



UNIVERSIDADE DA BEIRA INTERIOR
Ciências da Saúde

**Leucoencefalopatia Multifocal Progressiva
associada ao tratamento de Esclerose Múltipla
com Natalizumab.
A propósito de um caso clínico no Hospital Pêro da
Covilhã.**

Bárbara Almada Ferreira

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

Orientadora: Prof.^a Doutora Maria Luiza Constante Rosado

Covilhã, Maio de 2012

Agradecimentos

À minha orientadora, Doutora Luiza Rosado, pela orientação, disponibilidade e interesse que sempre demonstrou ao longo destes meses de trabalho. Pelas críticas, correções e sugestões feitas durante a orientação. Pela amizade e generosidade.

Ao Dr. António Atalaia, pela disponibilidade e por me ter fornecido material indispensável à realização deste trabalho.

Aos meus pais, pelos valores que sempre me inculcaram e pelo apoio incondicional que sempre me deram. Pelas privações que fizeram por mim. Por tudo.

Ao Nuno, pela paciência, apoio, aconchego e carinho. Por ter partilhado comigo os melhores e piores momentos desta longa caminhada.

À minha família, pelo apoio em todos os momentos.

A todos os que contribuíram para a realização deste trabalho.

Resumo

A Leucoencefalopatia Multifocal Progressiva (LMP) foi considerada uma doença desmielinizante rara até o advento da pandemia do VIH/SIDA. A LMP é causada pela reativação do polyomavirus JC. O interesse recente pela doença tem sido estimulado pelo seu surgimento em pacientes tratados com o anticorpo monoclonal natalizumab. O natalizumab (TYSABRI) é um antagonista específico da integrina $\alpha 4$, aprovado como segunda linha de tratamento nas formas recidivantes de Esclerose Múltipla (EM) que não respondem à terapia com interferão, ou como tratamento de primeira linha nos doentes com doença recidivante muito ativa.

O diagnóstico é geralmente sugerido pela imagiologia e confirmado pela pesquisa de ADN (ácido desoxirribonucleico) do vírus JC através da reação em cadeia da polimerase (PCR, do inglês *polymerase chain reaction*). O tratamento dirigido contra o vírus JC é inútil, e a menos que o défice imunitário subjacente seja revertido, a LMP tem uma progressão rapidamente fatal.

Esta revisão concentra-se nos dados disponíveis acerca da LMP associada ao uso de natalizumab em pacientes com esclerose múltipla.

É também descrito um caso de LMP numa doente com esclerose múltipla. Os primeiros sintomas da doença surgiram cerca de 27 meses após o início da terapia com natalizumab. A ressonância magnética (RM) mostrou lesões de LMP, e a PCR para ADN viral no líquido cefalorraquidiano (LCR) foi positiva. Foi usada plasmaferese para acelerar a remoção do natalizumab da circulação. Alguns dias após a plasmaferese surgiu a síndrome inflamatória de reconstituição imune.

Palavras-chave

“Leucoencefalopatia multifocal progressiva”, “Natalizumab e LMP”, “esclerose múltipla e LMP”, “Vírus JC em pacientes com esclerose múltipla tratados com natalizumab”, Síndrome inflamatória de reconstituição imune”.

Abstract

Progressive Multifocal Leukoencephalopathy (PLM) was a rare demyelinating disease until the advent of the HIV/AIDS pandemic. PML is caused by reactivation of the polyomavirus JC. Recent interest in the disorder has been spurred by its appearance in patients treated with monoclonal antibodies natalizumab. Natalizumab (TYSABRI), a specific α 4-integrin antagonist, is approved as a second-line treatment of relapsing forms of Multiple Sclerosis (MS) patients who fail therapy with interferons or as a first-line treatment of patients with highly active relapsing disease.

The diagnosis is usually suggested on imaging and confirmed by cerebrospinal fluid polymerase chain reaction (PCR) for the JC virus DNA. Treatment directed against the JC virus has been unhelpful, and unless the accompanying underlying immune deficit can be reversed, PML typically progresses to death fairly rapidly.

This review focuses on the available data regarding natalizumab associated progressive multifocal leukoencephalopathy in patients with multiple sclerosis.

A case of PML in a patient with multiple sclerosis who was treated with natalizumab is described. The first symptoms appeared after about 27 monthly infusions of the drug. Magnetic resonance imaging showed LPM lesions, and JC virus was detected on PCR assay of cerebrospinal fluid. Plasma exchange was used to accelerate clearance of natalizumab. A few days after plasma exchange, an immune-reconstitution inflammatory syndrome appeared.

Keywords

“Progressive Multifocal Leukoencephalopathy”, “Natalizumab and PML”, “Multiple Sclerosis and PML”, “JC virus in patients with multiple sclerosis treated with natalizumab”, “Immune reconstitution inflammatory syndrome”.

Índice

Resumo	v
Abstract	vii
Índice	ix
Lista de figuras e gráficos	xi
Lista de tabelas	xiii
Lista de siglas e acrónimos	xv
Capítulo 1 - Leucoencefalopatia multifocal progressiva	1
1.1 - Perspetiva história	3
1.2 - Epidemiologia da LMP	4
1.2.1 - Era pré-SIDA	6
1.2.2 - LMP relacionada com SIDA	6
1.2.3 - LMP associada à terapia com anticorpos monoclonais	7
Capítulo 2 - O vírus JC	9
2.1 - Epidemiologia do VJC	9
2.2 - Biologia molecular do VJC	10
2.3 - Patogénese do VJC	12
2.4 - Fatores de suscetibilidade ao VJC	14
2.4.1 - Fatores de risco para o desenvolvimento de LMP	15
Capítulo 3 - O desenvolvimento de LMP em pacientes com EM tratados com Natalizumab	17
Capítulo 4 - Diagnóstico	21
4.1 - Avaliação diagnóstica	21
4.1.1 - Avaliação clínica	21
4.1.2 - Exames de Imagem	21
4.1.3 - Análise do LCR	25
4.1.4 - Biópsia cerebral	27
4.2 - Diagnóstico diferencial	28
Capítulo 5 - Manifestações clínicas	31
5.1 - Manifestações clínicas na LMP clássica	31
5.2 - Manifestações clínicas na LMP associada ao uso de natalizumab	32
Capítulo 6 - Síndrome Inflamatória de Reconstituição Imune (SIRI)	33
Capítulo 7 - Tratamento	35
Capítulo 8 - Prognóstico	37
Capítulo 9 - Estudo de caso clínico	39
9.1 - Caso clínico	39
9.1.1 - Identificação da doente	39

9.1.2 - Exposição do caso	39
9.1.3 - Evolução clínica	40
9.1.4 - Diagnóstico	40
9.1.5 - Exames complementares de diagnóstico	41
9.2 - Discussão	43
Conclusão	45
Bibliografia	47

Lista de figuras

Figura 1 - Tríade sintomática da LMP	4
Figura 2 - O genoma do vírus JV	11
Figura 3 - Patogénese da infeção por vírus JC após latência do vírus em tecido linfoide	13
Figura 4 - Modelo para a patogénese do VJC	15
Figura 5 - O desenvolvimento de LMP após terapia com natalizumab	18
Figura 6 - Avaliação clínica de novos sintomas neurológicos em pacientes com EM tratados com natalizumab	22
Figura 7 - Aparência da LMP à TC	23
Figura 8 - LMP supratentorial	24
Figura 9 - LMP envolvendo o corpo caloso	25
Figura 10 - Diferenciação laboratorial de novos sintomas neurológicos em pacientes com EM tratados com natalizumab	26
Figura 11 - Patologia da LMP	28
Figura 12 - Défices Neurológicos de LMP	28
Figura 13 - Lesão cortico-medular parietal posterior direita com extensão temporal posterior	41
Figura 14 - Progressão da Síndrome de reconstituição Imunitária	42
Figura 15 - Estabilização da SIRM à RM	43

Lista de gráficos

Gráfico 1 - Epidemiologia da LMP	5
----------------------------------	---

Lista de Tabelas

Tabela 1 - Sintomas clínicos de EM e de LMP	22
Tabela 2 - Características da RM para o diagnóstico diferencial entre LMP e EM.	29
Tabela 3 - Apresentação clínica da infeção por VJC.	30

Lista de siglas e acrónimos

5-HT	5-hidroxitriptamina
ADN	Ácido desoxirribonucleico
AVC	Acidente vascular cerebral
cART	Do inglês <i>combined antiretroviral therapy</i>
CDA	Coeficientes de difusão aparentemente
CHCB	Centro hospitalar cova da beira
EDSS	Do inglês <i>expanded disability status scale</i>
EM	Esclerose múltipla
EMPP	Esclerose múltipla progressiva primária
EMRR	Esclerose múltipla recidivante remitente
EMPS	Esclerose múltipla progressiva secundária
EV	Endovenoso
FDA	Do inglês <i>food and drug administration</i>
FLAIR	Do inglês <i>fluid-attenuated inversion recovery</i>
FTY	Fingolimod
Gd	Gadólíneo
HAART	Do inglês <i>highly active antiretroviral therapy</i>
HLA	Do inglês <i>human leukocyte antigen</i>
IgG	Imunoglobulina G
IgM	Imunoglobulina M
LCR	Líquido cefalorraquidiano
LTC	Linfócitos T citotóxicos
LMP	Leucoencefalopatia multifocal progressiva
MACV	Moléculas de adesão das células vasculares
NCCR	Do inglês <i>noncoding control region</i>
ORI	Origem de replicação
pb	Pares de base
PCR	Do inglês <i>polymerase chain reaction</i>
PL	Punção lombar
qPCR	PCR quantitativa
RM	Ressonância magnética
RM/ CE	Ressonância magnética crânio-encefálica
RNA _m	Ácido ribonucleico mensageiro
SIDA	Síndrome da imunodeficiência adquirida
SIRI	Síndrome inflamatória de reconstituição imune
SNC	Sistema nervoso central
SNP	Sistema nervoso periférico

TC	Tomografia computadorizada
VIH	Vírus da imunodeficiência humana
VJC	Vírus John Cunningham
VLA-4	Do inglês <i>very late antigen 4</i>
VP	Do inglês <i>viral capsid protein</i>

Capítulo 1 - Leucoencefalopatia multifocal progressiva

A Leucoencefalopatia Multifocal Progressiva é uma infecção destrutiva dos oligodendrócitos do sistema nervoso central (SNC) que provoca défices neurológicos associados à desmielinização. A morte celular dos oligodendrócitos leva à perda focal de mielina e à disfunção das vias mielinizadas que envolvem os hemisférios cerebrais, cerebelo e tronco cerebral. Por razões ainda não conhecidas, o nervo ótico e os oligodendrócitos da espinhal medula não são afectados.^{1,2}

A LMP ocorre quase sempre no contexto da imunossupressão, particularmente em doentes com imunidade celular diminuída, e é vista como uma infecção oportunista do SNC pelo vírus JC (VJC) que provoca a lise de oligodendrócitos. O VJC é um vírus sem envelope e com ADN de cadeia dupla que pertence à família dos polyomavirus. A infecção primária por VJC ainda não foi bem caracterizada. Nos conceitos atuais, a infecção inicial ocorre na infância, por ingestão ou inalação, e é assintomática.^{13,17} A infecção por este vírus é comum e as taxas de sero-prevalência variam na literatura entre os 33% e os 80%, o que pode ser explicado de acordo com os métodos utilizados resultando em diferenças na sensibilidade e especificidade dos testes, mas também pela evidência epidemiológica para a variação na exposição geográfica.^{2,4,5,16}

Antes do advento da pandemia da síndrome da imunodeficiência humana adquirida (SIDA) a LMP era uma patologia rara. Descrita pela primeira vez em 1958 em três pacientes com doença linfoproliferativa subjacente, esta condição neurológica única foi caracterizada com base numa tríade de características histopatológicas que inclui desmielinização, núcleos oligodendrogliais anormais e astrócitos gigantes.^{1,3,11}

Atualmente nenhuma outra doença predispõe à LMP com o mesmo grau de frequência que o VIH/SIDA - cerca de 88%. A menos que o défice imunitário subjacente seja corrigido, a LMP evolui para a morte muito rapidamente.^{1,4}

O interesse na LMP aumentou após Novembro de 2004, quando dois pacientes que haviam participado num ensaio clínico de fase III do tratamento de formas de esclerose múltipla recidivante remitente (EMRR) com uma combinação de β -interferão-1a e natalizumab - um anticorpo monoclonal direcionado contra a integrina $\alpha 4\beta 1$ utilizado no tratamento da esclerose múltipla e da doença de Crohn¹⁶ - desenvolveram os primeiros sintomas clínicos do que viria a ser diagnosticado como LMP. O primeiro paciente, uma mulher no Colorado, acabou por falecer em Fevereiro; o segundo paciente, um homem na Califórnia, sobreviveu com défices neurológicos permanentes.^{1,6} O reconhecimento de LMP nos pacientes com EM foi adiado pela ausência de associação prévia da LMP com a EM.²

O natalizumab foi o primeiro anticorpo monoclonal aprovado para o tratamento de formas recidivantes de esclerose múltipla.⁵ Dados não publicados de ensaios clínicos

randomizados sugerem que o natalizumab é altamente eficaz para prevenir recaídas em EMRR. De acordo com estes dados, o tratamento com natalizumab resultou numa redução de 56% a 70% na taxa de recaídas. Nos estudos já realizados, o potencial para as complicações infecciosas das terapias biológicas era esperado e os pacientes eram monitorizados para sinais deste tipo de infeção. Apesar destas medidas cautelares, o desenvolvimento de LMP foi inesperado. A LMP nunca tinha sido relatada em pacientes com EM, ou em conjugação com o uso de terapias biológicas em pacientes com doenças autoimunes subjacentes.⁶

Após a sua suspensão do mercado em 2005, o natalizumab foi novamente aprovado, em 2006, e o seu uso restrito a monoterapia em pacientes com formas recidivantes de EM. Deste então foram relatados novos casos de LMP em doentes que receberam monoterapia com natalizumab. Assim, atualmente não há nenhuma evidência convincente de que a LMP associada ao uso de natalizumab seja restrita a combinações terapêuticas com outros agentes modificadores da doença ou imunossuppressores. Além disso dados recentes indicam que o risco de LMP pode aumentar quando a terapia com natalizumab excede os 24 meses de tratamento.⁵ Uma incidência de LMP de 1 para 1000 para os doentes tratados com natalizumab iguala ou supera facilmente outros fatores predisponentes, o que levanta preocupações óbvias.⁴

Diversas classes de medicamentos que suprimem a resposta imunitária estão associadas ao desenvolvimento de LMP. Recentemente, os imunomoduladores usados no tratamento de doenças autoimunes emergiram como uma nova categoria de medicamentos associados à LMP, incluindo o natalizumab para o tratamento de EM e doença de Crohn, rituximab para o lúpus, e efalizumab para a psoríase. A introdução destes agentes imunomoduladores que impedem a entrada no cérebro de linfócitos T citotóxicos levanta a preocupação de que estas e outras doenças raras do SNC provocadas por infeções oportunistas possam surgir com a utilização deste tipo de medicamento. Estes agentes são aplicados não só no contexto da doença autoimune e auto-inflamatória mas também nos transplantes e na oncologia.^{1,9,12}

Ainda não foram definidos sintomas iniciais patognomónicos de LMP, o que torna difícil o diagnóstico precoce. Alguns dos sintomas iniciais clássicos de LMP incluem demência rapidamente progressiva, disfunção motora e perda de visão que podem ser difíceis de diferenciar das recaídas de EM. É difícil estabelecer com precisão a história natural da LMP não associada a SIDA.² A sobrevida do doente é complicada pela morbilidade da doença imunossupressora subjacente e por outras infeções oportunistas. Desde a introdução da terapia antirretroviral fortemente ativa (HAART, do inglês *highly active antirretroviral therapy*) para o tratamento da SIDA a incidência da LMP em pacientes infetados com VIH diminuiu ligeiramente e houve um aumento significativo na sobrevivência.^{11,17} A LMP conduz à morte 80% a 90% dos pacientes sem infeção concomitante com VIH. Não existem terapias efetivas e os poucos pacientes que sobrevivem ficam com sequelas neurológicas severas. A sobrevida prolongada tem por vezes sido associada com o raro achado patológico de proeminente reação inflamatória perivascular cerebral.^{2,5,6}

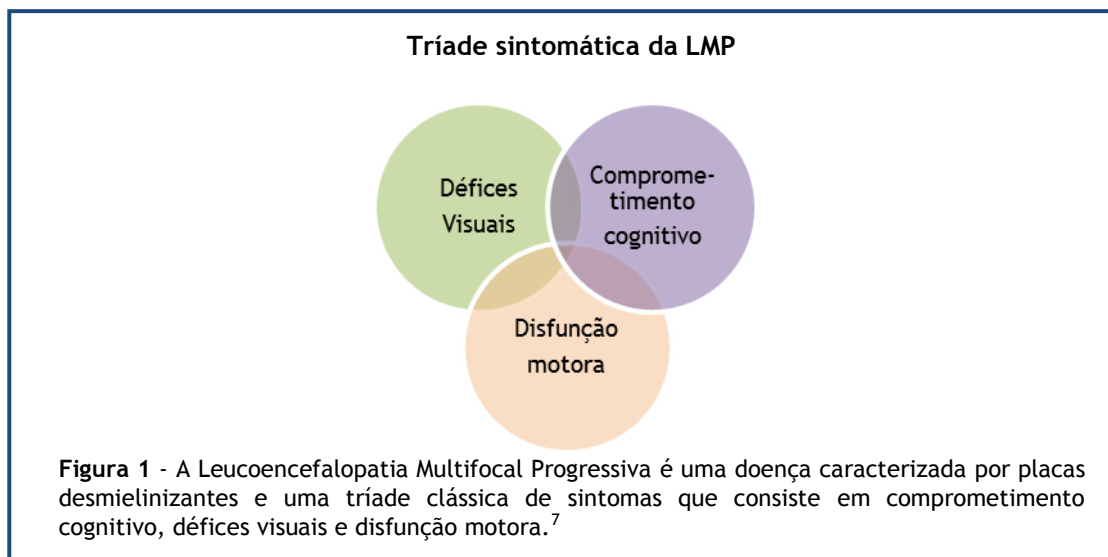
Entramos agora numa nova era em que a LMP está sendo observada em pacientes tratados com agentes biológicos para doenças não associadas ao desenvolvimento de LMP. Coletivamente, populações vulneráveis - pacientes com patologia linforreticular e doenças inflamatórias - estão a ser submetidas a terapias que, isoladamente ou em combinação, têm efeitos desconhecidos sobre o sistema imunitário. Profissionais que estavam vagamente conscientes acerca da LMP no passado, têm agora de considerar LMP nos seus diagnósticos diferenciais, desenvolver um plano racional para avaliar estes doentes e reconhecer quando é necessário reencaminhar o paciente para um especialista. Descrições recentes de formas atípicas de LMP aumentam o desafio clínico, assim como relatos de casos em pacientes com imunossupressão mínima, na ausência de terapia imunossupressora e em pacientes que aparentam ter o sistema imunológico competente mas que na verdade têm doenças como a sarcoidose. Estão também a ser detetados casos raros de LMP em pacientes com doença hepática avançada.^{7,9}

