

Estudos Interdisciplinares em Ciências da Saúde

Volume 20



Periodicojs
EDITORA ACADÊMICA

Equipe Editorial

Abas Rezaey	Izabel Ferreira de Miranda
Ana Maria Brandão	Leides Barroso Azevedo Moura
Fernando Ribeiro Bessa	Luiz Fernando Bessa
Filipe Lins dos Santos	Manuel Carlos Silva
Flor de María Sánchez Aguirre	Renísia Cristina Garcia Filice
Isabel Menacho Vargas	Rosana Boullosa

Projeto Gráfico, editoração e capa

Editora Acadêmica Periodicojs

Idioma

Português

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

(Câmara Brasileira do Livro, SP, Brasil)

E82	Estudos Interdisciplinares em Ciências da Saúde - volume 20. / Filipe Lins dos Santos. (Editor) – João Pessoa: Periodicojs editora, 2025. E-book: il. color. Inclui bibliografia ISBN: 978-65-6010-199-9 1. Estudos interdisciplinares. 2. Ciências da Saúde. I. Santos, Filipe Lins dos. II. Título. CDD 610
-----	---

Elaborada por Dayse de França Barbosa CRB 15-553

Índice para catálogo sistemático:

Índices para catálogo sistemático:

1. Ciências da Saúde: estudos 610

Obra sem financiamento de órgão público ou privado

Os trabalhos publicados foram submetidos a revisão e avaliação por pares (duplo cego), com respectivas cartas de aceite no sistema da editora.

A obra é fruto de estudos e pesquisas da seção de Estudos Interdisciplinares em Ciências da Saúde da Coleção de livros Estudos Avançados em Saúde e Natureza



**Filipe Lins dos Santos
Presidente e Editor Sênior da Periodicojs**

CNPJ: 39.865.437/0001-23

Rua Josias Lopes Braga, n. 437, Bancários, João Pessoa - PB - Brasil
website: www.periodicojs.com.br
instagram: @periodicojs

Capítulo 3

TERAPIA GÊNICA NA DISTROFIA MUSCULAR DE DUCHENNE: AVANÇOS, DESAFIOS E PERSPECTIVAS



TERAPIA GÊNICA NA DISTROFIA MUSCULAR DE DUCHENNE: AVANÇOS, DESAFIOS E PERSPECTIVAS

GENE THERAPY IN DUCHENNE MUSCULAR DYSTROPHY: ADVANCES, CHALLENGES AND PERSPECTIVES

Marylícia Cintia Thomaz da Silva Amorim¹

Fernanda Ramos de Paula²

Túlio César Ferreira³

Resumo: Introdução: A Distrofia Muscular de Duchenne (DMD) é uma doença genética progressiva caracterizada pela degeneração muscular devido à ausência da proteína distrofina. Este estudo realiza uma revisão bibliográfica enfocando os avanços na terapia gênica para o tratamento da DMD, abordando quatro áreas principais: a eficácia de diversos vetores virais, as variantes genéticas do gene DMD, os riscos de imunogenicidade e as tecnologias emergentes. Metodologia: Utilizando uma abordagem qualitativa, foram analisados artigos e estudos clínicos sobre técnicas como exon-skipping, CRISPR-Cas9, além de terapias baseadas em vetores virais (como AAV) e o uso de oligonucleotídeos antisense (AONs). Referencial Teórico: A revisão evidencia os resultados de eficácia, os desafios técnicos, como a resposta imunológica aos vetores e as limitações no transporte gênico, bem como as potencialidades e obstáculos, incluindo a variabilidade dos resultados, a necessidade de administrações repetidas e questões relacionadas a custo e acessibilidade. Considerações Finais: Considera-se que, apesar do grande potencial da terapia gênica para a DMD, ainda há desafios a serem superados, tanto técnicos quanto sociais. Este artigo oferece uma visão abrangente do estado atual da pesquisa e reforça a importância do contínuo desenvolvimento e aprimoramento dessas abordagens terapêuticas.

1 Aluna do Curso de Biomedicina do Centro Universitário ICESP

2 Orientador e Professora Especialista do Curso de Biomedicina do Centro Universitário ICESP

3 Orientador e Professor Especialista do Curso de Biomedicina do Centro Universitário ICESP



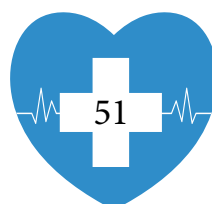
Palavras-Chave: Terapia Gênica; Distrofia Muscular de Duchenne, Vetores Virais, Mutações Genéticas, Imunogenicidade, CRISPR-Cas9 e Exon-Skipping (Salto de Éxon).

Abstract: Introduction: Duchenne Muscular Dystrophy (DMD) is a progressive genetic disease characterized by muscle degeneration due to the absence of the dystrophin protein. This study conducts a literature review focusing on advances in gene therapy for the treatment of DMD, addressing four main areas: the efficacy of various viral vectors, genetic variants of the DMD gene, immunogenicity risks, and emerging technologies. Methodology: Using a qualitative approach, articles and clinical studies on techniques such as exon-skipping, CRISPR-Cas9, as well as viral vector-based therapies (such as AAV) and the use of antisense oligonucleotides (AONs) were analyzed. Theoretical Framework: The review highlights efficacy results, technical challenges, such as the immune response to vectors and limitations in gene delivery, as well as potential and obstacles, including variability in results, the need for repeated administrations, and issues related to cost and accessibility. Final Considerations: Despite the great potential of gene therapy for DMD, there are still challenges to be overcome, both technical and social. This article provides a comprehensive overview of the current state of research and reinforces the importance of the continued development and improvement of these therapeutic approaches.

Keywords: Gene Therapy; Duchenne Muscular Dystrophy; Viral Vectors; Genetic Mutations; Immunogenicity, CRISPR-Cas9, exon-skipping.

Introdução

A Distrofia Muscular de Duchenne (DMD) é uma das formas mais graves e comuns de distrofia muscular infantil, afetando aproximadamente 1 em cada 3.500 a 5.000 meninos nascidos



vivos (Emery, 2002). Essa condição genética é causada por uma mutação no gene responsável pela produção de uma proteína chamada distrofina, essencial para a integridade e funcionamento adequado das fibras musculares. Sem ela, os músculos tornam-se mais frágeis e suscetíveis a danos, levando à perda gradual da força muscular (Rao et al., 2024).

De acordo com Frantz (2023), qualquer erro ou dano em um gene pode desencadear uma doença genética, que muitas vezes é herdada dos pais para os filhos. Estima-se que 13 milhões de pessoas no Brasil sofram de doenças raras, e, 2024, a incidência global de doenças genéticas é de menos de uma pessoa para cada dois mil nascidos vivos.

A DMD é uma condição de herança ligada ao cromossomo X, o que significa que afeta principalmente meninos, embora meninas possam ser portadoras e raramente apresentar sintomas. Os sintomas geralmente aparecem na infância, por volta dos 3 a 5 anos de idade, e incluem fraqueza muscular progressiva, dificuldades para andar, quedas frequentes, aumento do volume muscular (hipertrofia), e problemas respiratórios e cardíacos à medida que a doença avança (Jeppesen et al., 2003).

