

Distrofias associadas ao colagénio VI: discussão de um caso clínico

Luciana Carvalho Oliveira

Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em
Medicina
(Mestrado Integrado)

Orientador: Prof. Doutor Francisco José Alvarez Perez
Co-orientadora: Dra Maria Manuela de Almeida Santos
Co-orientador: Dr Pedro Maia Almeida

abril de 2022

Dedicatória

Aos 3 M, por serem uma força da natureza, exemplos a seguir e por nunca desistirem.

Agradecimentos

Em primeiro lugar quero agradecer aos meus pais por serem os meus pilares, pela educação que me deram e por todos os sacrifícios que fizeram para eu poder alcançar o meu sonho. Ao meu pai, o meu herói e amigo, obrigada por me ajudar a ser quem sou e por estar sempre ao meu lado em todos os meus desafios e conquistas. À minha mãe, o meu porto de abrigo, obrigada por toda a confiança que me dá e por ter sempre a palavra certa quando eu mais preciso.

Quero agradecer também aos meus orientadores, Professor Doutor Francisco Alvarez, Dra. Maria Manuela Santos e Dr. Pedro Maia Almeida, pelo contributo para a realização deste estudo. Obrigada por me orientarem nesta difícil etapa, por me terem ajudado e por toda a disponibilidade demonstrada.

Aos meus avós, António e Maria, obrigada pelo amor incondicional e por estarem sempre a torcer por mim.

Agradeço ao meu irmão e a minha cunhada, por serem um exemplo a seguir, como pessoas e como casal, por me ensinarem a lutar pelos meus sonhos e a não desistir. Ao meu sobrinho Mathias, obrigada por alegrar os meus dias e por me mostrar que com esforço e trabalho tudo é possível.

À minha restante família, obrigada por serem a minha rede de segurança e por acreditarem sempre em mim.

Quero agradecer também às minhas amigas de infância e aos amigos que fiz ao longo destes 6 anos por me terem acompanhado nesta aventura e por todos os momentos inesquecíveis que me proporcionaram.

Agradeço também às minhas colegas de equipa de futsal que me ensinaram a trabalhar em equipa e a ser resiliente dentro e fora das quatro linhas.

Ao meu João, o meu porto seguro, agradeço por todo o apoio que me dá e por acreditar todos os dias em mim. Obrigada pela confiança inabalável que me transmite e por me fazer feliz!

Sem vocês o meu sonho não seria possível!

Resumo

As Distrofias associadas ao Colagénio VI constituem um subgrupo de Distrofias Musculares Congénitas raras. O colagénio VI é uma glicoproteína expressa na matriz extracelular, essencial para o normal funcionamento dos tecidos, nomeadamente tecido musculo esquelético e conjuntivo (pele e tendões). Este espectro associa-se a variantes clinicamente relevantes nos genes do colagénio VI (*COL6A1*, *COL6A2* ou *COL6A3*) que resultam num défice de produção ou função do colagénio VI. As manifestações típicas são fraqueza muscular, hiperlaxidez distal, contraturas articulares e manifestações cutâneas, que refletem o défice de colagénio VI. Estas distrofias apresentam um espectro clínico, que pode variar de uma forma mais ligeira e mais tardia, conhecida como Miopatia de Bethlem, formas intermédias, até uma forma mais grave e mais precoce, denominada Distrofia Muscular Congénita de Ullrich. A suspeita diagnóstica pode ser confirmada molecularmente com a identificação de uma alteração patogénica num dos genes *COL6A1*, *COL6A2* ou *COL6A3*. Normalmente, não há envolvimento cardíaco.

Atualmente não existe uma cura definitiva para este grupo de patologias, no entanto, com a crescente evolução da genética e da ciência em geral, há uma maior esperança e interesse no desenvolvimento de novas técnicas terapêuticas, bem como novos alvos.

Apresenta-se um caso clínico de uma criança, do sexo masculino, com três anos de idade, filho de pais consanguíneos (1/32), com diagnóstico clínico e molecular de Distrofia Muscular Congénita de Ullrich. O paciente apresenta hipotonia de início no período neonatal, hiperlaxidez das articulações distais, luxação bilateral da anca e do cotovelo esquerdo, envolvimento cutâneo, na forma de hiperqueratose folicular e atraso no desenvolvimento global.

Com a presente revisão bibliográfica pretende-se reunir a informação mais atualizada sobre os aspetos mais relevantes relacionados com as Distrofias do Colagénio VI e apresentar um caso clínico da patologia em questão.

Palavras-chave

Colagénio VI; Distrofia Muscular Congénita de Ullrich; Miopatia de Bethlem; Contraturas articulares; Hiperlaxidez distal

Abstract

Collagen VI Associated Dystrophies constituted a subgroup of rare Congenital Muscular Dystrophies. Collagen VI is a glycoprotein expressed in the extracellular matrix, essential for the normal functioning of tissues, namely musculoskeletal and connective tissue (skin and tendons). This is associated with specific pathogenic variants in collagen VI genes (*COL6A1*, *COL6A2* *COL6A3*) or results in a deficit in collagen VI production or function. Typical manifestations are muscle weakness, distal hyperlaxity, contractures and joint manifestations, noting collagen VI deficiency. Dystrophies have a clinical spectrum, which can range from a milder and later form, known as Bethlem Myopathy, intermediate forms, to a more severe and earlier form, called Ullrich Congenital Muscular Dystrophy. A suspected diagnosis can be confirmed molecularly with an identification of a pathogenic change in one of the *COL6A1*, *COL6A2* or *COL6A3* genes. There is usually no cardiac involvement.

There is currently no definitive cure for this group of pathologies, however, with the evolution of genetics and science in general, there is greater hope and interest in the development of new therapeutic techniques, as well as new targets.

We present a clinical case of a three-year-old male child of consanguineous parents (1/32), with a clinical and molecular diagnosis of Ullrich's Congenital Muscular Dystrophy. The patient's initial presentation in the neonatal period, bilateral hyperlaxity, distal changes, left elbow dislocation, skin involvement in the form of follicular hyperkeratosis and global developmental delay.

With a bibliographic review presented, we intend to gather the most up-to-date information on the most relevant aspects related to Collagen VI Dystrophies and present a clinical case of the pathology.

Keywords

Collagen VI related dystrophies; Ullrich Congenital Muscular Dystrophy; Bethlem Myopathy; Joint Contractures; Distal Hiperlaxity

Índice

1. Introdução	1
2. Objetivos	4
3. Metodologia	5
4. Desenvolvimento Teórico	7
4.1 Caracterização das Distrofias associadas ao colagénio VI	7
4.1.1 Epidemiologia	7
4.1.2 Etiologia e Fisiopatologia	7
4.1.3 Apresentação Clínica	11
4.1.4 Diagnóstico	15
4.1.5 Diagnóstico Diferencial	18
4.2 Tratamento e Prognóstico	19
4.2.1 Aconselhamento genético	23
4.2.2 Ensaios clínicos e novas perspetivas de tratamento	24
5. Descrição do caso clínico	27
6. Conclusão e Perspetivas Futuras	35
7. Referências Bibliográficas	39
Apêndices	47

Lista de Figuras

Figura 1 - Representação esquemática da formação do colagénio tipo VI e interações com os componentes da membrana extracelular	8
Figura 2 - Sinal de Bethlem.	12
Figura 3 - Esquema dos músculos da perna e coxa.	17
Figura 4 - Membros em castiçal.	27
Figura 5 - Manifestações clínicas apresentadas pelo paciente M.F.O.	28
Figura 6 - Evolução do peso de M.F.O. desde o nascimento até aos 3 anos.....	31
Figura 7 - Evolução da estatura de M.F.O. desde o nascimento até aos 3 anos.	32
Figura 8 - Evolução dos valores de IMC (Índice de Massa Corporal) de M.F.O. desde o nascimento até aos 3 anos.	32
Figura 9 - Evolução dos valores do perímetro cefálico de M.F.O. desde o nascimento até aos 2 anos.	33

Lista de Tabelas

Tabela 1 - Características clínicas da Distrofia Muscular Congénita descritas na literatura.....	14
Tabela 2 – Lista dos 32 itens da escala MFM-32, com posição inicial e exercícios pretendidos.....	22
Tabela 3 - Resultado do Exoma realizado ao paciente M.F.O.....	30

Lista de Acrónimos

α -DG	Distroglicano α
AD	Autossómica Dominante
AME	Atrofia Muscular Espinhal
AR	Autossómica Recessiva
BiPAP	<i>Bilevel Positive Airway Pressure</i> - Pressão positiva nas vias aéreas a dois níveis
CK	Creatina quinase
CMDIR	<i>Congenital Muscle Disease International Registry</i>
CVF	Capacidade Vital Forçada
Col 6 / col VI	Colagénio VI
COL6-RD	Distrofias associadas ao Colagénio VI
DG	Distroglicano
DGPI	Diagnóstico Genético Pré-Implantação
DGS	Direção-Geral da Saúde
DHT	Domínios da hélice tripla
DMC	Distrofia Muscular Congénita
DMCF	Distrofia Muscular Congénita de Fukuyama
DMCU	Distrofia Muscular Congénita de Ullrich
DMOC	Doença Músculo-Olho-Cérebro
DNA	Ácido desoxirribonucleico
DPN	Diagnóstico Pré-Natal
ECG	Eletrocardiograma
EMG	Eletromiografia
Gly	Glicina
IR	Insuficiência Respiratória
LAMA2-RD	Distrofias associadas à Laminina
MB	Miopatia de Bethlem
MEC	Matriz Extracelular
MFM-32	<i>Motor Function Measure - 32</i>
MLPA	<i>Multiplex Ligation Dependent Probe Amplification</i>
mRNA	RNA mensageiro
PVL	Leucomalácia Periventricular
RE	Retículo Endoplasmático
RM	Ressonância Magnética
RNA	Ácido ribonucleico
SEPN1-RM	Miopatia relacionada com Selenon/SEPN1
siRNA	RNA pequeno de interferência
SNG	Sequenciamento de Nova Geração
SWW	Síndrome de Walker-Warburg
VNI	Ventilação Não Invasiva
vWF-A	Domínio tipo A do fator de von Willebrand

1. Introdução

As Distrofias Musculares Congénitas (DMC) representam um dos vários subgrupos das doenças neuromusculares hereditárias (1). Constituem um grupo heterogéneo, clínica e geneticamente, e caracterizam-se por fraqueza muscular que se instala durante o primeiro ano de vida, hipotonia neonatal e um padrão histológico de lesões distróficas (2–7).

Uma vez que são um grupo de doenças sub diagnosticadas, estima-se que a prevalência de DMC ronde entre 0.6 – 0.9 casos por 100 000 habitantes (3,5). O primeiro caso de DMC foi reportado em 1903 (8).

Ao longo dos últimos anos foram propostas várias classificações das DMC para distinguir as várias formas (7). As DMC podem ser divididas consoante a função da proteína afetada (2,3,5):

1) DMCs associadas a proteínas estruturais defeituosas, da Membrana Basal ou da Matriz Extracelular (MEC) – inclui as Distrofias associadas à Laminina (LAMA2-RD), as Distrofias associadas ao Colagénio VI (COL6-RD), as DMC com deficiência da Integrina 7 ou 9 α e as DMC associadas ao défice de Colagénio XII (9);

2) DMCs associadas a defeitos primários no Distroglicano (DG) ou na glicosilação do α -DG (α -distroglicano) – denominadas distroglicanopatias, que inclui a DMC de Fukuyama (DMCF), a Doença Músculo-Olho-Cérebro (DMOC) e a Síndrome de Walker-Warburg (SWW);

3) DMCs relacionadas com defeitos nas proteínas do Retículo Endoplasmático (RE) – nomeadamente Miopatia relacionada com Selenon/SEPN1 (SEPN1-RM);

4) DMCs relacionadas com defeitos nas proteínas do invólucro nuclear – inclui as DMC relacionadas com a Laminina A/C (*LMNA*) e uma forma rara causada por mutações na nesprina (DMC relacionada com *SYNE1*);

5) Outras DMCs associadas a defeitos não referidos nos tópicos anteriores.

A presente dissertação foca-se no grupo dos defeitos das proteínas estruturais, mais concretamente nas distrofias do colagénio VI, também denominadas miopatias do col VI ou distúrbios relacionados com o colagénio tipo VI (10).

O colagénio VI (col VI) é uma glicoproteína expressa na MEC, tendo um papel crucial no funcionamento dos tecidos, entre eles o tecido músculo esquelético e o tecido conjuntivo, como pele e tendões (11–15). Molecularmente, as COL6-RD estão relacionadas a alterações num dos 3 genes do colVI – *COL6A1*, *COL6A2* e *COL6A3* – que codificam as cadeias $\alpha 1$, $\alpha 2$ e $\alpha 3$ da tripla hélice do colVI (11–16).

As Distrofias associadas ao colagénio VI têm hereditariedade autossómica dominante (AD), na maioria dos casos, ou hereditariedade autossómica recessiva (AR). Têm uma expressividade variável, podendo manifestar-se como uma forma mais ligeira conhecida como Miopatia de Bethlem (MB), passando por formas mais intermédias, até uma forma mais grave e de início mais precoce, denominada Distrofia Muscular Congénita de Ullrich (DMCU) (3,5,6,12–16).

São um subtipo de doenças raras, com uma prevalência estimada de 0.77 por 100 000 habitantes para a MB e 0.13 casos por 100 000 habitantes para a DMCU na Inglaterra do Norte, sendo que muitos dos casos são subdiagnosticados (17). A DMCU constitui a terceira DMC mais comum no Reino Unido (5).

A MB (OMIM #158810) é caracterizada por uma combinação de fraqueza muscular proximal e contraturas articulares, nomeadamente dos cotovelos e das articulações interfalângicas dos últimos quatro dedos. Tem uma progressão lenta e deambulação mantida em 2/3 dos pacientes afetados. O envolvimento respiratório não é uma característica constante (4,10,14,15,18,19).

Quanto à DMCU (OMIM#254090), a fraqueza e debilidade muscular são rapidamente progressivas e têm uma instalação precoce e generalizada. Apresentam também contraturas proximais, hiperlaxidez das articulações distais, alterações cutâneas típicas, como cicatrizes atróficas e queloides, e alterações musculo esqueléticas como escoliose ou espinha rígida (3,4,6,9,10,13,14,17,19,20,21). Este quadro pode iniciar durante o primeiro ano de vida ou podem ser relatadas manifestações no período perinatal, como diminuição dos movimentos fetais, hipotonia e displasia congénita da anca (4,10). Nos casos mais graves não há aquisição de marcha. Nos restantes há perda de marcha na infância ou na adolescência (3,4,6,9,11–14,17,19,21). Na maioria dos doentes há compromisso da função respiratória com necessidade de suporte ventilatório (6,10,12–15,18,20,22). Não foram relatadas alterações a nível do sistema nervoso central nem a nível cardíaco (3,6,10,13,20).

