

ESCLEROSE LATERAL AMIOTRÓFICA: O QUE SE SABE HOJE

Texto de Dora Brites (INVESTIGADORA COORDENADORA NO INSTITUTO DE INVESTIGAÇÃO DO MEDICAMENTO E PROFESSORA CATEDRÁTICA CONVIDADA, FACULDADE DE FARMÁCIA DA UNIVERSIDADE DE LISBOA (FFULISBOA); INVESTIGADORA PRINCIPAL DO PROJETO VENCEDOR DO PROGRAMA DE INVESTIGAÇÃO CIENTÍFICA EM ESCLEROSE LATERAL AMIOTRÓFICA_SCML)

A esclerose lateral amiotrófica é uma doença de evolução rápida, difícil identificação e fatal, por falta de diagnóstico fidedigno e terapêutica eficaz. O desafio do balde de gelo veio reforçar a investigação da ELA, mas só o investimento continuado poderá levar à descoberta da sua cura.

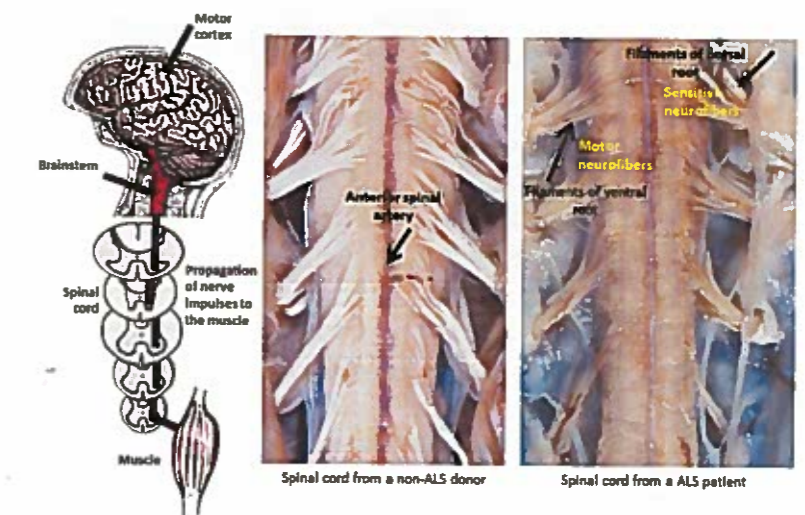
Estima-se que existam em Portugal pelo menos 500 doentes com esclerose lateral amiotrófica (ELA). A esperança média de vida destes pacientes é de três anos. Contudo, cerca de 10% dos doentes pode sobreviver dez anos ou mais.

A doença envolve a degeneração dos neurónios motores (NM) que controlam os movimentos voluntários, causando falência respiratória por paralisia do diafragma. Apesar de a descoberta da ELA ter ocorrido há cerca de 150 anos, pouco se sabe dos mecanismos da doença e apenas o riluzole se encontra indicado para tratar a doença. Contudo, acreditamos que um maior investimento na investigação científica possa inverter este desígnio e trazer esperança aos doentes com ELA.

I. O QUE É A ELA E COMO SE DIAGNOSTICA?

A ELA é uma doença incapacitante que afeta cerca de 40 mil pessoas na Europa, ou seja 10% do valor referido a nível mundial. Para além do doente, a ELA causa um impacto profundo na família e na pessoa que lhe está mais próxima, o seu cuidador.

A denominação de esclerose lateral significa a existência de lesões da medula espinal (ME) por morte dos NM, causando o seu endurecimento e cicatrização (esclerose). Os NM localizam-se no córtex motor (NM superiores), bem como no tronco encefálico e porção ventral da ME (NM inferiores) (figura 1). Quando um músculo não é estimulado através do influxo nervoso torna-se atrofiado e pode mesmo desaparecer, significado contido na palavra "amiotrófica". A degeneração progressiva e morte dos NM levam à in-



capacidade do doente para falar, comer, respirar e movimentar-se.

