

## **DISTROFIA MUSCULAR DE DUCHENNE: Eventos Celulares, Teciduais e Tratamentos**

Samuel Iwao Maia Horita<sup>1</sup>, Felipe Mactavisch da Cruz<sup>2</sup>

### **Resumo**

A distrofia muscular de Duchenne afeta aproximadamente 1 a cada 3500 meninos nascidos vivos. A causa da doença é a ausência da distrofina: proteína do complexo distroglicano presente nas fibras musculares. Ao nascimento, não é possível observar os sintomas, porém a doença progride rapidamente necessitando do uso de cadeira de rodas. Mesmo com intervenções farmacológicas e médicas, o paciente sucumbe por complicações cardiorrespiratórias. A fisiopatologia da doença consiste em eventos celulares e teciduais. Ocorrem anormalidades celulares na homeostase de cálcio, na proteólise, no apoptose, no estresse oxidativo e na integridade da membrana. No tecido, as manifestações patológicas são disfunções vasculares, fibrose e infiltrado inflamatório no músculo. A fim de amenizar e atrasar os sintomas da doença, há uma grande variedade de tratamentos que são divididos em intervenções farmacológicas, terapias celulares e terapias gênicas. O presente trabalho visa descrever a fisiopatologia da doença e discutir os tratamentos disponíveis ou em desenvolvimento.

**Palavras-chave:** Distrofia muscular de Duchenne, Fisiopatologia, Tratamento

## **DUCHENNE MUSCULAR DYSTROPHY: Cellular, Tissue and Treatment Events**

### **Abstract**

The muscular dystrophy affects approximately 1 per 3500 live births boys. The cause of the disease is the lack of dystrophin protein: protein complex distroglicano present in the muscle fibers. At birth, it is not possible to observe the symptoms, but the disease progresses rapidly requiring the use of a wheelchair. Even with pharmacological and medical intervention, the patient succumbs to cardiorespiratory complications. The pathophysiology of the disease consists of cellular and tissue events. Occur cellular abnormalities in calcium homeostasis, proteolysis, apoptosis, oxidative stress and membrane integrity. In tissue, the pathological manifestations are vascular disorders, fibrosis and inflammatory infiltrates in the muscle. In order to minimize and delay the symptoms of the disease, there are a variety of treatments that are divided into pharmacological interventions, cell therapies and gene therapies. This paper aims to describe the pathophysiology of the disease and discuss the available and developing treatments.

**Keywords:** muscular Dystrophy Duchenne, Pathophysiology, Treatment

---

<sup>1</sup> Graduado em biomedicina no Centro Universitário Geraldo Di Biase.

<sup>2</sup> Doutor em Ciências (Microbiologia) pela Universidade Federal do Rio de Janeiro

## Introdução

Descoberta pelo pesquisador inglês Eduard Meryon, a Distrofia Muscular de Duchenne (DMD) foi descrita como uma doença que causa fraqueza muscular levando a morte na maioria (MERYON *et al.*, 1851). Muito incidente dentre as distrofias musculares em geral, a DMD é uma doença genética relacionada ao cromossomo X e sua incidência é de um a cada 3500 meninos nascidos vivos (NEGRONI *et al.*, 2015).

O mal se manifesta na infância, progressivamente, e o paciente apresenta dificuldades em executar movimentos simples, como pular e correr, devido o enfraquecimento predominante dos músculos proximais. Fraqueza na cintura e nas pernas favorece o sinal de *Gower*, no qual o paciente distrófico tem dificuldades em levantar-se do chão sem apoio, necessitando de escalar nas próprias pernas para alcançar a posição ereta (BUSHBY *et al.*, 2010).

Grande parte dos afetados pela doença possui um aumento na panturrilha que é chamado de pseudo-hipertrofia. Com tempo, a debilidade aumenta, necessitando do uso de cadeira de rodas em torno dos 12 anos de idade. Mesmo com medidas rigorosas de ventilação mecânica, de cuidados respiratórios e de traqueostomia, os pacientes sucumbem, em média, aos 20 anos de idade por complicações cardiorrespiratórias (EMERY, 2002).

A causa da DMD é a perda funcional da distrofina. Essa é uma proteína do complexo distroglicano que estabiliza a membrana do sarcolema durante a contração e relaxamento muscular (GUMERSON, MICHELLE, 2011). Na ausência dessa proteína, o constante stress mecânico ocasionado pela contração causa a desestabilização do citado complexo. Conseqüentemente, há um aumento da fragilidade da membrana acompanhado de um dano difuso sobre as fibras musculares (MATSUMURA, CAMPBELL, 1994).

