ANDRÉ MACEDO SERAFIM DA SILVA

Estudo clínico, histológico e molecular de pacientes com miopatias distal e miofibrilar

Tese apresentada à Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo para obtenção do Título de Doutor em Ciências.

Programa de Neurologia
Orientador: Prof. Dr. Edmar Zanoteli

São Paulo

2022

ANDRÉ MACEDO SERAFIM DA SILVA

Estudo clínico, histológico e molecular de pacientes com miopatias distal e miofibrilar

Tese apresentada à Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo para obtenção do Título de Doutor em Ciências.

Programa de Neurologia
Orientador: Prof. Dr. Edmar Zanoteli

São Paulo

2022

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Preparada pela Biblioteca da
Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

©reprodução autorizada pelo autor

Silva, André Macedo Serafim da
Estudo clínico, histológico e molecular de pacientes com miopatias distal e miofibrilar / André Macedo Serafim da Silva. -- São Paulo, 2022.
Tese(doutorado)--Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.
Programa de Neurologia.
Orientador: Edmar Zanoteli.

Descritores: 1.Miopatia miofibrilar 2.Miopatias distais 3.Miopatia vacuolar 4.Deminopatia 5.Desmina

USP/FM/DBD-198/22

Responsável: Erinalva da Conceição Batista, CRB-8 6755

À minha esposa, Priscilla, pela paciência e cuidado, nestes anos de pesquisa, à minha filha Maria, para quem deixo o exemplo de dedicação aos estudos, e aos meus pacientes, razão do esforço na construção do conhecimento em Neurologia.

AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador e, agora amigo, Prof. Dr. Edmar Zanoteli, que me acolheu de maneira bondosa e abriu incontáveis portas na minha jornada acadêmica e profissional. Certamente, o meu maior exemplo como professor e pesquisador.

À minha esposa, Priscilla, que me deu apoio incondicional, mesmo quando eu estava ausente, dedicado a este trabalho. À minha filha, Maria, que tentava compreender com inocência quando eu pedia um tempo para escrever. Aos meus pais, José Carlos e Mônica, e avós, Zelinda (*in memorian*) e Mecenas (*in memorian*) que me incentivaram a ver o estudo como a maior fonte de riqueza.

Ao mestre Prof. Dr. Acary Souza Bulle Oliveira que me ensinou a arte do acolhimento. Foram incontáveis as vezes que ouvi seus conselhos na construção deste trabalho.

Aos amigos do grupo de miopatias, em especial a Dra. Mary Carvalho, que me ensinou os primeiros conceitos em miopatias, e à Eliene Campos, parceira da biopsia muscular. Aos amigos que ajudaram na coleta e interpretação de dados, e foram excelentes companhias: Rodrigo, Clara, Osório, Eduardo, Alulin e Lucas. À Cristiane Moreno que, com interesse genuíno, auxiliou nas análises moleculares. Ao Rubens e Thaís que ajudaram com as amostras de DNA.

Aos colegas do Laboratório de Citogenômica, Profa. Leslie Kulikowski, Alexandre Torchio e Amon Mendes, que colaboraram no sequenciamento genético. A Dra. Montse Olivé que colaborou na análise de parte dos resultados. Aos colegas radiologistas, Paulo Helito e Júlio Guimarães, que contribuíram com o acesso e interpretação das imagens em ressonância. À Ana Lucila que contribuiu as imagens de ultrassonografia. À Dra. Marcela Machado e Profa. Dra. Claudia Sobreira pela ajuda na coleta de dados. Aos amigos Carina, Fernanda e Rafael pelo suporte para finalização deste projeto.

E, finalmente, agradeço a Deus, que nos confiou a ciência para a compreensão da vida, e aos pacientes que aceitaram a participar deste estudo, mesmo sabendo que ainda estamos entendendo sobre as suas doenças.

“They think that intelligence is about noticing things are relevant...; in a complex world, intelligence consists in ignoring things that are irrelevant.”

– Nassim Nicholas Taleb.

NORMALIZAÇÃO ADOTADA

Esta tese está de acordo com as seguintes normas, em vigor no momento desta publicação: Referências: adaptado de *International Committee of Medical Journals Editors* (Vancouver).

Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina. Agência USP de Gestão da Informação Acadêmica. Diretrizes para Apresentação de Dissertações e Teses da USP. Elaborado por Vânia Martins Bueno de Oliveira Funaro, Ana Paula Calabrez, Giseli Adornato de Aguiar, Maria Cristina Cavarette Dziabas, Maria Aparecida Laet, Maria Marta Nascimento. 4ª Ed. São Paulo: Agência USP de Gestão da Informação Acadêmica; 2020.

Abreviaturas dos títulos dos periódicos de acordo com *List of Journals Indexed in Index Medicus.*

SUMÁRIO

Lista de siglas
Lista de abreviaturas
Lista de figuras
Lista de tabelas
Lista de gráficos
Resumo
Abstract
1. INTRODUÇÃO 1
1.1 Definição e classificação das miopatias distais 1
1.2 Definição e classificação das miopatias miofibrilares 2
1.3 A relação entre miopatia distal e miopatia miofibrilar 6
2. REVISÃO DE LITERATURA 7
2.1 Principais subgrupos das miopatias distais 7
2.1.1 Disferlinopatia 7
2.1.2 Miopatia por *GNE* (miopatia de Nonaka) 7
2.1.3 Titinopatia 8
2.1.3 Miopatia distal de Laing 10
2.1.4 Miopatia distal por *ANO5* (miopatia de Miyoshi tipo 3) 10
2.1.5 Miopatia distal por *NEB* 11
2.2 Principais subgrupos das miopatias miofibrilares 12
2.2.1 Desminopatia 12
2.2.2 Filaminopatia 13
2.2.3 Miotilinopatia 14
2.2.4 Miopatia por *BAG3* 15
2.2.5 Miopatia por *FHL1* 16
2.2.6 αB-cristalinopatia 17
2.2.7 Zaspopatia 17
3. JUSTIFICATIVA DO ESTUDO 19
4. OBJETIVOS 20
4.1 Objetivo geral 20
4.2 Objetivos específicos 20
5. PACIENTES E MÉTODOS 21
5.1 Desenho do estudo e seleção de pacientes 21
5.1.1 Grupo 1 – miopatia mifibrilar 21
5.1.2 Grupo 2 – miopatias distais 22
5.2 Critérios de inclusão e de exclusão 23
5.3 Caracterização Clínica 24
5.4 Imagem por ressonância magnética e ultrassonografia de músculos 24
5.5 Avaliação histopatológica 25
5.6 Avaliação molecular 26
5.6.1 Extração de DNA 26