Embora ainda não exista cura para a DMD, os tratamentos disponíveis podem promover melhorias na qualidade de vida, desacelerar a progressão da doença e aliviar as complicações associadas. O acompanhamento multidisciplinar é essencial para o manejo eficaz dos sintomas, oferecendo suporte integral aos pacientes e suas famílias, e garantindo uma abordagem personalizada e contínua ao longo do tratamento.

Atualmente, o tratamento convencional da DMD foca em retardar a progressão da doença e melhorar a qualidade de vida dos pacientes. O manejo da DMD é um processo multidisciplinar que visa preservar a função motora e controlar complicações respiratórias e cardíacas (Bushby et al., 2010)

Com o avanço das biotecnologias, a terapia gênica surgiu como uma abordagem promissora para o tratamento da DMD. Essa terapia busca restaurar a função das proteínas ausentes ou corrigir mutações genéticas por meio da modificação do material genético das células (MUntoni; Wells, 2007). No caso da DMD, o objetivo da terapia gênica é restabelecer a produção de distrofina ou minimizar os



efeitos de sua ausência, possibilitando uma recuperação parcial da funcionalidade muscular (Hoffman et al., 1987).

Desde o final do século XX, os avanços na terapia gênica, especialmente com o desenvolvimento de vetores virais como o vírus adeno-associado (AAV), têm revolucionado o tratamento da DMD. Esses vetores possibilitam a entrega direcionada de material genético às células musculares afetadas, buscando corrigir ou mitigar a deficiência de distrofina. Com a otimização de sua eficiência, segurança e durabilidade, aliada às inovações em edição genética, como a tecnologia Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats – CRISPR, associated protein 9 - CRISPR/Cas9, esses avanços têm impulsionado estudos clínicos promissores, que demonstram melhorias na função muscular e na qualidade de vida dos pacientes. Apesar dos desafios, como a resposta imunológica, o desenvolvimento de vetores baseados em AAV representa uma das maiores esperanças para uma cura definitiva, abrindo novas possibilidades antes consideradas inalcançáveis (Muntoni et al., 2003).

O objetivo deste estudo é evidenciar os avanços da terapia gênica no tratamento da DMD, com foco em quatro áreas centrais: eficácia dos vetores virais, variantes genéticas do gene DMD, riscos de imunogenicidade e tecnologias emergentes.

Metodologia

O presente artigo é de natureza transversal e qualitativa, realizado por meio de uma revisão de literatura com base na análise de trabalhos publicados. A coleta dos dados foi feita por meio de busca eletrônica nas bases SciELO (Scientific Electronic Library Online), Periódico CAPES e Google Acadêmico. Os descritores utilizados incluíram termos relacionados à DMD), como: “Distrofia Muscular de Duchenne”, “gene DMD”, “distrofina”, “terapia gênica”, “mutações genéticas”, entre outros.

Critérios de inclusão: foram considerados artigos científicos, capítulos de livros, notícias,



editoriais, teses de doutorado, dissertações de mestrado, relatórios técnicos, estudos de revisão narrativa, integrativa e/ou sistemática, redigidos em português, inglês ou espanhol, publicados entre 2002 e 2024 e que abordassem especificamente temas relacionados à DMD. Apenas os documentos com acesso completo ao conteúdo foram utilizados. A seleção inicial foi realizada a partir da análise dos títulos e resumos, sendo os textos que demonstraram adequação ao objetivo do estudo selecionados para leitura na íntegra.

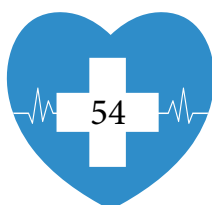
Critérios de exclusão: foram excluídos documentos duplicados entre as bases consultadas, materiais que não respondiam à questão central da pesquisa, publicações fora do recorte temporal proposto e aquelas que, mesmo relacionadas ao tema, não abordavam diretamente aspectos relevantes à DMD conforme os objetivos deste trabalho.

Fisiopatologia da DMD

A DMD, é uma doença genética que afeta principalmente os músculos do corpo. Ela aparece quando o corpo não consegue produzir a proteína distrofina, que funciona como uma espécie de “protetora” dos músculos. Sem essa proteção, com o tempo, dificulta movimentos simples como correr, subir escadas ou até se levantar sozinho. A DMD geralmente começa a se manifestar na infância, e por isso muitas crianças precisam de ajuda para andar ou fazer atividades do dia a dia já nos primeiros anos de vida (Behrman et al., 2002).

Esta doença pertence ao grupo das miopatias geneticamente determinadas, sendo caracterizada por fraqueza, degeneração e atrofia em grupos de músculos esqueléticos específicos, de caráter progressivo e irreversível, cujas alterações patológicas são secundárias à deficiência da proteína do sarcolema distrofina e independem do comprometimento orgânico ou funcional do sistema nervoso central ou periférico (Behrman et al., 2002).

A doença geralmente se manifesta entre os 2 e 5 anos de idade, quando as crianças começam a apresentar dificuldades motoras, como levantar-se do chão, subir escadas e correr, o que é conhecido



como o "sinal de Gowers" (Gowers, 1880). Com o passar do tempo, a fraqueza muscular piora, levando os pacientes a necessitar de cadeira de rodas, geralmente por volta dos 12 anos de idade. Complicações respiratórias e cardíacas, como cardiomiopatia, frequentemente surgem durante a adolescência e são as principais causas de morte entre os pacientes (Moxley et al., 2005).

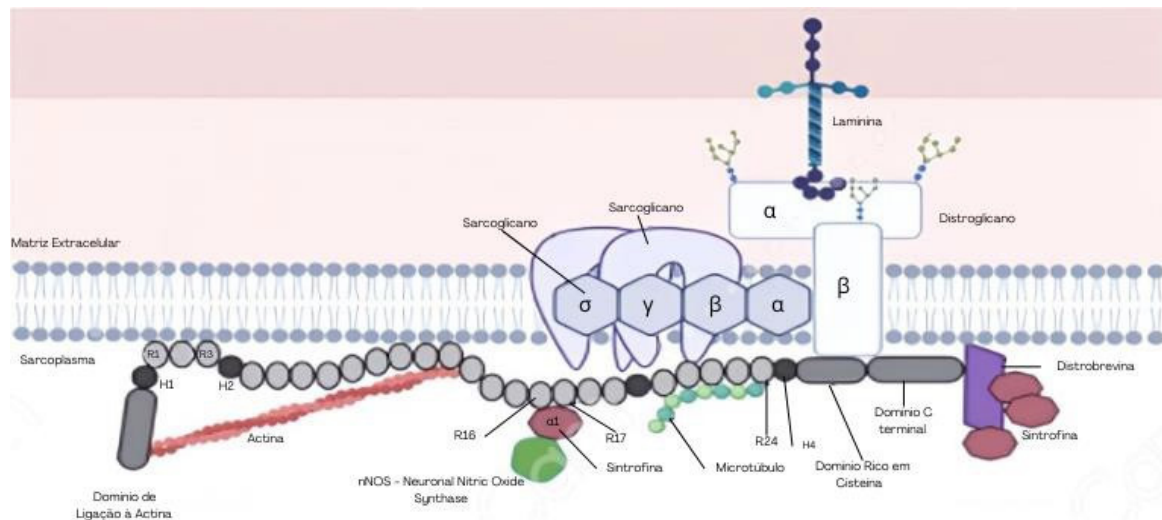
Historicamente, a expectativa de vida dos pacientes com DMD era extremamente curta, com a maioria falecendo na adolescência. No entanto, devido aos avanços nos cuidados médicos, como o uso de ventilação assistida e suporte cardíaco, a expectativa de vida foi aumentada para os 30 anos de vida, ou seja, a vida adulta.

