.[26]

Há três principais linhas de evidência do envolvimento do timo na MG anti-AChR:

1. A maioria dos pacientes com MG anti-AChR tem alterações patológicas do timo, como hiperplasia, em 60-70% dos casos, ou timoma, em 10-12% dos casos [27];
2. O timo possui todos os elementos necessários para iniciar uma resposta autoimune AChR-específica [53];
3. A doença frequentemente melhora ou cura com a timectomia.[28]

As alterações patológicas do timo surgem em mais de 80% dos pacientes com MG anti-AChR generalizada e incluem: hiperplasia folicular, hiperplasia difusa ou timite, timoma e involução tímica. Hiperplasia é a alteração mais comum na MG de início precoce, enquanto na MG de início tardio são mais frequentes o timoma e a involução do timo.[54]

3.3.1 Hiperplasia do timo

O timo com hiperplasia folicular, caracteriza-se por infiltrados de células B que se organizam em centros germinativos ectópicos - estruturas especializadas na expansão e maturação de afinidade dos clones de células B.[28, 54] As células mioides (células semelhantes às musculares), células epiteliais tímicas e os plasmócitos presentes no timo expressam o AChR à sua superfície.[55-57] Para além disso, linfócitos T reativos contra o AChR também estão presentes, estimulando a produção de AC anti-AChR pelos linfócitos B. Deste modo, estão reunidos todos os elementos necessários a uma resposta autoimune de linfócitos T e B contra os AChR.[26]

A hiperplasia difusa é similar à hiperplasia folicular mas os centros germinativos estão ausentes.[54]

Em pacientes com MG e hiperplasia tímica folicular ou difusa, as quimiocinas CXCL13 e CCL21 estão hiperexpressas e o número de linfócitos B infiltrativos também está aumentado. A evidência de que o nível destas quimiocinas e também o número de centros germinativos diminui após o tratamento com corticosteroides sugere que a CXCL13 e a CCL21 podem desempenhar um papel patológico na MG aumentando o recrutamento de linfócitos para o timo e no desenvolvimento dos centros germinativos.[58, 59]

Para além disso, também existe aumento da expressão de fatores de crescimento de células B, dum ligando indutor da proliferação (APRIL) e do fator ativador de células B (BAFF) indicando um ambiente favorável à sobrevivência das células B.[60]

3.3.2 Timoma

Na MG, os timomas são neoplasias derivadas de células epiteliais do timo, frequentemente do subtipo cortical [61] e, como quase não têm medula, não há linfócitos B nem centros germinativos. Para além disso, as células mioídes que expressam a subunidade α do AChR também estão ausentes, o que sugere que o processo autoimune deverá ser diferente do da hiperplasia.[62]

O timoma parece expressar subunidades individuais do AChR e há evidências de que ele exporta linfócitos T CD4+ e CD8+ [63] que podem ter sido sensibilizados por antígenos tímicos e é provável que a resposta humoral ocorra na periferia.[64]

Curiosamente, há determinados tipos de AC associados mais frequente ao timoma. Os AC anti-músculo estriado encontram-se em 90% [5] e os AC anti-DHPR em 37% dos pacientes com MG e timoma.[44] AC contra o GM-CSF, IFN- α , IFN- Ω e IL-12 também podem estar presentes.[45] Contudo, ainda não se definiu o papel destes AC na patogénese da MG.

3.3.3 Alterações do timo em MG anti- MUSK e MG duplamente seronegativa

Pacientes com MG anti-MuSK têm alterações histológicas mínimas e proporções variáveis de pacientes seronegativos apresentam alterações hiperplásicas.[65, 66] Nestes doentes o papel do timo na fisiopatologia da MG permanece por esclarecer.[54]

3.4 Possíveis Fatores Iniciadores da Resposta Autoimune

Embora se saiba já muito sobre a fisiopatologia e imunopatogénese da MG, o desencadeante inicial, verdadeira causa da doença, continua por decifrar. Pensa-se que um agente externo como uma infeção bacteriana ou viral possa estar implicado. Um desequilíbrio hormonal como na gravidez ou parto, ou uma produção desregulada de neuropeptídeos, como no stress emocional também podem estar implicados.[67]

Os principais fatores ambientais que parecem estar envolvidos na patogénese da MG são as infeções virais. Elas podem desenvolver autoimunidade por ativação geral do sistema imunitário do hospedeiro e por mimetismo molecular. O vírus promove a autossensibilização, iniciando uma resposta imune inata que estimula a inflamação que, por sua vez, ativa o sistema imunitário do hospedeiro.[68]

Atualmente equaciona-se o papel da inflamação crónica do timo e de certos vírus como vírus Epstein-Barr (EBV) e o poliovírus na iniciação e perpetuação da resposta imune na MG. Cavalcante e seus colaboradores, têm investigado o possível papel do EBV na patogénese da MG. Num primeiro estudo demonstraram a presença de infeção por EBV ativa (nas células B) em todos os timos com MG estudados e a sua ausência em todos dos timos controlo,[69] sugerindo uma possível relação desta infeção com a MG. Contudo, no mesmo contexto, surgem dois estudos que revelam ausência de infeção por EBV em todos os casos estudados [70] ou apenas níveis muito baixos deste vírus, encontrados em apenas 6 dos 16 timos hiperplásicos estudados.[71] Contudo, estes resultados podem dever-se, no primeiro caso, a uma menor sensibilidade das técnicas usadas e no segundo, à pequena dimensão da amostra, em relação ao estudo inicial. Um estudo posterior de Cavalcante e seus colaboradores confirma e aumenta as evidências anteriores de inflamação e infeção viral no timo de pacientes com MG. De facto, o estudo revelou hiperexpressão de genes envolvidos na resposta inflamatória e imune e confirmou a presença de infeção por EBV em todos timos com MG estudados.[72] Globalmente, estes dados sugerem a inflamação e a infeção por EBV como características patogénicas nos timos com MG.

Um estudo adicional revelou evidências de infeção crónica do timo pelo poliovírus em alguns timos de pacientes com MG,[73] o que reitera que a persistência de vírus no timo possa ser responsável pelas respostas imunes e pela autossensibilização.

4. Tratamento Atual da MG

Tal como revisto nos capítulos anteriores, a MG resulta de um processo autoimune que envolve anomalias nos diversos componentes do sistema imunitário, incluindo alterações patológicas do timo, produção de linfócitos T auto-reativos e hiperestimulação de linfócitos B com produção de AC dirigidos aos diversos componentes da JNM. As opções terapêuticas atualmente disponíveis atuam, portanto, nesses diferentes níveis, como exposto na figura 5 e na tabela 1.

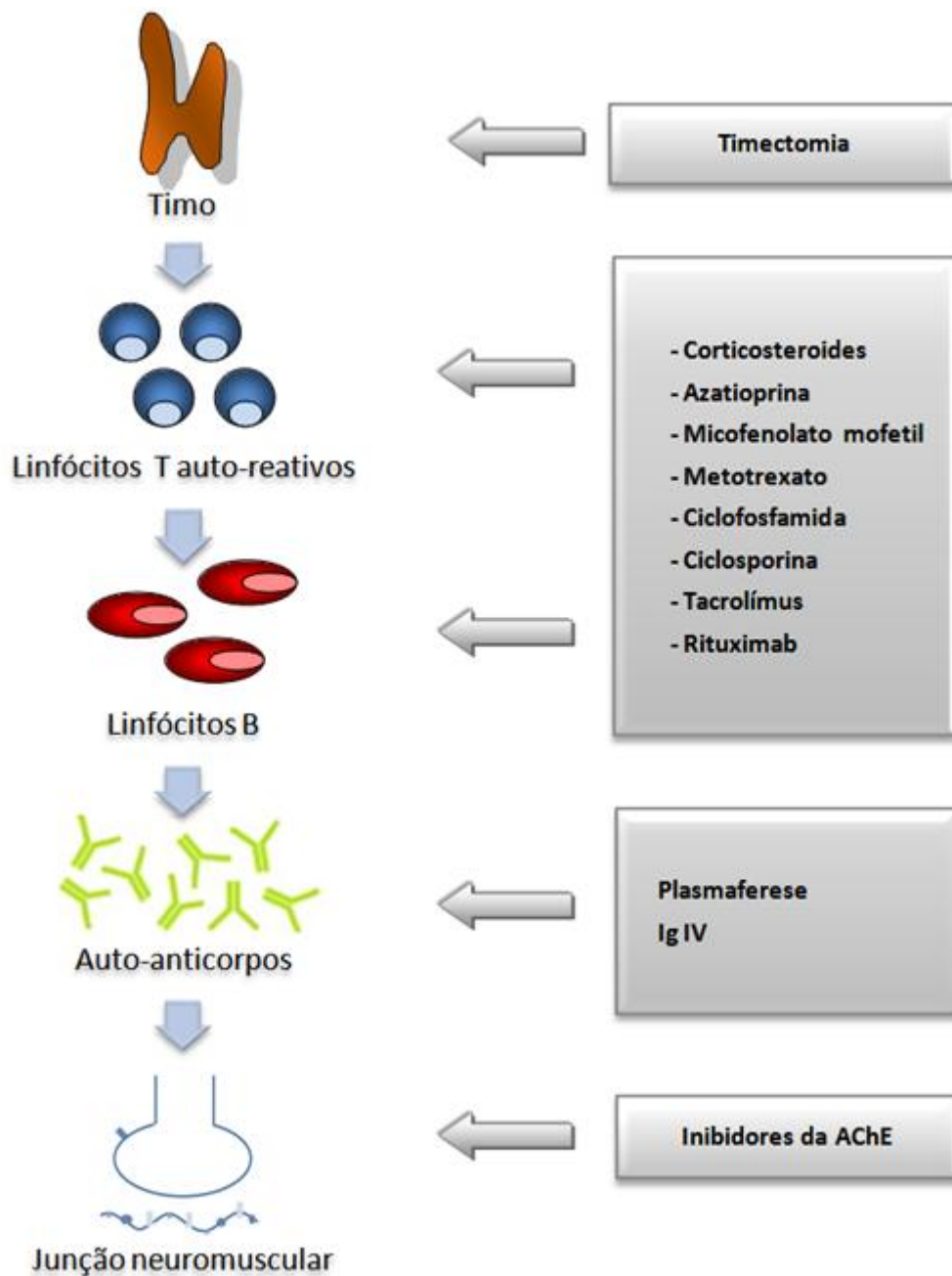


Figura 5 - Etapas imunopatológicas da MG e opções terapêuticas. AChE, acetilcolinesterase. IgIV, imunoglobulina intravenosa.

