



UNIVERSIDADE DA BEIRA INTERIOR  
Ciências da Saúde

# Distrofia Muscular de Duchenne Perspetivas de tratamento

David Manuel Torres Marcos

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

Orientador: Prof. Doutor Francisco José Álvarez Pérez

Covilhã, maio de 2015



# Dedicatória

Este trabalho é dedicado a todos os que viveram comigo estes 6 anos, que de alguma forma me apoiaram e deram força para continuar seguindo em frente.

*“To laugh often and much; To win the respect of intelligent people and the affection of children; To earn the appreciation of honest critics and endure the betrayal of false friends; To appreciate beauty, to find the best in others; To leave the world a bit better, whether by a healthy child, a garden patch, or a redeemed social condition; To know even one life has breathed easier because you have lived. This is to have succeeded.” -  
Ralph Waldo Emerson*



# Agradecimentos

Um agradecimento ao Professor Doutor Francisco Alvarez por toda a sua ajuda e dedicação ao longo deste projeto.

Um agradecimento especial à minha família por me ter acompanhado em todos os momentos.

À Raquel por todo o apoio que me deu.

# Resumo

A distrofia muscular de Duchenne é uma doença genética recessiva ligada ao cromossoma X. Esta é a forma mais comum de distrofia muscular em crianças, afetando 1 em cada 3500 recém-nascidos do sexo masculino (1). Juntamente com a forma menos agressiva de distrofia muscular (distrofia de Becker), estas constituem o segundo grupo de doenças hereditárias mais comuns em humanos (2). Geneticamente é um defeito na codificação de uma proteína do músculo esquelético: a distrofina. O gene que a codifica é o maior no genoma humano (3). Este facto permite que ocorram mais facilmente tanto mutações novas como erros de síntese da proteína nalguma etapa. Clinicamente apresenta-se sobretudo por um enfraquecimento progressivo dos músculos levando a anormalidades da marcha e quedas frequentes entre os 3 e os 5 anos. Ocorre também uma cifoscoliose que vai avançando em termos de gravidade. Mais ainda, os indivíduos afetados costumam deixar de andar pelos 12 anos e têm falência respiratória na segunda ou terceira décadas de vida (4).

Desde que a doença foi pela primeira vez descrita em 1868 por Guillaume Duchenne (5) que se têm estudado várias estratégias para mitigar os efeitos ou mesmo tentar curar o problema na sua génese. Contudo ainda não se conseguiu encontrar uma terapia completamente eficaz e curativa no combate desta doença. Estão em curso vários ensaios clínicos para o efeito. Os objetivos deste trabalho serão então analisar de uma forma breve a distrofia de Duchenne abordando-a sob o ponto de vista da etiologia, fisiopatologia, genética, manifestações clínicas e diagnóstico bem como rever as estratégias terapêuticas atualmente existentes e em estudo, dando uma perspetiva de futuro.

A pesquisa bibliográfica obteve-se a partir das bases de dados PubMed e Medscape, e foram ainda consultados alguns livros de referência sobre o assunto em apreço. A pesquisa foi realizada em Inglês.

Depois de uma investigação alargada, foi possível concluir que ainda não existe uma terapêutica completamente acessível e eficaz para esta doença. Até hoje apenas uma classe de fármacos conseguiu resultados no atraso da progressão da doença, aumentando a força e função dos músculos esqueléticos: os glicocorticóides (6).

O futuro é muito promissor no campo da genética, principalmente com o *skipping* de exões, ao ser possível que o paciente expresse distrofina parcialmente funcional que reduzirá o impacto da doença.

# Palavras-chave

Distrofia de Duchenne, associada a: etiologia, genética, fisiopatologia, tratamento.



# Abstract

The Duchenne muscular dystrophy is a genetic X-linked recessive disease. This is the most common form of muscular dystrophy in children, affecting 1 in 3500 newborn males (1). Together with the less aggressive form of muscular dystrophy (Becker's dystrophy), these are the second most common hereditary disorders in humans (2). Genetically it is a defect in a skeletal muscle protein encoding: dystrophin. The gene encoding it is the largest in the human genome (3). This fact allows it to occur both new mutations as well as errors in the protein synthesis at some level. Clinically it mainly presents as a progressive weakening of the muscles leading to gait abnormalities and frequent falls between the ages of 5 and 7 years. Moreover, affected individuals often stop walking at the age of 12 years and have respiratory failure in the second or third decade of life (4).

Since the disease was first described in 1868 by Guillaume Duchenne (5), it has been studied many strategies to mitigate the effects or even try to cure the problem in its genesis. But still one could not find a completely effective and curative therapy to fight this disease. There are several ongoing clinical trials for this purpose. The objectives of this study will then be to briefly examine the Duchenne's dystrophy, approaching it in terms of etiology, pathophysiology, genetics, clinical features and diagnosis as well as review the therapeutic strategies that currently exist, giving a perspective of the future.

The literature research was obtained from PubMed and Medscape databases and were also consulted some reference books on the subject at hand. The research was conducted in English.

After an extensive investigation, it was possible to conclude that there is still no fully accessible effective therapy for this disease. Until now only one class of drugs could result in the delay of progression of the disease, increasing the strength and function of skeletal muscle: glucocorticoids (6).

The future is very promising in the field of genetics, especially with exon skipping, that makes possible for the patient to express partially functional dystrophin which will reduce the impact of the disease.

# Keywords

Duchenne's Dystrophy associated to: etiology, genetics, pathophysiology, treatment.



# Índice

Lista de figuras .....	xiv
Lista de tabelas .....	xvi
Lista de acrónimos .....	xviii
1. Introdução .....	1
2. Metodologia .....	2
3. Distrofia Muscular de Duchenne .....	3
3.1 Contextualização histórica .....	3
3.2 Epidemiologia .....	3
3.3 Fisiopatologia .....	4
3.4 Pressupostos genéticos .....	6
3.5 Manifestações clínicas .....	7
3.6 Diagnóstico .....	10
4. Tratamento .....	11
4.1 Tratamento sintomático .....	11
4.1.1 Tratamento médico .....	11
4.1.2 Tratamento cirúrgico .....	19
4.2 Tratamentos em investigação .....	21
4.2.1 Terapia genética .....	21
4.2.2 Terapia celular .....	24
4.2.3 Outros agentes terapêuticos .....	27
5. Conclusões e perspetivas futuras .....	32
6. Bibliografia .....	34



# Lista de figuras

Figura 1 - A distrofina inserida no complexo proteico associado a ela, ligando o citoesqueleto interno à matriz extracelular	5
Figura 2 - Resumo das estratégias terapêuticas atualmente em investigação de acordo com os locais onde cada uma atua	31



# Lista de tabelas

Tabela 1 - Os vários tratamentos em investigação e o tipo de estudos efetuados	30
--------------------------------------------------------------------------------	----



## Lista de acrónimos

2´OMeP	<i>2´-O-methyl-phosphorothioate</i>
ADN	Ácido desoxirribonucleico
AON	<i>Antisense oligonucleotide</i>
CK	<i>Creatine kinase</i>
CPAD	Complexo proteico associado à distrofina
CVF	Capacidade vital forçada
Cxmd	<i>Canine X-linked muscular dystrophy</i>
DMD	Distrofia Muscular de Duchenne
FACS	<i>Fluorescent activated cell sorting</i>
IGF-1	<i>insulin-like growth factor 1</i>
IECA	Inibidores da enzima de conversão da angiotensina
kD	<i>kiloDalton</i>
mRNA	<i>messenger ribonucleic-acid</i>
nNOS	<i>neuronal nitric oxide synthase</i>
PCR	<i>Polymerase Chain Reaction</i>
PMO	<i>phosphorodiamidate morpholino oligomer</i>
TGF- $\beta$	<i>Transforming Growth Factor-<math>\beta</math></i>
TNF- $\alpha$	<i>Tumour Necrosis Factor-<math>\alpha</math></i>
VAA	Vírus adeno-associados
VNPP	Ventiladores não invasivos de pressão positiva



# 1. Introdução

As distrofias musculares são um grupo de doenças não inflamatórias e progressivas que resultam em degeneração definitiva das fibras musculares mas sem alterações a nível morfológico (7).

A distrofia muscular de Duchenne tem uma taxa de prevalência estimada de 1 em cada 5000 rapazes recém-nascidos vivos e é a forma mais comum de distrofia muscular em crianças (1,6).

A doença é causada por mutações no maior gene do corpo humano, o qual codifica uma proteína: a distrofina. Esta proteína está ausente em quase todos os pacientes com a doença. A sua ausência é importante pois ela desempenha uma função estrutural no músculo ao ligar o citoesqueleto interno com a matriz extracelular. A distrofina está ligada ao CPAD (complexo de proteínas associado à distrofina), o qual, ao desestabilizar-se, vai levar a degeneração progressiva das fibras musculares.(3)

Clinicamente estes doentes irão ter uma fraqueza muscular proximal, primeiro nos membros inferiores e seguidamente nos superiores. Isto leva a anormalidades da marcha, tipicamente apresentando-se entre os 3 e os 5 anos com quedas frequentes, e ultimamente ao uso de cadeira de rodas aos 12 anos. A morte acontece devido a complicações cardiorrespiratórias na adolescência tardia ou no início da terceira década de vida, sendo que não mais do que 20 a 25 % sobrevive para lá dos 25 anos de idade (1,8).

Esta doença foi alvo de várias investigações desde a sua descoberta por Guillaume Duchenne. No entanto, até hoje ainda não existe um tratamento verdadeiramente eficaz que cure a doença, embora existam já alguns trabalhos promissores no campo da genética. Em contrapartida desenvolveram-se estratégias de suporte e tratamentos sintomáticos que em muito têm ajudado estes doentes a suportar o terrível fardo que esta doença é. A única classe de fármacos que demonstrou melhorar a força e função do músculo esquelético até agora foram os corticoesteróides (6).

Os objetivos deste trabalho são realizar uma revisão da distrofia muscular de Duchenne, abordando a sua etiologia, fisiopatologia, genética, manifestações clínicas, e diagnóstico bem como perceber quais as estratégias terapêuticas já estudadas e em curso, acompanhando também os ensaios clínicos mais recentes sobre os avanços no tratamento desta doença.

## 2. Metodologia

A metodologia usada neste trabalho foi a pesquisa bibliográfica de informação dos últimos 25 anos nas bases de dados PubMed e Medscape. Foram também consultados alguns livros de referência sobre o assunto em apreço. Os artigos obtidos foram lidos na íntegra e selecionados segundo a relevância apresentada.

A pesquisa foi realizada em Inglês com estas palavras-chave: "*Duchenne's dystrophy*" associada a "*etiology*", "*epidemiology*", "*genetics*", "*pathophysiology*" e "*treatment*". Foi também realizado um acompanhamento dos ensaios clínicos mais recentes relativos à distrofia muscular de Duchenne no portal do "*clinical trials*".

## 3. Distrofia Muscular de Duchenne

### 3.1 Contextualização histórica

O primeiro relato de distrofia muscular foi relatado por Conte e Gioja em 1836, altura em que descreveram dois irmãos com fraqueza progressiva que começou aos 10 anos de idade. Mais tarde eles desenvolveram fraqueza generalizada e hipertrofia de vários grupos musculares, características associadas à forma mais leve: distrofia muscular de Becker (7).

Em 1868, Guillaume Duchenne, um médico neurologista francês, fez uma descrição de 13 pacientes com a doença, a que deu o nome de "*paralysie musculaire pseudo-hypertrophique*". Este médico foi importante pois ajudou à compreensão de doenças musculares, tendo sido atribuído o seu nome a uma das formas mais graves: a distrofia muscular de Duchenne (7).