No que toca às formas intermédias, têm uma clínica e evolução variáveis (10,14).

A presença da tríade de miopatia, alterações cutâneas e laxidez/contraturas, leva a uma suspeita clínica deste grupo de doenças, que é suportado por imagem muscular e

confirmado por estudo genético, com identificação de alterações nos genes *COL6A1*, *COL6A2* ou *COL6A3* (4,10,14,23).

Atualmente ainda não existe um tratamento curativo para as COL6-RDs (12,13,24). Têm sido realizados vários estudos clínicos, de modo a recolher dados de múltiplos pacientes e documentar todas as variantes envolvidas na patologia das COL6-RDs, bem como os mecanismos patogénicos envolvidos, permitindo identificar novos alvos terapêuticos e direcionar os ensaios clínicos. Atualmente existem diversos ensaios clínicos em curso que têm como objetivo principal o estudo da eficácia das terapias genéticas (9).

A gestão deste grupo de doenças consiste numa abordagem multidisciplinar, em aconselhamento genético e tratamento de suporte, que vai depender da idade de início das manifestações, da sua intensidade e gravidade (10).

Na presente dissertação, aliada à revisão de literatura das distrofias associadas ao col VI, apresenta-se um caso confirmado de Distrofia Muscular Congénita de Ullrich, que está a ser acompanhado no Centro Materno Infantil do Norte e no Hospital Universitário *La Timone*, em Marselha.

2. Objetivos

A identificação de um caso de DMCU motivou a realização desta monografia, de modo a conhecer o “estado de arte” desta entidade. Assim, os objetivos desta dissertação são os seguintes:

- Realizar uma revisão da literatura, com a abordagem dos aspetos mais relevantes das COL6-RDs, nomeadamente da epidemiologia, fisiopatologia, características clínicas, abordagem diagnóstica, tratamento e prognóstico;
- Apresentar e discutir um caso clínico de Distrofia Muscular Congénita de Ullrich acompanhado no Centro Materno Infantil do Norte e no Hospital Universitário *La Timone* (Marselha).

3. Metodologia

Para a realização da presente revisão bibliográfica foi feita uma pesquisa, entre julho de 2021 e janeiro de 2022, na base de dados internacional *PubMed*, com as seguintes palavras-chave: “*congenital muscular dystrophy*”; “*collagen vi related dystrophies*”, “*collagen vi*”; “*collagen vi dystrophy*”; “*collagen vi myopathies*”; “*epidemiology*”. Foi aplicado um filtro relativamente à data de publicação, com preferência para os últimos 5 anos. Foram também consultadas as bases de dados *Orphanet*, *ClinVar* e *OMIM* com as seguintes palavras-chave: “*COL6A1*”; “*COL6A2*”; “*COL6A3*”; “*Bethlem myopathy*”; “*Ullrich Congenital Muscular Dystrophy*”. Dos artigos encontrados, foram selecionadas as publicações em inglês, português, francês ou espanhol, de acordo com a relevância do título e resumo, com o artigo completo disponível *online*, com o número de citações e o fator de impacto da revista. Sempre que uma referência dos artigos selecionados fosse considerada relevante, foi consultado o artigo original. Adicionalmente foram incluídos dez artigos publicados antes do ano de 2016 para contextualização histórica e porque foram considerados relevantes para o tema.

Foram consultados os seguintes websites: <http://www.musclegenetable.fr/>; <https://neuromuscular.wustl.edu/>; <https://www.curecmd.org/collagen-vi-ullrich-bethlem>; <https://www.afm-telethon.fr/>.

Utilizaram-se dados apresentados pelo Programa Nacional de Saúde Infantil e Juvenil, encontrado no site oficial da Direção Geral de Saúde (DGS) e foi consultado o Livro “Lições de Pediatria Vol. I e II”, da autoria de Professora Doutora Guiomar Oliveira e Professor Doutor Jorge Saraiva, publicado em 2017.

A informação clínica utilizada para a descrição do caso clínico foi obtida através da visualização dos relatórios das consultas realizadas no Hospital La Timone, das hospitalizações, das avaliações por Psicomotricidade e Terapia Ocupacional, bem como os resultados dos exames complementares realizados, fornecidos pelos pais do paciente. Todos os recursos foram anonimizados, de forma a cumprir o direito à preservação da identidade, proteção de dados pessoais e sigilo médico. Em anexo, encontra-se o consentimento informado, entregue aos pais do menor (Apêndice 1).

4. Desenvolvimento Teórico

4.1 Caracterização das Distrofias associadas ao colagénio VI

4.1.1 Epidemiologia

Os primeiros casos de Distrofia Muscular Congénita de Ullrich e de Miopatia de Bethlem foram reportados em 1930 e 1976, respetivamente (25,26).

Devido à escassez de estudos referentes à epidemiologia e à recente descoberta de novos genes relacionados com este grupo de doenças, a incidência e a prevalência exata das COL6-RDs é desconhecida (10,27,28). No entanto, as distrofias relacionadas com o col VI constituem o segundo subtipo mais comum de DMC na Europa, no Japão e na Austrália (11). Estimou-se a prevalência pontual de MB e de DMCU na Inglaterra do Norte, que foi de 0.77 casos por 100 000 habitantes e de 0.13 casos em 100 000, respetivamente (17). Em Itália, a prevalência estimada de DMCU foi de 0.114 casos por 100 000 (28).

4.1.2 Etiologia e Fisiopatologia

O colagénio VI constitui uma das proteínas essenciais da matriz extracelular, formando uma rede microfibrilar na maioria dos tecidos, nomeadamente no músculo esquelético e no tecido conjuntivo, como tendões e pele (20,29). Como promove uma ligação estrutural entre os diversos componentes das membranas basais do tecido conjuntivo e as células, atua na manutenção da integridade dos tecidos, na sinalização, na adesão, na migração e na sobrevivência celular (12,29–31). Recentemente foi descoberto que o envolvimento do col VI e do seu derivado, endotrofina, na progressão tumoral, na metastização, na diabetes e na obesidade (32).

O col VI é constituído por três cadeias peptídicas - $\alpha 1$, $\alpha 2$ e $\alpha 3$. As cadeias $\alpha 1$ e $\alpha 2$, homólogas, são codificadas pelos genes *COL6A1* e *COL6A2*, que se encontram localizados na região cromossómica 21q22.3. A cadeia $\alpha 3$, de maior tamanho, é codificada pelo gene *COL6A3*, localizado na região cromossómica 2q37 (12,33). Recentemente foram identificadas três novas cadeias, $\alpha 4$, $\alpha 5$ e $\alpha 6$, localizadas na região cromossómica 3q22.1 e estruturalmente semelhantes à cadeia $\alpha 3$. A cadeia $\alpha 4$ não foi observada em humanos (34,35).

A associação das subunidades $\alpha 1$, $\alpha 2$ e $\alpha 3$ forma um monómero de tripla hélice. Cada monómero é constituído por um domínio de tripla hélice, com a sequência de

aminoácidos Glicina (Gly) – X - Y definidora, ladeada por domínios globulares N- e C-terminais, homólogos aos domínios tipo A do fator de von Willebrand (vWF-A) (15,32,33). A região helicoidal tripla e os domínios vWF-A do col VI unem-se a várias proteínas da MEC, nomeadamente colagénios fibrilares, colagénio tipo IV (da lâmina basal), decorina, biglicano e fibronectina, promovendo a adesão e ligação celular (36,37).

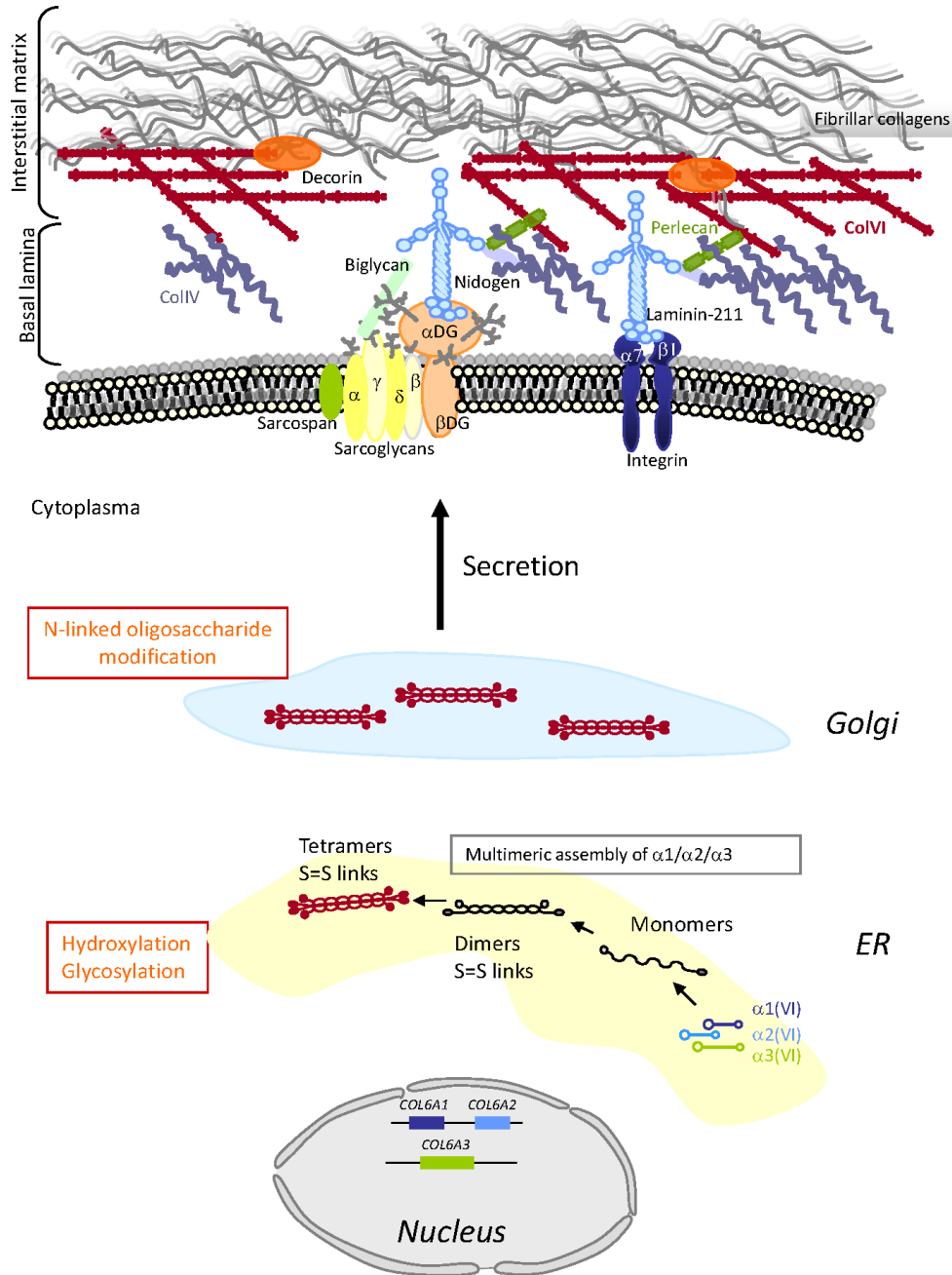


Figura 1 - Representação esquemática da formação do colagénio tipo VI e interações com os componentes da membrana extracelular (38).

No retículo endoplasmático, as cadeias $\alpha 1$, $\alpha 2$ e $\alpha 3$ agrupam-se de forma equimolar (1:1:1) em monómeros, depois formam dímeros e por fim, tetrâmeros, estabilizados por ligações dissulfeto entre os resíduos de cisteína da tripla hélice (32,33).

Durante o processo de tetramerização, as cadeias de col VI sofrem várias modificações pós-tradução e são secretadas para o espaço extracelular (32,36). Após secretados, os tetrâmeros alinham-se de ponta a ponta e formam microfibrilas com uma aparência frisada típica (32,33,36).

As células responsáveis pela produção do col VI no tecido muscular são os fibroblastos intersticiais, que é posteriormente depositado na MEC (12,32), conforme ilustrado na Figura 1, retirada do trabalho de Allamand et al. (38).

As células-tronco musculares adultas, denominadas células-satélite, são essenciais para a regeneração muscular após uma lesão. Estas encontram-se em quiescência, debaixo da membrana basal do músculo e são ativadas durante a reparação muscular. Após ativadas, as células-satélite proliferam e diferenciam-se em mioblastos, que se fundem e originam novas fibras musculares. Encontram-se em contacto próximo com o colagénio VI, pelo que este constitui um componente essencial do nicho das células-satélite, tendo assim um papel na sua manutenção e na regeneração muscular (15).

Um defeito no equilíbrio da síntese e degradação da MEC pode levar a um aumento da deposição da matriz e, conseqüentemente, a fibrose precoce (31).

Variantes que interfiram na formação dos tetrâmeros de col VI ou em qualquer uma das etapas fundamentais da sua síntese levam às COL6-RDs (33,36).

Variantes das COL6-RDs

As variantes patogénicas mais comumente envolvidas neste grupo de doenças têm uma hereditariedade autossómica dominante ou recessiva e afetam as diferentes cadeias do col VI, nomeadamente o *COL6A1*, *COL6A2* e *COL6A3*. Este grupo de doenças origina um amplo espectro clínico, que varia de uma forma relativamente leve, chamada Miopatia de Bethlem, até uma forma severa, a Distrofia Muscular Congénita de Ullrich (12,32).

Recentemente foram relatadas variantes patogénicas no gene *COL12A1*, localizado na região cromossómica 6q13-q14, que também originam quadros semelhantes aos encontrados nas distrofias do col VI (1,39). Tal como o col VI, também o colagénio XII faz parte da MEC (39).

As variantes que maioritariamente causam patologia são as que têm hereditariedade AD (24). Produzem cadeias normais e cadeias alteradas que podem não ser secretadas - o que leva a uma redução do col VI na MEC e a sua retenção no

citoplasma; ou podem ser secretadas na MEC, no entanto, têm uma capacidade reduzida de se associarem a outros tetrâmeros e formar uma rede microfibrilar funcional (12). Assim, em ambas as situações, a matriz é produzida e embora tenha proteínas normais e funcionais, as proteínas mutadas exercem um efeito negativo que leva a uma matriz anormal e disfuncional – efeito dominante negativo (30,31).

