

ATROFIA MUSCULAR ESPINHAL (AME), PROMISSORAS TERAPIAS: UMA REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Sarah Laís Silva de Freitas (1); Carina Scanoni Maia²; Ana Janaína Jeanine Martins de Lemos Jordão¹

¹Universidade Federal de Campina Grande (UFCG) sarahlais13@gmail.com, janainajenaine@yahoo.com.br

²Universidade Federal de Pernambuco (UFPE) carina.scanoni@gmail.com

Resumo: O presente trabalho tem como objetivo analisar os recentes ensaios clínicos e abordagens de mecanismos moleculares para o tratamento de AME. Atrofia Muscular Espinhal se enquadra como uma Síndrome do Neurônio Motor Inferior, caracterizada por incapacidade motora de diversos níveis e preservação da consciência. Essa doença é o tipo de doença genética mais comum resultante em morte de crianças, sua causa é a falta ou a mutação do gene Neurônio Motor de Sobrevida 1 (SMN1) e seu atual tratamento se dá, principalmente, por fisioterapia e estimulação sensorial, não havendo fármaco amplamente distribuído. Verificam-se 3 tipos classificados conforme a incapacitância motora, nos quais as pacientes têm praticamente nula, mediana ou parca dificuldade neuromotora. No tocante às pesquisas, verificam-se duas frentes: estudo acerca do aumento da expressão de SMN1 e acerca de outros fatores ligados a conexão neuronal também em irregularidade. Em ambos os cenários, as pesquisas já fazem uso de terapia gênica *in vitro* e *in vivo*. Atualmente, não há potencial alvo farmacológico que isoladamente tenha resultados expressivos para amplo grupo de pacientes. No entanto, terapia combinada de vários fatores moleculares, aliada à descoberta prematura da doença, tem-se mostrado como promissor futuro para melhor da qualidade de vida e da autonomia da parcela rechaçada. Conclui-se que é elementar o diagnóstico prematuro para evitar, ao máximo, problemas na conexão sináptica, uma vez que o tratamento não será capaz de restaurá-las e, atualmente, apenas evita uma destruição em larga escala. Assim, é importante desenvolvimento de novos estudos possibilitando uso da crítica janela terapêutica.

Palavras-chave: atrofia muscular espinhal, doença autossômica recessiva, atrofia muscular, síndrome do neurônio motor inferior

Introdução

A Atrofia Muscular Espinhal (AME) é o tipo de doença genética mais comum resultante em morte de crianças depois da fibrose cística (1:6000), com gene em 1 a cada 40 pessoas e incidência de 1 a 6.000 e 1 a 10.000 nascidos (ARAÚJO et al, 2005; PEARN, 1978). Dentre os sintomas, citam-se a hipotono, paresia, arreflexia, amiotrofia e miofasciculações, progressiva fraqueza respiratória, causada por baixos níveis da Proteína neuromotora de Sobrevida devido inativação por deleção ou outras mutações do gene do Neurônio Motor de Sobrevida 1 (SMN1) no cromossomo 5q13 e ação do gene parálogo Neurônio Motor de Sobrevida 2 (SMN2), com o qual compartilha ancestral comum, no entanto, tem função diferente. Apesar disso, entre 90% e 95% da proteína transcrita apresenta problemas decorrentes da mutação, causando a dificuldade em atingir marcos

motores, como, por exemplo, ter controle da cabeça, rolar, sentar e andar (ANQUILA, CAUCHI, 2018).

(83) 3322.3222

contato@conbracis.com.br

www.conbracis.com.br

Segundo o Professor Basil T. Darras, neurologista pediatra na Harvard Medical School e diretor do Programa de Atrofia Muscular Espinhal no Boston Children's Hospital, uma classificação didática para a AME corresponde à sua incapacitância motora, conforme a qual os acometidos pelo tipo 1 seriam crianças que não sentam, pelo tipo 2 sentam e pelo tipo 3 andam. No tocante ao tratamento, Darras observa que a família deve escolher o nível de intervenção respiratória (nenhum, ventilação não invasiva ou traqueostomia com ventilação mecânica) e aconselha o multidisciplinar residencial visando a qualidade de vida do paciente (MAMMAS, SPANDIDOS, 2018).