O avanço das técnicas de biologia molecular deu-nos a base genética subjacente a toda a doença: defeitos na codificação genética da distrofina, uma proteína do músculo esquelético. Esta foi identificada em 1987 (9).

### 3.2 Epidemiologia

As distrofias musculares têm uma prevalência entre 19,8 e 25,1 em cada 100000 pessoas/ano (10).

A distrofia muscular de Duchenne é a forma mais frequente de distrofia muscular em crianças (1).

Segundo uma meta-análise global recente a prevalência agrupada encontrada desta doença foi de 4,78 em 100000 pessoas (11) enquanto outra revisão sistemática encontrou uma taxa de entre 1,7 e 4,2 por cada 100000 pessoas. É de notar que a prevalência poderá não representar totalmente a realidade da doença pois muitas vezes as pessoas afetadas morrem ainda antes dos 20 anos (10).

Na meta-análise referida encontrou-se uma incidência entre 10,71 e 27,78 por 100000 (11).

Embora esta doença seja transmitida muitas vezes familiarmente como um traço autossómico recessivo ligado ao X, aproximadamente 30% dos doentes não têm história familiar da DMD e representam mutações espontâneas ocorrendo tanto na criança como no óvulo da mãe (8,12). Excepcionalmente, uma distrofia muscular proximal severa afeta raparigas novas, como por exemplo no Síndrome de Turner em que a rapariga pode ter só um cromossoma X e é esse que transporta o gene de Duchenne (8).

Apesar dos avanços a nível da terapia sintomática e de suporte, ainda não existe cura estabelecida para a doença, e a maioria dos doentes morre até aos 30 anos, sendo que não mais do que 20 a 25% vive para lá dos 25 anos. A morte sobrevém habitualmente como resultado de infeções pulmonares e falência respiratória, embora ocasionalmente também possa ser causada por descompensação cardíaca (7,8).

### 3.3 Fisiopatologia

A DMD resulta de mutações no gene da distrofina, proteína que é importante na integridade muscular (13). Ela existe no músculo esquelético, liso, cardíaco e também no cérebro (8).

A distrofina tem 3685 amino ácidos e um peso molecular de 427 kD, sendo um componente subsarcolemal do citosqueleto (13). É composta por um domínio N-terminal, 24 unidades de repetição semelhantes à espectrina intercaladas por 4 regiões de junção, seguidas por um domínio rico em cisteína e um domínio C-terminal (1).

O que motiva a patologia principalmente são distúrbios que envolvem as proteínas estruturais do músculo. A actina e a miosina (proteínas contrácteis) estão conectadas à parte externa da célula por um complexo molecular que se conecta por sua vez à lâmina basal. O primeiro passo nesta ligação é precisamente a distrofina, que se encontra na parte citoplasmática da membrana muscular (12). Ela liga então o citoesqueleto interno à matriz extracelular (3).

A parte N-terminal da distrofina liga-se a filamentos de F-actina e a região C-terminal interage com vários elementos integrais da membrana como distroglicanos, sintrofina e distrobrevina, em conjunto formando o complexo proteico associado à distrofina (CPAD). A função deste é providenciar uma via de sinalização entre a matriz extracelular e o citoesqueleto interno de actina (13).

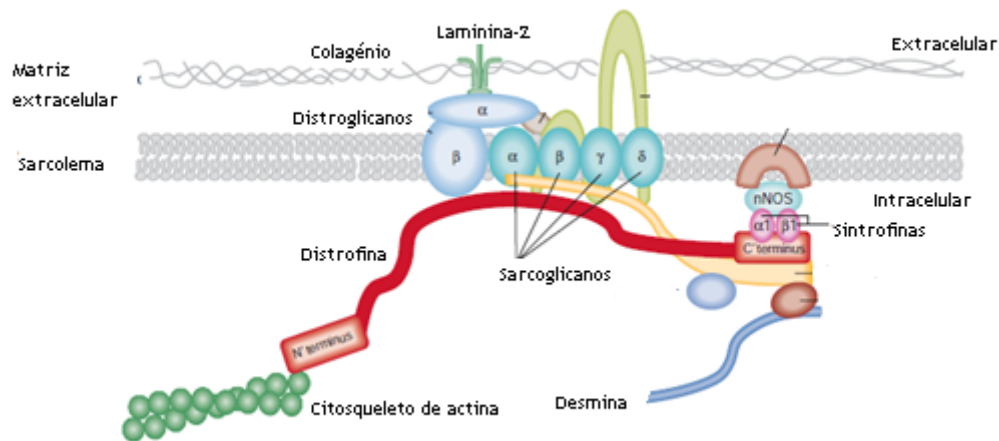


Figura 2 - A distrofina inserida no complexo proteico associado a ela, ligando o citoesqueleto interno à matriz extracelular. nNOS, neuronal nitric oxide synthase. Adaptado da referência (3).

Ao haver ausência da expressão correta da distrofina, o CPAD vai ficar afetado, havendo um distúrbio na ponte molecular. Desde logo teremos algumas consequências: a membrana celular ficará sujeita a danos mecânicos aquando da contração muscular; as proteínas membranares como os canais iónicos sensíveis a movimento estarão desreguladas, o que vai permitir haver por exemplo níveis intracelulares de cálcio elevados (13). O cálcio, a nível intracelular levará a ativação de proteases como as calpains, o que contribui para a degeneração de fibras musculares (1).

A ausência da sintase do óxido nítrico (membro do CPAD) poderá contribuir para as lesões, mas não diretamente causando as características distróficas (1). Verifica-se que, em músculos sem distrofina, os níveis da sintase estão reduzidos em 20% em comparação com músculo normal. O óxido nítrico é um reagente rápido com outros radicais livres, e perturbações neste podem causar alterações no ambiente redox no músculo (14).

Outro mecanismo envolvido nesta doença é a disrupção da produção normal de radicais livres. Sugere-se que três vias estão afetadas na DMD: diferenças constitucionais na produção de radicais livres podem desestabilizar os processos de sinalização no músculo e noutros tecidos; as respostas teciduais à presença de doença podem provocar uma mudança que promova o dano e disfunção celular; e pensa-se ainda que diferenças comportamentais nos indivíduos afetados podem provocar mudanças no equilíbrio da produção de radicais livres (14).

A apoiar o facto do stress oxidativo promover a fisiopatologia da doença está o facto de terem sido encontrados nos pacientes com DMD níveis elevados de produtos dos radicais livres como as substâncias reativas com o ácido tiobarbitúrico e o pentano. Também foram igualmente encontradas a vitamina E e a coenzima Q em concentrações altas nestes pacientes. Conclui-se assim que o sarcolema do músculo afetado está sujeito a oxidação elevada (14).

A inflamação muscular dá outra fonte de radicais livres na doença. Os macrófagos do músculo distrófico são altamente citolíticos quando presentes nestas fibras musculares (14).

Todas estas alterações refletir-se-ão no seguinte: numa fase mais precoce da doença haverá degeneração segmentar e fagocitose de fibras únicas ou mesmo grupos de fibras musculares, com evidência de atividade regenerativa. Esta é iniciada pelo começo de necrose. Entram em ação os macrófagos que removem o sarcoplasma e sarcolema necróticos. As principais alterações histológicas serão: perda de fibras musculares e existência de fibras musculares residuais dos mais variados tamanhos. Ocorre ainda um aumento nos lipócitos e na fibrose. Presencia-se uma pseudo-hipertrofia muscular devido precisamente à substituição das zonas degeneradas por tecido adiposo. Este tecido acabará por predominar à medida que mais e mais fibras degenerem e desapareçam (8).

### 3.4 Pressupostos genéticos

O gene da distrofina é o maior identificado até agora no genoma humano. Apresenta 2,4 milhões de pares de bases de ADN e 79 exões na sua constituição (13).

O gene localiza-se no braço curto do cromossoma X, mais precisamente no locus Xp21.2 (12,15).

Em cerca de um terço dos casos a mutação que causa a doença aparece espontaneamente sendo que os restantes casos são herdados de forma recessiva ligada ao X. Em 60 a 70% dos casos as deleções de exões únicos ou múltiplos são responsáveis pela doença. No restante a causa prende-se com erros pontuais que resultam de padrões de mutação "nonsense" ou "frame-shift" (30 %), ou então simplesmente duplicações (6 %) (13). As mutações missense são muito raras (1).

Até agora mais de 4700 diferentes mutações foram identificadas (16).

As mutações podem ocorrer em quase toda a extensão do gene mas foram identificadas duas regiões onde é mais provável isso acontecer: do exão 43 ao 52, particularmente entre os exões 44 e 49; e entre os exões 2 e 19 (12,17). As deleções mais comuns são do exão 45 e do grupo de exões 45 a 47 (1).

As deleções que começam e acabam com exões que codificam códons completos não perturbam o padrão de leitura da transcrição, dando origem a formas de distrofina incompletas, que são parcialmente funcionais. Esta será a distrofia muscular de Becker, uma doença menos severa. Pelo contrário, as deleções que se originem ou terminem com um exão

que tem um codão apenas parcial levarão a que haja uma transcrição incorreta a partir dessa deleção, o que faz com que o processo termine ali, dando origem a uma proteína disfuncional. Este é o caso da DMD (17).

### 3.5 Manifestações clínicas

A DMD está normalmente presente à nascença mas o bebé é aparentemente normal (12). Ocorrem três momentos importantes nesta doença: quando começam a andar, quando perdem essa capacidade e quando finalmente morrem devido a complicações cardiopulmonares (7).

#### Início da marcha e primeiros anos

A doença torna-se visível normalmente entre os 3 e os 5 anos de idade. Por esta altura começa a haver quedas frequentes e os doentes executam uma ação característica denominada de manobra de Gowers: resulta principalmente da fraqueza nos músculos da anca proximais; ao levantar-se do chão, a criança usa primeiro os cotovelos e joelhos; de seguida estes são estendidos e as mãos e pés juntam-se para mover o centro de gravidade para as pernas; a partir daqui poderá ser apoiada uma mão de cada vez pelas pernas como se a criança se “escalasse” a si própria. Esta manobra não é contudo patognomónica, podendo aparecer noutras distrofinopatias ou doenças que afetem músculos proximais (4,7,12).

Outras apresentações típicas são a marcha predominante com as pontas dos pés, cambaleante e de base alargada, bem como dificuldades em correr e a impossibilidade de saltar corretamente do chão com os dois pés. Os pacientes apresentam ainda hiperlordose da coluna lombar. A coluna sofre hiperlordose devido a fraqueza dos extensores da anca que provoca um balanço para a frente da pélvis. Para se estabilizar, a criança usa ainda outra estratégia: caminha nas pontas dos pés porque é mais fácil manter-se vertical com a posição equina do pé. Todas estas são alterações precoces (7,8,12).

Por volta dos 5 a 6 anos, os músculos da parte posterior da perna estão firmes e com textura elástica, representando uma pseudo-hipertrofia. O alargamento destes e de outros músculos é progressivo até certo ponto mas a maior parte irá diminuir de novo o seu tamanho. Uma exceção é o gastrocnémio e, a uma menor dimensão, o vasto lateral e o deltóide, que são consistentemente grandes. Os músculos pseudo hipertrofiados são em regra hipotónicos (8,12).

Aos 6 anos são evidentes contracturas das bandas iliotibiais e do tendão de Aquiles (7).

Outros achados que se podem observar incluem a ausência dos reflexos tendinosos profundos nas extremidades superiores e rótula, dor na região posterior da perna despoletada por atividade (menos de 30 % dos pacientes) e macroglossia (30%) (7). Os reflexos aquilianos são os últimos a desaparecer (8).