As variantes patogénicas descritas que se associam a um padrão de hereditariedade autossómica dominante são as seguintes:

- Variantes com salto de exão *in-frame* (variantes do sítio de *splicing* ou deleções *in-frame*): ocorrem na extremidade N-terminal dos domínios da tripla hélice (DHT) (30). Se o salto não afetar os resíduos de cisteína, essenciais para a formação dos dímeros e tetrâmeros, o efeito dominante negativo será mais forte, uma vez que as cadeias mutadas serão incorporadas e vão impedir a montagem final das microfibrilas do colagénio VI, dando origem a um quadro mais grave (10,33). Caso a variante interfira com os resíduos de cisteína, não há formação de dímeros e, portanto, não há incorporação de cadeias anormais nos tetrâmeros, no entanto a quantidade final de cadeias normais formadas é menor, o que leva igualmente a doença, no entanto com um fenótipo mais leve (10).
- Variantes *missense* da glicina: afetam a sequência repetitiva Gly-X-Y na parte N-terminal dos DHT (12,20). Existe uma região crítica entre os tripletos Gly-X-Y 10-15, que é responsável pela ligação dissulfureto nos tetrâmeros (15). Assim, uma alteração nesta região vai originar tetrâmeros com pontes não dissulfureto, que irá prejudicar a formação de microfibrilas e originar um fenótipo mais grave do que se a variante estiver fora dessa região crítica (30).
- Inserção de um pseudoexão no intrão 11 (c.930+189C>T) *in-frame*: o pseudoexão codifica um peptídeo com propriedades disruptivas, que irá atuar na região N-terminal do DHT, depois do resíduo de cisteína essencial para a estabilização, que leva à incorporação da cadeia defeituosa na formação do col VI e, por conseguinte, gera um forte efeito dominante negativo e uma microfibrila disfuncional (10,24).

As variantes que se associam a COL6-RDs com hereditariedade AR envolvem, predominantemente, a região C-terminal, o que leva a que a cadeia alterada não possa formar monómeros e, como consequência, haverá um défice ou diminuição da produção de colagénio VI (15,31). As variantes patogénicas envolvidas na perda de função são:

- Variantes *nonsense*: a introdução de um codão stop prematuro resulta na diminuição do mRNA que, em homozigotia, leva à ausência do colagénio VI (10,12). Este tipo de variante está associado a um fenótipo mais grave (30).
- Variantes *frameshift*: deleções intragénicas e variantes do sítio de *splicing* (10,40).
- Variantes *missense*: podem causar doença se afetarem funções essenciais ou interações do col VI, no entanto, constituem uma causa menos comum (10).

A haploinsuficiência não constitui um mecanismo causador de COL6-RDs (10,12).

A gravidade do fenótipo está relacionada com o efeito da variante na proteína e não com o padrão de herança (5).

Nas COL6-RDs observam-se alterações estruturais da matriz extracelular na pele e nos tendões, nomeadamente disfunção mitocondrial, stress oxidativo, autofagia defeituosa e apoptose aumentada, que se apontam como mecanismos responsáveis pelas manifestações típicas deste grupo de doenças (15). Existe também evidência de que as células-satélite se encontram afetadas, com uma capacidade de autorrenovação diminuída, indução de senescência e destruição do seu nicho (3). No entanto, o modo como as variantes genéticas levam à disfunção muscular ainda não está claramente definida (15,41). Recentemente foi relatada uma associação entre a distrofia col VI e a desregulação do gene circadiano CLOCK, fundamental na função e regeneração muscular (36,41).

Foram reportados diversos casos de variabilidade fenotípica e da progressão da doença entre famílias e intrafamiliar. Esta observação pode ser explicada pelo mosaicismo parental de variantes heterozigóticas com ação dominante (4,11).

4.1.3 Apresentação Clínica

Inicialmente, distinguiam-se duas entidades clínicas relacionadas com as distrofias do col VI, no entanto, com a descoberta das bases moleculares, concluiu-se que os fenótipos deste grupo de distrofias constituem um espectro clínico contínuo (10). O espectro contempla, num dos extremos, uma forma mais ligeira, denominada Miopatia de Bethlem, fenótipos intermédios e no extremo oposto uma forma mais severa, denominada Distrofia Muscular Congénita de Ullrich (3).

De um modo geral, as COL6-RDs caracterizam-se por um atraso no desenvolvimento motor, contraturas articulares proximais, hiperlaxidez distal e retrações articulares (3,4). Também se associam a alterações da pele, como hiperqueratose folicular

na superfície extensora das coxas e braços, cicatrizes quelóides e pele em “papel de cigarro” (14). Em alguns casos observa-se displasia congénita da anca, escoliose de rápida evolução, rigidez da coluna vertebral e insuficiência respiratória progressiva como consequência da fraqueza diafragmática (3,4). Em nenhum dos fenótipos se relataram alterações do nível de inteligência ou perturbações de aprendizagem, nem alterações do funcionamento cardíaco (3,14).

Num estudo realizado em 2017 por Rodriguez et al, conclui-se que este grupo de miopatias está associado a obesidade, com uma distribuição andróide do tecido adiposo, nomeadamente no tronco e na zona abdominal (42).

Até ao momento ainda não foi possível determinar uma correlação genótipo-fenótipo, devido ao facto de a mesma variante patogénica no mesmo gene poder originar diferentes quadros com diversos graus de gravidade (4,43).

A categorização dos vários fenótipos é de suma importância, pois permite prever em parte a evolução da função motora e pulmonar, o que possibilita a antecipação e otimização dos cuidados clínicos (22).

a) Miopatia de Bethlem

A MB representa a forma mais leve das COL6-RDs e caracteriza-se por fraqueza muscular proximal lentamente progressiva e contraturas articulares dos cotovelos, do tendão de Aquiles, dos flexores longos dos dedos e das articulações interfalângicas dos últimos quatro dedos, dificultando a extensão dos dedos (14,43).

O “sinal de Bethlem”, representado na figura 2 e típico da MB, consiste na impossibilidade da extensão dos dedos quando os pulsos se encontram em dorsiflexão e os cotovelos estão elevados e fletidos (10).



Figura 2 - Sinal de Bethlem. Imagem retirada do website <http://www.col6.it/en/Bethlem-Myopathy>.

Tem início, tipicamente no final da primeira década de vida, no entanto pode ser congénita, com sinais de hipotonia, torcicolo congénito, laxidez articular com luxação da anca, luxação recorrente da patela ou malformações do pé (pé equinovaro) (14).

A maioria dos doentes consegue subir escadas sem ajuda, correr e saltar durante a infância (10,22). No entanto, como consequência da progressão das contraturas articulares, que podem levar a escoliose com espinha rígida moderada, cerca de dois terços dos doentes com mais de 50 anos necessitam de apoio para deambular (10,14).

Como resultado da combinação da rigidez da caixa torácica e da fraqueza da musculatura respiratória, nomeadamente do diafragma, poderá haver desenvolvimento de insuficiência respiratória (IR) do tipo restritivo, embora seja um achado menos comum na MB (14). A IR manifesta-se por hipoventilação noturna e os doentes necessitam de ventilação não invasiva (VNI) noturna na forma de pressão positiva nas vias aéreas a dois níveis (BiPAP) (10).

As manifestações cutâneas típicas encontradas na MB incluem a hiperqueratose folicular nas superfícies extensoras dos braços e coxas, e cicatrizes quelóides (10).

Dentro deste fenótipo foram relatadas duas variantes (11,43):

- Distrofia muscular membros-cintura – contraturas tardias ou ausentes;
- Miopatia Mioesclerótica – contraturas precoces, difusas e progressivas, que originam uma grave limitação dos movimentos articulares.

b) Distrofia Muscular Congénita de Ullrich

A Distrofia Muscular Congénita de Ullrich constitui o fenótipo de início mais precoce e mais grave deste grupo de doenças e pode ter manifestações intrauterinas, nomeadamente diminuição dos movimentos fetais e oligodrâmnio (10). Os sintomas surgem tipicamente ao nascimento e caracterizam-se por hipotonia, fraqueza muscular proximal bilateral progressiva, hiperlaxidez distal, retrações articulares e contraturas articulares nos cotovelos, joelhos, coluna (cifoescoliose) e pescoço (torcicolo congénito) (4,11,14).

A capacidade de andar de forma independente pode nunca ser adquirida nos casos mais severos (4,12). Nos casos moderados, que são os mais comuns, os doentes conseguem andar, no entanto perdem essa capacidade durante a adolescência ou início da idade adulta (14). A perda da capacidade da marcha resulta da progressão das contraturas articulares, que constituem um dos maiores fatores que afetam a qualidade de vida destes doentes (10,11,14).

A DMCU caracteriza-se também por escoliose, acompanhada por espinha rígida, que precedem a perda da marcha (10). As manifestações de pele, como a hiperqueratose folicular e a formação de quelóides, também são típicas (20). Características adicionais podem incluir cifoescoliose, displasia congénita da anca, protusão do calcâneo, fraqueza

facial e transtornos alimentares, que podem necessitar da colocação de sonda nasogástrica ou de gastrostomia, nos casos mais severos (10,14).

O desenvolvimento de insuficiência respiratória, que constitui uma das principais características deste fenótipo, é um dos principais preditores de prognóstico e uma das principais causas de mortalidade (10,43). A IR aparece como consequência da escoliose progressiva associada à fraqueza diafragmática, que originam um padrão restritivo (14). Normalmente a IR desenvolve-se assim que a marcha é perdida, no entanto, pode evidenciar-se precocemente como hipoventilação noturna, pelo que é necessária uma vigilância adequada da função respiratória (14). Nesta fase, recomenda-se o uso noturno de BiPAP, que deve ser otimizado (10,14).

Mesmo dentro do fenótipo de DMCU podemos observar um vasto leque de características clínicas, evidenciando uma grande variabilidade fenotípica que pode dificultar, por vezes, o diagnóstico deste grupo de patologias (4). Na Tabela 1 encontram-se resumidas todas as manifestações associadas à DMCU descritas na literatura (20).

Tabela 1 - Características clínicas da Distrofia Muscular Congénita descritas na literatura (20).

Características clínicas		
História Clínica/ Sintomas	Exame clínico	
Redução pré-natal dos movimentos fetais	Fácies anormal	Atrofia dos membros com ou sem fasciculações
Contraturas congénitas	Anormalidades da marcha/ Incapacidade de andar de forma independente	Formação de cicatrizes quelóides
Retrações articulares	Espinha rígida/ Escoliose	Inteligência normal
Metas do desenvolvimento motor atrasadas	Hiperlaxidez das articulações distais	Alterações da função respiratória
Aumento progressivo da fraqueza muscular	Pregas palmares ausentes/ indistinguíveis/ palmas aveludadas macias	Hiperqueratose folicular

c) Formas Intermédias

As formas intermédias caracterizam-se por um início precoce e evolução leve (14). Neste grupo, os doentes são capazes de levantar do chão sem ajuda (22). As manifestações são tipicamente congénitas, com hipotonia, displasia congénita da anca, torcicolo, hiperlaxidez distal e contraturas articulares proximais (10).

As contraturas articulares atingem tipicamente os ombros, cotovelos, flexores longos dos dedos e tornozelos (10). A sua progressão leva à perda da marcha por volta dos 20 anos, bem mais tarde, comparada com a DMCU (14).

Também nas formas intermédias se encontra escoliose, espinha rígida e alterações da pele, anteriormente mencionadas (10,14).

No que diz respeito à função respiratória, a instalação progressiva da insuficiência respiratória também é típica, no entanto é mais tardia que na DMCU. A necessidade do uso de VNI pode ocorrer mesmo antes da perda da marcha, pelo que é necessária a vigilância da função pulmonar (10).

4.1.4 Diagnóstico

A presença de características clínicas típicas, como miopatia, alterações cutâneas e laxidez/contraturas, leva à suspeita clínica das COL6-RDs (18).

Perante a suspeita de uma síndrome miopática é importante a medição dos níveis de creatina quinase (CK) e a realização de uma Eletromiografia (EMG), além da anamnese e do exame objetivo (14). Os níveis de CK podem estar normais ou ligeiramente aumentados (normal 0 – 200 U/L) (4,20) e o EMG confirma a presença de um distúrbio miopático (potenciais de ação polifásicos curtos da unidade motora) (20), descartando a presença de neuropatias ou de distúrbios do segundo neurónio motor (14).

Em alguns casos, de modo a descartar outras condições musculares pode realizar-se uma biópsia muscular com marcação imuno-histoquímica (14). As distrofias do col VI caracterizam-se por um padrão histológico distrófico variável (fibrose endomesial, infiltração de gordura, fibras de vários tamanhos, degeneração e regeneração da miofibra) (10), típico da deficiência de colagénio VI (4). No entanto, no início da doença pode apresentar apenas um padrão miopático inespecífico (10). Vários estudos demonstraram que a biópsia muscular com marcação imuno-histoquímica é variável e pouco informativa (4), pelo que é utilizada como método de segunda linha (27).

Ao longo dos últimos anos a Ressonância Magnética (RM), um método não invasivo, tem adquirido uma grande relevância no acompanhamento deste grupo de doenças (44). A RM tem uma melhor resolução em comparação com a tomografia computadorizada (TC) e com a ecografia; apoia o diagnóstico, permite a monitorização da doença e, caso seja necessário, orienta a biópsia muscular. Para além destes usos permite também objetivar o grau de comprometimento muscular com o uso de scores

semiquantitativos, permite orientar a interpretação das variantes de significado clínico desconhecido identificadas nos testes genéticos e observar os efeitos das terapias (14,44).

A RM muscular é normalmente realizada nos membros inferiores (14). A deficiência de col VI origina um padrão de imagem muito típico, com as seguintes alterações (14,45):

- Infiltrados de gordura de forma estriada, com maior incidência a nível proximal. No caso da coxa é superior no compartimento anterior e, no caso da perna, existe um anel de maior área de compromisso entre os músculos gastrocnémio e sóleo.
- Sinal de “sanduíche” no músculo vasto lateral, com afeção das fibras periféricas e preservação das fibras centrais; e sinal de “alvo” no reto femoral, com uma zona central de maior compromisso. Estes sinais têm uma sensibilidade e especificidade de 90% e 97.3%, respetivamente.
- Os músculos mais afetados são o adutor magno e o glúteo máximo. Os músculos sartório, grácil e adutor longo são relativamente poupados.
- A RM de corpo inteiro permite visualizar o compromisso de outros músculos, como tríceps, deltóide, psoas e latíssimo do dorso.