Nesta situação, os filamentos da raiz ventral da ME ficam mais finos e acompanham a redução das fibras espessas mielinizadas. Se bem que exista uma vulnerabilidade seletiva dos NM, considera-se que a ELA seja uma doença multissistema, envolvendo diversas regiões do sistema nervoso para além das associadas à atividade motora. Deste modo, julga-se que resulte de uma série de alterações clínicas com padrões diversos e diferentes mecanismos patofisiológicos que se apresentam numa entidade única. A neurotoxicidade por ativação de células gliais – como sejam os astrócitos e a microglia – e mediada por fatores inflamatórios e tóxicos libertados por estas células é também um contributo importante na doença.

FIGURA 1 - O impulso nervoso que chega aos neurónios motores do córtex, do tronco encefálico e da medula espinal transmite-se ao músculo. Num doente com ELA, a atrofia dos filamentos da raiz ventral da medula espinal leva ao enfraquecimento muscular e diminuição da capacidade motora. Adaptado de: http://ebooks.cambridge.org/content/978/11/0758/866/0/html_chunk/Images/44242fig12_1 hires.jpeg

II. A DOENÇA ENVOLVE A DEGENERAÇÃO DOS NEURÓNIOS MOTORES QUE CONTROLAM OS MOVIMENTOS VOLUNTÁRIOS, CAUSANDO FALÊNCIA RESPIRATÓRIA POR PARALISIA DO DIAFRAGMA¹

O diagnóstico da ELA - que maioritariamente aparece entre os 40 e os 70 anos de idade, podendo acontecer em pessoas mais jovens - pode demorar de 12 a 14 meses a ser realizado, pois os sintomas são muitas vezes semelhantes a outras doenças do foro neurológico. Habitualmente usa-se o Critério El Escorial, que conjuga um conjunto de sintomas com testes eletrofisiológicos. Um dos mais utilizados é a eletromiografia, que estima a atividade elétrica nos músculos, mas o teste da velocidade da condução nervosa é também muito usado. O dinamómetro de mão possibilita a quantificação da força muscular e monitoriza a evolução da doença. A imagem por ressonância magnética permite despistar outros problemas eventualmente ligados aos sintomas apresentados pelo doente.

Entretanto, desenvolveu-se um novo algoritmo, designado de Awaji, que, quando combinado com a eletromiografia, aumenta a sensibilidade do El Escorial. Contudo, um doente pode falecer com ELA sem que um diagnóstico provável ou definitivo tenha sido alcançado. Num futuro próximo, espera-se que a descoberta de marcadores da doença torne o diagnóstico mais expedito e preciso.