## **Perda da marcha**

Aos 8 a 10 anos de idade, a criança já não consegue subir escadas ou levantar-se do chão. O próprio andar pode requerer o uso de canadianas. As contraturas articulares e as demais limitações existentes na flexão da anca, extensão dos joelhos, cotovelos e pulsos são agravadas nesta fase pois os pacientes passam muito tempo sentados (4).

Pelos 12 anos de idade, a maior parte dos pacientes depende de uma cadeira de rodas, o que vai agravar ainda mais as contraturas. Pode-se desenvolver uma escoliose progressiva que em último caso compromete mesmo a função respiratória, que já se encontra diminuída pela fraqueza muscular. A criança tem dores nas costas e nos membros.

A escoliose é o problema ortopédico mais comum encontrado na DMD, especialmente quando a criança perde a capacidade de andar. Esta curvatura anormal da coluna exacerba a fraqueza diafragmática, reduzindo a capacidade vital e provocando uma tosse ineficaz que leva a atelectasia e pneumonia no contexto de doença pulmonar obstrutiva (18).

Como se disse a função respiratória é afetada particularmente a partir desta fase. A insuficiência crónica respiratória é devido a doença pulmonar de padrão restritivo (1).

Até um terço dos pacientes tem perturbações de noite devido a apneia obstrutiva do sono, na sua primeira década de vida (1).

Quando já não andam, as crianças afetadas por DMD têm mais propensão a terem refluxo gastroesofágico e esofagite devido ao envolvimento da musculatura faríngea, do que pessoas da mesma idade saudáveis ou doentes que ainda andam (19,20).

Têm também obstipação devido a sedentarismo (20).

Os sintomas urinários são comuns tanto nas crianças como nos adultos com DMD. Os mais frequentes são a urgência e a incontinência diurna e/ou noturna (20).

As fraturas dos ossos longos são comuns e devidas sobretudo a quedas, afetando 21 a 44 % dos rapazes. Metade das fraturas ocorre em rapazes independentes que deambulam e 20-40 %

perdem a capacidade de andar como resultado. Outro achado importante é a osteoporose, presente na maioria das crianças com esta doença. A perda de densidade mineral óssea acontece ainda quando as crianças andam (1).

O músculo liso é poupado habitualmente mas o coração não. Ocorre uma cardiomiopatia dilatada devido a degeneração e fibrose cardíaca principalmente da região posterolateral da parede do ventrículo esquerdo. A cardiomiopatia é detetada aos 10 anos, afeta um terço dos pacientes aos 14 anos e está presente em todos os pacientes acima dos 18 anos de idade (1,8,12). Podem ocorrer algumas arritmias como por exemplo extra-sístoles ventriculares ou outra ectopia ventricular sustentada, sendo no entanto raras em comparação com a mais frequente taquicardia sinusal. Estes ritmos aumentam com a idade e disfunção ventricular. Apesar de tudo, como estes doentes não têm muita atividade física, eles são relativamente assintomáticos em termos cardíacos (1,4,21).

### **Agravamento da condição e últimos anos de vida**

A partir dos 16-18 anos, os pacientes estão predispostos a infeções respiratórias graves (4). Os doentes, agora em cadeira de rodas, tornam-se progressivamente mais dependentes ficando mesmo acamados (8).

É pouco comum a causa de morte ser cardíaca apesar da presença de cardiomiopatia em quase todos os pacientes e desta ser relativamente resistente aos tratamentos. Assim, a insuficiência cardíaca congestiva raramente ocorre, excepto na presença de outras doenças como a pneumonia que causam agressões stressantes ao corpo (4).

A causa mais comum de morte é uma infeção respiratória que progride rapidamente apesar de um início mais benigno. Daqui resulta uma falência respiratória que pode facilmente ocorrer juntamente com hipoventilação e hipoxia noturna progressiva, ou de uma insuficiência cardíaca aguda (7).

Outras causas de morte incluem aspiração de alimentos e a dilatação gástrica aguda (4).

Não mais de 20 a 25 % dos pacientes vivem para lá dos 25 anos (8).

### 3.6 Diagnóstico

O teste mais simples para fazer o diagnóstico é um estudo do ADN sanguíneo que demonstra a deleção no gene da distrofina. No entanto, nos 30 % de pacientes em que a deleção não é detetada, será necessária uma biópsia muscular para estabelecer a ausência de distrofina (12). Existem mesmo algumas opiniões que a biópsia muscular é padrão-ouro para o diagnóstico de DMD (1).

A biópsia muscular é melhor feita no músculo vasto lateral com uma pequena incisão (7). A amostra da biópsia pode depois ser submetida a análise de Western Blot que revela anormalidades na quantidade e peso molecular da distrofina (4). A coloração imunocitoquímica com anticorpos contra a distrofina também pode ser usada. Existem 3 anticorpos: Dys 1 para a região em haste intermédia, Dys 2 para a ponta carboxi-terminal e Dys 3 para a ponta amino-terminal. A ausência desta última (liga-se à actina) provoca os fenótipos mais severos (12).

Em testes laboratoriais observa-se níveis de creatina quinase (CK) elevados entre 20 a 100 vezes o normal, o que significa que o músculo está a extravasar esta enzima (4). Da nascença aos 2 ou 3 anos de idade, os níveis sobem mas depois descem devido à inatividade e perda de massa muscular. Observa-se ainda aumento dos níveis de transaminases que se correlaciona com os níveis de CK (1).

Outro estudo importante é a reação em cadeia da polimerase (PCR) que identifica rapidamente deleções no gene de distrofina. Pode ser usada para detetar mais de 98% das deleções existentes, ficando o estudo pronto em 24 horas (7).

A eletromiografia e os testes de condução dos nervos raramente são necessários para o diagnóstico (1). Os achados da eletromiografia são: fibrilações, ondas positivas, potenciais da unidade motora polifásicos breves e de baixa amplitude e por vezes descargas de alta frequência (8). Todos estes achados são compatíveis com miopatia, não sendo específicos da DMD (7).

Com o tempo algumas unidades motoras tornam-se eletricamente silenciosas (1).

Os testes de condução nervosa são normais no início, apresentando mais tarde potenciais de ação compostos reduzidos (1).

## 4. Tratamento

### 4.1 Tratamento sintomático

O tratamento disponível hoje em dia para os pacientes com DMD é sintomático. A única classe de fármacos que demonstrou até agora melhorar a força muscular e retardar de alguma forma a progressão da doença foram os glicocorticóides, mais especificamente a prednisona e o deflazacort (22).

Apesar de ainda não haver exatamente uma cura para a deficiência de distrofina, muito tem sido feito no que toca a melhorar a sobrevivência destes doentes, principalmente no tratamento das complicações da doença, o que lhes deu maior sobrevivência.

Os doentes conseguem viver assim mais anos, o que se pensa ser devido primariamente a um cuidado multidisciplinar e coordenado. Outros fatores contribuintes são: a vacinação rotineira para a gripe e o pneumococo, fisioterapia agressiva, uso precoce de antibióticos, ventilação noturna, cirurgia da coluna, redução da pós-carga na cardiomiopatia e por último, mas não menos importante, o uso dos corticosteroides (20).

Podemos dividir as terapias sintomáticas em estratégias médicas e cirúrgicas.

#### 4.1.1 Tratamento médico

##### Corticoterapia

Este é claramente o elo mais forte no tratamento atual da doença.

Há três compostos utilizados na DMD: a prednisona, prednisolona e um derivado metiloxazolinico dela, o deflazacorte (23).

Os glicocorticóides melhoram a força e função muscular em crianças com DMD, bem como prolongam o período de marcha preservada, melhoram a funcionalidade nas atividades diárias, reduzem a necessidade de cirurgia para escoliose, melhoram a função respiratória e ajudam a manter a função cardíaca (22-24). Num estudo observacional recente concluiu-se que o uso destes fármacos esteve associado a uma taxa significativamente menor de mortalidade devido principalmente a uma redução significativa nas mortes relacionadas com

falência cardíaca. Mais ainda estes pacientes tiveram uma menor incidência (menos 62%) de cardiomiopatia adquirida definida por uma fração de ejeção ventricular inferior a 45 % (25).

No entanto, aquando do início da terapia há que pesar os efeitos secundários desta medicação. Estes incluem: ganho de peso, desenvolvimento de face Cushingóide, estatura baixa, hipertensão, hiperglicemia, cataratas, redução da densidade mineral óssea, hirsutismo e imunossupressão (20,24). O ganho de peso é o motivo mais frequente de descontinuação do tratamento, mas o efeito adverso mais frequente a longo prazo é a diminuição na estatura (22,26).

Os dois glicocorticóides mais usados, a prednisona e o deflazacorte, têm algumas diferenças, o que vai condicionar depois a sua escolha em determinados pacientes.

É geralmente aceite que o deflazacorte tem um perfil de efeitos secundários melhor que a prednisona, nomeadamente com menos ganho de peso, menor perda de massa óssea vertebral, melhor perfil lipídico e menor intolerância à glicose (23,26,27). Contudo o deflazacorte apresentou nalguns estudos maior risco de desenvolvimento de cataratas (22).

Em termos de eficácia, o deflazacorte parece ter níveis semelhantes de sucesso que a prednisona, se bem que noutras doses. Está em curso um ensaio clínico para avaliar o balanço de eficácia e efeitos adversos baseado no uso de prednisona ou deflazacorte, que compara também o regime de prescrição (28).

Antes de se iniciar o tratamento deve-se ter o plano nacional de vacinação em dia e a imunidade à varicela deve ter sido já adquirida (24).

A dose indicada para a prednisona é de 0,75 mg/kg/dia. As doses inferiores a 0,3 mg/kg/dia e o uso de uma dose maior que 1,5 mg/kg/dia não foram mais eficazes. A administração diária é mais efetiva do que em dias alternados. O deflazacorte tem uma eficácia semelhante com uma dose diária de 0,9 mg/kg/dia (22,24).

Pode-se considerar usar a prednisona como primeira linha a maior parte das vezes, excepto nas situações em que o peso pré-existente seja elevado e/ou haja distúrbios do comportamento neste sentido, casos em que se deve usar o deflazacorte (24).

À medida que a criança que ainda anda cresce, a dose é habitualmente aumentada, desde que os efeitos secundários sejam toleráveis.

A melhor fase para iniciar o tratamento é quando a criança atingiu a estabilização do desenvolvimento motor, ou seja a fase de *plateau*, aos 4 a 8 anos. Normalmente é o período imediatamente precedente ao declínio de funções motoras como deixar de subir escadas ou cair frequentemente. Quando este declínio acontece, o início da terapia está ainda recomendada mas terá benefícios mais modestos (22,24).

Alguns clínicos prolongam o tratamento em pacientes que já o tinham quando ainda andavam, com o objetivo de preservar a força dos membros superiores, reduzir a progressão de escoliose e retardar a diminuição na função cardiorrespiratória (24).

Caso o aumento de peso se comece a fazer sentir recomenda-se o seguinte: diminuir a prednisona para 0,5 mg/kg/dia se ocorrer num período de 12 meses um aumento de mais de 20 % acima do peso normal estimado para a altura. Se o aumento de peso subsistir recomenda-se então a dose mais baixa de 0,3 mg/kg/dia (20).

Todos estes ajustes e tratamentos têm que ser ponderados com a doente e a sua família e a demais equipa multidisciplinar que o acompanha.

Foi ainda estudado um outro esteroide na DMD, a oxandrolona, não mostrando no entanto nenhum efeito benéfico e por isso não é recomendada (18,24).

## **Função cardíaca**

Dado que a maioria dos pacientes acaba por desenvolver cardiomiopatia dilatada e alguma arritmia, é importante fazer o rastreio destes problemas.