O diagnóstico da DMD é um processo complexo que envolve testes clínicos, laboratoriais e genéticos para garantir precisão. A avaliação inicial frequentemente inclui o teste enzimático de Creatina Quinase (CK), cujos níveis elevados indicam dano muscular, um sinal característico da DMD (Moxley et al., 2005). Se os níveis de CK estiverem alterados, são realizados testes genéticos que podem incluir o Southern Blot para identificar deleções ou duplicações, a reação em cadeia da polimerase (PCR) para detectar mutações específicas e o sequenciamento de nova geração (NGS) para uma análise abrangente das alterações genéticas (Muntoni et al., 2003, Prior & Bridgeman, 2005, e Bushby et al., 2010).

Além dos testes laboratoriais e genéticos, Lacomis (2001) destaca a importância da biópsia muscular como ferramenta diagnóstica da DMD, fornecendo informações sobre a presença e a distribuição da distrofina, bem como alterações histopatológicas como degeneração e regeneração muscular. A eletromiografia (EMG) também pode ser usada para avaliar a atividade elétrica dos músculos e identificar padrões de dano (Jeppesen et al., 2003).



Figura 1. DISTROFINA DE COMPRIMENTO TOTAL E COMPLEXO DE PROTEÍNAS ASSO-
CIADAS À DISTROFINA (DAPC)



Fonte: Elankovan; Dickson, (2021).

A distrofina em sua estrutura é composta por domínios especializados que garantem estabilidade, flexibilidade e conexão funcional com outras proteínas. Inicialmente, o domínio N-terminal da distrofina apresenta alta afinidade com os filamentos de actina do citoesqueleto, promovendo a ancoragem intracelular da proteína. Na figura 1, destaca-se o domínio de haste (rod domain), constituído por 24 repetições do tipo espectrina, que proporcionam rigidez estrutural e, ao mesmo tempo, flexibilidade necessária durante os ciclos de contração muscular (Elankovan; Dickson, 2021).

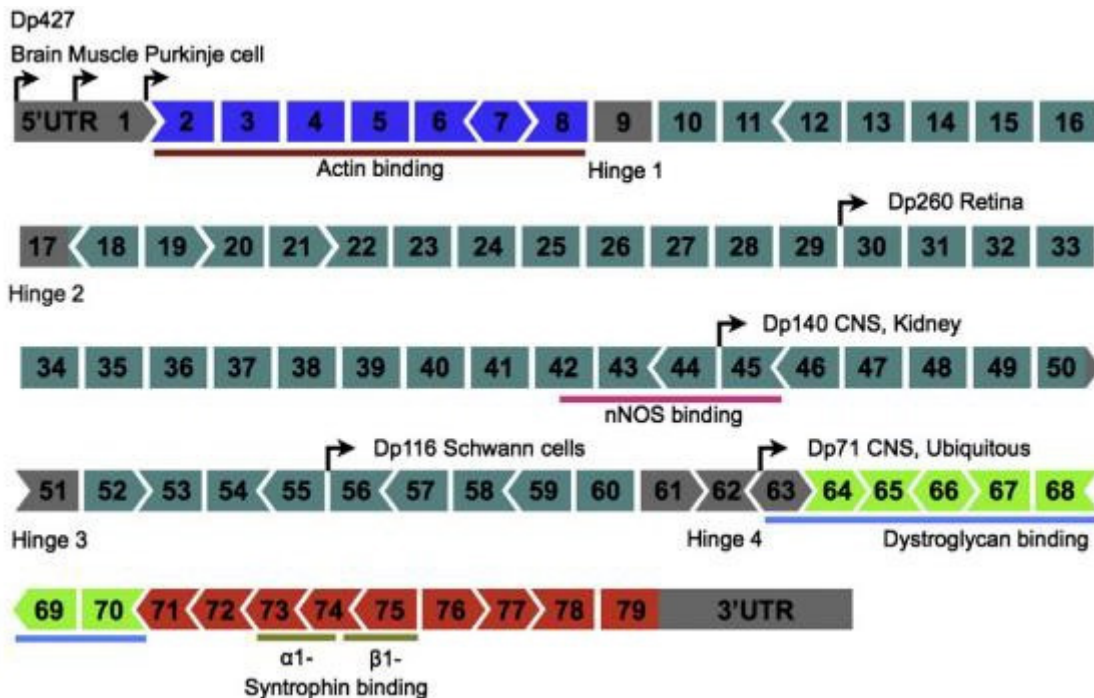
Além disso, as dobradiças articuladas (H1 a H4) conferem capacidade de flexão à molécula, o que é essencial para suportar o estresse mecânico. Na porção central da proteína, os domínios R16 e R17 abrigam o sítio de ligação do óxido nítrico sintase neuronal (nNOS), cuja correta localização no sarcolema permite a regulação local da vasodilatação e da oxigenação muscular (Johnson et al., 2018). Na extremidade C-terminal, encontram-se as regiões de interação com as proteínas sintrofina e distrobrevina, que são cruciais para a estabilidade do Complexo de Proteínas Associadas à Distrofina (DAPC). Complementarmente, o domínio rico em cisteína estabelece a ligação com a distroglicana,

assegurando a fixação do complexo na matriz extracelular (Bushby et al., 2007).

A ação conjunta desses domínios permite que a distrofina funcione como uma ponte biomecânica entre o citoesqueleto da fibra muscular e o meio extracelular, preservando a integridade da membrana plasmática durante a contração muscular. Quando a distrofina está ausente ou funcionalmente comprometida, como nos pacientes com DMD, essa ligação, a ponte biomecânica é rompida. Tal falha é estrutural e desencadeia lesões progressivas na membrana das fibras musculares, culminando em necrose celular, inflamação crônica e perda de massa muscular funcional (Elangkovan; Dickson, 2021).

Na Figura 2 temos ilustrada a estrutura da distrofina (Dp427), destacando seus domínios funcionais e variantes geradas por splicing alternativo. Nessa figura tem a visualização da proteína codificada por 79 exons, a Dp427 conecta o citoesqueleto ao complexo distroglicano, garantindo estabilidade à membrana celular durante a contração muscular.

Figura 2. ISOFORMAS E DOMÍNIOS FUNCIONAIS DA DISTROFINA



Fonte: Douglas, Andrew; Wood, Matthew, (2011).