As alterações previamente referidas podem ser observadas na Figura 3, retirada do trabalho de B. Suárez et al (14). À medida que a doença progride e nos indivíduos mais velhos estes sinais podem ficar menos evidentes (10).

O grau de infiltração de gordura identificado na RM foi relacionado com a gravidade dos sintomas (45).

O uso da RM em crianças pequenas e em lactentes é mais limitado, uma vez que pode ser necessária sedação e a sensibilidade do exame nesta faixa etária pode ser reduzida (46). Nos casos em que a RM se encontra desaconselhada, pode ser realizada uma TC ou ecografia, revelando, no entanto, mais limitações (44).

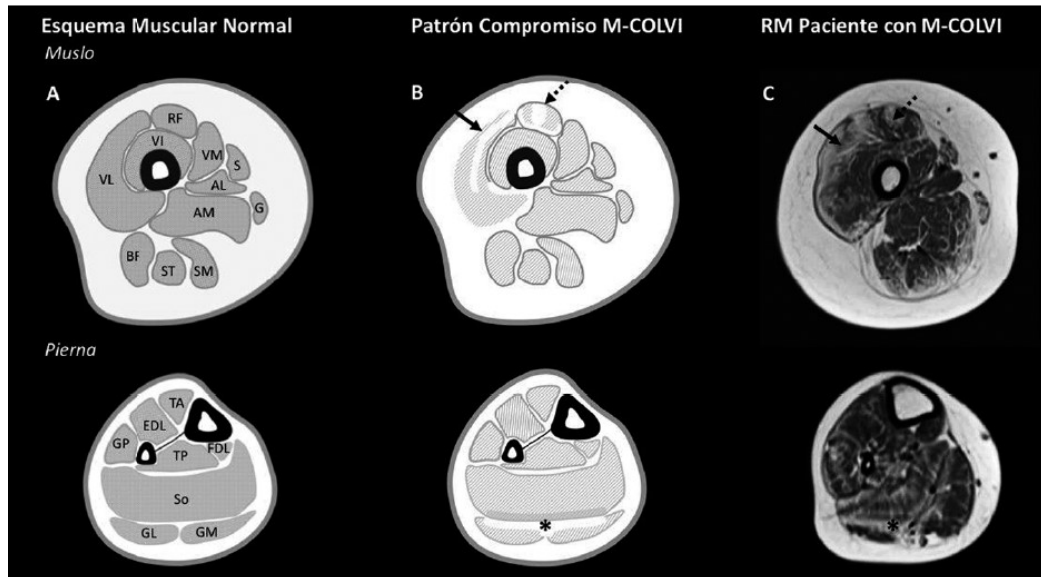


Figura 3 - Esquema dos músculos da perna e coxa. **A:** Esquema Muscular Normal: vasto lateral (VL), vasto intermediário (VI), vasto medial (VM), reto femoral (RF), adutor longo (AL), grácil (G), adutor magno (AM), sartório (S), semimembranoso (SM), semitendinoso (ST), bíceps femoral (BF), tibial anterior (TA), tibial posterior (TP), extensor longo dos dedos (EDL), grupo peronial (GP), flexor digital longo (FDL), sóleo (So), gastrocnêmio lateral (GL) e gastrocnêmio medial (GM). **B:** Padrão de envolvimento muscular nas COL6-RDs. **C:** RM de um paciente com COL6-RD, onde se encontra, na coxa: o sinal de “sanduíche” (seta contínua), o sinal de “alvo” (seta descontinua) e; na perna: presença do “anel” de infiltração de gordura entre o sóleo e o gastrocnêmio (*) (14).

RM de corpo inteiro é mais sensível a mudanças progressivas lentas, o que poderá vir a aprofundar o conhecimento da doença e da sua evolução, bem como auxiliar nos ensaios clínicos (44).

A confirmação do diagnóstico das COL6-RDs é feita pela identificação das variantes patogénicas nos genes *COL6A1*, *COL6A2* ou *COL6A3*, através da sequenciação de nova geração (SNG) (4,14). Perante uma clínica suspeita aliada a resultados de exames de imagem sugestivos, realizam-se testes genéticos mais direcionados (10):

- Sequenciação dos genes *COL6A1*, *COL6A2* e *COL6A3* - caso não seja identificada nenhuma variante patogénica, realiza-se a pesquisa de deleções/duplicações por MLPA (*Multiplex Ligation Dependent Probe Amplification*) direcionadas para um gene em específico.
- Painel multigénico de miopatias/distrofias musculares (inclui *COL6A1*, *COL6A2*, *COL6A3* e outros genes relevantes) - tem maior probabilidade de detetar a causa, é mais custo-efetivo e diminui a identificação das variantes de significado clínico desconhecido. Estes painéis variam ao longo do tempo e com o laboratório em questão.

Em ambas as técnicas deve ser incluída a variante patogénica correspondente à introdução do pseudo-exão no intrão 11 (c.930+189C>T), devido à sua localização intrónica e ao facto de não ser detetada nas técnicas baseadas apenas em exões (10).

Quando a clínica não é tão típica e os achados dos exames de imagem são inespecíficos realiza-se um teste genético mais abrangente, como a sequenciação do exoma ou do genoma, sendo o primeiro o mais utilizado (10).

4.1.5 Diagnóstico Diferencial

Os achados típicos de manifestações miopáticas, juntamente com hiperlaxidez articular, CK normal ou ligeiramente aumentado, sinais típicos encontrados na RM, ausência de envolvimento cardíaco e nível de inteligência normal, ajudam a estabelecer o diagnóstico diferencial das COL6-RDs com outras síndromes miopáticas (14).

Se considerarmos como característica essencial a fraqueza muscular, as miopatias congénitas que devem ser diferenciadas das COL6-RDs por apresentarem também hiperlaxidez articular e rigidez são as:

- Miopatias multimínico recessivas secundárias a mutações no gene da selenoproteína (*SEPN1*) e no gene da rianodina (*RYR1*);
- Miopatias de núcleo central secundárias a mutações autossómicas dominantes ou recessivas de *RYR1*, frequentemente associadas à luxação congénita da anca, e outras secundárias à miosina 7 (*MYH7*) e titina (*TTN*).

Na presença de contraturas, se subtis, considera-se como principal diagnóstico diferencial as Distrofias Musculares Membro-Cintura; se proeminentes, considera-se a Distrofia Muscular de Emery-Dreifuss.

Se a fraqueza não for o sinal mais aparente e apresentarem hiperlaxidez, fazem parte do diagnóstico diferencial a Síndrome de Ehlers-Danlos, a Síndrome de Marfan e a Síndrome de Loeys-Dietz.

Deste leque, fazem parte, também as mutações do colagénio XII, as Distrofias musculares do *LAMA 2*, as Miopatias associadas ao *FHL1*, a Atrofia Muscular Espinhal (AME) e outras formas de DMC (10,14).

4.2 Tratamento e Prognóstico

Após o estabelecimento do diagnóstico das COL6-RDs é essencial, em primeira instância, realizar uma avaliação multissistémica, de modo a averiguar a extensão e gravidade da doença (14).

É importante avaliar o envolvimento dos seguintes sistemas (10):

- Musculoesquelético: estimar o grau e a distribuição da fraqueza muscular, bem como o seu impacto, examinar as contraturas articulares (principalmente a contratura do tendão de Aquiles) e avaliar a necessidade de fisioterapia e terapia ocupacional;
- Pulmonar: realizar polissonografia com monitorização contínua de CO₂ (permite a deteção precoce de hipoventilação noturna) (47) e testes de função pulmonar na posição sentada e supina com medição da capacidade vital forçada (CVF) (a partir dos 5 anos);
- Cardíaco: avaliação pelo cardiologista com ecocardiograma e eletrocardiograma (ECG), de modo a avaliar a tensão cardíaca do lado direito nos pacientes que não usam a ventilação não invasiva ou nos que têm pressões BiPAP desajustadas;
- Genética: consulta com o geneticista e aconselhamento genético.

Nos pacientes com diagnóstico de DMCU ou de distrofias do col VI intermédias, é também crucial avaliar o crescimento e a alimentação. Distúrbios da alimentação podem evidenciar-se como défices de crescimento que, por sua vez, podem também ser consequência de suporte ventilatório inadequado. A avaliação da displasia congénita da anca, da escoliose e da espinha rígida também é importante (10,14).

Até ao momento ainda não foi desenvolvido nenhum tratamento definitivo para as COL6-RDs (12). Assim sendo, após a avaliação da extensão da doença, é importante a prevenção e tratamento das complicações associadas (14).

a) Sintomas respiratórios

A insuficiência respiratória, constitui um dos principais fatores de morbilidade e de mortalidade, sendo de extrema importância a sua vigilância (48). Consoante a gravidade do fenótipo é recomendada a realização anual ou bianual de testes de função pulmonar, anteriormente descritos (10). Nos casos mais severos é importante avaliar também a disfunção diafragmática, que pode causar hipoventilação noturna (10,14).

Perante sintomas de hipercapnia diurna ou CVF igual ou inferior a 60% está indicado o uso de VNI na forma de BiPAP (10,47). Assim que o BiPAP noturno é iniciado, deve ser cuidadosamente monitorizado com recurso a polissonografia e as pressões devem ser ajustadas à medida que os doentes crescem ou as necessidades aumentam. Existe risco de desenvolvimento de *cor pulmonale* se o BiPAP for iniciado tardiamente ou se as pressões usadas forem inadequadas, pois levam ao aumento da pressão cardíaca no lado direito (10). Aconselha-se a vacinação e a utilização precoce de antibióticos como profilaxia das infeções respiratórias (14). Na DMCU, como existe um comprometimento pulmonar mais grave, os doentes também beneficiam do uso de um *cough assist* mecânico, para promover a tosse e desobstrução das vias aéreas (10). O uso precoce e adequado do VNI tem prolongado a sobrevida dos pacientes com COL6-RDs (4,47).

b) Prevenção

No que toca à prevenção, aconselha-se a avaliação anual (10):

- Da coluna vertebral, com recurso a radiografia – estimar o grau de progressão da escoliose;
- Da função cardíaca (Ecocardiograma e ECG);
- Neuromuscular pela fisioterapia e pela terapia ocupacional – avaliar a distribuição da fraqueza muscular, das contraturas articulares e o seu impacto funcional;
- Nutricional – nos casos mais severos (COL6-RD intermédias e DMCU) com problemas de alimentação ou crescimento.

c) Sintomas musculoesqueléticos

A hiperlaxidez articular e as contraturas articulares afetam a qualidade de vida dos pacientes (49). Nestes casos a fisioterapia intensiva e a terapia ocupacional são imprescindíveis para promoverem a mobilidade e independência funcional (14). São também importantes para o condicionamento muscular, para o alongamento articular e para promover uma boa postura, de modo a prevenir o desenvolvimento ou progressão da escoliose (10,14). Natação e exercícios dentro de água são encorajados (10). Nos doentes que não conseguem caminhar podem ser utilizados auxiliares da marcha, como canadianas, andador ou cadeira de rodas, dependendo do grau de compromisso da marcha (32).

A reparação cirúrgica da escoliose raramente é recomendada na MB. Nos casos em que é aconselhada, nomeadamente nos fenótipos intermédios e na DMCU, deve ser

abordada com muito cuidado, pois pode restringir ainda mais o movimento do tórax e interferir na função respiratória. Deve ocorrer uma coordenação cuidadosa entre o ortopedista, anestesista, intensivista e pneumologista. Se a cirurgia de correção da escoliose for realizada, está indicado o uso de BiPAP antes da cirurgia para otimizar a função pulmonar (10).

No que toca às contraturas articulares, só está indicada a correção cirúrgica das contraturas do tendão de Aquiles severas ou assimétricas que afetam a marcha. Caso contrário é desaconselhada devido ao alto risco pós-operatório de desenvolvimento de contraturas fixas com perda completa da amplitude do movimento. No entanto, novas abordagens cirúrgicas que evitem estas complicações podem ser cuidadosamente ponderadas (10).

Nas situações mais graves de défice de crescimento por alimentação inadequada pode ser indicada a alimentação por sonda nasogástrica ou por gastrostomia, de modo a manter um peso e nutrição adequados. No caso de défice de crescimento por volta dos 10 a 12 anos é importante verificar a presença de hipoventilação noturna. Nos casos mais ligeiros, pode ser ponderada a avaliação por terapia da fala (10).

d) Prognóstico

De modo a avaliar a função motora e classificar as COL6-RDs, pode ser aplicado o teste *Motor Function Measure-32* (MFM-32) (22). O MFM-32 é uma escala constituída por 32 elementos, que pode ser aplicada a crianças e adultos, dos 6 aos 60 anos, com doenças neuromusculares, incluindo as DMC (48). Subdivide-se em 3 dimensões funcionais: D1, que avalia a postura e as transferências; D2, que avalia a função motora axial e proximal; e D3, que avalia a função motora distal (22). Recentemente concluiu-se que o MFM-32 é a medida de *outcome* mais adequada para detetar alterações ao longo de 1 ano, em todo o espectro de gravidade funcional nas COL6-RDs (48). Nos pacientes entre 2 e 7 anos, pode ser aplicada uma versão pediátrica, MFM-20, que contempla apenas 20 itens (50). Na Tabela 2, encontram-se os itens que são avaliados nas escalas MFM-32 e MFM-20.

Tabela 2 – Lista dos 32 itens da escala MFM-32, com posição inicial e exercícios pretendidos.
Os itens assinalados com * não são realizados nas crianças dos 2-7 anos. Tabela traduzida, retirada de (50).