1.1 - Perspetiva histórica

Em 1985 a LMP foi descrita pela primeira vez, no *Massachusetts General Hospital*, em Boston por Astrom, Mancall e Richardson após uma observação clínica e histopatológica exaustiva de dois pacientes com leucemia linfocítica crónica e de um paciente com doença de Hodgkin's, que apresentavam múltiplas lesões desmielinizantes do SNC com progressão rápida e fatal. A tríade clássica de sintomas de LMP - comprometimento cognitivo, défices visuais e disfunção motora (Figura 1) - já tinha sido observada anteriormente, mas não havia sido formalmente descrita.^{1,3,7} Quanto à etiologia subjacente, os autores afirmaram: "Nós não sabemos a causa desta doença... mais frequentemente uma complicação da leucemia linfocítica crónica ou de Hodgkin... se há algum fator em comum entre estas doenças e a sarcoidose e tuberculose... ainda é desconhecido".¹⁰

O primeiro indício de provável causa viral surgiu após a deteção de corpos de inclusão no núcleo de oligodendrócitos lesionados, esta hipótese foi confirmada em 1965 por ZuRhein, com a demonstração de partículas de um vírus tipo papova (*papova virus-like*) nas lesões de LMP à microscopia eletrónica. O vírus foi isolado em 1971 numa amostra de tecido cerebral num doente com linfoma de Hodgkin's que acabou por falecer com LMP. O vírus recebeu a designação de vírus JC, de acordo com as iniciais do doente.^{3,4}

Uma caracterização mais detalhada do VJC demonstrou que este pertence ao género *Polyomavirus* e à família *Polyomaviridae*. A partir de 1984, variantes da região não codificante do genoma foram identificadas de forma seriada como MAD-1, MAD-2 e assim por diante, na *University of Madison* no Wisconsin.^{3,7,10}



Durante as duas primeiras décadas após a sua descrição inicial, a LMP permaneceu uma doença rara, ocorrendo maioritariamente em doentes com patologias hematológicas, neoplasias de órgãos sólidos, distúrbios inflamatórios e em doentes que receberam transplantes. Até 1984 apenas 230 casos foram publicados em literatura, sendo que a maioria ocorreu de forma isolada.^{1,3}

Este cenário mudou drasticamente a partir de 1980 com o advento da epidemia do VIH, ocorrendo em até 5% dos doentes infetados. A sua incidência não diminuiu significativamente apesar dos avanços nas terapias antirretrovirais.³

Nas duas décadas seguintes a LMP permaneceu um assunto de interesse para os médicos e investigadores do campo das doenças neuroinfecciosas e ignorado pelos restantes. Esta época acabou abruptamente a 28 de Fevereiro de 2005 quando Biogen Idec e Elan retiraram do mercado o natalizumab (Tysabril) após o diagnóstico de LMP em dois pacientes com EM e um doente com doença de Crohn tratados com natalizumab.³

Finalmente, após a revisão dos dados de um estudo com doentes tratados com natalizumab após a descontinuação do medicamento, apresentados por uma comissão de julgamento independente, o *Peripheral and Central Nervous System Drug Advisory Committee* da *Food and Drug Administration* (FDA) recomendou a reintrodução no mercado do natalizumab em Março de 2006, o que foi formalmente aceite pela FDA a 5 de Junho de 2006. O fármaco foi então reintroduzido no mercado para pacientes com EM que “não respondem de forma adequada, ou que não toleram outros tratamentos para a EM”.^{3,21}

1.2 - Epidemiologia da LMP

O nosso progresso na compreensão da leucoencefalopatia multifocal progressiva, desde a sua descoberta há mais de 50 anos, evoluiu em três etapas, concomitantemente com

as mudanças epidemiológicas da LMP: a era antes do vírus de imunodeficiência humana; a era do VIH com terapia antirretroviral fortemente ativa; e a era das terapias biológicas, como o natalizumab.^{8,9}

Antes da era da SIDA, cerca de metade dos pacientes com LMP eram afetados pelos défices visuais. Agora, nos pacientes com LMP relacionada com SIDA a fraqueza motora afeta mais de metade dos indivíduos, enquanto os défices cognitivos constituem a apresentação clínica mais comum na LMP associada ao uso de natalizumab afetando quase metade dos pacientes (Gráfico 1).⁸

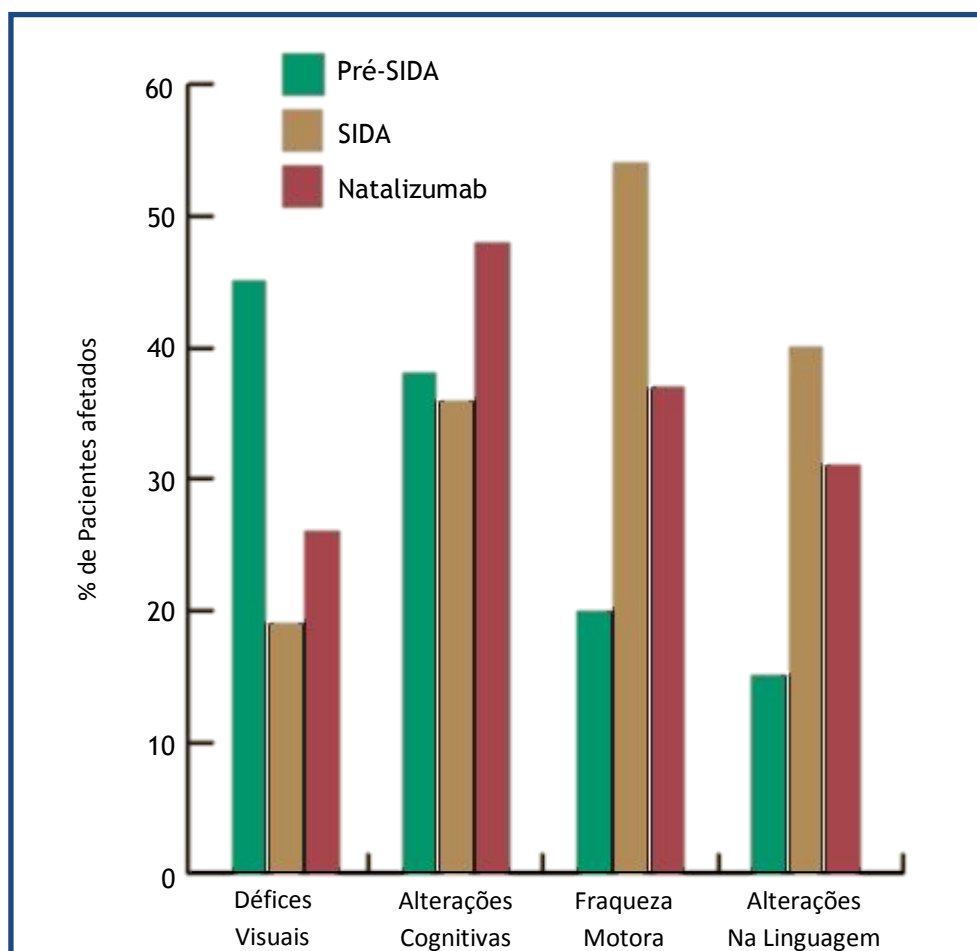


Gráfico 1: Epidemiologia da LMP

(A partir de Berger, 2011)

Apesar de alguns achados clínicos serem considerados clássicos nos pacientes com LMP, a percentagem de doentes afetados mudou à medida que a doença evoluiu desde a era pré-SIDA até à LMP associada a terapias biológicas, tais como o natalizumab. Antes da era da SIDA, quase metade dos pacientes com LMP eram afetados por défices visuais. Entre os pacientes com LMP relacionada com SIDA a fraqueza motora é um sintoma em mais de metade dos pacientes, enquanto o comprometimento cognitivo é a apresentação clínica mais comum da LMP associada ao natalizumab, afetando quase metade dos pacientes.⁸

1.2.1 - Era pré-SIDA

Lesões subcorticais da substância branca caracterizam a LMP e as manifestações clínicas do doente refletem a sua localização. Brooks e Walker fizeram uma revisão de 69 casos com confirmação patológica e de 40 casos com confirmação viral e patológica de LMP antes da era da SIDA, caracterizando os sinais neurológicos e os sintomas na fase inicial e durante a progressão da doença; o quadro clínico tinha três achados significativos:

- Défices visuais: perturbações visuais, mais comumente a hemianopsia homónima, como o sinal de apresentação mais frequente, presente em 35% a 45% dos casos. No momento do diagnóstico 6% a 8% dos pacientes tinham cegueira cortical por patologia occipital bilateral.
- Fraqueza motora: a fraqueza motora era o sinal inicial em 25% a 33% dos pacientes. No momento do diagnóstico, hemiparesia ou hemiplegia estava presente em quase todos os pacientes.
- Alterações mentais: incluindo mudanças de personalidade, dificuldade de memorização, labilidade emocional e demência.⁸

1.2.2 - LMP relacionada com SIDA

A epidemiologia da LMP mudou com a pandemia da SIDA. De 1958 a 1984, Brooks e Walker identificaram 230 casos de LMP, no período de 1981 a 1994, Berger e colaboradores descreveram 154 casos de LMP relacionados com SIDA identificados pela *University of Miami Medical Center* e pelo gabinete de medicina legal de Broward County. A incidência de LMP desde 1991 a 1994 foi 12 vezes superior à incidência dez anos antes, de 1981 a 1984. Entre os pacientes com LMP associada a SIDA, os sintomas iniciais mais comuns incluíam fraqueza (42%), alterações de linguagem (40%), défices cognitivos (36%), anormalidades da marcha (29%), perda sensorial (19%), e alterações visuais (19%), seguida de convulsões, diplopia e descoordenação motora dos membros. Os achados clínicos mais comuns no momento do exame físico inicial eram fraqueza (54%), seguida de alteração da marcha (20%), alterações cognitivas (20%), disartria (24%), afasia (19%), perda sensorial (19%), alterações visuais (17%), e paralisia do oculomotor (6%). Para cerca de 5% dos pacientes com LMP, a doença constitui o anúncio da SIDA.⁸

Embora as características clínicas consistentes com lesão cerebral hemisférica serem as mais comuns, também são observadas lesões cerebelares e do tronco cerebral. Entre estes estão a ataxia, dismetria, disartria e paralisia do nervo oculomotor. Outros sinais e sintomas associados a LMP incluem vertigem, cefaleia, convulsões, défices sensoriais, sinais parkinsonianos, afasia e síndromes de negligência. Em alguns casos, a coexistência de encefalite com infeção por VIH pode ter contribuído para alguns dos sintomas descritos.⁸

A introdução de HARRT transformou a LMP de uma doença na maioria dos casos fatal e inexorável para uma doença em que a sobrevivência a longo prazo é espectável, particularmente no contexto de uma reconstituição imune adequada.⁹

1.2.3 - LMP associada à terapia com anticorpos monoclonais

A terceira e mais recente etapa na evolução da LMP, e do nosso conhecimento desta doença, coincidiu com a introdução e utilização de terapias imunossupressoras cada vez mais potentes e de novas terapias imunológicas biológicas dirigidas a diferentes aspetos de resposta imunitária integrada.⁹

O natalizumab é um inibidor da integrina $\alpha4\beta1$ aprovado para o tratamento de formas recidivantes de esclerose múltipla.^{8,19} Os pacientes que tomam natalizumab representam o segundo maior grupo de indivíduos com LMP (o grupo maior é de pacientes com SIDA). A LMP associada ao uso de natalizumab tem algumas características particulares. As apresentações clínicas mais comuns são défices cognitivos (48%), alterações motoras (37%), distúrbios de linguagem (31%) e alterações visuais (26%). As lesões são muitas vezes monofocais em vez de multifocais e o local mais comumente envolvido é o lobo frontal. Entre os pacientes com EM com LMP associada a natalizumab, 30% a 40% têm lesões reforçadas por gadolínio (Gd) à ressonância magnética no momento do diagnóstico.⁸

Capítulo 2 - O vírus JC

O vírus JC é responsável pelo desenvolvimento de LMP e foi descrito pela primeira vez em 1971. Para estabelecer o diagnóstico de LMP, é necessário que haja evidência da presença do ADN do VJC nos tecidos patológicos. A variedade de hospedeiros para a infeção produtiva de VJC é controlada por fatores do núcleo da célula que se ligam ao promotor viral, iniciando a transcrição de RNAm (ácido ribonucleico mensageiro) para a síntese coordenada de proteínas virais. Oligodendrócitos, astrócitos e células do sistema imunitário CD34+ e CD19+ possuem as proteínas de ligação em quantidades suficientes para permitir que ocorra a infeção lítica.⁷

No ano que se seguiu à descrição inicial da LMP, Cavanaght *et al.* sugerem a possibilidade de uma etiologia viral, baseados no surgimento, ao microscópio eletrónico, de corpos de inclusão no núcleo alargado de uma célula oligodendroglial. As características observadas ao microscópio eletrónico sugerem um vírus da família papovirus, uma família de vírus que se desconhecia causar doença do SNC humano. O subsequente isolamento do vírus em culturas de células gliais fetais humanas por Padgett *et al.* do cérebro de um doente com LMP confirmou que o polyomavirus da família dos papovirus era o agente responsável. Nomeado pelas iniciais do doente em cuja amostra de tecido foi isolado pela primeira vez, o vírus JC (VJC - John Cunningham vírus) é um das 2 espécies conhecidas de polyomavirus atualmente reconhecidos como causadores de doença em humanos. O outro é o vírus BK que partilha mais de 70% de nucleótidos homólogos ao VJC.^{1,3}

O VJC é um vírus neurotrópico que infeta apenas os seres humanos. Desta forma, a investigação da patogénese do VJC tem sido dificultada pela ausência de um modelo animal. Uma glicoproteína de ligação N ligada ao α -(2,6)-ácido siálico, presente em muitas células humanas, é um dos recetores para o VJC. Adicionalmente, o VJC pode ligar-se aos recetores serotoninérgico 5-HT_{2a} para infetar células astrogliais em cultura. Este recetor está presente em vários tipos de células, incluindo células epiteliais renais, linfócitos B, plaquetas e células gliais. A suscetibilidade ao VJC é evidente em células provenientes dos astrócitos e das células da glia, o que reflete o processo patológico no tecido cerebral com LMP. Os neurónios, pelo contrário, não são suscetíveis à infeção.⁷ Ao contrário de outros polyomavirus, a infeção por VJC tem uma gama estreita de células de acolhimento. Embora os recetores do vírus JC sejam expressos de forma ampla e o ADN do vírus seja detetado em oligodendrócitos, astrócitos, linfócitos, células do epitélio renal, células do estroma amigdalino e células plasmáticas, a propagação do VJC em células humanas em cultura é difícil.¹²

2.1 - Epidemiologia do VJC

O vírus JC é um dos vírus mais prevalentes na população humana¹⁸ no entanto, nenhuma doença foi convincentemente associada à infeção aguda, permanecendo o

mecanismo de propagação viral especulativo, e a determinação do momento da infecção praticamente impossível.^{1,10} A transmissão respiratória foi postulada. A presença de VJC no tecido amigdalino sugere que a saliva e as secreções orofaríngeas possam ser um meio de transmissão.¹⁰

Lesões multifocais na substância branca subcortical são as características clássicas de LMP em Neuroimagem. A soro-epidemiologia do VJC revelou distribuição ubíqua, com 50% a 60% dos adultos entre os 20 e os 50 anos demonstrando anticorpos para o vírus. A percentagem de população com anticorpo aumenta com a idade, mas varia de acordo com a região geográfica.^{4,7}

Embora os seres humanos carreguem anticorpos específicos dirigidos ao VJC, o significado clínico destes anticorpos é desconhecido. Os níveis de anticorpo aumentam ao longo da infecção ativa, atingido por vezes valores muito altos, mas não oferecem proteção. Respostas imunes mediadas por células T dirigidas a proteínas estruturais e não estruturais são importantes no controlo da infecção.⁷

Embora os estudos não tenham sido concordantes em relação às percentagens de indivíduos infetados pelo vírus, todos eles demonstraram que uma elevada percentagem de adultos foram expostos ao VJC. As diferenças percentuais devem-se, provavelmente, a diferentes técnicas utilizadas nos estudos e às diferentes características das populações estudadas.¹⁰ Aproximadamente 10% de crianças com idades compreendidas entre 1 e 5 anos demonstram anticorpos para VJC; aos 10 anos de idade o anticorpo pode ser observado em 40% a 60% da população.¹ Entre os 20 e os 50 anos cerca de 50% a 60% dos indivíduos têm resultados positivos nos ensaios de inibição de hemaglutinação.¹⁰ Estes ensaios provavelmente superestimam a frequência de positividade de anticorpos devido à reatividade cruzada com outro polyomavirus relativamente comum, o vírus BK. Outros estudos que empregam imunoensaios específicos para o VJC mostram taxas que variam entre os 35% e 91% entre os adultos.¹⁰

