

SÍNDROME DE HUTCHINSON-GILFORD OU PROGÉRIA: PASSADO, PRESENTE E ADORDAGENS TERAPÊUTICAS FUTURAS

Ana Rita Ramos Gonçalves

Monografia para obtenção do Grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas

Trabalho efetuado sob a orientação de:
João Varela

2014

Bom mesmo é ir à luta com determinação,

Abraçar a vida

E viver com paixão

Charlie Chaplin

Declaração de autoria de trabalho

*Síndrome de Hutchinson-Gilford ou progéria: passado, presente e abordagens
terapêuticas futuras.*

Declaro ser a autora deste trabalho, que é original e inédito. Autores e trabalhos consultados estão devidamente citados no texto e constam da listagem de referência incluída.

Copyright © 2014 Ana Rita Ramos Gonçalves. Todos os direitos reservados.

A Universidade do Algarve tem o direito, perpétuo e sem limites geográficos, de arquivar e publicar este trabalho através de exemplares impressos reproduzidos em papel ou de forma digital, ou por qualquer outro meio conhecido ou que venha a ser inventado, de o divulgar através de repositórios científicos e de admitir a sua cópia e distribuição com objetivos educacionais ou de investigação, não comerciais, desde que seja dado crédito ao autor e editor.

Agradecimentos

Deus quer, o homem sonha e a obra nasce.

Fernando Pessoa, *A mensagem*

É com enorme prazer que inico este trabalho de final de curso agradecendo àqueles que viveram e me acompanharam no sonho, nestes anos de curso.

Aos que conheci no meu primeiro dia de aulas e que passaram de um grupo de desconhecidos que embarcavam numa nova jornada a amigos para todas as jornadas que virão. Em especial aos meus caros: Carla Rodrigues, Cátia Alves, César Costa, Rita Miguel, Catarina Vieira, Adriana Fernandes, Daniela Albano, Nuno Alves, Ana Filipa Inácio e Célia Apolinário.

Ao curso e aos que o curso e o NECiFarm me deram oportunidade de conhecer, que fizeram tudo valer ainda mais apenas, em especial à Silvana Martins e ao Ricardo Torres, e os meus afilhados, precedente e descendentes da minha família universitária.

Ao meu orientador de monografia pela paciência, disponibilidade e atenção que teve para me ajudar a concluir esta tão afamada tese.

Aos professores que deram luta até ao fim para concluir o curso.

Os orientadores e equipas do Hospital Dr. Fernando Fonseca E.P.E e da farmácia Caniné pelos ensinamentos e bons momentos que vivemos e aos colegas que comigo “enfrentaram” os estágios.

Por fim, àqueles que estão comigo desde o início: a minha família.

Aos meus pais e irmãos por tudo o que jamais poderei exprimir. Que juntamente com o resto da família me acompanharam nos altos e baixos, glórias e intemperas da minha vida. E um agradecimento especial aos meus avós, Augusto Ramos e Judite Penas, os meus maiores exemplos de coragem, humildade e determinação que me ensinaram que só aquilo que vem do nosso esforço é que vale apenas.

Resumo

A síndrome de Hutchinson-Gilford (HGPS) ou progéria é uma doença rara e fatal que afeta 1 criança entre cada 4 milhões de nascimentos. Classificada como uma laminopatia progeróide segmental, induz alterações clínicas em múltiplos órgãos e tecidos, como estatura e peso corporal reduzidos, perda de cabelo precoce, lipodistrofia, escleroderma, osteólise e declínio cardiovascular que conduz a enfarte do miocárdio, a principal causa de morte nesta síndrome. No seu conjunto replicam fenótipos associados com o envelhecimento normal, sem afetar o seu desenvolvimentos cognitivo. Uma mutação autossómica dominante *de novo* GGC608GGT no gene *LMNA* causa a produção de uma prelamina A mutada, designada progerina. Por permanecer farnesilada, ancora-se ao invólucro nuclear. Além disso, devido à sua elevada expressão, acumula-se e altera a morfologia celular, a transição entre eucromatina e heterocromatina fica comprometida e os telómeros disfuncionais, entre outras alterações, contribuem para a senescência celular e manifestação dos sintomas da doença. Após o diagnóstico confirmado pela expressão da maioria das características clínicas e de um teste genético à mutação C→T específica da HGPS, as crianças e a respetiva família, acompanhadas pelo médico, poderão adotar medidas de suporte que permitem atenuar as consequências da doença. É comum a toma de Aspirina® de 2-3 mg/Kg de peso da criança, uma vez que a cura ainda não existe. Entretanto, a procura de uma terapia baseada na inibição do mecanismo pelo qual o grupo farnesilo é produzido e/ou se liga à progerina conduziu à realização de ensaios clínicos. Atualmente, está a ser testada uma combinação de lonafarnib, pravastatina e ácido zoledrónico, com conclusão prevista para 2017, mas já com relatos de melhoria em alguns aspetos do fenótipo HGPS. Novas abordagens terapêuticas serão necessárias para contemplar os restantes aspetos e descobrir-se a cura para estas crianças, que apesar de tudo são muito alegres e corajosas.

Abstract

Hutchinson-Gilford progeria syndrome (HGPS) is a rare and fatal disease that affects 1 child in every 4 million births. Classified as a segmental progeroid laminopathy, it induces clinical features in multiple organs and tissues, like short stature and weight, early loss of hair, lipodystrophy, scleroderma, osteolysis and cardiovascular compromise leading to heart attack, the main cause of death in this syndrome. As a whole they replicate phenotypes associated with normal aging, without affecting their cognitive development. A dominant autosomal *de novo* mutation GGC608GGT in the *LMNA* gene causes the production of a mutated prelamin A, called progerin. By remaining farnesylated, it anchors itself to the nuclear envelope, accumulating and its high expression alters the cellular morphology, the transition between different states of chromatin is compromised, and the dysfunctional telomeres, amongst other alterations, contribute to cellular senescence and the manifestation of the symptoms of the disease. Once the diagnosis is confirmed by the expression of most clinical features and by a genetic test to the HGPS-specific mutation C→T, both children and family, with the help of a physician, can adopt supportive measures in order to attenuate the consequences of the disease. It is common the use of 2-3mg/Kg of Aspirin®, because there is still no cure. Meanwhile, the search for a therapy based on the inhibition of the mechanism by which the farnesyl group is produced and/or attached to progerin led to the testing of novel drug combinations in clinical trials. Nowadays, a combination of lonafarnib, pravastatin and zoledronic acid is being tested, whose trial is predicted to end in 2017, although preliminary data suggests that it can ameliorate the HGPS-associated phenotype. Nevertheless, novel therapeutic approaches are needed to include the remaining aspects of HGPS in order to discover a therapy able to cure these children, who are cheerful and brave despite their disease.

Keywords: síndrome de Hutchinson-Gilford ou progéria | características clínicas | progerina | fenótipo celular | ensaios clínicos | lonafarnib

Índice de matérias

CAPÍTULO 1. Síndrome de Hutchinson-Gilford ou progéria	11
Contextualização do tema	11
CAPÍTULO 2. Conhecer a progéria	14
Epidemiologia	14
Caraterísticas clínicas	16
Crescimento e nutrição	17
Caraterísticas cutâneas alteradas: tecido adiposo, pele e cabelo	18
Ossos, articulações e dentição na HGPS	21
Caraterísticas oculares e audiológicas das crianças com progéria	23
Fenótipo do sistema cardiovascular HGPS	24
Sistemas que a progéria não afeta o funcionamento	25
CAPÍTULO 3. HGPS: a base genética por detrás da síndrome de Hutchinson-.....	26
Laminopatias	26
Laminas e lâmina nuclear	27
Mecanismo da HGPS	30
Mutações e síntese da Progerina	31
Interações alteradas pela progerina	33
Fenótipo celular	34
Aberrações teloméricas e cromossómicas	34
Modificações nas histonas	36
Regulação do ciclo nuclear	36
CAPÍTULO 4: Lidar com a progéria.....	38
Diagnóstico da síndrome de Hutchinson-Gilford ou progéria.....	38
Tratamento das manifestações da doença	39
Prevenção das complicações secundárias da doença	41

CAPÍTULO 5. O Caminho para a cura	43
Estudos pré-clínicos	43
Lonafarnib: primeiro ensaio clínico para progéria em humanos.....	48
Ensaio clínico: NIH (2014)	50
Ensaio Clínico: a combinação para encontrar a cura FTI + Estatina + Bifosfonato	50
CONCLUSÃO.....	53
Bibliografia.....	55

Índice de figuras

Figura 1.1 Crianças com progéria envolvidas no primeiro ensaio clínico da monoterapia com lonafarnib.....	12
Figura 2. 1 Distribuição mundial das crianças com Progéria, a 1 de Abril de 2014	14
Figura 2. 2 Alterações esclerodérmicas em crianças com HGPS	19
Figura 2. 3 Diferentes graus de pigmentação em crianças com HGPS.....	19
Figura 2. 4 Dedo de uma criança com HGPS	21
Figura 2. 5 Progressão das alterações da progéria	22
Figura 2. 6 Acro-osteólise e coxa valga	22
Figura 3.1 Transcrição anormal do gene LMNA e Resultado de RT-PCR, demonstrando a deleção de 150 bp	32
Figura 3.2 Telómeros Disfuncionais	35
Figura 5.1 Inibição direta e indireta da prenilação da progerina	45

Índice de tabelas

Tabela 2. 1 Resumo das alterações ósseas provocadas pela progéria, de acordo com o local anatómico afetado	21
Tabela 3.1 Modificações pós-traducionais sofridas pelas prelamina A, B1 e B2	29
Tabela 4. 1 Tratamento das manifestações da progéria para minimizar os efeitos da doença	39
Tabela 5. 1 Resumo dos medicamentos usados nas estratégias terapêuticas para a HGPS	46

Lista de Abreviaturas

AVC – Acidente vascular cerebral

bp – Pares de bases nucleotídicas (do inglês: *base pairs*)

CaaX – Cisteína + dois aminoácidos de cadeia alifática + qualquer aminoácido

cDNA – DNA complementar (do inglês: *complementary DNA*)

Citosina (base nucleotídica piridina do DNA)

DNA- Ácido Desoxirribonucleico (do inglês: *Deoxyribonucleic Acid*)

ECG - Eletrocardiograma

EM – Enfarte do miocárdio

IN – Invólucro Nuclear

FTase- Farnesiltransferase

FTI – Inibidor da farnesiltransferase (do inglês: *Farnesyltransferase inhibitor*)

GGTase-I – Geranylgeranyl transferase I

Gly – Glicina

H3K9me3 – trimetilação da lisina 9 da histona H3

HGPS – Síndrome de Hutchinson-Gilford ou Progéria (do inglês: *Hutchinson-Gilford Progeria Syndrome*)

ICMT – Iso-carboximetil transferase

IN – Invólucro nuclear

INE – Instituto Nacional de Estatística

LGMD1 – (do inglês: *Limb-Girdle muscular dystrophy type 1B*)

MN – Membrana Nuclear

MNE – Membrana Nuclear Externa

MNI – Membrana Nuclear Interna

mTORC1 – Alvo da rapamicina complexo 1 nos mamíferos (do inglês: *mammalian target of rapamycin complex 1*)

NCT – Número no *ClinicalTrials.gov*

NIH - *National Institute of Health*

OMIM[®] – *Online Mendelian In Man* (nome de projeto)

PCR – Reação de polimerase em cadeia (do inglês: *Polymerase Chain Reaction*)

PRF – *Progeria Research Foundation*

RD – Dermopatia restritiva (do inglês: *Restrictive Dermopathy*)

RE – Retículo Endoplasmático

T – Timina (base nucleotídica pirimídica do DNA)

WHO – Organização Mundial de Saúde (do inglês: *World's Health Organization*)

WS – Síndrome de Werner (do inglês: *Werner Syndrome*)

ZMPSTE24 – metaloproteína de zinco homóloga à STE24 de *S. cerevisiae* (do inglês: *Zinc Metalloproteinase STE24*)

CAPÍTULO 1. Síndrome de Hutchinson-Gilford ou progéria

Contextualização do tema

O envelhecimento faz parte da história natural de todos os seres vivos. Uma degeneração gradual das capacidades psicológicas é acompanhada por um declínio das funções gerais e resistência do corpo a tudo o que o rodeia. No entanto, existem doenças que aceleram o processo normal do envelhecimento fisiológico normal: as síndromes progeróides (Ghosh & Zhou, 2014). Uma dessas síndromes é a progéria, classificada como segmental, rara e fatal. As crianças afetadas começam, desde os primeiros meses de vida, a apresentar algumas características em comum com o envelhecimento fisiológico normal, mas a um ritmo bastante mais rápido. Ela é denominada simultaneamente “progéria” ou “síndrome de Hutchinson-Gilford” (HGPS), sendo esta última designação em honra dos primeiros que descreveram a doença: Jonathan Hutchinson e Hastings Gilford. Hutchinson era um médico de clínica geral que, em 1886, deparando-se com uma “criança envelhecida” elaborou um artigo bastante descritivo das características da criança (Hutchinson, 1886). Mais tarde, em 1897, Gilford dando continuidade aos trabalhos de Hutchinson sobre uma segunda criança, acompanhou e relatou as alterações graduais desse paciente durante vários anos até à morte deste com 17 anos. O nome de progéria deve-se também a Gilford, que relatando algumas características de envelhecimento nos seus pacientes demasiado novos para as terem, conjugou as palavras gregas “pro” que significa “antes” e “geras” que significa “velho” e propôs que a doença se devia designar por “progéria”, envelhecimento precoce ou “velho antes de tempo” (Chandravanshi, *et al.*, 2011; Hennekam, 2006).

Durante dezenas de anos não existiu qualquer avanço científico. O conhecimento sobre a doença limitava-se à descrição exaustiva das características físicas da doença, com o enfarte do miocárdio. Em 1999, com o objetivo de descobrir a causa, tratamento e cura para a progéria e assim ajudar as crianças por ela afetadas, um grupo de investigadores fundou a *Progeria Research Foundation* (PRF 2014). Esta organização veio impulsionar as pesquisas sobre a doença, e desde então está envolvida e na linha frente das descobertas sobre a progéria. Mais concretamente, a PRF criou um banco de células HGPS,

colaborando com equipas de investigação e lançando uma busca mundial para encontrar todas as crianças com HGPS de modo a estudar a doença e as crianças por ela afetadas. Para que elas próprias não se sintam sozinhas com uma doença estranha que outros meninos não têm, organizam também encontros anuais e uma comunidade mundial que congregam as famílias com o lema “Juntos encontraremos a cura”.