Atualmente existem apenas terapias de suporte, nas quais há compilação de diversas fisioterapias e estimulações sensoriais. No entanto, propostas de tratamento promissoras têm sido desenvolvidas visando aumentar os níveis de SMN baseada em diferentes mecanismos.

A partir dessa perspectiva, o presente trabalho tem como objetivo analisar os recentes ensaios clínicos e abordagens de mecanismos moleculares para o tratamento de AME. Pretende-se, a partir dessa análise, explorar promissoras terapias mais eficiente e resolutivas, visando ganho da autonomia dos pacientes e a melhoras na sua qualidade de vida.

Metodologia

Para a elaboração da presente revisão sistemática da literatura, adotou-se o seguinte procedimento: 1) o estabelecimento da temática abordada, 2) dos descritores/palavras chaves, 3) das bases de dados utilizados para a busca e 4) dos critérios de seleção do campo amostral. Seguido então da delimitação da amostra final a partir de uma análise dos resultados de busca. A busca foi feita na base de dados bibliográficos *Pub Med*, pesquisando por “*spinal muscular atrophy*”. Os critérios de inclusão foram: publicações dos últimos 5 anos, disponibilizadas na íntegra e de forma gratuita. Dentre os critérios de exclusão, encontram-se: estudos cuja abordagem não fosse genética ou farmacológica, a exemplo dos avanços proporcionados pela fisioterapia; ou que abordassem anomalias para além da deficiência motora, a nível do distúrbio do ciclo circadiano.

Resultados e discussão

A pesquisa foi realizada durante o primeiro semestre do corrente ano. O somatório total de artigos, tomando-se como alicerce as bases de dados, a partir das palavras-chave e critérios de inclusão já determinados, foram encontrados 7.572 artigos. Deste, com a adição dos filtros e trabalhos repetidos, restaram 43 artigos, os quais

foram avaliados por meio da leitura do título e do resumo, sendo eliminados artigos que não esclareciam sobre o objetivo da atual análise proposta. Destes, 20 foram selecionados para leitura na íntegra para produção do resumo expandido. Ao todo, foram lidos por volta de 20 artigos enquadrados nos critérios de inclusão e de exclusão apresentados na metodologia, sendo escolhidos os trabalhos com resultados mais promissores e em estágios de pesquisa mais avançados, estando, no mínimo, em testes in vivo em animais. Os trabalhos escolhidos para análise, encontram-se na Tabela 1, todos focados em aumento da expressão de SMN1 ou outros fatores ligados a conexão neuronal também em irregularidade.

A princípio, um viés de consonância em diversos trabalhos é acerca da necessidade de certa quantidade de SMN (3 ou 4 cópias de SMN2) para sucesso de diversos possíveis alvos terapêuticos. Com efeito, pacientes com AME tipo 2 ou 3 tiveram melhores respostas a diversas linhas de tratamento. Outro ponto a se avaliar, muito bem observado por Pechamanna e colaboradores, é no tocante à crítica janela terapêutica para uso de terapias focadas no SMN. Por isso, tecnologias a partir de triagem de recém-nascidos têm sido desenvolvidas para diagnosticar AME em DNA extraído de sangue, a fim de permitir diagnóstico pré-sintomático em muitos casos.

Tabela 1 – Tabela de descrição de análise de revisão de literatura sobre Atrofia Muscular Espinhal (AME)

Autores	Ano	Objetivo	Metodologia	Material de estudo	Resultados
Finker, R. S, Mercuri, E, Dattas, B. T, Connolly A. M, et al.	2017	Avaliar a eficiência e a segurança do Nusinersen em crianças	Experimento controlado em fase 3	Nusinersen	Aumento da manutenção de marcos motores e diminuição das mortes.