4.1 Timectomia

Segundo as *Guidelines* Europeias, a timectomia é obrigatória em pacientes com timoma e é recomendada em pacientes sem timoma, como opção para aumentar a probabilidade de remissão ou melhoria, particularmente, pacientes com MG anti-AChR generalizada de início recente.[74]

Há várias abordagens cirúrgicas para a timectomia: esternotomia completa ou parcial, transcervical e toracoscópica. Não existem estudos randomizados e controlados sobre a timectomia na MG e é difícil comparar os resultados das diferentes técnicas cirúrgicas, mas os resultados são provavelmente similares.[74]

4.1.1 MG com timoma

A timectomia está sempre indicada em pacientes com timoma, tendo como objetivos a ressecção da neoplasia e o tratamento da MG, mas nem sempre ocorre remissão da doença. De facto, nestes pacientes o curso da MG é normalmente mais severo. No caso de timomas agressivos, radioterapia local ou quimioterapia podem ser necessárias. Após tratamento do timoma aconselha-se a monitorização a longo prazo com tomografia computadorizada ou ressonância magnética.[75]

4.1.2 MG sem timoma

O mecanismo pelo qual a timectomia beneficia potencialmente pacientes com MG generalizada sem timoma ainda não está totalmente compreendido, mas pode envolver o comprometimento da produção de AC anti-AChR pelas células B.[75]

Avaliação baseada na evidência apenas mostrou que a timectomia possivelmente poderia aumentar a probabilidade de remissão.[76]

Atualmente não existem estudos controlados da timectomia em pacientes com MG, mas está a decorrer um estudo randomizado, duplo-cego, prospetivo, internacional, da timectomia em pacientes com MG sem timoma.[77]

Timectomia não é recomendada em pacientes com AC anti-MuSK, devido ao aspeto patológico do timo, que difere bastante do da MG com AC anti-AChR.[65]

Nos pacientes duplamente seronegativos, a patologia tímica é similar à MG anti-AChR clássica e estes devem ser timectomizados.[65]

A remissão da MG com a timectomia ocorre mais frequentemente em pacientes jovens, com curta duração de doença, timo hiperplásico, sintomas mais graves e com título de AC elevado, embora um alto título de AC não esteja consistentemente associado a melhores resultados.[78]

4.2 Corticosteroides

Na MG, quando o tratamento imunossupressor é necessário, os corticosteroides orais são os fármacos de primeira linha.[74] A *prednisolona* oral é o imunossupressor mais frequentemente usado.[75]

O mecanismo de ação dos corticoides é bastante complexo. Pensa-se que atuam no sistema imunitário diminuindo a produção de certas citocinas,[79] inibindo os linfócitos T e comprometendo a função monocítica e/ou macrofagocítica.[75]

Apesar de não existirem estudos controlados sobre o efeito dos corticoides,[74, 80] estudos observacionais registaram remissão ou melhoria marcada em 70-80% dos pacientes com MG tratados com corticosteroides orais. Segundo esse estudo, o tempo médio para se obter pelo menos uma melhoria marcada foi de cerca de 3 meses e o benefício máximo foi atingido entre os 5 e os 6 meses de tratamento.[81]

O uso de corticoides a longo prazo está associado a efeitos adversos significativos, nomeadamente, hipertensão, diabetes, hemorragias gastrointestinais, osteoporose, cataratas, glaucoma, aumento do peso, infecções, distúrbios psiquiátricos, insónia e leucocitose.[75, 82]

Recomenda-se iniciar bifosfonatos e antiácidos em conjunto com os corticoides.[74]

4.3 Imunossupressores

4.3.1 Inibidores da Síntese de DNA e RNA

A *azatioprina* é um imunossupressor em uso crescente.[74] É um pró-fármaco hepaticamente metabolizado a 6-mercaptopurina, que interfere com a síntese de nucleótidos bloqueando a proliferação dos linfócitos T.[79]

Não existem evidências científicas formais dos seus efeitos na MG, porém, um estudo controlado revelou superioridade da combinação prednisolona-azatioprina em relação ao uso isolado da prednisolona. Com a azatioprina as remissões foram mais longas, as falências terapêuticas menos numerosas, os efeitos adversos menores e também permitiu doses de manutenção de prednisolona inferiores.[83]

Segundo as *Guidelines para o tratamento das doenças autoimunes da transmissão neuromuscular*, quando é necessária imunossupressão a longo prazo, recomenda-se iniciar azatioprina, em conjunto com os corticoides, para permitir reduzir gradualmente os esteroides à dose mais baixa possível, mantendo a azatioprina.[74] Apesar de ser usada mais frequentemente como agente “poupador” de esteroides, a azatioprina é usada ocasionalmente como terapia inicial e como adjuvante em pacientes com respostas

incompletas aos corticoides.[79] Todavia, o atraso de 4 a 8 meses do seu início de ação limita o seu uso como tratamento inicial de pacientes com MG sintomática.[79]

A azatioprina é geralmente bem tolerada, mas em 10% dos pacientes, e principalmente nos primeiros dias de tratamento, ocorrem sintomas gripais ou distúrbios gastrointestinais incluindo pancreatite.[74] Alguns pacientes desenvolvem hepatite e mielossupressão.[79]

É obrigatória a monitorização cuidada das contagens das células sanguíneas e das enzimas hepáticas e as doses devem ser ajustadas de acordo com os resultados.[74]

Pacientes com mutações nos genes da tiopurina metiltransferase (TPMT) têm um risco aumentado de mielossupressão induzida pela azatioprina [74]; Antes de se iniciar o tratamento com este fármaco, o gene TPMT pode ser avaliado por um método farmacogenómico que testa os seus polimorfismos, identificando os pacientes de risco.[84]

O **micofenolato mofetil** é convertido no seu metabolito ativo, ácido micofenólico, e inibe a proliferação dos linfócitos T através da inibição da síntese de purinas.[75]

Apesar dos resultados de estudos anteriores sobre o efeito do micofenolato mofetil na MG serem promissores, ensaios randomizados controlados não confirmaram a eficácia deste fármaco na MG.[85, 86]

Contudo, dado que este fármaco é normalmente bem tolerado e apresenta um perfil de efeitos adversos relativamente favorável, ele pode ser experimentado em pacientes intolerantes ou não responsivos à azatioprina.[74, 75]

Os efeitos adversos frequentes do micofenolato mofetil são leves, nomeadamente, cefaleias, náuseas e diarreia. Efeitos mais graves incluem infeções, hepatotoxicidade e mielossupressão, mas ocorrem apenas ocasionalmente.[75]

O **metotrexato** é um fármaco anti-folato que inibe a ação da dihidrofolato redutase que catalisa a conversão do dihidrofolato em tetrahidrofolato ativo. O ácido fólico e o folato são necessários para a síntese de purinas e pirimidinas.[87] Deste modo, o metotrexato bloqueia a síntese de DNA e RNA e tem um efeito mais potente em células em divisão rápida.[88]

Não há estudos disponíveis sobre o uso do metotrexato na MG. Contudo o fármaco pode ser considerado em pacientes resistentes a todas as outras opções terapêuticas.[74, 82] Um estudo clínico de fase II sobre a eficácia do metotrexato está a decorrer.[89]

Um estudo duplo-cego recente, comparou o efeito “poupador” de corticoides do metotrexato *versus* azatioprina. Os resultados revelaram que o metotrexato tem eficácia e tolerabilidade semelhantes à azatioprina e, pode ser o fármaco de escolha em sistemas de saúde financeiramente limitados, visto ser um fármaco mais custo-efetivo.[90]

A **ciclofosfamida** é um agente alquilante com propriedades imunossupressoras. É um supressor forte da atividade dos linfócitos B e da síntese de AC e, em altas doses, também afeta os linfócitos T.[74]

Um estudo randomizado, duplo-cego, incluindo 23 pacientes com MG, avaliou os efeitos da prednisolona com ciclofosfamida *versus* prednisolona com placebo. Os pacientes tratados com ciclofosfamida evidenciaram melhoria significativa da força muscular e necessidades de doses menores de esteroides, quando comparados com o grupo placebo.[91]

Apesar da sua eficácia como imunossupressor e “poupador” de corticoides, o risco relativo de toxicidade, incluindo supressão da medula óssea, infecções oportunistas, toxicidade da bexiga, infertilidade e neoplasias limita o uso deste fármaco a pacientes intolerantes ou não responsivos às associações de corticoides com azatioprina, metotrexato, ciclosporina ou micofenolato mofetil.[74]

4.3.2 Inibidores da via de Ativação dos Linfócitos T (inibidores da calcineurina)

A **ciclosporina** foi desenvolvida para prevenir a rejeição no transplante de órgãos, mas revelou-se eficaz no tratamento de doenças autoimunes, incluindo a MG.[74, 79] A sua ação exerce-se pela inibição da calcineurina, proteína indutora da proliferação dos linfócitos T e da produção de IL-2.[74, 79]

Apesar da sua eficácia na MG, o seu uso é limitado pelos efeitos colaterais significativos de nefrotoxicidade, hipertensão e neoplasias malignas.[74, 75]

Segundo as Guidelines Europeias, a ciclosporina deve ser considerada apenas em pacientes intolerantes ou não responsivos à azatioprina.[74]

Um estudo que pretendia avaliar quais os fatores clínicos da MG associados à resposta aos inibidores da calcineurina revelou que estadios precoces da doença e a MG associada a timoma respondiam ao tratamento com inibidores da calcineurina.[92]

O **tacrolimus** é um macrólido da mesma classe imunossupressora da ciclosporina e inibe a proliferação das células T ativadas através da via cálcio-calcineurina.[74] Também atua na libertação de cálcio do retículo sarcoplasmático, mediada pelo recetor RyR, para potenciar o acoplamento excitação-contração no musculo esquelético.[93]

Curiosamente, pacientes com AC anti-RyR (e potencialmente disfunção do acoplamento excitação-contração) têm uma resposta rápida ao tratamento, indicando um efeito sintomático na força muscular para além da imunossupressão.[94]

Nas doses usadas na MG, o tacrolímus parece ser relativamente seguro e pode ser considerado como tratamento de terceira linha.[75] O tacrolímus deve ser experimentado em pacientes com MG mal controlada, especialmente em pacientes com AC anti-RyR.[74]

Efeitos adversos comuns incluem elevação ligeira da creatinina sérica, hipertensão, cefaleias, hiperglicemia, tremor, parestesia, linfopenia, neutrocitose e risco de neoplasias malignas aumentado.[75]

4.3.3 Supressores dos Linfócitos B

Sendo a MG o protótipo das doenças autoimunes mediadas por AC, o **rituximab** ou outras terapias direcionadas aos linfócitos B, surgem como alternativas bastante promissoras. e é necessário continuar a investigação neste campo.

O rituximab é um AC monoclonal dirigido ao antigénio CD20, uma proteína que surge na célula pré-B mantendo-se nos linfócitos B maduros, mas é perdida com a maturação dos linfócitos a plasmócitos.[95] O rituximab provoca lise dos linfócitos B por três mecanismos principais, nomeadamente, ativação do complemento e formação do complexo de ataque à membrana, citotoxicidade celular dependente de AC e apoptose.[96, 97]

Até agora, há vários relatos de casos de MG refratária, anti-AChR positiva ou anti-MuSK positiva, que melhoraram com o rituximab.[98-101] Foi publicado recentemente um estudo sobre a resposta ao rituximab em pacientes com MG, no qual se observou uma melhoria clínica sustentada nos 14 pacientes estudados, bem como uma redução das necessidades uso de corticoides e plasmaferese, e os títulos de AC anti-AChR diminuíram.[102]

Contudo, como o rituximab tem um risco elevado de leucoencefalopatia multifocal e de outros efeitos adversos a longo prazo, os benefícios provavelmente não superam os riscos em pacientes com MG leve, e esta modalidade terapêutica deve ser reservada apenas para pacientes com MG severa na qual o tratamento com corticoides e outros dois imunossupressores falhou.[80]

Estudos prospetivos sobre a eficácia, segurança e farmacocinética deste agente, nos pacientes com MG, deverão ser levados a cabo.