Em 2003, duas equipas conseguiram descobrir a mutação silenciosa de caráter autossômico dominante que desencadeia a progéria por duas equipas de investigadores, uma francesa e uma outra americana (Eriksson *et al.*, 2003; De Sandre-Giovannoli *et al.*, 2003), estabelecendo-se assim pela primeira vez a relação genótipo-fenótipo HGPS. Esta descoberta permitiu a realização de um diagnóstico da doença não só baseado nas características clínicas, mas também pela confirmação de alterações génicas e assim excluir outras laminopatias progeróides, cujas características se sobrepunham com as da HGPS (Gordon *et al.*, 2011). Desta maneira, pôde confirmar-se a existência de mais que um tipo de progéria: progéria clássica ou típica, progéria não clássica ou atípica, em que as características clínicas envolvem os mesmos sistemas de órgãos e tecidos, mas com evolução e severidade diferentes. Existe ainda a HGPS congénita, em que as alterações já são observáveis no momento do nascimento e com sobreposição de sintomas com outra doença do envelhecimento precoce, a dermatopatia restritiva (RD) (Hennekam, 2006).

Esta descoberta abriu caminho para novas investigações baseadas no fenótipo celular, permitindo que se estabelecessem estratégias genéticas para travar a doença. Estas estratégias e a busca das crianças pela PRF resultou na reunião de um grupo de crianças elegíveis que integraram o primeiro ensaio clínico de sempre sobre a doença (Fig.1.1; Gordon *et al.*, 2012).



Figura 1.1 Crianças com progéria envolvidas no primeiro ensaio clínico da monoterapia com lonafarnib. Fonte: (PRF, 2014c)

Este trabalho de monografia é uma revisão bibliográfica da síndrome de Hutchinson-Gilford ou progéria clássica, pelo que sempre que me referir à doença por qualquer uma destas designações ou pela sigla HGPS estarei a referir-me à versão clássica ou típica da síndrome. Caso contrário, qualificarei a designação de “atípica ou não clássica” ou “ congénita”. Serão referidas características que permitem identificar a doença, a base genética que a confirma, as alterações nucleares que a doença comporta, diagnóstico e as abordagens terapêuticas que todos os itens anteriores permitem suportar de modo a que sejam testadas em ensaios clínicos.

CAPÍTULO 2. Conhecer a progéria

Epidemiologia

A epidemiologia é o estudo da distribuição e dos determinantes de uma doença (WHO, 2014). O conhecimento dos vários fatores e história evolutiva de uma doença permite definir melhor técnicas e meios para a controlar a doença e consequências que advenham da mesma.

De acordo com os dados mais recentes da *Progeria Research Foundation* (PRF, 2014b; PRF, 2014c), a 30 de Junho de 2014, estavam identificadas 118 crianças a viverem com a síndrome de Hutchinson-Gilford ou progéria, englobando 41 países e falando mais de 27 línguas. Deste total, 94 crianças expressavam a versão clássica da progéria, em que a mutação típica da HGPS, produtora da proteína mutante causadora da síndrome foi identificada e as restantes 24 crianças expressavam uma outra laminopatia progeróide. Em Portugal, a síndrome faz parte da vida de 1 criança: a pequena Cláudia Amaral, que nasceu em 1998.



Figura 2. 2 Distribuição mundial das crianças com Progéria, a 1 de Abril de 2014. 113 crianças no total: 91 com a síndrome de Hutchinson-Gilford típica + 22 com laminopatias progeróides. Fonte: (PRF, 2014b).

A nível global, relata-se uma incidência de 1 criança por cada 8 milhões de nascimentos, embora se considere que muitos dos casos não são diagnosticados ou não correspondem à HGPS clássica. Assim, assume-se que a síndrome afeta 1 criança por cada 4 milhões de nascimentos (Coppedè, 2012; Hennekam, 2006; Pereira *et al.*, 2008). Não é específica de um sexo, apesar de existirem evidências que o sexo masculino é ligeiramente mais afetado que o feminino numa proporção de 1.5:1 (Alves *et al.*, 2014). Não é restrita a uma etnia, localização demográfica ou a qualquer estatuto socioeconómico (Hennekam, 2006). Quanto à hereditariedade da síndrome, alguns estudos (PRF, 2014c; Gordon *et al.*, 2011) sugerem a possibilidade de mosaïcismo, uma vez que pais que já tenham um filho com progéria têm uma probabilidade de 1 em 500 nascimentos para o segundo filho, caso o mosaïcismo ocorra. No entanto, a probabilidade da ocorrência de mosaïcismo é em si rara. Para a maioria dos autores e investigadores a hipótese de ser uma doença hereditária não é relevante já que a geração portadora da mutação espontânea típica da HGPS não poderá transmiti-la a uma geração seguinte, devido à predisposição genética para a doença cardiovascular prematura. Esta característica conduz à morte precoce destas crianças, por volta dos 13,5 anos de idade, na sua maioria devido a enfarte do miocárdio ou acidente vascular cerebral (AVC). Estes eventos conduzem a uma taxa de mortalidade para a HGPS de 100% (Merideth *et al.*, 2008; Pereira *et al.*, 2008).

A prevalência de uma patologia corresponde ao número de casos – novos e antigos – da doença, numa população, num determinado momento ou durante um período de tempo definido. (WHO, 2014b). Deste modo, a prevalência da progéria pode ser calculada através da relação $\frac{\text{Crianças com progéria}}{\text{População Total}}$. A prevalência para cada país foi estimada por PRF (2014c) como sendo de 1 em 18 milhões de pessoas, valor este extrapolado tendo em consideração o panorama nos Estados Unidos da América, a 1 de Julho de 2013: $\frac{17 \text{ crianças identificadas com HGPS}}{316\,159\,818 \text{ pessoas nos EUA}}$. Desse modo, tendo em conta a suposição anterior e considerando o último censo realizado em 2011 que contabilizou 10 562 178 pessoas em Portugal, e assumindo um crescimento linear da população semelhante ao que se verificou entre os censos 2001 e 2011 (INE, 2014) que foi cerca de 17 606 pessoas, estimo que em 2013 existiria pelo menos 1 criança com HGPS. Tal sugere que a Cláudia deva ser apenas a única criança em Portugal com a síndrome.

Caraterísticas clínicas

As crianças com HGPS clássica têm, em geral, uma aparência comparável e exibem sintomas muitos semelhantes entre si. Estes parecem no seu todo mimicar características do envelhecimento fisiológico normal, mas de modo mais acelerado, severo e precoce, evoluindo no contexto de uma desordem multissistémica do seu desenvolvimento normal. A HGPS classifica-se, assim, de síndrome progeróide, que é, no entanto, segmentada, ou seja, nem todas as características têm um envelhecimento acelerado (Hennekam, 2006; Coppedè, 2012; Qi & Xie, 2013). Não é frequente observar em crianças com progéria outros sintomas degenerativos como fragilidade imunitária, deterioração neurológica, cataratas e diabetes tipo II.

Aquando do seu nascimento aparentam ser recém-nascidos saudáveis, apesar de estar relatado que têm um tamanho um pouco inferior para a idade de gestação, respetiva. No entanto, num curto período de tempo, sensivelmente por volta dos 12 – 18 meses de idade, começam-se a revelar e instalar alterações clínicas distintas que conduzem ao diagnóstico da progéria, em média, aos 2,9 anos de vida. Os tecidos mais afetados são os de origem mesenquimal. Um profundo atraso no desenvolvimento, com um decréscimo nas curvas de crescimento, e traços faciais disformes característicos com um recuo mandibular, nariz estreito e pontiagudo, uma veia destacada desde o couro cabeludo ao septo nasal e olhos proeminentes constituem as alterações iniciais. Durante o primeiro e terceiro ano a alopecia parcial progride para uma alopecia total, havendo perda da gordura subcutânea. A pele torna-se semelhante à esclerodermia com zonas pequenas de pele mais dura. Relata-se também uma contração progressiva das articulações, perda de densidade óssea que conduz a alterações ósseas com deslocamento do quadril. O desenvolvimento de unhas anormais, atraso na erupção dos primeiros dentes e veias salientes na cabeça tornam-se mais evidentes. A aterosclerose prematura e generalizada é o mais relevante dos sintomas, já que é o que permite o desenvolvimento de doenças cardiovasculares que conduzem à mais frequente causa de morte destas crianças. Mais tarde ainda se verifica perda de audição a baixas frequências, sobreposição de dentes e perda parcial da erupção dos dentes definitivos. A maturação sexual secundária não ocorre e durante toda a sua vida as crianças têm uma voz distintamente aguda, sem que no entanto o seu desenvolvimento

motor e cognitivo sejam afetados (Hennekam, 2006; Merideth *et al.*, 2008; Coppedè, 2012; Gordon *et al.*, 2011; Schreider & Kennedy, 2013; PRF, 2014d). São, portanto, crianças que cognitivamente estão a crescer ao seu ritmo, que não é acompanhado pelo corpo, mas que apesar de tudo e da incerteza constante do dia de amanhã, são crianças incrivelmente inteligentes, muito alegres, corajosas, cheias de vida e de esperança, verdadeiros testemunhos de que cada dia é para ser vivido ao máximo.

Crescimento e nutrição

As crianças com progéria podem nascer com peso e comprimento dentro da faixa normal para a sua idade gestacional, apesar de na maioria dos estudos de fenótipo e da sua evolução estar frequentemente relatado um valor médio de peso um pouco abaixo do normal, sem que seja significativo para suspeitar a ocorrência da doença. Porém, o seu crescimento pós-natal é severamente perturbado, e ainda dentro do primeiro ano de vida as crianças começam a afastar-se dos valores das curvas de peso e de comprimento global usadas pelos pediatras, por não ganharem peso e nem crescerem conforme o esperado. Este constitui o primeiro sinal de alerta de que algo não está bem com a criança (Hennekam, 2006). O peso parece ser mais afetado que a altura, no sentido em que, para as crianças com HGPS, a curva de peso, quase que assume uma distribuição horizontal ao longo do tempo. Segundo Merideth *et al.* (2008), num grupo de 15 crianças, entre os 2 e os 10 anos de idade, 10 crianças que não recebiam tratamento com hormona de crescimento ganharam apenas 0,65Kg/ano, em contraste com os 1,01Kg/ano ganhos pelas outras 5 que receberam tratamento hormonal, 4 das quais durante este estudo. Ainda assim, ficaram longe dos 1,8Kg/ano ganhos em média, no mesmo período, pelas crianças saudáveis. Quanto à altura, para o mesmo estudo e comparando para o valor de 5,84 cm/ano das crianças normais, as 5 crianças recebendo a hormona de crescimento obtiveram mais 0,30cm/ano que os 3,58cm anuais das 10 crianças sem tratamento hormonal, mas ambos abaixo do ganho normal esperado, cerca de 3 percentis.

De notar que nenhum dos parâmetros é consequência de subnutrição mas sim um dos sintomas da HGPS, já que as crianças apesar de comerem em pouca quantidade ingerem os nutrientes suficientes para o seu desenvolvimento normal (PRF, 2014d).

Foi reportado por Pereira *et al.* (2008) e Young & Yang (2013), que a partir dos 2 anos de idade os efeitos da síndrome permitem às crianças crescer, em média, até aos 110 cm e ter um ganho anual de 0,440Kg, atingindo aproximadamente um máximo de peso de 14,5Kg (~12 a 15Kg).

Caraterísticas cutâneas alteradas: tecido adiposo, pele e cabelo

A lipodistrofia é uma caraterística adquirida durante a HGPS, traduzindo-se de uma forma generalizada na perda de tecido adiposo subcutâneo e a acumulação de depósitos de gordura em sítios onde não é comum nem saudável instalar-se, como por exemplo, no fígado (Caron *et al.*, 2007). Esta alteração metabólica inicia-se por volta dos 3 meses, passa despercebida até aos 3 ou 4 anos de idade, diminuindo progressivamente com a idade. Em primeiro lugar afeta os membros inferiores, seguindo-se o tórax, o neurocrânio e posteriormente a face. O desaparecimento do tecido adiposo intra-orbital faz com que os olhos pareçam proeminentes, sem que exista verdadeira exoftalmia (Hennekam, 2006; Merideth *et al.*, 2008). Uma vez que a apenas gordura intra-abdominal se mantém, as crianças normalmente têm o abdómen saliente e por isso exibem um tronco piriforme (de Paula Rodrigues *et al.*, 2002; Campos *et al.*, 2006). Foi reportada a observação de cianose peribucal, por Rork *et al.* (2014). No entanto, considera-se que esta seja consequência da quase inexistência de tecido adiposo na zona da boca e não tanto de origem cardíaca, por má oxigenação do sangue.

As alterações dermatológicas também contribuem para o fenótipo típico da HGPS, desde a média de idade de 1,9 meses, podendo estar presentes já no nascimento, e incluem pele esclerodérmica e com relevos, vascularização cutânea proeminente pelo corpo e couro cabeludo, híper e hipopigmentação, assim como, alopecia.

A pele das crianças com o passar do tempo torna-se mais firme e apresenta alterações esclerodérmicas, evidenciada por zonas de pele mais rígida, fibrótica e inchada, com saliências, que se distribuem maioritariamente pela zona abdominal, zona superior aos glúteos, genitália e membros inferiores (Fig. 2.2). Contudo, estas alterações são transientes, desaparecendo por volta dos 6 meses de idade até aos 2 anos, sem que seja necessária intervenção, deixando por vezes marcas despigmentadas nos locais da

alteração de pele (Fig. 2.3). A pele altera-se, então, outra vez, ficando fina, seca e atrófica. Surgem pequenas manchas/lesões de hiperpigmentação distribuídas por todo o corpo, aparecendo primeiro na zona do peito e no pescoço. Aparecem também mais tarde no couro cabeludo e membros inferiores, que pela sua localização podem ter resultado não só mas também da transição entre os diferentes estados da pele (Hennekam, 2006; Rork et al., 2014). As unhas passam de finas a rígidas, com forma irregular e crescimento lento, enquanto que a pele sobre as falanges distais é avermelhada e inchada (Fig. 2.4).



Figura 2. 2 Alterações esclerodérmicas em crianças com HGPS. À esquerda – evidencia a alteração simétrica dos mamilos de natureza esclerodérmóide, numa criança HGPS com 6 meses de idade. À direita, alteração evidente pelo edema nos membros inferiores com vários relevos, afetando também a genitália, numa criança com 10 meses. Fonte: Rork *et al.* (2014)



Figura 2. 3 Diferentes graus de pigmentação em crianças com HGPS. As manchas de despigmentação resultam da alteração de pele esclerodérmica para fina e atrófica (PRF, 2014d)



Figura 2. 4 Dedo de uma criança com HGPS. É evidente a unha dimórfica e a pele firme, descamativa e ponta de dedo inchada. Fonte: (PRF, 2014d).