Pechmanna, A, Langer, T, Schorling, D, Steina, S, et al.	2018	Avaliar desenvolvimento de crianças com AME tipo 1 fazendo uso de Nusinersen	Avaliação motora via CHOP INTEND	Antisense oligonucleotídeo (ASO) que age como modificador de splicing no silenciador de splicing de N1 de SMN2	Marco motores foram alcançados por minoria dos participantes do estudo.
Bertini, E, Dessaud, E, Mercuri, E, Muntoni, F, et al.	2017	Avaliar a segurança, a tolerância e a eficácia de olesoxime	Ensaio clínico duplo-cego, randomizado, placebo controlado em fase 2 em pacientes com tipo 2 ou 3	olesoxime	Preveniu o declínio e potencialmente melhorou a função motora dos pacientes, principalmente no grupo entre 6 e 15 anos.
Rossor, A. M, Oates, E. C, Salter, H. K, Liu Y, Murphy S. M, Schule, R, Gonzalez M. A, Scoto, M, Phadke, R, Sewry C. A, et al.	2014	Explorar como a substituição p.Glu774Gly inibe a ligação de BICD2 a Rab6.	Uso da estrutura cristalina de uma região conservada do ortólogo da <i>Drosophila</i> do BICD2.	Estrutura da região Rab6 da <i>Drosophila melanogaster</i> BicD foi modificada com o programa Pymol ao, manualmente, submeter resíduos que são específicos para a proteína humana	Mutações em BICD2 afetam, predominantemente, a função da dineína nos neurônios motores. Além do efeito de DYNC1H1 mutante no desenvolvimento cortical e na migração neuronal independente de BICD2.

Anquilina, B Cauchi, RJ	2018	Entender melhor a manipulação do gene da AME	Manipulação genética da <i>Drosophila melanogaster</i>	Uso de larvas mutantes SMN ^{73A0} e sistema para expressar transgene em fundo mutante usando drivers específicos para tecidos GAL4/Upstream ActivationSequence (UAS)	4-Aminopyridine (4- AP), inibidora de canais de K ⁺ ativados por voltagem, demonstrou aumento da área de superfície muscular e habilidade locomotora
Alrafiah, A, Karika, E, Coldicott I, Iremonger K, Lewis K. E, Ning K, Azzouz M	2018	Estudar a modificadora Proteína Plastin 3 (PLS3)	Análises qualitativa da expressão de DNA humano da PLS3 em vírus aplicado em ratos de 5, 10, 20, 40 e 80 dias	DNA humano da PLS3 em vírus testando em modelo <i>in vitro</i> e <i>in vivo</i>	PLS3 induz redução de neurônios motores deficientes e resgata força do axônio, no entanto, requer certa quantidade de SMN (3 ou 4 cópias de SMN2) e combinação com outros moduladores para ter resultados significativos.

Simon, C. M, Dai, Y, Alstyne, M. V, et al	2017	Estudar efeitos de p53 na morte neuronal	Terapia genética em ratos	P53 em animais vulneráveis e resistente à AME além dos efeitos de sua inibição via fármacos ou genética	Fosforilação amino terminal de p53 induz morte de neurônio
Mendell, J. R, Al-Zaidy S, Shell, R, Arnold, D, Rodino-Kaplan, L. R, Prior T. W, Lowes L, Alfano, L, Berry K, Church, K, et al.	2017	Estudar a substituição do gene de Neuro Motor de Sobrevivência a 1 após mutação	Aplicação de dose única intravenosa de sorotipo 9 de vírus adeno-associado carregando DNA complementar de SMN		Aumento da sobrevivência e de realização de marcos motores, além de melhor função motora.

Dentre os artigos selecionados, verificou-se que três faziam uso de fármacos, dentre os quais dois usaram Nusinersen e um usou oleoxosime; quatro faziam uso de terapia gênica, sendo um focado no gene da AME e os outros envolvidos com fatores anormais da conexão sináptica.

No que concerne aos fármacos, Nusinersen ou, ainda, Spiranza é uma das principais linhas de pesquisa para portadores de Atrofia Muscular Espinhal, inclusive estando na etapa de ensaio clínico fase 2 e 3 em diversas instituições, demonstrando sua notável evidência científica ao usar pacientes e comparar com tratamento padrão existente. Tal fármaco oligonucleotídeo modifica o *splicing* do pré-RNA mensageiro para promover aumento da expressão da Proteína Neuro Motora. No entanto, estima-se que muito acerca da expectativa de sua funcionalidade reside na perspectiva esperançosa dos pais, pois, muito embora, ofereça diminuição de mortes e manutenção de marcos motores, caso conciliado com outras terapias, sua ação ainda é restrita a um pequeno grupo de pacientes estudados (FINKER, 2017; PECHMANNA, 2018).