É recomendado começar a avaliação ecocardiográfica e eletrocardiográfica aos 6 anos e partir daí, de 2 em 2 anos até aos 10 anos. A partir desta idade passa a ser uma avaliação anual completa. Quando existem anormalidades da função ventricular é importante aumentar a frequência da avaliação, sendo feito pelo menos a cada 6 meses (19,26).

Farmacologicamente usam-se os inibidores da enzima de conversão da angiotensina (IECAs) como primeira linha (19). Eles melhoram os sintomas e aumentam a sobrevida. Os seus efeitos adversos são a tosse e o angioedema (20).

Foi estudada ainda outra classe: os bloqueadores do receptor da angiotensina II tipo 1. Em comparação com os IECAs, têm menos efeitos secundários com uma eficácia semelhante (20). Podem ainda ser usados os beta-bloqueadores, pois proporcionam um efeito antiarrítmico e melhoram a fração de ejeção e o remodelamento ventricular adverso (20).

A prevenção de tromboembolia sistémica com anticoagulação pode ser considerada nos casos de disfunção cardíaca grave (19).

Em último caso, se a terapia farmacológica não melhorar a fração de ejeção para mais de 35 % ou ocorrer alguma arritmia ventricular sintomática, poder-se-á pensar em usar um cardiodesfibrilhador implantável (CDI). Mas primeiro é preciso pensar nos benefícios versus complicações deste aparelho. Como riscos inerentes a este cita-se por exemplo a desfibrilação inapropriada (20).

## Função respiratória

Os pacientes com DMD têm alto risco de complicações à medida que os músculos respiratórios vão perdendo a sua função, algo que acontece principalmente a partir da segunda década de vida. Têm uma tosse ineficaz, hipoventilação noturna e por último falência respiratória (19,20).

Desde os 6 meses de idade é indicada a vacina de *influenza* inativada trivalente anualmente. A partir dos 2 anos de idade é recomendada a imunização com a vacina do pneumococos polissacárida 23-valente. Ambas podem ser administradas a pacientes sob corticoterapia dado que não são vacinas vivas (19).

É recomendado que as crianças com DMD que ainda andem e com 6 ou mais anos de idade façam um teste pelo menos anualmente da capacidade vital forçada através de espirometria. Se esta for inferior a 40 % do esperado pode-se utilizar a técnica de recrutamento de volume/insuflação pulmonar profunda, que consiste numa ventilação manual auto-insufladora (19).

Durante uma infeção respiratória são precisos antibióticos, que devem ser usados independentemente da saturação de oxigénio se existir uma cultura positiva, e independentemente dos resultados da cultura se a oximetria de pulso mostrar um valor abaixo de 95 %. Pode ainda ser usada a tosse assistida mecânica ou manual. O oxigénio pode ser considerado mas é preciso ter noção, que embora melhore a hipoxemia, pode mascarar o problema subjacente a todo o quadro, como por exemplo uma atelectasia (19).

O período mais crítico para o cuidado respiratório acontece depois da perda da capacidade de andar. Nesta fase é importante, a cada 6 meses, medir: saturação por oximetria de pulso, pressões expiratórias e inspiratórias máximas, fluxo de tosse máximo e continuar a medição da CVF (19).

As técnicas de tosse assistida manual ou mecânicas serão necessárias quando: como já se viu, houver uma infeção respiratória, e tivermos também um fluxo de tosse máximo inferior a 270L/minuto; o fluxo de tosse máximo basal for inferior a 160 L/minuto ou a pressão expiratória máxima for inferior a 40 cm/água; e finalmente quando a CVF for inferior tanto a 40 % do previsto ou a 1,25 L num adolescente mais velho ou adulto (19).

Quando a condição se agrava aparece a necessidade de ventilação noturna.

As suas indicações são as seguintes: sinais e sintomas de hipoventilação; uma saturação de O<sub>2</sub> inferior a 95 % e/ou CO<sub>2</sub> corrente superior a 45 mmHg quando acordado; e um índice de apneia-hipopneia superior a 10 por hora na polissonografia, ou quatro ou mais episódios de

saturação periférica de O<sub>2</sub> inferior a 92 %, ou quedas de pelo menos 4 % por hora de sono (19). Os métodos preferidos para o suporte respiratório são os ventiladores não invasivos de pressão positiva (VNPP). Os mais comuns são as unidades cicladoras de pressão binível em que se pode regular separadamente as pressões de expiração e de inspiração. Alguns clínicos preferem no entanto outro tipo de aparelho, os ventiladores cicladores de volume. Nestes, a vantagem está em selecionar um volume corrente predefinido ao invés de uma pressão (20).

A ventilação não invasiva melhora a hipercápnia, a hipoxemia, a sobrevida e qualidade de vida (20).

Os pacientes acabam por progredir para a necessidade de usar o ventilador também de dia. Nesta situação pode-se utilizar um adaptador bucal para melhor conforto (20). As indicações para o efeito são as seguintes: existência de deglutição anormal devido a dispneia, incapacidade de acabar uma frase sem ficar sem fôlego e/ou: um nível corrente de dióxido de carbono superior a 45 mmHg quando acordado (19).

Por último pode ser necessário realizar uma traqueostomia. Apesar de ser um procedimento com complicações e muito stressante para o doente por vezes, há algumas pessoas que o toleram bem e o acham mais confortável para comer, beber e falar do que através de peças bucais e nasais de ventiladores não invasivos (20).

Quanto às desvantagens, podem-se referir as seguintes: aquelas inerentes à cirurgia, que nestes pacientes são exacerbadas; requer hospitalização, sendo um procedimento doloroso no período perioperação; e precisa de um cuidador permanente 24 horas por dia (20).

As indicações para a traqueostomia são: incapacidade do paciente usar a ventilação não invasiva; falta de preparação das equipas clínicas para a ventilação não invasiva; pelo menos 3 falhas na extubação durante doença crítica; falha dos métodos não invasivos de assistência à tosse em prevenir a aspiração de secreções para o pulmão e quedas na saturação de oxigénio abaixo de 95 %, havendo necessidade frequente de aspiração traqueal via traqueostomia (19).

Faltam ainda alguns estudos na área respiratória destes pacientes, para perceber melhor o sucesso de cada modalidade de ventilação e tosse assistida e como melhor podem beneficiar dos aparelhos já desenvolvidos até ao momento.

## **Problemas gastrointestinais**

A obstipação e o refluxo gastroesofágico são as condições gastrointestinais mais comuns em crianças com DMD (19).

O refluxo pode ser tratado com inibidores da bomba de prótons ou antagonistas do recetor

H<sub>2</sub>, usando procinéticos, sucralfato e antiácidos como terapias adicionais. Em particular os inibidores da bomba de prótons têm poucos efeitos secundários e boa eficácia (19,20).

A obstipação beneficia-se primariamente de boa hidratação e uma dieta equilibrada. Podem-se usar emolientes fecais e laxantes como o leite de magnésio, a lactulose ou o polietileno de glicol (19,20).

## Outras considerações

A osteoporose aparece nestes pacientes, aumentando o risco de fraturas em atividades como a fisioterapia, a vestir-se ou nos cuidados diários. Estimou-se num estudo que até 30 % dos pacientes com DMD dependentes de cadeira de rodas teve uma fratura (29).

Dado também que o confinamento à cadeira de rodas lhes pode dificultar a exposição solar, pode-se recomendar a toma diária de carbonato de cálcio com vitamina D, assim como alendronato semanal para diminuir a reabsorção óssea (20).

A urgência e a incontinência urinárias que aparecem muitas vezes nestes pacientes podem ser tratadas com agentes anticolinérgicos como a oxibutinina (20).

## Exercício

Apesar da maioria dos adultos com DMD terem as capacidades motoras muito afetadas, ainda preservam algum movimento especialmente nos flexores dos dedos, o que lhes permite controlar uma cadeira de rodas elétrica entre outras tarefas (20).

A fisioterapia deve focar o alongamento passivo e ativo dos músculos do membro superior e inferior para minimizar as contraturas. Quanto ao membro superior, são importantes os músculos flexores do cotovelo, pronadores do antebraço, extensores do pulso e ainda os flexores longos dos dedos. No membro inferior, deve-se trabalhar os flexores da anca, joelho e plantares do pé. É importante fazer estes exercícios no mínimo de 4 a 6 vezes por semana e continuá-los depois de se perder a marcha, já que eles melhoram a dor e a rigidez muscular (20,24).

A maior parte das recomendações em exercício está baseada na fisiopatologia da doença e em alguns estudos feitos em animais com distrofinopatias (19). Faltam ainda estudos controlados, percebendo como o treino físico influencia a evolução da doença.

Algumas limitações à prática de exercício por parte destes doentes prendem-se com o facto de poderem exacerbar o ciclo de degeneração/regeneração existente, levando à deposição de ainda mais tecido conectivo. A melhora na função muscular pode ser escassa devido à fragilidade do músculo distrófico (30).

É provável que atividades de baixa intensidade não sejam lesivas (30).

O exercício submáximo aeróbico está recomendado por alguns profissionais, principalmente no início da doença quando estes pacientes ainda têm alguma força residual. No entanto está contraindicado o treino de alta resistência e o exercício excêntrico devido a perigo de lesões musculares. Os pacientes são beneficiados com exercícios dentro de água, ao aumentarem o condicionamento aeróbico e respiratório. Se o doente começar a sentir dor muscular significativa ou houver mioglobínúria num período de 24 horas depois de atividade específica, isto é sinal de excesso e lesão induzida por contração. Nestes casos, terá de haver os ajustes apropriados (19).

### **Avaliação psicossocial**

Estes pacientes precisam de apoio e monitoramento contínuo pois às vezes o fardo psicológico que a doença gera é muito maior que as dificuldades físicas.

No geral os rapazes com DMD mostram uma adaptação psicossocial semelhante àquela para outras doenças médicas crónicas. Há algumas áreas que são particularmente afetadas. Por um lado, devido ao atraso mental por vezes marcado, os pacientes são inábeis na reciprocidade social, juízo social e discriminação afetiva. Por outro têm que conviver com limitações físicas que podem levar a isolamento social e acesso reduzido a atividades sociais (24).

Há risco aumentado do desenvolvimento de distúrbios semelhantes ao autismo, transtorno de défice de atenção com hiperatividade e perturbação obsessivo-compulsiva. Por vezes o doente está demasiado ansioso, o que pode ser agravado por défices cognitivos na flexibilidade mental (24).

As dificuldades psicossociais observadas devem ser tratadas com as mesmas intervenções comprovadas que são usadas na população geral (24).

Os doentes devem ser avaliados nas seguintes áreas: adaptação emocional, funcionamento neurocognitivo, desenvolvimento da fala, possível presença de autismo e suporte social (24). Constata-se que, apesar das consequências físicas da doença, a maioria dos adultos com DMD têm a visão de terem qualidade de vida elevada, algo subestimado pelos profissionais de saúde (20).

Podem ser consideradas intervenções psicofarmacológicas para tratar sintomas psiquiátricos moderados a severos. No entanto terá de se ter cuidado com o estado do coração do doente e as possíveis interações farmacológicas com outros fármacos que se aplicam na doença como

os glicocorticóides (24).

## **Abordagem à dor**

A dor é algo que deve ser avaliado ao longo de toda a doença, procurando sempre pela causa subjacente se houver.

Para a suprimir ou melhorar usa-se a fisioterapia, correção postural, ortóteses, e melhorias ergonómicas nas cadeiras de rodas e camas. Poder-se-á ter que intervir a nível farmacológico, tendo sempre em atenção interações medicamentosas e a condição respiratória e cardíaca da pessoa.

Quando existe uma dor nas costas em contexto de terapia com glicocorticóides deve-se procurar por fraturas vertebrais.

## **Uso de ortóteses**

A prevenção de contraturas também pode ser feita através destes dispositivos.