Um dos primeiros sintomas da síndrome de Hutchinson-Gilford é a veia proeminente que atravessa a ponte nasal. Tal como Hutchinson (1886), a descreveu pela

primeira vez “*A large trunk came down the forehead on each side of the eye-brow and communicated by a transverse branch at the root of the nose*”. Em biópsias, foi possível observar que as paredes dos vasos são mais endurecidas e o lúmen mais estreito (Hennekam, 2006), que o que se considera normal para a idade das crianças. Com o passar do tempo e simultaneamente com os outros sintomas característicos da síndrome a instalarem-se, os vasos tornam-se mais evidentes e proeminentes em todo o corpo. A perda de tecido adiposo subcutâneo e a pele cada vez mais fina, permite que os vasos sanguíneos se tornem mais visíveis e a perda de cabelo deixa transparecer esta situação no couro cabeludo. Quanto ao cabelo, as crianças quando nascem, salvo raras exceções, têm cabelo normal em textura e cor. Passados poucos meses, o cabelo começa a cair, a ficar mais fino, até que as crianças acabam por ficar com algum cabelo residual ou sem cabelo nenhum. O mesmo acontece com sobrancelhas e pelo (Fig. 2.5) (PRF, 2014d).



Figura 2. 5 Progressão das alterações da progéria. Alopecia progressiva desde cabelo de textura e cor normais (A), perda de cabelo pela periferia do couro cabeludo (B, C e D), seguida da existência residual de cabelo no alto da cabeça (E e F), atingindo por fim a alopecia completa (G e H), olhos e vasos do couro cabeludo proeminentes, nariz e pontiagudo, desproporção crânio facial com retrognatia e micrognatia mandibulares. Idades (A) 1 semana. (B) e (C) 7 e 8 semanas. (E e F) 2 anos. (G e H) 3 anos. Fonte: (Rork et al., 2014).

Ossos, articulações e dentição na HGPS

A progéria proporciona uma série de alterações esqueléticas, com defeitos na formação óssea nas extremidades e na dentição, displasia mandibular e do crânio, osteólise severa, osteoartrites e endurecimentos dos ligamentos das articulações em todo o corpo mas com severidade variável.

Comparando com as crianças que não têm a síndrome, os ossos são mais pequenos, que contribui para terem estatura baixa e densidade mineral óssea é menor, mas não numa diferença tão acentuada quanto outras alterações consequentes da síndrome. Apesar dos ossos serem mais frágeis e se quebrarem mais facilmente, as fraturas espontâneas não são mais recorrentes que o normal (Merideth *et al.* 2008; PRF, 2014d). Analisando as diversas partes do corpo podem destacar-se as modificações evidenciadas na Tabela 2.1.

Tabela 2. 2 Resumo das alterações ósseas provocadas pela progéria, de acordo com o local anatómico afetado

Modificações ósseas provocadas pela progéria	
Local	Manifestações
Falanges	Acro-osteólise das falanges distais (reabsorção do osso) (Fig. 2.6). Pode observada nos recém-nascidos, ou surgir nos meses de vida ou mais tarde por volta dos 5 anos, afetando todas as crianças da síndrome. Podendo não afetar todos os dedos, segundo Hennekam (2006), este tipo de osteólise é menos visível nos dedos dos pés e entre os dedos das mãos, sendo o anelar o menos afetado. Esta alteração óssea juntamente com a pele inchada e avermelhada nas falanges distais, contribui para que visivelmente as crianças tenham as pontas dos dedos arredondadas.
Tórax	A reabsorção clavicular que se inicia na extremidade acromial e progride lentamente, torna as clavículas curtas e distróficas, que juntamente com adelgaçamento e afunilamento das costelas, torna os ombros estreitos e contribui para que a forma de pêra do tórax se evidencie.

<p>Ossos longos</p>	<p>Relata-se a observação de coxa valga, que cria a posição descrita como de “cavalgar” e que a marcha seja base ampla. Associada ao encurtamento do fémur e do seu colo alargado e a displasia acetabular predispõe a instabilidade da articulação do quadril e subluxação, osteoartrite e dor quando a criança está de pé e tem de suportar o seu peso (Fig. 2.6).</p>
<p>Crânio</p>	<p>Na face, para além do nariz pontiagudo com a ponte nasal estreita, evidencia-se a desproporção crânio facial. Esta é causada pelos ossos da face que ficam mais retraídos com a idade, muito devido à malformação mandibular progressiva com retrognatia e micrognatia, e pelo facto de os ossos do neurocrânio, que dependem em parte do crescimento do cérebro, terem tamanho normal. No neurocrânio, apenas se relata um atraso no encerramento das fontanelas (Fig.2.3).</p>

Fontes: (de Paula Rodrigues *et al.*, 2002; Hennekam, 2006)

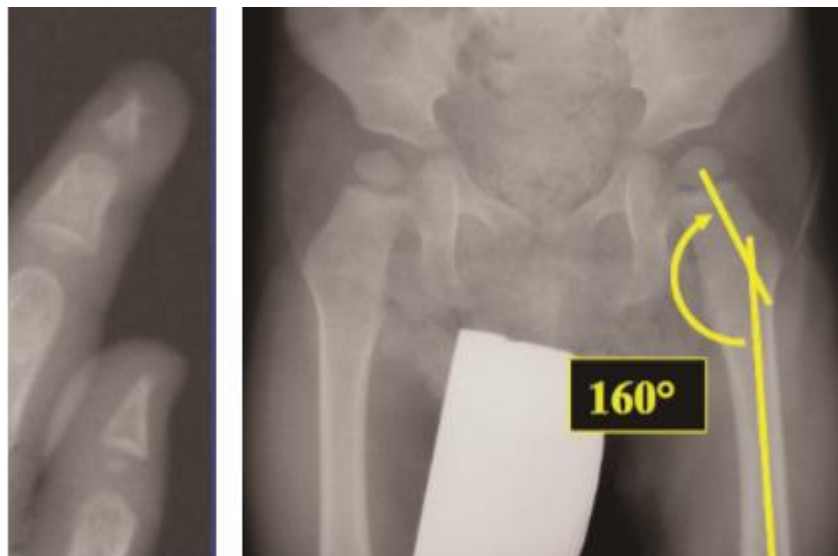


Figura 2. 6 Acro-osteólise (à esquerda) e coxa valga (à direita). Fonte: (PRF, 2014c).

As hipoplasias mandibular e maxilar contribuem para que os dentes das crianças com HGPS, por terem pouco espaço, fiquem sobrepostos e apinhados contribuindo para a elevada taxa de desgaste observada entre estes. O desenvolvimento e erupção retardados ou inexistentes, a descoloração e dismorfismo dos dentes (Alves *et al.*, 2014; Domingo *et al.*, 2009), palato ogival, as doenças das gengivas, como a recessão gengival e gengivite,

o desgaste acentuado dos dentes de leite e ainda a alta incidência de cáries (PRF, 2014d) são outras das alterações odontológicas frequentes entre estas crianças.

Caraterísticas oculares e audiológicas das crianças com progéria

Uma das caraterísticas oculares que mais facilmente se identificam são olhos proeminentes e a lagoftalmia durante o sono (olhos ligeiramente abertos) causados pela lipodistrofia orbital e pela pele firme e distendida (Campos *et al.*, 2006), que também está na origem da retração da pálpebra superior e ptose com fenómeno de *Marcus-Gun jaw-winking*, isto é, retração da pálpebra associada à mastigação e movimentos laterais da mandíbula (Torre *et al.*, 2004), sendo esta última menos comum. Estas alterações fazem com que pestanejar e que as caraterísticas de lubrificação associadas a este ato não sejam bem sucedidas, sendo recorrente as crianças desenvolverem a síndrome do olho seco, que tem como consequência estarem constantemente a lacrimejar, situação ainda mais intensificada pela ausência de cílios e sobrancelhas para proteger os olhos de poeiras e outros elementos irritantes. Estrabismo e nistagmo (movimentações involuntárias do olho) irregulares, ceratite (inflamação da córnea) e alterações de visão como miopia e hipermetropia embora relatados, são situações descritas mas raras. É recorrente ver as crianças de óculos de sol, uma vez que com esta compilação de alterações oculares, desenvolvem fotofobia por sensibilidade excessiva à luz, aversão à luz solar ou locais bastante iluminados. São também descritos em alguns casos situações de adesões iridocorneanas e córneas turvas e opacas (Chandravanshi *et al.*, 2011; Coppedè, 2012; PRF, 2014d).

De acordo com PRF (2014d) no ouvido típico, o pavilhão auricular e 1/3 do canal auditivo são compostos por cartilagem que é flexível e a gordura subcutânea. Nas crianças com progéria o ouvido externo é caracterizado pela perda da flexibilidade da cartilagem e da pele, tal que ao toque o pavilhão auricular é mais rígido que os pavilhões auriculares das crianças que não têm progéria. Resulta num aumento da sensibilidade do canal auditivo e menos tolerância de dor ao toque. Por norma, a audição para frequências mais altas é normal na HGPS é normal. Relata-se apenas uma perda da audição condutiva a baixas frequências sem que seja obrigatoriamente bilateral ou simétrica (Gordon *et al.*, 2011) e perda neurosensorial bilateral moderada. Tal indica que quanto mais alta for a

frequência melhor e mais normal será a audição (PRF, 2014d), sem que estas perdas comprometam funcionalmente a comunicação.

Fenótipo do sistema cardiovascular HGPS

As crianças com HGPS estão geneticamente predispostas a doenças cardíacas prematuras e progressivas, que para além de serem a maior causa de morte no mundo (WHO, 2014b) são-no também para estas crianças. Por volta dos 11-13 anos de idade as crianças sofrem de enfarte do miocárdio (EM), paragens cardíacas ou AVC. A morte é geralmente precedida de hipertensão sistémica antes dos 5 anos de idade indicando uma função vascular diminuída, ataques isquémicos e pequenos AVC (Hanumanthappa *et al.*, 2011).

Nos primeiros 5 anos de vida não apresentam quaisquer problemas de origem cardiovascular, mas por volta dos 6-8 anos começam a expressar gradualmente um cansaço mais rápido e falta de ar. A extensiva perda de células do músculo liso causa uma remodelação da arquitetura dos vasos que os enfraquece, com a disrupção das fibras de elastina que se depositam na matriz extracelular. De acordo com Gerhard-Herman *et al.* (2012), associada à doença vascular periférica oclusiva, o acelerado endurecimento vascular funciona como um mecanismo precoce e generalizado da doença cardiovascular. Isto induz inflamação, calcificação e excessiva aterosclerose dos vasos, pela formação de placas escleróticas na artéria aorta e nas artérias coronárias, que conduz à hipertrofia da camada íntima destas. O ventrículo esquerdo está quase sempre aumentado e as válvulas calcificadas (Merideth *et al.*, 2008; Pereira *et al.*, 2008; Zhang *et al.*, 2014). De acordo com Qi & Xie (2013) em alguns pacientes podem sofrer de disfunções coronárias agudas durante horas ou até mesmo semanas.

Os AVCs começam a ser frequentes pelos 9 anos de idade, resultando em convulsões, dores de cabeça, tonturas e enfraquecimento dos membros inferiores.

No seu conjunto, estas manifestações contribuem intrínseca e gradualmente para o declínio cardiovascular característico e fatal da HGPS, que dada a baixa incidência da doença e pelo facto da sintomatologia no estado mas grave ser nos anos mais avançados de vida das crianças, não permite um estudo aprofundado da patologia arterial.

Sistemas que a progéria não afeta o funcionamento

A progéria afeta apenas linhagens de células de origem mesenquimal e mesodérmica, porque é nestas que ocorre a produção da proteína mutante causadora da doença. Por esta razão e/ou porque certos órgãos são mais resistentes ao efeito prejudicial desta proteína, determinados órgãos têm funcionamento normal em criança com HGPS. Segundo PRF (2014d), o cérebro não é afetado já que o desenvolvimento cognitivo não se encontra alterado. Apenas os vasos sanguíneos no cérebro é que são atingidos, levando à ocorrência dos derrames cerebrais. Outros órgãos como o fígado, rim e os do sistema gastrointestinal. No sistema endócrino, o desenvolvimento as características sexuais secundárias falha completamente, revela uma concentração baixa de leptina, fazendo com que o organismo não tenha capacidade para armazenar gordura e ainda uma resistência à insulina em 50% dos indivíduos. Salvo estas exceções o sistema endócrino funciona normalmente (Gordon *et al.*, 2011). O sistema imunitário também não é afetado, a cicatrização de cortes e de fraturas faz-se a um ritmo normal, sem que exista maior taxa de infeções recorrentes destes acontecimentos.

CAPÍTULO 3. HGPS: a base genética por detrás da síndrome de Hutchinson-Gilford ou progéria

Laminopatias

As laminopatias englobam um grupo de distúrbios humanos que estão associados a mutações nos genes *LMNA*, *LMNB1* e *LMNB2* que codificam quer as proteínas constituintes da lâmina nuclear, quer as proteínas associadas ao seu processamento pós-traducional (e.g. *ZMPSTE24*) ou, ainda, as proteínas que interatuam com as laminas: emerina, LAP2 (polipéptido associado às laminas 2), LBR (proteína p58, recetor da lamina B; 3 β -hidroxisterol Δ -14-redutase), *MAN1*, nesprina-1 e proteínas do complexo de poros nucleares. Assim, as mais de 340 mutações conhecidas nos genes de laminas permitem que existam cerca de 15 fenótipos distintos com uma grande variedade das manifestações características dos fenótipos. Pensa-se, inclusivamente, que as mutações nos genes da lâmina nuclear possam estar também envolvidas em doenças comuns.

Afetando tanto especificamente determinados tipos de tecidos, como um conjunto de múltiplo de tecidos criando fenótipos sistémicos ou então uma sobreposição destes, é possível classificar as laminopatias em diferentes categorias de acordo com o tecido afetado. Surgem assim, o tipo mais comum de laminopatias: as que afetam o músculo causando distrofia muscular: AD-EMD - Distrofia muscular Emery-Dreifuss autossómica dominante (OMIM 181350) e recessiva (OMIM 604929), bem como LGMD1B (OMIM 159001). Surge em segundo lugar, em termos de ocorrência, as lipodistrofias caracterizadas pela distribuição anormal de tecido adiposo, muito associadas a distúrbios metabólicos como a diabetes e insulinoresistência, nomeadamente a Lipodistrofia Parcial Familiar de Dunnigan (LPFD OMIM 151660), a lipodistrofia parcial adquirida (LPA) ou também conhecida como síndrome de Barraquer-Simons (OMIM 608709) e a síndrome de insulinoresistência tipo A. Quando as laminopatias afetam o indivíduo de forma sistémica, os sintomas que lhes estão associados são muito diversificados e ocorrem sobre diferentes tipos de tecidos, comportando, frequentemente, características de envelhecimento precoce: HGPS (OMIM 176670), síndrome atípico de Werner (OMIM 277700), dermatia restritiva (ER OMIM 275210), displasia mandibuloacral tipo A com lipodistrofia (OMIM 248370) e síndrome progeróide atípico (Navarro *et al.*, 2004; Zaremba-Czogalla *et al.*, 2011; Prokocimer *et al.*, 2013; Camozzi *et al.*, 2014)

As laminopatias são redundantes, isto é, diferentes mutações podem originar as mesmas condições clínicas e uma mesma mutação pode resultar em fenótipos diferentes e são causadas, a nível do gene *LMNA*, em 91% dos casos por mutações por substituição. Em 5% dos casos, encontram-se mutações por deleção e raramente por duplicação, inserção ou inserção-deleção (in-del). Estas alterações a nível proteico resultam de mutações *missense*, (67%), *nonsense* (4%) e alterações do quadro de leitura (*frameshifts*), sendo silenciosas 13% das mutações (Zaremba-Czogalla *et al.* 2011).