Número	Domínio	Posição Inicial	Exercício Pretendido
1	D2	Decúbito dorsal, cabeça na linha média	Mantém a cabeça na posição da linha média por 5 segundos e vira a completamente de um lado para o outro
2*	D2	Decúbito dorsal	Levanta a cabeça e mantém a posição elevada por 5 segundos
3	D2	Decúbito dorsal	Flexiona o quadril e o joelho >90°, levantando os pés do tapete
4	D3	Decúbito dorsal, perna apoiada pelo examinador	A partir da flexão plantar, realiza a dorsiflexão do pé a pelo menos 90° em relação à perna
5	D2	Decúbito dorsal	Levanta a mão e leva-a ao ombro oposto
6	D1	Decúbito dorsal, membros inferiores semi-fletidos, rótulas na posição vertical e pés apoiados no tapete	Eleva a pélvis; a coluna lombar, pelve e coxas são alinhados e os pés ligeiramente afastados
7	D2	Decúbito dorsal	Vira-se em decúbito ventral e liberta ambos os membros superiores sob o corpo
8*	D1	Decúbito dorsal	Senta-se, sem apoio do membro superior
9	D2	Sentado no tapete	Mantém a posição sentada por 5 segundos, sem apoio dos membros superiores e é capaz de manter contacto entre as 2 mãos por 5 segundos
10	D2	Sentado no tapete, com bola de ténis colocada à sua frente	Inclina-se para a frente, toca na bola e senta-se novamente, sem apoio do membro superior
11	D1	Sentado no tapete	Fica em pé, sem apoio do membro superior
12	D1	De pé	Senta-se na cadeira com os pés ligeiramente afastados, sem apoio do membro superior
13*	D2	Sentado na cadeira	Sem apoio do membro superior ou encostada à parte de trás da cadeira, mantém a posição sentada por 5 segundos, com a cabeça e o tronco na posição mediana
14	D2	Sentado na cadeira	Levanta a cabeça, inicialmente em flexão, que fica alinhada durante todo o movimento e é mantida elevada na linha média por 5 segundos
15*	D2	Sentado na cadeira	Antebraços apoiados sobre a mesa e cotovelos para fora: Coloca as 2 mãos em cima da cabeça, com a cabeça e tronco alinhados
16*	D2	Sentado na cadeira	Lápis sobre a mesa: Sem mover o tronco, alcança o lápis com 1 mão, antebraço e mão fora da mesa, com o cotovelo em extensão completa no final do movimento
17*	D3	Sentado na cadeira	10 moedas sobre a mesa: Pega e segura sucessivamente 10 moedas numa mão durante 20 segundos
18	D3	Sentado na cadeira	Dedo colocado no centro de um CD fixo: Contorna a borda do disco com 1 dedo, sem apoiar a mão
19*	D3	Sentado na cadeira	Lápis sobre a mesa: Pega no lápis e desenha uma série de voltas contínuas dentro do quadro e em todo o seu comprimento, tocando a linha superior e inferior do quadro
20*	D3	Sentado na cadeira	Folha de papel entre as mãos: Rasga a folha de papel dobrada em 4, começando pelo bordo da dobra
21	D3	Sentado na cadeira	Bola de ténis sobre a mesa: Pega na bola e, a segurar a bola, vira a mão completamente
22	D3	Sentado na cadeira	Dedo no centro de um quadrado fixo: levanta o dedo e coloca-o sucessivamente no centro das oito casas do quadrado, sem tocar nas

			linhas
23	D2	Sentado na cadeira	Membros superiores ao lado do corpo: coloca os dois antebraços e/ou as mãos sobre a mesa ao mesmo tempo
24	D1	Sentado na cadeira	Levanta-se, sem apoio dos membros superiores e com os pés ligeiramente afastados
25	D1	Em pé, apoio dos membros superiores	Liberta o suporte e mantém a posição em pé por 5 segundos, com os pés ligeiramente afastados, cabeça, tronco e membros alinhados na linha média
26*	D1	Em pé, apoio dos membros superiores	Sem apoio dos membros superiores, levanta um pé por 10 segundos
27	D1	Em pé	Sem apoio, toca no chão com 1 mão e levanta-se novamente
28*	D1	Em pé, sem apoio	Anda 10 passos em frente, sobre ambos os calcanhares
29*	D1	Em pé, sem apoio	Anda 10 passos em frente, sobre uma linha reta
30	D1	Em pé, sem apoio	Corre 10 metros
31*	D1	Em pé, sem apoio	Salta no mesmo lugar, com 1 pé, 10 vezes seguidas
32	D1	Em pé, sem apoio	Sem apoio dos membros superiores, agacha-se e levanta-se duas vezes seguidas

A correta classificação e caracterização clínica dos diversos fenótipos das distrofias do col VI permite fornecer com precisão um prognóstico de gravidade e de progressão da doença, permitindo a antecipação de cuidados (22). Esta previsão precisa do subtipo é também importante na recruta de pacientes jovens para os ensaios clínicos, de modo a poder disponibilizar as estratégias de tratamento em desenvolvimento nos primeiros anos de vida (22). Natera-de Benito et al. (22) demonstraram que a capacidade motora máxima inicial pode antecipar eventos relevantes da doença, como a necessidade de início da VNI noturna ou a idade da perda da deambulação.

Os sintomas motores são os que revelam um maior impacto na qualidade de vida destes doentes. No entanto, num estudo realizado por Cornwall et al. (51) foram reportados outros fatores que influenciam a qualidade de vida, nomeadamente a nível social e mental. As limitações do papel social, a dependência nos outros, o não poder praticar atividades específicas e o sofrimento emocional foram frequentemente mencionados. Não obstante, os pacientes com COL6-RDs têm tendência a ter uma perceção muito menos negativa da carga da doença, conhecido como “paradoxo da deficiência”.

4.2.1 Aconselhamento genético

As COL6-RDs podem ser herdadas de forma autossómica dominante ou recessiva e foram também relatados alguns casos de mosaicismo. Assim, em qualquer um dos cenários, é importante realizar testes genéticos aos pais do indivíduo afetado, de modo a

perceber qual o modo de transmissão da variante e se algum deles é portador da mesma (10).

No caso de um padrão autossómico dominante, que é o mais comum, se a variante for herdada, o risco de recorrência é de 50%. Se for detetada uma variante *de novo*, que não está presente no DNA (ácido desoxirribonucleico) leucocitário de nenhum dos pais, o risco de um irmão herdar a mesma variante é baixa, no entanto é superior ao risco apresentado pela população geral, devido à possibilidade de mosaicismo gonadal num dos progenitores (10,52).

Perante um padrão autossómico recessivo, o irmão do indivíduo afetado tem 25% de probabilidade de ser afetado, 50% de ser heterozigoto e 25% de não ser afetado, nem portador (10,52).

Neste grupo de doenças está sempre recomendado o aconselhamento genético. No caso de haver confirmação molecular é possível tecnicamente realizar estas duas técnicas, o diagnóstico genético pré-natal (DPN) e o diagnóstico genético pré-implantação (DGPI). É importante discutir ambas as possibilidades com os pais, bem como os riscos associados e a probabilidade de sucesso (10,52).

4.2.2 Ensaio clínico e novas perspetivas de tratamento

Ao longo dos últimos anos verificou-se uma grande evolução na descoberta e compreensão das características das COL6-RDs. Este facto deve-se em parte à criação de bases de dados universais que permitem o cruzamento de dados clínicos e genéticos de diversos pacientes e permitem assim aumentar a consciencialização acerca das DMC, melhorar os protocolos de tratamento, facilitar a inclusão de pacientes em ensaios clínicos e apoiar o desenvolvimento de novas terapias. Um exemplo de uma base de dados internacional é a CMDIR (*Congenital Muscle Disease International Registry*), criada em 2009 e que conta com mais de 2600 registos (9). Em 2018 foi lançada uma plataforma denominada “*Global Registry for COL6-related dystrophies*”, mais direcionada para as COL6-RDs (9).

A ciclosporina A e a rapamicina foram apontadas como potenciais agentes terapêuticos, uma vez que induzem a autofagia e diminuem a degeneração das fibras musculares. No entanto, têm um efeito imunossupressor potente quando utilizadas a longo prazo (32). Um ensaio clínico de fase 2 realizado em 2016 demonstrou também que era possível reativar a autofagia através de uma dieta pobre em proteínas (53). Porém, este tipo de dieta pode levar a perda ponderal e ter efeitos prejudiciais, principalmente na

população pediátrica (32). A espermidina e o pterostilbene são componentes promissores, não tóxicos, capazes de ativar a autofagia (54).

Em 2018, o laboratório Santhera realizou um ensaio clínico de fase 1, designado CALLISTO, que demonstrou a segurança e a tolerância da utilização do omigapil, um inibidor da apoptose. No entanto, em 2021 o laboratório anunciou a cessação do desenvolvimento desta molécula, uma vez que não foi demonstrada a sua eficácia no tratamento deste grupo de doenças (9,55).

Mais recentemente, com o desenvolvimento das técnicas de sequenciação genética e a identificação de novos tipos de variantes patogénicas, a terapia genética tem sido apontada como uma terapêutica bastante promissora. Uma vez que a maioria das patologias resulta de mutações com efeito dominante negativo, um dos objetivos destas técnicas é silenciar essas mutações tóxicas.

As técnicas genéticas que têm tido maior enfoque são: (3)

- técnicas direcionadas para corrigir defeitos genéticos ao nível do DNA: transferência de genes usando vetores virais ou não virais ou pela regulação positiva de genes de “resgate”, como por exemplo a técnica de edição de genes CRISPR/Cas9;
- técnicas de modulação da transcrição do RNA (ácido ribonucleico): uso de oligonucleotídeos *antisense* ou o silenciamento mediado por siRNA (RNA pequeno de interferência) nas variantes patogénicas;
- técnicas capazes de modular a atividade das células-satélite.

A transferência de genes tem uma limitação perante genes muito grandes, como é o exemplo do *COL6A3*, mesmo usando vetores virais (3).

O uso de oligonucleotídeos antisense tem sido explorado para silenciar variantes com efeito dominante negativo. Os oligonucleotídeos ligam-se ao mRNA (RNA mensageiro) durante o *splicing* para evitar a inclusão de um ou mais exões (12). Pode-se utilizar também oligonucleotídeos antisense *gapmer*, em que se ligam ao RNA mutado, desencadeando a sua clivagem e posterior destruição (12,56).

O silenciamento mediado por siRNA tem como objetivo silenciar apenas o alelo mutado e, graças à sua alta seletividade, tem particular interesse nas substituições de glicina ou saltos de exão *in frame* (9). Um estudo recente demonstrou que o tratamento de fibroblastos por um siRNA específico restaurou a produção de colagénio VI da MEC (57).

Como a haploinsuficiência não é um mecanismo patogénico, as duas técnicas são bastante promissoras em inibir as mutações dominantes com ação negativa (3).

O transplante de células-tronco adultas, nomeadamente células estromais mesenquimais, promove a regeneração e maturação das fibras musculares. Apesar de ser uma técnica bastante promissora, as células transplantadas têm uma capacidade de crescimento limitada (58). Outro desafio relacionado com a aplicação desta terapêutica é o recrutamento ineficaz de células para os músculos afetados. Os músculos danificados secretam um conjunto específico de citocinas, que podem ser utilizadas para direcionar a migração das células-tronco para o local da doença e bloquear os danos ao tecido muscular. Neste sentido, o estudo dos fatores quimiotáticos envolvidos neste processo poderá ser bastante útil (59).

Dada a falta de terapêuticas efetivas na gestão de doenças raras, os ensaios clínicos têm adquirido uma grande importância (60). Apesar de serem bastante promissores, não está claro se a restauração do colagénio VI irá reverter a função muscular ou atrasar apenas a progressão da doença, nem qual a quantidade mínima de col VI mutado que precisa de ser corrigido para haver benefício terapêutico (12). Existem várias limitações na projeção e interpretação dos ensaios clínicos, nomeadamente as questões éticas associadas aos testes clínicos de fase inicial, a baixa prevalência das COL6-RDs e, portanto, o pequeno número de pacientes elegíveis para os ensaios clínicos (53,60).

5. Descrição do caso clínico

M. F. O. nasceu a 13 de novembro de 2018 na Maternidade “*Clinique Saint Jean*”, em Toulon, no sul de França. É o primeiro filho de um casal consanguíneo (primos em 3^o grau – coeficiente de consanguinidade 1/32), de origem portuguesa, ambos com 30 anos e saudáveis até à data.

O casal realizou uma consulta antes da gravidez, devido à consanguinidade e, como não havia antecedentes familiares de doenças hereditárias, nem casos suspeitos, não foram realizados testes genéticos. Não foram relatados antecedentes pessoais e familiares relevantes.

A gravidez correu normalmente, sem qualquer intercorrência. As ecografias realizadas ao longo dos 3 trimestres foram normais, assim como todas as consultas realizadas. A mãe negou consumo de substâncias durante a gravidez, nomeadamente tabaco, álcool e drogas. As serologias maternas revelaram imunidade contra a rubéola e toxoplasmose, antígenos HBs e HIV negativos. Sem desenvolvimento de infeções, diabetes gestacional e hipertensão arterial durante a gravidez.

O parto (G1P1) foi eutócico, às 37 semanas e 6 dias, devido a rotura permanente de membranas (>12h); Apgar de 10/10 (5 e 10 minutos), peso de 2360g (abaixo do percentil 3), 46 cm de tamanho (entre o percentil 3 e 15) e um perímetro cranioencefálico de 32,5 cm (entre o percentil 3 e 15).

Durante o período neonatal foi reportada hipotonia axial e distal; e hipertonia dos membros superiores (membros “em castiçal”) (Figura 4). Foi realizada uma ecografia transfontanelar, ainda na maternidade, e foi detetada uma suspeita de leucomalácia periventricular (PVL), que veio a ser descartada posteriormente após realização de RM cranioencefálica, que se encontrava normal.



Figura 4 - Membros em castiçal.

Nos primeiros dias de vida também foram encontradas as seguintes alterações:

- criptorquidia unilateral direita (testículo em posição extraperitoneal com o anel abaixado);
- displasia congénita da anca com luxação bilateral e limitação da abdução;
- torcicolo congénito com inclinação da cabeça para a direita;
- hiperlaxidez das articulações, nomeadamente dos cotovelos, pulsos, dedos, joelhos e tornozelos;
- protrusão do calcâneo e pé plano (Figura 5);
- pele atópica e hiperqueratose folicular (face e zona abdominal) (Figura 5), sem formação de quelóides;

Sem envolvimento do sistema respiratório, cardíaco e gastrointestinal.

Pelos 4 meses de idade realizou um ecocardiograma cardíaco que revelou um ventrículo esquerdo com aspeto de não compactação, provavelmente relacionado à taquicardia, associado a uma boa função sistólica biventricular. Nas avaliações subsequentes (10 meses e 15 meses) não se observou nenhuma alteração, inclusive a não compactação previamente referida. Está agendada nova avaliação para o presente ano (2022).

Aos 8 meses observou-se uma atitude cifótica e escoliótica assimétrica, pelo que foi recomendado o uso de uma cadeira especial com apoio para o tronco, que permitiu corrigir a postura e prevenir a progressão da escoliose.

Pelos 12 meses notou-se uma estagnação ponderal, associada a uma ligeira desnutrição proteico-energética, pelo que foi realizado aconselhamento dietético.

Aos 18 meses foi diagnosticada uma luxação do cotovelo esquerdo, indolor e sem restrição do movimento, pelo que, sem indicação cirúrgica (Figura 5).



Figura 5 - Manifestações clínicas apresentadas pelo paciente M.F.O.. A – Protrusão do calcâneo e pé plano; B – Hiperqueratose folicular; C – Luxação do cotovelo esquerdo.