5.6.2 Análise molecular por sequenciamento de nova geração..... 26
5.7 Análise estatística 28
6. RESULTADOS 29
6.1 Caracterização das miopatias miofibrilares 31
6.2 Caracterização das miopatias distais 37
6.3 Comparação entre os subtipos de miopatias distais e miofibrilares 43
6.3.1 Desminopatia 46
6.3.2 Disferlinopatia 49
6.3.3 Titinopatia 51
6.3.4 Miopatia por *GNE* 54
6.3.5 Miopatia por *FHL1* 55
6.3.6 Filaminopatia 59
6.3.7 Miopatia por *BAG3* 62
6.3.8 Miopatia distal de Laing (*MYH7*) 63
6.3.9 Miopatia por *NEB* 64
6.3.10 Outras miopatias miofibrilares: *MYOT* e *HNRNPA2B1* 66
6.3.11 Outras miopatias distais: *ANO5*, *RYR1* e *DNM2* 68
7. DISCUSSÃO 70
7.1 Caracterização geral da casuística 70
7.2 Considerações sobre as miopatias miofibrilares 71
7.3 Considerações sobre as miopatias distais..... 76
7.4 Considerações finais..... 79
8. CONCLUSÕES 79
9. ANEXOS 81
10. REFERÊNCIAS 84
Apêndice I
Apêndice II
Apêndice III
Apêndice IV

LISTA DE SIGLAS

ACMG: do inglês, American College of Medical Genetics and Genomics

ANNOVAR: do inglês, annotate variation

ATPase: adenosina trifosfatase

BAG3: do inglês, Bcl2-associated athanogene 3

BAM: do inglês, binary alignment map

BAV: bloqueio atrioventricular

BiPAP: do inglês, bilevel positive airway pressure

CAAD: do inglês, combined annotation dependent depletion

CAAE: certificado de apresentação de apreciação ética

CAPPesq: Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa

CMT: Charcot-Marie-Tooth

COX: citocromo c-oxidase

CPK: creatinofosfoquinase

CVF: capacidade vital forçada

DNA: do inglês, deoxyribonucleic acid

DMT: distrofia muscular tibial

ECG: eletrocardiograma

ECO: ecocardiograma

ENMG: eletroneuromiografia

FHL1: do inglês, Four-and-a-Half-LIM domains 1

FMUSP: Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

GERP: do inglês, genomic evolutionary rate profiling

HCFMUSP: Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Univeridade de São Paulo

GO: Tricrômico de Gömöri modificado

HE: Hematoxilina e eosina

HGMD: do inglês, human genome mutation database

HMERF: do inglês, hereditary myopathy with early respiratory failure

IHQ: imunohistoquímica

LIM: Laboratório de Investigações Médicas

LOVD: do inglês, Leiden open variation database

MHC: do inglês, major histocompatibility antigen

MMD3: miopatia distal de Miyoshi tipo 3

MP: marcapasso

MRC: do inglês, medical research council

NADH-TR: Nicotinamida adenina trinucleotídeo tetrazolium redutase

NBT: do inglês, nitro-blue-tetrazolium

PAS: do inglês, periodic acid Schiff

PFP: prova de função pulmonar

RNM: ressonância nuclear magnética

SDH: succinato desidrogenase

UCSC: do inglês, University of California, Santa Cruz

US: ultrassonografia

VCF: do inglês, variant call format

VEP: do inglês, variant effect predictor

LISTA DE ABREVIATURAS

DP Desvio-padrão

kDa Kilodaltons

mL Mililitro

N número de indivíduos em uma amostra

U Unidade de medida

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Alterações histológicas na miopatia miofibrilar.

Figura 2. Representação da estrutura do sarcômero e da linha Z.

Figura 3. Representação esquemática das diferenças e da sobreposição clínica, histológica e molecular entre as miopatias distais e as miopatias miofibrilares.

Figura 4. Representação esquemática da organização estrutural dos domínios da desmina

Figura 5. Metodologia de seleção dos pacientes para formação do grupo 1.

Figura 6. Metodologia de seleção dos pacientes para formação do grupo 2.

Figura 7. Fluxograma para formação do grupo 1 (miopatia miofibrilar).

Figura 8. Fluxograma para formação do grupo 2 (miopatia distal).

Figura 9. Heredograma das 23 famílias com miopatia miofibrilar.

Figura 10. Heredograma das 19 famílias com miopatia distal.

Figura 11. Padrões de agregados intracitoplasmáticos e padrão de imagem muscular em pacientes com desminopatia.

Figura 12. Achados clínicos, histológicos e radiológicos em pacientes com disferlinopatia.

Figura 13. Achados clínicos, histológicos e radiológicos nos pacientes com titinopatia.

Figura 14. Achados clínicos, histológicos e radiológicos em pacientes com miopatia por *GNE*.

Figura 15. Achados clínicos, histológicos e radiológicos em paciente com miopatia com corpos redutores.

Figura 16. Fenótipo escapulo-peroneal assimétrico nas mulheres portadoras sintomáticas de variantes no *FHL1*, com patologia de miopatia miofibrilar.

Figura 17. Sinais inflamatórios em paciente com miopatia com corpos redutores em exame de imagem e biopsia muscular.

Figura 18. Padrão inflamatório na biopsia muscular de pacientes com miopatia por *FHL1*.
Figura 19. Achados clínicos, histológicos e radiológicos em pacientes com filaminopatia.
Figura 20. Características clínicas, histológicas e radiológicas em pacientes com variantes na *BAG3*.
Figura 21. Características clínicas, histológicas e radiológicas em pacientes com miopatia distal de Laing (*MYH7*).
Figura 22. Achados clínicos, histológicos e radiológicos em pacientes com miopatia distal associada a *NEB*.
Figura 23. Achados clínicos, histológicos e radiológicos em pacientes com miopatia miofibrilar e variantes nos genes *MYOT* e *HNRPNA2B1*.
Figura 24. Achados clínicos, histológicos e radiológicos em pacientes com miopatia distal por *ANO5*, *RYR1* e *DNM2*.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Principais subtipos de miopatias distais

Tabela 2 – Principais subtipos das miopatias miofibrilares

Tabela 3 – Características clínicas e histológicas dos 34 pacientes com miopatia miofibrilar

Tabela 4 – Características das variantes genéticas dos pacientes com miopatia miofibrilar

Tabela 5 – Características clínicas e histológicas dos 20 pacientes com miopatia distal

Tabela 6 – Características das variantes genéticas dos pacientes com miopatia distal

Tabela 7 – Principais características clínicas, histológicas e radiológicas dos pacientes com miopatia miofibrilar e miopatia distal, categorizado pela etiologia genética

Tabela 8 – Características clínicas, histológicas e moleculares dos pacientes com desminopatia

Tabela 9 – Comparação de características clínico-histológicas entre pacientes com variantes no segmento 1B e pacientes com variantes em outros segmentos da *DES*

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 – Distribuição dos diagnósticos moleculares dos pacientes com miopatia miofibrilar, de acordo com o gene.

Gráfico 2 – Distribuição dos diagnósticos moleculares dos pacientes com miopatia distal, de acordo com o gene.

Gráfico 3 – Comparação da idade de início e complicações cardiorrespiratórias entre as formas de miopatia distal e miofibrilar.

Resumo

Silva AMS. *Estudo clínico, histológico e molecular de pacientes com miopatias distal e miofibrilar* [tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2022.