4.4 Plasmaferese e IgIV

Ao contrário da maioria das opções terapêuticas da MG, a plasmaferese e as imunoglobulinas intravenosas (IgIV) permitem uma imunomodulação a curto-prazo, resultando numa resposta clínica drástica após 2 a 3 dias.[80] Dado o seu rápido início de ação, estas modalidades

terapêuticas estão indicadas durante agravamentos agudos da doença incluindo as crises miastênicas e no período pré-operatório de doentes com MG.[74]

O mecanismo básico de ação da plasmaferese é a remoção rápida de AC circulantes, citocinas, complexos imunes e outros mediadores inflamatórios do plasma.[75]

O mecanismo de ação das IgIV na MG não é completamente compreendido mas inclui, interferência na via de sinalização dos recetores Fc das células inflamatórias, neutralização do complemento ativado, supressão de AC idiotípicos, e modulação de citocinas pró-inflamatórias.[75]

Os principais efeitos adversos da plasmaferese são os relacionados com os acessos vasculares, tais como, infeção, trombose, pneumotórax e embolismo gasoso. A mobilização de grandes volumes sanguíneos também pode causar hipovolémia ou excesso de fluidos e insuficiência cardíaca congestiva.[75]

A IgIV tem menos efeitos adversos e são menos severos que os da plasmaferese.[80]

A escolha entre a plasmaferese e IgIV baseia-se na opinião do especialista e na probabilidade do doente tolerar o tratamento. Como a IgIV é administrada mais facilmente e está associada a menos efeitos adversos que a plasmaferese, ela é normalmente preferida.[75]

4.5 Inibidores da AChE

Os inibidores da AChE impedem hidrólise da ACh ao nível da JNM, prolongando a sua disponibilidade para a ligação aos AChR, aumentando a probabilidade de uma transmissão neuromuscular bem-sucedida.[79]

Apesar de não influenciarem a história natural do processo autoimune dirigido à JNM, os inibidores da AChE melhoram a força muscular temporariamente [79] posicionando-se em primeira linha, como tratamento sintomático da MG.[75]

A *piridostigmina* é o inibidor da AChE mais utilizado; a sua ação inicia-se rapidamente, cerca de 30 minutos após a toma, atinge um máximo às 2 horas e prolonga-se por cerca de 3 a 4 horas.[82]

Não há estudos randomizados controlados destes fármacos mas alguns relatos de casos e a experiência clínica demonstram um efeito clínico notável e objetivo.[74]

De acordo com as *Guidelines* Europeias, os inibidores da AChE são o tratamento de primeira linha em todas as formas de MG. Eles são especialmente úteis no tratamento inicial da MG recém-diagnosticada, e como terapia única, a longo prazo, na MG leve. Em pacientes com AC anti-MuSK, frequentemente hipersensíveis à ACh, os inibidores da AChE devem ser fornecidos com cautela.[74]

Devido à acumulação da acetilcolina nas sinapses muscarínicas e nicotínicas, os inibidores da AChE apresentam vários efeitos adversos, contudo, são dependentes da dose e têm um carácter autolimitado. Os pacientes podem apresentar efeitos muscarínicos, nomeadamente, hipermotilidade intestinal, sudorese profusa, secreções respiratórias e gastrointestinais aumentadas e bradicardia, ou nicotínicos, como as fasciculações e câibras musculares. [74, 79]

5. Tratamento Futuro da MG

5.1 Etanercept (anti-TNF- α)

O Etanercept, é um recombinante solúvel do recetor Fc do TNF que pode ligar-se a duas moléculas diferentes: ao TNF- α e ao TNF- β . [103] Este fármaco bloqueia interação do TNF com os seus recetores nas superfícies celulares, tornando-o biologicamente inativo. [103] Isso permite-lhe modular as respostas biológicas induzidas pelo TNF, como a expressão de moléculas de adesão e os níveis de citocinas séricas como a IL-6 e proteínases. [104]

O TNF- α é uma proteína pró-inflamatória produzida por monócitos e macrófagos [103] que parece ter um papel no desenvolvimento da MG [105] e da EAMG. [106] Embora não se saiba a forma específica de atuação do TNF na imunopatogénese da MG, as evidências atuais sugerem que o TNF pode promover a doença atuando em conjunto com outras citocinas, influenciando a resposta imunitária e contribuindo também para a produção de AC anti-AChR. [107]

Na EAMG, o bloqueio da interação do TNF com os seus recetores melhorou a fraqueza muscular quando comparado com os roedores tratados com placebo. [108] Mais recentemente, Rowin e seus colaboradores, conduziram um ensaio clínico piloto em doentes com MG dependentes de corticosteroides. Apenas 6 dos 11 doentes melhoraram após um ciclo de 6 meses de tratamento com o etanercept. Um dos pacientes teve um agravamento agudo severo da MG, provavelmente relacionado com um aumento do TNF- α circulante, [109] sugerindo que o etanercept pode, em alguns pacientes, hiper-regular a resposta de citocinas e, como as citocinas estão implicadas no desenvolvimento de MG, estes pacientes podem piorar durante o tratamento da MG. [109] Para além disso, o etanercept pode estar associado a várias complicações neuromusculares, incluindo a própria MG. [110]

São necessários mais estudos para determinar a eficácia e os efeitos adversos do etanercept na MG.

5.2 Inibidores do complemento

Um estudo recente no modelo animal da MG, EAMG, revelou resultados promissores quanto à eficácia do inibidor do complemento C5, rEV576. Neste estudo, foram utilizados os modelos ativos e passivos de EAMG para investigar a atividade terapêutica do rEV576. Roedores tratados com rEV576 demonstraram redução da severidade da doença e menor deposição de C9 na JNM. [111] Estes achados sugerem que, no futuro, os inibidores do complemento poderão vir a constituir uma boa alternativa terapêutica na MG.

5.3 Terapia celular

As células dendríticas são as células apresentadoras de antígenos mais potentes e desempenham um papel fundamental, tanto na ativação dos linfócitos na resposta autoimune, como na indução da tolerância imunitária aos auto-antígenos. Dependendo das citocinas às quais são expostas durante a sua maturação, elas passam a desempenhar funções pró- ou anti-inflamatórias. Esta dualidade de ação sugere que as células dendríticas podem estar implicadas no desenvolvimento de doenças autoimunes como a MG, e que sua manipulação por certas citocinas ou outros mediadores inflamatórios poderá constituir uma modalidade terapêutica no futuro.[112, 113]

Em roedores com EAMG já estabelecida:

- A administração subcutânea de células dendríticas de roedores saudáveis, moduladas *in vitro* pelo IFN- γ e pelo TGF- β , suprimiu eficazmente a EAMG [114];
- A administração intraperitoneal de células dendríticas obtidas de roedores com EAMG e tratadas *in vitro* com IL-10, melhorou a EAMG já estabelecida [115];
- A administração intravenosa de células dendríticas silenciadas pelo RelB, um factor de transcrição associado à diferenciação das células dendríticas, reduziu efetivamente a fraqueza muscular [116];
- A administração de GM-CSF, um fator de crescimento que promove a produção de células dendríticas anti-inflamatórias, mostrou-se capaz de suprimir as respostas autoimunes pela mobilização de células T reguladoras específicas.[117]

Em roedores, antes da indução da EAMG:

- A administração GM-CSF resultou na diminuição da incidência e severidade da EAMG.[118]

Investigações subsequentes do GM-CSF na EAMG permitirão um melhor entendimento do papel das células dendríticas e células T reg na regulação da autoimunidade na MG, conhecimento que irá então permitir a aplicação clínica do GM-CSF ou de moléculas relacionadas no tratamento de doenças autoimunes, como MG.

5.4 Tolerância Oral ou Nasal

O conceito de tolerância oral define uma forma de tolerância periférica na qual os linfócitos maduros do tecido linfoide periférico se tornam não funcionais ou hiporresponsivos, por

administração oral prévia de um antígeno. Os mecanismos primários que medeiam a tolerância oral incluem: deleção e anergia de células T antígeno-específicas (se antígeno em baixas doses) e supressão celular ativa (se antígeno em altas doses). A supressão celular ativa é mediada por células Treg e um dos mecanismos primários dá-se via secreção de citocinas supressoras como o TGF- β , IL-4, IL-10, para um desencadeante antígeno específico.[119]

O AChR é o principal antígeno alvo da resposta autoimune na MG e a indução da tolerância imunitária a este antígeno pode vir a constituir uma modalidade terapêutica eficaz no futuro.

Inicialmente, a administração do próprio AChR revelou-se benéfica na EAMG, mas a resposta de AC era iniciada e só tardiamente suprimida e este facto sugeriu que moléculas com menor potencial imunogénico que o AChR intacto poderiam ser mais efetivas no tratamento da MG.[120]

Atualmente sabe-se que o domínio extracelular (DEC) da subunidade α do AChR é o principal alvo da resposta autoimune e a maioria dos AC dirigem-se a uma sequência específica dentro deste domínio (resíduos 67-76), chamada de região imunogénica principal(MIR).[67]

A administração oral ou nasal de fragmentos recombinantes correspondentes à subunidade α do AChR humano (H α 1-125) revelou-se eficaz na supressão da indução da EAMG quando administrados antes da indução da doença, e também suprimiu a EAMG em roedores com doença já estabelecida, tanto na fase aguda como na crónica.[121, 122] O mecanismo de indução de tolerância parece ser a supressão ativa envolvendo um desvio de uma regulação Th1 para uma regulação Th2/Th3.[67] A administração de um fragmento correspondente ao DEC da subunidade α do AChR do roedor (R α 1-205) também é efetivo em roedores,[123] tal como o H α 1-125.

Outra abordagem possível é a administração de fragmentos peptídicos correspondentes a regiões imunodominantes de células T.

O órgão elétrico do peixe *Torpedo Californica* é uma fonte rica dos recetores de AChR usados na EAMG. A administração do epítipo de células T (α -146-162) do AChR *Torpedo Californica*, suprimiu a resposta de células T direcionada aos AChR e melhorou a doença. O efeito protetor induzido pelo péptido T α 146-162 foi mediado por redução da produção de IFN- γ , IL-2 e IL-10 por células T AChR-reativas, sugerindo a anergia de células-T.[124]

Um estudo mais recente, desenvolveu um AChR recombinante livre de epítopos de células B (BF-AChR). A administração oral do BF-AChR melhorou os sintomas em roedores com EAMG já estabelecida. O mecanismo de ação foi um desvio de uma resposta Th1 para uma resposta de células T reg. Estes resultados sugerem que a remoção dos epítopos de células B patogénicos aumenta a tolerância dos fragmentos AChR, pela redução da ativação e da proliferação das células B e T.[125]

5.5 Imunoadsorção / Aferése antigénio-específica

A aferése ideal seria aquela que conseguisse remover apenas os AC envolvidos na patogénese da doença, deixando os restantes constituintes do sangue inalterados, e a investigação atual segue nesse rumo. Têm surgido diversas técnicas alternativas à plasmáfereze:

- 1) Imunoadsorção com proteína A, um componente da parede celular estafilocócica que se liga com grande afinidade à IgG humana [126];
- 2) Imunoadsorção com IgG policlonal anti-humana de carneiro, que remove diretamente os IgG circulantes por meio de uma interação imunológica.[127]

Nos dois casos, o plasma é separado por centrifugação e depois passa ao longo de dois filtros, sejam de proteína A ou de IgG policlonal anti-humana de carneiro, que são regenerados continuamente, permitindo a remoção de quantidades ilimitadas de AC. A principal vantagem em relação à plasmáfereze é não necessitar de reposição de fluidos.[82]

No entanto, a inespecificidade destas abordagens leva à remoção indiscriminada de AC, incluindo AC potencialmente úteis, e por isso surgiram novas abordagens na tentativa de conseguir maior especificidade antigénica:

- 1) Imunoadsorção com imunoadsorventes acoplados a um recombinante antigénico [128];
- 2) Imunoadsorção com *Escherichia coli* expressando DEC recombinantes do AChR [129];
- 3) Imunoadsorção com imunoadsorvente baseado em 4-mercaptoetilpiridina [130];