Laminas e lâmina nuclear

O invólucro nuclear (IN), que delimita os conteúdos nucleares, é constituído por uma estrutura de membrana dupla. A membrana nuclear interna (MNI) e externa (MNE) estão ligadas periféricamente por complexos de poros nucleares (Npc). Estes poros atravessam o IN e permitem que seja estabelecido um controlo seletivo do tráfego de macromoléculas entre o núcleo e o citoplasma. Estas características estruturais traduzem-se na função crucial de barreira desempenhada pelo IN. Enquanto o espaço internuclear é contíguo ao lúmen do retículo endoplasmático (RE) (Burke & Stewart 2006; Schreiber & Kennedy, 2013), o espaço intranuclear contém o DNA genómico, o nucleoplasma e uma rede de nucleosqueleto rígida, associada à MNI, designada por lâmina nuclear, em que as laminas surgem com o elemento estrutural de maior relevo. As laminas pertencem à classe dos filamentos intermédios do tipo V (Booth-Gauthier *et al.*, 2013; Funkhouser *et al.*, 2013; Mounkes & Stewart, 2014), sendo sintetizadas no citoplasma e importadas para o nucleoplasma (Pereira *et al.*, 2008). Nesta local da célula, para além do seu papel de base estrutural que mantém a célula em equilíbrio pela estabilização da MNI (Cao & Hegele, 2003), estão envolvidas em funções nucleares tais como a replicação e reparação do DNA e ainda acontecimentos de remodelação da cromatina na transição entre as conformações de eucromatina e heterocromatina. Tal é possível por se ligarem direta ou indiretamente (via proteínas que interatuem com as laminas) a sequências específicas de DNA ou a proteínas. Também lhes são atribuídas funções na regulação da transcrição e em modificações epigenéticas (Arancio *et al.* 2013; Prokocimer *et al.* 2013).

De acordo com Mounkes & Stewart (2004), as laminas podem ser divididas em duas categorias: laminas do tipo A e laminas do tipo B. Dois genes não relacionados, o *LMNB1*, localizado no cromossoma 5 (5q23.3-q31.1 (Burke & Stewart, 2006)) e o *LMNB2*, no

cromossoma 19 (19p13.3 (Burke & Stewart, 2006)), são responsáveis pela expressão das lamínas de tipo B, nas isoformas lamina B1 e lamínas B2 e B3, respetivamente. As lamínas do tipo A surgem através do processamento alternativo de um único transcrito codificado pelo gene *LMNA*, situado no cromossoma 1 (1q21.2-q21.3 (Burke & Stewart, 2006), expressando-se maioritariamente as lamínas A e lamínas C, incluindo as variantes C2 e AΔ10. As lamínas tipo A partilham os primeiros 566 aminoácidos, diferindo apenas no número de aminoácidos adicionais que se encontram na zona terminal da proteína. Enquanto que a lamina A tem 98 aminoácidos adicionais, a isoforma C possui apenas 6. De notar que estas duas últimas isoformas proteicas integram a lâmina nuclear em ratios relativamente equivalentes (Camozzi *et al.*, 2014).

Os dois tipos de lamina têm funções fundamentalmente diferentes, muito provavelmente em virtude da diferença dos seus pontos isoelétricos, que ditam que as lamínas tipo B permaneçam associadas ao invólucro nuclear durante a mitose, enquanto as lamínas tipo A se tornam mais solúveis. As diferenças também residem em termos de expressão, uma vez que as lamínas tipo B são expressas na maioria dos tipos de células e as tipo A são expressas em diferente linhagens de células durante a diferenciação celular (Burke & Stewart, 2006; Navid *et al.*, 2012; Pereira *et al.*, 2008). No entanto, ambos os tipos não existem exclusivamente na lâmina nuclear, mas também no nucleoplasma, numa forma menos estruturada e com maior mobilidade, quando comparada com as incorporadas na lâmina (Schreiber & Kennedy, 2013).

Estruturalmente, ambas as classes de lamínas são compostas por um domínio central de uma hélice α superenrolada, flanqueada por um pequeno domínio globular N-terminal e um domínio C-terminal maior e não helicoidal (Burke & Stewart, 2006). As lamínas A (mas não as C) e as do tipo B são sintetizadas como prelamínas, uma vez que durante a sua síntese sofrem uma série de modificações pós-traducionais na sua estrutura básica para atingirem o estágio de proteína maturada. Deste modo, é permitida e facilitada a inserção dos diferentes tipos de lamínas na lâmina nuclear (Mounkes & Stewart, 2004). Segundo Pereira, *et al.* (2008), as prelamínas contêm, uma terminação CaaX, na extremidade C-terminal, em que “C” representa uma cisteína, “a” um qualquer aminoácido de cadeia lateral alifática – alanina (Ala), valina (Val), leucina (Leu) ou isoleucina (Ile) – e “X” simboliza qualquer aminoácido. Este motivo não existe nas lamínas C, pelo que estas não estejam sujeitas a modificações pós-traducionais.

São três as modificações pós-traducionais sequenciais que ocorrem na caixa CaaX em comum aos dois tipos de laminas: farnesilação, clivagem proteolítica e metilesterificação (Tabela 3.1). Estas tornam as laminas A, B1 e B2 mais hidrofóbicas e estimulam, assim, a sua subsequente associação à MNI, pelo que a sua inserção na lâmina nuclear estaria deveras comprometida na ausência do motivo CaaX funcional.

Tabela 3.1 Modificações pós-traducionais sofridas pelas prelaminas A, B1 e B2.

MODIFICAÇÕES PÓS-TRADUCIONAIS	
FARNESILAÇÃO	À cisteína do motivo CaaX é adicionado um grupo farnesilo por ação do enzima citosólico farnesiltransferase.
CLIVAGEM PROTEOLÍTICA	O tripéptido terminal –aaX (aminoácidos 662-664) é clivado por ação de endoproteases associadas ao RE, com a metaloprotease de zinco ZMPSTE24/FACE1 (metaloprotease de zinco homólogo ao STE24 em <i>S. cerevisiae</i>) a atuar sobre a prelamina A e o FACE2/REC1 (enzima conversora de Ras) com ação sobre as prelaminas B1 e B2.
METILESTERIFICAÇÃO	As cisteínas preniladas das prelaminas, são, por fim, sujeitas à ação da isocarboximetil transferase (ICMT), ficando metiladas.

Contrariamente às laminas tipo B, nas quais não ocorre qualquer outra modificação, permanecendo fisiologicamente metilfarnesiladas, para as laminas A, a isoprenilação é um evento transiente, já que necessita de ocorrer para que, através de uma modificação pós-traducional adicional, atinja o estágio de maturação final. Esta modificação corresponde a uma segunda clivagem endoproteolítica dos 15 resíduos C-terminais da prelamina A (aminoácidos 647-661, com a cisteína metilfarnesilada

incluída), mediada pela ZMPSTE24/FACE1, ocorrendo 30-60 minutos após a síntese e, imediatamente a seguir à sua inserção na lâmina nuclear.

Mecanismo da HGPS

Seguindo a hipótese de hereditariedade autossómica recessiva, contrária àquela que prevalecia na altura, em que a HGPS seria de carácter autossómico dominante esporádico, Eriksson *et al.* (2003) realizaram um rastreio à totalidade do genoma de 12 indivíduos, considerados como elementos representativos da situação clássica da síndrome, com o objetivo de encontrar evidências de homozigotia. Utilizando microssatélites polimórficos como marcadores e cruzando todos os dados, delimitaram a localização do gene causador da síndrome a uma região de 4.82 Mb no cromossoma 1. De entre cerca de 80 genes, encontrava-se o gene *LMNA*, conhecido por ser o gene codificador das laminas A e C, cujas mutações conhecidas eram a causa de seis laminopatias descritas, tanto recessivas como dominantes. Amplificando por PCR o gene *LMNA* (todos os 12 exões e fronteiras intrão-exão) de 23 amostras observou-se uma mutação específica presente em 18 destas. Cujas esporadicidade foi confirmada pela sua ausência nos oito casos em que amostras de DNA de ambos os pais, tratando-se, portanto, de uma mutação *de novo*. Recorrendo ao método de transcrição reversa por PCR (RT-PCR), os fragmentos de mRNA resultantes uma vez sequenciados falhavam em 150 nucleótidos, sempre a partir do mesmo ponto, quando comparados com os fragmentos de indivíduos sem a síndrome. Pelo facto do quadro de leitura se manter supôs-se que o transcrito anormal viria a codificar uma proteína com uma deleção interna de 50 aminoácidos, de tal modo, que a hipótese de ativação de um sítio de *splicing* crítico na zona final do exão, local da mutação, foi testada e comprovada

Por sua vez, uma equipa francesa, De Sandre-Giovannoli *et al.* (2003), baseando-se em comparações clínicas entre pacientes afetados com HGPS e displasia mandibuloacral (DMA), concluíram igualmente que as doenças referidas seriam causadas por mutação no gene *LMNA*. Tal conduziu à identificação da mutação geradora da ativação do sítio de *splicing* crítico em 2 pacientes com HGPS clássica. A análise imunocitoquímica dos linfócitos de um paciente, usando anticorpos monoclonais contra laminas A/C, lamina A e lamina B1, revelou que o tamanho e a morfologia nuclear da maioria das células estavam claramente alterados, com interrupções do invólucro, sendo

acompanhadas por protuberâncias de cromatina. A lamina A foi apenas detetada em 10 a 20% dos linfócitos de pacientes com HGPS. Apenas a lamina C se encontrava presente na maioria das células, enquanto que a lamina B1 foi encontrada no nucleoplasma. Este último resultado sugere, portanto, que a isoforma B1 se tenha dissociado do invólucro nuclear devido à perda de lamina A.

Mutações e síntese da Progerina

O gene *LMNA* abrange cerca de 25 Kbp, codificando uma proteína de 664 aminoácidos com peso molecular de 70 kDa (Navid *et al.*, 2012). Conforme Zaremba-Czogalla *et al.* (2011) Prokocimer *et al.* (2013) e Schreiber & Kennedy (2013) enquanto que o intervalo dos exões 1-10 codifica ambas as laminas A e C, os exões 11 e 12 são específicos para a codificação da cauda carboxiterminal da lamina A, daí que a HGPS afete especificamente esta isoforma. A mutação mais comum para a Progeria clássica, cerca 90% dos casos, é a substituição silenciosa de uma única base nucleotídica, GGC→GGT, no codão 608. A mutação C→T, no contexto de um dinucleótido CpG, representa a base mais mutável de todo o genoma nos vertebrados, porque a simples desmetilação de uma citosina metilada origina uma timina e esta é posteriormente mal copiada (Eriksson *et al.* 2003). Este acontecimento permite que um novo local de *splicing* seja ativado na posição 1824 conduzindo a um "salto" na transcrição do gene *LMNA* diretamente para a posição 1969, representativa da primeira base do exão 12, tendo como consequência a deleção de 150 bp do cDNA. Gera-se assim um transcrito semelhante ao da prelamina A, com 1824C-T+1819-1968del (De Sandre-Giovannoli *et al.*, 2003), que inclui uma junção aberrante entre as posições 1818 e 1969, exões 11 e 12, respetivamente (Fig. 3.1). A remoção dos 150 nucleótidos que se traduzem numa deleção interna de 50 aminoácidos na prelamina A mutada impede a ocorrência do último passo pós-traducional exclusivo do processamento da prelamina A para lamina A. Tal deve-se ao facto do local de reconhecimento da enzima ZMPSTE24 estar inserido na fração que foi deletada. À proteína resultante deste processo dá-se o nome de progerina, que por se encontrar permanentemente farnesilada é incorporada de forma anormal na periferia do IN. Com o envelhecimento das crianças e a repetição dos ciclos celulares, dá-se uma crescente acumulação de progerina. Tendo as suas propriedades estruturais e bioquímicas alteradas, a progerina adquire toxicidade por ganho de função dominante negativa, demonstrada

com a persistência da morfologia nuclear aberrante típica da síndrome pelas células HGPS, mesmo na presença de lamina A não mutada. Conclui-se, assim, que é a presença da progerina e não a ausência da lamina A maturada que desencadeia toda a progeria (Qi & Xie 2013) com alteração de muitas das características e funções celulares lamino-dependentes. É curioso que o sítio crítico de *splicing* ativado na progeria também seja usado, numa frequência de 160 vezes inferior, em indivíduos saudáveis à medida que vão envelhecendo. Existe, portanto, uma concordância clara em termos de sintomas, alterações patológicas e expressão e distribuição da progerina entre as crianças afetadas e os indivíduos geriátricos normais, sem que ainda aja, no entanto, um consenso entre a relação causa/efeito entre a progerina e o envelhecimento fisiológico.

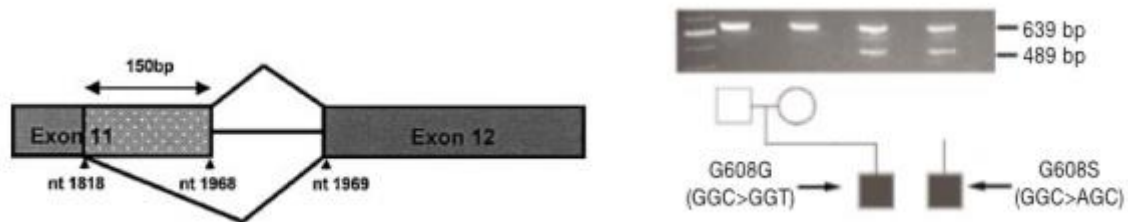


Figura 3.1 À esquerda: Transcrição anormal do gene LMNA. Representação esquemática do local crítico de *splicing* ativado pela mutação C→T, no codão 608 do exão11, gerando uma deleção de 150 bp no transcrito codificador da progerina, que correspondem à não transcrição desde o nucleótido 1818 até ao 1968. Por oposição ao que ocorreria na situação normal, de completa transcrição do exão 11, transpondo-se a posição 1968 para a 1969, já no exão 12, do gene *LMNA*. Fonte: Hennekam, *et al* 2006. À direita: Resultado de RT-PCR, demonstrando a deleção de 150 bp, com a presença do produto anormal de 489bp, por ativação do local de *splice* com a mutação de novo que surge apenas na descendência. Fonte: (Eriksson *et al.* 2003).