1. Dados analisados pela Doutora Sofia Martins da FFULisboa.
2. <http://www.alsa.org/>

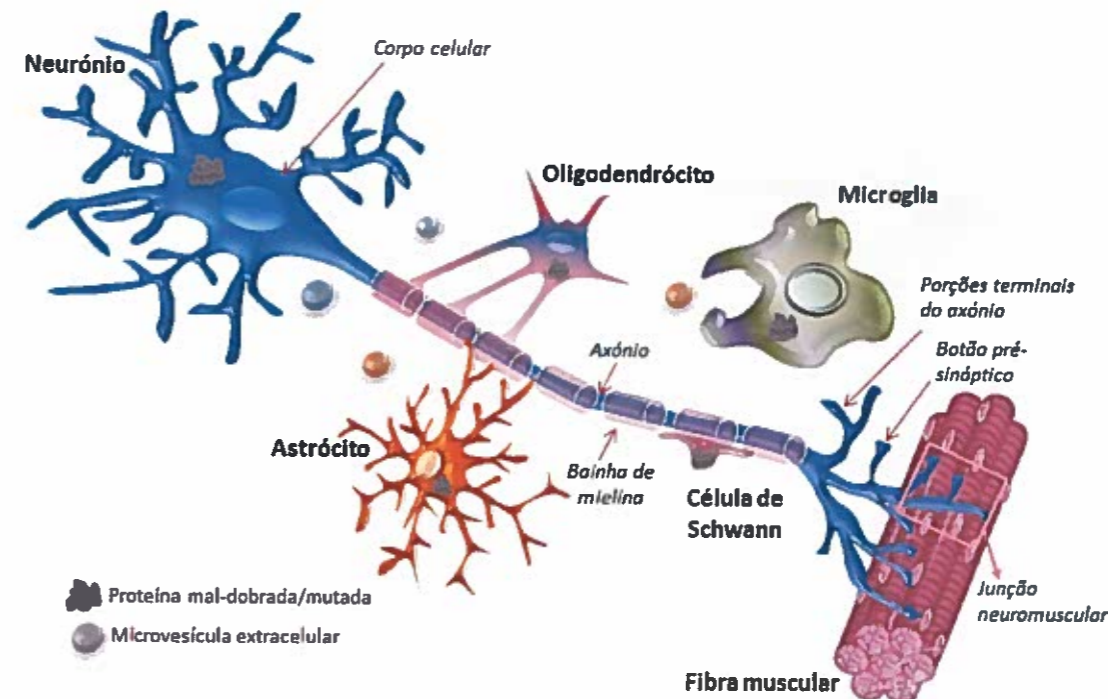
II. PREVALÊNCIA E INCIDÊNCIA

Apesar de os casos de ELA não serem elevados, o gasto económico e o desgaste social com a doença é substancial. No entanto, não existem dados confiáveis sobre a prevalência (número de casos numa dada população) e incidência (número de novos casos) da ELA em Portugal. Calcula-se, com base nos dados de distribuição do fármaco riluzole pelo Infarmed, que a prevalência da ELA em Portugal seja de cinco pessoas por cem mil habitantes¹, perto da de 5,4 para a média europeia. A sua prevalência é superior nos indivíduos do sexo masculino (-2:1), segundo a ALS Association².

Relativamente à incidência anual de 1,4 a 2,4 pessoas por 100 mil habitantes - num estudo que incluiu a Europa, a América do Norte e a Ásia -, espera-se que aumente nos próximos anos em consequência do envelhecimento gradual da população, pois a incidência aumenta com o avanço da idade.

Apesar de a ELA não causar habitualmente alterações cognitivas, bastantes doentes apresentam depressão e alguns têm problemas de memória, dificuldade na toma de decisão e defeitos de fluência verbal semântica. Os cuidadores podem também evidenciar quadros de ansiedade.

Quanto a dados epidemiológicos, estes são também inexistentes em Portugal. A epidemiologia estuda os fatores (ambientais, geográficos e socioeconómicos) que influenciam a frequência e a distribuição da doença, de utilidade para prevenir e controlar a sua propagação. A recolha de informações deve incidir num conjunto amplo de dados fornecidos por doentes corretamente diagnosticados. Até hoje não é possível saber o peso destes aspetos, nem o do risco genético, pelo que só novos estudos englobando um maior número de casos e países permitirão ajuizar do seu significado.



III. CAUSAS DA DOENÇA

A etiologia da ELA é complexa e multifatorial, não estando ainda claras as causas e a origem da doença. Exposição a processos inflamatórios, vírus, agentes tóxicos e o próprio processo de envelhecimento podem ser fatores desencadeadores.

Na sua maioria, a doença é esporádica (de causa desconhecida), se bem que em pelo menos 10% dos casos se deva a mutações genéticas. No caso de serem mutações dominantes, existem 50% de hipóteses de os descendentes apresentarem a doença. Curiosamente, tanto na forma genética como na esporádica a doença apresenta-se com os mesmos sintomas e patologia. De entre as mutações genéticas mais frequentes³, uma das mais estudadas envolve mutações no gene da enzima Cu/Zn - superóxido dismutase 1 (SOD1) que a tornam tóxica.

Para além das alterações do NM, a nível do seu prolongamento (axónio) ou da junção neuro-

III. A ETIOLOGIA DA ELA É COMPLEXA E MULTIFATORIAL, NÃO ESTANDO AINDA CLARAS AS CAUSAS E A ORIGEM DA DOENÇA³

muscular onde se dá o encontro do axónio com a fibra muscular, também as células gliais (microglia, oligodendrócitos, astrócitos e células de Schwann) estão diretamente implicadas no aparecimento da ELA, influenciando a funcionalidade dos NM e contribuindo para a sua morte (figura 2). Por exemplo, a microglia pode ser ativada e levar a processos inflamatórios que se sabe existirem na ELA e causar a morte dos NM.

FIGURA 2
A acumulação da proteína SOD1 mutada/mal dobrada nos neurónios motores e nas células gliais pode levar à libertação de exossomas com microRNA que podem causar toxicidade, deficiente comunicação intercelular e alteração da transmissão do impulso nervoso ao músculo através da junção neuromuscular.