Algumas das técnicas exploradas recentemente removem, para além dos AC, componentes do complemento e citocinas pró-inflamatórias tornando-as potencialmente superiores à imunoadsorção com proteína A.[130]

5.6 Modulação da AChE (Monarsen, EN101)

A AChE dos mamíferos apresenta-se sob três isoformas distintas: 1) isoforma sináptica, AChE-S; 2) isoforma eritropoiética, AChE-E e 3) isoforma “read-through”, AChE-R.[131, 132] Em condições normais, a variante AChE-S predomina e encontra-se ligada à membrana pós-sináptica onde degrada a ACh, enquanto a AChE-R é rara e existe sob a forma de monómeros solúveis na fenda sináptica.[132, 133]

Uma nova abordagem terapêutica de inibição da AChE a longo-prazo baseia-se na observação de que na JNM de pacientes com MG e roedores com EAMG, existe uma acumulação da variante rara “read-through”. [133]

AChE-R pode acumular-se em resposta ao stress, ou à terapêutica crónica com os inibidores da AChE convencionais.[134] Na MG, Brenner e colaboradores admitem o seguinte mecanismo:

os AC anti-AChR destroem os recetores de acetilcolina, limitam a iniciação dos PA, e mimetizam um estado de deficiência de ACh; o desequilíbrio colinérgico provoca a acumulação de AChE-R na fenda sináptica; a AChE-R acumulada, aumenta a degradação da acetilcolina, mesmo antes de ela se ter ligado ao recetor na membrana pós-sináptica, agravando a fadiga muscular.[133]

O EN101 é um oligonucleotido antisense de RNA que suprime a expressão do AChE-R seletivamente. Isso permite-lhe diminuir a taxa de hidrólise da ACh, aumentar a eficácia da ativação dos recetores, normalizando a transmissão neuromuscular.[133] Em roedores com EAMG, a inibição da produção da AChE-R pelo EN101, resultou numa diminuição significativa da expressão sináptica de RNAm e proteínas de AChE-R, e numa melhoria da força muscular e da sobrevivência, sem afetação relevante dos níveis da AChE-S.[133] Para além disso, num estudo usando eletromiografia de fibra única em roedores com EAMG, o EN101 revelou-se mais eficiente que a piridostigmina e proporcionou uma melhoria marcada na força muscular e no estado clínico geral.[135]

Embora a avaliação dos resultados deva ser feita com cautela, em parte devido ao facto das doses de piridostigmina não terem sido otimizadas, a administração oral de Monarsen resultou em melhorias significativas nos sinais e sintomas da miastenia gravis e o Monarsen pareceu mais eficaz do que piridostigmina na maioria dos casos.[132]

5.7 Prevenção da Modulação dos AChR

Tal como referido previamente, a modulação antigénica é um dos mecanismos pelos quais os AC anti-AChR comprometem a transmissão neuromuscular, e consiste na ligação cruzada do AC com duas moléculas de AChR, provocando endocitose acelerada e degradação dos recetores.[13, 29]

A prevenção da modulação antigénica dos AChR, por hiperexpressão da rapsyn, proteína essencial para o agrupamento e ancoragem do AChR à membrana pós-sináptica, ou por competição funcional monovalente com AC anti-AChR IgG4, em roedores com EAMG, revelou prevenir a atividade da doença na MG, surgindo como potencial estratégia terapêutica da MG.[136]

6. Caso Clínico

Doente do sexo feminino, na altura com 25 anos, sem antecedentes pessoais ou familiares relevantes, surge em Consulta de Neurologia, dia 21 de novembro de 2006, com história de disфонia (que progrediu de uma forma inicialmente discreta para uma voz, nesse momento, acentuadamente nasalada) e disfagia (que se limitava inicialmente aos líquidos, progredindo para disfagia aos sólidos), há cerca de um ano. Nesse momento apresentava também alguma dificuldade na mastigação. Quando questionada, admitiu que os sintomas pioravam com o decorrer do dia, mas negou cansaço físico e/ou respiratório durante ou ao final do dia (alega que tem uma profissão algo sedentária e que engordou).

Ao exame objetivo, a doente apresentava voz nasalada bem evidente. Negou sintomas visuais, olfativos e auditivos. Ao exame neurológico, pupilas isocóricas e fotorreativas, sem nistagmo ou alterações dos movimentos oculares. Musculatura facial pouco ativa, evidente fraqueza na oposição de força do músculo orbicular dos olhos e da musculatura da região geniana. Equilíbrio e marcha conservados. Sem défices motores ou sensitivos nos quatro membros. Reflexos cutâneo-abdominais presentes e simétricos e cutâneo-plantares em flexão bilateral. Reflexos miotáticos presentes, normoativos e simétricos.

Previamente ao contacto com Neurologia, a doente tinha sido investigada em Otorrinolaringologia (de 3 de maio de 2006 a 14 de novembro de 2006) pelo quadro clínico de disфонia e dispneia, tendo sido submetida a vários exames complementares de diagnóstico. Na fibro-cavum-nasoscopia observou-se uma “massa vegetante no teto do cavum e parede posterior da rinofaringe”, que foi submetida a biópsia. O resultado histopatológico revelou nada mais que “hiperplasia folicular linfoide, sem evidência de tecido neoplásico”. A TC de seios perinasais mostrou “palato duro íntegro, não se evidenciando fenda palatina; não se evidencia descontinuidade do palato mole; o septo nasal não apresenta desvio significativo; as fossas nasais estão permeáveis; seios perinasais pneumatizados, sem processo inflamatório; notam-se apenas pequenos espessamentos mucosos focais no seio maxilar direito (parede medial) e nos pavimentos dos seios maxilares bilateralmente, de características inespecíficas, eventualmente pequenos quistos de retenção mucosos.” Os restantes exames, nomeadamente, otoscopia, o exame da orofaringe, fibro-laringoscopia, TC do pescoço (partes moles), não revelaram alterações.

Concomitantemente, desde 3 de maio de 2006, é seguida em consulta de Endocrinologia, por irregularidades menstruais frequentes (chega a ter amenorreia de três meses), e distúrbios da função tiroideia, pelo que foram pedidos alguns exames complementares de diagnóstico. Realizou RM-CE que revelou “presença de um microadenoma hipofisário inactuante, sem alterações parenquimatosas encefálicas valorizáveis”. A ecografia abdominal não revelou alterações. Quanto à função tiroideia, a Ecografia de tiroide mostrou “glândula de dimensões normais e contornos regulares” mas à direita “esboçam-se pequenas formações nodulares,

praticamente isoecogénicas, a maior com 6 mm". Para além disso, fez-se pesquisa de AC anti-Peroxidase e anti-Tiroglobulina, que se revelaram positivos. Analiticamente, apresentava tiroide hipofuncionante, pelo que foi medicada com Letter.

Perante o quadro de disfonia, disfagia e dificuldade na mastigação, com que se apresentou na consulta de Neurologia, foram solicitadas análises imunológicas diversas, EMG de estimulação repetitiva, TC tóraco-abdominal e Ecocardiograma. Os resultados são apresentados abaixo.

Estudo analítico:

Tabela 1 - Estudo analítico do caso clínico.

Hemograma	Sem alterações.
Provas de coagulação sanguínea	Sem alterações.
Estudo das anemias	Sem alterações.
Bioquímica	Colesterol HDL aumentado e o LDL diminuído; restantes parâmetros normais.
Título de anti-estreptolisina O	Aumentado.
Eletroforese das proteínas	Albumina diminuída. α 1, α 2, B e γ aumentadas.
Marcadores tumorais (CA 19.9, CA 125, CA 15.3)	Negativos.
Ac anti-nucleares, anti-DNA, anti-mitochondrias, anti-músculo liso, anti-LKM-1	Negativos.
AC anti-fosfolípidos	IgG dentro da normalidade, IgM aumentados.
AC anti-recetores de acetilcolina	Aumentados.

Conclusão do Exame Eletroneuromiográfico: O exame revela uma neuropatia motora e sensitiva incipiente do mediano direito ao nível da região cárpica, atualmente sem tradução clínica. Restante avaliação eletroneurográfica, eletromiográfica e testes de estimulação repetitiva dentro dos limites da normalidade em todos os parâmetros analisados. Comentários adicionais do exame encontram-se em anexo 2.

TC toraco-abdominal: Sem alterações relevantes. Relatório em anexo 2

Ecocardiograma: Sem alterações relevantes. Relatório em anexo 2.

No dia 9 de janeiro de 2007, a doente foi internada no Serviço de Neurologia do CHCB, para realização de provas de função respiratória e teste com piridostigmina.

Provas de Função Respiratória: Estudo funcional respiratório normal em repouso no que respeita aos parâmetros avaliados por mecânica ventilatória. Diminuição das pressões inspiratória e expiratória máximas.

Teste com Prostigmine: O teste com Prostigmine (metilsulfato de neostigmina) intramuscular teve resultado positivo - reação de nítida melhoria da força muscular tanto da flexão dos membros como do fechar dos olhos.

Estabeleceu-se, deste modo, o diagnóstico de MG sem exacerbação aguda e foi instituída terapêutica com piridostigmina (Mestinon 60 mg) oral, duas vezes ao dia. A paciente manteve o seu estado clínico. Teve alta ao 3º dia de internamento, sendo encaminhada para consulta de cirurgia cardio-torácica.

Após realização de timectomia, cujo resultado histopatológico revelou “restos de tecido tímico, sem timoma”, a doente voltou à consulta de Neurologia para avaliação periódica do seu estado clínico. Na primeira consulta pós- timectomia foi instituída terapêutica com Prednisona 60 mg. O título de AC anti-ACh em julho de 2008, março de 2010 e maio de 2011, foi de 28.3 nmol/L, 0.94 nmol/L, 30.7 nmol/L, respetivamente. A pós redução gradual, suspendeu definitivamente o corticoide em fevereiro de 2011. A dose de piridostigmina tem sido ajustada, de acordo com o estado clínico. Atualmente a doente encontra-se medicada apenas com a piridostigmina, em SOS, passando vários dias assintomática, sem necessidade de medicação.

6.1 Resumo da Fisiopatologia e Tratamento do Caso Clínico

O caso clínico anteriormente descrito resultou, muito provavelmente, de uma reação autoimune direcionada aos AChR. Algum fator (desconhecido) iniciou a resposta imunitária, os mecanismos de tolerância imunitária falharam, e começaram a produzir-se AC anti-AChR, detetáveis no soro desta paciente. Os AC começaram a destruir os AChR e a transmissão neuromuscular ficou comprometida. Surgiram, por isso, os sintomas de fraqueza muscular esquelética (disfagia, disfonia, dificuldade na mastigação).

A terapêutica com piridostigmina, um inibidor da AChE, impede a degradação da acetilcolina, aumentando a sua disponibilidade para se ligar aos AChR, melhorando a transmissão neuromuscular, apenas temporariamente. Nesta paciente, antes de ser submetida à timectomia, a piridostigmina não conseguiu melhorar os sintomas. Provavelmente o número de recetores afetados era tal, que não poderia ser “compensado” pelo aumento da

quantidade de ACh na fenda sináptica. Com a remoção do timo, espera-se que a produção de AC pelas células B diminua, o que resultaria numa melhoria do quadro clínico.

Contudo, como os AC poderão ser produzidos nos órgãos linfoides secundários, são necessárias outras opções terapêuticas. Os corticosteroides, pela sua atividade imunossupressora mostram-se bastante efetivos, mas os efeitos adversos a eles associados, limitam o seu uso a longo prazo. Por esse motivo, tal como se verificou no caso descrito, a descontinuação desta terapêutica deve ser feita logo que o quadro clínico seja favorável.