Interações alteradas pela progerina

A lamina A forma um complexo multiproteico na MNI, pelo que o seu processamento incompleto e o aumento da progerina, irão condicionar o funcionamento celular normal. A lamina A interatua com genes silenciados ou menos expressos, localizados na periferia e genomicamente aglomerados, mantendo-os nesse estado. Na progeria, a ausência da interação não é suficiente por si só para alterar a expressão desses genes. Por sua vez, a progerina para além de se ligar a cerca de 99,5% destes genes designados por “lamina A-associados” ainda interatua com mais um conjunto de genes silenciados. Pelo que as interações que se estabelecem entre gene-lamina A e gene-progerina, alteram a localização desses genes e criam condições de tal modo que terão, consequentemente, efeitos diretos e distintos na organização e interação da cromatina na lâmina nuclear (Kubben *et al.*, 2012).

Os fibroblastos HGPS desenvolvem alterações morfológicas nucleares muito típicas, que os tornam mais sensíveis a tensões mecânicas e de stress. A sua resposta normal induzida para contrariar ou ultrapassar estas tensões está diminuída e retardada, não permitindo que a reparação dos danos no DNA seja feita atempadamente, acabando por responder da única maneira possível, com a apoptose/necrose celular. Em consequência, quando em cultura, uma duração de vida reduzida comparando com células normais. (Prokocimer *et al.*, 2013; Qi & Xie 2013).

Fenótipo celular

A forma e a arquitetura nucleares das células HGPS apresentam alterações significativas: invólucro nuclear lobulado - a evidência citológica mais evidente da síndrome -, lâmina nuclear enrijecida com menor flexibilidade, perda da heterocromatina periférica e aglomeração dos canais de transporte e dos poros nucleares do IN, dada a acumulação e toxicidade crescentes da progerina. Antes de desenvolverem quaisquer modificações morfológicas óbvias, os fibroblastos exibem anormalidades nos padrões de modificação das histonas e na expressão de genes. A expressão de 361 genes demonstrou estar sobre-regulada para fatores de transcrição, proteínas da matriz extracelular e proteínas implicadas na aterosclerose, enquanto que para proteínas envolvidas na replicação do DNA e remodelação da cromatina entre heterocromatina e eucromatina estava sub-regulada (Pereira *et al.*, 2008; Qi & Xie, 2013).

Segundo Eriksson *et al.* (2003), no seu estudo de 2003, recorrendo a imunofluorescência com diferentes anticorpos monoclonais contra lamina A/C em fibroblastos primários de 5 casos da HGPS clássica, relata que em 48% das células HGPS o invólucro nuclear apresentava forma irregular.

Aberrações teloméricas e cromossómicas

As extremidades dos cromossomas são designadas por “telómeros”. Estes correspondem a sequências de DNA repetidas e pouco reativas, impedindo que as extremidades de diferentes cromossomas estabeleçam interações entre si, conferindo, portanto, estabilidade aos cromossomas.

A perda de expressão da lamina A e o aumento da expressão da progerina, proporcionam a instabilidade dos telómeros que se tornam mais pequenos e com localização incorreta, assumindo o fenótipo telomérico disfuncional característico dos fibroblastos da síndrome, ficando a integridade celular comprometida. Como consequência deste fenótipo, são ativados ciclos viciosos, descritos na figura 3.2, também presentes na indução da senescência celular dos fibroblastos durante o envelhecimento normal (Pereira *et al.*, 2008; Prokocimer *et al.*, 2013; Schreiber & Kennedy, 2013). Destas considerações pode-se retirar que, uma vez que o desgaste e a disfunção dos telómeros, bem como a disfunção mitocondrial, estão associados a doenças cardiovasculares, é

possível que também eles estejam implicados na doença cardiovascular aterosclerótica descrita na HGPS. Além disso, pela ativação do fator p53, os telómeros encurtados poderão suprimir a indução de tumores, contribuindo possivelmente desta maneira para a raridade da expressão do cancro na síndrome, apesar da instabilidade genómica (Prokocimer *et al.*, 2013).

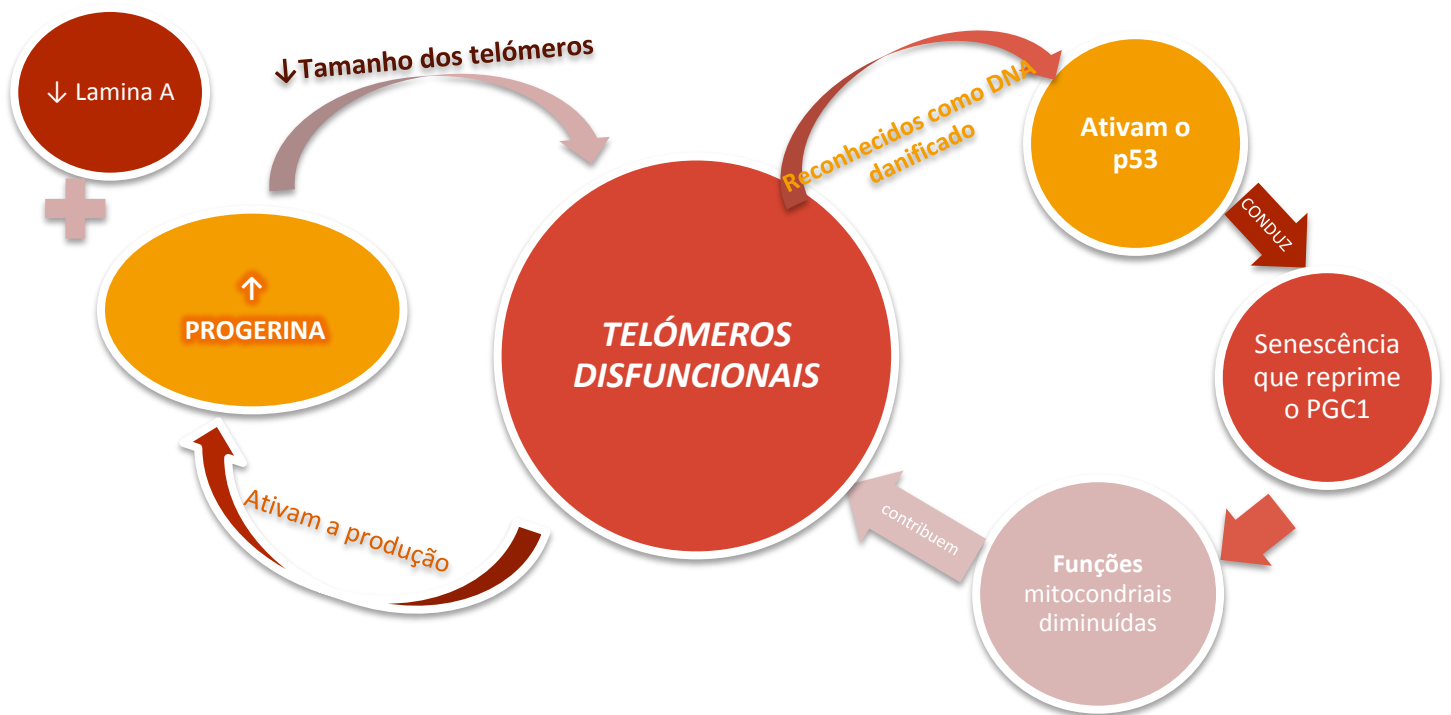


Figura 3.2 Telómeros Disfuncionais. A expressão diminuída de lamina A e a expressão de progerina aumentada geram um encurtamento dos telómeros, tornando-os disfuncionais. Uma vez disfuncionais, são reconhecidos como DNA danificado, ativando o supressor de tumores p53 e contribuindo para a senescência celular. Além disso, diminuem as funções mitocondriais, por reprimirem PGC-1, um co-ativador da expressão génica, que pertence uma classe de proteínas reguladoras da transcrição que, embora não se liguem ao DNA diretamente, também podem controlar a resposta génica por se ligarem a vários fatores de transcrição. Levando ao aumento da expressão de genes envolvidos na biogénese mitocondrial e aumento da função respiratória, causam um aumento da capacidade enzimática para beta-oxidação de ácidos gordos, ciclo de Krebs e fosforilação oxidativa. Na sua ausência, o aumento do aporte energético, quando necessário, em caso de esforços físicos por exemplo, não ocorre, além de que conduz a disfunção cardíaca. Fontes: (Cao *et al.*, 2011; Prokocimer *et al.*, 2013).

Modificações nas histonas

As histonas são as proteínas, que formando um núcleo de oito proteínas, rodeado pela dupla hélice de DNA constituem uma unidade estrutural designada de nucleossoma, representativa do primeiro nível de organização da cromatina, cujo tipo e localização espacial das suas modificações covalentes são essenciais à organização da cromatina durante as diferentes fases do ciclo celular. Nas células HGPS, pelo facto da lamina A estar envolvida na ancoragem e organização da cromatina, surge uma série de alterações epigenéticas severas, tal como alterações nas modificações covalentes das histonas, que afetam a transição entre eucromatina e heterocromatina e a sua localização espacial. Um exemplo, é a H3K9me3, um tipo de modificação das histonas que funciona como marcador da heterocromatina da região pericentral dos telómeros, que por se encontrar sub-regulada nas células HGPS, contribui para que as regiões pericentrais tendam a estar menos associadas à lâmina nuclear. Consequentemente, a transcrição destas regiões é aumentada e a associação com as HP1, proteínas que se associam às modificações das histonas e que reconhecem a H3K9me3, diminuída (Arancio *et al.*, 2014; Prokocimer *et al.*, 2013). Desta maneira, as alterações epigenéticas descritas nas células HGPS contribuem no seu conjunto alterar os padrões de expressão dos genes e todo o metabolismo celular, conduzindo em última instância para a expressão sistémica da síndrome.

Regulação do ciclo nuclear

O ciclo celular é o fenómeno biológico que permite que a vida exista pela proliferação e diferenciação celular, no qual uma célula indiferenciada sofre 2 eventos: a duplicação do seu DNA - na interfase - e a segregação dos cromossomas durante a mitose e a citocinese - fase mitótica- gerando células filhas que partilham as mesmas características genéticas.

De acordo com Qi & Xie (2013), a expressão da progerina induz uma variedade de alterações a nível do ciclo celular. Na fase mitótica geram-se atrasos na citocinese,

cromossomas anormais e binucleação. Por sua vez, durante a interfase, a fase G1 é mais extensa e a localização dos cromossomas, com os mais pequenos virados para o centro e os maiores para a periferia nuclear, diferentes das situações apresentadas pelas células controlo. Deste modo, à medida que a expressão da progerina ganha proporções significativas, os pontos chave de regulação do ciclo celular ficam de tal maneira afetados, que as células HGPS abandonam o ciclo celular para prosseguirem para um processo de destruição celular. Existem resultados científicos que evidenciam que o defeito na proliferação celular, em células HGPS do músculo liso vascular, deve-se primeiramente a uma morte celular independente da caspase (enzima essencial para a apoptose) durante a mitose e não por senescência prematura (Zhang *et al.*, 2014).

CAPÍTULO 4: Lidar com a progéria

Diagnóstico da síndrome de Hutchinson-Gilford ou progéria

O melhor diagnóstico é conseguido quando se cruzam as informações do exame clínico, já referidas anteriormente no capítulo 2, e teste genético de diagnóstico, permitindo estabelecer-se um diagnóstico diferencial de modo a que outras laminopatias progeróides, como a WS, possam ser excluídas.

Confirmada a expressão génica da doença de acordo com a idade da criança, pelo facto das manifestações se expressarem em idades diferente com intensidade diferente, procede-se à análise mutacional da substituição nucleótida G→T, no codão 608 do gene *LMNA*, através do teste genético molecular (Sinha *et al.*, 2014). Neste teste realiza-se não só a deteção mutação heterozigótica típica da HGPS, mas também se verifica, caso dê negativo para esta, as 3 mutações heterozigóticas, no gene *LMNA*, que geram a progéria atípica ou não clássica: c.1882G→A, c.1821G→A ou c.1968+1G→A (Gordon *et al.*, 2011). O teste genético é feito por meio do envio de uma amostra de sangue ou saliva pelo correio para a PRF, a partir de qualquer parte do mundo, ficando os resultados disponíveis entre 10 dias a 4 semanas (dependo da extensão dos testes genéticos) (PRF, 2014c).

Poderá ser realizado um teste pré-natal de diagnóstico, se tiverem casos na família identificados com a mutação causadora da doença, para gravidezes consideradas de risco, uma vez que as gravidezes de muitas destas crianças foram gravidezes de risco dada a idade dos pais.

Tratamento das manifestações da doença

Atualmente, ainda não existe nenhum tratamento eficiente para os doentes com a progéria confirmada. Os médicos locais de cada criança são a ponte entre a família e a PRF, sendo eles responsáveis pelo envio do material genético bem como pela comunicação à família do resultado e de delinearem em conjunto o percurso que vão realizar a partir daquele momento (PRF, 2014d).

Quanto mais cedo for diagnosticado melhor se poderá incidir sobre as necessidades da criança, pois as medidas que se adoptam são apenas para apoiar as crianças na sintomatologia derivada da HGPS, de modo a que tenham a melhor qualidade de vida possível (Gordon *et al.*, 2011; Hennekam, 2006). Minimizando as intervenções médicas invasivas o mais possível, evitar a dor regular bem apoio psicológico para as crianças e a sua família. Para tal é feito uma avaliação pós-diagnóstico extensiva para se avaliarem os parâmetros e saber como ajudar a criança nas suas necessidades, porque apesar de serem sintomas comuns cada criança tem o seu desenvolvimento e progressão da doença específicos.

De um modo geral, na Tabela 4.1 estão evidenciados cuidados comuns que cada criança em alguma fase da doença acabará por seguir.

Tabela 4. 2 Tratamento das manifestações da progéria para minimizar os efeitos da doença.

TRATAMENTO DAS MANIFESTAÇÕES HGPS	
Sintoma	Tratamento
Reabsorção das falanges e contratura de todas as articulações das extremidades superiores, que conduz a uma perda de coordenação motora e de manusear corretamente qualquer objeto.	Terapia ocupacional e os pais devem deixar a criança realizar as tarefas do dia a dia de higiene, de se vestir, comer entre outras sozinha, estimulando a sua independência. Ensinar a criança a adoptar posições corretas quando sentada ou a realizar qualquer tarefa.