Devem ser feitos à medida do paciente para que se sinta sempre confortável quando os use (19).

As ortóteses são usadas quando a marcha começa a piorar, quando se desenvolvem contraturas precoces dos tecidos moles nos joelhos e tornozelos, e depois da correção cirúrgica destas anormalidades (21).

Aplicam-se as ortóteses tornozelo-pé para prevenir e minimizar as contraturas progressivas equinas do pé, especialmente quando usadas constantemente de noite e dia (19,21).

As ortóteses que se estendem ao joelho, ou seja, ortóteses joelho-tornozelo-pé têm benefícios na fase tardia da marcha e na fase precoce da perda de marcha, ao permitirem estar de pé e caminhar limitadamente para fazer outros tratamentos (19).

As ortóteses da coluna habitualmente não têm benefício nas deficiências progressivas que a afetam. No entanto, em pacientes que têm uma escoliose e um compromisso respiratório graves, pode-se usar uma ortótese de suspensão torácica ou toracolombar feita à medida (21).

Ao combinar-se a cirurgia com as ortóteses, a marcha pode ser prolongada até 3 anos (21).

#### 4.1.2. Tratamento cirúrgico

Há duas principais classes de intervenções cirúrgicas nesta doença: a estabilização da coluna através da fusão espinhal posterior (a fusão espinhal anterior não é recomendada na DMD (19)); e a cirurgia direcionada às contraturas dos membros inferiores.

##### Fusão espinhal posterior

A fusão espinhal posterior instrumental é o tratamento de escolha para a escoliose progressiva que se desenvolve na DMD, com o objetivo de endireitar a coluna (31). É necessária apenas em pacientes que já não andam com uma curvatura espinhal de mais de 20°, que não tomam glicocorticóides, e ainda não atingiram a maturidade esquelética (19). A técnica usada é a fusão desde a 2ª vértebra torácica até ao sacro (7).

Já em 1993, era falada num artigo de Inglaterra, reconhecendo-lhe o benefício de manter o equilíbrio dos pacientes que tinham escoliose quando sentados. Era também associada a uma deterioração mais lenta na função respiratória (32). No entanto este benefício tem sido um pouco controverso já que surgem estudos em que a maioria defende que a cirurgia tem pouco impacto neste componente (31).

A conclusão de que não houve benefício algum no declínio da função respiratória em relação a outro grupo de pacientes que não tinham sido operados, observada num estudo de 2013, diz bem desta inexatidão. No mesmo estudo concluiu-se que a gravidade da escoliose não era determinante na disfunção respiratória. Este facto, aliado ao facto de não haver melhoras respiratórias com a cirurgia, levou a pensar que o principal determinante no declínio da função respiratória é sim a fraqueza dos músculos respiratórios intrínseca (31).

No entanto a intervenção demonstra claramente outras vantagens como a melhora da dor, desconforto e qualidade de vida no geral (31).

A extensão da estabilização cirúrgica da escoliose depende da obliquidade da pélvis. Se esta for maior que 15°, será necessária uma intervenção da região torácica superior até ao sacro. Se não houver obliquidade, podem-se usar estas recomendações ou então fazer uma fusão apenas até à quinta vértebra lombar (19).

##### Cirurgia para as contraturas dos membros inferiores

As contraturas progressivas nestes pacientes podem-se beneficiar de intervenção cirúrgica.

Esta técnica dá maior conforto à criança quando usa cadeiras de rodas, canadianas ou dispositivos para postura direita. Preserva ainda a capacidade de andar e retarda o aparecimento de escoliose quando existem contraturas assimétricas (33).

A cirurgia tanto pode ser feita quando a criança ainda anda ou mesmo quando já perdeu essa capacidade (19). As indicações variam mas principalmente é indicada tão cedo as contraturas forem significativas e interfiram com a marcha, pois uma das suas funções é libertá-las para que a posição de pé possa ser mantida o tempo mais longo possível (33).

As articulações que se beneficiam mais da correção cirúrgica são os tornozelos e em menor extensão, os joelhos. A anca responde de forma fraca à cirurgia para contraturas fixas flexoras (19).

Alguns clínicos realizam a cirurgia logo entre os 4 e os 7 anos. Nesta idade pode ser feito o alongamento do tendão de Aquiles, libertação de músculos anteriores da anca devido às contraturas de flexão da anca, e até excisão da banda iliotibial para as contraturas de abdução da anca (19).

Uma das posições que defende esta intervenção de uma forma profilática nestas idades apresenta as seguintes indicações: pacientes que mostram limitação da mobilidade articular, têm uma força muscular total superior a 70%, e são capazes de se levantar de uma posição supina para ficarem de pé em menos de 5 segundos (34).

Com o objetivo principal de prolongar a marcha por mais anos podem-se fazer múltiplas técnicas: alongamento de tendões, transferência de tendões, tenotomia e a libertação de contraturas fibróticas das articulações ou remoção de fibras tendinosas (19).

Este tipo de intervenção pode ainda ser feito quando já se perdeu a marcha, para corrigir defeitos de pé equino e em varo. No primeiro faz-se tenotomia ou alongamento do tendão de Aquiles, e no segundo faz-se uma transferência, alongamento ou tenotomia do tendão tibial posterior. É feito para aliviar a dor e a pressão, podendo o paciente usar calçado normal e apoiar o pé corretamente quando na cadeira de rodas (19).

Quando os pacientes se submetem às intervenções numa altura que ainda andam, a cirurgia pode adiar o ponto em que ficam presos a uma cadeira de rodas até 2 anos (34).

## 4.2 Tratamentos em investigação

### 4.2.1 Terapia genética

#### Substituição do gene da distrofina

Uma das formas da terapia genética consiste na substituição do gene da distrofina que apresenta como vantagem independência de qualquer tipo de mutação no paciente, para fazer a terapia (35). Esta envolve a entrega de um gene da distrofina novo a todos os músculos do corpo, que compõem mais de 40 % da massa do corpo. O efeito terapêutico depende não só da quantidade de distrofina administrada mas também do avanço da doença no momento da terapia (36).

Devido a ser preciso chegar a uma grande extensão do corpo, pensa-se que a forma ideal de administração é através dos vasos. Contudo, a reação imune às vezes presente, torna complicada a escolha dos melhores sistemas de entrega génica (36).

Um dos sistemas de entrega mais estudados até agora foram os vetores virais, nomeadamente três tipos que mostraram alguma eficácia na transdução e expressão estável do músculo estriado: vetores adenovirais, lentivirais e adeno-associados. Apenas os vírus adeno-associados (VAA) conseguiram chegar a ensaios clínicos, sendo que os vetores lentivirais e adenovirais ficaram-se apenas por estudos experimentais em animais (35).

Os vetores lentivirais têm baixa imunogenicidade e capacidade relativamente grande de armazenamento. No entanto, a sua eficácia na transdução em grandes quantidades foi fraca em tecidos *in vivo* (35,36).

Os adenovírus são apelativos para a transferência genética devido à sua grande capacidade de armazenamento e à facilidade com que são produzidos em grandes quantidades. Depois de algum sucesso em estudos animais, houve um estudo que reportou uma resposta e toxicidade aguda citotóxica em primatas, e outro onde ocorreu a morte de uma paciente que estava a ser tratada com terapia genética para a deficiência de transcarbamilase de ornitina (35).

Os VAA recombinantes conseguiram uma expressão genética estável ao longo de 2 anos de estudos em ratos e mais de 7 anos em cães e macacos rhesus. Foram descritos até agora mais de 9 serotipos. Alguns têm tropismo muscular como o VAA1, VAA6, VAA8 e VAA9 (35,37). Os vetores VAA apresentam baixa imunogenicidade, apesar de no ensaio clínico realizado se ter despoletado uma resposta imune em alguns pacientes. Esta resposta à própria distrofina pode significar que nem todos os doentes são ideais para a reintrodução da distrofina, sendo que se terá que personalizar a estratégia individualmente (35,36).

Existe uma outra forma de administrar o gene da distrofina: plasmídeos de ADN isolados que contêm o gene. Existem alguns métodos que facilitam o processo. É o caso da eletrotransferência, que aumentou a eficiência até 9 vezes, do uso da hialuronidase e de transportadores não iónicos para os plasmídeos de ADN (2,38).

No entanto, mesmo os vetores mais promissores têm algumas limitações. O gene da distrofina é dos maiores genes do corpo humano e assim causa problemas de capacidade de armazenamento, ao ser difícil acomodar no vetor o gene que codifica a proteína inteira (39). Para superar este problema foram desenvolvidas as mini e micro-distrofinas que são formas reduzidas do gene da distrofina, e o seu uso foi validado devido à seguinte observação: pacientes com uma forma mais leve da doença (distrofia de Becker) podem ter grandes deleções génicas sendo afetados apenas ligeiramente ao longo da vida (35).

Apesar de não ser tão competente quanto o minigene, o gene da micro-distrofina conseguiu proteger os ratos distróficos de dano induzido por contração, reduziu a inflamação e fibrose muscular e aumentou a esperança média de vida deles (5,40).

### **Supressão de mutações**

Esta forma de tratamento aplica-se apenas a rapazes com mutações que resultem em codões "stop" precoces que terminam prematuramente o processo de síntese da distrofina, ocorrendo em aproximadamente 13 a 15 % dos pacientes com DMD (37,41).

O objetivo é fazer com que haja leitura destas mutações através dos ribossomas, o que é conseguido através da introdução de uma sequência nucleotídica ao nível do mRNA, criando uma mutação missense que permite a síntese da proteína inteira (35,41).

Duas estratégias farmacológicas prestam-se para atingir esse fim: gentamicina e ataluren (37). Ambas têm com estudos experimentais e clínicos já realizados. Da mesma forma estão em estudo o RTC13 e RTC14 apenas com carácter experimental (37).

Já se sabe há muito tempo que os aminoglicosídeos possuem a capacidade única de conferir leitura através dos codões "stop" a procariotas e eucariotas (41).

Assim foram efetuados estudos experimentais e clínicos para avaliar o impacto da gentamicina. Nos estudos experimentais em ratos obteve-se a expressão da distrofina inteira acompanhada de redução dos níveis de CK e proteção contra o dano muscular induzido por contração. Seguidamente foram realizados ensaios clínicos, onde se obtiveram aumentos modestos no número de fibras musculares que expressavam distrofina, sendo que nos testes de marcha e subida de escadas não houve melhorias, o que levantou a possibilidade que uma dose mais alta do antibiótico é necessária (37,41).

Dada a elevada toxicidade renal dos aminoglicosídeos e a necessidade de infusões regulares intravenosas, houve crescente interesse noutros fármacos com mais segurança (37).

Surgiu assim o ataluren, um fármaco administrado oralmente. Depois de resultados promissores em estudos experimentais, os ensaios clínicos mostraram segurança e tolerabilidade do fármaco bem como expressão aumentada da distrofina. Os resultados preliminares de um ensaio clínico de fase IIb, promovido pela empresa que detinha o fármaco, vieram depois demonstrar que não havia significância estatística no teste da marcha quanto a melhoria (37). Está em curso um estudo de fase III em pacientes com mutações *nonsense* para avaliar este fármaco (42).

Dois novos compostos estão em estudos: o RTC13 e RTC14. Um estudo experimental em ratos *mdx* demonstrou a sua maior eficácia comparados ao ataluren e à gentamicina, especialmente do RTC13. No entanto, é ainda preciso estudar melhor os perfis destes agentes (37).

## Modificação genética

O objetivo pretendido com a modificação genética é reparar ou alterar as mutações genéticas da DMD (2). Para tal 2 estratégias foram propostas: o "*skipping*" de exões, já em fase de ensaios clínicos e com bons resultados; e o uso de quimeroplastos, ainda em fase experimental em ratos, também com bons resultados mas atualmente ineficiente (18).