Atualmente, a paciente está medicada apenas com a piridostigmina em SOS. Enquanto se controlar a sintomatologia com esta medicação, não é necessário progredir para outras opções terapêuticas.

Contudo, como a MG tem um curso variável, poderá vir a ser necessária a adição de imunossupressores aos corticosteroides.

Caso surja uma crise miasténica, a plasmaferese, as IgIV ou mesmo a Imunoadsorção podem vir a revelar-se fundamentais, para a redução rápida da quantidade de AC presentes no soro.

7. Conclusão e Perspetivas Futuras

A compreensão cada vez mais pormenorizada dos processos fisiopatológicos e das bases moleculares da resposta autoimune na MG tem permitido o aparecimento de novas opções terapêuticas. A figura 6 e a tabela 1 e 2 sumarizam a informação sobre as etapas fisiopatológicas, as opções terapêuticas e seu mecanismo de ação, contida nesta dissertação.

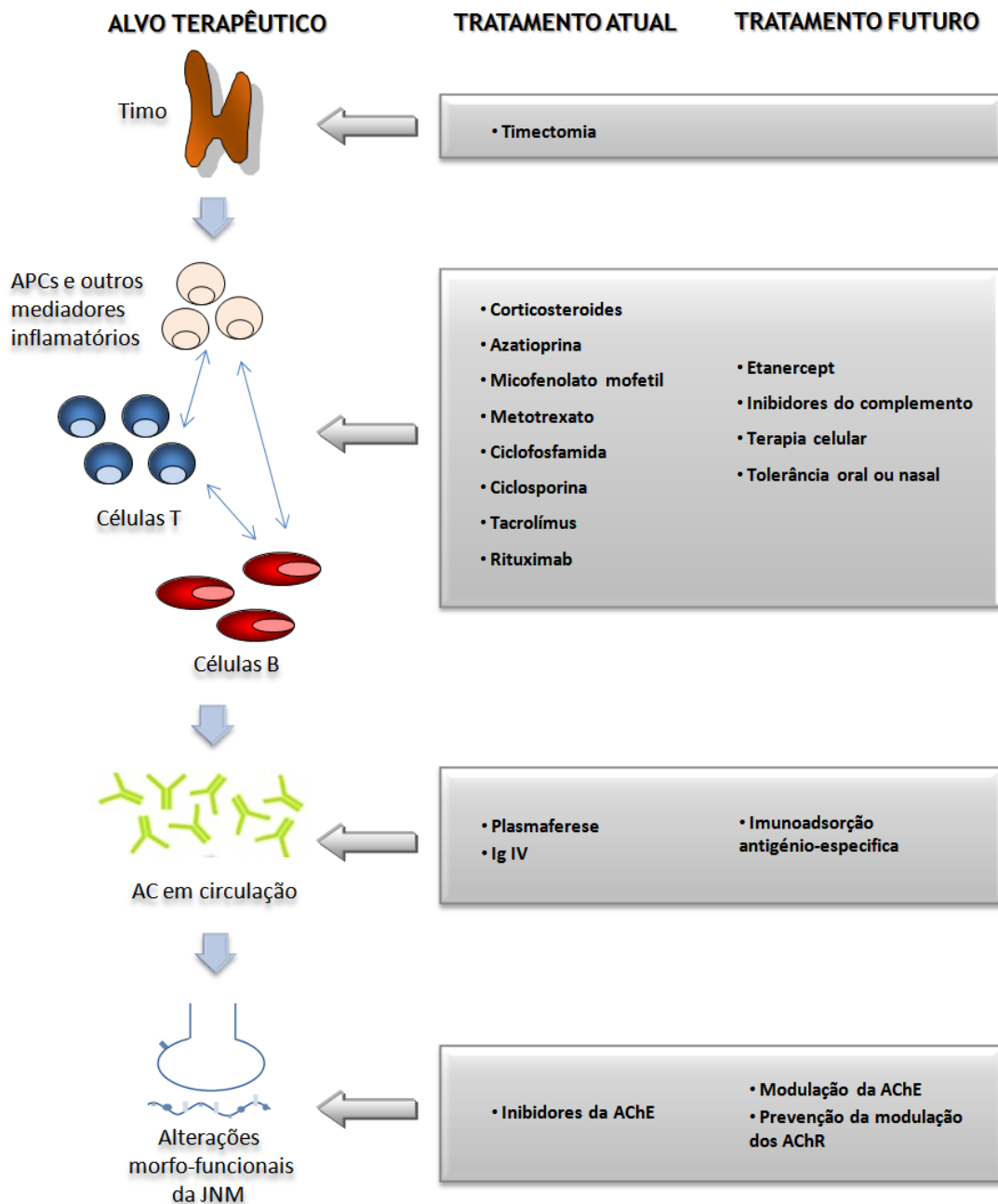


Figura 6 - Etapas imunopatológicas da MG e as opções terapêuticas atuais e futuras.

AChE, acetilcolinesterase; AChR, recetor de acetilcolina; APCs, células apresentadoras de antígenos; IgIV, imunoglobulina intravenosa.

Tabela 2 - Mecanismo de ação e indicação das modalidades terapêuticas atuais.

<i>Tratamento Atual</i>		
Opção Terapêutica	Mecanismo de ação	Indicação
Timectomia	<ul style="list-style-type: none"> - MG com timoma: remove o timoma e contribui para a remissão da MG; - MG sem timoma: atua provavelmente impedindo a produção de AC pelas células B. 	<ul style="list-style-type: none"> - Obrigatória em pacientes com timoma; - Recomendada em pacientes sem timoma; - Não recomendada na MG anti-MuSK; - Recomendada na MG duplamente seronegativa.
Corticosteroides	<p>Mecanismo complexo:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Inibem linfócitos T; - Diminuem produção citocinas; - Comprometem a função dos monócitos/macrófagos. 	Imunossuppressores 1ª linha, quando os inibidores da AChE não resolvem.
Azatioprina	Interfere com a síntese de nucleótidos bloqueando a proliferação dos linfócitos T	Imunossupressor 2ª linha, quando os corticosteroides não resolvem; ou administrado de início, como “poupador” de corticosteroides.
Micofenolato Mofetil	Inibe a proliferação dos linfócitos T através da inibição da síntese de purinas	Imunossupressor 3ª linha, em pacientes intolerantes ou irresponsivos à azatioprina.
Metotrexato	Fármaco anti-folato que bloqueia a síntese de purinas e pirimidinas, bloqueando as células em divisão rápida.	Pode ser considerado em pacientes resistentes às outras opções terapêuticas.
Ciclosporina A	Inibe a via da calcineurina, inibindo a ativação dos linfócitos T e a produção de IL-2.	Imunossupressor 3ª linha, em pacientes intolerantes ou irresponsivos à azatioprina.

Ciclofosfamida	Suprime a atividade dos linfócitos B e a síntese de AC; Em altas doses também afeta os linfócitos T	Pode ser considerada em pacientes resistentes às opções anteriores.
Tacrolimus	Inibe a via da calcineurina, inibindo a proliferação de linfócitos T. Potencia o acoplamento excitação- contração no músculo-esquelético.	Imunossupressor de 3ª linha, particularmente eficaz em pacientes com AC anti-RyR.
Rituximab	AC monoclonal dirigido ao antígeno CD20 dos linfócitos B, causa lise dos linfócitos B.	Pacientes com MG severa, na qual o tratamento com corticoides e 2 imunossupressores falhou.
Plasmaferese	Remove rapidamente do plasma de AC circulantes, citocinas, complexos imunes e outros mediadores inflamatórios.	Crises miasténicas e pré-operatório.
IgIV	Mecanismo parcialmente compreendido: - interfere na via de sinalização dos recetores Fc; - neutraliza o complemento ativado; - suprime AC idiotípicos; - modula citocinas pró-inflamatórias.	Crises miasténicas e pré-operatório.
Inibidores da AChE	Inibem a AChE, impedindo a hidrólise da ACh, prolongando a sua disponibilidade na JNM.	1ª linha, tratamento sintomático em todos os pacientes com MG. Na MG anti-MuSK, devem administrar-se com cautela.

Tabela 3 - Mecanismo de ação e indicação das modalidades terapêuticas futuras.

<i>Tratamento Futuro</i>		
Opção Terapêutica	Mecanismo de Ação	Indicação
Etanercept	Bloqueia a interação do TNF com os recetores Fc nas superfícies celulares, impedindo a sua ação pró-inflamatória.	São necessários mais estudos para serem indicados como tratamento da MG. Provável opção terapêutica no futuro.
Inibidores do Complemento	Bloqueia as ações do complemento na MG	
Terapia Celular	Modulação de células dendríticas: indução de tolerância ao AChR, diminuição da ativação dos linfócitos T; indução de células dendríticas anti-inflamatórias. Indução de células T reg, supressoras da resposta autoimune.	
Tolerância oral ou nasal	A administração prévia de um antígeno pela via oral ou nasal, torna os linfócitos T periféricos não funcionais ou irresponsivos. Mecanismos: - deleção e anergia de células T; - supressão celular ativa por células T reg (desvio de uma regulação Th1 para Th2/Th3)	
Imunoadsorção	Vários imunoadsorventes são usados para a remoção de AC, cada vez mais específica.	
Modulação da AChE	Suprime a expressão da variante “read-through” do AChR, diminuindo a taxa de hidrólise de ACh.	
Prevenção da modulação dos AChR	Impede a diminuição do número de AChR na JNM pela prevenção da modulação. - A Hiperexpressão da rapsyn impede a modulação do recetor. - Competição funcional monovalente com o AC anti-AChR IgG4.	

Apesar da MG ser a doença autoimune da JNM melhor caracterizada a nível fisiopatológico e da maioria dos doentes tratados segundo as recomendações atuais (incluindo o caso apresentado) apresentarem um sucesso terapêutico compatível com uma qualidade de vida praticamente semelhante à população geral, ainda há pacientes refratários às terapias convencionais e os efeitos adversos das opções terapêuticas atuais, principalmente dos imunossuppressores, são comuns. Perante este cenário, surgiram recentemente vários alvos potenciais para uma imunoterapia cada vez mais específica. Grande parte desta investigação desenvolve-se em modelos experimentais de MG em modelos animais e a grande questão é a passagem desta condição relativamente homogénea que é o modelo animal para a condição tipicamente heterogénea que é a condição humana. É fulcral que a investigação continue para que se descubram modalidades terapêuticas eficazes, seguras, com um perfil de efeitos adversos favorável. A remissão da doença deverá ser o objetivo último a alcançar.