Os exons 1 a 8 formam o domínio de ligação à actina, essencial para preservar a integridade celular sob estresse mecânico (Nicholson et al., 1993). Além dos domínios estruturais, a distrofina apresenta regiões articuladas, chamadas “hinges”, que conferem flexibilidade à proteína. Essas articulações ajudam a absorver o impacto da contração muscular e estão localizadas em regiões específicas entre os exons 8 e 68 (Wells, 2004). A proteína também se liga à enzima óxido nítrico sintase neuronal (nNOS), região que é codificada pelos exons 45 e 46, importante para a regulação do fluxo sanguíneo muscular (Towbin, 1998). As porções finais da distrofina conectam-se ao complexo distroglicano (exons 64–67) e às sintrofinas (exons 70–79), que reforçam a estabilidade estrutural da célula muscular (Muntoni; Wells, 2007).

Outras isoformas da distrofina são expressas em tecidos específicos, como a Dp260 na retina, Dp140 no sistema nervoso central, Dp116 nas células de Schwann e Dp71 em diversos tecidos (Drousiotou et al., 1998).

A Figura 2 é essencial para entender terapias como o "exon skipping", que visa contornar mutações por meio da exclusão de exons específicos durante a transcrição do RNA. Essa abordagem permite a produção de uma distrofina funcional, ainda que truncada, com potencial terapêutico significativo na DMD (Wang et al., 2018).

Terapia Gênica na DMD

A terapia gênica tem se consolidado como uma abordagem terapêutica inovadora para doenças monogênicas, como a DMD. Esta estratégia visa a correção ou substituição de genes defeituosos, restaurando parcialmente a função celular comprometida. No contexto da DMD, cuja origem está em mutações no gene que codifica a distrofina — proteína fundamental para a estabilidade estrutural da fibra muscular — o foco da terapia gênica é restabelecer sua produção e, com isso, atenuar a degeneração muscular (Muntoni; Wells, 2007).



Vetores Virais da Terapia Gênica na DMD

Os vetores virais, originalmente estudados em infecções, foram adaptados para carregar genes terapêuticos de forma segura e eficiente. Os Vírus Adeno-Associados (AAV), adenovírus e retrovírus (incluindo lentivírus) figuram entre os mais utilizados. Vetores AAV são valorizados por sua baixa imunogenicidade e pela habilidade de transduzir diferentes tipos celulares, inclusive musculares. Em especial, os sorotipos AAV9 e AAVrh74 se destacam por ultrapassarem a barreira hematoencefálica e atingirem amplamente os tecidos musculares (Muntoni; Wells, 2007).

Retrovírus, por sua vez, possuem a capacidade de integrar o material genético ao genoma da célula hospedeira, conferindo expressão gênica estável; no entanto, apresentam riscos de mutagênese insercional. Já os adenovírus, apesar de não se integrarem ao genoma, oferecem alta eficiência de transdução e grande capacidade de carga, sendo úteis em protocolos de curta duração (Hoffman et al., 1987; Drousiotou et al., 1998; Muntoni et al., 2003).

Pesquisas demonstraram que a introdução de genes codificadores de distrofina utilizando vetores AAV pode restaurar a função muscular em modelos animais (Nicholson et al., 1993). Contudo, a limitação no tamanho de carga desses vetores é uma barreira, já que o gene da distrofina é um dos maiores do genoma humano. Embora adenovírus e lentivírus possam superar essa limitação, os desafios relacionados à resposta imune e ao risco de oncogênese ainda exigem cautela (Jones; Brown, 2023).

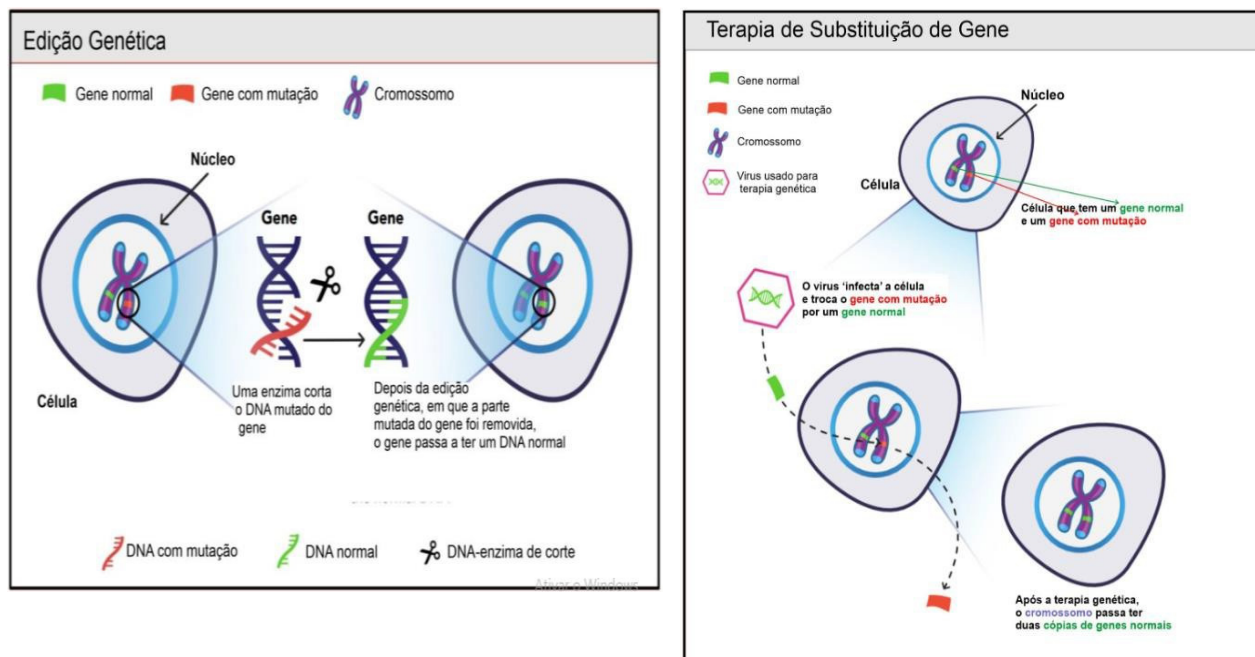
Outro aspecto crítico é a diversidade de mutações que causam a DMD. Estima-se que aproximadamente 60% dos casos sejam atribuídos a grandes deleções no gene da distrofina, seguidos de mutações pontuais e inserções menores (Muntoni et al., 2003). Essa variabilidade genética demanda personalização da terapia gênica, o que reforça a importância de abordagens específicas para cada mutação.

A busca por alternativas mais precisas e menos imunogênicas levou ao desenvolvimento de tecnologias como o CRISPR-Cas9. Essa técnica de edição gênica permite a correção direta de



mutações específicas, com maior precisão e durabilidade, minimizando a dependência de vetores virais e os riscos relacionados à imunogenicidade (Richards et al., 1990; Jeppsen et al., 2003).