É justificável a suspeita de LMP em indivíduos que demonstram a tríade sintomática clássica e nos quais a RM mostra evidência de lesões em placas de desmielinização; no entanto, é necessária evidência da presença de ADN do VJC em tecidos patológicos para confirmar o diagnóstico de LMP.⁷

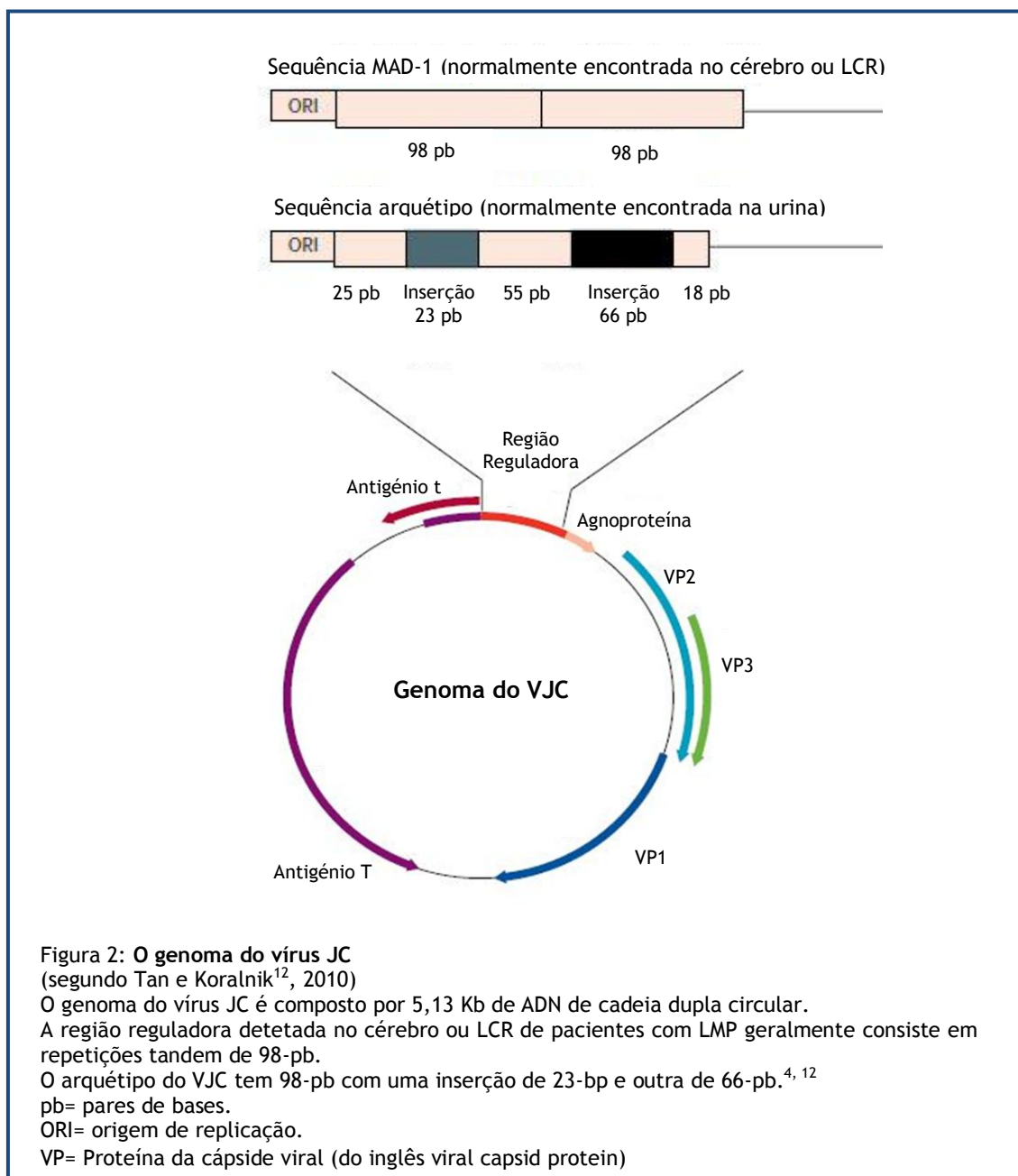
2.2 - Biologia molecular do VJC

O vírus JC, como todos os polyomavirus, é um vírus sem envelope com cápside icosaédrica medindo cerca de 40nm de diâmetro e com um ADN genómico de cadeia dupla.^{1,10} O genoma (Figura 2) é muito simples e divide-se em duas regiões:

- **Região de controlo não codificante** (NCCR, do inglês *noncoding control region*) - com a região precoce que codifica as proteínas reguladoras do antígeno-T e do antígeno-t, proteínas envolvidas na transformação viral, regulação do gene e replicação, e que estão codificados no sentido anti-horário; e a região tardia que

codifica a proteína reguladora agnoproteína e três proteínas estruturais (VP1, VP2 e VP3) que estão codificadas no sentido horário.^{1,4,10,12}

- **Região reguladora** do VJC cuja sequência é hipervariável e contém determinantes para neurotropismo e neurovirulência.¹²



O vírus JC é detetado por PCR na urina de um terço dos indivíduos saudáveis ou em pacientes imunossuprimidos com ou sem LMP.^{1,10,12,17} No entanto, o VJC não é normalmente encontrado no sangue de indivíduos imunocompetentes.

A sequência da região reguladora do vírus normalmente encontrada na urina é conhecida como sequência arquetipo, por se pensar que todas as outras formas evoluem a

partir desta. A seqüência da região reguladora do vírus isolado a partir de LCR e de tecido cerebral dos pacientes com LMP é denominado de vírus protótipo ou vírus neurotrópico, apresentando rearranjos, incluindo duplicações, repetições em tandem, inserções e deleções. É então provável que os rearranjos observados na região reguladora ocorram durante a imunossupressão sendo este processo necessário para a reativação do vírus e subsequente infecção do SNC.^{1,10,12,18}

2.3 - Patogénese do VJC

A LMP ocorre em pessoas infetadas com o VIH, mas também é relatada em pacientes imunocomprometidos que receberam tratamentos prolongados com metrotexato, ciclofosfamida e azatioprina.¹⁰

Embora os estudos soroepidemiológicos demonstrem uma alta prevalência de infecção por VJC em toda a população mundial, a LMP permanece uma doença rara.¹⁰

Para que a LMP se desenvolva são necessários uma série de etapas:

- 1) Infecção por VJC;
- 2) Latência do VJC nos tecidos extraneurais;
- 3) Rearranjo da região viral NCCR resultando numa estirpe neurotrópica;
- 4) Reativação de uma estirpe viral neurotrópica a partir de um local de latência viral ou de expressão persistente;
- 5) Entrada do VJC no cérebro;
- 6) Falha do sistema imunitário em eliminar a infecção;
- 7) Produção de infecção efetiva dos oligodendrócitos.¹

Após a infecção primária, acredita-se que o VJC se torna latente em alguns tecidos, incluindo as amígdalas, o pulmão, o baço, a medula óssea e o rim.^{1,4} Aproximadamente 5% a 30% da população excreta VJC na urina - detetado pela reação em cadeia da polimerase ou pelo isolamento do vírus - o que indica claramente que o rim é um local de latência viral. No que se refere a outros tecidos, a presença do vírus é detetada com grande dificuldade.^{1,17}

Três linhas de evidência convergem para a hipótese de uma infecção latente ou persistente. Primeiro, a LMP é excepcionalmente rara em crianças. Segundo, enquanto o anticorpo IgG (imunoglobulina G) é facilmente detetado, o anticorpo IgM (imunoglobulina M) para o VJC raramente é observado no contexto de LMP, indicando que a infecção não é recente.^{1,4} Terceiro, antes do desenvolvimento de LMP, o vírus JC foi isolado fora do SNC com genoma similar - mesmo NCCR - que o isolado após o desenvolvimento de LMP.^{1,4,10}

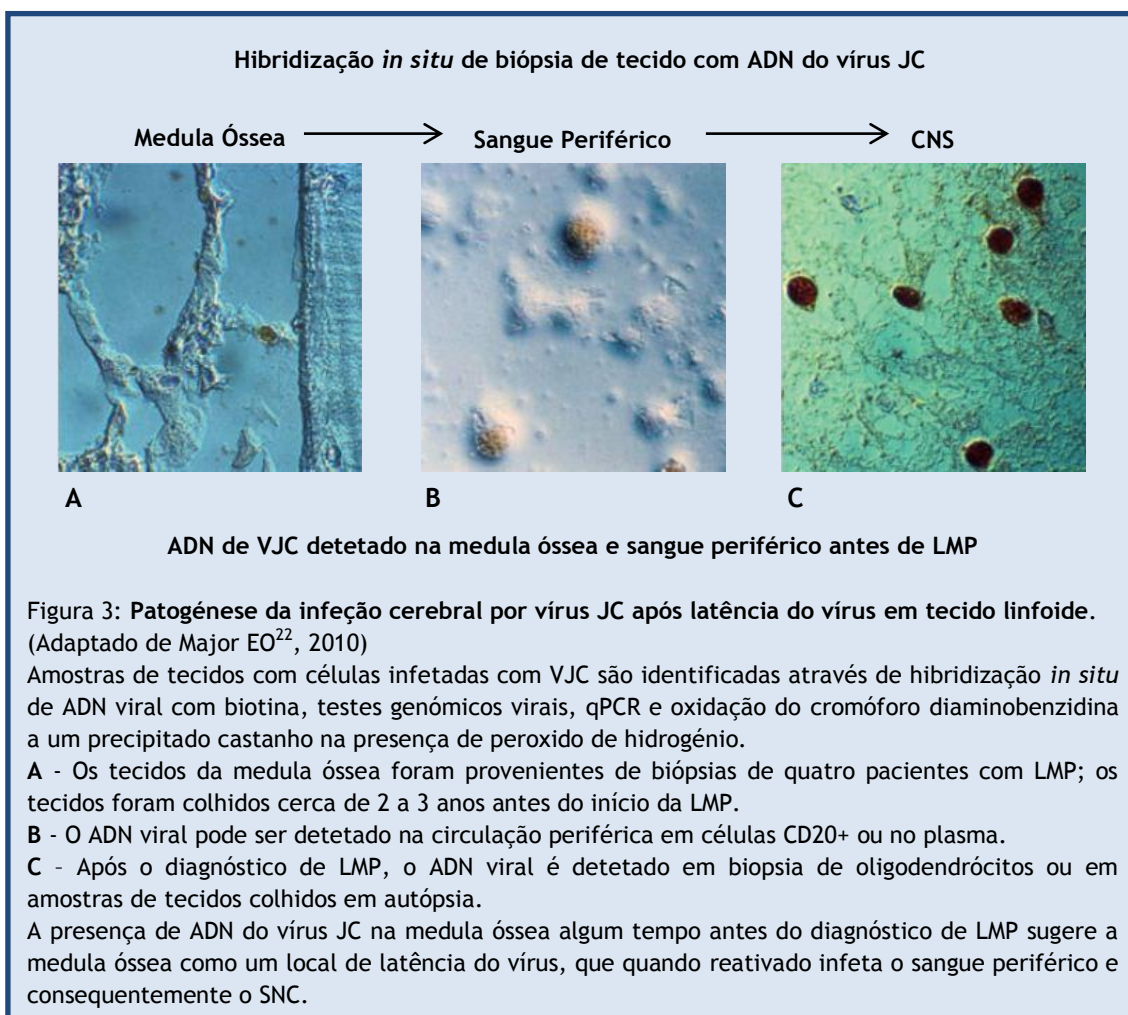
Apesar dos estudos iniciais de culturas do vírus JC em células fetais humanas sugerirem um neurotropismo exclusivo para células da glia, isso não é inteiramente verdade. O VJC infeta oligodendrócitos (de forma produtiva) e astrócitos (de forma restrita). O VJC também pode infetar as células granulares do cerebelo.¹

O VJC usa os recetores 5-HT_{2a} da serotonina (5-HT) para se ligar à superfície entrando na célula através de endocitose - dependente de clatrina⁴ - sendo transportado para

o retículo endoplasmático através de caveossomas. Depois entra no núcleo onde ocorre toda a replicação viral.¹² A morte do oligodendrócito parece ocorrer através de vias apoptóticas, no entanto a necrose pode ser o mecanismo de morte celular das células derivadas de astrócitos.¹

Ainda controversa é a identidade da célula que transporta o VJC para o SNC. Uma hipótese amplamente aceite sobre a patogénese da LMP implica a latência viral nos linfócitos da medula óssea e de outros tecidos linfoides. O vírus latente nos linfócitos seria ativado durante a imunossupressão, e as células infetadas ao entrar na circulação periférica provocariam virémia e posteriormente infeção cerebral.¹ Julga-se que as células B sejam as portadoras do VJC, porque para além do vírus estar presente nas células B da medula óssea foram também detetadas células B infetadas por citometria de fluxo no sangue de doentes com imunossupressão.^{1,2}

Os linfócitos infetados com VJC presentes na circulação periférica podem ser capazes de atravessar a barreira hematoencefálica infetando os astrócitos localizados junto aos vasos, que por sua vez aumentam a infeção através da multiplicação, até que eventualmente os oligodendrócitos são infetados (Figura 3).¹



O anticorpo específico dirigido ao VJC produzido pela resposta humoral do hospedeiro, não é suficiente para evitar a reativação do vírus, levando ao desenvolvimento de LMP. A resposta imunitária celular é necessária para a prevenção da reativação e proliferação viral. Esta resposta pode ser mediada por células T CD4+ específicas para VJC, que foram detetadas no sangue periférico de pacientes que sobreviveram à LMP. O número destas células correlaciona-se com a clearance de VJC no LCR.¹²

Os linfócitos T DC8+ citotóxicos (LTC) reconhecem os epítomos de proteínas virais de células infetadas apresentados por HLA de classe I (HLA 1, do inglês *human leukocyte antigen*). Estas células são eliminadas pelos LTC, impedindo assim a propagação do vírus. Embora o antigénio T seja transcrito no início do ciclo viral, foi detetada uma resposta imune mais forte contra a proteína VP1. LTC específicos para VJC são detetados no sangue dos sobreviventes de LMP mas muito raramente nos pacientes com LMP que progrediram de forma fatal um ano após o início da doença. Os LTC no sangue dos sobreviventes a LMP têm um fenótipo de memória, resultante da ativação e diferenciação de memória central nos estados precoces da doença. Adicionalmente, células T CD8+ são as primeiras células inflamatórias encontradas nas lesões de LMP, onde se agregam em torno das células infetadas.¹²

2.4 - Fatores de suscetibilidade ao VJC

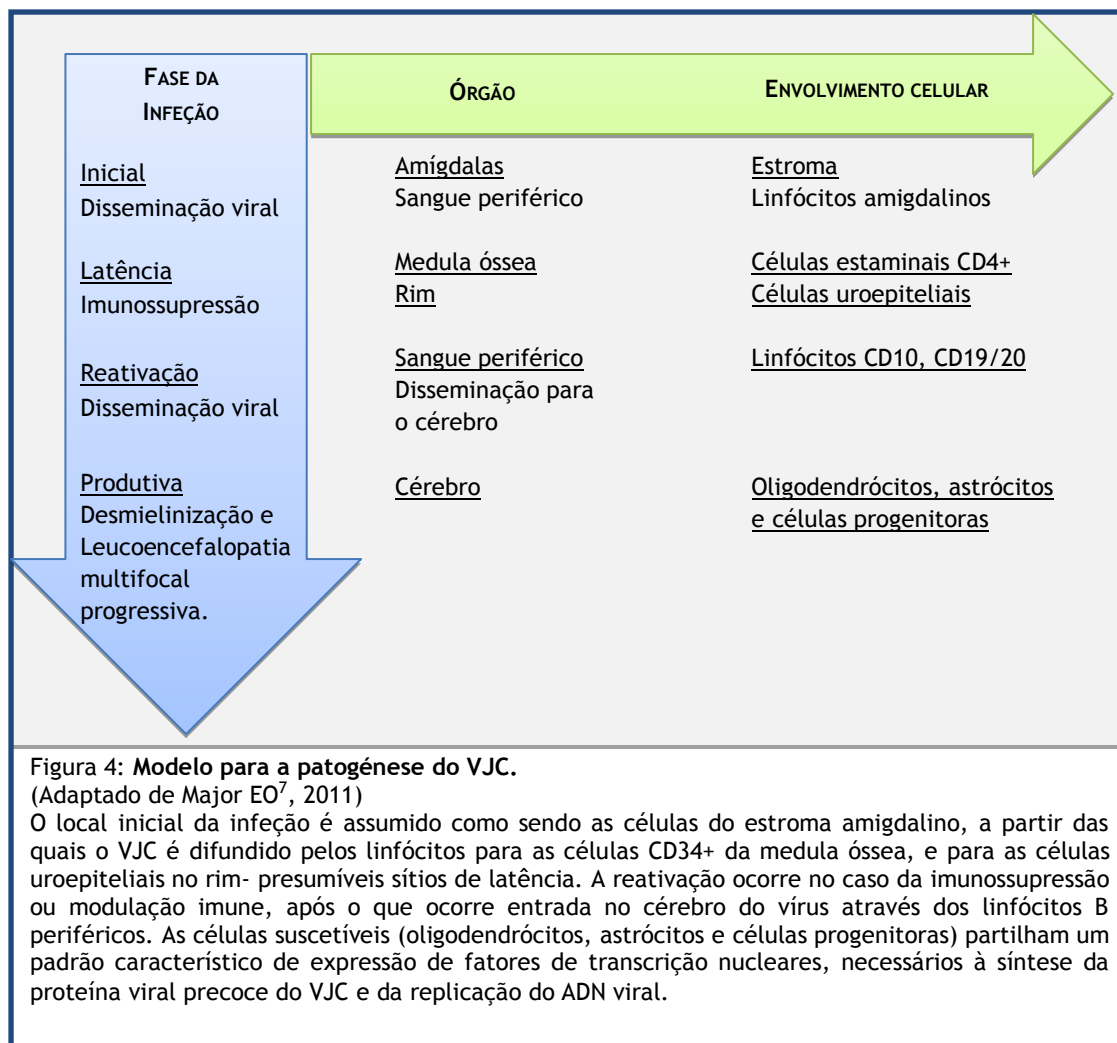
Apesar do recetor para o VJC tenha sido identificado como α -(2,6)-ácido siálico, a gama de hospedeiros para o desenvolvimento de infeção produtiva é controlada por fatores que se encontram dentro do núcleo da célula hospedeira e que se ligam ao promotor viral; este processo inicia a transcrição de RNAm para a síntese coordenada de proteínas virais. Apenas determinadas células têm as proteínas de ligação ao ADN necessárias em concentrações suficientemente elevadas para permitir que a infeção lítica ocorra, espalhando-se por contacto, célula-a-célula. Estas células incluem os oligodendrócitos - o alvo principal do VJC e cuja destruição leva a LMP - astrócitos, e as células do sistema imunitário CD34+ e CD19+.⁷