Outro viés de pesquisa, é relativo aos fatores relacionados direta ou indiretamente com a SMN, a olesoxime, por exemplo, pode conservar a função motora em paciente com tipo 2 ou 3 num período de 24 meses, além disso pode diminuir a permeabilidade excessiva da membrana mitocondrial prevenindo apoptose devido a redução de fatores pró-apoptóticos e manutenção de energia. Dessa forma, foi mostrada função neuroprotetora e neuroregenerativa em diversos modelos animais (BERTINI, 2017).

Também há a PLS3, envolvida com canais de cálcio, possível modificadora de acordo com a idade e o sexo, capaz de modular o grau de manifestação da doença. Esse gene é importante na formação axonal e sua expressão mediada por vírus restaura força da conexão sináptica em cultura de neurônios motores deficientes, resultando em eficiente transdução neuronal e significativo aumento dos anos de vida em 42% se comparado com pacientes com AME sem o tratamento. Em contrapartida, os canais de potássio que ao serem inibidos por 4-Aminopyridine (4-AP), demonstraram aumento da superfície muscular e habilidade motora. Ambos os casos, conferem maior autonomia e condições de sobrevivência à parcela rechaçada. (ALRAFIAH, 2018; ANQUILINA, 2018).

Para além da mutação de SMN1, ainda verifica-se em: BICD2 relacionada diretamente com a dineína que configurará características contrações de tornozelo e atraso de marcos motores. Causada por mutação em DYNC1H1, esse gene codifica a subunidade de geração de força do complexo motor de dineína citoplasmático. Com a terapia gênica, paciente conseguiram andar independente com poucos casos precisando de aparatos físicos, como cadeira de rodas em 12,5% dos casos estudados (ROSSOR, 2014).

Ainda, a fosforilação amino-terminal de p53 que induz morte neuronal e, em caso de acúmulo, está relacionada com neurônios motores resistentes e interneurônios da medula espinhal. Somado à isso, observou-se que inibição genética e farmacológica desse gene pode prevenir a morte neuronal, mas sem beneficiar quantitativa ou funcionalmente as sinapses sensoriais aferentes e melhorando, de forma moderada, a deservação e o comportamento motor. Com efeito, tal perspectiva aponta para as deficiências funcionais severas que permanecem no circuito motor, sua importância para a patogênese da doença e a redução de movimentação excitatória aliada à perda das sinapses centrais (SIMON, 2017).

Conclusões

A princípio, verifica-se que é elementar o diagnóstico prematuro para evitar, ao máximo, problemas na conexão sináptica, uma vez que o

tratamento não será capaz de restaurá-las e, atualmente, apenas evita uma destruição em larga escala.

No que concerne às pesquisas, nota-se a dualidade da medicação Nusinersen pois o medicamento parece promissor, mas não garante homogeneidade nos efeitos, sendo ineficaz e de eficiência não comprovada para o tratamento, uma vez que em numerosos casos não proporciona grandes marcos motores nem auxilia na condição respiratória. Concomitantemente, o propício contínuo estudo genético de outros genes também envolvidos com a produção da Proteína Neuro Motora 1, se mostram potenciais terapêuticos, caso sejam associados para potencializar resultados - caso de p53, BICD2, PLS3,

Para finalizar, deve-se observar que o cenário científico promete bons resultados em futuro próximo com a publicação de estudos de caso de nível 3 aliados ao avanço tecnológico responsável por permitir identificação com antecedência da anomalia em foco, possibilitando abordagem mais eficiente e melhor uso da crítica janela terapêutica.

Referências

Araújo, A. P. de Q-C, Ramos, V. G, Cabello, P. H. Dificuldades diagnósticas na Atrofia Muscular Espinhal. Arquivo de neuropsiquiatria, 2005.

Pearn, J. Incidence, prevalence and gene frequency studies of chronic childhood spinal muscular atrophy. Journal Medical Genetics, 1978.