Figura 3. O PROCESSO DE EDIÇÃO GENÉTICA E SUBSTITUIÇÃO DE GENE



Fonte: Adaptado de material ilustrativo educativo (RYR-1 Foundation Clinical Care Guidelines)

Antes de abordar as diferenças entre edição gênica e substituição de genes, é fundamental apresentar a tecnologia CRISPR-Cas9 — considerada um dos avanços mais revolucionários da engenharia genética contemporânea. Essa ferramenta permite a edição do DNA genômico de células eucarióticas de forma precisa, eficiente e altamente específica, sendo amplamente utilizada em pesquisas biomédicas e terapias gênicas experimentais. Baseado em um sistema de defesa adaptativa encontrado originalmente em bactérias e arqueias, o mecanismo foi adaptado para fins terapêuticos e consiste na utilização de uma endonuclease (Cas9) guiada por um RNA específico (single guide RNA – sgRNA), que reconhece uma sequência-alvo no genoma e induz uma quebra de fita dupla (double-

strand break – DSB) (Jinek et al., 2012). Essa quebra é, então, reparada pela maquinaria celular por meio de mecanismos como a junção de extremidades não homólogas (NHEJ) ou a recombinação homóloga (HDR), possibilitando a introdução de deleções, inserções ou correções genéticas (Doudna; Charpentier, 2014).

A aplicação do CRISPR-Cas9 em doenças genéticas, como a distrofia muscular de Duchenne (DMD), tem sido explorada com o objetivo de restaurar a funcionalidade da distrofina por meio da correção ou remoção de exons mutados. Estudos experimentais em modelos animais demonstraram que a edição de genes utilizando CRISPR pode restaurar a expressão da distrofina e melhorar a função muscular, o que indica grande potencial terapêutico (Nelson et al., 2016).

A terapia gênica aplicada à DMD tem evoluído com abordagens promissoras, como a edição genética e a terapia de substituição gênica. Entretanto, essas duas apresentam diferenças significativas, enquanto a edição genética, frequentemente realizada por sistemas como o CRISPR-Cas9. O termo CRISPR corresponde a Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats. São segmentos de DNA encontrados em bactérias, compostos por sequências repetitivas curtas intercaladas com “espaçadores” derivados de vírus invasores. Essas regiões funcionam como uma memória genética do sistema imunológico bacteriano. É uma enzima que atua como uma tesoura molecular, capaz de cortar o DNA de forma precisa no local desejado. Ela é guiada por um RNA guia (sgRNA) que a direciona ao ponto específico do genoma. O sgRNA é uma molécula sintética que combina duas partes que ocorrem naturalmente nas bactérias: o primeiro crRNA (CRISPR RNA) que contém a sequência complementar à região-alvo do DNA (a "informação" que guia o corte). Em segundo o tracrRNA (trans-activating CRISPR RNA) que se liga à enzima Cas9 e estabiliza a estrutura para que ela possa cortar o DNA. Assim, na biotecnologia moderna, essas duas moléculas foram fundidas em uma única cadeia chamada sgRNA. Isso tornou o sistema mais prático e eficiente para uso em edição genética, permite o corte específico da região mutada do DNA, seguida por reparo que resulta em uma sequência corrigida e funcional do gene da distrofina (Nelson et al., 2016).

Nesse contexto, a substituição gênica introduz uma cópia funcional do gene por meio de



vetores virais, geralmente adenovírus ou AAV, que inserem o material genético diretamente nas células-alvo. Essas estratégias são representadas na Figura 3, evidenciando os mecanismos moleculares que visam restaurar a expressão da proteína distrofina, cuja ausência caracteriza a DMD.

Imunogenicidade na Terapia Gênica para DMD

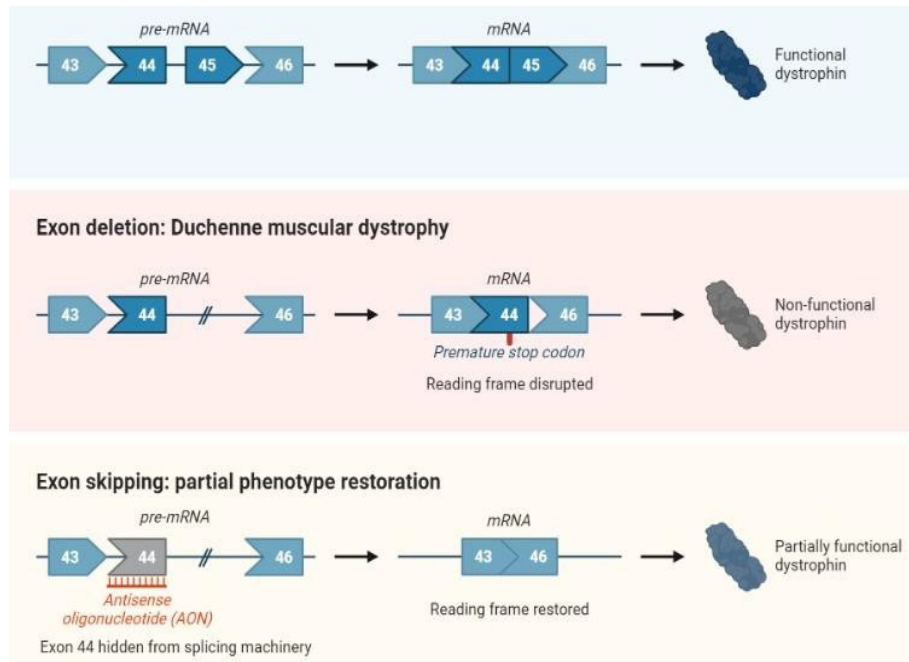
A imunogenicidade é um dos principais desafios da terapia gênica para a Distrofia Muscular de Duchenne (DMD), afetando tanto a eficácia quanto a segurança dos tratamentos (Calcedo et al., 2009). Ela pode ocorrer em diferentes etapas da terapia, envolvendo a resposta imune contra proteínas terapêuticas, como a distrofina recombinante — especialmente em pacientes com deleções completas que nunca expressaram a proteína funcional —, o que pode levar à inflamação muscular e perda do efeito terapêutico (Moxley et al., 2005; Muntoni et al., 2003).

O uso de vetores virais, principalmente Adeno-Associated Virus (AAV), amplia o risco de reações imunológicas, sobretudo em pacientes com anticorpos neutralizantes pré-existentes contra o capsídeo viral, o que compromete a entrega eficiente aos tecidos-alvo (Moxley et al., 2005). A exposição repetida aos vetores pode intensificar essas respostas, reduzindo a eficácia em aplicações futuras (Mendell et al., 2010). Estratégias como o uso de sorotipos alternativos, exclusão de pacientes soropositivos de estudos clínicos ou protocolos de imunossupressão temporária têm sido exploradas, embora apresentem limitações éticas e riscos de infecções oportunistas (Muntoni et al., 2003).

Com terapias emergentes como CRISPR-Cas9, o risco de imunogenicidade também se estende à proteína Cas9, derivada de bactérias, que pode ser reconhecida como antígeno pelo sistema imune humano (Muntoni; Wells, 2007). Diante disso, compreender os mecanismos imunológicos envolvidos e investir em estratégias de imunomodulação e vetores com menor antigenicidade é fundamental para ampliar a segurança, eficácia e o acesso às terapias gênicas para DMD.