A ausência dessa proteína desencadeia eventos fisiopatológicos referentes às células do paciente afetado: há anormalidades na homeostase de cálcio, na proteólise, na apoptose, no estresse oxidativo e na integridade da membrana. Em DMD, também ocorrem manifestações no tecido muscular: disfunções vasculares, fibrose e infiltrado inflamatório (BLAKE *et al.*, 2002).

Apesar da DMD ainda não apresentar cura, desde o seu descobrimento, ocorreram grandes avanços na terapia de forma consistente. Essas podem atuar com ação preventiva impedindo o desenvolvimento de sintomas mais graves. Os tratamentos propostos para a doença de forma geral são divididos em transplantes celulares, terapias gênicas e intervenções farmacológicas (KHURANA, DAVIES, 2003).

### **Eventos celulares**

De forma fisiológica, a contração muscular causa danos nas fibras musculares, essas são regeneradas pelas células satélites que são células pluripotentes residentes no músculo. Considerando que a distrofina estabiliza a membrana muscular durante a contração, em sua ausência na DMD, a membrana do músculo distrófico fica mais suscetível à injúrias. Algumas colorações histológicas que avaliam permeabilidade de membrana e necrose celular positivamente em músculos de pacientes com DMD, isso mostra que a membrana perde sua integridade, o que contribui para a morte celular (GUMERSON, MICHELLE, 2011).

Além disso, a homeostase de cálcio na célula muscular é vital para manter sinalizações fisiológicas. Para isso, algumas organelas, proteínas transportadoras, canais iônicos e algumas substâncias tamponantes no citosol controlam o influxo, o armazenamento e a saída de cálcio da célula. Em pacientes distróficos é possível observar o aumento da concentração de cálcio no interior da célula, o que aponta umas das possíveis causas do extenso dano muscular. O comprometimento da permeabilidade da membrana que ocorre pela ausência da distrofina influencia na atividade de alguns canais de membrana, como os de cálcio. A elevada concentração de cálcio favorece a atividade de proteases, enzimas que degradam proteínas, comprometendo, ainda mais, a integridade da membrana (CONSTANTIN, SEBILLE, COGNARD, 2006).

O aumento da atividade de proteases no músculo distrófico fomenta o desenvolvimento da doença. As enzimas lisossomais e as metaloproteases apresentam importante papel na autofagia que é uma digestão de organelas e estruturas da célula. O aumento de cálcio no interior da célula favorece a ação das calpaínas e do proteossomo. As calpaínas, proteases dependentes de cálcio, degradam fatores de transcrição, quinases, estruturas do citoesqueleto e proteínas sarcoplasmáticas. O proteossomo é um complexo com vários sítios catalíticos,

quando inibido em testes terapêuticos o quadro patológico apresenta melhoras (HOLLINGER, SELSBY, 2013).

A apoptose é uma morte programada da célula. Ela é de grande importância para o crescimento e desenvolvimento de organismos, além de influenciar fortemente na resposta imune contra doenças. Algumas manifestações bioquímicas caracterizam a apoptose, como a fragmentação do material genético e o aumento da atividade de caspases para degradação de proteínas (LIM, KIM, BANG, 2004). Em células musculares de camundongos *mdx* (modelo animal para DMD), foi observado o DNA fragmentado em estágios iniciais da doença. Esse evento também foi observado em células satélites e macrófagos. As células musculares de *mdx* são mais sensíveis a indução de apoptose comparadas às células musculares saudáveis (BLAKE *et al.*, 2002).

As espécies reativas de oxigênio (EROs) são moléculas com alta reatividade, produto de uma redução univalente. O estresse oxidativo contribui para progressão da doença. O aumento de enzimas antioxidantes para defesa contra elevados níveis de EROs é observada em pacientes com DMD e camundongos *mdx*. A doença também apresenta alta oxidação lipídica e proteica. As lesões histopatológicas presentes na DMD possuem grandes similaridades com danos induzidos por estresse oxidativo, evidenciando a participação dos EROs no desenvolvimento da DMD (KOZAKOWSKA *et al.*, 2016).

### **Eventos teciduais**

A fibrose é a deposição de componentes da matriz extracelular de forma descontrolada e excessiva. Ela ocorre quando o reparo tecidual está desregulado. Uma das principais características da DMD é a fibrose, esta diminui a mobilidade do paciente e dificulta o tratamento. Diversos fatores contribuem para esse evento patológico, o fator transformador de crescimento- $\beta$  (TGF- $\beta$ ) que promove o aumento da produção de colágeno e fibronectina pelos fibroblastos. A baixa expressão de proteases na matriz extracelular agrava a doença, pois aumenta a deposição de fibras. O infiltrado inflamatório também fomenta a fibrose, a depleção genética ou farmacológica diminui esse quadro clínico (KHARRAZ *et al.*, 2014).