As miopatias distais (MD) são um grupo heterogêneo de doenças musculares com predomínio de fraqueza nas extremidades distais, enquanto as miopatias miofibrilares (MMF) são doenças musculares esqueléticas e cardíacas com agregados proteicos do disco Z e desarranjo miofibrilar. Ambas as condições podem apresentar fraqueza distal predominante e demonstrar uma histologia vacuolar associada, levando a certa sobreposição fenotípica. Este estudo visa identificar pacientes diagnosticados com MD e MMF, com o objetivo de caracterizá-los sob os aspectos clínicos, histológicos e moleculares e comparar os diferentes subtipos dessas miopatias. Trata-se de um estudo observacional retrospectivo com pacientes identificados no ambulatório do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo com diagnóstico histológico de miopatia miofibrilar e diagnóstico clínico de miopatia distal. Os pacientes foram avaliados clinicamente após convite e consentimento informado. Biópsias musculares foram revisadas e analisadas quanto à desorganização de miofibrilas, presença de vacuolização e acúmulo de produtos de degradação proteica intracitoplasmático. Pacientes sem diagnóstico molecular foram submetidos ao sequenciamento de nova geração utilizando um painel customizado, com cobertura para os seguintes genes: *DES*, *CRYAB*, *MYOT*, *LDB3*, *FLNC*, *TIA1*, *MYH7*, *GNE*, *BAG3*, *DNAJB6*, *TTN*, *PLEC*, *FHL1*, *LMNA*. Aqueles pacientes com resultados negativos ou inconclusivos foram submetidos ao sequenciamento completo do exoma. Foram incluídos 34 pacientes (23 famílias) com MMF e 20 pacientes (19 famílias) com MD. Entre as famílias com MMF, as variantes em *DES* foram a principal causa (n=8), seguidas por *TTN* (n=4), *FHL1* (n=3), *FLNC* (n=2), *BAG3* (n=2), *MYOT* (n=1) e *HNRNPA2B1* (n=1). Entre as famílias com MD, *DYSF* (n=6) e *GNE* (n=4) foram os genes mais frequentes, seguidos por *MYH7* (n=2), *NEB* (n=2), *TTN* (n=1), *ANO5* (n=1), *RYR1* (n=1) e *DNM2* (n=1). A gravidade do comprometimento motor ocorreu em proporção parecida entre a miopatia distal e a miopatia miofibrilar, sendo mais acentuado nos pacientes com variantes nos genes *BAG3*, *FHL1*, *MYH7* e *GNE*. As miopatias miofibrilares apresentaram maior proporção e gravidade de comprometimento cardiorrespiratório. A miopatia por *DES* foi relacionada à maior frequência de cardiopatias. Variantes na *TTN* foram associadas a diferentes fenótipos e presença de insuficiência respiratória e cardiopatia. A miopatia por *BAG3* se apresentou de forma

precoce, com contraturas axiais e comprometimento cardiorespiratório. Os pacientes com *FHL1* apresentaram miopatia do corpo redutor na infância, histologia inflamatória e um fenótipo escapuloperoneal entre as mulheres portadoras. Observamos o fenótipo clássico de Miyoshi na disferlinopatia e na anoctaminopatia. A miopatia por *GNE*, por sua vez, apresentou-se com envolvimento dos músculos tibiais anteriores. Alguns genes relacionados a miopatias congênitas também foram causadores de MD (*TTN*, *RYR1*, *DNM2*) e foram inicialmente diagnosticados como neuropatia hereditária, devido precocidade dos achados e deformidades distais. MD e MMF compreendem grupos heterogêneos, mas suas características fenotípicas permitem a relativa categorização em subgrupos. Reconhecer essas miopatias é importante devido à sua gravidade potencial, complicações cardíacas precoces e insuficiência respiratória, que pode levar à morte evitável.

Descritores: Miopatia miofibrilar; Miopatias distais; Miopatia vacuolar; Deminopatia; Desmina.

Abstract

Silva AMS. *Clinical, histological and molecular study of patients with distal and myofibrillar myopathies* [thesis]. São Paulo: “Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo”; 2022.

Distal myopathies (DM) are a heterogeneous group of muscle diseases featuring a predominance of weakness in the distal extremities, while myofibrillar myopathies (MFM) are skeletal and cardiac muscle diseases with Z-disk protein aggregates and myofibril disarray observable upon muscle biopsy. Both conditions may present with predominant distal weakness and demonstrate a vacuolar histology, leading to some phenotypic overlap. This study aims to identify patients diagnosed with distal myopathies and myofibrillary myopathies with the aim of characterizing them under clinical, histological and molecular aspects, classifying them and comparing the different subtypes of these myopathies. This is a retrospective observational study with patients identified at the outpatient clinic of Hospital das Clinicas, Faculty of Medicine, University of São Paulo with histological diagnosis of myofibrillar myopathy and clinical diagnosis of distal myopathy. The patients were evaluated clinically after an invitation and informed consent. Muscle biopsies were reviewed and analyzed for myofibril breakdown, presence of vacuolization and accumulation of protein degradation products in the intracytoplasmic environment. Patients without molecular diagnosis were submitted to new generation sequencing using a customized panel with coverage for the following genes: *DES, CRYAB, MYOT, LDB3, FLNC, TIA1, MYH7, GNE, BAG3, DNAJB6, TTN, PLEC, FHL1, LMNA*. Those patients with negative or inconclusive results underwent a complete exome sequencing. We included 54 patients from 42 families: 34 patients (23 families) with MFMs, and 20 patients (19 families) with DMs. Among the MFM families, variants in DES were the main cause (n=8), followed by *TTN* (n=4), *FHL1* (n=3), *FLNC* (n=2), *BAG3* (n=2), *MYOT* (n=1) and *HNRNPA2B1* (n=1). Among the DM families, *DYSF* (n=6) and *GNE* (n=4) were the most frequent disease-causative genes, followed by *MYH7* (n=2), *NEB* (n=2), *TTN* (n=1), *ANO5* (n=1), *RYR1* (n=1), and *DNM2* (n=1). The severity of motor impairment occurred in a similar proportion between distal myopathy and myofibrillar myopathy, being more pronounced in patients with variants in the *BAG3*, *FHL1*, *MYH7* and *GNE*. Myofibrillar myopathies had a higher proportion and severity of cardiorespiratory impairment. *DES* myopathy was related to more frequent heart disease. Variants in *TTN* were associated with different phenotypes, but the presence of respiratory failure and heart disease. *BAG3* myopathy was an early subgroup with axial contractures, cardiac and respiratory impairment. *FHL1* patients presented with reducing

body myopathy in childhood, inflammatory histology, and a scapuloperoneal phenotype among female carriers. We observed the Miyoshi phenotype in dysferlinopathy and anoctaminopathy. *GNE* myopathy, in turn, presented with involvement of the anterior leg muscles and vacuolar histology. Some genes related to congenital myopathies were also causes of DM (*TTN*, *RYR1*, *DNM2*) and were confounded with hereditary neuropathy, due to early findings and distal deformities. DM and MFM comprise heterogeneous groups, but their phenotypic characteristics allow relative categorization into subgroups. Recognizing these myopathies is important due to their potential severity, early cardiac complications, and respiratory failure, which can lead to preventable death.