Assim sendo, a estratégia que parece mais promissora para este fim é o "*skipping*" de exões, que tenta transformar o fenótipo grave (Duchenne) da mutação no tipo mais leve da doença (Becker), ao remover os exões mutados ou adicionais restaurando o padrão de leitura genética (2,35).

O "*skipping*" de exões pode ser aplicado a 60-80 % das mutações genéticas da DMD, as quais causam uma mudança do padrão de leitura (37).

Para omitir um ou mais exões do padrão de leitura são usados oligonucleótidos antissense (AONs) que são sintetizados com o intuito de se hibridizarem de forma complementar ao RNA pré-mensageiro, resultando em modificação do *splicing* (37).

Existem diferentes estruturas de AONs com diferentes exões como alvo. Alguns dos mais usados nos estudos são: o 2'-O-metil-RNA com uma base de fosforotioato (2'OMeP), e um oligómero morfolino de fosforodiamidato (PMO) (37).

Esta forma de terapia tem sido apoiada por diversos ensaios clínicos. Obteve-se expressão de distrofina com padrão normal eficiente sem efeitos adversos associados, depois de uma injeção intramuscular do 2'OMeP e PMO ter omitido o exão 51 em humanos. O 2'OMeP também demonstrou benefícios na distância percorrida pelos pacientes (43).

Vai começar um estudo de fase I/II do PRO053 e está ativo um estudo exploratório do NS-065/NCNP-01, substâncias que induzem o *skipping* do exão 53. Se efetivos, estes compostos

poderão beneficiar até 8 % dos pacientes (42).

Atualmente está em curso um estudo de fase II para avaliar o PRO051 (Drisapersen), o qual induz o skipping do exão 51 (42).

Com estas estruturas de AONs há ainda algumas limitações. Nenhuma delas produz ainda quantidades significativas de distrofina no coração, um órgão que pode sofrer com o aumento de atividade nos outros músculos (44).

Outra questão importante é a dúvida se esta terapia apenas irá atrasar ou parar o progresso da doença, ou haverá mesmo um ganho de função anteriormente inexistente (44).

Outro método para modificar o gene da distrofina estudado foi o uso de quimeroplastos. Estes são moléculas híbridas de DNA-RNA que reparam os genes por mecanismos naturais sendo apenas possível para as mutações pontuais. Devido a este facto apenas uma minoria de pacientes teria acesso ao tratamento. Houve resultados promissores em mioblastos de ratos *mdx*. O método está ainda dependente da atividade reparadora da célula do hospedeiro, sendo para já ineficiente (18).

#### 4.2.2 Terapia celular

Estas estratégias terapêuticas baseiam-se na entrega de células normais ao músculo distrófico, com o intuito que ocorra fusão ou então repopulação do músculo afetado, melhorando a sua função (45).

As células inseridas podem ser precursoras do músculo (mioblastos), células estaminais que têm a capacidade de se diferenciar em células musculares e células "*side population*" (46).

Com o objetivo então de regenerar células musculares com distrofina normal nos pacientes com DMD, foram já tentadas várias estratégias de transplantação de células derivadas do músculo em estudos experimentais e ensaios clínicos (47).

Estas células podem ser obtidas tanto do paciente, casos em que são corrigidas *ex vivo* e reimplantadas (transferência autóloga), como também provenientes de um dador saudável e injetadas no doente com DMD (transferência alogénica). As células transplantadas devem ser capazes de migrar através do sangue para o músculo, formando miotubos, e entrar no local onde estão as células satélite, autorrenovando-se para potencializar um tratamento de longa duração (36).

Outra estratégia investigada foi fazer um enxerto de músculo normal num paciente com DMD. Um estudo mostrou até propriedades contráteis quase normais depois de os doentes receberem o enxerto. No entanto esta abordagem poderá ter problemas éticos dado que, para ultrapassar problemas do músculo de adulto como reinervação e revascularização apropriadas, é necessário o uso de músculo recém-nascido (45).

## Mioblastos

Os mioblastos, que são precursores do músculo, foram um dos primeiros tipos de células a serem exploradas para a transplantação ideal. Eles diferenciam-se para formar miofibras (46,47).

A transplantação de mioblastos tem os seguintes passos: isolamento de células mioblásticas a partir de músculo esquelético de um dador saudável; expansão das células em cultura, e de seguida administração no tecido distrófico. A sua incorporação no músculo distrófico vai provocar a chamada “complementação génica”, isto é, a expressão de genes exógenos e do hospedeiro no sincício de miofibras (46).

Os estudos experimentais iniciais que foram feitos nos ratos *mdx* (considerado um dos modelos animais ideais para estudar esta doença, dado que não têm distrofina funcional nos músculos devido a uma mutação) revelaram resultados promissores com expressão de distrofina a níveis de 30 a 40 % do normal (45). Contudo, os poucos ensaios clínicos feitos em humanos posteriormente foram desapontantes.

As principais limitações no transplante de mioblastos são: a morte rápida de 75 a 80 % dos mioblastos injetados; a falha na migração dos mioblastos em mais de 0,5 milímetros para lá do local de injeção; e a imunorejeição (2,37,47).

A limitação das injeções intramusculares é a fusão dos mioblastos apenas com as miofibras próximas ao local de injeção, resultando em zonas restritas de crescimento e recuperação. Para além disto, músculos mais inacessíveis como o diafragma, são muito difíceis de tratar. No sentido de melhorar os resultados da terapia celular no futuro poder-se-á apostar na possibilidade de injeções intravenosas e intraperitoneais de mioblastos, o uso de mioblastos geneticamente modificados para reduzir a resposta imunitária e ainda escolher fármacos imunossuppressores mais eficazes (46).

O sucesso da transferência de mioblastos para os músculos distróficos pode ser melhorado por injeções múltiplas de grande quantidade de mioblastos juntamente com imunossupressão baseada no tacrolimus, algo que resultou na produção de distrofina normal em aproximadamente 10 % das fibras nos sítios de injeção (36).

Foi feito um estudo experimental em que foi usado um coadjuvante no transplante de mioblastos: a laminina-111. Esta proteína faz parte do grupo das lamininas, que são importantes na estabilidade e integridade muscular. Estão presentes na membrana basal (48). Provou-se no estudo que uma injeção intramuscular de laminina-111 aumentou a força e

resistência muscular em ratos *mdx*. Para além disto, a proteína diminuiu os ciclos de degeneração e regeneração musculares. Quando associada ao transplante de mioblastos, a laminina-111 melhorou a proliferação e aumentou significativamente a migração *in vitro* (48). A importância deste estudo tem a ver com a possibilidade de tratar muitos pacientes com DMD apenas com uma injeção de proteína recombinante, caso estes resultados fossem confirmados clinicamente também (48).

### **Células “side population”**

Uma outra forma de terapia celular, as chamadas células “side population” (SP), foram identificadas através de análise FACS (*Fluorescent activated cell sorting*) e caracteristicamente tendem a excluir do seu interior o corante fluorescente Hoescht 33342. Elas estão no músculo (2,49).

Um estudo experimental recente mostrou que estas células podem ser ativadas num ambiente distrófico e servir como um transporte para entregar o gene da distrofina contido num vetor viral para o rato *mdx* (2).

Mostrou-se que células com estas características, quando isoladas do músculo, podem passar sistemicamente da circulação, após injeção intravenosa, para o músculo e contribuir para a regeneração muscular. Estão a ser otimizadas as vias de entrega destas células ao músculo (49).

### **Células estaminais**

Estas células são autorregeneradoras e privilegiadas imunologicamente. Prolifera durante mais tempo que os mioblastos, migram desde o sistema circulatório depois de uma injeção intra-arterial e são mais efetivas na regeneração muscular e expressão de distrofina do que as células mioblásticas (3).

Estas células têm a capacidade de ir para o músculo depois de administração sistémica, acoplado-se ao sítio de lesão. Adicionalmente podem ser usadas como vetores para a transferência de genes (47).

Há vários tipos de células estaminais: as do mesênquima, os mesangioblastos e as satélite.

As células estaminais do mesênquima têm a vantagem de se fundirem com o músculo distrófico e de o complementarem geneticamente. Têm ainda propriedades anti-inflamatórias e produzem fatores que aumentam a atividade das células reparadoras endógenas (46).

Estas células são multipotentes, capazes de formar osso, cartilagem, gordura e tecido

muscular.

Embora terem estas características positivas enunciadas, a maioria dos estudos experimentais nos modelos animais não mostraram uma melhoria significativa na força contrátil muscular (46).

O transplante de mesoangioblastos, que são células estaminais derivadas dos vasos sanguíneos, melhorou a doença distrófica em modelos experimentais em animais.

Ocorreu a expressão de distrofina em 5 a 70 % das fibras e a melhoria substancial num dos estudos efetuados. Nele, mesoangioblastos autólogos e heterólogos transduzidos com um vetor lentiviral que expressava microdistrofina humana, foram injetados sistemicamente no cão modelo da doença (*cxmd*) (36,46).

Representam uma das mais promissoras terapias celulares para o músculo.

As células estaminais satélite representam uma subpopulação de células satélite do músculo capazes de autorrenovação e reconstituição a longo prazo do local onde se encontram estas mesmas, depois de transplantação (50).

Foi identificado um composto, o *Wnt7a*, que induziu eficazmente a expansão das células satélite e a hipertrofia das miofibras de músculos em ratos *mdx* (50).

Mostrou-se então como potencial candidato para melhorar a patofisiologia da DMD.

Assim sendo os 3 tipos de células estaminais foram avaliados em estudos experimentais, sendo que o transplante de mesoangioblastos e de células estaminais satélite mostraram bons resultados, enquanto que as células estaminais do mesênquima não apresentaram resultados promissores na força contrátil muscular.

### 4.2.3 Outros agentes terapêuticos

#### Suprarregulação de utropina

A utropina é uma proteína com uma estrutura semelhante à distrofina, sendo 80 % idênticas uma à outra (2,46).

Pode ser encontrada em altas concentrações nas células musculares durante o desenvolvimento fetal. Depois do nascimento, a expressão muda para a junção neuromuscular e miotendinosa (2,37).

Em pacientes com DMD, muitas vezes encontram-se níveis elevados de utropina como um mecanismo compensatório da redução de distrofina (2,37).

Como tal, foi encontrada uma correlação inversa significativa entre a expressão de utropina e a gravidade da doença (46).

Conhecendo então estes factos, propôs-se que se poderia aumentar significativamente os níveis de utropina, utilizando químicos que pudessem suprarregular a atividade promotora do gene desta proteína, com o objetivo final de prevenir a patologia da distrofia muscular (2,46). Esta estratégia tem a vantagem de evitar potenciais reações imunes porque a utropina é naturalmente produzida nos pacientes. Se se conseguir encontrar um fármaco que suprarregule a utropina atingindo concentrações suficientes, o problema de encontrar um método sistémico eficiente de transporte aos músculos estaria solucionado (2).

Os estudos experimentais mostraram alguns efeitos benéficos: em ratos *mdx*, o desenvolvimento de força e resistência ao estiramento mecânico foram recuperados até 80 % do normal depois da sobreexpressão de utropina; a injeção intramuscular de um vetor adenoviral que expressava a utropina sintética levou a fibrose reduzida e aumento da expressão de proteínas associadas à distrofina (47).

Foram identificados alguns componentes que suprarregulam a utropina, já submetidos a estudos experimentais apenas. Destacam-se a heregulina atua através do promotor A da utropina e a L-arginina aumenta a utropina através do aumento da produção de nNOS. Outros compostos foram estudados mas no entanto nenhum conseguiu atingir a melhoria completa do fenótipo distrófico em ratos *mdx* ou mesmo um aumento de 3 a 4 vezes na utropina, que se pensa ser necessário para a completa correção (46).