3. <http://alsod.iop.kcl.ac.uk/Statistics/report.aspx>

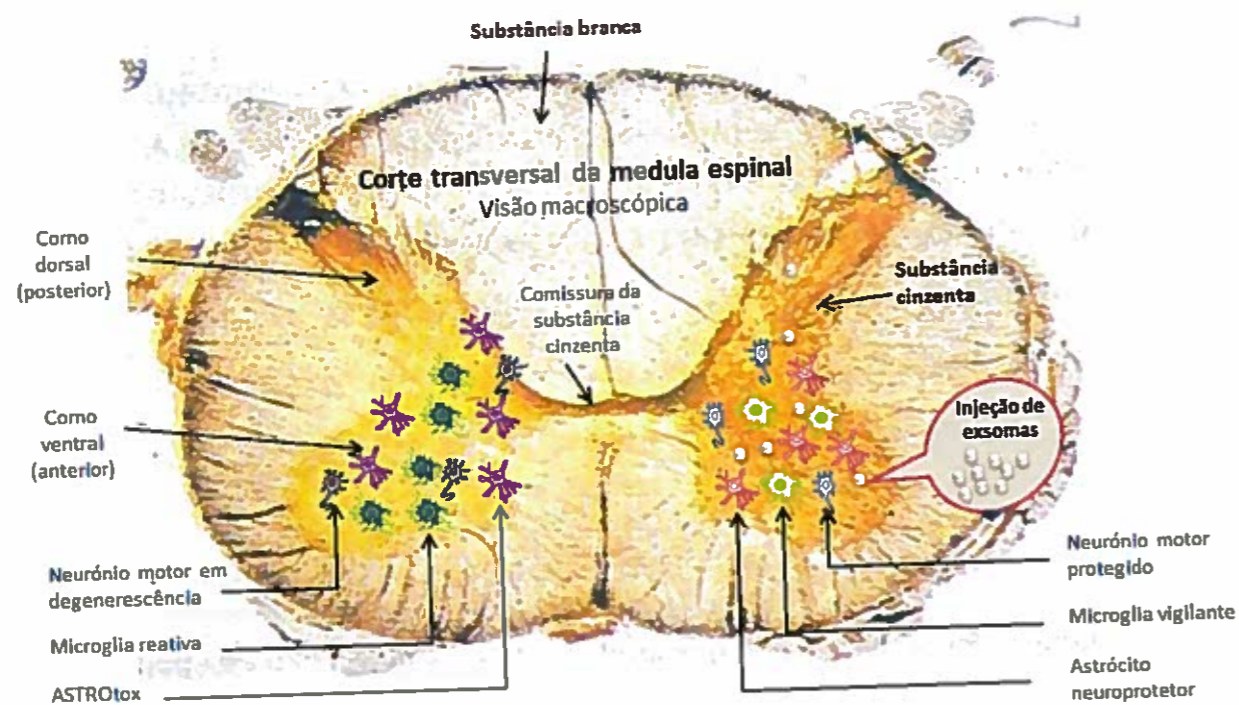


FIGURA 3
A injeção de exossomos do próprio paciente contendo fármacos e microRNA neuroprotetores para combater a inflamação, a ativação das células gliais e a degeneração dos neurónios motores na medula espinhal, poderá vir a ser uma abordagem terapêutica de sucesso. Modificado a partir de <http://slideplayer.com.br/slide/336451>

Curiosamente, verificou-se que o aumento da expressão de certos microRNA⁴, como o miRNA(miR)-155 na microglia do rato com mutação SOD1, poderá estar implicado na patogénese da doença. Quanto aos astrócitos, ligados ao aumento do glutamato por deficiente transporte desta molécula excitatória, encontram-se disfuncionais e reativos, originando stress oxidativo, inflamação, excitotoxicidade e morte dos NM.

Os oligodendrócitos são as células associadas aos axónios responsáveis pela formação da bainha de mielina e funcionalidade neuronal. Nos doentes com ELA foi observada uma degeneração marcada dos oligodendrócitos na matéria cinzenta da ME, o que está por detrás de uma desmielinização progressiva. Quanto às células de Schwann, envolvidas na bainha de mielina no sistema nervoso periférico, pouco se sabe acerca do seu envolvimento.