Descriptors: Myofibrillar myopathy; Distal myopathies; Vacuolar myopathy; desminopathy; Vacuolar myopathy; Desmin.

1. INTRODUÇÃO

1.1 Definição e classificação das miopatias distais

As miopatias distais são um grupo heterogêneo de doenças musculares hereditárias, com idade de início variável (da infância a idade adulta tardia), com herança autossômica dominante ou recessiva, onde o predomínio do comprometimento da força muscular ocorre nas porções distais das extremidades, diferindo do quadro clássico de fraqueza predominantemente proximal das miopatias mais comuns (Nonaka, 1999; Dimachkie et al., 2014). Com a evolução da doença pode haver progressão para comprometimento proximal, embora os segmentos distais se mantenham predominantemente mais fracos. Neste grupo estão incluídas condições bem caracterizadas, como a miopatia de Miyoshi (causada por variantes na *DYSF*), a miopatia distal de Udd (causada por variantes na *TTN*), a miopatia distal de Laing (causada por variantes na *MYH7*), a miopatia de Nonaka (causada por variantes no *GNE)*, a miopatia de Welander (causada por variantes no *TIA1*), a miopatia distal causada por variantes na *NEB* e algumas formas de miopatias miofibrilares (Dimachkie et al., 2014; Palmio et al., 2016). Com o advento do sequenciamento de nova geração, novos genes passaram a ser reconhecidos como causas das miopatias distais, tais como, *ADSSL1*, *DNM2*, *RYR1*, *TCAP*, *MATR3*, *KLHL9*, *SQSTM1* e *VCP* (Palmio et al., 2016; Felice, 2020). A tabela 1 resume os principais subtipos de miopatias distais.

Do ponto de vista histopatológico, as miopatias distais apresentam achados variáveis. A biópsia muscular pode demonstrar anormalidades estruturais específicas (desorganização miofibrilar ou vacúolos marginados), como ocorre na miopatia de Nonaka, na miopatia de Welander, na titinopatia, e nas miopatias miofibrilares, ou mesmo alterações miopáticas inespecíficas como variabilidade do tamanho das fibras, centralização nuclear e atrofia tipo 1 (Milone et al., 2019; Felice, 2020).

Tabela 1 – Principais subtipos de miopatias distais

CONDIÇÃO	GENE	HERANÇA	PROTEINA	FUNÇÃO
Miopatias distais clássicas				
Miopatia de Udd e titinopatia distal recessiva	*TTN*	AD/AR	Titina	estrutural
Miopatia distal da Laing	*MYH7*	AD	Miosina-7	estrutural
Miopatia de Nonaka	*GNE*	AR	UDP-N-acetilglucosamina 2-epimerase/N-acetilmanosamina	enzimática
Miopatia de Welander	*TIA1*	AD	TIA1	reguladora
Miopatia de Miyoshi	*DYSF*	AR	Disferlina	reparo
Miopatia de Miyoshi tipo 3	*ANO5*	AR	Anoctamina-5	reparo
Miopatia distal por nebulina	*NEB*	AR	Nebulina	estrutural
Miopatias miofibrilares com fenótipo de miopatia distal				
Desminopatia	*DES*	AD/AR	Desmina	estrutural
αB-cristalinopatia	*CRYAB*	AD/AR	αB-cristalina	chaperona
Miotilinopatia	*MYOT*	AD/AR	Miotilina	estrutural
ZASPopatia	*LDB3*	AD	LDB3/ZASP	estrutural

Abreviação: AD = autossômica dominante; AR = autossômica recessiva.
Fonte: Palmio et al. (2016).

Algumas coortes de paciente com determinados subtipos de miopatia distal já foram descritas na literatura como, por exemplo, a miopatia pelo *GNE*, a miopatia de Miyoshi e a miopatia distal de Laing (Dimachkie et al., 2014), porém faltam estudos de série de pacientes com miopatias distais para comparação de suas características clínicas, histológica e radiológica, de acordo com cada gene.

Apesar de se apresentarem com fraqueza distal e serem condições frequentes, a distrofia fáscio-escápulo-umeral e a distrofia miotônica tipo 1 não costumam ser estudadas e classificadas no grupo de miopatias distais, compondo grupos distintos de miopatias, e, portanto, não serão abordadas neste estudo.

1.2 Definição e classificação das miopatias miofibrilares

As miopatias miofibrilares são um grupo heterogêneo de doenças musculares hereditárias, caracterizadas histologicamente por desintegração das miofibrilas e acúmulo intracelular anormal de proteínas, constitutivas ou funcionais, da linha Z do sarcômero, e que eventualmente apresenta fraqueza predominantemente distal em sua manifestação clínica (Selcen, 2010).

Cardiomiopatia, neuropatia periférica e herança dominante são características frequentemente associadas a este grupo de miopatias (Selcen et al., 2004a).

O termo miopatia miofibrilar foi proposto por Nakano et al. (1996) num estudo histopatológico de 10 pacientes com miopatia com acúmulo de desmina, a principal proteína do filamento intermediário dos miócitos, embora algumas décadas antes já havia sido descrita as miopatias com desarranjo estrutural das miofibrilas e acúmulo proteico, sob diversas denominações.

As miopatias miofibrilares apresentam algumas características morfológicas comuns (Figura 1) e, portanto, a análise histológica por biopsia muscular continua sendo o método que define esta condição (Selcen et al., 2004a). Na microscopia óptica, os achados característicos das miopatias miofibrilares, incluem: presença de materiais hialinos; depósitos amorfos ou granulares dentro das fibras; inclusões intracitoplasmáticas na coloração pelo tricrômio de Gomori (GO); presença de vacúolos em algumas fibras; presença de fibras apagadas nas reações oxidativas; e imunoexpressão anormal de proteínas relacionadas a linha Z, como desmina, filamina C, miotilina e αB-cristalina.