Foi testado também o butirato de arginina que combina duas funções farmacológicas: ativação da via do óxido nítrico e a inibição da desacetilase de histonas. Estas mostraram ser benéficas no fenótipo distrófico. A L-arginina aumenta os níveis de utropina como referido acima e pensa-se que o butirato poderá ativar genes previamente silenciados (51).

Foi feito um estudo que, a aliar aos efeitos benéficos já conhecidos das substâncias individuais em modelos animais com a doença, mostrou que o butirato de arginina aumenta a expressão de utropina nos miotubos humanos postos em cultura (51).

Este composto é assim um bom candidato na suprarregulação da utropina e devia ser testado em ensaios clínicos (51).

## **Crescimento de músculo**

A miostatina é um potente regulador negativo do crescimento muscular e pertence à família do TGF- $\beta$  (18,52).

Assim pensou-se em inibir este regulador para fazer crescer o músculo. Para este efeito existe o MYO-029, um anticorpo humano recombinante que se liga com alta afinidade à miostatina, inibindo-a (52).

Alguns estudos experimentais em ratos que tinham a miostatina bloqueada mostraram hipertrofia e hiperplasia muscular significativas, assim como uma redução na degeneração das fibras musculares e nos níveis de creatina-quinase sérica (22,45,52).

Descobriu-se também que o transplante de mioblastos foi mais eficaz em ratos que tinham disfunção no mecanismo da miostatina do que em ratos *mdx* com o gene do receptor da miostatina normal (18).

No entanto, um estudo clínico em humanos com o anticorpo em pacientes adultos com DMD mostrou boa tolerância mas não se verificou aumento da força muscular (22).

Outro tratamento neste campo é a possibilidade de usar o fator de crescimento insulínico 1 (IGF-1). Ele é um mediador chave da via anabólica de crescimento muscular (52).

Mostrou-se em estudos experimentais que a sobreexpressão deste fator aumentou a massa muscular de alguns músculos, melhorou a geração de força e reduziu a necrose e fibrose em ratos *mdx* (52).

Está agora em curso um ensaio clínico que avalia a eficácia e segurança do IGF-1 em pacientes com DMD (42).

## Prevenção de fibrose

Na DMD, ocorre reposição do tecido muscular perdido por tecido fibrótico.

Pensou-se em usar o TGF- $\beta$  pois ele é importante na deposição de tecido conectivo nos pacientes com DMD (52).

Foram estudadas terapias antifibróticas que inibem a via do TGF- $\beta$  usando: o losartan, a halofuginona (inibe síntese de colagénio mediada pelo TGF- $\beta$ ) e a pentoxifilina (inibidor da fosfodiesterase) (52,53). No caso do primeiro, os estudos experimentais mostraram insuficientes provas de eficácia. Com a halofuginona haverá mais potencial porque mostrou reduzir a fibrose no diafragma e coração, juntamente com melhoria de parâmetros fisiológicos, em ratos *mdx* (52).

Está em curso um estudo para avaliar o tratamento por 6 meses da halofuginona em pacientes com DMD (42).

Em relação à pentoxifilina, em 2011 foi publicado um estudo para avaliar a eficácia, tolerabilidade e segurança deste composto em formulação líquida numa população pediátrica, dado que os estudos pré-clínicos tinham demonstrado uma redução da deterioração da força muscular de 51 % em ratos *mdx* (53,54).

Este estudo resultou num nível muito elevado de eventos adversos em rapazes com DMD. A sua pouca tolerabilidade comprometeu a avaliação da eficácia (54).

Num ensaio clínico de 2012, a pentoxifilina não resultou em melhoria ou cessação da deterioração na força e função muscular. Como tal, foi concluído que a adição de pentoxifilina ao tratamento com corticosteroide não previne as consequências da doença (53).

Tabela 1 - Os vários tratamentos em investigação e o tipo de estudos efetuados em cada um deles.

Tipo de terapia		Estudos efetuados	
Terapia genética	Substituição do gene da distrofina usando vetores	Adenovírus	Experimentais ✗
		Lentivírus	Experimentais ✗
		Vírus adeno-associados (VAA)	Ensaio clínico ✓
		Plasmídeos de DNA	Ensaio clínico ✓
	Supressão de mutações	Gentamicina	Ensaio clínico ✗
		Ataluren	Ensaio clínico ✓
		RTC13 e RTC14	Experimentais ✓
	Modificação genética	<i>Skipping</i> de exões: Oligonucleótidos antissense	Ensaio clínico ✓
		Quimeroplastos	Experimentais ✓
Terapia celular	Mioblastos	/	Ensaio clínico ✗
	Células "side population"		Experimentais ✓
	Células estaminais	Mesênquima	Experimentais ✗
		Mesoangioblastos	Experimentais ✓
		Satélite	Experimentais ✓
Outros agentes	Supreregulação da utropina	Heregulina	Experimentais ✓
		L-arginina	Experimentais ✓
		Butirato de arginina	Experimentais ✓
	Crescimento de músculo	MYO-029	Ensaio clínico ✗
		IGF-1	Ensaio clínico ✗
	Prevenção de fibrose	Losartan	Experimentais ✗
		Halofuginona	Ensaio clínico ✓
Pentoxifilina		Ensaio clínico ✗	

✗ Resultados pouco promissores ou desafortunados

✓ Resultados promissores

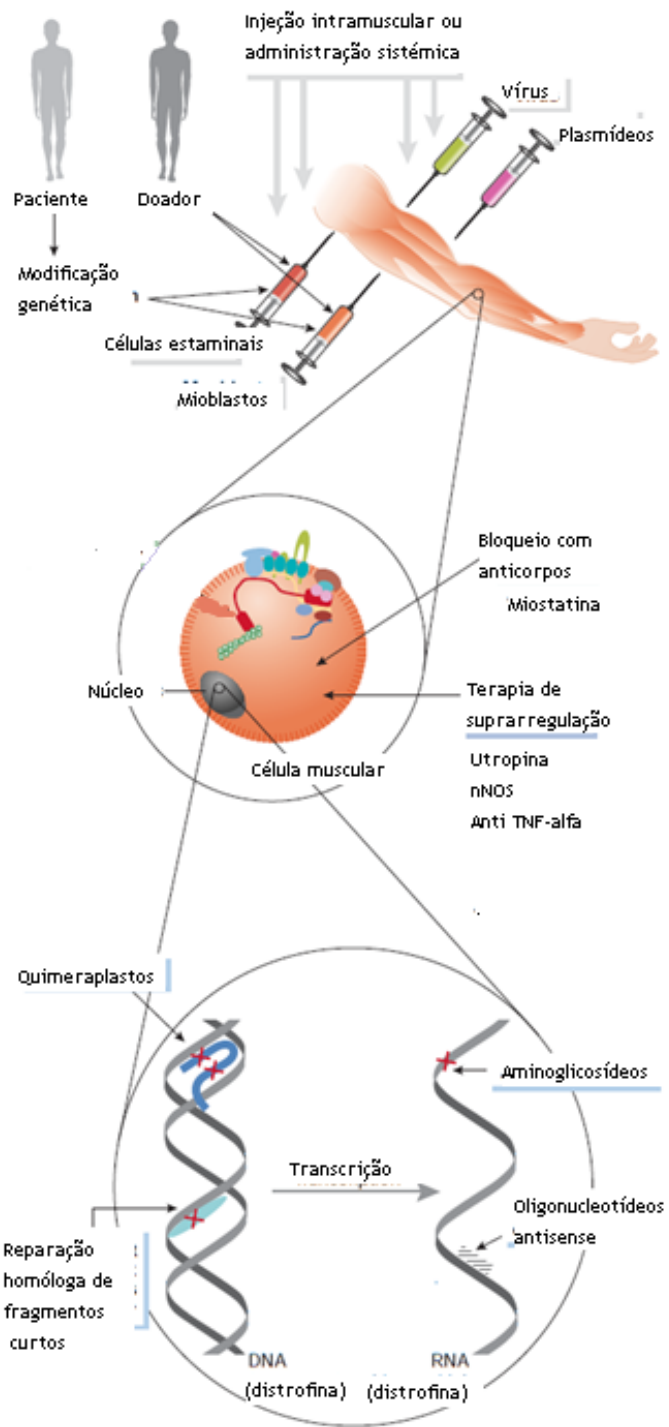


Figura 2 - Resumo das estratégias terapêuticas atualmente em investigação de acordo com os locais onde cada uma atua. IGF1, *insulin-like growth factor 1*; nNOS, *neuronal nitric oxide synthase*; TNF- $\alpha$ , *tumour necrosis factor- $\alpha$* . Adaptado da referência (3).

## 5. Conclusões e perspetivas futuras

Desde que esta doença foi descoberta, conseguiu-se ter um aumento muito importante na esperança média de vida (de 15 para 30 anos), devido aos avanços principalmente ao nível do uso de corticosteroides, suporte respiratório e de ortóteses. Este facto levou a que a doença passasse a não ser vista apenas como doença da infância, mas também agora como uma doença do adulto (55,56).

Até agora a única medicação que mostrou eficácia em atrasar a progressão da doença foram os corticosteróides (22).

As terapias que atualmente estão a ser desenvolvidas são específicas para as mutações, baseadas em células ou DNA, e também incluem fármacos para modular as vias celulares e expressão génica (46).

Uma das maiores limitações para as abordagens terapêuticas em investigação é conseguir que um fármaco chegue a uma quantidade razoável de músculo para que tenha benefícios efetivos (3).

Mais ainda, o custo de agentes como os AONs é para já elevado e inadequado para o uso generalizado, para além de que poderão apenas ser usados para tratar cerca de 23% dos doentes (3,57).

Têm que se fazer também mais estudos quanto aos efeitos adversos dos fármacos já aprovados e os que estão em desenvolvimento (3).

Parece provável que no futuro, apenas uma fusão dos métodos descritos em desenvolvimento poderá ser usada eficazmente (2,3).

Daí a importância de surgirem cada vez mais estudos pre-clínicos que combinem várias formas de tratamento em investigação, as quais individualmente já tenham demonstrado alguns perfis de eficácia e segurança suficientes.

Os ensaios clínicos mais recentes estão a avaliar: a halofuginona, que tem propriedades antifibróticas e anti-inflamatórias; o drisapersen, um AON que induz o *skipping* do exão 51, podendo beneficiar 13 % dos pacientes com DMD; o IGF-1, um mediador da via anabólica de crescimento muscular; as terapias celulares; os efeitos adversos dos corticosteroides em uso atualmente (42); entre vários outros fármacos e estratégias para suporte descritos acima.

Com o grau de avanço e generalização da terapia génica é de prever que daqui a alguns anos mais doentes possam ter acesso a uma estratégia de cura parcial senão mesmo total da sua condição. As estratégias de substituição génica oferecem um potencial a longo prazo para o tratamento desta doença.

A desejada optimização de todos estes métodos terapêuticos terá de ser feita com um equilíbrio gradual entre testes em animais e seres humanos, já que os modelos existentes para a doença não representam totalmente a fisiologia humana.

Neste momento o caminho está traçado e “só” falta percorrê-lo. É esperado que daqui a alguns anos já se tenham ultrapassado muitos obstáculos existentes, para assim os doentes com DMD poderem ter melhores perspetivas de vida futura.