Mammas, I. N, Spandidos, D. A. Spinal muscular atrophy type I and the dual role of viroses: Na interview with Professor Basil T. Darras, Professor of Neurology (Pediatrics) at Harvard Medical School. Experimental and therapeutics medicine, 2018.

Darras, B. T, Mammas, I. N, Spandidos, D. A. Spinal muscular atrophy, pediatric virology and gene therapy: A challenge of modern weakness and hope. Experimental and therapeutic medicine, 2018.

Finker, R. S, Mercuri, E, Dattas, B. T, Connolly A. M, Kuntz, N. L, Kirschener, J, Chiriboga, C. A, Saito K, Servais L, Tizzano E, Topaloglu H, Tuilinius M, Montes J, Glanzman A. M, Bishop, K, Zhong Z. J, Gheuens S, Bennett, C. F, Schneider E, Farwell, De Vivo D. C. Nusinersen versus Sham Control in Infantile-Onset Spinal Muscular Atrophy. The New England Journal of Medicine, 2017.

Pechmanna, A, Langer, T, Schorlinga, D, Steina, S, Vogta, S, Scharab, U, Kolbel, H, Schwartz, O, Hahnd, A, Geised K, Johannsene J, Deneckee, J, Weibßf, C, Theophilg, M, Kirschnera. Evaluation of Children with SMA Type 1

under treatment with Nusinersen within the expanded access program in Germany. *Journal of Neuromuscular Disease*, 2018.

Bertini, E, Dessaud, E, Mercuri, E, Muntoni, F, Kierschner, J, Reid, C, Lusakowska, A, Comi, G. P, Cuisser, J. M, Abitol J. L, Scherrer B, Ducray P. S, Buchbjerg J, Vianna E, Ludo Van der Pol W, Vuillerot, C, Blaettler T, Fontoura, P. Safety and efficacy of olesoxime in patients with type 2 or non-ambulatory type 3 spinal muscular atrophy: a randomised, double-blind, placebo-controlled phase 2 trial. *The Lancet - Neurology*, 2017.

Rossor, A. M, Oates, E. C, Salter, H. K, Liu Y, Murphy S. M, Schule, R, Gonzalez M. A, Scoto, M, Phadke, R, Sewry C. A, Houlden H, Jordanova A, Tornev I, Chamova T, Litvinenko, I, Zuchner, S, Herrmann, D. N, Blake, J, Sowden, J. E, Acsadi, G, Rodriguez, M. L, Menezes, M. J, Clarke, N. F, Grumback, M. A, Bullock, S. L, Muntoni, F, Reilly, M. M, North, K. N. Phenotypic and molecular insights into spinal muscular atrophy due to mutations in BICD2. *Brain: a journal of neurology*, 2014.

Aquilina, B, Cauchi, R. J. Modelling motor neuron disease in fruit flies: Lessons from spinal muscular atrophy. *Journal of Neuroscience Methods*, 2018.

Alrafiah, A, Karika, E, Coldicott I, Iremonger K, Lewis K. E, Ning K, Azzouz M. Plastin 3 Promotes Motor Neuron Axonal Growth and Extends Survival in a Mouse Model of Spinal Muscular Atrophy. *American Society of Gene & Cell Therapy*, 2018.

Simon, C. M, Dai, Y, Alstyne, M. V, Koutsoumpa, C, Pagiazitis, J. G, Chalif, J. I, Wang, X, Rabinowitz, J. E, Henderson, C. E, Pellizzoni L, Mentis, G. Z. Converging Mechanisms of p53 Activation Drive Motor Neuron Degeneration on Spinal Muscular Atrophy. *Cell Reports*, 2017.

Mendell, J. R, Al-Zaidy S, Shell, R, Arnold, D, Rodino-Kaplan, L. R, Prior T. W, Lowes L, Alfano, L, Berry K, Church, K, Kissel, J. T, Nagendran, S, L'Italien J, Sproule, D. M, Wells, C, Cardenas J. A, Heitzer, M. D, Kaspar A, Corcoran, S, Braun L, Likhite S, Miranda, C, Meyer K, Foust, K. D, Burghes, A. H. M, Kapur, B. K. Single-Dose Gene-Replacement Therapy for Spinal Muscular Atrophy. *The New England Journal of Medicine*, 2017.