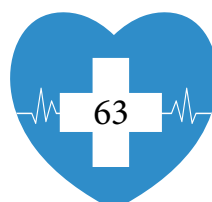


Figura 4. MODELO DE AVALIAÇÃO DE EXON SKIPPING UTILIZANDO CÉLULAS MUSCULARES HUMANAS IMORTALIZADAS TRATADAS COM OLIGONUCLEOTÍDEOS ANTI-SENSE.



Fonte: Arechavala-Gomez et al. (2018).

A Figura 4, apresentada por Arechavala-Gomez et al. (2018), ilustra um modelo experimental baseado em células musculares humanas imortalizadas, utilizado para avaliar, *in vitro*, a eficácia do exon skipping por meio da aplicação de oligonucleotídeos antisense (AO). Este modelo representa um avanço metodológico significativo, pois oferece uma plataforma padronizada e reprodutível, ideal para a comparação quantitativa de diferentes estratégias terapêuticas antes de sua aplicação em modelos animais ou ensaios clínicos. Esse é particularmente relevante no contexto da DMD, que na maioria dos casos, têm mutações com mudança de quadro de leitura (frameshift) no gene da distrofina. Tais mutações resultam na interrupção da leitura correta do RNA mensageiro (mRNA), culminando na produção de uma proteína incompleta e não funcional. Como consequência, a distrofina deixa de cumprir sua função estrutural nas fibras musculares, o que leva à degeneração progressiva do tecido



muscular e à perda de função motora nos pacientes.

O exon skipping constitui, portanto, uma estratégia terapêutica inovadora no tratamento de formas específicas da DMD (AARTSMA-RUS et al., 2009). Essa abordagem utiliza oligonucleotídeos antisense sintéticos para mascarar éxons específicos durante o processamento do RNA mensageiro (pré-mRNA), induzindo a célula a ignorar o éxon defeituoso durante o splicing. Com isso, é possível gerar uma isoforma encurtada, mas funcional, da distrofina (Lim; Maruyama; Yokota, 2017). Ao restaurar parcialmente a funcionalidade da proteína, essa terapia busca retardar a progressão da degeneração muscular e preservar a capacidade motora, o que tem demonstrado resultados promissores em pacientes selecionados (Aartsma-rus; Krieg, 2017).

Do ponto de vista molecular, os AOs são pequenas sequências sintéticas de DNA ou RNA, geralmente compostas por 18 a 30 nucleotídeos, desenhadas para se ligarem de forma específica a regiões complementares do pré-mRNA. A ligação ocorre por complementaridade de bases nitrogenadas (A-U, C-G), especialmente em regiões regulatórias próximas às junções entre éxons e íntrons — locais estratégicos para o reconhecimento do splicing pelo spliceossomo. Ao se ligarem nessas regiões, os AOs bloqueiam fisicamente a ação do spliceossomo, impedindo que o éxon-alvo seja reconhecido e incluído no RNA final. Assim, ocorre o chamado “salto de éxon” (exon skipping), que possibilita a síntese de uma versão funcional da proteína, mesmo que truncada — como ocorre na distrofia muscular de Becker, forma mais branda da doença.

Para exemplificar, considere um paciente com deleção no éxon 50 do gene da distrofina, o que gera um RNA disfuncional. A aplicação de um AO que promova o salto do éxon 51 pode restaurar o quadro de leitura correto, resultando em um RNA mensageiro que codifica uma distrofina funcional encurtada, capaz de exercer parte de sua função estrutural nas fibras musculares (Arechavala-Gomez et al.; 2018)

Adicionalmente, o modelo descrito por Arechavala-Gomez et al. (2018) oferece vantagens técnicas importantes. O uso de células imortalizadas assegura a estabilidade genética e a replicação contínua, eliminando variáveis presentes em culturas primárias, como senescência celular. Após o



tratamento com AOs, os pesquisadores aplicam métodos como RT-PCR para quantificar a eficiência do exon skipping, o que permite uma triagem precisa dos oligonucleotídeos mais eficazes.

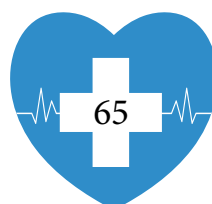
Por fim, é importante destacar que os oligonucleotídeos antisense funcionam como editores temporários de RNA, promovendo uma correção funcional sem alterar permanentemente o DNA do paciente. Esse princípio terapêutico já tem aplicação clínica concreta, como exemplificado pelo medicamento Eteplirsen (Exondys 51®), aprovado para pacientes com mutações compatíveis com o pulo do éxon 51. Além disso, aspectos como a especificidade da ligação ao RNA-alvo, a estabilidade dos AOs no organismo, sua capacidade de penetração no tecido muscular e o uso de veículos de entrega seguros (como nanopartículas lipídicas) são fatores cruciais que continuam sendo otimizados em pesquisas recentes para aumentar a eficácia e segurança dessa abordagem terapêutica.

Desafios na Implementação da Terapia Gênica para a DMD

A terapia gênica tem emergido como uma alternativa promissora para restaurar a produção de distrofina ou mitigar os efeitos de sua ausência. Apesar dos avanços, diversos desafios técnicos, clínicos, éticos e sociais dificultam sua implementação eficaz, exigindo análise crítica das abordagens e implicações para os pacientes.

O uso de vetores virais como o Adeno-Associated Virus (AAV) apresenta grande potencial para entrega do gene terapêutico. Contudo, a baixa capacidade de carregamento genético desses vetores, frente ao tamanho do gene da distrofina, impõe limitações relevantes (Bushby et al., 2010). Além disso, a presença de anticorpos neutralizantes contra o capsídeo viral — especialmente em pacientes previamente expostos ao AAV — pode comprometer a eficácia da terapia (Muntoni et al., 2003). Estratégias alternativas, como o uso de sorotipos menos imunogênicos ou protocolos personalizados de triagem e modulação imune, vêm sendo exploradas para contornar essa limitação.

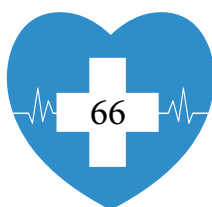
As técnicas como exon-skipping e CRISPR-Cas9 também têm se mostrado promissoras, mas enfrentam entraves específicos.



O exon-skipping permite a produção de uma forma funcional, ainda que truncada, da distrofina, porém requer aplicações frequentes e enfrenta dificuldades quanto à estabilidade e à penetração dos oligonucleotídeos nos tecidos musculares (Falzarano et al., 2014). Além disso, seu efeito terapêutico é transitório, exigindo administrações regulares para manutenção dos benefícios clínicos (Aartsma-rus et al., 2009). O sucesso da técnica depende da localização e do tipo da mutação, o que exige desenvolvimento personalizado dos oligonucleotídeos para subgrupos específicos de pacientes (Lim; Maruyama; Yokota, 2017). Ainda assim, medicamentos como eteplirsen e golodirsen já obtiveram aprovação da U.S. FDA para casos específicos, consolidando o salto de éxon como uma alternativa viável no contexto das doenças genéticas neuromusculares (FDA, 2016; FDA, 2019).