A funcionalidade de certos organelos celulares, como a mitocôndria, parece estar comprometida,

mas também o está noutras doenças neurodegenerativas como a de Alzheimer, Parkinson e Huntington. Na ELA, a mitocôndria que poderá ser responsável pela formação da proteína SOD1 mutada apresenta-se disfuncional e implicada na morte dos NM por apoptose. O retículo endoplasmático, também alterado, parece ser incapaz de prevenir o mau enovelamento/dobramento das proteínas, cuja acumulação é tida como estando na base de todos os casos de ELA.

Podemos então dizer que o excesso de glutamato, a libertação de fatores tóxicos pelas células, o processamento incorreto de proteínas e uma resposta imunológica desorganizada se encontram entre as causas mais frequentes de ELA.

IV. O QUE INVESTIGAR E COMO TRATAR?

A falta de biomarcadores credíveis, para além de atrasar o diagnóstico, não permite a estratificação dos doentes pelo prognóstico. Marcadores de disfunção neuronal e atividade glial no líquido cefalorraquidiano (LCR) e na circulação

sanguínea podem servir de alvo a medicamentos inovadores. O excesso de glutamato (excitatório), juntamente com a redução de enzimas como a catalase, glucose-6-fosfato desidrogenase, glutathione peroxidase e glutathione reductase (indicadoras de stress oxidativo) e a elevação da proteína inflamatória de macrófago-1 alfa, de alarminas, de citocinas pró-inflamatórias e de metaloproteína-9 (indicadoras de neuroinflamação) têm sido indicados como potenciais marcadores de ELA.

Contudo, a falta de robustez da maioria dos estudos e os resultados contraditórios obtidos fazem supor que, em vez de um único marcador, muitas vezes alterado noutras patologias, se deva usar um painel de biomarcadores para se ganhar sensibilidade e especificidade. Hoje existe um grande interesse nos miRNA associados à neuroinflamação, como o miR-155 e o miR-146a, já encontrados na circulação sanguínea, tanto na forma solubilizada como integrados em microvesículas extracelulares, os exossomos.

Técnicas inovadoras destinadas à melhoria da qualidade de vida do doente são o sistema de estimulação do diafragma por implante, bem como os dispositivos de comunicação com controlo visual e as interfaces cérebro-computador que evitam o isolamento e passividade do doente. A participação dos doentes em grupos de suporte e de atendimento especializado, como a Associação Portuguesa de Esclerose Lateral Amiotrófica (APELA)⁵, é também uma forma de manter o doente informado e de possibilitar diversos tipos de apoio, importantes na manutenção do seu bem-estar.

Relativamente ao tratamento da ELA apenas o riluzole, tendo por alvo o excesso de glutamato, se encontra aprovado pela Food and Drug Administration⁶. O riluzole - que pode prolongar a esperança média de vida dos pacientes em cerca de três meses - apresenta efeitos secundários, em particular

A ELA NÃO É UMA DOENÇA INCURÁVEL. É SIM UMA DOENÇA SUBFINANCIADA"

sobre a funcionalidade hepática. Por isso, muitos outros medicamentos dirigidos aos alvos já identificados têm sido testados, alguns com benefício na sobrevivência do rato com mutação SOD1, mas sem tradução em doentes (tabela 1). O reposicionamento de fármacos para outras patologias, como o ácido ursodesoxicólico e os seus conjugados, apesar de bem tolerados, sem efeitos secundários e com algum benefício na sobrevivência de doentes, precisam de ser ensaiados num maior número de pacientes para se inferir da sua eficácia.

Os miRNA encontram-se diferentemente expressos nalgumas patologias e podem interferir num conjunto de vias mecanísticas. A estarem alterados na ELA explicariam a sua complexidade. O nosso grupo⁷ verificou que o rato com mutação SOD1 apresenta aumento de expressão do miR-155 na ME e outros que o tratamento com anti-miR-155 diminui a mortalidade. Estas terapêuticas dirigidas aos miRNA poderão representar um enorme potencial no tratamento da ELA. Deste modo, a modulação dos exossomos em miRNA e sua injeção na ME do doente poderá tornar-se uma nova ferramenta para conferir neuroproteção e prevenir a ativação e toxicidade dos astrócitos e da microglia (figura 3). Também o silenciamento de genes associados à doença, tal como o SOD1, poderá ser uma boa estratégia.