As células hematopoiéticas progenitoras CD34+ da medula óssea representam uma potencial via de patogénese do VJC.⁷

O local inicial da infeção por VJC não é conhecido, mas acredita-se que o vírus infete as células do estroma das amígdalas e em seguida se dissemine pelo sangue periférico (Figura 4). Após a imunossupressão, a reativação do vírus ocorre e a sua disseminação do sangue para o cérebro resulta em infeção dos oligodendrócitos, astrócitos e células progenitoras.⁷

A incidência de LMP em pacientes com esclerose múltipla e doença de Crohn tratados com natalizumab aumenta à medida que aumentam o número de doses. A análise a amostras de sangue colhido em doentes tratados com natalizumab no início da doença e novamente no primeiro, décimo segundo e após 24 meses de tratamento, demonstra que a frequência de células CD34+ no sangue periférico aumenta com a duração da terapia, acrescentando

credibilidade à teoria de que as células CD34+ possam atuar como um reservatório para o vírus latente. Uma maior frequência de células CD34+ está associada a virémia.⁷



2.4.1 - Fatores de risco para o desenvolvimento de LMP

Os fatores de risco mensuráveis ao desenvolvimento de LMP incluem:

- Aumento nos títulos de anticorpo;
- Evidência de virémia, especialmente virémia persistente relacionada com sequências de repetição na região reguladora de genoma viral;
- Respostas ineficazes das células T (CD4 e CD8);
- Fatores moleculares do hospedeiro (ex.: expressão de Spi-B nas células B) que admitam a infecção por VJC em células potencialmente suscetíveis.

A presença de mais do que um destes fatores de risco é necessário para o desenvolvimento da LMP.⁷

Capítulo 3 - O desenvolvimento de LMP em pacientes com EM tratados com Natalizumab

A esclerose múltipla é a principal causa de incapacidade neurológica em adultos jovens, afetando cerca de dois milhões de pessoas em todo o mundo.^{19,31}

A EM pode ser clinicamente categorizada em esclerose múltipla recidivante remitente (EMRR - 85% a 90% dos pacientes) ou esclerose múltipla progressiva primária (EMPP). As recidivas têm tipicamente apresentação subaguda de horas a dias com sintomas neurológicos persistentes durante dias a semanas até que, gradualmente desaparecem. No início da doença há recuperação completa das recidivas, mas numa fase mais avançada da doença há um acúmulo de défices, por fim a maioria dos casos converte-se em esclerose múltipla progressiva secundária (EMPS).³¹

Na última década várias terapias têm sido introduzidas no tratamento da EM. Há evidências de que o mecanismo básico da esclerose múltipla recidivante remitente seja a inflamação e desmielinização focal da substância branca do SNC, envolvendo os linfócitos e monócitos, estas células têm acesso ao parênquima cerebral através da adesão às células endoteliais vasculares em regiões inflamadas. A integrina $\alpha 4\beta 1$, também conhecida como antigénio tardio 4 (ou VLA-4 do inglês *very late antigen 4*), é um mediador importante na adesão celular e migração trans-endotelial, e um regulador na ativação imune das células.^{19,23}

Antes da implementação de terapêuticas biológicas a LMP foi diagnosticada em pacientes com neoplasias, transplantes de órgãos, sarcoidose, síndrome de Job, síndrome de Sjögren's, SIDA e outras doenças, mas não em pessoas com esclerose múltipla.²²

Em 2003 Miller *et al.*²⁰ concluíram que o natalizumab, um anticorpo monoclonal contra a subunidade $\alpha 4$ da integrina $\alpha 4\beta 1$ e dos recetores $\alpha 4\beta 7$ localizados na superfície dos linfócitos, é altamente eficaz no tratamento da EMRR, reduzindo as taxas de recorrências em cerca de 60%.^{20,27,28} Os efeitos benéficos do natalizumab no contexto da EM têm sido atribuídos ao bloqueio da passagem de células T através do endotélio e consequente redução do componente inflamatório da doença.^{17,21,30} A instituição de tratamento de EM com natalizumab requer um modelo organizacional específico com vigilância e monitorização clínica, uma gestão adequada da terapia de infusão e vigilância dos efeitos adversos, proporcionando acesso a instalações de cuidados intensivos sempre que ocorram complicações.²⁹ O natalizumab é geralmente recomendado a pessoas que não respondem às terapias modificadoras da doença de primeira linha atualmente disponíveis, a pessoas com doença muito ativa, ou como medicamento de primeira linha para os doentes com formas recidivantes de EM.^{19,21,23}

O natalizumab liga-se à integrina α_4 , que pode heterodimerizar-se com a integrina β_1 para formar a integrina $\alpha_4\beta_1$ (VLA-4), ou com a integrina β_7 para formar $\alpha_4\beta_7$; ambas as integrinas $\alpha_4\beta_1$ e $\alpha_4\beta_7$ estão presentes nas células T e B e funcionam como sítios de ligação à MACV (moléculas de adesão das células vasculares) nas células endoteliais.^{22,24,33} O natalizumab bloqueia as ligações da $\alpha_4\beta_1$ à MACV e da $\alpha_1\beta_7$ à MACam-1, impedindo o extravasamento de células T no cérebro e no intestino, respetivamente. Como as células T são parte característica da patologia da EM, impedir o acesso destas células aos órgãos alvos tem importantes efeitos clínicos.^{22,28}

O natalizumab induz a uma leucocitose durante semanas a meses e a relação CD4/CD8 no LCR de pacientes tratados com natalizumab inverte-se por, pelo menos, seis meses.²²

A ligação de natalizumab a moléculas de integrina não se limita às células B e T. O bloqueio de moléculas de adesão celular também impede a permanência das células progenitoras hematopoiéticas CD34+ na medula óssea e das células pré-B nas zonas marginais dos nódulos linfáticos. A consequência da ligação é a migração das células CD34+ e das células pré-B da medula óssea e dos nódulos linfáticos para a circulação periférica (Figura 5).^{7,15,22,24} Este processo foi demonstrado em pacientes tratados com natalizumab dias a semanas após o início da terapêutica. Além disso, a análise de expressão do gene dos linfócitos periféricos mostrou um padrão de regulação positiva de vários genes ativos na diferenciação de células B.²²

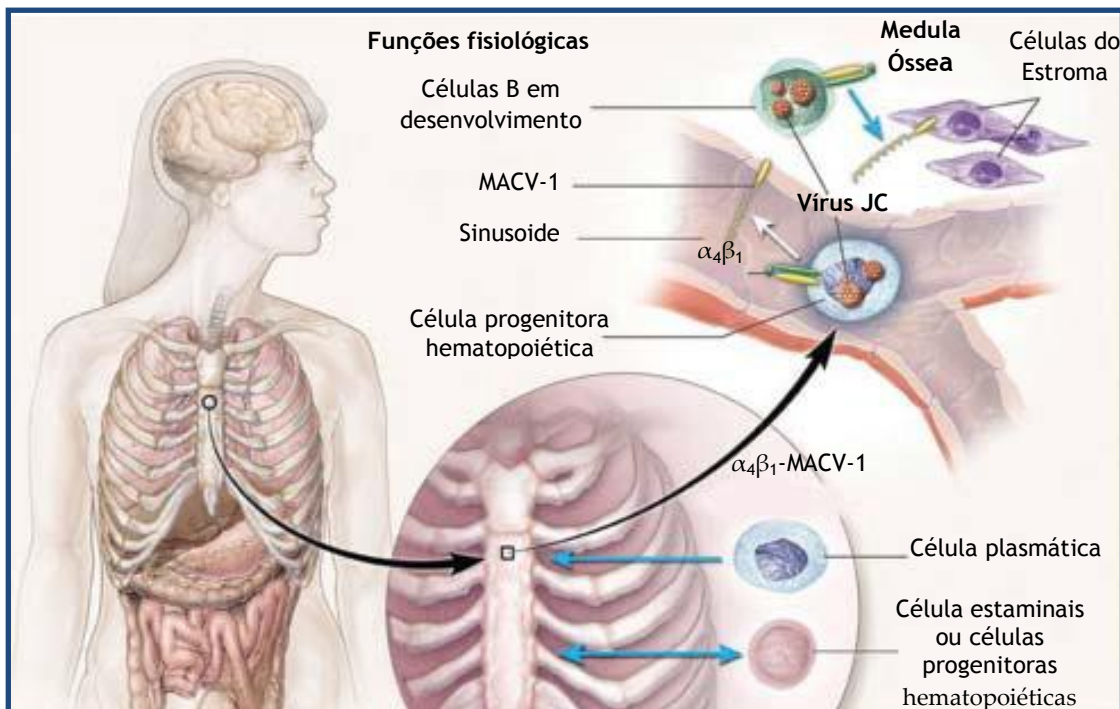


Figura 5: O desenvolvimento de PML após terapia com natalizumab. (Adaptado de Major EO⁷, 2011)

O natalizumab provoca a migração de células estaminais hematopoiéticas e células pré-B da medula óssea, impedindo a sua ligação às moléculas de adesão das células vasculares (MACV). O VJC pode ficar na medula óssea num estado de latência por longos períodos e migrar para a circulação periférica. O vírus usa células B e as suas moléculas de adesão do ADN para iniciar a replicação viral.^{7,15}

Após um estudo recente realizado em 2011 por Cejudo *et al.*²³, foi demonstrado que o natalizumab não interfere na atividade ou frequência das células T reguladoras, sugerindo que o anticorpo terá outros efeitos imunológicos para além da interação com o VLA-4 e do bloqueio do extravasamento celular no SNC, porém a relevância destes dados permanece desconhecida.

Em 2009, Chen *et al.* concluíram que a reativação subclínica do vírus JC ocorre frequentemente em doentes com EM tratados com natalizumab, através da demonstração de que após 12 meses de terapia com natalizumab, a prevalência do VJC na urina dos 19 doentes abrangidos pelo estudo aumentou de um valor inicial de 19% para 63%. Após 18 meses de tratamento, o VJC era detetável em 3 de 15 amostras de plasma - 20% - e em 9 de 15 amostras de células mononucleares do sangue periférico.²⁵

Como anteriormente discutido, o ADN do VJC foi detetado na medula óssea e nos tecidos linfoides meses a anos antes do início de LMP, na circulação periférica em células B ou como vírus livre podendo infetar células B em cultura, e usa fatores da célula hospedeira para a sua expressão genómica. Alguns dos fatores críticos do hospedeiro que promovem a síntese do VJC são partilhados com genes envolvidos na diferenciação de células B que estão desreguladas nos pacientes tratados com natalizumab. Um sítio de ligação ao ADN na sequência promotora do VJC é o sítio de ligação SpiB, essencial na progressão da maturação das células pré-B em células B maduras e altamente representadas no genoma regulador do VJC.^{7,22} Estes dados sugerem um possível mecanismo através do qual a administração de natalizumab possa conduzir a LMP. Neste cenário, as células CD34+ e/ou as células pré-B na medula óssea são portadoras de ADN do VJC latente e migram para o sangue periférico devido ao bloqueio da ligação das integrinas com as MACV, o início da diferenciação das células B por regulação positiva dos genes apropriados e a ativação da síntese do VJC utilizando a mesma maquinaria molecular do hospedeiro à medida que as células se diferenciam em CD19/ CD20. A multiplicação viral teria então lugar, medida como virémia, na circulação periférica, e o vírus entraria no cérebro de forma isolada ou transportados por células B infetadas^{22,24}. No cérebro, uma vez que a vigilância imune é ineficaz, o VJC pode infetar os oligodendrócitos, levando à sua morte e à clínica de LMP. Este mecanismo hipotético permanece meramente especulativo no momento, mas reúne vários dados laboratoriais e clínicos e serve como um modelo de trabalho experimental.²²

A gestão de LMP começa com a estratificação do risco. Os fatores que predizem o risco de desenvolver LMP são:

- O nível de anticorpos de VJC;
- História pregressa de uso de quimioterapia;
- Exposição prolongada ao natalizumab.

O risco de LMP relacionada com natalizumab aumenta com tratamentos superiores a 36 meses, após a qual parece haver estabilização do risco.^{13,26}

No momento não existem marcadores clínicos, biológicos ou imunológicos definitivos que indiquem uma possível suscetibilidade à LMP como consequência de efeitos imunoterapêuticos.³³ No entanto, sempre que houver a menor suspeita de que um agravamento do quadro neurológico num paciente tratado com natalizumab pode ser devido a LMP, o tratamento deve ser imediatamente suspenso e só deve ser retomado quando a LMP tiver sido definitivamente excluída.^{21,24} A utilização de PCR para deteção do VJC permite um diagnóstico precoce. A reconstituição imune representa a base do tratamento da LMP. Com reversão rápida da imunossupressão seguida de recuperação imunológica, quase todos os pacientes sofrem uma deterioração clínica, denominada Síndrome Inflamatória de Reconstituição Imune (SIRI).²⁶

Estas observações levantam outras questões, como por exemplo, se há um risco cumulativo de desenvolver LMP, ainda que pequeno, deverá ser instituída uma interrupção estruturada ao tratamento? Após quanto tempo de exposição ao natalizumab? E durante quanto tempo? O objetivo desta estratégia seria permitir a reconstrução da imunocompetência permitindo que o sistema imunitário do doente seja capaz de combater infeções oportunistas como a LMP. A possibilidade de reduzir o risco de desenvolver LMP em pacientes tratados com natalizumab através de uma interrupção no tratamento é atraente, contudo é necessário considerar se o risco de recorrência de EM supera a potencial diminuição do risco de desenvolver LMP.^{22,26}

Não existem no momento recomendações baseadas em evidência para estes casos, no entanto está em curso um estudo clínico randomizado multicêntrico de interrupção da terapia com natalizumab.^{22,26}

Os benefícios clínicos e a eficácia da terapia com natalizumab têm de ser ponderados com os seus potenciais riscos, que incluem infeções oportunistas e casos fatais da leucoencefalopatia multifocal progressiva.^{21,23} Em Agosto de 2011, um total de 150 casos de LMP associado ao tratamento com natalizumab foram relatados em todo o mundo. O risco total é estimado em cerca de 1 em 1000 pacientes.^{32,33}

Capítulo 4 - Diagnóstico

O diagnóstico precoce é muito importante uma vez que limita o grau de danos permanentes.³⁴ A melhor maneira de detetar precocemente a LMP é através da vigilância clínica.^{13,21,29}

Os sintomas suspeitos de LMP em doentes tratados com natalizumab incluem: alterações cognitivas e de comportamento, sintomas focais, hemiparesia, hemianopsia e distúrbios de linguagem, e convulsões. Até agora a neurite ótica e mielite transversa não foram observadas.²⁹ A história e o padrão de sinais e sintomas, tanto os anteriores como os atuais irão facilitar a potencial deteção de LMP. Como já referido, se houver suspeita de LMP associada ao uso de natalizumab o tratamento deve ser imediatamente suspenso e apenas retomado quando o diagnóstico de LMP tiver sido definitivamente excluído.^{13,21,29,36}

A suspeita de LMP deve ser investigada recorrendo às seguintes avaliações diagnósticas: avaliação clínica minuciosa; exames imagiológicos; punção lombar (PL) para análise do LCR; e biópsia cerebral.²¹

Na ausência de biópsia, para que se estabeleça o diagnóstico de LMP é necessário:

- Demonstração de ADN de VJC no LCR por PCR;
- Apresentação clínica compatível com LMP;
- Achados imagiológicos compatíveis com LMP;
- Nenhum outro diagnóstico alternativo.⁸

4.1 - Avaliação diagnóstica

4.1.1 - Avaliação clínica

Quando um doente tratado com natalizumab desenvolve um quadro sintomático sugestivo de LMP a primeira abordagem deve ser um exame físico e neurológico completo e minucioso de forma a fazer o diagnóstico diferencial entre um episódio recidivante de EM e LMP (Tabela 1 e Figura 6).²¹

4.1.2 - Exames de Imagem

Se a análise clínica não excluir LMP, deveser realizada RM/CE com contraste, e esta comparada com os exames imagiológicos anteriores. De modo a otimizar a comparação dos exames, deverão ser obtidas imagens standardizadas de alta resolução desde o início do tratamento com natalizumab a intervalos anuais e de seis em seis meses após os dois anos de terapia com natalizumab.^{13,21}

Tabela 1: Sintomas clínicos de EM e de LMP	
Recidiva de EM	LMP
<ul style="list-style-type: none"> • Início agudo • Tem duração de várias horas a dias, até que os sintomas estabilizam e resolvem-se espontaneamente, mesmo sem tratamento. • A apresentação clínica inclui: diplopia, neurite ótica e mielopatia (paraparésia, alterações sensoriais discretas) 	<ul style="list-style-type: none"> • Início subagudo; • Dura várias semanas e evolui de forma progressiva; • A apresentação clínica inclui: afasia, alterações neuro-psicológicas e de comportamento, défices visuais retro-quiasmais, hemiparesia e convulsões.