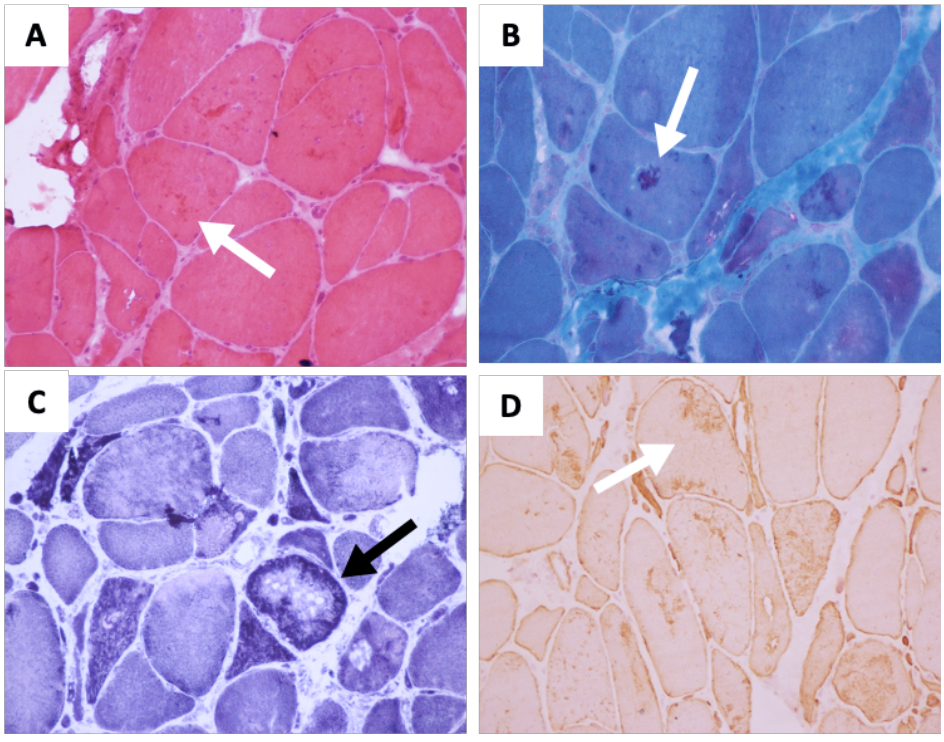


Figura 1. Alterações histológicas na miopatia miofibrilar. Biopsia de músculo bíceps braquial esquerdo em um paciente com miopatia miofibrilar mostrando materiais hialinos

(seta branca) na coloração pelo HE (A, 20x), agregados intracitoplasmáticos (seta branca) na coloração pelo GO (B, 20X), desorganização da arquitetura intermiofibrilar (seta preta) na reação pelo NADH-TR (C, 20X) e agregados intracitoplasmáticos (seta branca) imunorreativos para desmina (D, 20X). Fonte: Imagens de arquivo pessoal.

No nível ultraestrutural, observado por microscopia eletrônica, há desintegração das miofibrilas, que começa na linha Z. As proteínas acumuladas dentro das fibras incluem a proteína cujo gene está mutado e outras proteínas ligadas à linha Z (De Bleecker et al. 1996).

O entendimento da estrutura e composição do sarcômero e da linha Z nas fibras musculares ajuda a compreender as proteínas envolvidas neste grupo de doença, conforme representado na Figura 2.

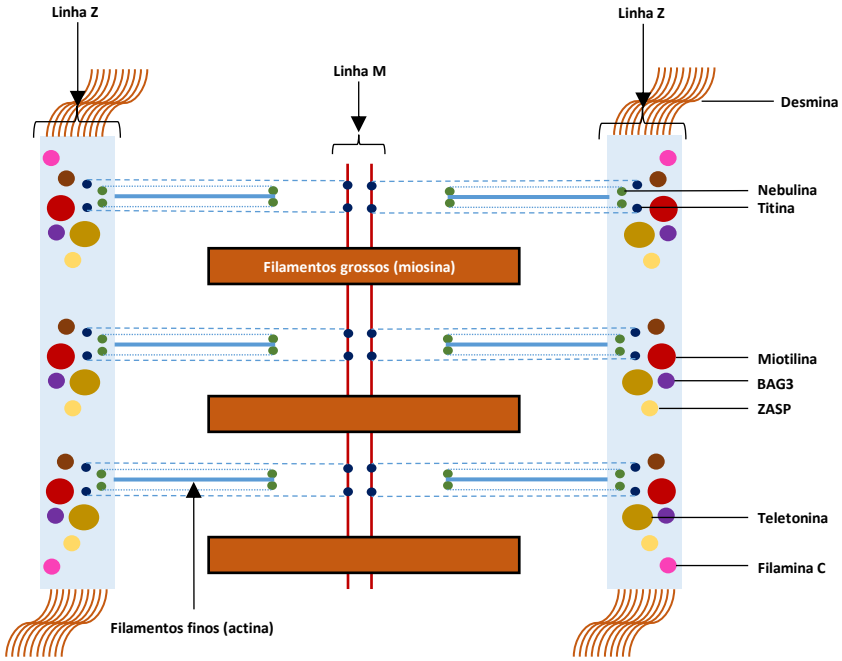


Figura 2 – Representação da estrutura do sarcômero e da linha Z.
Fonte: Elaborado pelo autor, adaptado de Dubowitz (2013).

Desde as primeiras descrições da década de 90, variantes patogênicas em diversos genes já foram relacionadas às miopatias miofibrilares, a grande maioria com herança autossômica dominante, e algumas formas recessivas ou ligada ao X. Historicamente, seis genes são relacionados a quadros típicos de miopatia miofibrilar: *DES* (desmina), *CRYAB* (αB-cristalina), *MYOT* (miotilina), *FLNC* (filamina C), *LDB3* (ZASP), *BAG3 (*proteína atanogene associada ao Bcl2*)*

(Selcen et al., 2011; Fichna et al., 2018). Recentemente, alguns autores incluíram outros dois genes associados a formas clássicas de miopatia miofibrilar: *FHL1 (*proteina FHL1) e *TTN* (titina) (Kley et al., 2016). Embora sejam raros, com o uso crescente do sequenciamento de nova geração, também foram associados à histologia miofibrilar, variantes patogênicas nos seguintes genes: *PLEC*, *DNAJB6*, *ACTA1*, *HSPB8, PYROXD1*, *KY*, *LMNA* e *SELENON* (Ghaoui et al., 2016; Ruparelia et al., 2016; Olivé et al., 2013; Palmio et al., 2016; Kley et al., 2016; Potulska-Chromik et al., 2021).

Uma das primeiras séries de pacientes com miopatia miofibrilar reuniu 63 pacientes acompanhados na Clínica Mayo, com descrição clínica e histopatológica, incluindo estudo molecular de dois dos genes relacionados às miopatias miofibrilares (*DES* e *CRYAB*) (Selcen et al., 2004a). Outro grande estudo, conduzido por Olivé et al. (2011) descreveu 51 indivíduos de 35 famílias na Espanha, identificando variantes em 3 genes: *MYOT*, *DES* e *ZASP*. Recentemente, um estudo chinês, descrevendo 18 pacientes com miopatia miofibrilar, identificou variantes nos genes *DES*, *BAG3*, *FLNC*, *FHL1* e *TTN* (Luo et al., 2020). Entretanto, não existem dados de descrição clínica ou investigação molecular de pacientes com miopatias miofibrilares e miopatias distais na população brasileira. A Tabela 2 resume as principais formas de miopatias miofibrilares.

Tabela 2 – Principais subtipos das miopatias miofibrilares

CONDIÇÃO	GENE	HERANÇA	PROTEINA	FUNÇÃO
Miopatias miofibrilares (formas clássicas)				
Desminopatia	*DES*	AD/AR	Desmina	estrutural
αB-cristalinopatia	*CRYAB*	AD/AR	αB-cristalina	chaperona
Miotilinopatia	*MYOT*	AD/AR	Miotilina	estrutural
Filaminopatia	*FLNC*	AD	Filamina-C	estrutural
ZASPopatia	*LDB3*	AD	LDB3/ZASP	estrutural
Miopatia por BAG3	*BAG3*	AD	BAG3	chaperona
Miopatia por FHL1	*FHL1*	ligada ao X	FHL1	estrutural
Titinopatia	*TTN*	AD/AR	Titina	estrutural
Condições relacionadas a miopatias miofibrilares (formas não clássicas)				
Epidermólise bolhosa simplex	*PLEC*	AR	plectina	estrutural
Distrofia de cinturas 1D	*DNAJB6*	AD	DNAJB6	chaperona
Actinopatia	*ACTA1*	De novo	α-actina	estrutural
Miopatia por HSPB8	*HSPB8*	AD	HSPB8	chaperona

Fonte: Selcen et al. 2011; Fichna et al. 2018; Kley et al. 2016.