Apresentava também atraso no desenvolvimento motor global (posição de sentado aos 20 meses, começou a “gatinhar” arrastando as pernas e impulsionando com os braços aos 14 meses e marcha com apoio aos 27 meses).

Dado o contexto neuromuscular e de modo a dar preferência ao desenvolvimento psicomotor, os cirurgiões ortopédico e pediátrico só recomendam a correção cirúrgica da displasia da anca se influenciar negativamente a capacidade da marcha.

Devido ao baixo peso do paciente, a cirurgia para corrigir a criptorquidia (orquidopexia) foi adiada.

Os meios complementares de diagnóstico realizados (medição dos níveis de CK, ressonância magnética cranioencefálica, biópsia muscular com marcação imuno-histoquímica, ECG e ecocardiograma) não revelaram nenhuma alteração. Foram descartadas a presença de citomegalovírus (CMV) urinário, doenças metabólicas hereditárias e aminoacidopatias.

No diagnóstico diferencial foram incluídas as Atrofias Musculares Espinhais, as Neuropatias Congénitas e as Miopatias Retráteis. De modo a ter um esclarecimento definitivo, foram realizados vários painéis genéticos com recurso ao SNG:

- Em 2018 foram analisados os genes *SMN1* e *SMN2*, não havendo nenhuma alteração, descartando-se as AME;
- No início de 2020, foi realizado o Painel de Marie-Charcot-Tooth (Neuropatias Periféricas Hereditárias), em que foram testados 103 genes e não foi identificada nenhuma variante patogénica ou provavelmente patogénica;
- Em junho de 2020, ao analisarem os 29 genes do painel das miopatias retráteis, foram identificadas duas variantes de significado clínico desconhecido nos genes *COL6A2* e *COL6A3*, no entanto, o resultado do teste não foi conclusivo.

De modo a estabelecer a etiologia das variantes encontradas, foram realizados estudos de segregação com pesquisa das variantes familiares nos progenitores. Concluiu-se que ambos os pais eram heterozigotos para a variante de significado clínico desconhecido no *COL6A3* identificada no caso índice. A mãe era também portadora heterozigótica de uma variante no gene *COL6A2*, que foi classificada como provavelmente benigna (classe 2), uma vez que a mãe não apresentava qualquer manifestação clínica.

Neste sentido e de forma a prosseguir a investigação etiológica, foi realizado um exoma em trio, que identificou uma variante provavelmente patogénica (classe 4), em homozigotia, no gene *COL6A2* (Tabela 3). Ambos os pais são heterozigotos dessa mesma variante.

Tabela 3 - Resultado do Exoma realizado ao paciente M.F.O..

Gene	Coordenadas	Estado	Origem	Classificação	Doença (OMIM#, Transmissão)
COL6A2 (NM_001849.4)	GRCh37 chr21:g.47531503_47531516del cDNA:c.114_115+12del	Homozigotia	Paterna Materna	Provavelmente patogénica (Classe 4)	Miopatia de Bethlem 1 (OMIM#158810, Autossómica Dominante/Recessiva) Distrofia Muscular Congénita de Ullrich 1 (OMIM#254090, Autossómica Dominante/Recessiva)

Esta variante não foi encontrada em nenhum banco de dados de variantes patogénicas (LOVD, ClinVar). Provoca uma deleção de 12 pares de bases envolvendo o local doador de *splicing* do intrão 2, pelo que se prevê que afete o correto *splicing* do exão 2 e que leve a uma alteração na grelha de leitura.

Assim, perante o quadro apresentado pelo paciente e a identificação de uma variante provavelmente patogénica no gene COL6A2, confirmou-se o diagnóstico de Distrofia Muscular Congénita de Ullrich.

Em janeiro de 2022, na consulta de Genética foi realizado aconselhamento genético aos pais do M.F.O.. Como ambos eram portadores da variante provavelmente patogénica, foram informados da possibilidade de realizar um DPN ou DGPI molecular dirigidos.

O paciente, atualmente com 3 anos, frequenta o infantário pela manhã e a mãe é a sua cuidadora. Apresenta uma boa adaptação ao infantário e uma boa evolução psicomotora, no entanto ainda imatura a nível motor e locomotor posterior. Encontra-se em processo de aquisição de marcha independente, deambulando com apoio anterior (andarilho), desde os 19 meses. Ao nível da linguagem demonstra uma boa evolução. No que toca à alimentação, continua abaixo do peso normal (< percentil 5), mas mantém dieta variada. O desenvolvimento estato-ponderal, bem como a evolução do perímetro cefálico, encontram-se representados nas figuras abaixo (Figuras 6 - 9). Teve duas hospitalizações por bronquiolites, uma bacteriana em dezembro de 2019 e uma viral em

maio de 2021. Continua sem envolvimento dos sistemas cardíaco, respiratório e gastrointestinal.

É acompanhado no Hospital Universitário *La Timone*, de Marselha, por uma equipa multidisciplinar, composta por Pediatra, Neuropediatra, Cirurgião Ortopédico e Pediátrico, Especialista em Medicina Física e de Reabilitação, Geneticista, Cardiologista Pediátrico, Pneumologista Pediátrico e Nutricionista. Em Portugal, é visto por um Neuropediatra, no Centro Materno Infantil do Norte.

Além do acompanhamento hospitalar, o paciente tem, por semana, 2 sessões de fisioterapia, que iniciou logo após o nascimento (até setembro de 2020 variavam entre 3 e 4); 1 sessão de terapia ocupacional e 1 de psicomotricidade, que iniciaram em setembro de 2020 (aos 21 meses). Em junho de 2021 deixou as sessões de terapia ocupacional e iniciou balneoterapia (1 vez por semana). Durante a pandemia devido à COVID-19, a mãe do M.F.O. era responsável pela auto-reabilitação em casa. Encontra-se à espera da consulta com a terapeuta da fala, de modo a poder ajudar nos problemas com a alimentação.

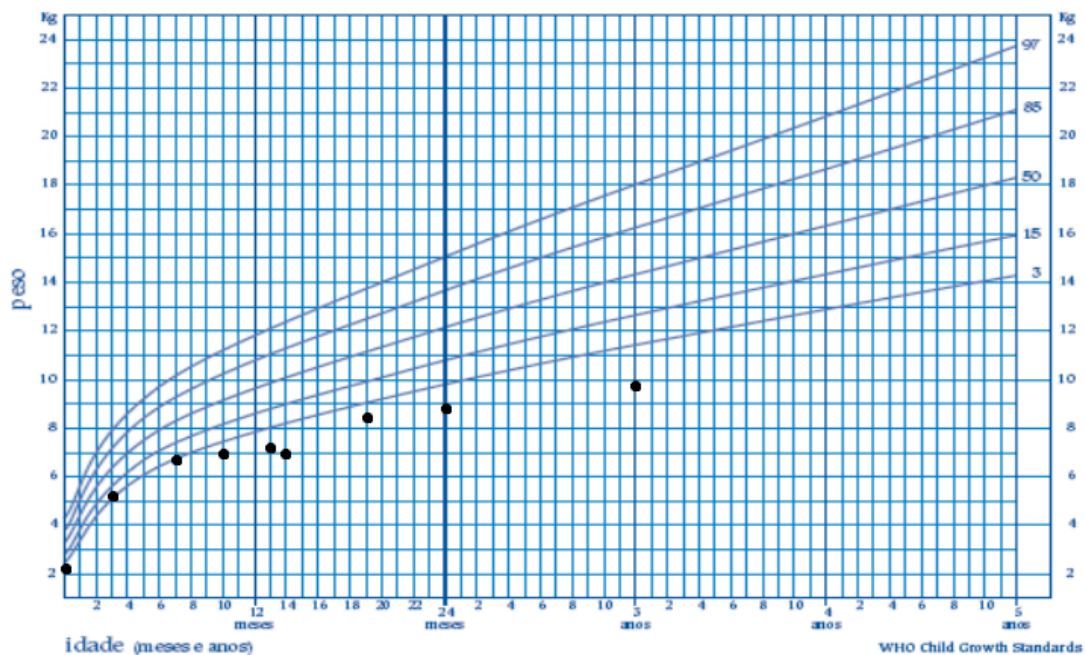


Figura 6 - Evolução do peso de M.F.O. desde o nascimento até aos 3 anos. Imagem editada com marcação dos valores do peso, retirada de modelo do Boletim de Saúde Infantil e Juvenil. (61)

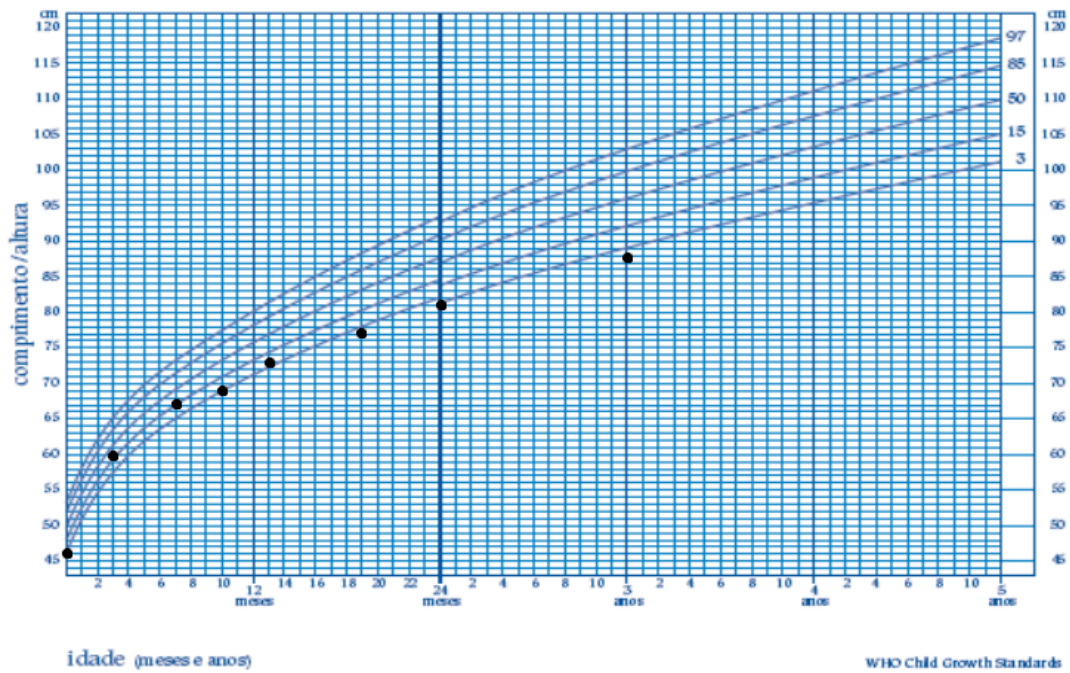


Figura 7 - Evolução da estatura de M.F.O. desde o nascimento até aos 3 anos. Imagem editada com marcação dos valores da estatura, retirada de modelo do Boletim de Saúde Infantil e Juvenil. (61)

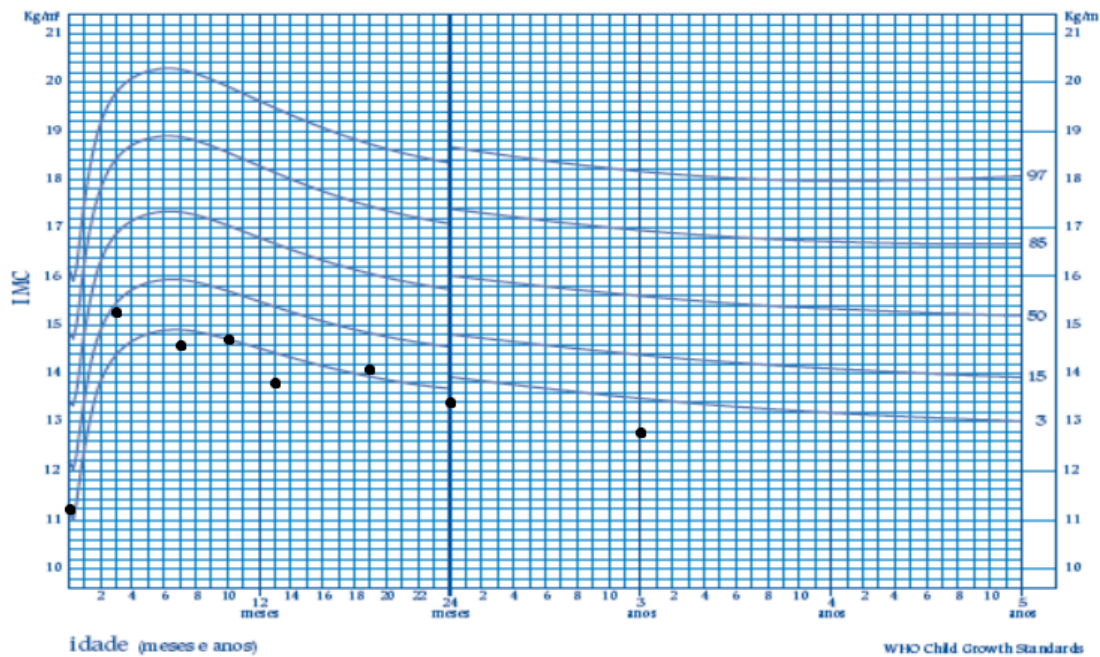


Figura 8 - Evolução dos valores de IMC (Índice de Massa Corporal) de M.F.O. desde o nascimento até aos 3 anos. Imagem editada com marcação dos valores de IMC, retirada de modelo do Boletim de Saúde Infantil e Juvenil. (61)

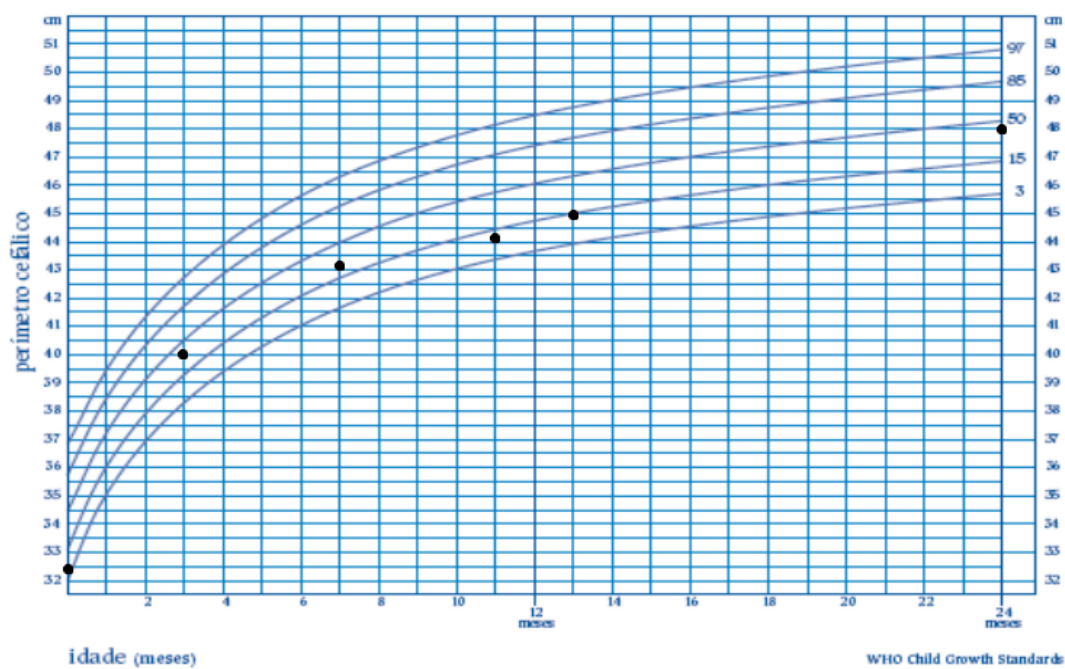


Figura 10 - Evolução dos valores do perímetro cefálico de M.F.O. desde o nascimento até aos 2 anos. Imagem editada com marcação dos valores do perímetro cefálico, retirada de modelo do Boletim de Saúde Infantil e Juvenil. (61)

Figura 11 - Evolução dos valores do perímetro cefálico de M.F.O. desde o nascimento até aos 2 anos. Imagem editada com marcação dos valores do perímetro cefálico, retirada de modelo do Boletim de Saúde Infantil e Juvenil. (61)

6. Conclusão e Perspetivas Futuras

A revisão da literatura realizada na presente dissertação abordou os diversos aspetos das Distrofias associadas ao colagénio VI, o que permitiu compreender a complexidade envolvida na patogenia desta doença, bem como o quão desafiante pode ser o seu diagnóstico e gestão.