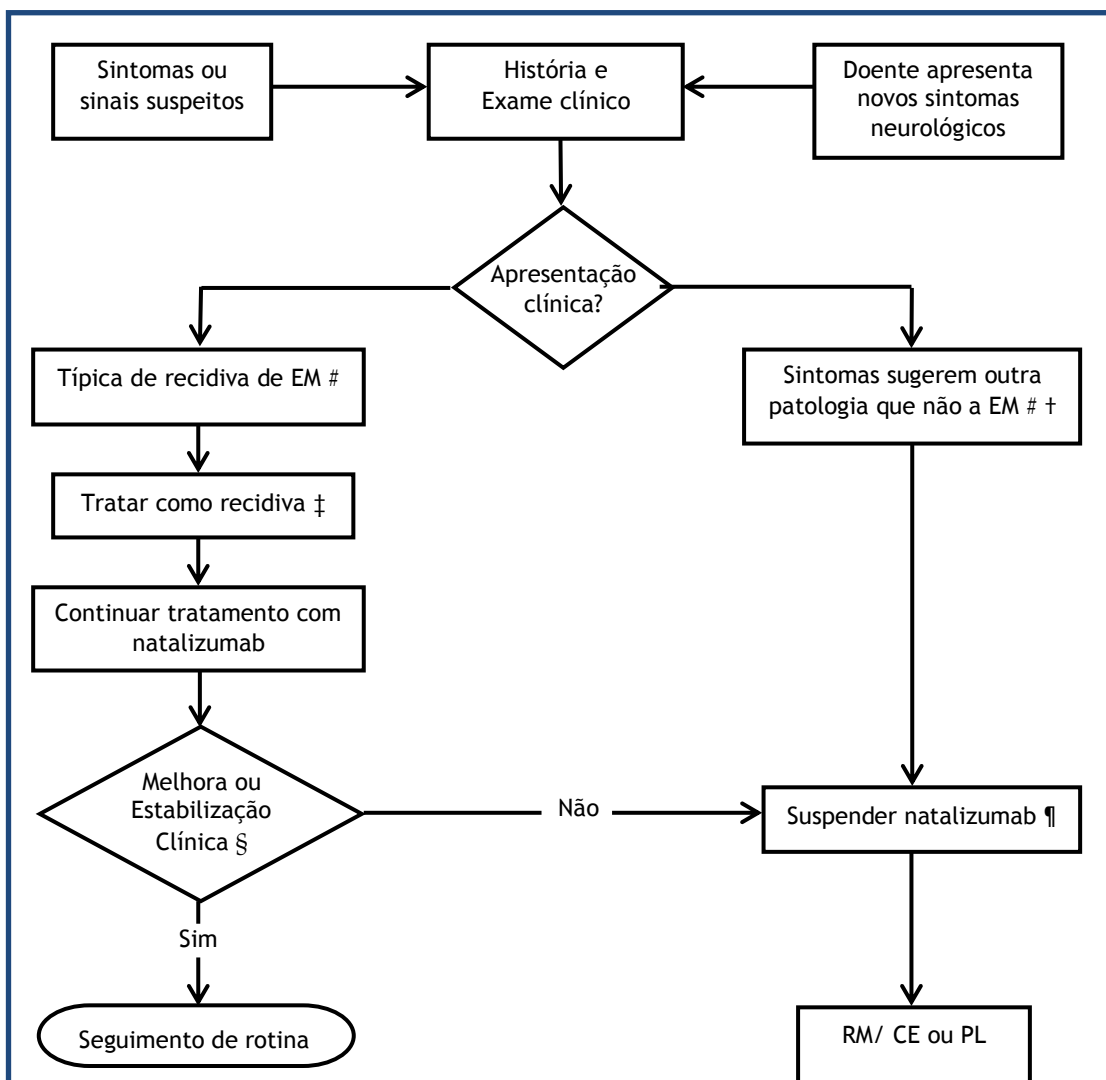


Figura 6: Avaliação clínica de novos sintomas neurológicos em pacientes com EM tratados com natalizumab. (Adaptado de Kappos *et al*²¹, 2011)

Ver tabela. † devem ser consideradas outras patologias que não a EM, especialmente infecções oportunistas. ‡ As recidivas devem ser tratadas de acordo com as normas atuais. § Os achados clínicos devem ser comparados com os apresentados no início do quadro clínico. ¶ Se houver suspeita de que o episódio não foi provocado por EM, todas as infusões de natalizumab devem ser suspensas até que a LMP, ou outra infecção oportunista, seja definitivamente excluída. EM - esclerose múltipla. RM/ CE - ressonância magnética crânio encefálica. PL - punção lombar.²¹

Os exames imagiológicos incluem a Tomografia Computadorizada (TC) e a RM.⁸

- **TC:**

Anormalidade em TC relacionadas com LMP foram descritas pela primeira vez em 1977.¹¹ As lesões desmielinizantes subcorticais aparecem tipicamente como hipodensidades na substância branca,^{1,8,12} com bordas recortadas (Figura 7) muitas vezes com propensão para as áreas parieto-occipitais, interface da junção da substância branca e da substância cinzenta do córtex.^{8,11} As lesões podem ser vistas no corpo caloso, tálamo e gânglios da base, mas o tamanho das lesões observadas em TC nem sempre refletem a progressão clínica da doença.⁸

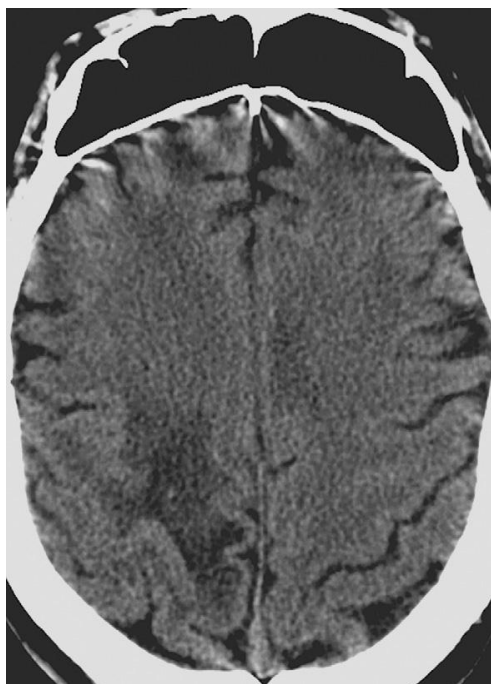


Figura 7: Aparência de LMP à TC.

(Adaptado de Shah *et al*¹¹, 2010)

A imagem de TC sem contraste mostra uma lesão hipodensa típica de LMP envolvendo a substância branca subcortical. O córtex adjacente não está envolvido e não há efeito de massa.

As lesões não demonstram efeito de massa ou aumento do contraste.^{1,11}

A administração de uma dose intravenosa, seguida de uma dose dupla de contraste melhora a qualidade da imagem numa minoria dos casos - 10%. Este aprimoramento é geralmente fraco e de localização periférica.⁸

- **RM:**

É o primeiro exame complementar de diagnóstico a ser realizado aquando da suspeita de LMP.¹³ Pode evidenciar lesões antes do desenvolvimento de doença clínica, uma vez que é

muito mais sensível do que a TC na detecção de lesões desmielinizantes de LMP.^{1,2,11,13} Em alguns casos, a RM mostra claramente a presença de lesões quando a TC é normal.

As características das lesões são hiperintensidade nas ponderações em T2 e FLAIR (do inglês *fluid-attenuated inversion recovery*), e hipointensidade nas imagens ponderadas em T1.^{8,11-13} Na fase inicial da doença as lesões são uni ou multifocais redondas ou ovais, mas com a progressão da LMP tornam-se grandes e confluentes.^{11,13} O envolvimento das fibras arqueadas (fibras U) criam uma nítida fronteira com o córtex. O envolvimento é mais frequentemente assimétrico com relativa preservação da substância branca peri-ventricular. O envolvimento da substância branca perieto-occipital e do corpo caloso é frequentemente observado (Figura 8 e 9). O envolvimento da fossa posterior, especialmente dos pedúnculos cerebelares médios também é frequente. Ocasionalmente, as lesões podem estar limitadas ao cerebelo ou ao tronco cerebral ou demonstrar envolvimento seletivo do trato piramidal.^{11,12}



Figura 8: LMP supratentorial. Adaptado de Shah *et al*¹¹, 2010.
Lesão de típica de LMP na substância branca do lóbulo frontal esquerdo.
A - Hipointensidade em T1
B - Hiperintensidade em FLAIR

Apesar das lesões de LMP envolverem tipicamente a substância branca, o envolvimento da substância cinzenta^{11,12} pode ser observado em até 50% dos pacientes. O envolvimento da substância cinzenta profunda (núcleos da base) e hemorragias focais são incomuns, mas têm sido descritas.¹¹

As lesões encontradas na LMP associada ao uso de natalizumab são similares às encontradas na LMP clássica, no entanto a imunossupressão causada pelas terapias com anticorpos monoclonais podem levar ao desenvolvimento de lesões cavitadas, raramente observadas em outros contextos de LMP.¹²

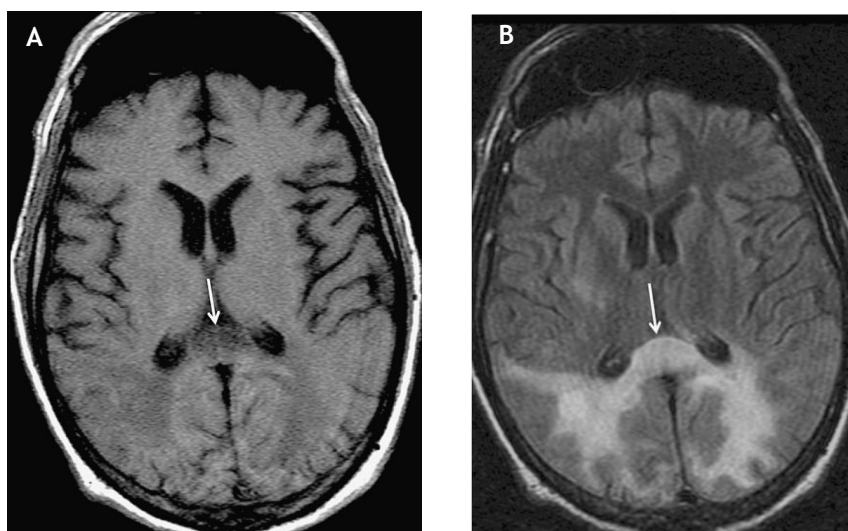


Figura 9: LMP Envolvendo o corpo caloso.

(Adaptado de Shah *et al*¹¹, 2010)

As lesões estão localizadas em ambos os lobos occipitais e sem efeito de massa.

A - Hipointensidade em T1.

B - Hiperintensidade em FLAIR

Enquanto as lesões de LMP relacionadas com VIH geralmente não apresentam edema nem reforço com Gd, em mais de 40% dos pacientes tratados com natalizumab as lesões de LMP mostram absorção de Gd, possivelmente devido à maior debilidade do sistema imunitário.^{8,13}

Os coeficientes de difusão aparentes (CDA) na RM são tipicamente normais ou baixos em lesões recentes e no bordo das lesões.⁸

Os dados imagiológicos não podem ser utilizados de forma isolada para estabelecer o diagnóstico definitivo.²¹

4.1.3 - Análise do LCR

Se os sintomas clínicos e/ou as lesões observadas à RM permanecerem sugestivos de LMP, a análise ao LCR através de PCR ao ADN do VJC deverá ser realizada (Figura 10).^{9,13,21} Este é o método preferencial para o diagnóstico minimamente invasivo.^{2,13}

A deteção de ADN de VJC no LCR de um doente sintomático confirma o diagnóstico, mas uma PCR negativa não o exclui, uma vez que, apesar da sensibilidade da PCR aproximar-se dos 72% a 92% e a especificidade dos 92% a 100%, por vezes o número de cópias de ADN viral presentes no LCR é baixa - menos de 500 cópias/ml - principalmente em pacientes tratados com anticorpos monoclonais como o natalizumab, e assim a PCR do LCR pode apresentar falsos negativos. A PCR ao ADN viral deve ser quantitativa e medida em tempo real, de forma a maximizar a sensibilidade e especificidade de deteção, utilizando um limite mínimo de quantificação de 50 cópias de ADN por ml.^{8,9,13,21}

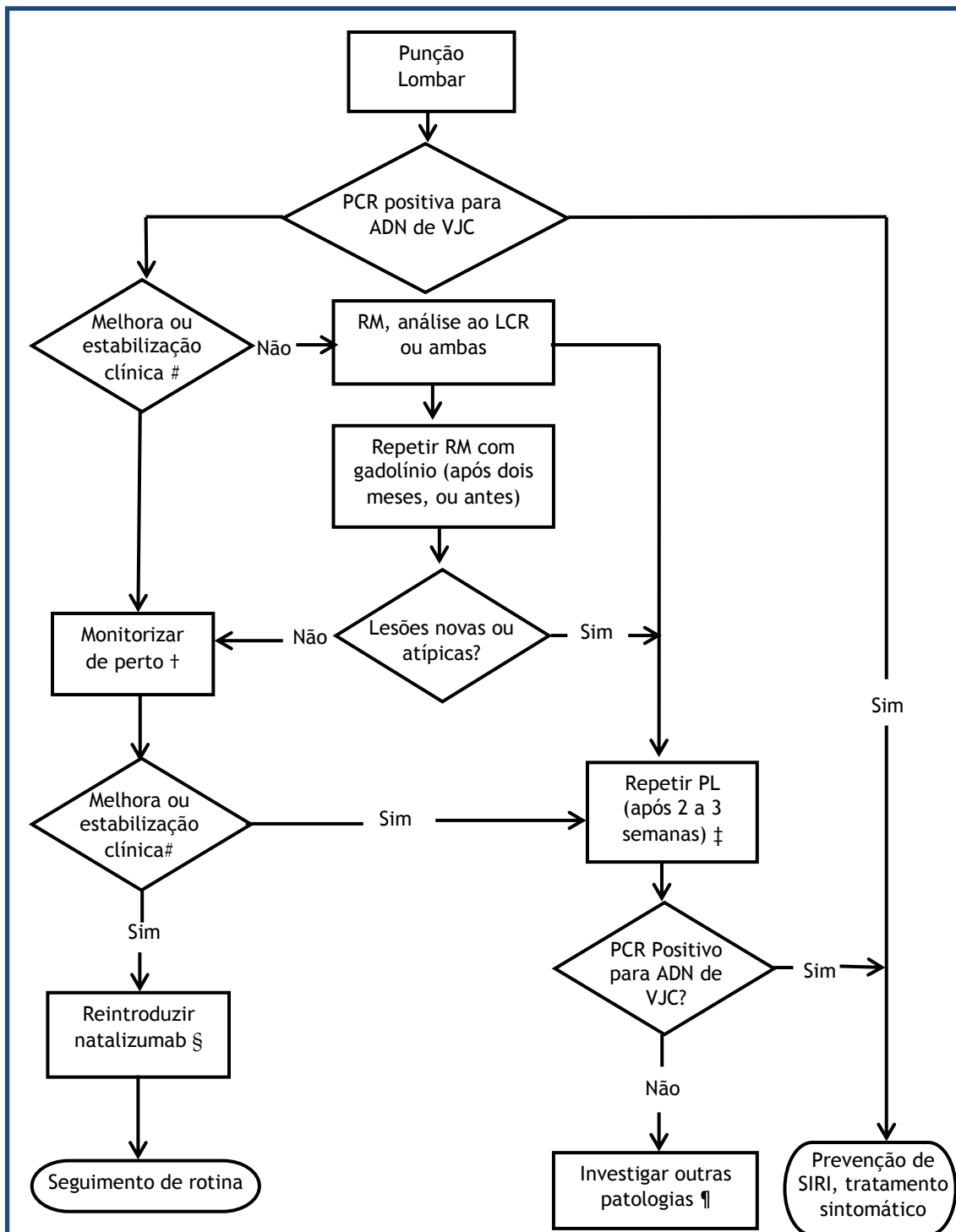


Figura 10: Diferenciação laboratorial de novos sintomas neurológicos em pacientes com EM tratados com natalizumab.