O transplante de células precursoras neurais e gliais na ME e no córtex motor no rato com mutação SOD1 mostrou conferir neuroproteção e na ME de doentes com ELA resultou em benefício clínico, mas apenas se realizado na fase inicial da doença. Pensa-se que o ambiente hostil da ME onde

5. <http://www.apela.pt/>

6. <http://www.fda.gov/>

7. Financiado pela Fundação para a Ciência e a Tecnologia.

TABELA 1.
Potenciais terapias para a ELA: estudos completados e em ensaio

| AÇÃO | COMPOSTOS | EFEITOS |
|---|--|---|
| Proteção mitocondrial e stress oxidativo | Minerais (lítio, zinco, cobre) | Controversos e inconclusivos. |
| | Vitaminas (E e complexo B) | Benefício clínico não comprovado. |
| | Dexpramipexole | Promissor em modelo animal. Sem eficácia clínica. |
| | Rasagilina | Recrutamento de doentes. |
| | Arimoclomol | Promissor no atraso da progressão da doença. Em ensaio. |
| Anti-inflamatória | Radicut | Aprovado no Japão mas com bastantes efeitos secundários. |
| | Neuraltus | Promissor no atraso da progressão da doença. Em ensaio. |
| | Fingolimod | Em ensaio. |
| | Masitinib | Recrutamento de doentes. |
| | Ibudilast | Recrutamento de doentes. |
| | Talidomida | Fraca eficácia. Em ensaio. |
| | Tamoxifen+Creatina | Resultados inconclusivos. |
| | Tocilizumab | Resultados inconclusivos. Em ensaio. |
| Hiperexcitabilidade | Talampanel | Fraca eficácia - suspenso. |
| | Ceftriaxone | Promissor em modelo animal. Sem eficácia clínica. |
| | Memantine | Aparenta não ter eficácia clínica. Em ensaio. |
| | Riluzole | Com modesta eficácia. Aprovado pela FDA |
| | Mixelitine | Promissor em modelo animal. Em ensaio. |
| Redução da SOD1 mutada | Oligonucleotídeo antisense | Promissor em modelo animal. Em ensaio. |
| Redução da SOD1 mal dobrada | Anticorpo monoclonal | Em ensaio. |
| Ativador muscular | Pimozide | Recrutamento de doentes. |
| | Ozanezumab | Em ensaio. |
| | Tirasemtiv | Recrutamento de doentes. |
| Controlo da saliva | MYOBLOC | Recrutamento de doentes. |
| Anti-inflamatório Antioxidante Antiapoptótico | Ácido ursodesoxicólico | Promissor mas de reduzida eficácia em baixa dose. |
| | Ácido tauro-ursodesoxicólico | Promissor no atraso da progressão da doença. Em ensaio. |
| | Ácido glico-ursodesoxicólico | Efeitos neuroprotetores em ensaios <i>in vitro</i> . |
| Renovação neuronal | Injeção autóloga de células estaminais | Promissor em modelo animal e no estágio inicial da doença. Em ensaio. |

Fontes: The ALSUntangled Group; Patente WO2015001379 A1; ALS Therapy Development Institute, Vaz et al. Mol Neurobiol 2015, Goyal and Mozaffar Expert Opin Invest Drugs 2014, <http://www.alsconsortium.org/browse.php>, <https://clinicaltrials.gov/>; FDA, Food and Drug Administration.

as novas células são injetadas, em particular a neurotoxicidade exercida pelos astrócitos locais, possa contribuir para o seu limitado sucesso.

Hoje, procura-se desenvolver modelos experimentais que melhor reproduzam a ELA, saber por que razão os astrócitos são tóxicos para os NM e qual o papel da inflamação. A Santa Casa da Misericórdia de Lisboa iniciou este ano um programa de investigação de incentivo à descoberta de novas estratégias terapêuticas para a ELA, tendo sido vencedor o projeto de investigação do grupo Neuron Glia Biology in Health and Disease⁸ liderado por Dora Brites. O grupo irá pesquisar as causas da doença e desenvolver novas formas de tratamento com base na disfunção dos astrócitos e sua toxicidade para os NM, através da modulação dos exosomas obtidos de modelos experimentais da doença e de soros de doentes com ELA.