As COL6-RDs, um subtipo de distrofia muscular congénita rara, caracterizam-se por fraqueza muscular, contraturas articulares, laxidez articular distal e envolvimento cutâneo. Compreendem um espectro clínico que pode variar entre uma forma mais precoce e grave, a DMCU, formas intermédias e uma forma mais tardia e mais ligeira, a MB (14,29). A deficiência qualitativa ou quantitativa de col VI, crucial para o correto funcionamento da MEC do tecido músculo esquelético e conjuntivo, está na base da patogénese desta patologia. Este défice resulta de uma mutação nos genes do col VI (*COL6A1*, *COL6A2* e *COL6A3*) (15).

No presente caso clínico, o paciente M. F. O. apresenta características clínicas de DMCU similares às reportadas em casos anteriores, como hipotonia congénita, hiperlaxidez articular, torcicolo congénito, hiperqueratose folicular, atitude escoliótica, atraso no desenvolvimento motor e inteligência normal. Não existe evidência de retrações articulares, espinha rígida ou alterações da função respiratória (20). Apesar de estes sintomas estarem ausentes, não constituem um ponto contra o diagnóstico de DMCU, uma vez que ainda se podem vir a desenvolver.

Os níveis de CK encontravam-se dentro da normalidade, assim como reportado noutros casos (20). Apesar de a biópsia muscular com marcação imuno-histoquímica não demonstrar défice de col VI, não constitui um critério de exclusão das COL6-RDs, uma vez que foi realizada num estadio muito precoce da doença.

A realização da RM cranioencefálica permitiu a exclusão, numa fase inicial, de Paralisia Cerebral como causa do quadro. A presença de hipotonia e o atraso no desenvolvimento motor levou à suspeita de AME e de Neuropatias Periféricas Hereditárias, que foram descartadas após não se encontrarem alterações na análise dos genes *SMN1*, *SMN2* e do Painel de genes associado a Marie-Charcot-Tooth (103 genes). Numa fase posterior, ao analisarem o painel de genes associados a Miopatias Retráteis (29 genes) foram encontradas alterações nos genes *COL6A2* e *COL6A3*.

A realização de um exoma em trio identificou a variante (c.114_115+12del), em homozigotia, no gene *COL6A2* (NM_001849.4), que veio confirmar a suspeita de

deficiência de col VI, levantada pela história clínica e pelos achados ao exame físico. Apesar de esta variante não se encontrar documentada em nenhum banco de dados (LOVD, ClinVar), prevê-se que ocorra perda de função do colagénio VI, e consequentemente DMCU.

O tratamento deste grupo de doenças é apenas de suporte, pelo que o diagnóstico precoce é crucial para um correto acompanhamento dos doentes, de modo a serem antecipadas complicações e cuidados necessários e poderem assim viver uma vida com qualidade (10,14)

Neste sentido, o paciente M.F.O. realiza fisioterapia desde o primeiro ano de vida e iniciou terapia ocupacional e psicomotricidade aos 21 meses. Estas sessões têm permitido um bom desenvolvimento motor, apesar de atrasado em comparação com as crianças da mesma faixa etária.

No caso clínico apresentado, verificamos que houve um acompanhamento multidisciplinar precoce, que permitiu a identificação de várias condições relacionadas com a DMCU, como luxação bilateral da anca, torcicolo congénito, estagnação ponderal e atitude escoliótica. Após várias sessões de fisioterapia e do uso da cadeira especial verificou-se uma melhoria do torcicolo e uma correção da atitude escoliótica, com diminuição da sua acentuação. O aconselhamento dietético realizado também permitiu um ligeiro aumento de peso, no entanto aguarda consulta de terapia da fala para ajudar nos problemas de alimentação. Sendo que o paciente está a começar a dar os primeiros passos, pode concluir-se que a displasia não influencia a marcha e que a decisão de não avançar para a cirurgia promoveu o bom desenvolvimento motor. Uma vez que a equipa que segue o paciente M.F.O. é composta por profissionais das especialidades que abrangem as complicações mais comuns da DMCU e que o avaliam regularmente, podemos concluir que está a ser acompanhado por profissionais especializados.

Apesar de ainda não ter 5 anos, já realizou uma consulta com o Pneumologista, que avaliou a função respiratória e que não encontrou nenhuma alteração.

Foi também encontrado outro problema, não específico da DMCU, nomeadamente criptorquidia unilateral direita, cuja correção foi adiada, devido ao baixo peso do paciente. O adiamento da orquidopexia pode estar associada a um maior risco de infertilidade e desenvolvimento de hérnias inguinais ou neoplasia testicular no futuro (62).

A DMCU tem um carácter progressivo (14) e está associada a perda precoce de deambulação e necessidade de VNI por insuficiência respiratória, no início da adolescência (10). Atualmente o paciente M.F.O., com 3 anos, não demonstra evidência de comprometimento respiratório e está em processo de adquirir a marcha independente. No

entanto, não se sabe ao certo como será a sua evolução nos próximos anos. Mesmo dentro do mesmo fenótipo encontra-se uma grande variabilidade fenotípica e de progressão da doença, podendo ser difícil prever a correta evolução da doença. Facto que acentua a importância do acompanhamento adequado destes doentes, de modo a fornecer o máximo de qualidade de vida e antecipar as complicações mais comuns.

O diagnóstico genético é bastante importante neste grupo de doenças, devido à grande variedade genética encontrada, pelo que é necessária uma correta identificação da variante e dos seus efeitos (10). O correto diagnóstico molecular é fundamental para um aconselhamento genético individualizado, uma vez que existe um alto risco de recorrência. De modo a contornar este problema, existe a possibilidade técnica de DPN e de DGPI, no entanto, é necessário esclarecer ao casal os riscos e as taxas de sucesso destas técnicas.

A criação de bases de dados internacionais, de associações que prestam apoio a familiares de doentes deste grupo de patologias, bem como a realização de congressos para médicos e doentes permite uma partilha e atualização constante e em tempo real de informação.

Como as COL6-RDs têm uma baixa prevalência, existem poucos profissionais de saúde com experiência no acompanhamento e gestão de crianças com este diagnóstico. Aliada a este facto, a informação disponível que pode auxiliar na orientação dos profissionais encontra-se fragmentada. Assim, a criação de ferramentas de diagnóstico e de protocolos específicos da gestão da doença irão permitir uma abordagem mais eficiente. Dado o envolvimento multissistémico característico deste subgrupo de patologias, o desenvolvimento destes protocolos deve incluir profissionais de múltiplas áreas.

Nos últimos anos tem se vindo a verificar um grande aumento do número de ensaios clínicos por parte de entidades privadas, bem como um maior investimento na investigação dos mecanismos envolvidas nestas distrofias, no desenvolvimento de alvos das terapias genéticas e de outras modalidades de tratamento. Este crescente interesse e empenho neste tipo de doenças traz esperança para os profissionais de saúde, pacientes e para as suas famílias.

7. Referências Bibliográficas

1. Bonne G, Rivier F, Hamroun D. GeneTable of Neuromuscular Disorders [Internet]. [cited 2021 Dec 15]. Available from: <http://www.musclegentable.fr>
2. Sparks SE, Quijano-Roy S, Harper A, Rutkowski A, Gordon E, Hoffman EP, et al. Congenital Muscular Dystrophy Overview – RETIRED CHAPTER, FOR HISTORICAL REFERENCE ONLY [Internet]. GeneReviews®. 1993. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20301468>
3. Zambon AA, Muntoni F. Congenital muscular dystrophies: What is new? Neuromuscul Disord [Internet]. 2021 Oct;31(10):931–42. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.nmd.2021.07.009>
4. Zanoteli E, Soares PS, Silva AMS da, Camelo CG, Fonseca ATQSM, Albuquerque MAV, et al. Clinical features of collagen VI-related dystrophies: A large Brazilian cohort. Clin Neurol Neurosurg [Internet]. 2020 May;192(September 2019):105734. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0303846720300779>
5. Sframeli M, Sarkozy A, Bertoli M, Astrea G, Hudson J, Scoto M, et al. Congenital muscular dystrophies in the UK population: Clinical and molecular spectrum of a large cohort diagnosed over a 12-year period. Neuromuscul Disord [Internet]. 2017 Sep;27(9):793–803. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.nmd.2017.06.008>
6. Schorling D, Kirschner J, Bönnemann C. Congenital Muscular Dystrophies and Myopathies: An Overview and Update. Neuropediatrics [Internet]. 2017 Aug 2;48(04):247–61. Available from: <http://www.thieme-connect.de/DOI/DOI?10.1055/s-0037-1604154>
7. Falsaperla R, Praticò AD, Ruggieri M, Parano E, Rizzo R, Corsello G, et al. Congenital muscular dystrophy: from muscle to brain. Ital J Pediatr [Internet]. 2016 Dec 31;42(1):78. Available from: <http://dx.doi.org/10.1186/s13052-016-0289-9>
8. Batten F. Three cases of myopathy, infantile type. Brain. 1903;26:147–8.
9. Myoinfo; Urtizbera JA LS. Avancées dans les dystrophies musculaires congénitales. AFM-TELETHON, editor. 2021. 61 p.
10. Foley AR, Mohassel P, Donkervoort S et al. Collagen VI- Related Dystrophies. GeneReviews. 1–33 p.

11. Bardakov SN, Deev R V., Magomedova RM, Umakhanova ZR, Allamand V, Gartioux C, et al. Intrafamilial Phenotypic Variability of Collagen VI-Related Myopathy Due to a New Mutation in the COL6A1 Gene. *J Neuromuscul Dis* [Internet]. 2021 Mar 2;8(2):273–85. Available from: <https://www.medra.org/servlet/aliasResolver?alias=iospress&doi=10.3233/JND-200476>
12. Aguti S, Bolduc V, Ala P, Turmaine M, Bönnemann CG, Muntoni F, et al. Exon-Skipping Oligonucleotides Restore Functional Collagen VI by Correcting a Common COL6A1 Mutation in Ullrich CMD. *Mol Ther - Nucleic Acids* [Internet]. 2020 Sep;21(September):205–16. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2162253120301554>
13. Butterfield RJ. Congenital Muscular Dystrophy and Congenital Myopathy. *Contin Lifelong Learn Neurol* [Internet]. 2019 Dec;25(6):1640–61. Available from: <http://journals.lww.com/10.1212/CON.0000000000000792>
14. Suárez B, Lozano-Arango A, Araneda D, Cortés F, Hervias C, Calcagno G, et al. Miopatías relacionadas a colágeno VI. Cuando sospecharlas, cómo identificarlas. Aporte de la resonancia magnética muscular. *Rev Chil pediatría* [Internet]. 2018;89(ahead):0–0. Available from: http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0370-41062018005000305&lng=en&nrm=iso&tlng=en
15. Lamandé SR, Bateman JF. Collagen VI disorders: Insights on form and function in the extracellular matrix and beyond. *Matrix Biol* [Internet]. 2018 Oct;71–72:348–67. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0945053X1730361X>
16. Mercuri E, Bönnemann CG, Muntoni F. Muscular dystrophies. *Lancet* [Internet]. 2019 Nov;394(10213):2025–38. Available from: [http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736\(19\)32910-1](http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736(19)32910-1)
17. Norwood FLM, Harling C, Chinnery PF, Eagle M, Bushby K, Straub V. Prevalence of genetic muscle disease in Northern England: in-depth analysis of a muscle clinic population. *Brain* [Internet]. 2009 Nov;132(11):3175–86. Available from: <https://academic.oup.com/brain/article-lookup/doi/10.1093/brain/awp236>