Adaptado de Kappos *et al*²¹, 2011

Os achados clínicos devem ser comparados com os apresentados no início do episódio. † O acompanhamento de perto consiste em consultas bissemanais. As recidivas devem ser tratadas de acordo com as normas atuais. ‡ Acelerar o teste se os sintomas persistirem ou progredirem. § A reintrodução do natalizumab deve ser considerada apenas quando a LMP ou outras infeções oportunistas forem definitivamente excluídas. ¶ Devem ser considerados outros diagnósticos e biópsia cerebral para confirmar, ou não, a presença de VJC, no caso da PCR para ADN de VJC ser negativa mas permanecer a suspeita de LMP com base em dados clínicos e imagiológicos. EM - esclerose múltipla. VJC - vírus JC. SIRS- síndrome inflamatório de reconstituição imune. PL - punção lombar

Se não for detetado VJC mas a suspeita de LMP permanecer, é recomendada a repetição do exame, se este permanecer negativo deverá ser realizada uma biópsia cerebral.²¹

À exceção da PCR para VJC, a principal utilidade para a PL realizada na suspeita de LMP é a exclusão de outras patologias.^{1,8,9}

Os achados na análise de LCR de pacientes com LMP são inespecíficos, sendo que a maioria apresenta um perfil normal. Uma leve pleocitose linfocítica², que raramente excede os 25 leucócitos/ml, ocorre em 15% dos pacientes. O nível de proteínas total está ligeiramente elevado em aproximadamente 20% a 30% dos casos.⁸

4.1.4 - Biópsia cerebral

O método mais confiável e preciso para o diagnóstico de LMP continua a ser a biópsia cerebral, que demonstra a característica tríade de achados histológicos - desmielinização (Figura 11), astrócitos bizarros e oligodendrócitos com o núcleo aumentado - juntamente com a evidência de VJC.^{8,11,13} No entanto este não é o método preferencial devido à sua natureza invasiva.¹¹

Em doentes com achados imagiológicos e clínicos progressivos, mas nos quais a pesquisa de ADN viral no LCR é continuamente negativa, está indicada a biópsia cerebral independentemente da imunossupressão subjacente.⁹

Quando as lesões não estão acessíveis para biópsia, ou quando o paciente está demasiado debilitado para suportar este procedimento, o diagnóstico de LMP estabelece-se através da PCR positiva para ADN de VJC.³

O exame histológico da biópsia normalmente revela uma ou múltiplas áreas de desmielinização, contendo:

1. Oligodendrócitos infetados com VJC, com núcleos alargados e localizados na periferia da lesão;
2. Gliose reativa, com astrócitos de tamanho aumentado e bizarro, alguns com infeção restrita, sem lise celular;^{3,12}
3. Macrófagos carregados de lípidos, em processo de fagocitose da mielina e de detritos celulares.³

Em relação ao VJC, a hibridização *in situ* ou a imunocitoquímica podem ser empregues.^{3,8}

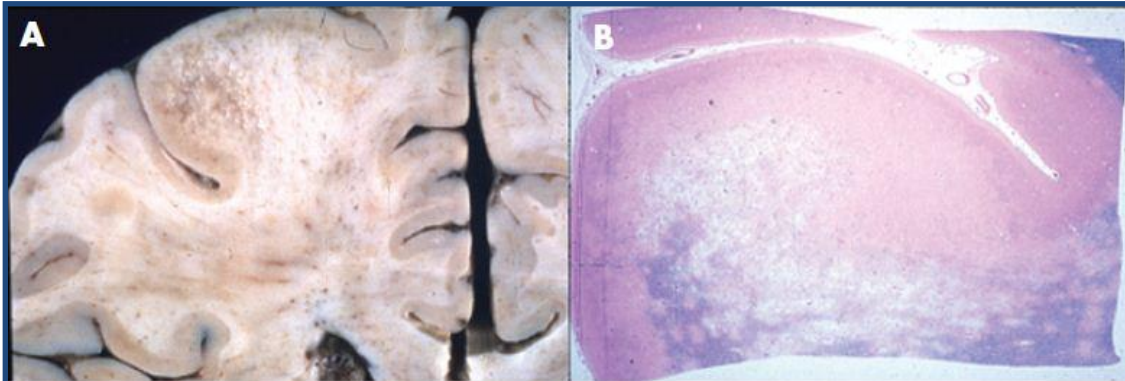


Figura 11: Patologia de LMP.

(Adaptado de Berger *et al*⁴, 2006)

A: a amostra revela uma região de desmielinização subcortical no lobo frontal direito.

B: amostra corada com hematoxilina e eosina com mancha azul de lugol, mostrando a desmielinização na região subcortical afetada.⁴

4.2 - Diagnóstico diferencial

Sempre que um paciente com EM em terapia com natalizumab apresenta um novo sintoma neurológico, ou um deterioramento do seu estado clínico deve ser feito o diagnóstico diferencial entre uma recidiva de EM ou uma possível LMP. Os sinais e sintomas de LMP e EM foram anteriormente apresentados na Tabela 1.

Apesar do diagnóstico definitivo não poder ser estabelecido apenas com base em dados imagiológicos - não existem características imagiológicas patognomónicas de LMP ou de EM - a RM revela diferenças entre a EM e a PML (Tabela 2).^{11,21}

Ao longo dos últimos anos, novas apresentações clínicas de LMP associadas a outras doenças têm sido descritas, havendo a necessidade de distinguir as manifestações “clássicas” da doença das manifestações da infeção por VJC associada a outras patologias (Tabela 3).

Tabela 2: Características da RM para o diagnóstico diferencial entre PML e EM.
(Adaptado de Kappos et al²¹, 2011)

	EM	LMP
EM - esclerose múltipla. LMP - leucoencefalopatia multifocal progressiva. FLAIR - do inglês fluid-attenuated inversion recovery.		
Aspeto e localização de novas lesões	Principalmente focais, pode afetar o cérebro e a espinhal medula, a substância branca e por vezes a cinzenta.	Lesões difusas e assimétricas (inicialmente podem ser unifocais), afeta principalmente a região subcortical e raramente a peri ventricular, localizada quase exclusivamente na substância branca, ocasionalmente afeta a substância cinzenta profunda; fossa posterior frequentemente afetada (cerebelo e tronco cerebral), muito raramente na espinhal medula.
Bordos	Bordos pontiagudos (forma de ponta de dedo) especialmente as lesões periventriculares, confluentes com outras lesões; pode haver envolvimento das fibras-U.	Bordos definidos; lesões infiltrativas; irregulares; limitadas à substância branca poupando a substância cinzenta; fibras-U destruídas; propagação típica ao longo dos tratos da substância branca.
Forma de Expansão	Inicialmente focal; aumento das lesões em dias a semanas, com decréscimo do tamanho após alguns meses.	As lesões expandem-se de forma homogénea, contínua, por vezes torna-se rapidamente multifocais ou generalizadas; confinadas aos tratos da substância branca, poupando o córtex
Efeito de massa	Lesões agudas mostram algum efeito de massa.	Não há efeito de massa, mesmo em grandes lesões, exceto de a resposta inflamatória estiver presente.
Imagem em T2	Lesões agudas têm um centro hiperintenso, anel hipointenso, e discreta hipointensidade fora do anel; lesões subagudas e crónicas são hiperintensas sem estrutura em anel.	Hiperintensidade difusa; intensidade ligeiramente aumentada em novas lesões quando comparadas com as antigas; por vezes aparência granular.
Imagem em T1	As lesões agudas são marcadamente hipointensas (lesões grandes) ou isointensas (lesões pequenas); em 80% das vezes há aumento progressivo do sinal; diminuição da intensidade do sinal em cerca de 20% dos casos (perda axonal).	Ligeira hipointensidade inicial, com decréscimo da intensidade do sinal ao longo do tempo e da área afetada; não há reversão da intensidade do sinal.
FLAIR	Lesões com hiperintensidade, acentuadamente delineadas.	Ponderação preferida para o diagnóstico porque a hiperintensidade é mais óbvia; a extensão das anormalidades é observada de forma mais clara do que em T2, especialmente nos cortes coronais.
Contraste com Gadolínio	As lesões agudas apresentam aprimoramento homogéneo e arestas pontiagudas, o contraste cobre toda a extensão das lesões recentes; as lesões subagudas têm um aprimoramento em anel com eventual resolução dentro de 1 a 2 meses; as lesões crónicas não mostram nenhum tipo de contraste.	Cerca de 50% dos casos mostraram melhoria da imagem, tipicamente com um aspeto irregular; é possível que ocorra absorção de Gd nas zonas periféricas; o aprimoramento normalmente aumenta com a resposta inflamatória ou diminui com a administração de corticosteroides.
Atrofia	Pode ocorrer atrofia focal devido a degeneração focal da substância branca; sem progressão.	Inicialmente não há atrofia focal; com a progressão da doença pode surgir atrofia.

Tabela 3: Apresentação clínica da infecção por VJC
(Adaptado de Koralnik e Tan¹², 2010)

cART - do inglês *combined antiretroviral therapy*. FAIR - do inglês *Fluid-attenuated inversion recovery*. SIRI - *syndrome inflamatória de reconstituição imune*. LMP - *leucoencefalopatia multifocal progressive*. RM - *ressonância magnética*

	LMP clássica	LMP/ SIRI	Neuropatia de células granulares por VJC	Encefalopatia por VJC	Meningite por VJC
Início	Subaguda.	Recuperação do sistema imunitário.	Crônico.	Subaguda.	Aguda.
RM	Assimétrica, bem delineada, lesões sem reforço de Gd, hiperintenso em T2e FLAIR e hipointenso em T1.	Reforço com Gd e sem efeito de massa.	Atrofia cerebelar.	Lesões corticais.	Sem lesões cerebrais definidas; dilatação ventricular.
Sintomas neurológicos	De acordo com a localização das lesões.	De acordo com a localização das lesões e da inflamação.	Síndrome cerebelar.	Encefalopatia.	Cefaleia, rigidez da nuca e febre.
Diagnóstico	Deteção de ADN de VJC no LCR por PCR; biópsia cerebral; Achados imagiológicos; e análise sintomática.	VJC no LCR; biópsia cerebral; achados imagiológicos; sintomas.	Biópsia cerebelar; VJC no LCR; achados imagiológicos; sintomas.	Biópsia cerebral, VJC no LCR; achados imagiológicos; sintomas.	VJC no LCR; exclusão de outras infecções virais.
Histologia	Desmielinização da substância branca; deteção de VJC em oligodendrócitos aumentados e em astrócitos bizarros.	Desmielinização similar à LMP clássica e infiltrados inflamatórios.	Infeção lítica de células granulares no cerebelo pelo VJC.	Infeção lítica dos neurónios corticais piramidais e dos astrócitos corticais pelo VJC.	

Capítulo 5 - Manifestações clínicas

Deve-se suspeitar do diagnóstico de LMP na presença de um doente com imunossupressão e com síndrome neurológica subaguda, focal e progressivo. Embora a LMP tenha sido considerada uma infeção por “vírus lento”, é na verdade uma doença subaguda com sintomas neurológicos focais e com evolução de dias a semanas. Por vezes, como a síndrome neurológica focal é aguda, pode ser confundida com um acidente vascular cerebral (AVC).²

A apresentação clínica da LMP pode ser focal ou multifocal. O nome da doença deriva de descrições neuropatológicas de anormalidades microscópicas multifocais envolvendo a substância branca cerebral.^{2,4}

5.1 - Manifestações clínicas na LMP clássica

Tipicamente, a LMP é causada por uma infeção lítica dos oligodendrócitos e, embora com menor extensão, dos astrócitos, resultando na destruição das células subcorticais. Deste modo a LMP apresenta-se tipicamente com défices neurológicos subagudos de apresentação variável, dependendo da localização da substância branca afetada.^{2-4,12,13}

Os sintomas normalmente descritos pelos pacientes com LMP e pelos seus cuidadores incluem:

- Fraqueza muscular;
- Distúrbios cognitivos;
- Anormalidades da fala (afasia);
- Cefaleias;
- Descoordenação motora, distúrbios da marcha e hemiparesia;
- Défices visual como a hemianopsia;
- Perda sensorial;
- Convulsões.^{2,4,12,11,22,38}

Num grande grupo de doentes, cada um destes sintomas foi observado em mais de 15% dos pacientes.¹

As lesões de LMP são geralmente bilaterais, assimétricas, e preferencialmente localizadas na substancia branca subcortical.³ Usualmente a LMP não afeta o nervo ótico nem a espinal medula.^{1,12,13}

As lesões da LMP podem simular uma doença cortical. Por exemplo, áreas de desmielinização subjacentes às áreas da linguagem no lobo temporal e do lobo frontal esquerdo irão resultar em afasia; as lesões na substância branca occipital podem ser indistinguíveis de cegueira cortical. Além disso, as convulsões, normalmente interpretadas como resultado de lesão cortical em vez de lesão da substância branca, ocorrem em até 18% dos doentes com LMP - devido a lesões da substância branca imediatamente subjacente ao córtex.^{3,12}

5.2 - Manifestações clínicas na LMP associada ao uso de natalizumab

O diagnóstico inicial de LMP em doentes com EM foi muitas vezes tardio na fase imediatamente após a comercialização do natalizumab.¹² Em 2005 foi relatado o primeiro caso de LMP num doente com EM tratado com natalizumab (Tysabri, da Biogen Idec e Elan) associado a interferão beta-1a (Avonex, da Biogen Idec).¹⁴

Os sintomas de LMP nos pacientes com EM podem ser difíceis de distinguir dos sintomas de uma recidiva de EM. Atualmente, com a maior consciência da ocorrência de LMP nestes pacientes, o diagnóstico é mais rápido.¹²

Os sintomas de PML mais comuns nos doentes em terapia com agentes biológicos são:

- Défices cognitivos;
- Distúrbios da linguagem;
- Défices visuais.^{9,26}

Como a LMP não envolve o sistema nervoso periférico (SNP), o não envolvimento clínico da espinal medula e do nervo ótico poderá ajudar na diferenciação entre LMP e esclerose múltipla.¹ Convulsões e eventos paroxísticos podem estar presentes nas manifestações clínicas iniciais de LMP, o que também ajuda na diferenciação dos sintomas de EM.²⁶

Capítulo 6 - Síndrome Inflamatória de Reconstituição Imune (SIRI)

A reconstituição do sistema imunitário efetiva é necessária para o controle da LMP.^{21,35} A SIRI foi descrita pela primeira vez em pacientes com VIH, ocorrendo em cerca de 13% dos casos de LMP, mas nos últimos anos tornou-se mais comum nos pacientes com EM tratados com natalizumab.¹³

O SIRI é uma deterioração paradoxal que ocorre face à recuperação do sistema imunitário que geralmente ocorre após remoção do natalizumab,^{21,34} caracterizando-se por uma importante resposta linfocitária que elimina os oligodendrócitos infetados - com aumento das células T CD4+ e CD8+, mas com predomínio de CD8+ - e desenvolvendo-se em correlação com o controle da infeção do VJC, edema dos tecidos e rutura da barreira hematoencefálica que resulta no reforço das lesões por Gd à RM.^{8,12,16,13,21,22} Doentes com níveis substanciais de células T citotóxicas específicas contra proteínas da cápside viral têm um melhor prognóstico, contudo esta correlação não existe com a imunidade humoral.²²

A LMP em doentes tratados com natalizumab tem sido associada (mais do que o anteriormente observado com outras doenças) com transformação inflamatória das lesões cerebrais, provavelmente porque o sistema imunitário está intacto, e os efeitos do natalizumab podem ser revertidos.^{8,21,34,35} Esta inflamação resulta numa melhoria da infeção por VJC, mas também provoca danos cerebrais associados à inflamação que por vezes requerem cuidados intensivos.^{12,21,34,36}

Na época imediatamente após a comercialização do natalizumab, quase todos os pacientes com LMP passaram por plasmaferese ou imunoadsorção para remoção plasmática do natalizumab de forma a acelerar a reconstituição da vigilância imunitária.

Se o natalizumab for removido da circulação através de plasmaferese ou imunoadsorção a SIRI irá surgir mais precocemente e conseqüentemente, a LMP será controlada mais rapidamente.^{21,37} Os indivíduos afetados pela SIRI geralmente apresentam uma impressionante deterioração dos sintomas neurológicos, por vezes acompanhadas de novas lesões ou por lesões reforçadas com Gd à RM, edema cerebral, ou ambas.^{13,21,34} Ainda não é claro se a SIRI será mais facilmente controlável com a plasmaferese ou com a imunoadsorção.²¹ Não realizar estas técnicas e permitir o progresso da LMP por vários meses, com uma *clearance* normal do natalizumab e conseqüente atraso na reconstituição imunitária é uma alternativa desaconselhável.³⁴

Os corticosteroides são úteis no tratamento de SIRI, especialmente em casos muito graves e quando há risco de vida para o paciente.²¹ Os corticosteroides provavelmente controlam o edema cerebral associado ao SIRI e o facto do tratamento precoce com corticosteroides em pacientes com VIH que desenvolveram SIRI ter melhorado o prognóstico

apoia esta abordagem. A duração da SIRS é incerta, e em muitos casos são necessárias várias doses de corticosteroides intravenosos, sugerindo que a SIRS persiste por vários meses, havendo por isso a necessidade de implementar longas e agressivas terapias com corticosteroides.³⁴ Porém o diagnóstico e tratamento da SIRS permanecem controversos, uma vez que os dados de estudos controlados são escassos. No entanto, a maioria dos especialistas recomenda rápida reconstituição do sistema imunitário através de plasmaferese e tratamento anti-inflamatório com corticosteroides assim que houver manifestação de SIRS.²¹

Capítulo 7 - Tratamento

Atualmente não existe nenhum tratamento eficaz contra o VJC, a reconstituição imune é a única intervenção efetiva no tratamento da LMP.^{1,21,35,37}

Como já referido, assim que há a suspeita diagnóstica de LMP o natalizumab deve ser removido.⁹ Estes doentes enfrentam o problema de que, mesmo após a descontinuação do medicamento este permanece biologicamente ativo durante três meses, durante os quais a LMP continua a progredir. O natalizumab induz uma leucocitose durante semanas a meses, com alteração da relação entre as células T CD4:CD8 no SNC por pelo menos 6 meses.¹² A LMP associada ao uso de natalizumab difere das LMP associada a outros transtornos na medida em que a vigilância imunitária pode ser restaurada dentro de poucas semanas.²¹

No contexto da terapia com natalizumab, os leucócitos funcionais não conseguem aceder às lesões do SNC onde são realmente necessários para combater a infeção por VJC.²⁶ Dados de um estudo recente, realizado com pacientes com EM, demonstrou claramente que a plasmaferese reduz rapidamente a quantidade de natalizumab no soro, restaurando a função leucocitária através da libertação do recetor da integrina $\alpha 4$ e consequente recuperação da transmigração leucocitária, evidenciando o seu potencial em restituir o sistema imunitário na LMP. Contudo a rápida reconstituição imune com o regresso dos linfócitos ao parênquima cerebral, quer seja por descontinuação do anticorpo monoclonal ou através de plasmaferese, resulta quase sempre em SIRI severa que permanece até 3 semanas mais tarde. A libertação da integrina $\alpha 4$ ocorre quando os níveis plasmáticos de natalizumab são inferiores a $1\mu\text{g/ml}$.^{9,26} A plasmaferese - ou a imunoadsorção - estão recomendados nos casos de LMP associada ao uso de natalizumab.^{12,21,26,34,37}