A invasão de células inflamatórias no músculo distrófico fomenta a patogênese da DMD. Os perfis celulares mais encontrados são: linfócitos T auxiliares, linfócitos T citotóxicos, células exterminadoras naturais (NK) e eosinófilos (VILLALTA, ROSENBERG, BLUESTONE, 2015). A presença de linfócitos (CD3+) está relacionada ao agravo da doença. A depleção de linfócitos T CD4+ e T CD8+ melhoram aspectos histológicos do tecido muscular (SPENCER *et al.*, 2001). A população de T CD8+ mostrou um grande papel no desenvolvimento da fibrose tecidual em camundongos distróficos (MORRISON *et al.*, 2000).

Segundo Villalta e colaboradores (2008), o infiltrado de macrófagos contribui para a necrose de células musculares. No entanto, existem dois tipos de macrófago: M1 e M2. O macrófago M1 tem perfil pró-inflamatório, então invade os tecidos provocando dano agudo. O macrófago M2 migra para o músculo em estágios mais tardios e favorece a regeneração e o crescimento muscular. A depleção de M1 mostra grandes efeitos positivos, porém, em M2 isso não é observado, visto que esse tipo celular contribui para o reparo tecidual.

Anormalidades vasculares também são observadas na DMD. A causa central seria o comprometimento da atividade da enzima óxido nítrico sintetase neuronal (nNOS) que é um dos componentes do complexo distroglicano e tem sua função afetada pela ausência de distrofina. Isto causa uma baixa disponibilidade de óxido nítrico no músculo, fazendo com que o estímulo simpático predomine. Deste modo, há um aumento da vasoconstrição, o que dificulta a microcirculação local e resulta em hipóxia muscular (THOMAS, 2013).

### **Tratamentos para DMD**

As terapias celulares visam à reposição da distrofina no músculo distrófico. Os transplantes de mioblastos de organismos saudáveis injetados em pacientes com DMD ainda não obtiveram sucesso devido a baixa migração e sobrevivência dessas células, além da rejeição imunológica dos mioblastos transplantados. As células-tronco embrionárias têm sido usadas como estratégia terapêutica e os mesoangioblastos mostraram resultados pré-clínicos promissores. Esses possuem grande capacidade de atravessar os vasos sanguíneos para chegar aos músculos favorecendo a regeneração e melhora do quadro patológico de diversas distrofias (FALZARANO *et al.*, 2015).

As terapias gênicas viabilizam a expressão da distrofina em pacientes distróficos. Um método que abrange todos os tipos de pacientes, independente do perfil genético, é a inserção do gene utilizando o vírus adeno-associado. Esse vírus já é muito utilizado como vetor pela sua baixa patogenicidade, pelo seu conhecimento genético e pela sua afinidade por musculatura estriada. O tamanho desse vetor dificulta a terapia, visto que o gene da distrofina é muito grande. Portanto, há necessidade da produção de um gene menor com porções essenciais da distrofina. Essa nova proteína, a *microdistrofina*, proporciona uma melhora no fenótipo (SETO, BENGTTSSON, CHAMBERLAIN, 2014).

Referindo-se aos tratamentos farmacológicos temos algumas categorias de medicamentos tais como: compostos anabólicos, anti-inflamatórios, antioxidantes e antifibróticos (DE LUCA, 2012).

Os compostos anabólicos não ficam restritos ao aumento muscular dos atletas. Para distrofias esses mostram grandes benefícios. Seus conhecidos efeitos adversos devem ser relevados durante o tratamento visando a melhora do paciente. A baixa produção endógena de hormônios androgênicos em pacientes distróficos explica a efetividade do tratamento, considerando que o músculo desses tem pouco estímulo anabólico. No tratamento ocorre o aumento da síntese proteica, da massa muscular e da força nos músculos (WALTER, LOCHMÜLLER, 2001)

Considerando que os constantes vazamentos de conteúdo intracelular favorecem o infiltrado inflamatório e essas células fomentam o desenvolvimento da doença, as drogas anti-inflamatórias são usadas como tratamento. Os glicocorticoides possuem grandes efeitos terapêuticos na doença: diminuição da patogênese, aumento da massa muscular e da força. A administração está relacionada à diminuição de células T no infiltrado e especificamente de células T citotóxicas (ROSENBERG *et al.*, 2015).