Já a edição gênica via CRISPR-Cas9 se destaca pela precisão e versatilidade, mas enfrenta desafios relacionados à eficiência de edição, riscos de efeitos fora do alvo (off-target effects), entrega segura dos componentes editoriais e potenciais respostas imunológicas contra a proteína Cas9 (Muntoni; Wells, 2007; Hsu; Lander; Zhang, 2014). A aprovação recente do Elevidys® (delandistrogênio moxeparvoveque) pela FDA e pela ANVISA marca um avanço significativo, sendo o primeiro medicamento de terapia gênica autorizado para DMD no Brasil (FDA, 2023; ANVISA, 2024). Indicado para crianças entre 4 e 7 anos que ainda conseguem andar, o Elevidys® introduz um gene codificador da microdistrofina uma versão reduzida e funcional da distrofina com o objetivo de restaurar parcialmente a função muscular (Mendell et al., 2023). No entanto, seu uso requer monitoramento contínuo quanto à eficácia e segurança a longo prazo, conforme exigido por agências reguladoras.

Além do Elevidys®, outras terapias gênicas estão em fases clínicas de desenvolvimento, como GNT-0004 (Geneton), RGX-202 (RegenxBio) e SGT-001 (Solid Biosciences), todas voltadas para a substituição do gene da microdistrofina (CLINICALTRIALS.GOV, 2024). Abordagens complementares, como o uso de medicamentos orais (e.g., SAT-3247, Satellos) e moduladores epigenéticos (e.g., Givinostat – Duvyzat, Italfarmaco), também estão sendo testadas, visando ampliar os efeitos terapêuticos por meio da modulação da inflamação e da fibrose muscular (Pane et al., 2024).

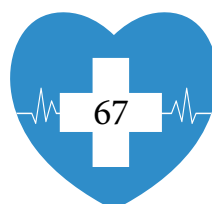


A diversidade genética da DMD, com múltiplas variantes no gene DMD, torna a resposta ao tratamento altamente variável, o que reforça a necessidade de abordagens personalizadas e do desenvolvimento de plataformas terapêuticas adaptáveis. Investimentos em biotecnologia, infraestrutura diagnóstica e capacitação técnica são essenciais para viabilizar essa personalização. A detecção precoce das mutações e a adaptação dos tratamentos ao perfil genético individual dos pacientes representam um caminho promissor para otimizar os resultados e minimizar riscos (González Fernandez et al., 2020).

Finalmente, o alto custo das terapias gênicas representa um desafio adicional, sobretudo em países em desenvolvimento, onde os sistemas públicos de saúde enfrentam limitações orçamentárias (Muntoni; Wells, 2007). Para que esses avanços não fiquem restritos a uma parcela privilegiada da população, será imprescindível a formulação de políticas públicas de financiamento, regulação e inclusão terapêutica (Douglas; Wood, 2011).

Considerações Finais

A terapia gênica para a DMD representa uma esperança concreta para pacientes com poucas opções terapêuticas eficazes. Os principais desafios incluem a natureza progressiva da doença, a ausência de cura definitiva, os efeitos adversos dos corticosteroides e a complexidade das mutações no gene da distrofina, que exigem abordagens individualizadas. Esses fatores impulsionam a busca por terapias mais precisas, destacando-se o uso de vetores virais na entrega gênica. No entanto, sua eficácia depende da superação de obstáculos técnicos e clínicos. A personalização do tratamento, aliada ao aperfeiçoamento dos métodos de entrega e ao controle dos efeitos imunológicos, pode revolucionar o tratamento da DMD, melhorando a qualidade de vida dos pacientes. Para isso, é essencial investir em modelos experimentais mais robustos que aprofundem a compreensão das interações entre mutações e terapias. Além disso, é fundamental monitorar os efeitos a longo prazo, especialmente quanto à imunogenicidade e à segurança genética. Estratégias para modular a resposta imune e o



desenvolvimento de vetores mais eficientes, capazes de transportar genes como o da distrofina, devem ser priorizados. A superação desses desafios exige colaboração entre cientistas, profissionais da saúde e gestores. Garantir equidade no acesso e segurança terapêutica será essencial nas próximas décadas para tornar essa inovação acessível a todos os pacientes.

Agradecimentos

Agradeço à Professora e Especialista Fernanda Ramos, pela orientação dedicada, incentivo constante e valiosas contribuições acadêmicas durante todas as etapas deste trabalho.

Agradeço também ao Professor e Doutor Túlio César Ferreira, pela coorientação, apoio técnico-científico e pelas reflexões enriquecedoras que contribuíram significativamente para o desenvolvimento deste artigo.

Referências

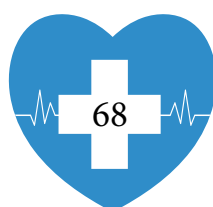
AARTSMA-RUS, A. et al. Theoretical applicability of antisense-mediated exon skipping for Duchenne muscular dystrophy mutations. *Human Mutation*, v. 30, n. 3, p. 293–299, 2009.

AARTSMA-RUS, A.; KRIEG, A. M. FDA Approves Eteplirsen for Duchenne Muscular Dystrophy: The Next Chapter in the Eteplirsen Saga. *Nucleic Acid Therapeutics*, v. 27, n. 1, p. 1–3, 2017.

ADAMS, R. D.; VICTOR, M. *Princípios de neurologia*. 6. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1996.

ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Medicamento de terapia gênica Elevidys® é registrado no Brasil. Brasília: Anvisa, 2024. Disponível em: <https://www.gov.br/anvisa>.

ARECHAVALA-GOMEZA, V.; LEE, J.; JONES, P. L.; et al. Immortalized muscle cell model to assess the efficacy of exon skipping in vitro. *Methods in Molecular Biology*, [S.l.], v. 1687, p. 47–57, 2018. DOI: https://doi.org/10.1007/978-1-4939-7374-3_4. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih>.



gov/29035327/. Acesso em: 30 jun. 2025.

BEHRMAN, R. E.; KLIEGMAN, R. M.; JENSON, H. B. Tratado de pediatria. 16. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002.

BRADLEY, D.; PARSONS, E. Newborn screening for Duchenne muscular dystrophy. *Semin Neonatol*, v. 3, p. 27-34, 1998.

BUSHBY, K. M.; HILL, A.; STEELE, J. G. Failure of early diagnosis in symptomatic Duchenne muscular dystrophy. *Lancet*, v. 353, p. 55-78, 1999.

BUSHBY, K. et al. Diagnosis and management of Duchenne muscular dystrophy, part 1: diagnosis, and pharmacological and psychosocial management. *Lancet Neurol*, v. 9, p. 77-93, 2010.

CALCEDO, R. et al. Worldwide epidemiology of neutralizing antibodies to adeno-associated viruses. *Journal of Infectious Diseases*, v. 199, n. 3, p. 381-390, 2009.

CLINICALTRIALS.GOV. Search results for Duchenne muscular dystrophy and gene therapy. U.S. National Library of Medicine, 2024. Disponível em: <https://clinicaltrials.gov>.

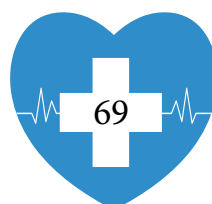
DOUGLAS, A. G. L.; WOOD, M. J. A. Splicing therapy for neuromuscular disease. *Briefings in Functional Genomics*, v. 10, n. 3, p. 151-164, 2011.