A utilização do composto CMX001 (um nucleótideo lipofílico oral análogo do antiviral cidofovir) em conjunto com a plasmaferese, altas doses de corticosteroides - geralmente 1g de metilprednisolona intravenosa diária, durante 5 dias, seguido de doses orais de corticosteroides, com o objetivo de atingir a reconstituição imunitária necessária ao combate da infeção por VJC e ao mesmo tempo controlar os danos causados pela inflamação^{9,26,29,34} - imunoglobulina intravenosa e reabilitação neurológica estão associados a estabilização e recuperação da LMP em doentes com EM tratados com natalizumab.²¹ De acordo com Rychkewitsh *et al*³⁵, 2010 há persistência do VJC por vários anos, o que indica que uma vez iniciada, a infeção por VJC pode nunca ser completamente resolvida, mesmo após a SIRI.³⁵

A observação retrospectiva mostra que terapias antirretrovirais, antagonistas do recetor 5-HT_{2a}, e terapias imunomoduladoras - interleucina 2 e interferão alfa ou beta - não são efetivas no tratamento de LMP. A mefloquina foi avaliada como potencial agente anti-VJC no tratamento da LMP, tendo sido administrada em alguns pacientes com LMP na fase imediatamente após a comercialização do natalizumab, mas nenhum relatório clínico demonstrando a efetividade do medicamento no VJC *in vivo* foi publicado.^{21,37}

O controle da atividade da EM após a manifestação de LMP continua a ser uma questão difícil. Em 2011 Hellwig *et al*,¹³ sugere que o Fingolimod (FTY) - na dose de 0.5 mg - seja utilizado como tratamento alternativo nos pacientes com EM após a remoção da terapêutica com natalizumab.^{13,32}

O natalizumab está estritamente proibido no controle da atividade da EM nos pacientes que desenvolveram LMP durante terapia anterior com natalizumab.¹³

Capítulo 8 - Prognóstico

Até recentemente, a LMP era considerada quase universalmente como uma doença fatal.^{3,8} A esperança média de vida na era pré-SIDA correspondia a cerca de 6 meses, e a mortalidade aos 8 meses era de 80%. Nos casos raros de sobrevivência, os doentes tinham sobrevida que variava entre os 5 e os 19 anos.^{1,8}

Nos primeiros anos da era da SIDA a sobrevivência era muito similar à da era pré-SIDA, com apenas 8% a 10% dos pacientes com sobrevida superior a 12 meses.^{4,8}

Antes da introdução da HAART, apenas 10% dos pacientes VIH-positivo sobreviviam mais de um ano. Com a HAART, a sobrevivência aumentou em 50%. A partir daí o termo “progressiva” deixou de ser preciso.^{3,4}

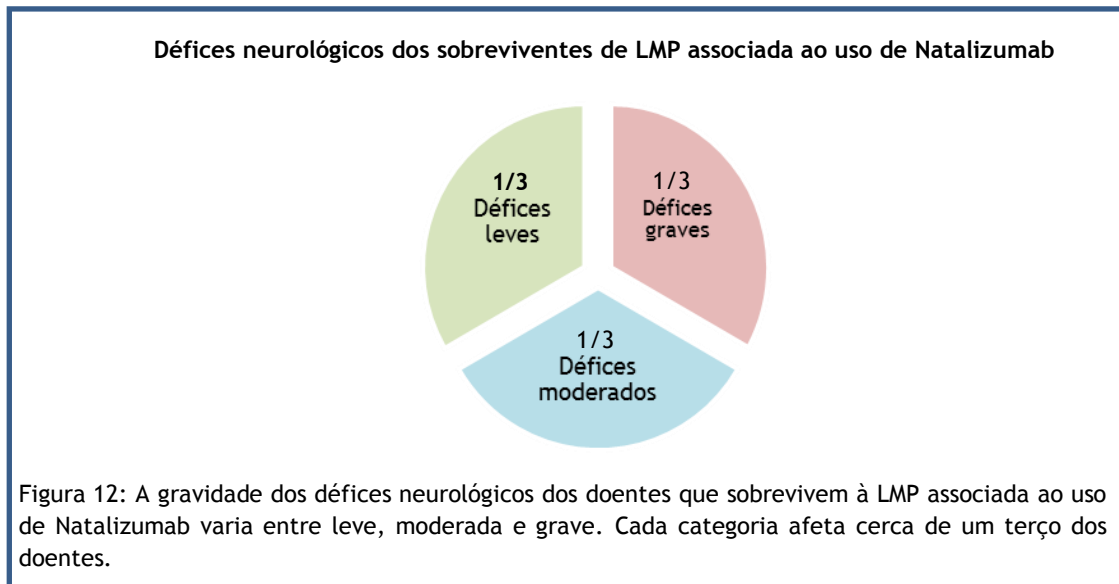
Foram identificados vários fatores que se correlacionam com a sobrevivência prolongada da LMP:

- Contagens de CD4 superiores a 300 células/ mm³; ^{1,3,8,11}
- Aumento das lesões após administração de contraste em exames imagiológicos - o que indica o desenvolvimento de resposta inflamatória; ^{1,3,8}
- Baixo número de cópias de VJC no LCR - 50 a 100 cópias/ µl; ^{1,3,8}
- Presença de células T citotóxicas específica para VJC; ^{1,3,8,11,12}
- Níveis elevados de macrófagos no LCR; ⁸
- LMP associada a polimorfismo da VP1. ^{8,12}

A sobrevivência de LMP associada ao uso da natalizumab difere da relacionada com SIDA. Numa série de 35 doentes, 25 (71%) sobreviveram, em média, 6 meses após o diagnóstico inicial. O prognóstico foi pior nos pacientes em que o diagnóstico foi tardio e naqueles em que a doença se encontrava generalizada. A maioria das mortes de doentes que desenvolveram LMP ocorreu durante a SIFI. O tratamento da SIFI com corticosteroides parece melhorar o prognóstico, mas não existem ainda estudos científicos que o comprovem.^{3,8}

Estes dados são consistentes com o conceito de que uma resposta imune inflamatória contra o VJC no SNC é fundamental na estabilização da doença. Na verdade linfócitos T citotóxicos dirigidos contra o VJC podem ser detetados no SNC dos sobreviventes. Além disso, apesar das lesões clássicas de LMP serem descritas como “desprovidas de infiltrados celulares”, foi observado recentemente que as células T CD8+ são as principais células inflamatórias nas lesões de LMP, localizadas na proximidade das células gliais infetadas. A distribuição das células T CD8+ nas extremidades das lesões ativas sugere um recrutamento de células e a retenção de antígeno específico. A destruição das células infetadas por VJC pelas células T CD8+ pode ser um fator chave na contenção da progressão da LMP.^{1,3,4}

Quando a LMP ocorre em pacientes imunossuprimidos, alguns indivíduos ainda são capazes de ter uma resposta imunitária celular contra o VJC mediada pelas células CD8+ e facilitada pelas células CD4+. Esta resposta inflamatória no SNC causa inflamação, o que por sua vez conduz a quebra da barreira hematoencefálica e consequente reforço com Gd na RM. Uma vez que a replicação do VJC esteja controlada, a carga viral diminui rapidamente a níveis indetetáveis no LCR. Quando este processo é completo, os pacientes ficam com défices neurológicos que variam de acordo com a localização das lesões e uma vez que a desmielinização é um processo irreversível, 80% dos sobreviventes de LMP ficam com sequelas neurológicas (Figura 12).^{3,8}



Capítulo 9 - Estudo de caso clínico

Neste capítulo será apresentado o estudo descritivo de um caso clínico de uma doente com diagnóstico de Esclerose Múltipla e medicada com Natalizumab, que desenvolveu Leucoencefalopatia Multifocal Progressiva e Síndrome Inflamatório de Reconstituição Imune.

À data da colheita dos dados clínicos, a doente estava internada no serviço de Neurologia do Hospital Pêro da Covilhã, do Centro Hospitalar Cova da Beira (CHCB).

9.1 - Caso clínico

9.1.1 - Identificação da doente:

T.S.A.F., doente do sexo feminino com 54 anos de idade (data de nascimento: 06 de Dezembro de 1957).

9.1.2 - Exposição do caso:

As primeiras manifestações da EM surgiram em 2000, com diminuição da força do membro inferior direito. O diagnóstico de Esclerose Múltipla de forma Progressiva Recorrente foi estabelecido em 2003 no Hospital de Santa Maria, na consulta de doenças desmielinizantes. A doente foi medicada com Rebif 22 (de 2003 até 2005), Copaxone (de 2005 a 2007), Avonex (iniciado em 2007 após um surto, até 2009) e Tysabri (Natalizumab, a 01/02/2009 até 31/05/2011). O Tysabri foi iniciado após um agravamento da marcha tendo resultado em melhoria substancial do estado clínico da doente - antes do tratamento a doente estava praticamente confinada a cadeira de rodas e após o início da terapêutica com natalizumab voltou a andar, embora com apoio de canadiana.

Em Maio de 2010 a doente foi observada no Hospital Pêro da Covilhã do CHCB com referenciação para continuar o tratamento mensal com Tysabri no Hospital de Dia.

A 01/09/2011 a doente referia quedas frequentes por diminuição e assimetria da força dos membros inferiores com predomínio no membro inferior esquerdo, apresentando um quadro de hemiparesia esquerda, espasticidade agravada pelo calor, grau moderado de retenção urinária, cansaço e compromisso cognitivo de predomínio amnésico. A doente foi advertida para o facto de se estar a aproximar o limite de 2 anos de tratamento com Tysabri e do conseqüente aumento do risco em desenvolver Leucoencefalopatia Multifocal Progressiva. Foi planeada RM/CE (ressonância magnética crânio encefálica) de controlo perto desse limite temporal e foi pedido o teste *Stratify JCV*.

A 31/05/2011, simultaneamente com a 28ª administração de Tysabri foi colhido sangue para o *Teste Stratify JCV*.

A 13/06/2011 a doente foi admitida através do SU por vômitos persistentes, levantando a hipótese de aumento da pressão intracraniana por eventual LMP, pelo que foi pedida RM/CE.

A paciente apresentava um agravamento do padrão de hemiparesia esquerda que predominava num contexto de tetraparésia espástica assimétrica de predomínio crural.

A doente foi transferida para o hospital de Santa Maria, onde fez 5 sessões de Plasmaferese e um ciclo de metilprednisolona 1g EV (endovenoso) por dia, durante 3 dias.

A paciente voltou ao CHCB a 05/07/2011 e embora estivesse clinicamente melhor, poucos dias após o regresso houve um agravamento do quadro clínico com frequentes oscilações do estado de consciência, alterações do humor e estados confusionais. Foi administrado um ciclo de metilprednisolona 1g por dia, durante 6 dias. Uma semana após o termo da terapêutica houve nova deterioração clínica. A metilprednisolona foi reintroduzida a 1g EV diária, com desmame lento. Também foi administrado mefloquina na dose de 250 mg diárias durante 3 dias e dose semanal de manutenção de 250 mg, tendo mais tarde passado a ser administradas 250 mg por dia.

9.1.3 - Evolução clínica:

Em Outubro, dá-se finalmente a estabilização clínica do quadro. O atingimento simétrico das porções posteriores de ambos os hemisférios mostrados à RM justificam a cegueira cortical da paciente, a qual apresenta ainda um significativo défice cognitivo, com defeitos apráxicos e de memória evidentes e com um discurso de coerência variável.

Na escala de EDSS (do inglês *expanded disability status scale*) a sua incapacidade corresponde ao grau 9 (paciente incapacitado no leito; pode comunicar, não come, não deglute).

À data da colheita dos dados clínicos, a doente apresentava-se com orientação auto-psíquica mantida e alo-psíquica variável; cegueira cortical; hemiplegia espástica esquerda com força de grau 1 a 2; hemiparesia direita com força de grau 4; incontinência de esfíncteres com predomínio de obstipação e com incontinência urinária.

As complicações infecciosas ao longo do internamento no CHCB foram recorrentes.

9.1.4 - Diagnóstico

A doente desenvolveu LMP associada ao uso de natalizumab e após a plasmaferese apresentou um quadro de SIRI.

9.1.5 - Exames complementares de diagnóstico

A 07/06/2010 realizou RM/CE que evidenciou 8 lesões supratentoriais com disposição radiária periventricular na substância branca e hipersinal difuso bilateral junto da substância branca periventricular bilateralmente.

A RM de controlo foi realizada aos 23 meses de tratamento com Tysabri, a 20/04/2011 revelando lesões ovaladas e bem delimitadas, com localização paraventricular e periventricular e disposição radiária perpendicular à parede dos ventrículos, a maior das quais com localização paraventricular superior direita com maior diâmetro de 8,4mm.

A 14/06/2011 a RM praticamente confirmou a suspeita de LMP demonstrando uma lesão cortico-medular parietal posterior direita com extensão temporal posterior (Figura 13).

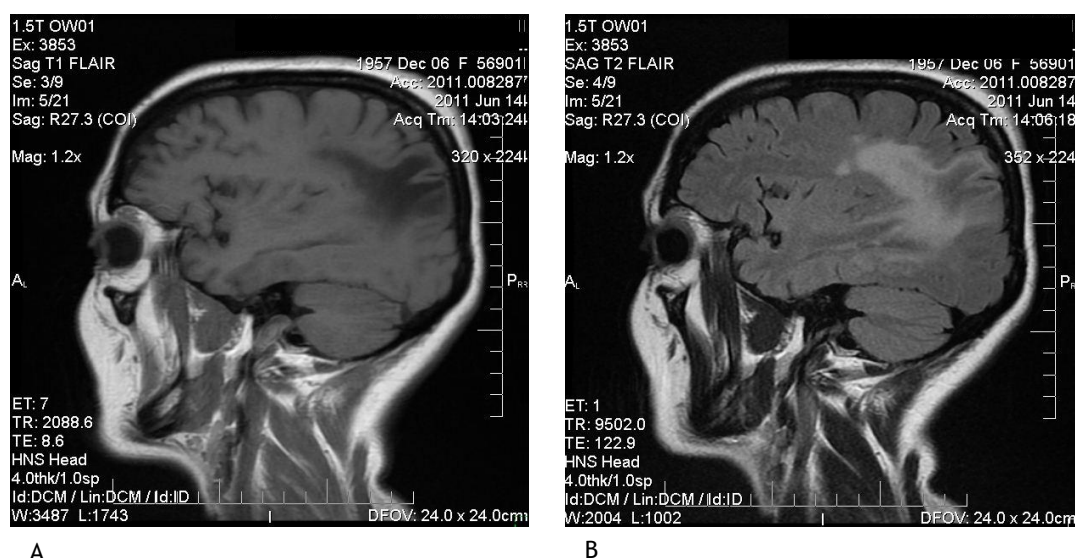


Figura 13: Lesão cortico-medular parietal posterior direita com extensão temporal posterior.
A - Corte sagital com imagem ponderada a T1 FLAIR
B - Corte sagital com imagem ponderada a T2 FLAIR

O Teste *Stratify JVC* teve resultado positivo. Para confirmar o diagnóstico de LMP foi enviado material biológico para o laboratório Focus, nos EUA, para realização de PCR para pesquisa de ADN viral no LCR. O resultado foi positivo.

As RM seriadas mostram a progressão do Síndrome de Reconstituição Imune com atingimento progressivo de novas áreas até se tornar bi-hemisférico, poupando apenas a região frontal esquerda. As RM de 13/07/2011, 26/07/2011, 09/08/2011 e 23/08/2011 mostram sempre novas lesões com áreas progressivamente alargadas de lesão neuronal, confirmadas por espectrometria e atividade inflamatória traduzida por captação de Gd (Figura 14).

Em Outubro houve estabilização clínica do quadro e a RM/CE de 18/10/2011 mostrava uma atrofia marcada do parênquima adjacente às lesões da substância branca periventricular e subcortical, com predomínio direito, com degenerescência walleriana no pedúnculo cerebral direito (Figura 15). Apesar da RM traduzir, comparativamente às anteriores,

progressão da doença, a captação de Gd apenas realçou pequenos focos cortico-subcorticais frontal e parietal direito, parietal posterior e interno esquerdo.