Apesar dos pontos positivos de seus usos, os glicocorticoides possuem muitos efeitos colaterais. Inchaço, ganho de peso e perda de massa óssea são os mais característicos. A prednizona e deflazacorte são os mais utilizados. A fim de minimizar os efeitos adversos, as doses únicas por semana ou alternadas (10 dias com tratamento e 10 dias sem) são as opções para um tratamento mais viável (ABDEL-HAMID, CLEMENS, 2012; WEIN, ALFANO, FLANIGAN, 2015).

A nNOS juntamente com a distrobrevina e sintrofina se ligam à distrofina. Na ausência da distrofina, a nNOS fica dispersa no citoplasma comprometendo sua atividade. Isso aumenta o estresse oxidativo contribuindo para o desenvolvimento da doença. As drogas antioxidantes: Ubiquinona, N-acetilcisteína e Idebenona apresentaram melhoras histopatológicas no músculo (BLAT, BLAT, 2015).

A fibrose é um evento presente no curso da doença, portanto, os mediadores da mesma são um dos alvos terapêuticos. A molécula mais envolvida é o TGF- $\beta$  que estimula a síntese elevada de colágeno, desenvolvendo a fibrose. A angiotensina aumenta a produção de TGF- $\beta$  fazendo com que os inibidores da enzima conversora de angiotensina (ECA) sejam utilizados para tratamento da doença. Esses melhoram a fibrose, funções cardíacas e musculares do paciente tratado (KORNEGAY *et al.*, 2014).

Os tratamentos atuais para DMD, tanto a terapia gênica quanto a celular, apresentam muitas dificuldades e obstáculos na sua execução mesmo mostrando pontos positivos para seu uso. O sistema imune do distrófico pode responder negativamente aos vetores virais, aos mioblastos transferidos e à distrofina recém-sintetizada. A instabilidade da expressão da proteína, a toxicidade e a dificuldade da distribuição também prejudicam essas estratégias (KHURANA, DAVIES, 2003). A intervenção farmacológica mais utilizada, os glicocorticoides, apresentam pontos favoráveis para seu uso, porém seus efeitos colaterais são extensos (BLAT, BLAT, 2015).

### **Considerações finais**

Considerando o que foi exposto, a DMD é uma doença genética letal e sua causa central é a ausência da distrofina. A partir disso, diversos eventos, tanto celulares quanto teciduais, são desencadeados. Vários fatores devem ser avaliados em conjunto a fim de combater, conhecer e desenvolver tratamentos. Visto que o paciente sucumbe na maioria, qualquer avanço que proporcione uma melhora no quadro é relevante.

Um maior conhecimento sobre as manifestações patológicas da DMD mostra a importância da distrofina e do complexo distroglicano. Além disso, possivelmente esclarece os

mecanismos capazes de compensar sua ausência, aponta novos alvos terapêuticos para pesquisa científica e desmistifica outras distrofias com mecanismos semelhantes. Além de elucidar métodos eficazes no diagnóstico da doença.

A cura para a doença ainda não é concreta, porém, alguns tratamentos mostram-se promissores. Mesmo com a efetividade, as terapias em geral só amenizam sintomas mais severos. Os tratamentos mais sofisticados são pouco acessíveis e os farmacológicos apresentam efeitos colaterais. A busca por novas terapias é indispensável.