1.3 Relação entre miopatia distal e miopatia miofibrilar

Apesar de serem consideradas como uma forma de miopatia distal, as miopatias miofibrilares são usualmente classificadas como um grupo distinto, pela sua heterogeneidade, e principalmente porque a doença pode se manifestar com fraqueza proximal e/ou axial, não sendo a sua manifestação propriamente distal na maioria dos casos (Olivé et al., 2013; Palmio et al., 2016). Como veremos nas descrições detalhadas nas próximas seções, alguns subtipos clássicos de miopatias miofibrilares podem se apresentar clinicamente com fraqueza distal e, portanto, como miopatia distal. Além das duas condições poderem se sobrepor do ponto de vista clínico, também há similaridades histopatológicas, como a presença de vacúolos intracitoplasmáticos, frequentemente encontrados em ambas as condições. Assim, as miopatias distal e miofibrilar são frequentemente estudadas em conjunto embora devam ser reconhecidas como diferentes grupos de doenças, que apresentam algumas características em comuns (Figura 3).

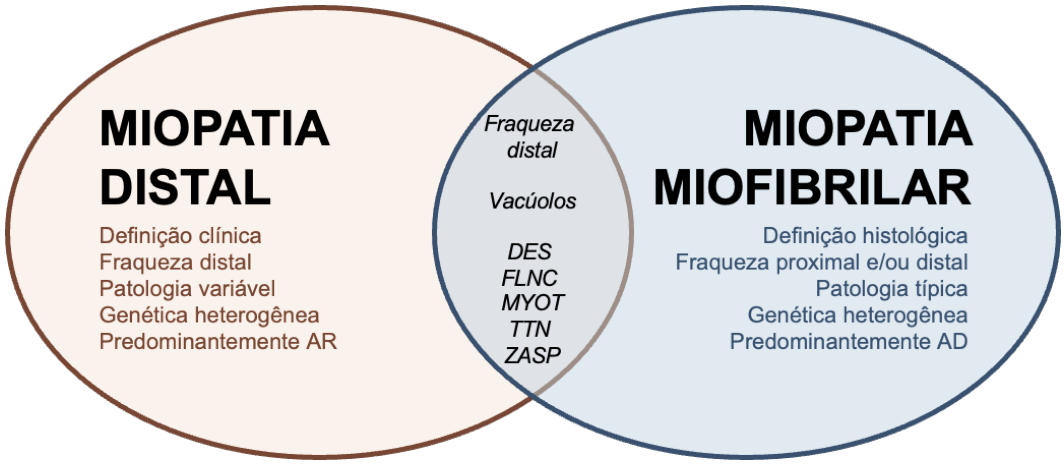


Figura 3 – Representação esquemática das diferenças e da sobreposição clínica, histológica e molecular entre as miopatias distais e as miopatias miofibrilares.

Fonte: Diagrama construído a partir de Olivé et al. (2013) e Palmio et al. (2016).

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Principais subgrupos das miopatias distais

2.1.1 Disferlinopatia

O gene *DYSF,* constituído por 55 éxons*,* codifica a proteína disferlina, que se localiza na membrana muscular e desempenha um papel importante no reparo do sarcolema (Liu et al., 1998). Variantes patogênicas em homozigose ou heterozigose composta no gene *DYSF* podem causar distrofia muscular de cinturas, hiperCKemia assintomática, miopatia pseudometabólica, miopatia distal com início tibial e miopatia distal de Miyoshi (Felice, 2020).

A miopatia de Miyoshi se apresenta com início na segunda década de vida, envolvimento precoce dos músculos posteriores da perna, níveis séricos de creatinofosfoquinase (CPK) marcadamente elevados e lenta progressão. Esta forma de miopatia pode envolver músculos proximais com o passar dos anos, inclusive, com graves limitações funcionais motoras (Linssen et al., 1997).

A disferlinopatia é uma das principais miopatias que levam a fraqueza distal, sendo também a causa mais frequente de distrofia de cinturas no Brasil (Winckler et al., 2019). Mesmo nas formas clássicas de distrofias musculares de cinturas por deficiência de disferlina, com padrão clássico de comprometimento predominantemente proximal, as porções distais dos membros são acometidas.

Do ponto de vista histopatológico, existe uma grande variabilidade, mas a maioria dos pacientes apresentam um padrão miopático na biopsia muscular, com presença de necroses frequentes e, em alguns pode haver inflamação endomisial. A redução na expressão de disferlina, demonstrada por western blot (WB) e imuno-histoquímica (IHQ) é o critério confirmatório (Nguyen et al., 2007).

2.1.2 Miopatia por *GNE* (miopatia de Nonaka)

Descrita inicialmente por Nonaka et al. (1981), de quem leva o seu nome, e chamada posteriormente de miopatia com corpos de inclusão hereditária, e

mais recentemente de miopatia por *GNE*, ela se caracteriza por início no adulto jovem, com fraqueza predominante nos músculos tibiais anteriores e presença de vacúolos marginados na histologia, sem inflamação. Embora inicialmente identificados em populações japonesas e do Oriente Médio, pacientes com miopatia associada a variantes bialélicas no gene *GNE* já foram relatados em todo o mundo, incluindo no Brasil (Estephan et al., 2017).

O gene *GNE* é responsável por codificar a enzima bifuncional UDP-N-acetilglucosamina (GlcNAc) 2-epimerase / N-acetilmanosamina (ManNAc) quinase e a manifestação se dá por herança autossômica recessiva. O gene codifica a enzima limitadora da taxa na biossíntese de ácido siálico e um regulador da sialilação da superfície celular (Keppler et al., 1999). Acredita-se que a hipossialilação das glicanas musculares seja o mecanismo fisiopatológico da doença, interferindo em mecanismos de adesão e interação celular (Carrillo et al., 2018).

Apesar de ter um início com apresentação de fraqueza distal, por volta dos 20 a 30 anos, a doença tende a progredir com fraqueza proximal, podendo levar a perda da marcha após 10 a 20 anos de evolução, embora haja uma preservação relativa do músculo quadríceps.

Mais de 200 mutações já foram reportadas como causadoras de miopatia associada ao *GNE*, sendo a maioria do tipo *missense*, mas mutações *nonsense*, e pequenas deleções também foram descritas (Carrillo et al., 2018). Estima-se uma prevalência de pacientes com a doença de quase 1 para 100.000 indivíduos, sendo um importante subtipo de miopatia distal (Celeste et al., 2014).