CONCLUSÃO

A falta de estudos epidemiológicos, bem como de prevalência e incidência da ELA em Portugal, remete-nos para a necessidade de fazer um levantamento dos doentes com tal diagnóstico, para participarmos em estudos populacionais de maior dimensão, bem como para ajuizar do seu significado em Portugal e a nível global.

Segundo a ALSTDI⁹, a ELA não é uma doença incurável! É sim uma doença subfinanciada. Só um permanente financiamento da investigação científica e da prestação de cuidados de saúde permitirá descobrir os mecanismos patogénicos e os marcadores da doença, identificar fármacos inovadores e dar melhor assistência aos doentes com ELA.

Perante esta complexa doença, o investimento futuro na cura da ELA deve ser dirigido ao estabelecimento de um painel de marcadores que permita o diagnóstico precoce e ao uso de fármacos combinados que possibilite o ataque simultâneo a vários alvos já identificados ou a identificar na ELA.

BIBLIOGRAFIA

- ALEXANDER, M.; HU, R.; RUNTSCH, M.C.; et al. - Exosome-delivered microRNAs modulate the inflammatory response to endotoxin. *Nature Communications*. 6 (2015) 7321.
- BRITES, D.; VAZ, A.R. - Microglia centered pathogenesis in ALS: insights in cell interconnectivity. *Frontiers in Cellular Neuroscience*. 8 (2014) 117.
- CARVALHO, M.D.; SWASH, M. - Awaji diagnostic algorithm increases sensitivity of El Escorial criteria for ALS diagnosis. *Amyotrophic Lateral Sclerosis*. 10:1 (2009) 53-57.
- CHIÒ, A.; LOGROSCINO, G.; TRAYNOR, B.J.; et al. - Global epidemiology of amyotrophic lateral sclerosis: a systematic review of the published literature. *Neuroepidemiology*. 41 (2013) 118-130.
- ELIA, A.E.; LALLI, S.; MONSURRO, M.R.; et al. - A. Tauroursodeoxycholic acid in the treatment of patients with amyotrophic lateral sclerosis. *European Journal of Neurology*. (2015) doi: 10.1111/ene.12664.
- FELDMAN, E.L.; BOULIS, N.M.; HUR, J.; et al. - Intraspinal neural stem cell transplantation in amyotrophic lateral sclerosis: phase 1 trial outcomes. *Annals of Neurology*. 75:3 (2014) 363-373.
- FUGLSANG-FREDERIKSEN, A. - Diagnostic criteria for amyotrophic lateral sclerosis (ALS). *Clinical Neurophysiology*. 119:3 (2008) 495-496.
- GOYAL, N.A.; MOZAFFAR, T. - Experimental trials in amyotrophic lateral sclerosis: a review of recently completed, ongoing and planned trials using existing and novel drugs. *Expert Opinion on Investigational Drugs*. 23:11 (2014) 1541-1551.
- HAIDET-PHILLIPS, A.M.; MARAGAKIS, N.J. - Neural and glial progenitor transplantation as a neuroprotective strategy for Amyotrophic Lateral Sclerosis (ALS). *Brain Research*. (2015) doi: 10.1016/j.brainres.2015.06.035.
- KOVAL, E.D.; SHANER, C.; ZHANG, P.; et al. - Method for widespread microRNA-155 inhibition prolongs survival in ALS-model mice. *Human Molecular Genetics*. 22:20 (2013) 4127-4135.
- MILLER, R.G.; MITCHELL, J.D.; MOORE, D.H. - Riluzole for amyotrophic lateral sclerosis (ALS)/motor neuron disease (MND). *Cochrane Database of Systematic Reviews*. 3 (2012).
- MIN, J.H.; HONG, Y.H.; SUNG, J.J.; et al. - Oral solubilized ursodeoxycholic acid therapy in amyotrophic lateral sclerosis: a randomized cross-over trial. *Journal of Korean Medical Science*. 27:2 (2012).

8. Biologia Neuro-Glial na Saúde e na Doença.
9. ALS Therapy Development Institute.