<p>Desconforto a andar e sentados devido à perda da massa gorda nos pés e nádegas</p>	<p>Palmilhas e calçado adequado e assentos almofadados</p>
<p>Para manter o coração saudável dado o elevado risco cardiovascular associado à doença</p>	<p>Atividades físicas moderada e adequada, tendo em conta osteoartrite, deslocação frequente da anca e restrição de movimentos das articulações, em ambiente controlado (dada a facilidade acrescida de fraturas). Natação é uma boa atividade para as crianças com HGPS. Realizando atividades ao ar livre, pela pele ser fina e com vascularização proeminente e de modo a evitar hiperpigmentações, escaldões e consequências que podem decorrer para estas crianças e para a restante população por uma exposição solar, aconselha-se uso de protector solar de elevado SPF.</p>
<p>Crescimento retardado em estatura e peso</p>	<p>Alimentos e suplementos multivitamínicos e hipercalóricos, dados oralmente, em refeições pequenas e frequentes, de modo a potenciar o aporte calórico.</p>
<p>Síndrome de olho seco, lagofthalmia e fotofobia</p>	<p>Aplicação de lágrimas artificiais e de conforto, várias vezes ao dia e pomada lubrificante, e aplicar à noite pomada oftálmica lubrificante para humedecer o olho e proteger a abertura. Assim evita-se a ceratite de exposição. A fotofobia evita-se com recurso a óculos de sol com lentes adequadas.</p>
<p>Problemas nos dentes: desgração, sobreposição dos dentes e cáries</p>	<p>Extração dentária dos dentes de leite quando os dentes ditos definitivos já estiverem parcial ou completamente de fora, pois estes irão pela pressão gerada pelos outros dentes e pouco</p>

	<p>espaço ocupar o lugar do dente extraído, e recurso a flúor nas zonas necessítadas,mas de forma controlada, pois o uso excessivo de flúor pode gerar formas avançadas de fluorose dental. Visitas recorrentes ao dentista. Bons hábitos de higiene oral. Mas sempre tendo em consideração a suscetabiliade à doença peribucal e a abertura limite da boca.</p>
--	--

Fonte: (Livneh *et al.* 1995; Gordon *et al.* 2011).

Quanto a sarar feridas, tratar de infeções e tipo de ensino são iguais às outras crianças não tendo de ter nenhum cuidado em especial. Apenas terem o mesmo cuidado de desinfetar as feridas e ter as vacinas em dia. Na escola, pelo efeito nulo da doença sobre o intelecto e maturidade, podem frequentar o ano correspondente à sua idade, tendo apenas atenção de evitarem estar no meio da multidão no recreio e os períodos de saída das aulas, para não serem derrubados e gerar lesões. Muitas vezes, acabam as aulas um pouco mais cedo que o resto dos alunos para evitar esses momentos de sobrelotação, como demonstrado no documentário *A 96 year-old schoolgirl* (disponível em https://www.youtube.com/watch?v=ZyvGM_anr6I).

Prevenção das complicações secundárias da doença

Já foi mencionado anteriormente, que a maior causa de morte dos doentes com progéria deve-se a enfarte do miocárdio e AVC, uma vez que a doença cardiovascular é gradualmente progressiva. Em consequência, segundo Gordon *et al.* (2011) e PRF (2014d), é essencial a monitorização cuidadosa e repetida dos parâmetros de pressão arterial, função cardíaca, entre outros. Faz parte da vida de uma criança com progéria realizar anualmente, e sempre que solicitado pelo médico, uma consulta com um cardiologista. Deverão também ser incluídos um exame físico, medição do perfil lipídico e da glicose em jejum, em que normalmente os lípidos sanguíneos, entre eles o colesterol, apresentam-se com valores normais para a idade destes pacientes. Além disso, a medição

da pressão arterial deve ser feita nos braços e nas pernas, sendo acompanhada por um electrocardiograma (ECG), ecocardiograma, ultrassom doppler da carótida e velocidade da onda de pulso. Os dois últimos, mesmo quando disponíveis, não são habitualmente realizados em pacientes pediátricos. Poderão ainda ser realizados testes ao comportamento auditivo para avaliar os limiares acústicos. Visitas ao oftalmologista e dentista, mais do que uma vez por ano, também são altamente recomendáveis. Ainda está descrito o recurso a medicamentos doseados tendo em conta o peso da criança, quando esta começa a desenvolver sinais ou sintomas de declínio vascular, como hipertensão arterial, AIT, derrames cerebrais, convulsões, angina, dispneia por esforço, alterações no ECG, alterações no ecocardiograma ou ataques cardíacos. Administra-se às crianças os mesmos medicamentos que se administram aos adultos quando têm estes mesmos episódios, como por exemplo a nitroglicerina, um vasodilatador da família dos antianginosos. A Aspirina® é tomada diariamente pelas crianças HGPS com propósito preventivo. Inicialmente foi desenvolvida apenas como um analgésico e antipirético, mas provou ter um papel muito importante na redução de problemas cardíacos por ação antiagregante plaquetária (INFARMED 2013), quando numa terapia de pequenas dosagens, sendo esses benefícios tanto maiores, quanto maior o risco cardiovascular. Todas as crianças com HGPS, pelo elevado risco de doença cardiovascular que o síndrome comporta, são elegíveis em qualquer idade para uma terapia de baixa dosagem de aspirina de 2 a 3 mg por Kg de peso corporal, independentemente da existência ou não de anormalidades cardiovasculares ou perfis anormais de lípidos, permitindo assim prevenir o aparecimento de trombos e os episódios que deles derivam através da inibição agregação plaquetar. A dose é ajustada sempre que necessário, tendo em consideração a evolução clínica cardiovascular. Quando a criança contrai gripe ou varicela, por a toma concomitante aumentar o risco da criança desenvolver síndrome de Reye. Este afeta o cérebro e o fígado, provocando, respetivamente, edema progressivo, e consequentemente hipertensão intracraniana, e acumulação de gordura nas suas células, que pode evoluir para falência e conduzir à morte. Caso haja esse desenvolvimento, cessa-se a toma de Aspirina®.

CAPÍTULO 5. O Caminho para a cura

A descoberta, em 2003, da identidade da progerina, a sua síntese e acumulação como a causa da síndrome de Hutchinson-Gilford, abriu o caminho para que se procurasse a cura para a doença, em vez de se estar limitado a tratar e controlar os seus sintomas e efeitos secundários.

Estudos pré-clínicos

A progerina, é na sua essência uma prelamina A mutada continuamente farnesilada, devido à ausência do local de ligação da ZMPSTE24 na sua estrutura proteica, responsável pela remoção do grupo farnesilo. Com base na hipótese, de que a manutenção do grupo farnesil é o maior mediador da toxicidade da progerina, através da sua ancoragem no IN e interações dominante-negativas (Pereira *et al.*, 2008) tornou-se óbvio que esta e outras síndromes progeróides poderiam ser tratadas através da inibição da prenilação da progerina. Tal podia ser conseguido quer pela diminuição da prelamina A mutada-farnesilada, quer pela redução da sua farnesilação através do bloqueio da farnesiltransferase (FTase) (Young & Yang, 2013). Deste modo, surge a ideia de recorrer a inibidores de farnesiltransferase (FTIs) (Tabela 5.1). Numa primeira fase, foram usadas linhagens de células HGPS e modelos de ratos HGPS *Lmna*^{Hg/+}, *que* expressam progerina farnesilada, bem como modelos de ratos células ZMPSTE24-deficientes, *ZMPSTE24*^{-/-}, para testar o efeito dos FTI no núcleo destes fibroblastos. Com este tratamento observou-se *in vitro* que ao inibir o farnesilação a prelamina A mutada, mas não farnesilada, assumia uma localização mais afastada do IN e mais centrada no interior do nucleoplasma, sendo menor a frequência de anormalidades na forma nuclear (Pereira *et al.*, 2008; Young & Yang, 2013). Além disso, os fibroblastos HGPS exibiram uma morfologia nuclear mais semelhante à normal, uma expressão génica mais controlada, com aumento do tempo de vida celular e ainda uma redução na rigidez nuclear (Gordon *et al.* 2014)

Por conseguinte, estudou-se *in vivo* os efeitos do FTI nos dois modelos murinos de progéria. Os ratos da linhagem *ZMPSTE24^{-/-}* exibiram ganho de peso, força de preensão melhorada, maior integridade óssea com redução do número de fraturas quando comparados com os ratos *wild-type*. O tratamento com FTI também se revelou eficaz na linhagem de ratos *Lmna^{Hg/+}* que, para além de exibirem as mesmas melhorias que a linhagem anterior, resultou num aumento de tecido adiposo, do tempo de vida e na percentagem de sobrevivência. No entanto, este tratamento não foi suficiente para evitar que ambos os tipos de ratos desenvolvessem a doença com expressão dos fenótipos característicos e acabassem por morrer como consequência de cardiomiopatia (Zaremba-Czogalla *et al.* 2011; Young & Yang 2013). Segundo um estudo realizado por Wang *et al.* (2012) o tratamento com FTI em determinadas concentrações ou dosagens conduz a efeitos secundários indesejados a nível celular, como consequência da redistribuição das laminas tipo A para o interior do núcleo. Tal redistribuição deve-se ao facto da progerina não farnesilada associar-se mais fortemente às laminas A e C que a progerina farnesilada ao mesmo tempo que as laminas A também expressam uma preferência de se associarem bioquimicamente à proteína mutada não farnesilada, que assume uma posição nuclear mais interna. O défice de laminas tipo A na lâmina nuclear permite que surjam miopatias cardíacas e neuropatias periféricas, resultando na morte dos ratos da linhagem *Lmna^{Hg/+}* ao fim das 8 semanas de vida.

Tornou-se evidente que o bloqueio da farnesilação da prelamina A mutada tem efeitos benéficos, relatando-se um resgate de muitos dos fenótipos alterados pela síndrome. No entanto, quando comparando os dados pré-clínicos *in vivo* e *in vitro*, destacou-se um dado relevante: o bloqueio da farnesilação *in vivo* era inferior ao esperado, tendo em consideração uma menor quantidade de prelamina A não farnesilada vs. lamina A maturada. Tal sugere que a inibição da FTase foi incompleta, uma vez que persistiu uma atividade enzimática residual capaz de farnesilar a prelamina A (Young & Yang, 2013), constituindo um limite à monoterapia com FTI. A prelamina A e a progerina, estruturalmente, terminam com uma caixa CaaX, em que o aminoácido X é uma metionina, o que permite que outras enzimas responsáveis pela prenilação de substratos com a mesma terminação possam realizar o procedimento. Efetivamente, na ausência da FTase, o substrato é geranilgeranilado por ação da GGTase-I, explicando a baixa eficiência e limitação do tratamento com FTI (Zaremba-Czogalla *et al.* 2011). Se a prelamina A e a progerina sofrem uma prenilação alternativa durante o tratamento com

FTI, tornou-se terapeuticamente necessário considerar abordagens terapêuticas que permitissem bloquear duplamente a FTase e a GGTase. Tendo por base o mecanismo de biossíntese do colesterol (Fig. 5.1), com o pressuposto de que a HMG-CoA reductase é inibida, consideraram-se duas moléculas capazes de impedir direta e indiretamente as modificações da lamina A aumentando a eficácia dos tratamentos (Schreiber & Kennedy, 2013).

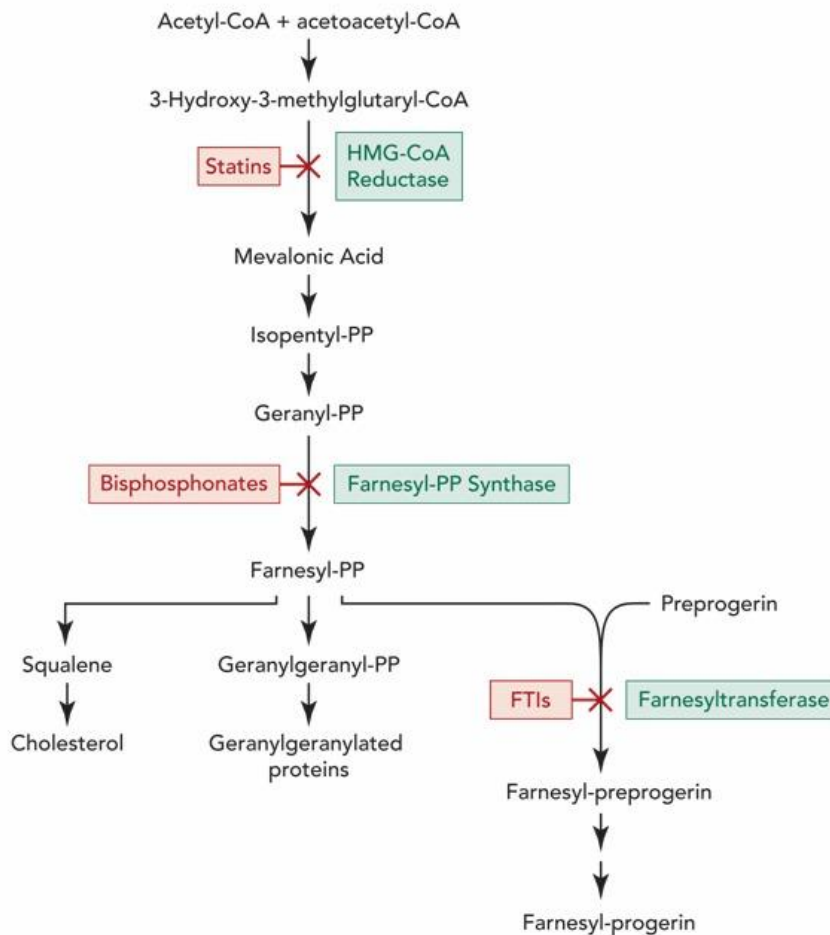


Figura 5. 1 Inibição direta e indireta da prenilação da progerina. O bloqueio de enzimas que catalizam a síntese e transferência dos isoprenóides pelos bifosfonatos e inibidores da farnesiltransferase (FTIs), poderá impedir a farnesilação da progerina, evitando que esta se torne mais lipofílica e que se ancore permanentemente à MNI. Esta estratégia previne que a progerina se acumule e adquira níveis tóxicos, que geram os fenótipos celulares das doenças. Fontes: (Pereira *et al.* 2008; PRF, 2014d).

Tabela 5. 2 Resumo dos medicamentos usados nas estratégias terapêuticas para a HGPS.