2.1.3 Titinopatia

Titina é a maior proteína na natureza, com tamanho de 4.200 kDa e quase 38.000 aminoácidos, codificada pelo gene *TTN* (364 éxons), sendo responsável por manutenção da integridade do sarcômero (Figura 2). A proteína compreende uma região da linha Z, em sua porção N-terminal, regiões da banda-I e banda-A, e uma região da banda-M na porção C-terminal (Savarese et al., 2016; Udd, 2020). Variantes patogênicas no gene podem causar fenótipos diversos, e vem sendo crescentemente descritas nos últimos anos, com o desenvolvimento e

melhoramento do sequenciamento de nova geração, que beneficiou o reconhecimento de mutações em um gene tão grande, o que era difícil com a técnica *Sanger* de sequenciamento (Udd, 2020).

Diante da complexidade crescente da interpretação genotípica e reconhecimento de diferentes fenótipos, uma classificação da titinopatia foi recentemente proposta por Udd (2020) e envolve quatro principais grupos: titinopatia recessiva congênita; titinopatia recessiva de início precoce; titinopatia recessiva distal de início no adulto; e titinopatia dominante do adulto.

A titinopatia recessiva congênita também é descrita como miopatia congênita com cardiomiopatia precoce fatal, miopatia centronuclear, e miopatia com cores com cardiopatia. A histopatologia muscular apresenta características miopáticas habituais, tais como, aumento da internalização de núcleos, multi-minicores, e alguns pacientes podem apresentar estruturas semelhantes a chapéus (*cap-like*) (Oates et al., 2018).

Variantes em homozigose ou heterozigose composta afetando a banda-M da proteína podem causar formas de distrofia muscular de cinturas, ou mesmo um fenótipo de Emery-Dreifuss, porém sem cardiopatia (Udd, 2020). Há também uma forma de início precoce, só que de predomínio distal, com comprometimento predominante do músculo sóleo, devido a variantes truncadas nos dois últimos éxons (363-364) (Udd, 2020). Essas formas são classificadas como titinopatia recessiva de início precoce.

Um terceiro grupo, reportado recentemente como novo fenótipo, foi descrito como forma recessiva distal de início no adulto, sendo causado por variante patogênica no éxon 364, associado a variantes *missense* afetando a banda-A (Evilä et al., 2014). Os pacientes descritos apresentavam fraqueza progressiva dos membros inferiores a partir dos 30 anos e presença de vacúolos marginados.

E o quarto grupo, classificado como titinopatia dominante de início do adulto, é caracterizado por variantes patogênicas em heterozigose, que podem causar distrofia muscular tibial (DMT) e miopatia hereditária com insuficiência respiratória precoce (HMERF). No caso da DMT, a fraqueza é limitada a musculatura da perna anterior, a biopsia muscular mostra vacúolos, e as

variantes são reportadas no último éxon (éxon 364), na região C-terminal (Udd, 2020). A HMERF, por sua vez, é causada por variante patogênica na banda-A, numa região de ligação à fibronectina 3, o éxon 344, sendo a apresentação caracterizada por fraqueza de dorsiflexão do pé, seguido de dispnéia progressiva, com fraqueza de membros proximal e dos flexores do pescoço. A histopatologia destes pacientes demonstra alterações miofibrilares típicas (Palmio et al., 2019).

2.1.4 Miopatia distal de Laing

A miopatia de Laing é uma desordem muscular caracterizada por fraqueza dos dorsiflexores e extensores do hálux, seguida por fraqueza dos flexores e extensores dos dedos, causada por variantes patogênicas em heterozigose no gene *MYH7* (Felice, 2020). O início da fraqueza muscular varia de congênita até a idade adulta e pode evoluir para comprometimento axial (Udd, 2009).

Do ponto de vista molecular, trata-se de um distúrbio autossômico dominante causado por mutações no gene *MYH7,* que afetam a cadeia pesada beta da miosina, com centenas de mutações relatadas, que prejudicam a estrutura proteica e consequentemente a dimerização da miosina, necessária para formar o filamento grosso. Variantes patogênicas em todos os três domínios de proteína (cabeça globular, pescoço e domínios *rod*) podem se associar a cardiomiopatia e miopatia distal isoladas ou combinadas (Tajsharghi et al., 2003).

A histologia muscular varia desde alterações inespecíficas leves, desproporção congênita do tipo de fibra, *cores* e *minicores*, até alterações distróficas mais intensas (Udd, 2009).

2.1.5 Miopatia distal por *ANO5* (miopatia de Miyoshi tipo 3)

ANO5 codifica um canal de cloreto ativado por cálcio putativo, conhecido como anoctamina 5, que desempenha um papel na fusão e reparo da membrana da célula muscular (Griffin et al., 2016). Mutações recessivas em *ANO5* causam

distrofia muscular de cinturas recessiva R12, miopatia distal de Miyoshi tipo 3 (MMD3) e um fenótipo pseudometabólico, todas reunidas no termo anoctaminopatia (Silva et al. 2019). Uma proporção do fenótipo MMD3, dentre pacientes com anoctaminopatia, foi descrita em coortes anteriores variando de 10% a 25% (Sarkozy et al., 2013).

As características clínicas dos pacientes com anoctaminopatia incluem um início após 30–40 anos de idade, predominância do sexo masculino, envolvimento das panturrilhas, mialgia, nível sérico elevado de CPK, em torno de 4.000U/L, e envolvimento dos músculos do compartimento posterior em membros inferiores (Silva et al., 2019).

Diversas variantes no gene *ANO5* já foram descritas, embora existam variantes recorrentes e mais comuns, sendo que as mutações frequentemente relatadas na Europa também foram reportadas no Brasil (c.191dupA e c.692G> T), em mais da metade dos pacientes (Sarkozy et al., 2013; Silva et al., 2019). A biopsia muscular apresenta alterações miopáticas clássicas, associadas a fibras necróticas frequentes, semelhante àquelas características encontradas na disferlinopatia (Silva et al., 2019).

2.1.6 Miopatia distal por *NEB*

Mutações no gene da nebulina (*NEB*) são a causa mais comum de miopatia nemalínica de herança autossômica recessiva. As mutações são notoriamente difíceis de se identificar devido ao grande tamanho desse gene que compreende 183 éxons. Embora a função exata da nebulina não seja totalmente compreendida, estudos funcionais sugerem um papel na regulação do comprimento dos filamentos finos de actina e da contração muscular (Wallgren-Pettersson et al., 2007).

A miopatia nemalínica típica relacionada a *NEB* é de início infantil e de curso estacionário ou apenas lentamente progressiva, envolvendo os músculos axiais, bulbares, faciais e proximais dos membros. Apresentações de início tardio com envolvimento predominantemente distal, com ou sem bastões nemalínicos na biopsia muscular, foram relatadas em casos raros e acredita-se que a

miopatia nemalínica congênita típica e a miopatia distal por *NEB* sejam um espectro fenotípico contínuo (Lehtokari et al., 2011).

2.2 Principais subtipos de miopatias miofibrilares

2.2.1 Desminopatia

Desmina, uma proteína de 53 kDa codificada pelo gene *DES*, é a principal proteína do filamento intermediário nas células musculares, sendo responsável por conectar as miofibrilas umas às outras, aos núcleos, ao citoesqueleto subsarcolemal e às organelas citoplasmáticas. Sua estrutura tridimensional envolve e apoia os discos-Z das miofibrilas, proporcionando estabilidade mecânica para as fibras cardíacas e esqueléticas em resposta ao estresse mecânico (Dalakas et al., 2000; Goldfarb et al., 2008).