## Referências

- ABDEL-HAMID, Hoda; CLEMENS, Paula R. **Pharmacological therapies for muscular dystrophies**. *Current opinion in neurology*, v. 25, n. 5, p. 604–8, 2012.
- BLAKE, Derek J. et al. **Function and genetics of dystrophin and dystrophin-related proteins in muscle**. *Physiological reviews*, v. 82, n. 2, p. 291–329, 2002.
- BLAT, Yuval.; BLAT, Shachar. **Drug Discovery of Therapies for Duchenne Muscular Dystrophy**. *Journal of Biomolecular Screening*, 2015.
- BUSHBY, Katharine et al. **Diagnosis and management of Duchenne muscular dystrophy, part 1: diagnosis, and pharmacological and psychosocial management**. *The Lancet Neurology*, v. 9, n. 1, p. 77–93, 2010.
- CONSTANTIN, Bruno; SEBILLE, Stéphane; COGNARD, Christian. **New insights in the regulation of calcium transfers by muscle dystrophin-based cytoskeleton: implications in DMD**. *Journal of muscle research and cell motility*, v. 27, n. 5-7, p. 375–86, 2006.
- DE LUCA, Annamaria. **Pre-clinical drug tests in the mdx mouse as a model of dystrophinopathies: An overview**. *Acta Myologica*, v. 31, n. MAY, p. 40–47, 2012.
- EMERY, Alan EH. **The muscular dystrophies**. *The Lancet*, v. 359, n. 9307, p. 687–695, fev. 2002.
- FALZARANO, Maria Sofia et al. **Duchenne Muscular Dystrophy: From Diagnosis to Therapy**. *Molecules*, v. 20, n. 10, p. 18168–18184, 2015.
- GUMERSON, Jessica D.; MICHELE, Daniel E. **The dystrophin-glycoprotein complex in the prevention of muscle damage**. *Journal of Biomedicine and Biotechnology*, v. 2011, 2011.
- HOLLINGER, K.; SELSBY, J. T. **The physiological response of protease inhibition in dystrophic muscle**. *Acta physiologica (Oxford, England)*, v. 208, n. 3, p. 234–44, 2013.
- KHARRAZ, Yacine, et al. **Understanding the process of fibrosis in Duchenne muscular dystrophy**. *BioMed research international*, v. 2014, p. 965631, 2014.
- KHURANA, Tejvir S.; DAVIES, Kay E. **Pharmacological strategies for muscular dystrophy**. *Nature Reviews Drug Discovery*, v. 2, n. 5, p. 379–390, maio 2003.
- KORNEGAY, J. N. et al. **Pharmacologic management of Duchenne muscular dystrophy: target identification and preclinical trials**. *ILAR journal / National Research Council, Institute of Laboratory Animal Resources*, v. 55, n. 1, p. 119–49, 2014.
- KOZAKOWSKA, M.; ALICJA, K. P. **The role of oxidative stress in skeletal muscle injury and regeneration: focus on antioxidant enzymes**. *Journal of Muscle Research and Cell Motility*, 2015.

LIM, Jeong-Hoon; KIM, Dai-Youl; BANG, Moon Suk. **Effects of exercise and steroid on skeletal muscle apoptosis in the mdx mouse.** Muscle & nerve, v. 30, n. 4, p. 456–62, 2004.

MATSUMURA, K.; CAMPBELL, K. P. **Dystrophin-glycoprotein complex: its role in the molecular pathogenesis of muscular dystrophies.** Muscle & nerve, v. 17, n. 1, p. 2–15, 1994.

MERYON, Edward.; D., M.; P., L. R. C. **Granular and fatty degeneration of the voluntary muscles.** Med Chir Trans, 1851.

MORRISON, J., et al **T-cell-dependent fibrosis in the mdx dystrophic mouse.** Laboratory investigation; a journal of technical methods and pathology, v. 80, n. 6, p. 881–891, 2000.

NEGRONI, E. et al. **Invited review: Stem cells and muscle diseases: advances in cell therapy strategies.** Neuropathology and Applied Neurobiology, v. 41, n. 3, p. 270–287, 2015.

ROSENBERG, Amy S. et al. **Immune-mediated pathology in Duchenne muscular dystrophy.** Science Translational Medicine, v. 7, n. 299, p. 299rv4–299rv4, 2015.

SETO, Jane T.; BENGTSSON, Niclas E.; CHAMBERLAIN, Jeffrey S. **Therapy of Genetic Disorders- Novel Therapies for Duchenne Muscular Dystrophy.** Current pediatrics reports, v. 2, n. 2, p. 102–112, 2014.

SPENCER, Melissa J. et al. **Helper (CD4(+)) and cytotoxic (CD8(+)) T cells promote the pathology of dystrophin-deficient muscle.** Clinical immunology (Orlando, Fla.), v. 98, n. 2, p. 235–243, 2001.

THOMAS, Gail D. **Functional muscle ischemia in Duchenne and Becker muscular dystrophy.** Frontiers in physiology, v. 4, n. December, p. 381, 2013.

VILLALTA, S. Armando, et al. **Shifts in macrophage phenotypes and macrophage competition for arginine metabolism affect the severity of muscle pathology in muscular dystrophy.** Human Molecular Genetics, v. 18, n. 3, p. 482–496, 2008.

VILLALTA, S. Armando; ROSENBERG, Amy S.; BLUESTONE, Jeffrey A. **The immune system in Duchenne muscular dystrophy: Friend or foe.** Rare Diseases, v. 3, n. 1, p. 1–5, 2015.

WALTER, Maggie C.; LOCHMÜLLER, H. **Expert Opinion on Investigational Drugs Novel approaches to treat muscular dystrophies.** Expert Opinion on Investigational Drugs, [s.d.].

WEIN, Nicolas; ALFANO, Lindsay; FLANIGAN, Kevin M. **Genetics and Emerging Treatments for Duchenne and Becker Muscular Dystrophy.** Pediatric Clinics of North America, v. 62, n. 3, p. 723–742, 2015.