Classificação clínica	Nome	Descrição	Referências
Inibidor da farnesiltransferase	Lonafarnib	Inibidor não competitivo da FTase. Evita a modificação pós-traducional que confere características lipófilas a proteínas hidrófilas de modo a que estas interatuem com as membranas fosfolipídicas, numa variedade de células, envolvidas em diversos mecanismos patogénicos. Inicialmente foi desenvolvido como anticancerígeno, uma vez que as células cancerígenas também necessitam de ser farnesiladas; no entanto, em estados avançados de desenvolvimento de tumores sólidos, o lonafarnib demonstrou ter uma atividade limitada.	(Wong & Morse, 2012; Moorthy <i>et al.</i> , 2013; Gordon <i>et al.</i> , 2014)
Estatinas	Pravastatina	Inibidor da HMG-CoA reductase. Reduz os níveis do colesterol LDL, e por conseguinte contribui para diminuir a aterosclerose, prevenindo o risco de ataques cardíacos e AVC. Ao inibir interfere na biossíntese do grupo farnesilo.	(Moorthy <i>et al.</i> , 2013; Young & Yang 2013; Gordon <i>et al.</i> 2014)

Bifosfonatos	Ácido zoledrónico	Inibidor da farnesil-pirofosfato sintase, bloqueando a síntese do substrato farnesil-PP, impedido a ação da GGTase e da FTase por falta de substrato. É usado para prevenir a osteoporose depois da menopausa, bem como o risco complicações ósseas, por exemplo fraturas ósseas, uma vez que atua ligando-se ao osso e reduzindo a taxa de remodelação óssea. Para além de contribuir para a impedir a síntese do grupo farnesil, auxilia para evitar os problemas ósseos das crianças com progéria que apresentam pouca densidade óssea.	(Pereira <i>et al.</i> 2008; Schreiber & Kennedy 2013)
--------------	-------------------	--	--

A combinação de estatinas e bifosfonatos (Tabela 5.1) foram então usadas para reduzir a produção dos farnesildifosfatos usados nas prenilação das prelamina. Estudos com os bifosfonatos demonstraram que a acumulação de prelamina A mutada não farnesilada nas células normais e células HGPS era menor que com FTI em monoterapia. A administração da combinação bifosfonatos-estatinas a ratos *Zmpste24^{-/-}* demonstrou um resgate mais alargado dos fenótipos da progéria e a extensão da longevidade (Pereira *et al.* 2008; Zaremba-Czogalla *et al.* 2011; Wang *et al.* 2012; Schreiber & Kennedy 2013; Young & Yang 2013; Bonello-Palot *et al.* 2014; Gordon *et al.* 2014).

Ensaio clínico

Idealmente, as estratégias de tratamento de síndromes progeróides necessitam de combinar a recuperação da morfologia celular com uma resposta eficaz aos danos do DNA, de modo a resgatar o fenótipo normal dos indivíduos afetados.

Lonafarnib: primeiro ensaio clínico para progéria em humanos

Os resultados pré-clínicos com a monoterapia de lonafarnib foram controversos, com a melhoria de alguns fenótipos mas sem existir evidência de que a progerina não farnesilada, que se acumulava na zona central do núcleo, não seria tóxica para os humanos, sendo imperativo o uso cauteloso de FTIs no tratamento desta patologia a longo termo. No entanto, os resultados estendidos aos humanos não poderiam ser assumidos, por serem meros pressupostos. Assim, deu-se prosseguimento ao teste do lonafarnib com um número de coorte de humanos e duração do tratamento adequados (Gordon *et al.* 2014).

Segundo Gerhard-Herman *et al.* (2012), Gordon *et al.* (2012) e Gordon *et al.* (2014), o ensaio clínico de fase II da monoterapia oral do FTI lonafarnib, que recebeu a designação de NCT00425607, tratou-se de um estudo prospetivo. Desde Maio de 2007, 26 crianças de ambos os sexos, de 16 países, Portugal incluído, com idade igual ou superior a 1 ano estiveram envolvidas num estudo que primeiramente esteve limitado a uma toma oral inicial de 115 mg/m² de lonafarnib de 12/12 horas, durante 4 meses. A ausência de toxicidade significativa permitiu que o estudo se prolongasse por mais 24 meses. De notar que, dadas as características da síndrome e pelo facto da severidade da doença não ser uma questão de idade do envolvido, mas estar sim relacionada com o nível de expressão da progerina e progressão do fenótipo, cada criança funcionou como o seu próprio controlo, comparando os dados recolhidos no início do processo com os equivalentes no final. Em Outubro de 2009, o ensaio clínico foi concluído tendo sido retiradas as seguintes conclusões. A dosagem inicial de 115 mg/m² foi aumentada para 150 mg/m², tendo sido bem tolerada por 24 dos 26 pacientes, sem que nenhum paciente tenha saído do ensaio clínico devido a toxicidade associada. Aos 2 pacientes que não

toleram a dose máxima, foi reinserida a dosagem inicial e assim permaneceram até ao final do estudo. Foram identificados como efeitos secundários diarreia ligeira, cansaço, náuseas, vômitos, anorexia e hemoglobina deprimida (Gordon *et al.* 2014), sendo que a toxicidade do lonafarnib no estudo correspondeu com a espetável e até diminui com o decorrer do tempo. Em 9 de 25 pacientes, o ganho de peso com o tratamento foi considerado um sucesso, com uma percentagem de 18-53% num intervalo de confiança de 95%. Este ganho de peso foi comprovado com o afastamento da linearidade da taxa de peso, que varia para cada criança mas que sem o tratamento se mantinha estável para essa criança. De uma maneira geral, das 25 crianças que completaram o estudo, excetuando uma que faleceu ao quinto mês como consequência de um enfarte do miocárdio, todas demonstraram ter melhorado em algum dos aspetos consequentes da síndrome, tal como melhoria da estrutura óssea ou estágio audiológico e ainda da rigidez cardiovascular, que no início do estudo a coorte HGPS exibia uma pulsação equivalente à de uma faixa etária dos 60-69 anos, enquanto que no final esta correspondia a uma pulsação típica de indivíduos de 40-49 anos. O ganho de peso, ainda que abaixo dos normais para idade dos pacientes, resultou do ganho de massa muscular e de osso e não devido a um maior aporte calórico ou alterações, quer na absorção intestinal, quer no gasto energético. Dos pacientes que entraram no tratamento com lonafarnib com as maiores taxas de ganho de peso demonstraram uma tendência para que esta diminuísse durante o ensaio. Supondo-se que a intolerância ao medicamento, o desgaste provocado pelo tratamento em si e pelas constantes viagens para o *Boston Children's Hospital* e a própria progressão da doença sejam possíveis fatores para essa tendência nesses pacientes. De um modo geral, com este ensaio clínico tornou-se evidente que pelo menos de uma forma preliminar o lonafarnib permite melhorar aspetos da HGPS (Ullrich *et al.*, 2013), embora não tenha sido possível estabelecer considerações acerca da sua influência na sobrevivência dos envolvidos, dada a sua curta duração.

Ensaio clínico: NIH (2014)

Em Outubro de 2008, teve início um estudo intervencional de modo a avaliar a tolerância e eficácias das moléculas pravastatina e ácido zoledrónico, no tratamento da progéria, quanto ao peso, altura e metabolismo ósseo, durante de 48 meses, no laboratório de genética molecular do Hospital de Timone, Marselha. Identificado como o ensaio clínico NCT00731016, 15 crianças de ambos os géneros com 3 ou mais anos com mutação do gene *LMNA* bem identificada, receberam diariamente 10 mg de pravastatina, oralmente, injeções intravenosas lentas de ácido zoledrónico dissolvido em 50 mL de solução salina, com dosagens crescentes conforme a tolerância das crianças.

Este ensaio clínico foi concluído a Julho de 2013, sem que os dados ainda tenham sido reportados.

Ensaio Clínico: a combinação para encontrar a cura FTI + Estatina + Bifosfonato

No *Boston Children's Hospital*, em Março de 2009 com o pressuposto de um estudo observacional, para a avaliar a possibilidade da administração de ácido zoledrónico via intravenosa e pravastatina e lonafarnib oralmente, a paciente 5 com Progéria, num mínimo de 4 semanas, foi realizado o ensaio clínico NCT00879034 (NIH 2014b). Um ensaio piloto baseado na administração oral diária de 12/12 horas 150 mg/m² de lonafarnib, sendo a dosagem reduzida conforme a criança apresentasse níveis de toxicidade superior ao esperado, poderia ser diminuído para os níveis de 115, 90 ou 70mg/m² e de 5mg e 10mg de pravastatina, para crianças com peso inferior ou peso igual ou superior a 10kg, respetivamente. O ácido zoledrónico foi apenas administrado intravenosamente na primeira semana de tratamento, durante 30 minutos, com uma dosagem de 0,0125 mg/Kg de peso de cada criança. Comprovando-se a tolerância em relação à combinação farmacológica, o regime de tratamento poderia ser prolongado por mais 6 meses. Foi concluído em Abril de 2009. Tendo em conta os valores obtidos que demonstraram ser favorável a terapia com estes intervenientes químicos, deu-se início a um processo para um novo ensaio clínico em Junho desse mesmo ano. Envolvendo 45

crianças de 24 países, 17 idiomas diferentes, que se deslocaram a Boston de 6 em 6 meses, por um período de 24 meses. Segundo NIH (2014c) este ensaio tem como pressuposto avaliar a eficácia da combinação tripla e ainda entender as implicações da sua administração durante o tempo, farmacocinética dos compostos, as interações com anormalidades características da doença e tecer comparações entre os resultados a obter com o NCT00879034, o ensaio piloto da combinação (NIH 2014b). Por esta razão, a posologia de cada fármaco manteve-se como a do anterior com as ressalvas de o lonafarnib e a pravastatina cumprirem a posologia por dois anos e a administração intravenosa de ácido zoledrónico ser efetuada na semana 1, dos meses 1, 6, 12, 18 e 24 do tratamento. Foram relatados efeitos secundários por Gordon *et al.* (2014) de sintomas semelhantes aos da gripe após a administração intravenosa do ácido zoledrónico e por parte da pravastatina desconforto muscular e níveis ligeiramente elevados da creatina fosfocinase.

Segundo o *U.S. National Health Institute* este ensaio autorizado pelo *Boston Children's Hospital*, com a colaboração da fundação *Progeria Research Foundation*, encontra-se atualmente em fase de recrutamento com a previsão de se prolongar até Junho de 2017, permitindo ter um panorama mais significativo dos efeitos a curto e longo prazo da combinação dos três inibidores (NIH, 2014c; Gordon *et al.* 2014). Pelo facto deste ensaio ainda estar a decorrer a toxicidade detalhada dos seus intervenientes ainda não está bem detalhada.

Gordon *et al.* (2014) reportou uma escassez de estudos acerca da sobrevivência da população afetada pela doença em que os estudos existentes se baseavam em revisões bibliográfica. Por conseguinte, desenvolveram o método de curvas *Kaplan-Meier* de sobrevivência e estimativas de sobrevivência para uma coorte de indivíduos HGPS não tratados, que compara com uma coorte de indivíduos HGPS que receberam tratamento durante os ensaios clínicos permitiria ter uma noção real da influência dos tratamentos na sobrevivência das crianças afetadas pela síndrome. Da coorte de indivíduos tratados faziam parte todas as crianças envolvidas nos ensaios da monoterapia de lonafarnib e da terapia combinada de lonafarnib, pravastatina e ácido zoledrónico (Gordon *et al.* 2012; NIH, 2014b; NIH, 2014c) realizados pelo *Boston Children's Hospital*, cujo fenótipo da progéria clássica fosse geneticamente comprovado. Estabeleceram-se correspondências entre idade e género das duas coortes, e apenas crianças nascidas a partir de 1991, inclusive, foram consideradas para a coorte dos HGPS-não tratados, por ser o ano a partir

do qual as crianças tratadas nasceram. Deste modo, fizeram parte do estudo de análise os dados de 161 pacientes não tratados e de 43 pacientes tratados. Considerando as correspondências entre as coortes dos 5 pacientes tratados que faleceram corresponderam 21 dos não tratados, com uma diferença média de 5,3 anos, que equivale a uma extensão da sobrevivência de 1,6 anos segundo as curvas de Kaplan-Meier. Tais resultados sugerem que as terapias de inibição da farnesilação não são suficientes para curar as crianças com síndrome de Hutchinson-Gilford, dada a persistência de muitas características da doença após o tratamento que acabam por conduzir à morte. Contudo, o recurso a estas terapias parece ter contribuído para aumentar a sobrevivência, em que um dado importante é que todos os tratados receberam lonafarnib quer em monoterapia quer combinada. Novos estudo devem ser desenvolvidos sempre cientes que a redução dos níveis e da expressão de progerina, tal como foi descrito por este estudo, permite reduzir os efeitos devastadores que conduzem a esta síndrome ainda fatal.

CONCLUSÃO

A mutação do gene *LMNA* resulta numa série de doenças de origem genética, sugerindo assim o múltiplo papel das proteínas que codifica na homeostase e função celular (Arancio *et al.*, 2013). Na síndrome de Hutchinson-Gilford, é curioso pensar que o gene onde ocorre a mutação dá origem a uma proteína funcional porque retém o aminoácido original, a glicina. No entanto, apesar da mutação corresponder a uma substituição silenciosa, C→T (GGC→GGT), em termos de tradução, tem por consequência uma vida precocemente acelerada. O estudo da HGPS abre, assim, caminho não só para o entendimento da sua patogénese e descoberta de tratamentos que sejam efetivos, mas também para o desvendar de aspetos em comum do envelhecimento normal e da doença a ele associada. Esta hipótese tornou-se mais real pela recorrente identificação da expressão de progerina em indivíduos normais e aos seus níveis elevados nas artérias coronárias à medida que envelhecimento normal ocorre. Uma outra área que poderá ser explorada, aquando da descoberta de uma cura para a progéria, será a oncologia, através da compreensão do mecanismo pelo qual a incidência de cancro nas células HGPS é rara.

Com base no estudo realizado por Gordon *et al.* (2014), as terapias atuais em investigação de inibição da produção de progerina permitem melhorar muitos aspetos da doença e prolongar a vida das crianças. Mais se saberá em 2017 quando terminar o ensaio clínico que está a decorrer. A meu ver, como nem todos os aspetos da doença melhoram com a terapia combinada tripla, é necessário desenvolver novas metodologias de tratamento que deverão ser complementadas com a tríade “lonafarnib + pravastatina + ácido zoledrónico”, de modo a que se possa atingir todos os aspetos desta doença. Uma alternativa terapêutica com estes contornos é a rapamicina, um antibiótico imunossupressor usado para suprimir a rejeição de órgãos transplantados. Uma vez que há evidências em que a rapamicina e seus derivados são úteis para retardar ou até tratar estados associados com o envelhecimento normal, este medicamento poderá ser usado igualmente na terapia da progéria. A inibição do mTORC1—alvo da rapamicina complexo 1 nos mamíferos, que se encontra sinalizado especificamente em tecidos relacionados com patologias do músculo cardíaco e esquelético—pela rapamicina permite o resgate fenotípico dos fibroblastos HGPS e diminuição da quantidade de progerina através de *clearance* autofágica. Também está reportado que a rapamicina

contribuiu para uma melhoria em modelos murinos com fenótipos de doença cardiovascular desse fenótipo. Uma vez que a maior causa de morte na HGPS é consequência da doença cardiovascular, o recurso à rapamicina poderia conferir benefícios a esse nível por poder promover a redução da progerina nos tecidos cardiovasculares. No entanto, apresenta diversas limitações. Para analisar todos os aspetos existem atualmente estudos em modelos de ratos HGPS com um análogo da rapamicina, o everlimus, com objetivo de verificar se se consegue prevenir o fenótipo da doença cardiovascular (Blondel *et al.*, 2014; Graziotto *et al.*, 2012; Ramos *et al.*, 2012). Comprovada a segurança deste fármaco em termos de efeitos tóxicos e/ou dos seus derivados, poder-se-á estar mais perto da cura desta doença tão devastadora.