8. Referências

1. Juel VC, Massey JM. Myasthenia gravis. *Orphanet J Rare Dis.* 2007 Nov 6;2:44.
2. Lang B, Vincent A. Autoimmune disorders of the neuromuscular junction. *Curr Opin Pharmacol.* 2009 Jun;9(3):336-40.
3. Carr AS, Cardwell CR, McCarron PO, McConville J. A systematic review of population based epidemiological studies in Myasthenia Gravis. *BMC Neurol.* 2010 Jun 18;10:46.
4. Phillips LH. The epidemiology of myasthenia gravis. *Semin Neurol.* 2004 Mar;24(1):17-20.
5. Thanvi BR, Lo TC. Update on myasthenia gravis. *Postgrad Med J.* 2004 Dec;80(950):690-700.
6. Storm-Mathisen A. Epidemiology of myasthenia gravis in Norway. *Acta Neurol Scand.* 1984 Oct;70(4):274-84.
7. Ferrari G, Lovaste MG. Epidemiology of myasthenia gravis in the province of Trento (northern Italy). *Neuroepidemiology.* 1992;11(3):135-42.
8. Kalb B, Matell G, Pirskanen R, Lambe M. Epidemiology of myasthenia gravis: a population-based study in Stockholm, Sweden. *Neuroepidemiology.* 2002;21(5):221-25.
9. Grob D, Brunner N, Namba T, Pagala M. Lifetime course of myasthenia gravis. *Muscle Nerve.* 2008 Feb;37(2):141-49.
10. Haroutiunian S, Lecht S, Zur AA, Hoffman A, Davidson E. The challenge of pain management in patients with myasthenia gravis. *J Pain Palliat Care Pharmacother.* 2009;23(3):242-60.
11. Meriggioli MN, Sanders DB. Autoimmune myasthenia gravis: emerging clinical and biological heterogeneity. *Lancet Neurol.* 2009 May;8(5):475-90.
12. Martyn JA, Fagerlund MJ, Eriksson LI. Basic principles of neuromuscular transmission. *Anaesthesia.* 2009;64 Suppl 1:1-9.
13. Conti-Fine BM, Milani M, Kaminski HJ. Myasthenia gravis: past, present, and future. *J Clin Invest.* 2006 Nov;116(11):2843-54.
14. Hughes BW, Kusner LL, Kaminski HJ. Molecular architecture of the neuromuscular junction. *Muscle Nerve.* 2006 Apr;33(4):445-61.
15. Fagerlund MJ, Eriksson LI. Current concepts in neuromuscular transmission. *Br J Anaesth.* 2009 Jul;103(1):108-14.
16. Sudhof TC. The synaptic vesicle cycle. *Annu Rev Neurosci.* 2004;27:509-47.
17. Horton RM, Manfredi AA, Conti-Tronconi BM. The 'embryonic' gamma subunit of the nicotinic acetylcholine receptor is expressed in adult extraocular muscle. *Neurology.* 1993 May;43(5):983-86.
18. Shiraishi H, Motomura M, Yoshimura T, Fukudome T, Fukuda T, Nakao Y, et al. Acetylcholine receptors loss and postsynaptic damage in MuSK antibody-positive myasthenia gravis. *Ann Neurol.* 2005 Feb;57(2):289-93.
19. Niks EH, Kuks JB, Wokke JH, Veldman H, Bakker E, Verschuuren JJ, et al. Pre- and postsynaptic neuromuscular junction abnormalities in musk myasthenia. *Muscle Nerve.* 2010 Aug;42(2):283-88.
20. Vincent A, Palace J, Hilton-Jones D. Myasthenia gravis. *Lancet.* 2001 Jun 30;357(9274):2122-28.

21. Vincent A, Leite MI. Neuromuscular junction autoimmune disease: muscle specific kinase antibodies and treatments for myasthenia gravis. *Curr Opin Neurol.* 2005 Oct;18(5):519-25.
22. Leite MI, Jacob S, Viegas S, Cossins J, Clover L, Morgan BP, et al. IgG1 antibodies to acetylcholine receptors in 'seronegative' myasthenia gravis. *Brain.* 2008 Jul;131(Pt 7):1940-52.
23. Pevzner A, Schoser B, Peters K, Cosma NC, Karakatsani A, Schalke B, et al. Anti-LRP4 autoantibodies in AChR- and MuSK-antibody-negative myasthenia gravis. *J Neurol.* 2012 Mar;259(3):427-35.
24. Suzuki S, Utsugisawa K, Nagane Y, Suzuki N. Three types of striational antibodies in myasthenia gravis. *Autoimmune Dis.* 2011;2011:740583.
25. Yamamoto T, Sato T, Sugita H. Antifilamin, antivinculin, and antitropomyosin antibodies in myasthenia gravis. *Neurology.* 1987 Aug;37(8):1329-33.
26. Pal J, Rozsa C, Komoly S, Illes Z. Clinical and biological heterogeneity of autoimmune myasthenia gravis. *J Neuroimmunol.* 2011 Feb;231(1-2):43-54.
27. Drachman DB. Myasthenia gravis. *N Engl J Med.* 1994 Jun 23;330(25):1797-810.
28. Vincent A. Unravelling the pathogenesis of myasthenia gravis. *Nat Rev Immunol.* 2002 Oct;2(10):797-804.
29. Gomez AM, Van Den Broeck J, Vrolix K, Janssen SP, Lemmens MA, Van Der Esch E, et al. Antibody effector mechanisms in myasthenia gravis-pathogenesis at the neuromuscular junction. *Autoimmunity.* 2010 Aug;43(5-6):353-70.
30. Engel AG, Lambert EH, Howard FM. Immune complexes (IgG and C3) at the motor end-plate in myasthenia gravis: ultrastructural and light microscopic localization and electrophysiologic correlations. *Mayo Clin Proc.* 1977 May;52(5):267-80.
31. Gomez CM, Richman DP. Anti-acetylcholine receptor antibodies directed against the alpha-bungarotoxin binding site induce a unique form of experimental myasthenia. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1983 Jul;80(13):4089-93.
32. Sanes JR, Lichtman JW. Induction, assembly, maturation and maintenance of a postsynaptic apparatus. *Nat Rev Neurosci.* 2001 Nov;2(11):791-805.
33. Kong XC, Barzaghi P, Ruegg MA. Inhibition of synapse assembly in mammalian muscle in vivo by RNA interference. *EMBO Rep.* 2004 Feb;5(2):183-88.
34. Boneva N, Frenkian-Cuvelier M, Bidault J, Brenner T, Berrih-Aknin S. Major pathogenic effects of anti-MuSK antibodies in myasthenia gravis. *J Neuroimmunol.* 2006 Aug;177(1-2):119-31.
35. McConville J, Farrugia ME, Beeson D, Kishore U, Metcalfe R, Newsom-Davis J, et al. Detection and characterization of MuSK antibodies in seronegative myasthenia gravis. *Ann Neurol.* 2004 Apr;55(4):580-84.
36. Tuzun E, Yilmaz V, Parman Y, Oflazer P, Deymeer F, Saruhan-Direskeneli G. Increased Complement Consumption in MuSK-Antibody-Positive Myasthenia Gravis Patients. *Medical principles and practice : international journal of the Kuwait University, Health Science Centre.* 2011;20(6):581-83.
37. Higuchi O, Hamuro J, Motomura M, Yamanashi Y. Autoantibodies to low-density lipoprotein receptor-related protein 4 in myasthenia gravis. *Ann Neurol.* 2011 Feb;69(2):418-22.
38. Labeit S, Barlow DP, Gautel M, Gibson T, Holt J, Hsieh CL, et al. A regular pattern of two types of 100-residue motif in the sequence of titin. *Nature.* 1990 May 17;345(6272):273-76.
39. Romi F, Skeie GO, Gilhus NE, Aarli JA. Striational antibodies in myasthenia gravis: reactivity and possible clinical significance. *Arch Neurol.* 2005 Mar;62(3):442-46.

40. Suzuki S, Satoh T, Yasuoka H, Hamaguchi Y, Tanaka K, Kawakami Y, et al. Novel autoantibodies to a voltage-gated potassium channel Kv1.4 in a severe form of myasthenia gravis. *J Neuroimmunol.* 2005 Dec 30;170(1-2):141-49.
41. Wang WW, Hao HJ, Gao F. Detection of multiple antibodies in myasthenia gravis and its clinical significance. *Chin Med J (Engl).* 2010 Sep;123(18):2555-58.
42. Romi F, Skeie GO, Vedeler C, Aarli JA, Zorzato F, Gilhus NE. Complement activation by titin and ryanodine receptor autoantibodies in myasthenia gravis. A study of IgG subclasses and clinical correlations. *J Neuroimmunol.* 2000 Nov 1;111(1-2):169-76.
43. Somnier FE, Skeie GO, Aarli JA, Trojaborg W. EMG evidence of myopathy and the occurrence of titin autoantibodies in patients with myasthenia gravis. *Eur J Neurol.* 1999 Sep;6(5):555-63.
44. Maruta T, Yoshikawa H, Fukasawa S, Umeshita S, Inaoka Y, Edahiro S, et al. Autoantibody to dihydropyridine receptor in myasthenia gravis. *J Neuroimmunol.* 2009 Mar 31;208(1-2):125-29.
45. Marx A, Willcox N, Leite MI, Chuang WY, Schalke B, Nix W, et al. Thymoma and paraneoplastic myasthenia gravis. *Autoimmunity.* 2010 Aug;43(5-6):413-27.
46. Vrolix K, Fraussen J, Molenaar PC, Losen M, Somers V, Stinissen P, et al. The auto-antigen repertoire in myasthenia gravis. *Autoimmunity.* 2010 Aug;43(5-6):380-400.
47. Arosa FA, Cardoso EM, Pacheco FC. Fundamentos de imunologia. Lisboa: Lidel - Edições Técnicas Lda; 2007.
48. Hohlfield R, Toyka KV, Heininger K, Grosse-Wilde H, Kalies I. Autoimmune human T lymphocytes specific for acetylcholine receptor. *Nature.* 1984 Jul 25;310(5974):244-46.
49. Ahlberg R, Yi Q, Pirskanen R, Matell G, Swerup C, Rieber EP, et al. Treatment of myasthenia gravis with anti-CD4 antibody: improvement correlates to decreased T-cell autoreactivity. *Neurology.* 1994 Sep;44(9):1732-37.
50. Nath A, Kerman RH, Novak IS, Wolinsky JS. Immune studies in human immunodeficiency virus infection with myasthenia gravis: a case report. *Neurology.* 1990 Apr;40(4):581-83.
51. Kaul R, Shenoy M, Goluszko E, Christadoss P. Major histocompatibility complex class II gene disruption prevents experimental autoimmune myasthenia gravis. *J Immunol.* 1994 Mar 15;152(6):3152-57.
52. Longo DL, Fauci AS, Kasper DL, Hauser SL, Jameson JL, Loscalzo J. Harrison's principles of Internal Medicine. 18th ed. New York: McGraw-Hill; 2012. Chapter 314, Introduction to the immune system;p.2668-70
53. Hohlfield R, Wekerle H. Reflections on the "intrathymic pathogenesis" of myasthenia gravis. *J Neuroimmunol.* 2008 Sep 15;201-202:21-27.
54. Cavalcante P, Le Panse R, Berrih-Aknin S, Maggi L, Antozzi C, Baggi F, et al. The thymus in myasthenia gravis: Site of "innate autoimmunity"? *Muscle Nerve.* 2011 Oct;44(4):467-84.
55. Wekerle H, Ketelsen UP. Intrathymic pathogenesis and dual genetic control of myasthenia gravis. *Lancet.* 1977 Mar 26;1(8013):678-80.
56. Schlupe M, Willcox N, Vincent A, Dhoot GK, Newsom-Davis J. Acetylcholine receptors in human thymic myoid cells in situ: an immunohistological study. *Ann Neurol.* 1987 Aug;22(2):212-22.
57. Salmon AM, Bruand C, Cardona A, Changeux JP, Berrih-Aknin S. An acetylcholine receptor alpha subunit promoter confers intrathymic expression in transgenic mice. Implications for tolerance of a transgenic self-antigen and for autoreactivity in myasthenia gravis. *J Clin Invest.* 1998 Jun 1;101(11):2340-50.