## 6. Bibliografia

1. Kornberg A, Yiu E. Duchenne muscular dystrophy. *Neurol India*. 2008;56(3):236.
2. Zhou G, Xie H, Zhang S, Yang Z. Current understanding of dystrophin-related muscular dystrophy and therapeutic challenges ahead. *Chin Med J (Engl)*. 2006 Aug 20;119(16):1381-91.
3. Nowak KJ, Davies KE. Duchenne muscular dystrophy and dystrophin: pathogenesis and opportunities for treatment. *EMBO Rep*. 2004 Sep;5(9):872-6.
4. Amato AA, Robert H. Brown J. Muscular Dystrophies and Other Muscle Diseases. In: Dan L. Longo, Dennis L. Kasper, J. Larry Jameson, Anthony S. Fauci, Stephen L. Hauser JL, editor. *Harrison's Principles of Internal Medicine*. 18th ed. The McGraw-Hill Companies, Inc.; 2011. p. 3487-509.
5. Duan D. From the smallest virus to the biggest gene: marching towards gene therapy for duchenne muscular dystrophy. *Discov Med*. 2006 Jun;6(33):103-8.
6. Leung DG, Wagner KR. Therapeutic advances in muscular dystrophy. *Ann Neurol*. 2013 Sep;74(3):404-11.
7. Do TT. Muscular Dystrophy [Internet]. 2014 [cited 2014 Dec 31]. Available from: <http://emedicine.medscape.com/article/1259041-overview>
8. Ropper A, Brown R. *Adams and Victor's Principles of Neurology*. 8th ed. McGraw-Hill Professional; 2005. 1214-1216 p.
9. Hoffman EP, Brown RH, Kunkel LM. Dystrophin: The protein product of the duchenne muscular dystrophy locus. *Cell*. Elsevier; 1987 Dec 24;51(6):919-28.
10. Theadom A, Rodrigues M, Roxburgh R, Balalla S, Higgins C, Bhattacharjee R, et al. Prevalence of Muscular Dystrophies: A Systematic Literature Review. *Neuroepidemiology* [Internet]. Karger Publishers; 2014 Dec 16 [cited 2015 Jan 5];43(3-4):259-68.
11. Mah JK, Korngut L, Dykeman J, Day L, Pringsheim T, Jette N. A systematic review and meta-analysis on the epidemiology of Duchenne and Becker muscular dystrophy. *Neuromuscul Disord*. Elsevier B.V.; 2014;24(6):482-91.
12. Bradley W, Daroff R, Fenichel G, Jankovic J. *Neurology in Clinical Practice - The Neurological Disorders Volume II*. 4th ed. Butterworth-Heinemann; 2004. 2468-2473 p.
13. Zhou G, Xie H, Zhang S, Yang Z. Current understanding of dystrophin-related muscular dystrophy and therapeutic challenges ahead. *Chin Med J (Engl)*. 2006 Aug 20;119(16):1381-91.
14. Tidball JG, Wehling-Henricks M. The role of free radicals in the pathophysiology of muscular dystrophy. *J Appl Physiol*. 2007 Apr;102(4):1677-86.
15. Mercuri E, Muntoni F. Muscular dystrophy: new challenges and review of the current clinical trials. *Curr Opin Pediatr*. 2013 Dec;25(6):701-7.
16. Annexstad EJ, Lund-Petersen I, Rasmussen M. Duchenne muscular dystrophy. *Tidsskr den Nor lægeforening Tidsskr Prakt Med ny række*. 2014 Aug 5;134(14):1361-4.

17. Kole R, Leppert BJ. Targeting mRNA splicing as a potential treatment for Duchenne muscular dystrophy. *Discov Med*. 2012 Jul;14(74):59-69.
18. Strober J. Therapeutics in duchenne muscular dystrophy. *NeuroRx*. 2006;3(April):225-34.
19. Bushby K, Finkel R, Birnkrant DJ, Case LE, Clemens PR, Cripe L, et al. Diagnosis and management of Duchenne muscular dystrophy, part 2: implementation of multidisciplinary care. *Lancet Neurol*. Elsevier Ltd; 2010;9(2):177-89.
20. Wagner KR, Lechtzin N, Judge DP. Current treatment of adult Duchenne muscular dystrophy. *Biochim Biophys Acta*. 2007 Feb;1772(2):229-37.
21. Morrissey RT, Weinstein SL. Lovell and Winter's Pediatric Orthopaedics. 4th ed. Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins; 2006. 653-662 p.
22. BEYTÍA M, Vry J, Kirschner J. Drug treatment of Duchenne muscular dystrophy: available evidence and perspectives. *Acta Myol*. 2012;31(6):4-8.
23. Mcadam LC, Mayo AL, Alman BA, Biggar WD. The Canadian experience with long term deflazacort treatment in Duchenne muscular dystrophy. *Acta Myol*. 2012;31:16-20.
24. Bushby K, Finkel R, Birnkrant DJ, Case LE, Clemens PR, Cripe L, et al. Diagnosis and management of Duchenne muscular dystrophy, part 1: diagnosis, and pharmacological and psychosocial management. *Lancet Neurol*. Elsevier Ltd; 2010;9(1):77-93.
25. Schram G, Fournier A, Leduc H, Dahdah N, Therien J, Vanasse M, et al. All-cause mortality and cardiovascular outcomes with prophylactic steroid therapy in Duchenne muscular dystrophy. *J Am Coll Cardiol*. Elsevier Inc.; 2013 Mar 5;61(9):948-54.
26. Angelini C, Peterle E. Old and new therapeutic developments in steroid treatment in Duchenne muscular dystrophy. *Acta Myol*. 2012;31(13):9-15.
27. Campbell C, Jacob P. Deflazacort for the treatment of Duchenne Dystrophy: a systematic review. *BMC Neurol*. 2003;10:1-10.
28. Hoffman EP, Reeves E, Damsker J, Nagaraju K, McCall JM, Connor EM, et al. Novel approaches to corticosteroid treatment in Duchenne muscular dystrophy. *Phys Med Rehabil Clin N Am*. 2012 Nov;23(4):821-8.
29. McDonald DGM, Kinali M, Gallagher AC, Mercuri E, Muntoni F, Roper H, et al. Fracture prevalence in Duchenne muscular dystrophy. *Dev Med Child Neurol*. 2002;44(10):695-8.
30. Grange RW, Call J a. Recommendations to define exercise prescription for duchenne muscular dystrophy. *Exerc Sport Sci Rev*. 2007;35:12-7.
31. Alexander WM, Smith M, Freeman BJC, Sutherland LM, Kennedy JD, Cundy PJ. The effect of posterior spinal fusion on respiratory function in Duchenne muscular dystrophy. *Eur Spine J*. 2013 Feb;22(2):411-6.
32. Galasko Cs. Medical management of Duchenne muscular dystrophy. *BMJ*. 1993;306(March):1993.
33. Griffet J, Decroq L, Rauscent H, Richelme C, Fournier M. Lower extremity surgery in muscular dystrophy. *Orthop Traumatol Surg Res*. 2011 Oct;97(6):634-8.
34. Forst J, Forst R. Surgical treatment of Duchenne muscular dystrophy patients in

Germany: the present situation. *Acta Myol.* 2012;31:21-3.

35. Goyenvallée A, Seto JT, Davies KE, Chamberlain J. Therapeutic approaches to muscular dystrophy. *Hum Mol Genet.* 2011 Apr 15;20(R1):R69-78.

36. Konieczny P, Swiderski K, Chamberlain JS. Gene and cell-mediated therapies for muscular dystrophy. *Muscle Nerve.* 2013 May;47(5):649-63.

37. Rodino-Klapac LR, Mendell JR, Sahenk Z. Update on the treatment of Duchenne muscular dystrophy. *Current neurology and neuroscience reports.* 2013. p. 332.

38. Rando TA. Non-viral gene therapy for Duchenne muscular dystrophy: progress and challenges. *Biochim Biophys Acta.* 2007 Feb;1772(2):263-71.

39. Park I-H. DYS-HAC-iPS cells: the combination of gene and cell therapy to treat Duchenne muscular dystrophy. *Mol Ther.* 2010 Feb;18(2):238-40.

40. Bowles DE, McPhee SWJ, Li C, Gray SJ, Samulski JJ, Camp AS, et al. Phase 1 gene therapy for Duchenne muscular dystrophy using a translational optimized AAV vector. *Mol Ther.* Nature Publishing Group; 2012 Feb;20(2):443-55.

41. Mendell JR, Rodino-Klapac LR, Malik V. Molecular therapeutic strategies targeting Duchenne muscular dystrophy. *J Child Neurol.* 2010 Sep;25(9):1145-8.

42. U. S. National Institutes of Health. *Clinicaltrials.gov* [Online]. 2015 [cited 2015 April 14].

Available from:

<https://clinicaltrials.gov/ct2/results?term=+duchenne+muscular+dystrophy+treatment&Search=Search>

43. Aoki Y, Yokota T, Wood MJ a. Development of multiexon skipping antisense oligonucleotide therapy for Duchenne muscular dystrophy. *Biomed Res Int.* 2013 Jan;2013:1-8.

44. Partridge T. The Potential of Exon Skipping for Treatment for Duchenne Muscular Dystrophy. 2013;25(9):1165-70.

45. Chakkalakal J V, Thompson J, Parks RJ, Jasmin BJ. Molecular, cellular, and pharmacological therapies for Duchenne/Becker muscular dystrophies. *FASEB J.* 2005;19(2):880-91.

46. Fairclough RJ, Bareja A, Davies KE. Progress in therapy for Duchenne muscular dystrophy. *Exp Physiol.* 2011 Nov;96(11):1101-13.

47. Markert CD, Atala A, Cann JK, Christ G, Furth M, Ambrosio F, et al. Mesenchymal stem cells: emerging therapy for Duchenne muscular dystrophy. *PM R.* 2009 Jun;1(6):547-59.

48. Goudenege S, Lamarre Y, Dumont N, Rousseau J, Frenette J, Skuk D, et al. Laminin-111: a potential therapeutic agent for Duchenne muscular dystrophy. *Mol Ther.* Nature Publishing Group; 2010 Dec;18(12):2155-63.

49. Kunkel LM, Bachrach E, Bennett RR, Guyon J, Steffen L. Diagnosis and cell-based therapy for Duchenne muscular dystrophy in humans, mice, and zebrafish. *J Hum Genet.* 2006 Jan;51(5):397-406.

50. Maltzahn J Von, Renaud J, Parise G, Rudnicki MA. Wnt7a treatment ameliorates muscular dystrophy. 2012;6-11.

51. Vianello S, Yu H, Voisin V, Haddad H, He X, Foutz AS, et al. Arginine butyrate: a therapeutic candidate for Duchenne muscular dystrophy. *FASEB J.* 2013 Jun;27(6):2256-69.
52. Malik V, Rodino-Klapac LR, Mendell JR. Emerging drugs for Duchenne muscular dystrophy. *Expert Opin Emerg Drugs.* 2012 Jun;17(2):261-77.
53. Escolar DM, Zimmerman a, Bertorini T, Clemens PR, Connolly a M, Mesa L, et al. Pentoxifylline as a rescue treatment for DMD: a randomized double-blind clinical trial. *Neurology.* 2012 Mar 20;78(12):904-13.
54. Zimmerman A, Clemens PR, Tesi-Rocha C, Connolly A, Iannaccone ST, Kuntz N, et al. Liquid formulation of pentoxifylline is a poorly tolerated treatment for duchenne dystrophy. *Muscle Nerve.* 2011 Aug;44(2):170-3.
55. Passamano L, Taglia A, Palladino A. Improvement of survival in Duchenne Muscular Dystrophy: retrospective analysis of 835 patients. *Acta Myol.* 2012;31:121-5.
56. Rüdell R. Symptomatic therapy of duchenne muscular dystrophy (dmd). *Acta Myol.* 2012;31(Dmd):2-3.
57. Scheuerbrandt G. The progress reports on the development of therapies of Duchenne muscular dystrophy. *Acta Myol.* 2009;28:62-5.