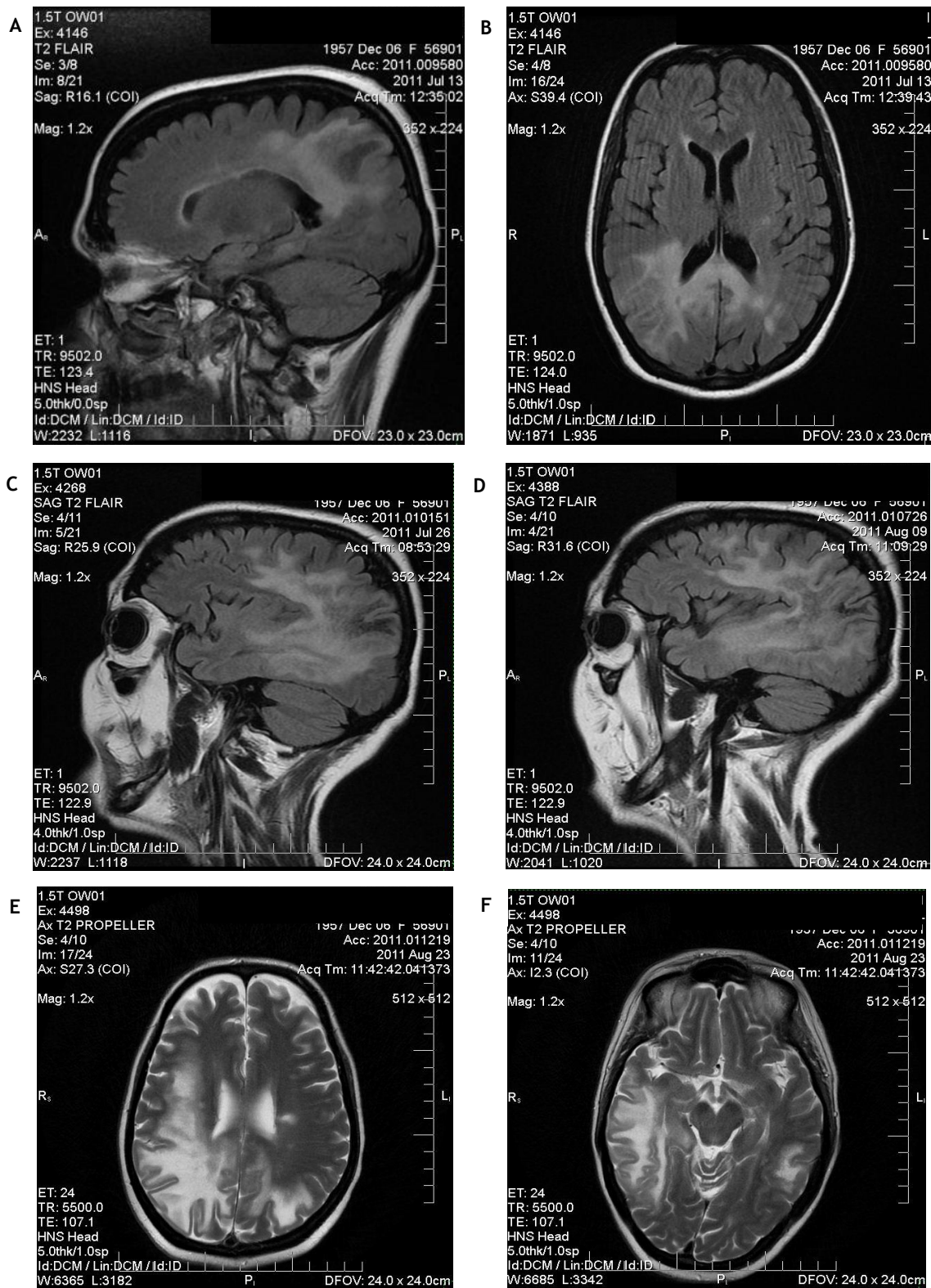


Figura 14: Progressão da Síndrome Inflamatória de Reconstituição Imune

A: Corte sagital e **B:** corte axial. Ambas as imagens A e B são ponderadas a T2 FLAIR, e foram obtidas a 13/07/2011. **C:** Corte sagital de imagem ponderada a T2 FLAIR, obtida a 26/07/2011. **D:** Corte sagital de imagem ponderada a T2 FLAIR, obtida a 9/08/2011. **E e F:** Cortes axiais de imagens ponderadas a T2, obtidas a 23/08/2011

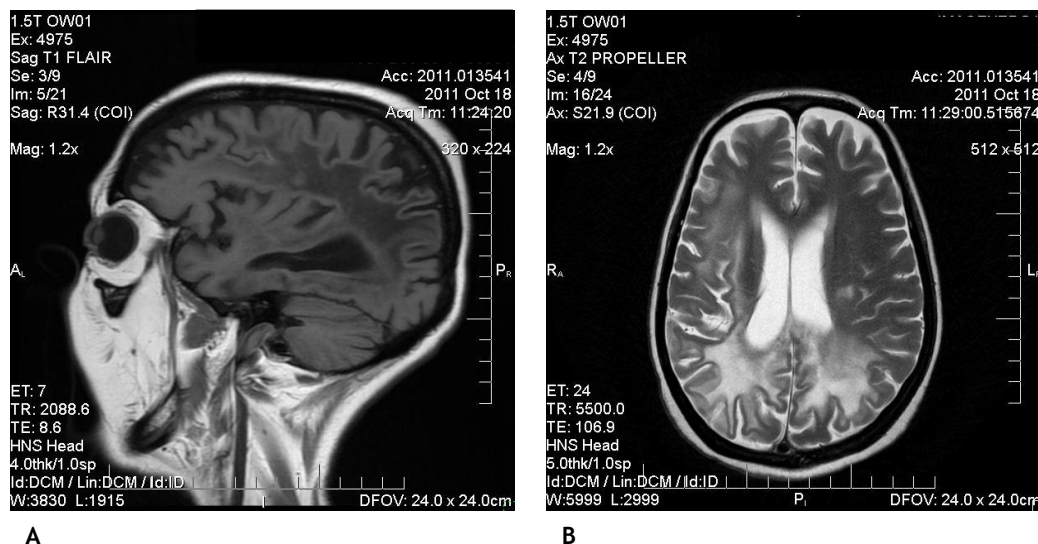


Figura 15: Estabilização da SIRI à RM
Atrofia marcada do parênquima adjacente às lesões da substância branca periventricular e subcortical, com predomínio direito, com degenerescência walleriana no pedúnculo cerebral direito.
A - Corte sagital de imagem ponderada a T1 FLAIR.
B - Corte axial de imagem ponderada em T2.

9.2 - Discussão

A doente estava diagnosticada com uma forma recorrente de EM desde 2003, e medicada com Tysabri desde 2009. Quando a terapia com natalizumab excede os 24 meses de tratamento, o risco de desenvolver complicações relacionadas com LMP atinge o valor máximo. O médico assistente alertou a doente e os seus familiares para este risco e estes, conscientes e alertas para este facto, decidiram prosseguir a terapia com natalizumab.

O diagnóstico precoce de LMP nos doentes com terapias monoclonais é crucial, no entanto os sinais e sintomas de recorrências de EM podem ser facilmente confundidos com os sintomas de LMP.

A doente era seguida na consulta de doenças desmielinizantes no Hospital de Santa Maria e posteriormente no CHCB, estando a vigilância clínica e imagiológica garantida, havia ainda sido feita uma colheita de sangue para pesquisa de ADN do vírus JC por PCR após os 24 meses de tratamento. Quando a doente recorreu ao SU do CHCB com quadro de vómitos persistentes a hipótese diagnóstica de LMP foi imediatamente considerada, o natalizumab descontinuado e realizou-se uma RM/CE que praticamente confirmou a suspeita diagnóstica de LMP. Com a positividade do Teste *Stratify JVC* e com o resultado positivo da pesquisa de ADN viral no LCR o diagnóstico é finalmente confirmado.

Uma vez que não existem terapêuticas eficazes contra a infeção por VJC e a reconstituição do sistema imunitário é a única forma de garantir o combate e controlo da

infecção, a doente fez plasmaferese, com o objetivo de remover o natalizumab da circulação e acelerar a reconstituição imunitária.

Após a plasmaferese a doente apresentou melhora clínica, evidenciando as alterações imunitárias com controlo da infecção por VJC. Porém pouco tempo depois desenvolveu um quadro compatível com SIRS com deterioração dos sintomas neurológicos - oscilações frequentes do estado de consciência, alterações do humor e estados confusionais - e aumento das lesões cerebrais com captação de Gd nas RM.

Foi instituída terapêutica com corticosteroide - metilprednisolona - com o objetivo de diminuir o edema cerebral e controlar a reação inflamatória característica da síndrome; e mefloquina com o intuito de parar a replicação viral.

Neste momento a doente apresenta défices neurológicos permanentes, de acordo com a localização das lesões, necessitando de cuidados continuados permanentes.

Conclusão

Ao longo desta dissertação procurou-se fazer uma revisão atual e abrangente dos conhecimentos acerca do desenvolvimento e abordagem à Leucoencefalopatia Multifocal Progressiva associada à terapia com Natalizumab (Tysabri) nos doentes com formas recidivantes de Esclerose Múltipla.

A LMP ocorre quase sempre no contexto da imunossupressão e é considerada uma infeção oportunista do SNC por reativação do vírus JC. No entanto, apesar da alta prevalência do vírus, a LMP continua a ser considerada uma doença rara.

Com a introdução de terapias biológicas dirigidas a diferentes aspetos da resposta imunitária a LMP começou a ser descrita em doenças nunca antes a ela associadas. O tratamento da EM com natalizumab foi aprovado para formas recidivantes da doença, e em Novembro de 2004 foi descrito o primeiro caso de LMP associado ao uso de natalizumab.

A terapia com natalizumab tem de ser cuidadosamente planeada e os benefícios clínicos ponderados com os potenciais riscos. O diagnóstico precoce é muito importante, daí que a vigilância clínica criteriosa seja indispensável, principalmente nos doentes que excedem os 24 meses de tratamento.

Após o diagnóstico da doença a reconstituição do sistema imunitário é a única forma de limitar a infeção, porém este processo geralmente conduz a uma outra condição patológica grave, a síndrome inflamatória de reconstituição imune.

Este caso mostra como é importante estar consciente e alerta para os riscos inerentes a terapêuticas instituídas, mesmo quando estas complicações são consideradas raras. A intervenção rápida para minimizar a progressão da doença e limitar os défices neurológicos permanentes mostra-se fundamental para a sobrevivência e morbidade dos doentes. Apesar do tratamento desta condição clínica ser ainda muito limitado, espera-se que os resultados de estudos ainda a decorrer tragam esclarecimento e novas opções terapêuticas.

Bibliografia

1. Berger JR. Progressive Multifocal Leukoencephalopathy. *Current Neurology and Neuroscience Reports* 2007; 7:461-469
2. Aksamit AJ. Progressive Multifocal Leukoencephalopathy. *Current Treatment Options in Neurology* 2008; 10:178-185
3. Koralnik IJ. Progressive Multifocal Leukoencephalopathy Revisited: Has the Disease Ourgrown its Name? *Ann Neurol* 2006; 60:162-173
4. Berger JR. Natalizumab and progressive multifocal leucoencephalopathy. *Ann Rheum Dis* 2006; 65:48-53
5. Warnke C, Menge T, Hartung HP, Rack MK, Cravens PD, Bennet JL, Frohan EM, Greenberg BM, Zamvil SS, Gold R, Hemmer B, Kieseier BC, Stuve O. Natalizumab and progressive multifocal leucoencephalopathy. *Arch Neurol.* 2010; 67 (8):923-930
6. Langer-Gould A, Steinman L. Progressive Multifocal Leukoencephalopathy and Multiple Sclerosis: Lessons from Natalizumab. *Current Neurology and Neuroscience Reports.* 2006; 6:253-258
7. Major OE. History and current concepts in the pathogenesis of PML. *Cleveland Clinic Journal of Medicine.* 2011, Nov; 78(2):3-7
8. Berge JR. The clinical features of PML. *Cleveland Clinic Journal of Medicine.* 2011 Nov; 78 (2):8-12
9. Calabrese L. A rational approach to PML for the clinician. *Cleveland Clinic Journal of Medicine.* 2011 Nov; 78 (2):38-41
10. Kedar S, Berger JR. The Changing Landscape of Progressive Multifocal Leukoencephalopathy. *Curr Infect Dis Rep.* 2011, 21 May; 13:380-386
11. Shah R, Bag AK, Chapman PR, Curé JK. Imaging manifestations of progressive multifocal leukoencephalopathy. *Clinical Radiology.* 2010; 65:431-439
12. Tan CS, Koralnik IJ. Progressive Multifocal leukoencephalopathy and other disorders caused by JC virus: clinical features and pathogenesis. *Lancet Neurol.* 2010, Apr; 9:425-437
13. Hellwig K, Gold R. Progressive multifocal leukoencephalopathy and natalizumab. *J Neurol.* 2011 Jun; 258:1920-1928
14. Langer-Gould A, Atlas SW, Green AJ, Bollen AW, Pelletier D. Progressive Multifocal Leukoencephalopathy in a Patient Treated with Natalizumab. *The New England Journal of Medicine.* 2005, Jun; 353:375-381
15. Ransohoff RM. "Thinking without thinking" about natalizumab and PML. *Journal of the Neurological Sciences.* 2007; 259:50-52
16. Linda H, Heijne A, Major EO, Ryschkewitsch C, Berg J, Olsson T, Martin C. Progressive Multifocal Leukoencephalopathy after Natalizumab Monotherapy. *The New England Journal of Medicine.* 2009, Sep; 361:1081-1087

17. Stuve O, Marra CM, Cravens PD, Singh MP, Hu W, Lovett-Racke A, Monson NL, Phillips JT, Tervaert JWC, Nash RA, Hartung HP, Kieseier BC, Rack MM, Frohman EM, Hemmer B. Arch neurol. 2007, Feb; 64:169-176
18. Rudick RA, O'Connor PW, Polman CH, Goodman AD, Ray SS, Griffith NM, Jurgensen SA, Gorelik L, Forrestal F, Sandrock AW, Goelz SE. Assessment of JC Virus DNA in Blood and Urine from Natalizumab-Treated Patients. Ann Neurol. 2010; 68:304-310
19. Strupp M. The natalizumab story. J Neurol. 2006; 253:541-543
20. Miller, David H. ; Khan, Omar A. ; Sheremata, William A. ; Blumhardt, Lance D. ; Rice, George P. A. ; Libonati, Michele A. ; Willmer - Hulme, Allison J. ; Dalton, Catherine M. ; Miszkiel, Katherine A. ; O' Connor, Paul W. A controlled trial of natalizumab for relapsing multiple sclerosis. N England J Med. 2003; 348:15-23
21. Kappos L, Bates D, Edan G, Eraksoy M, Garcia-Merino A, Grigoriadis N, Hartung HP, Havrdová E, Hillert J, Hohlfeld R, Kremenchutzky M, Lyon-Caen O, Miller A, Pozzilli C, Ravnborg M, Saida T, Sindic C, Vass K, Clifford DB, Hauser S, Major EO, O'Connor PW, Weiner HL, Clanet M, Gold R, Hirsch HH, Radu EW, Sorensen PS, King J. Natalizumab treatment for multiple sclerosis: updated recommendations for patient selection and monitoring. Lancet Neurol. 2011; 10:745-758
22. Major EO. Progressive Multifocal Leukoencephalopathy in Patients on Immunomodulatory Therapies. The Annual Review of Medicine. 2010; 61:35-47
23. Cejudo JM, Guevara CO, Aroeira LS, Antonio LR, Chamorro B, Tejedor ED. Treatment with Natalizumab in Relapsing-Remitting Multiple Sclerosis Patients Induces Changes in Inflammatory Mechanism. J Clin Immunol. 2011; 31:623-631
24. Hartung HP. New cases of progressive multifocal leukoencephalopathy after treatment with natalizumab [internet]. 2009 Jan [cited 2012 Apr 22]; 8:28-30. Available from: <http://www.thelancet.com/neurology>
25. Chen Y, Bord E, Tompkins T, Miller J, Tan CS, Kinkel RP, Stein MC, Viscidi RP, Ngo LH, Koralnik IJ. Asymptomatic Reactivation of JC virus in Patients Treated with Natalizumab. The New England Journal of Medicine. 2009; 361:1067-1074
26. Fox R. Advances in the management of PML: Focus on natalizumab. Cleveland Clinic Journal of Medicine. 2011 Nov; 78 (2):33-37
27. Sadiq SA, Puccio LM, Brydon EWA. JCV detection in multiple sclerosis patients treated with natalizumab. J Neurol. 2010; 257:954-958
28. Jilek S, Jaquière E, Hirsch HH, Lysandropoulos A, Canales M, Guignard L, Schlupe M, Pantaleo G, Pasquier RAD. Immune responses to JC virus in patients with multiple sclerosis treated with natalizumab: a cross-sectional and longitudinal study. Lancet Neurol. 2010; 9:264-272
29. Ghezzi A, Grimaldi LME, Marrosu MG, Pozzilli C, Bertolotto A, Trojano M, Gallo P, Capra R, Centonze D, Millefiorini E, Stgiu S, Morra VB, Amato MP, Lugaresi A, Mancardi G, Caputo D, Montanari E, Provinciali L, Durelli L, Bergamaschi R, Bellantonio P, Tola MR,

- Cottone S, Savettieri G, Tedeschi G. Natalizumab therapy of multiple sclerosis: recommendations of the Multiple Sclerosis Study Group - Italian Neurological Society. *Neurol Sci.* 2011; 32:351-358
30. Fernández O, Guevara CO, Arroyo R, Izquierdo G, Pérez JL, Montalban X. Natalizumab treatment of multiple sclerosis in Spain: results of an extensive observational study. *J Neurol* [internet] 2012, Jan 6 [uptaded 2012 Jan 31; cited 2012 Mar 27]. Available from: <http://www.Springerlink.com>
31. Jones, JL, Coles AJ. New treatment strategies in multiple sclerosis. *Experimental Neurology.* 2010; 225:34-39
32. Rudick RA. Multiple sclerosis, natalizumab, and PML: Helping the patients decide. *Cleveland Clinic Journal of Medicine.* 2011, Nov; 78(2):18-23
33. Skarica M, Eckstein C, Whartenby KA, Calabresi PA. Novel mechanisms of immune modulation of natalizumab in multiple sclerosis patients. *Journal of Neuroimmunology.* 2011; 235:70-76
34. Clifford DB, DeLuca A, Simpson DM, Arent G, Giovannoni G, Nath A. Natalizumab-associated progressive multifocal leukoencephalopathy in patients with multiple sclerosis: lessons from 28 cases. *Lancet Neurol.* 2010; 9:438-446
35. Ryschkewitsch CF, Jense PN, Monaco MC, Major EO. JC Virus Persistence Following Progressive Multifocal Leukoencephalopathy in Multiple Sclerosis Patients Treated with Natalizumab. *Ann Neurol.* 2010; 68:384-391
36. Schröder A, Lee DH, Hellwig K, Lukas C, Linker RA, Gold R. Successful Management of Natalizumab-Associated Progressive Multifocal Leukoencephalopathy and Immune Reconstitution Syndrome in a Patient With Multiple Sclerosis. *Arch Neurol.* 2010; 67(11):1391-1394
37. Wenning W, Haghikia A, Laubenberger J, Clifford DB, Behrens PF, Chan A, Gold R. Treatment of Progressive Multifocal Leukoencephalopathy Associated with Natalizumab. *The New England Journal of Medicine.* 2009; 361:1075-1080