58. Meraouna A, Cizeron-Clairac G, Panse RL, Bismuth J, Truffault F, Tallaksen C, et al. The chemokine CXCL13 is a key molecule in autoimmune myasthenia gravis. *Blood*. 2006 Jul 15;108(2):432-40.
59. Berrih-Aknin S, Ruhlmann N, Bismuth J, Cizeron-Clairac G, Zelman E, Shachar I, et al. CCL21 overexpressed on lymphatic vessels drives thymic hyperplasia in myasthenia. *Ann Neurol*. 2009 Oct;66(4):521-31.
60. Thangarajh M, Masterman T, Helgeland L, Rot U, Jonsson MV, Eide GE, et al. The thymus is a source of B-cell-survival factors-APRIL and BAFF-in myasthenia gravis. *J Neuroimmunol*. 2006 Sep;178(1-2):161-66.
61. Cheney RT. The biologic spectrum of thymic epithelial neoplasms: current status and future prospects. *J Natl Compr Canc Netw*. 2010 Nov;8(11):1322-28.
62. Willcox N, Leite MI, Kadota Y, Jones M, Meager A, Subrahmanyam P, et al. Autoimmunizing mechanisms in thymoma and thymus. *Ann N Y Acad Sci*. 2008;1132:163-73.
63. Buckley C, Douek D, Newsom-Davis J, Vincent A, Willcox N. Mature, long-lived CD4+ and CD8+ T cells are generated by the thymoma in myasthenia gravis. *Ann Neurol*. 2001 Jul;50(1):64-72.
64. Vincent A, Willcox N, Hill M, Curnow J, MacLennan C, Beeson D. Determinant spreading and immune responses to acetylcholine receptors in myasthenia gravis. *Immunol Rev*. 1998 Aug;164:157-68.
65. Leite MI, Strobel P, Jones M, Micklem K, Moritz R, Gold R, et al. Fewer thymic changes in MuSK antibody-positive than in MuSK antibody-negative MG. *Ann Neurol*. 2005 Mar;57(3):444-48.
66. Lauriola L, Ranelletti F, Maggiano N, Guerriero M, Punzi C, Marsili F, et al. Thymus changes in anti-MuSK-positive and -negative myasthenia gravis. *Neurology*. 2005 Feb 8;64(3):536-38.
67. Berrih-Aknin S, Fuchs S, Souroujon MC. Vaccines against myasthenia gravis. *Expert Opin Biol Ther*. 2005 Jul;5(7):983-95.
68. Munz C, Lunemann JD, Getts MT, Miller SD. Antiviral immune responses: triggers of or triggered by autoimmunity? *Nat Rev Immunol*. 2009 Apr;9(4):246-58.
69. Cavalcante P, Serafini B, Rosicarelli B, Maggi L, Barberis M, Antozzi C, et al. Epstein-Barr virus persistence and reactivation in myasthenia gravis thymus. *Ann Neurol*. 2010 Jun;67(6):726-38.
70. Meyer M, Hols AK, Liersch B, Leistner R, Gellert K, Schalke B, et al. Lack of evidence for Epstein-Barr virus infection in myasthenia gravis thymus. *Ann Neurol*. 2011 Sep;70(3):515-18.
71. Kakalacheva K, Maurer MA, Tackenberg B, Munz C, Willcox N, Lunemann JD. Intrathymic Epstein-Barr virus infection is not a prominent feature of myasthenia gravis. *Ann Neurol*. 2011 Sep;70(3):508-14.
72. Cavalcante P, Maggi L, Colleoni L, Caldara R, Motta T, Giardina C, et al. Inflammation and Epstein-Barr virus infection are common features of myasthenia gravis thymus: possible roles in pathogenesis. *Autoimmune Dis*. 2011;2011:213092.
73. Cavalcante P, Barberis M, Cannone M, Baggi F, Antozzi C, Maggi L, et al. Detection of poliovirus-infected macrophages in thymus of patients with myasthenia gravis. *Neurology*. 2010 Apr 6;74(14):1118-26.
74. Skeie GO, Apostolski S, Evoli A, Gilhus NE, Illa I, Harms L, et al. Guidelines for treatment of autoimmune neuromuscular transmission disorders. *Eur J Neurol*. 2010 Jul;17(7):893-902.
75. Sathasivam S. Current and emerging treatments for the management of myasthenia gravis. *Ther Clin Risk Manag*. 2011;7:313-23.

76. Gronseth GS, Barohn RJ. Practice parameter: thymectomy for autoimmune myasthenia gravis (an evidence-based review): report of the Quality Standards Subcommittee of the American Academy of Neurology. *Neurology*. 2000 Jul 12;55(1):7-15.
77. ClinicalTrials.gov. Thymectomy trial in non-thymomatous myasthenia gravis patients receiving prednisone therapy [Internet]. 2006 Feb 21 [updated 2011 Oct 18;cited 12 April 2012]. Available from:<http://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT00294658?term=myasthenia+gravis&rank=6>
78. Takanami I, Abiko T, Koizumi S. Therapeutic outcomes in thymectomized patients with myasthenia gravis. *Ann Thorac Cardiovasc Surg*. 2009 Dec;15(6):373-77.
79. Juel VC, Massey JM. Autoimmune Myasthenia Gravis: Recommendations for Treatment and Immunologic Modulation. *Curr Treat Options Neurol*. 2005 Jan;7(1):3-14.
80. Gilhus NE, Owe JF, Hoff JM, Romi F, Skeie GO, Aarli JA. Myasthenia gravis: a review of available treatment approaches. *Autoimmune Dis*. 2011;2011:847393.
81. Pascuzzi RM, Coslett HB, Johns TR. Long-term corticosteroid treatment of myasthenia gravis: report of 116 patients. *Ann Neurol*. 1984 Mar;15(3):291-98.
82. Mantegazza R, Bonanno S, Camera G, Antozzi C. Current and emerging therapies for the treatment of myasthenia gravis. *Neuropsychiatr Dis Treat*. 2011;7:151-60.
83. Palace J, Newsom-Davis J, Lecky B. A randomized double-blind trial of prednisolone alone or with azathioprine in myasthenia gravis. *Neurology*. 1998 Jun;50(6):1778-83.
84. Evans WE, McLeod HL. Pharmacogenomics--drug disposition, drug targets, and side effects. *N Engl J Med*. 2003 Feb 6;348(6):538-49.
85. Sanders DB, Hart IK, Mantegazza R, Shukla SS, Siddiqi ZA, De Baets MH, et al. An international, phase III, randomized trial of mycophenolate mofetil in myasthenia gravis. *Neurology*. 2008 Aug 5;71(6):400-406.
86. Sanders DB, McDermott M, Thornton C, Tawil R, Barohn RJ, Jackson C, et al. A trial of mycophenolate mofetil with prednisone as initial immunotherapy in myasthenia gravis. *Neurology*. 2008 Aug 5;71(6):394-99.
87. Kim JY, Park KD, Richman DP. Treatment of myasthenia gravis based on its immunopathogenesis. *J Clin Neurol*. 2011 Dec;7(4):173-83.
88. Diaz-Manera J, Rojas-Garcia R, Illa I. Treatment strategies for myasthenia gravis. *Expert Opin Pharmacother*. 2009 Jun;10(8):1329-42.
89. ClinicalTrials.gov. Efficacy of methotrexate in myasthenia gravis [Internet]. 2008 Dec 23 [updated 2012 Mar 13;cited 2012 Apr 15]. Available from: <http://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT00814138?term=metotrexato+myasthenia+gravis&rank=1>
90. Heckmann JM, Rawoot A, Bateman K, Renison R, Badri M. A single-blinded trial of methotrexate versus azathioprine as steroid-sparing agents in generalized myasthenia gravis. *BMC Neurol*. 2011 Aug 5;11:97.
91. De Feo LG, Schottlender J, Martelli NA, Molfino NA. Use of intravenous pulsed cyclophosphamide in severe, generalized myasthenia gravis. *Muscle Nerve*. 2002 Jul;26(1):31-36.
92. Nagane Y, Suzuki S, Suzuki N, Utsugisawa K. Factors associated with response to calcineurin inhibitors in myasthenia gravis. *Muscle Nerve*. 2010 Feb;41(2):212-18.
93. Timerman AP, Ogunbumni E, Freund E, Wiederrecht G, Marks AR, Fleischer S. The calcium release channel of sarcoplasmic reticulum is modulated by FK-506-binding protein. Dissociation and reconstitution of FKBP-12 to the calcium release channel of skeletal muscle sarcoplasmic reticulum. *J Biol Chem*. 1993 Nov 5;268(31):22992-29.
94. Ciafaloni E, Massey JM, Tucker-Lipscomb B, Sanders DB. Mycophenolate mofetil for myasthenia gravis: an open-label pilot study. *Neurology*. 2001 Jan 9;56(1):97-99.

95. Kosmidis ML, Dalakas MC. Practical considerations on the use of rituximab in autoimmune neurological disorders. *Ther Adv Neurol Disord*. 2010 Mar;3(2):93-105.
96. Cartron G, Watier H, Golay J, Solal-Celigny P. From the bench to the bedside: ways to improve rituximab efficacy. *Blood*. 2004 Nov 1;104(9):2635-42.
97. Cardarelli PM, Quinn M, Buckman D, Fang Y, Colcher D, King DJ, et al. Binding to CD20 by anti-B1 antibody or F(ab')(2) is sufficient for induction of apoptosis in B-cell lines. *Cancer Immunol Immunother*. 2002 Mar;51(1):15-24.
98. Wylam ME, Anderson PM, Kuntz NL, Rodriguez V. Successful treatment of refractory myasthenia gravis using rituximab: a pediatric case report. *J Pediatr*. 2003 Nov;143(5):674-77.
99. Illa I, Diaz-Manera J, Rojas-Garcia R, Pradas J, Rey A, Blesa R, et al. Sustained response to Rituximab in anti-AChR and anti-MuSK positive Myasthenia Gravis patients. *J Neuroimmunol*. 2008 Sep 15;201-202:90-94.
100. Lebrun C, Bourg V, Tieulie N, Thomas P. Successful treatment of refractory generalized myasthenia gravis with rituximab. *Eur J Neurol*. 2009 Feb;16(2):246-50.
101. Stieglbauer K, Topakian R, Schaffer V, Aichner FT. Rituximab for myasthenia gravis: three case reports and review of the literature. *J Neurol Sci*. 2009 May 15;280(1-2):120-22.
102. Nowak RJ, Dicapua DB, Zebardast N, Goldstein JM. Response of patients with refractory myasthenia gravis to rituximab: a retrospective study. *Ther Adv Neurol Disord*. 2011 Sep;4(5):259-66.
103. Rowin J. Etanercept treatment in myasthenia gravis. *Ann N Y Acad Sci*. 2008;1132:300-304.
104. Hochberg MC, Tracy JK, Hawkins-Holt M, Flores RH. Comparison of the efficacy of the tumour necrosis factor alpha blocking agents adalimumab, etanercept, and infliximab when added to methotrexate in patients with active rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis*. 2003 Nov;62 Suppl 2:ii13-6.
105. Bongioanni P, Ricciardi R, Pellegrino D, Romano MR. T-cell tumor necrosis factor-alpha receptor binding in myasthenic patients. *J Neuroimmunol*. 1999 Jan 1;93(1-2):203-207.
106. Li H, Shi FD, Bai X, Huang Y, Diab A, He B, et al. Cytokine and chemokine mRNA expressing cells in muscle tissues of experimental autoimmune myasthenia gravis. *J Neurol Sci*. 1998 Nov 26;161(1):40-46.
107. Zhang GX, Navikas V, Link H. Cytokines and the pathogenesis of myasthenia gravis. *Muscle Nerve*. 1997 May;20(5):543-51.
108. Christadoss P, Goluszko E. Treatment of experimental autoimmune myasthenia gravis with recombinant human tumor necrosis factor receptor Fc protein. *J Neuroimmunol*. 2002 Jan;122(1-2):186-90.
109. Rowin J, Meriggioli MN, Tuzun E, Leurgans S, Christadoss P. Etanercept treatment in corticosteroid-dependent myasthenia gravis. *Neurology*. 2004 Dec 28;63(12):2390-92.
110. Fee DB, Kasarskis EJ. Myasthenia gravis associated with etanercept therapy. *Muscle Nerve*. 2009 Jun;39(6):866-70.
111. Soltys J, Kusner LL, Young A, Richmonds C, Hatala D, Gong B, et al. Novel complement inhibitor limits severity of experimentally myasthenia gravis. *Ann Neurol*. 2009 Jan;65(1):67-75.
112. Tuzun E, Huda R, Christadoss P. Complement and cytokine based therapeutic strategies in myasthenia gravis. *J Autoimmun*. 2011 Sep;37(2):136-43.
113. Hardin JA. Dendritic cells: potential triggers of autoimmunity and targets for therapy. *Ann Rheum Dis*. 2005 Nov;64 Suppl 4:iv86-90.
114. Adikari SB, Lian H, Link H, Huang YM, Xiao BG. Interferon-gamma-modified dendritic cells suppress B cell function and ameliorate the development of experimental autoimmune myasthenia gravis. *Clin Exp Immunol*. 2004 Nov;138(2):230-36.