Bibliografia

- Alves, D. B., Silva, J. M., Menezes, T. O., Cavaleiro, R. S., Tuji, F. M., Lopes, M. A., ... Coletta, R. Della. (2014). Clinical and radiographic features of Hutchinson-Gilford progeria syndrome: A case report. *World Journal of Clinical Cases*, 2, 67–71.
- Arancio, W., Giordano, C., & Pizzolanti, G. (2013). A ceRNA analysis on LMNA gene focusing on the Hutchinson-Gilford progeria syndrome. *Journal of Clinical Bioinformatics*, 3, 2.
- Arancio, W., Pizzolanti, G., Genovese, S. I., Pitrone, M., & Giordano, C. (2014). Epigenetic involvement in Hutchinson-Gilford progeria syndrome: a mini-review. *Gerontology*, 60, 197–203.
- Blondel, S., Jaskowiak, A.-L., Egesipe, A.-L., Le Corf, A., Navarro, C., Cordette, V., ... Nissan, X. (2014). Induced pluripotent stem cells reveal functional differences between drugs currently investigated in patients with hutchinson-gilford progeria syndrome. *Stem Cells Translational Medicine*, 3(4), 510–9.
- Bonello-Palot, N., Simoncini, S., Robert, S., Bourgeois, P., Sabatier, F., Levy, N., ... Badens, C. (2014). Prelamin A accumulation in endothelial cells induces premature senescence and functional impairment. *Atherosclerosis*, 237(1), 45–52.
- Booth-Gauthier, E. a et al., 2013. Hutchinson-Gilford progeria syndrome alters nuclear shape and reduces cell motility in three dimensional model substrates. *Integrative biology : quantitative biosciences from nano to macro*, 5, pp.569–77.
- Burke, B., & Stewart, C. L. (2006). The laminopathies: the functional architecture of the nucleus and its contribution to disease. *Annual Review of Genomics and Human Genetics*, 7, 369–405.
- Campos, J., Faria, C. & Domingues, A. (2006). Envelhecimentos antes de tempo. *Acta Pediátrica Portuguesa*, 3, 223-5.
- Cao, H., & Hegele, R. a. (2003). LMNA is mutated in Hutchinson-Gilford progeria (MIM 176670) but not in Wiedemann-Rautenstrauch progeroid syndrome (MIM 264090). *Journal of Human Genetics*, 48, 271–4.
- Cao, K., Blair, C. D., Faddah, D. A., Kieckhafer, J. E., Olive, M., Erdos, M. R., ... Collins, F. S. (2011). Progerin and telomere dysfunction collaborate to trigger cellular senescence in normal human fibroblasts. *The Journal of Clinical Investigation*, 121, 2833–44.
- Caron, M., Auclair, M., Donadille, B., Béréziat, V., Guerci, B., Laville, M., ... Vigouroux, C. (2007). Human lipodystrophies linked to mutations in A-type

lamins and to HIV protease inhibitor therapy are both associated with prelamin A accumulation, oxidative stress and premature cellular senescence. *Cell Death and Differentiation*, 14, 1759–67.

- Chandravanshi, S., Dwivedi, P., Rawat, A., & Choudhary, P. (2011). Ocular manifestations in the Hutchinson-Gilford progeria syndrome. *Indian Journal of Ophthalmology*, 59, 509.
- Coppedè, F. (2012). Premature aging syndrome. In *Advances in Experimental Medicine and Biology* 724, 317–331).
- De Paula Rodrigues, G. H., das Eiras Tâmega, I., Duque, G., & Spinola Dias Neto, V. (2002). Severe bone changes in a case of Hutchinson-Gilford syndrome. *Annales de Génétique*, 45, 151–5.
- De Sandre-Giovannoli, A., Bernard, R., Cau, P., Navarro, C., Amiel, J., Boccaccio, I., ... Lévy, N. (2003). Lamin A truncation in Hutchinson-Gilford progeria. *Science (New York, N.Y.)*, 300, 2055.
- Domingo, D. L., Trujillo, M. I., Council, S. E., Merideth, M. A., Gordon, L. B., Wu, T., ... Hart, T. C. (2009). Hutchinson-Gilford progeria syndrome: Oral and craniofacial phenotypes. *Oral Diseases*, 15, 187–195.
- Eriksson, M., Brown, W. T., Gordon, L. B., Glynn, M. W., Singer, J., Scott, L., ... Collins, F. S. (2003). Recurrent de novo point mutations in lamin A cause Hutchinson-Gilford progeria syndrome. *Nature*, 423, 293–8.
- Funkhouser, C. M., Sknepnek, R., Shimi, T., Goldman, A. E., Goldman, R. D., & Olvera de la Cruz, M. (2013). Mechanical model of blebbing in nuclear lamin meshworks. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 110, 3248–53.
- Gerhard-Herman, M., Smoot, L. B., Wake, N., Kieran, M. W., Kleinman, M. E., Miller, D. T., ... Gordon, L. B. (2012). Mechanisms of premature vascular aging in children with Hutchinson-Gilford progeria syndrome. *Hypertension*, 59, 92–7.
- Ghosh, S., & Zhou, Z. (2014). Genetics of aging, progeria and lamin disorders. *Current Opinion in Genetics & Development*, 26, 41–46.
- Gordon, L. B., Brown, W. T., & Collins, F. S. (2011). Hutchinson-Gilford Progeria Syndrome. University of Washington, Seattle. Retrieved from
- Gordon, L. B., Kleinman, M. E., Miller, D. T., Neuberg, D. S., Giobbie-Hurder, A., Gerhard-Herman, M., ... Kieran, M. W. (2012). Clinical trial of a farnesyltransferase inhibitor in children with Hutchinson-Gilford progeria syndrome. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 109, 16666–71.
- Graziotto, J. J., Cao, K., Collins, F. S., & Krainc, D. (2012). Rapamycin activates autophagy in Hutchinson-Gilford progeria syndrome, (January), 147–151.

- Hanumanthappa, N. B., Madhusudan, G., Mahimarangaiah, J., & Manjunath, C. N. (2011). Hutchinson-Gilford progeria syndrome with severe calcific aortic valve stenosis. *Annals of Pediatric Cardiology*, 4, 204–6.
- Hennekam, R. C. M. (2006). Hutchinson-Gilford progeria syndrome: review of the phenotype. *American Journal of Medical Genetics. Part A*, 140, 2603–24.
- Hutchinson, J. (1886). CONGENITAL ABSENCE OF HAIR AND MAMMARY GLANDS. *Medico-Chirurgical Transactions*, 69, 473–477.
- INFARMED (2013) Prontuário Farmacêutico 11. Disponível em: <http://www.infarmed.pt/portal/page/portal/INFARMED/PUBLICACOES/PRONTUARIO/Prontu%20E1rio%20Terap%20Autico%20N.%20BA%2011%20-%202013.pdf> [acedido em 20/09/2014].
- INE (2011) Censos 2011. Disponível em: http://censos.ine.pt/xportal/xmain?xpid=CENSOS&xpgid=censos2011_apresentacao [acedido a 24/09/2014].
- Kubben, N., Adriaens, M., Meuleman, W., Voncken, J. W., van Steensel, B., & Misteli, T. (2012). Mapping of lamin A- and progerin-interacting genome regions. *Chromosoma*, 121, 447–64.
- Leslie B. Gordon, Joe Massaro, Ralph B. D'Agostino, Sr., Susan E. Campbell, Joan Brazier, W. Ted Brown, M. E. K. and M. W. K. (2014). Impact of Farnesylation Inhibitors on Survival in Hutchinson-Gilford Progeria Syndrome. C
- Livneh, H., Antonak, R. F., & Maron, S. (1995). Progeria: medical aspects, psychosocial perspectives, and intervention guidelines. *Death Studies*, 19, 433–52.
- Merideth, M. A., Gordon, L. B., Clauss, S., Sachdev, V., Smith, A. C. M., Perry, M. B., ... Introne, W. J. (2008). Phenotype and course of Hutchinson-Gilford progeria syndrome. *The New England Journal of Medicine*, 358, 592–604.
- Moorthy NS, Sousa SF, Ramos MJ, F. P. (2013). Farnesyltransferase Inhibitors: A Comprehensive Review Based on Quantitative Structural Analysis. *Current Medicinal Chemistry*, 20, 4888–4923.
- Mounkes, L. C., & Stewart, C. L. (2004). Aging and nuclear organization: lamins and progeria. *Current Opinion in Cell Biology*, 16, 322–7.
- Navarro, C. L., De Sandre-Giovannoli, A., Bernard, R., Boccaccio, I., Boyer, A., Geneviève, D., ... Lévy, N. (2004). Lamin A and ZMPSTE24 (FACE-1) defects cause nuclear disorganization and identify restrictive dermopathy as a lethal neonatal laminopathy. *Human Molecular Genetics*, 13, 2493–503.
- NIH (2014) Treatment of the Hutchinson-Gilford Progeria Syndrome With a Combination of Pravastatin and Zoledronic Acid. NCT00731016. Disponível em: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/study/NCT00731016?term=HGPS&rank=5> [acedido em 23/09/2014].

NIH (2014b) A Phase II Pilot Study of Zoledronic Acid, Pravastatin, and Lonafarnib (SCH66336) for Patients With Hutchinson-Gilford Progeria Syndrome (HGPS) and Progeroid Laminopathies. NCT00879034. Disponível em: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT00879034?term=hgps&rank=3> [acedido em 23/09/2014].

NIH (2014c) An Open Label Phase II Trial of Zoledronic Acid, Pravastatin, and Lonafarnib for Patients With Hutchinson-Gilford Progeria Syndrome (HGPS) and Progeroid Laminopathies. NCT00916747. Disponível em: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT00916747?term=HGps&rank=1> [acedido em 23/09/2014].

Pereira, S., Bourgeois, P., Navarro, C., Esteves-Vieira, V., Cau, P., De Sandre-Giovannoli, A., & Lévy, N. (2008). HGPS and related premature aging disorders: from genomic identification to the first therapeutic approaches. *Mechanisms of Ageing and Development*, 129, 449–59.

Prokocimer, M., Barkan, R., & Gruenbaum, Y. (2013). Hutchinson-Gilford progeria syndrome through the lens of transcription. *Aging Cell*, 12, 533–43.

PRF (2014) About Progeria Research Foundation. Disponível em: http://www.progeriaresearch.org/about_prf/ [acedido a 20/03/2014]

PRF (2014b) Quick facts. Disponível em: <http://www.progeriaresearch.org/assets/files/pdf/PRF-QUICKFACTS-June-30-2014-.pdf> [acedido a 01/08/2014]

PRF (2014c) PRF by the numbers. Disponível em: http://www.progeriaresearch.org/assets/files/pdf/info_sheets/PRF-By-the-Numbers_for-webfinal.pdf [acedido a 27/06/2014]

PRF (2014d) The Progeria Handbook: A Guide for Families & Health Care Providers of Children with Progeria. Includes genetic testing guidelines. Disponível em: http://www.progeriaresearch.org/assets/files/PRFhandbook_0410.pdf [acedido a 20/05/2014]

Qi, C. Y., & Xie, X. H. (2013). Hutchinson-gilford progeria syndrome and its relevance to cardiovascular diseases and normal aging. *Biomedical and Environmental Sciences : BES*, 26, 382–9.

Ramos, F. J., Chen, S. C., Garelick, M. G., Dai, D.-F., Liao, C.-Y., Schreiber, K. H., ... Kennedy, B. K. (2012). Rapamycin reverses elevated mTORC1 signaling in lamin A/C-deficient mice, rescues cardiac and skeletal muscle function, and extends survival. *Science Translational Medicine*, 4, 103.

Rork, J. F., Huang, J. T., Gordon, L. B., Kleinman, M., Kieran, M. W., & Liang, M. G. (2014). Initial cutaneous manifestations of Hutchinson-Gilford progeria syndrome. *Pediatric Dermatology*, 31, 196–202.

Schreiber, K. H., & Kennedy, B. K. (2013). When lamins go bad: nuclear structure and disease. *Cell*, 152, 1365–75.

- Sinha, J. K., Ghosh, S., & Raghunath, M. (2014). Progeria: a rare genetic premature ageing disorder. *The Indian Journal of Medical Research*, *139*, 667–74.
- Torres, M. R. F., Calitxo Jr., N., Oliveira, L. R., Steiner, S. A., & Iscold, A. M. (2004). Fenômeno de Marcus Gunn : diagnóstico diferencial das ptoses palpebrais na criança Marcus Gunn Phenomenon : differential diagnosis of palpebral ptoses in children. *Jornal de Pediatria*, *249–252*.
- Ullrich, N. J., Kieran, M. W., Miller, D. T., Gordon, L. B., Cho, Y.-J., Silvera, V. M., ... Kleinman, M. E. (2013). Neurologic features of Hutchinson-Gilford progeria syndrome after lonafarnib treatment. *Neurology*, *81*, 427–30.
- Wang, Y., Östlund, C., Choi, J. C., Swayne, T. C., Gundersen, G. G., & Worman, H. J. (2012). Blocking farnesylation of the prelamin A variant in Hutchinson-Gilford progeria syndrome alters the distribution of A-type lamins. *Nucleus*, *3*.
- WHO (2014) Health Topics: Epidemiology. Disponível em: <http://www.who.int/topics/epidemiology/en/> [acedido a 05/09/2014].
- WHO (2014b) Cardiovascular diseases (CVDs). Disponível em: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs317/en/> [acedido a 15/09/2014].
- Wong, N. S., & Morse, M. A. (2012). Lonafarnib for cancer and progeria. *Expert Opinion on Investigational Drugs*, *21*, 1043–1055.
- Young, S., & Yang, S. (2013). Targeting protein prenylation in progeria. *Science Translational ...*, *5*, 1–12.
- Zaremba-Czogalla, M., Dubińska-Magiera, M., & Rzepecki, R. (2011). Laminopathies: the molecular background of the disease and the prospects for its treatment. *Cellular & Molecular Biology Letters*, *16*, 114–148.
- Zhang, H., Xiong, Z.-M., & Cao, K. (2014). Mechanisms controlling the smooth muscle cell death in progeria via down-regulation of poly(ADP-ribose) polymerase 1. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *111*, 2261–70.
- Documentário *A 96 year-old schoolgirl*. Disponível em: http://www.youtube.com/watch?v=ZyvGM_anr6I