18. Villar-Quiles RN, Donkervoort S, de Becdelièvre A, Gartioux C, Jobic V, Foley AR, et al. Clinical and Molecular Spectrum Associated with COL6A3 c.7447A>G p.(Lys2483Glu) Variant: Elucidating its Role in Collagen VI-related Myopathies. *J Neuromuscul Dis* [Internet]. 2021 Jul 30;8(4):633–45. Available from: <https://www.medra.org/servlet/aliasResolver?alias=iospress&doi=10.3233/JND-200577>
19. Pestronk A. Bethlem myopathy [Internet]. Available from: <https://neuromuscular.wustl.edu/musdist/lg.html#beth>
20. Sirisena ND, Samaranayake UMJE, Neto OLA, Foley AR, Pathirana BAPS, Neththikumara N, et al. A novel variant in the COL6A1 gene causing Ullrich congenital muscular dystrophy in a consanguineous family: a case report. *BMC Neurol* [Internet]. 2021 Dec 9;21(1):105. Available from: <https://bmcnurol.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12883-021-02134-7>
21. Pestronk A. Ullrich congenital muscular dystrophy 1 (UCMD1; Scleroatonic) [Internet]. Available from: <https://neuromuscular.wustl.edu/syncm.html#ullrich>
22. Natera-de Benito D, Foley AR, Domínguez-González C, Ortez C, Jain M, Mebrahtu A, et al. Association of Initial Maximal Motor Ability With Long-term Functional Outcome in Patients With COL6-Related Dystrophies. *Neurology* [Internet]. 2021 Mar 9;96(10):e1413–24. Available from: <https://www.neurology.org/lookup/doi/10.1212/WNL.0000000000011499>
23. Mary P, Servais L, Vialle R. Neuromuscular diseases: Diagnosis and management. *Orthop Traumatol Surg Res* [Internet]. 2018 Feb;104(1):S89–95. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.otsr.2017.04.019>
24. Bolduc V, Foley AR, Solomon-Degefa H, Sarathy A, Donkervoort S, Hu Y, et al. A recurrent COL6A1 pseudoexon insertion causes muscular dystrophy and is effectively targeted by splice-correction therapies. *JCI Insight* [Internet]. 2019 Mar 21;4(6):1–19. Available from: <https://insight.jci.org/articles/view/124403>
25. Nihei K, Kamoshita S, Atsumi T. A case of Ullrich's disease. *Brain Dev* [Internet]. 1979 Jan;1(1):61–7. Available from: [http://dx.doi.org/10.1016/S0387-7604\(79\)80036-4](http://dx.doi.org/10.1016/S0387-7604(79)80036-4)
26. Jöbsis GJ, Boers JM, Barth PG, de Visser M. Bethlem myopathy: a slowly progressive congenital muscular dystrophy with contractures. *Brain* [Internet]. 1999 Apr;122(4):649–55. Available from: <https://academic.oup.com/brain/article-lookup/doi/10.1093/brain/122.4.649>

27. Ge L, Zhang C, Wang Z, Chan SHS, Zhu W, Han C, et al. Congenital muscular dystrophies in China. *Clin Genet* [Internet]. 2019 Sep 6;96(3):207–15. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/cge.13560>
28. Graziano A, Bianco F, D'Amico A, Moroni I, Messina S, Bruno C, et al. Prevalence of congenital muscular dystrophy in Italy: A population study. *Neurology* [Internet]. 2015 Mar 3;84(9):904–11. Available from: <https://www.neurology.org/lookup/doi/10.1212/WNL.0000000000001303>
29. Koppolu AA, Madej-Pilarczyk A, Rydzanicz M, Kosińska J, Gasperowicz P, Dorszewska J, et al. A novel de novo COL6A1 mutation emphasizes the role of intron 14 donor splice site defects as a cause of moderate-progressive form of ColVI myopathy – a case report and review of the genotype–phenotype correlation. *Folia Neuropathol* [Internet]. 2017;3(3):214–20. Available from: <https://www.termedia.pl/doi/10.5114/fn.2017.70486>
30. Fan Y, Liu A, Wei C, Yang H, Chang X, Wang S, et al. Genetic and clinical findings in a Chinese cohort of patients with collagen VI-related myopathies. *Clin Genet* [Internet]. 2018 Jun;93(6):1159–71. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/cge.13230>
31. Butterfield RJ, Dunn DM, Hu Y, Johnson K, Bönnemann CG, Weiss RB. Transcriptome profiling identifies regulators of pathogenesis in collagen VI related muscular dystrophy. Ruggiero F, editor. *PLoS One* [Internet]. 2017 Dec 15;12(12):e0189664. Available from: <https://dx.plos.org/10.1371/journal.pone.0189664>
32. Castagnaro S, Gambarotto L, Cescon M, Bonaldo P. Autophagy in the mesh of collagen VI. *Matrix Biol* [Internet]. 2021 Jun;100–101:162–72. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0945053X20301190>
33. Mohassel P, Foley AR, Bönnemann CG. Extracellular matrix-driven congenital muscular dystrophies. *Matrix Biol* [Internet]. 2018 Oct;71–72:188–204. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.matbio.2018.06.005>
34. Fitzgerald J, Rich C, Zhou FH, Hansen U. Three Novel Collagen VI Chains, $\alpha 4(VI)$, $\alpha 5(VI)$, and $\alpha 6(VI)$. *J Biol Chem* [Internet]. 2008 Jul;283(29):20170–80. Available from: <http://dx.doi.org/10.1074/jbc.M710139200>
35. Gara SK, Grumati P, Urciuolo A, Bonaldo P, Kobbe B, Koch M, et al. Three Novel Collagen VI Chains with High Homology to the $\alpha 3$ Chain. *J Biol Chem* [Internet]. 2008 Apr;283(16):10658–70. Available from: <http://dx.doi.org/10.1074/jbc.M709540200>

36. Guadagnin E, Mohassel P, Johnson KR, Yang L, Santi M, Uapinyoying P, et al. Transcriptome analysis of collagen VI-related muscular dystrophy muscle biopsies. *Ann Clin Transl Neurol* [Internet]. 2021 Nov 2;8(11):2184–98. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/acn3.51450>
37. Solomon-Degefa H, Gebauer JM, Jeffries CM, Freiburg CD, Meckelburg P, Bird LE, et al. Structure of a collagen VI $\alpha 3$ chain VWA domain array: adaptability and functional implications of myopathy causing mutations. *J Biol Chem* [Internet]. 2020 Sep;295(36):12755–71. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0021925817499893>
38. Allamand V, Briñas L, Richard P, Stojkovic T, Quijano-Roy S, Bonne G. ColVI myopathies: where do we stand, where do we go? *Skelet Muscle* [Internet]. 2011;1(1):30. Available from: <http://www.skeletalmusclejournal.com/content/1/1/30>
39. Punetha J, Kesari A, Hoffman EP, Gos M, Kamińska A, Kostera-Pruszczyk A, et al. Novel Col12A1 variant expands the clinical picture of congenital myopathies with extracellular matrix defects. *Muscle Nerve* [Internet]. 2017 Feb;55(2):277–81. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/mus.25232>
40. Simsek-Kiper PO, Oguz S, Ergen FB, Utine GE, Alikasifoglu M, Haliloglu G. A Revisited Diagnosis of Collagen VI Related Muscular Dystrophy in a Patient with a Novel COL6A2 Variant and 21q22.3 Deletion. *Neuropediatrics* [Internet]. 2020 Dec 14;51(06):445–9. Available from: <http://www.thieme-connect.de/DOI/DOI?10.1055/s-0040-1714125>
41. Scotton C, Bovolenta M, Schwartz E, Falzarano MS, Martoni E, Passarelli C, et al. Deep RNA profiling identified clock and molecular clock genes as pathophysiological signatures in collagen VI myopathy. *J Cell Sci* [Internet]. 2016 Jan 1;129(8):1671–84. Available from: <http://www.embase.com/search/results?subaction=viewrecord&from=export&id=L610276112%0Ahttp://dx.doi.org/10.1242/jcs.175927>
42. Rodríguez MA, Del Rio Barquero LM, Ortez CI, Jou C, Vigo M, Medina J, et al. Differences in Adipose Tissue and Lean Mass Distribution in Patients with Collagen VI Related Myopathies Are Associated with Disease Severity and Physical Ability. *Front Aging Neurosci* [Internet]. 2017 Aug 8;9(AUG):1–11. Available from: <http://journal.frontiersin.org/article/10.3389/fnagi.2017.00268/full>

43. Kim SY, Kim WJ, Kim H, Choi SA, Lee JS, Cho A, et al. Collagen VI-related myopathy: Expanding the clinical and genetic spectrum. *Muscle Nerve* [Internet]. 2018 Sep;58(3):381–8. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/mus.26093>
44. Warman Chardon J, Díaz-Manera J, Tasca G, Bönnemann CG, Gómez-Andrés D, Heerschap A, et al. MYO-MRI diagnostic protocols in genetic myopathies. *Neuromuscul Disord* [Internet]. 2019 Nov;29(11):827–41. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0960896619311022>
45. Fu J, Zheng Y-M, Jin S-Q, Yi J-F, Liu X-J, Lyn H, et al. “Target” and “Sandwich” Signs in Thigh Muscles have High Diagnostic Values for Collagen VI-related Myopathies. *Chin Med J (Engl)* [Internet]. 2016 Aug 5;129(15):1811–6. Available from: <https://journals.lww.com/00029330-201608050-00009>
46. Saade DN, Neuhaus SB, Foley AR, Bönnemann CG. The Use of Muscle Ultrasound in the Diagnosis and Differential Diagnosis of Congenital Disorders of Muscle in the Age of Next Generation Genetics. *Semin Pediatr Neurol* [Internet]. 2019 Apr;29:44–54. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.spen.2019.01.001>
47. Trucco F, Pedemonte M, Fiorillo C, Tan H, Carlucci A, Brisca G, et al. Detection of early nocturnal hypoventilation in neuromuscular disorders. *J Int Med Res* [Internet]. 2018 Mar 6;46(3):1153–61. Available from: <http://journals.sagepub.com/doi/10.1177/0300060517728857>
48. Jain MS, Meilleur K, Kim E, Norato G, Waite M, Nelson L, et al. Longitudinal changes in clinical outcome measures in COL6-related dystrophies and LAMA2-related dystrophies. *Neurology* [Internet]. 2019 Nov 19;93(21):e1932–43. Available from: <https://www.neurology.org/lookup/doi/10.1212/WNL.0000000000008517>
49. Antoniel M, Traina F, Merlini L, Andrenacci D, Tigani D, Santi S, et al. Tendon Extracellular Matrix Remodeling and Defective Cell Polarization in the Presence of Collagen VI Mutations. *Cells* [Internet]. 2020 Feb 11;9(2):409. Available from: <https://www.mdpi.com/2073-4409/9/2/409>
50. de Lattre C, Payan C, Vuillerot C, Rippert P, de Castro D, Bérard C, et al. Motor Function Measure: Validation of a Short Form for Young Children With Neuromuscular Diseases. *Arch Phys Med Rehabil* [Internet]. 2013 Nov;94(11):2218–26. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S000399931300289X>

51. Cornwall KM, Butterfield RJ, Hernandez A, Heatwole C, Johnson NE. A Qualitative Approach to Health Related Quality-of-Life in Congenital Muscular Dystrophy. *J Neuromuscul Dis* [Internet]. 2018 May 29;5(2):251–5. Available from: <https://www.medra.org/servlet/aliasResolver?alias=iospress&doi=10.3233/JND-170252>
52. Fu X-N, Xiong H. Genetic and Clinical Advances of Congenital Muscular Dystrophy. *Chin Med J (Engl)* [Internet]. 2017 Nov 5;130(21):2624–31. Available from: <https://journals.lww.com/00029330-201711050-00018>
53. Castagnaro S, Pellegrini C, Pellegrini M, Chrisam M, Sabatelli P, Toni S, et al. Autophagy activation in COL6 myopathic patients by a low-protein-diet pilot trial. *Autophagy* [Internet]. 2016 Dec 1;12(12):2484–95. Available from: <http://dx.doi.org/10.1080/15548627.2016.1231279>
54. Metti S, Gambarotto L, Chrisam M, Spina M La, Baraldo M, Braghetta P, et al. The Polyphenol Pterostilbene Ameliorates the Myopathic Phenotype of Collagen VI Deficient Mice via Autophagy Induction. *Front Cell Dev Biol* [Internet]. 2020 Sep 29;8(September):1–12. Available from: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fcell.2020.580933/full>
55. Pharmaceuticals S. Communiqué de presse du 5 avril 2018.
56. Marrosu E, Ala P, Muntoni F, Zhou H. Gapmer Antisense Oligonucleotides Suppress the Mutant Allele of COL6A3 and Restore Functional Protein in Ullrich Muscular Dystrophy. *Mol Ther - Nucleic Acids* [Internet]. 2017 Sep;8(September):416–27. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.omtn.2017.07.006>
57. Sarathy A, Bolduc V, Bönnemann C. CONGENITAL MUSCULAR DYSTROPHIES. *Neuromuscul Disord* [Internet]. 2020 Oct;30:S104–5. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0960896620303965>
58. Takenaka-Ninagawa N, Kim J, Zhao M, Sato M, Jonouchi T, Goto M, et al. Collagen-VI supplementation by cell transplantation improves muscle regeneration in Ullrich congenital muscular dystrophy model mice. *Stem Cell Res Ther* [Internet]. 2021 Dec 9;12(1):446. Available from: <https://stemcellres.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13287-021-02514-3>

59. Alexeev V, Olavarria J, Bonaldo P, Merlini L, Igoucheva O. Congenital muscular dystrophy-associated inflammatory chemokines provide axes for effective recruitment of therapeutic adult stem cell into muscles. *Stem Cell Res Ther* [Internet]. 2020 Dec 2;11(1):463. Available from: <https://stemcellres.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13287-020-01979-y>
60. Iyer AA, Saade D, Bharucha-Goebel D, Foley AR, Averion G 'Mike,' Paredes E, et al. Ethical challenges for a new generation of early-phase pediatric gene therapy trials. *Genet Med* [Internet]. 2021 Nov;23(11):2057–66. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/s41436-021-01245-3>
61. Direção-Geral da Saúde. Programa Nacional de Saúde Infantil e Juvenil. 2013 Mar;
62. Oliveira G, Saraiva J. Lições de Pediatria Vol. I e II [Internet]. Vol. I. Imprensa da Universidade de Coimbra; 2017. Available from: <https://ucdigitalis.uc.pt/pombalina/item/56848>

Apêndices

Apêndice 1 – Formulário de Consentimento Informado

DECLARAÇÃO DE CONSENTIMENTO INFORMADO

Eu _____ declaro ter sido esclarecida sobre o estudo de caso em que o meu filho menor vai participar, no âmbito da Tese de Mestrado da aluna Luciana Carvalho Oliveira, estudante de Medicina na instituição Universidade da Beira Interior, sob a orientação do Professor Doutor Francisco José Alvarez Perez. Estou ciente de que o objetivo deste estudo é meramente académico e que tenho direito a não participar sem que isto represente qualquer tipo de prejuízo.

Foram garantidas a privacidade e a confidencialidade dos dados clínicos e exames complementares fornecidos e preservação do anonimato.

Pelo presente, manifesto expressamente a minha concordância e o meu consentimento livre e esclarecido para participar no estudo de caso acima descrito.

Assinatura: _____

Responsáveis pelo estudo:

(orientador)

(aluno)

Covilhã, julho de 2021