115. Duan RS, Adikari SB, Huang YM, Link H, Xiao BG. Protective potential of experimental autoimmune myasthenia gravis in Lewis rats by IL-10-modified dendritic cells. *Neurobiol Dis.* 2004 Jul;16(2):461-67.
116. Yang H, Zhang Y, Wu M, Li J, Zhou W, Li G, et al. Suppression of ongoing experimental autoimmune myasthenia gravis by transfer of RelB-silenced bone marrow dendritic cells is associated with a change from a T helper Th17/Th1 to a Th2 and FoxP3+ regulatory T-cell profile. *Inflamm Res.* 2010 Mar;59(3):197-205.
117. Sheng JR, Li LC, Ganesh BB, Prabhakar BS, Meriggioli MN. Regulatory T cells induced by GM-CSF suppress ongoing experimental myasthenia gravis. *Clin Immunol.* 2008 Aug;128(2):172-80.
118. Meriggioli MN, Sheng JR, Li L, Prabhakar BS. Strategies for treating autoimmunity: novel insights from experimental myasthenia gravis. *Ann N Y Acad Sci.* 2008;1132:276-82.
119. Krause I, Blank M, Shoenfeld Y. Immunomodulation of experimental autoimmune diseases via oral tolerance. *Crit Rev Immunol.* 2000;20(1):1-16.
120. Okumura S, McIntosh K, Drachman DB. Oral administration of acetylcholine receptor: effects on experimental myasthenia gravis. *Ann Neurol.* 1994 Nov;36(5):704-13.
121. Barchan D, Asher O, Tzartos SJ, Fuchs S, Souroujon MC. Modulation of the anti-acetylcholine receptor response and experimental autoimmune myasthenia gravis by recombinant fragments of the acetylcholine receptor. *Eur J Immunol.* 1998 Feb;28(2):616-24.
122. Im SH, Barchan D, Fuchs S, Souroujon MC. Suppression of ongoing experimental myasthenia by oral treatment with an acetylcholine receptor recombinant fragment. *J Clin Invest.* 1999 Dec;104(12):1723-30.
123. Maiti PK, Feferman T, Im SH, Souroujon MC, Fuchs S. Immunosuppression of rat myasthenia gravis by oral administration of a syngeneic acetylcholine receptor fragment. *J Neuroimmunol.* 2004 Jul;152(1-2):112-20.
124. Baggi F, Andreetta F, Caspani E, Milani M, Longhi R, Mantegazza R, et al. Oral administration of an immunodominant T-cell epitope downregulates Th1/Th2 cytokines and prevents experimental myasthenia gravis. *J Clin Invest.* 1999 Nov;104(9):1287-95.
125. Yi HJ, Chae CS, So JS, Tzartos SJ, Souroujon MC, Fuchs S, et al. Suppression of experimental myasthenia gravis by a B-cell epitope-free recombinant acetylcholine receptor. *Mol Immunol.* 2008 Nov;46(1):192-201.
126. Samuelsson G. Extracorporeal immunoabsorption with protein A: technical aspects and clinical results. *J Clin Apher.* 2001;16(1):49-52.
127. Bosch T. Therapeutic apheresis--state of the art in the year 2005. *Ther Apher Dial.* 2005 Dec;9(6):459-68.
128. Guo CY, Li ZY, Xu MQ, Yuan JM. Preparation of an immunoabsorbent coupled with a recombinant antigen to remove anti-acetylcholine receptor antibodies in abnormal serum. *J Immunol Methods.* 2005 Aug;303(1-2):142-47.
129. Zisimopoulou P, Lagoumintzis G, Poulas K, Tzartos SJ. Antigen-specific apheresis of human anti-acetylcholine receptor autoantibodies from myasthenia gravis patients' sera using *Escherichia coli*-expressed receptor domains. *J Neuroimmunol.* 2008 Aug 30;200(1-2):133-41.
130. Ren J, Bai Y, Hao L, Dong Y, Pi Z, Jia L. Amelioration of experimental autoimmune myasthenia gravis rats by blood purification treatment using 4-mercaptoethylpyridine-based adsorbent. *J Biomed Mater Res A.* 2011 Sep 15;98(4):589-95.
131. Massoulie J, Pezzementi L, Bon S, Krejci E, Vallette FM. Molecular and cellular biology of cholinesterases. *Prog Neurobiol.* 1993 Jul;41(1):31-91.
132. Sussman JD, Argov Z, McKee D, Hazum E, Brawer S, Soreq H. Antisense treatment for myasthenia gravis: experience with monarsen. *Ann N Y Acad Sci.* 2008;1132:283-90.

133. Brenner T, Hamra-Amitay Y, Evron T, Boneva N, Seidman S, Soreq H. The role of readthrough acetylcholinesterase in the pathophysiology of myasthenia gravis. *FASEB J.* 2003 Feb;17(2):214-22.
134. Punga AR, Stalberg, E. Acetylcholinesterase inhibitors in myasthenia gravis: to be or not to be? *Muscle Nerve.* 2009;39:724-78.
135. Boneva N, Hamra-Amitay Y, Wirguin I, Brenner T. Stimulated-single fiber electromyography monitoring of anti-sense induced changes in experimental autoimmune myasthenia gravis. *Neurosci Res.* 2006 May;55(1):40-44.
136. Losen M, Martinez-Martinez P, Phernambucq M, Schuurman J, Parren PW, De Baets MH. Treatment of myasthenia gravis by preventing acetylcholine receptor modulation. *Ann N Y Acad Sci.* 2008;1132:174-79.


9. Anexos

Anexo 1 - Documento de autorização de consulta do processo clínico.	50
Anexo 2 - Relatórios dos Exames Complementares de Diagnóstico.	51

Anexo 1 - Documento de autorização de consulta do processo clínico.


 Centro
 Hospitalar
 Cova da Beira, E.P.E.

Indicação
 Núcleo de Invest. 06
 06 DEZ 2011

Parecer:	Despacho: 06 DEZ. 2011 
ASSUNTO: Projecto de Investigação nº92/2011 - "Fisiopatologia e tratamento da miastenia gravis - actualidade e perspectivas futuras"	
PARA: Exmo. Sr. Presidente do Conselho de Administração DE: Núcleo de Investigação	N.º 91/2011 Data 07/11/2011
<p>Em relação ao assunto em epígrafe, junto envio o pedido de autorização Sandra Cristiana Rodrigues Carneiro, aluna do Mestrado Integrado em Medicina da Faculdade de Ciências da Saúde da Universidade da Beira Interior para a realização de um estudo subordinado ao tema "Fisiopatologia e tratamento da miastenia gravis - actualidade e perspectivas futuras", a realizar no Departamento de Medicina deste Centro Hospitalar.</p> <p>Informo que se encontram reunidos todos os requisitos necessários de acordo com o Regulamento e normas do Núcleo de Investigação.</p> <p>Informo ainda que o estudo não foi submetido ao parecer da Comissão de Ética de acordo com a tomada de decisão desta Comissão, constante na Acta nº 2, da reunião de 22 de Janeiro de 2009: "A Comissão de Ética decidiu ainda: ---</p> <p>Que o parecer da Comissão de Ética será dispensável sempre que não haja contacto directo com os doentes, como é o caso de consulta de processos clínicos e desde que o investigador se comprometa a manter a confidencialidade;...".</p> <p>Com os melhores cumprimentos, <i>peccati</i></p> <p style="text-align: center;">P.ºlo Núcleo de Investigação</p> <p style="text-align: center;"></p> <p style="text-align: center;">(Dr.ª Rosa Saraiva)</p> <p>Nota: Solicita-se aos investigadores a entrega de um exemplar do trabalho final.</p>	

Anexo 2 - Relatórios dos Exames Complementares de Diagnóstico.

Relatório do Exame Eletroneuromiográfico:

Comentários: O estudo electroneurográfico motor e sensitivo revela latências ligeiramente aumentadas no mediano direito, sugerindo uma neuropatia do mediano ao nível do punho, sem tradução clínica. O estudo do cubital direito revela latências, amplitudes e velocidades de condução dentro dos limites da normalidade. As respostas do mediano direito apresentam latências mínimas dentro da normalidade. A electromiografia de agulha concêntrica não revela atividade desnervativa em nenhum dos músculos avaliados e os padrões de esforço máximo revelam características dentro da variação da normalidade.

Foram também realizados testes de estimulação repetitiva nos músculos nasalis e abductor do quinto dedo direitos com resultados anteriores e posteriores a fadiga muscular dentro da variação da normalidade.

Conclusão: O exame revela uma neuropatia motora e sensitiva incipiente do mediano direito ao nível da região cárpica, atualmente sem tradução clínica. Restante avaliação eletroneurográfica, eletromiográfica e testes de estimulação repetitiva dentro dos limites da normalidade em todos os parâmetros analisados.

Relatório da TC toraco-abdominal: Não se observam alterações parenquimatosas pulmonares significativas. É normal a espessura parietal e o calibre da traqueia e árvore brônquica principal. No mediastino e nos hilos não observamos adenopatias. Ausência de derrame pleural. Não se observam massas, nomeadamente do mediastino anterior. Fígado com dimensões dentro de parâmetros normais, contornos regulares, sem imagens de lesões focais. Vesícula biliar, pâncreas, baço, glândulas supra-renais e rins sem alterações densitométricas significativas. Não observamos adenopatias lombo-aórticas, nem derrame peritoneal.

Relatório do Ecocardiograma: Raiz da aorta de dimensões normais. Válvula aórtica tricúspide e boa abertura sistólica. Aurícula esquerda não dilatada e cavidades direitas não dilatadas. Ventrículo esquerdo não dilatado, com paredes de espessura normal. Boa função sistólica global e segmentar. Válvula mitral com discreto prolapso do folheto anterior. Não se visualizaram soluções de continuidade a nível dos septos interauricular e interventricular. Pericárdio de espessura normal e sem derrame. Fluxo sistólico aórtico laminar. Fluxo diastólico transmitral com relação E/A normal, não traduzindo disfunção diastólica do ventrículo esquerdo. Regurgitação muito discreta.