DROUSIOTOU, A. et al. Neonatal screening for Duchenne muscular dystrophy. *Genet Test*, v. 2, p. 55-60, 1998.

DOUDNA, J. A.; CHARPENTIER, E. The new frontier of genome engineering with CRISPR-Cas9. *Science*, v. 346, n. 6213, p. 1258096, 2014.

ELANGKOVAN, N.; DICKSON, G. Gene therapy for Duchenne muscular dystrophy. *Curr Opin Pharmacol*, v. 7, n. 3, p. 326-331, 2007.

ELANGKOVAN, N.; DICKSON, G. Emerging gene therapies for muscular dystrophies. *Expert Opin Biol Ther*, v. 21, n. 9, p. 1191-1202, 2021.



EMERY, A. E. Population frequencies of inherited neuromuscular diseases—a world survey. *Neuromuscul Disord*, v. 1, p. 19-29, 1991.

EMERY, A. E. *Neuromuscular disorders: clinical and molecular genetics*. 3. ed. Oxford: Oxford University Press, 2002.

FALZARANO, M. S. et al. Duchenne muscular dystrophy: from diagnosis to therapy. *Molecules*, v. 20, n. 10, p. 18168-18184, 2015.

FDA – U.S. Food and Drug Administration. FDA grants accelerated approval to first drug for Duchenne muscular dystrophy. 2016. Disponível em: <https://www.fda.gov/news-events/press-announcements>.

FDA – U.S. Food and Drug Administration. FDA approves Vyondys 53 for Duchenne muscular dystrophy. 2019. Disponível em: <https://www.fda.gov/news-events/press-announcements>.

FDA. U.S. Food and Drug Administration. FDA approves first gene therapy for Duchenne muscular dystrophy. 2023. Disponível em: <https://www.fda.gov>.

FRANTZ, A. Advances in muscle regeneration. *J Cell Biol*, v. 222, n. 5, p. e202302021, 2023.

GONZÁLES FERNANDEZ, M. et al. New perspectives in Duchenne muscular dystrophy. *Neurology International*, v. 12, n. 2, p. 50-61, 2020.

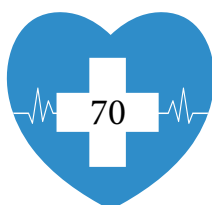
GOWERS, W. R. A lecture on pseudo-hypertrophic muscular paralysis. *British Medical Journal*, v. 1, p. 591-593, 1879.

GOWERS, W. R. *Manual of diseases of the nervous system*. London: Churchill, 1880.

HOFFMAN, E. P.; BROWN, R. H.; KUNKEL, L. M. Dystrophin: the protein product of the Duchenne muscular dystrophy locus. *Cell*, v. 51, p. 919-928, 1987.

HSU, P. D.; LANDER, E. S.; ZHANG, F. Development and applications of CRISPR-Cas9 for genome engineering. *Cell*, v. 157, n. 6, p. 1262–1278, 2014.

JEPPESEN, J. et al. The Duchenne muscular dystrophy population in Denmark, 1977–2001.



Neuromuscul Disord, v. 13, p. 804-812, 2003.

JINEK, M. et al. A programmable dual-RNA-guided DNA endonuclease in adaptive bacterial immunity. *Science*, v. 337, n. 6096, p. 816–821, 2012.

JOHNSON, L. et al. Advances in DMD treatment. *Muscle Nerve*, v. 57, n. 4, p. 497-507, 2018.

JONES, R.; BROWN, T. Novel therapies for Duchenne muscular dystrophy. *Neurol Clin Pract*, v. 13, n. 1, p. 45-53, 2023.

LACOMIS, D. The utility of muscle biopsy. *Curr Neurol Neurosci Rep*, v. 1, p. 81-86, 2001. LEVY, R. J. Advances in neuromuscular diseases. *Pediatrics*, v. 84, p. 18-26, 1989.

LIM, K. R. Q.; MARUYAMA, R.; YOKOTA, T. Eteplirsen in the treatment of Duchenne muscular dystrophy. *Drug Design, Development and Therapy*, v. 11, p. 533–545, 2017.

MENDELL, J. R. et al. Gene therapy for muscular dystrophy: progress and challenges. *Nat Rev Neurol*, v. 6, p. 353-364, 2010.

MENDELL, J. R. et al. Gene therapy for Duchenne muscular dystrophy: safety and efficacy of delandistrogene moxeparvovec. *New England Journal of Medicine*, v. 388, n. 6, p. 545–558, 2023.

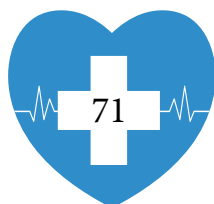
MOXLEY, R. T. III et al. Practice parameter: corticosteroid treatment of Duchenne dystrophy. *Neurology*, v. 64, p. 13-20, 2005.

MUNTONI, F.; WELLS, D. Genetic treatments in muscular dystrophies. *Curr Opin Neurol*, v. 20, p. 590-594, 2007.

MUNTONI, F. et al. Dystrophin and mutations: one gene, several proteins, multiple phenotypes. *Lancet Neurol*, v. 2, p. 731-740, 2003.

NELSON, C. E. et al. In vivo genome editing improves muscle function in a mouse model of Duchenne muscular dystrophy. *Science*, v. 351, n. 6271, p. 403–407, 2016.

NICHOLSON, L. V. B. et al. An integrated study of 100 patients with Xp21 linked muscular dystrophy: clinical, biochemical, and genetic data. *Journal of Medical Genetics*, v. 30, n. 9, p. 728-736, 1993.



PANE, M. et al. Efficacy and safety of Givinostat in boys with Duchenne muscular dystrophy: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Lancet Neurology*, v. 23, n. 2, p. 112–121, 2024.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE. Relatório mundial sobre doenças neuromusculares. Genebra: OMS, 2024.

PRIOR, T. W.; BRIDGEMAN, S. J. Experience and strategy for molecular testing of Duchenne muscular dystrophy. *J Mol Diagn*, v. 7, p. 317-326, 2005.

RAO, V. Koneti . et al. Advances in gene therapy for neuromuscular disorders. *Mol Ther*, v. 32, p. 123-135, 2024.

RICHARDS, C. S. et al. Skewed X inactivation in a female MZ twin results in Duchenne muscular dystrophy. *Am J Hum Genet*, v. 46, p. 672-681, 1990.

TOWBIN, J. A. The role of cytoskeletal proteins in cardiomyopathies. *Curr Opin Cell Biol*, v. 10, p. 131-139, 1998.

WALTON, J. N. Disorders of voluntary muscle. 5. ed. Edinburgh: Churchill Livingstone, 1988.

WANG, Z. et al. Adeno-associated virus serotype 9 efficiently transduces murine neonatal cardiomyocytes in vivo. *Hum Gene Ther*, v. 29, n. 1, p. 30-40, 2018.

WELLS, D. J. Gene therapy progress and prospects: gene therapy for muscular dystrophies. *Gene Ther*, v. 11, p. 1244-1249, 2004.