Variantes patogênicas na *DES* podem causar miopatia miofibrilar relacionada à desmina, também chamada de desminopatia, caracterizado por fraqueza muscular, defeitos de condução cardíaca, cardiomiopatia restritiva e morte súbita, associada a agregados intracitoplasmáticos reativos à desmina nas fibras cardíacas e musculares **(**Goldfarb et al., 2009; Clemen et al., 2013). A desminopatia é a principal forma de miopatia miofibrilar (Selcen et al., 2004a). Um efeito negativo dominante é o principal mecanismo de mutação e, para a maioria dos pacientes, uma variante patogênica heterozigótica é causadora da doença (Clemen et al., 2013). Ocasionalmente, um padrão autossômico recessivo também é descrito (Piñol-Ripoll et al., 2009).

A principal característica histopatológica da desminopatia consiste no acúmulo intracitoplasmático e subsarcolemal de material amorfo imunorreativo de desmina nas miofibras (Goldfarb et al., 2008; Clemen et al., 2013).

DES é um gene altamente conservado localizado no cromossomo 2q35, abrangendo 9 éxons e organizado em três domínios (Figura 4): a cabeça (estrutura N-terminal), a haste α-helicoidal e a cauda (estrutura C-terminal) (Goldfarb et al., 2004). O domínio da haste α-helicoidal conserva um heptade repetido, consistindo em uma sequência de sete resíduos de aminoácidos

hidrofóbicos e hidrofílicos, interrompidos em alguns locais, formando segmentos helicoidais: 1A, 1B, 2A e 2B (Clemen et al., 2013). Variantes patogênicas na *DES* são relatadas em todos os três domínios, mas a maioria das variantes reportadas está no segmento 2B, principalmente substituições de aminoácidos simples, mas pequenas deleções *in-frame* também são relatadas (Goldfarb et al., 2009).

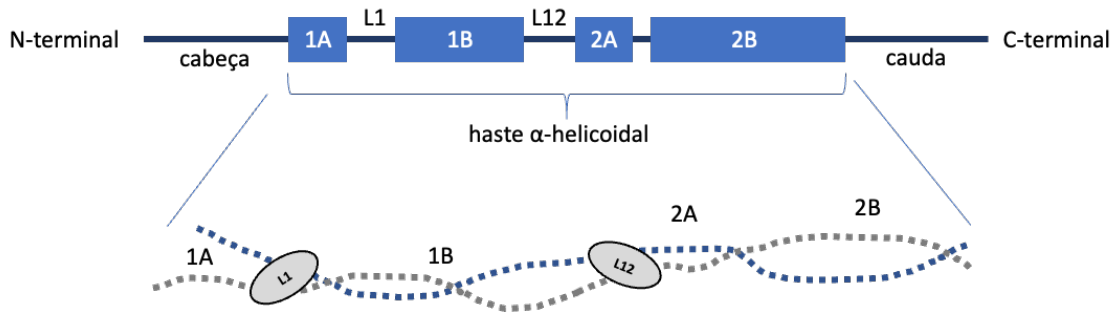


Figura 4 – Representação esquemática da organização estrutural dos domínios da desmina. A proteína funcionante necessita formar duas cadeias polipeptídicas paralelas enroladas em forma de hélice, constituindo um dímero, a unidade elementar do filamento intermediário.

Fonte: Adaptado de Clemen et al. (2013).

Conhecer os detalhes dos domínios da desmina é importante não apenas para o entendimento do impacto funcional das mutações, mas também porque a localização da variante causadora da doença pode interferir no fenótipo. Variantes localizadas no segmento helicoidal 2B causam predominantemente uma doença muscular esquelética e, menos frequentemente, cardiomiopatia (Golfarb et al., 2009).

2.2.2 Filaminopatia

As filaminas compõem uma família de grandes proteínas do citoesqueleto, organizadas na forma de dímeros, que ligam os filamentos de actina em feixes paralelos ou em malha tridimensional, participam de seu remodelamento, e interagem com diversas proteínas celulares (Stossel et al, 2001). Três isoformas são conhecidas em humanos: filaminas A, B e C, sendo a última específica do tecido muscular.

A filamina C se localiza predominantemente na periferia da linha Z, interagindo com a miotilina e com proteínas do sarcolema. Defeitos na filamina C podem enfraquecer as miofibrilas e desestabilizar a membrana da célula muscular (van der Flier et al., 2001). Variantes patogênicas em heterozigose no gene *FLNC*, que codifica a filamina C, interfere na formação dos dímeros proteicos, causam o dobramento incorreto da proteína, levando a agregação da proteína mutada e de outras proteínas intracelulares, em forma de massas intracitoplasmáticas (Vorgerd et al., 2005; Kley et al., 2012).

Existe uma correlação genótipo-fenótipo, reconhecida ao longo dos últimos anos. A filamina C possui um domínio de ligação à actina, em sua porção N-terminal, seguido de 24 repetições semelhantes a imunoglobulina (*Ig-like*) na direção C-terminal, que formam o domínio *rod* (Mao et al., 2020). Variantes patogênicas que afetam o domínio *rod* e C-terminal na *FLNC* são geralmente associadas com um quadro de fraqueza predominantemente proximal e histologia de miopatia miofibrilar. Variantes patogênicas que afetam a região N-terminal, no domínio de ligação da actina, levam a um fenótipo de miopatia distal, especialmente com envolvimento de mãos, podendo ter ou não histologia de miopatia miofibrilar (Duff et al., 2011; Gemelli et al., 2019).

2.2.3 Miotilinopatia

A miotilina, codificada pelo gene de 10 éxons, *MYOT*, é uma proteína altamente expressa no músculo esquelético e cardíaco e está localizada na linha Z, participando na montagem do sarcômero. Mutações em heterozigose foram identificadas pela primeira vez em pacientes portadores de distrofia muscular de cinturas tipo 1A (Salmikangas et al., 1999). Posteriormente, no entanto, as mutações na *MYOT* passaram a ser mais frequentemente associadas ao fenótipo distal de início tardio. A primeira grande família foi relatada como miopatia distal, mas a variabilidade intrafamiliar foi notável, com a fraqueza muscular proximal e/ou distal (Selcen et al., 2004b; Dimachkie et al., 2014; Schessl et al., 2014).

Os primeiros sintomas geralmente são dor nos músculos das panturrilhas, com dificuldade para andar na ponta dos pés. A fraqueza evolui para as porções proximais dos membros inferiores, bem como para os membros superiores, e a deambulação pode ser perdida em menos de 10 anos após o início da doença (Selcen et al., 2004b).

A miotilina tem uma estrutura contendo uma região N-terminal rica em serina, dois domínios semelhantes a imunoglobulinas e um domínio C-terminal. Quase todas as mutações na *MYOT*, relatadas até o momento, estão localizadas na região rica em serina, no éxon 2 (Selcen et al., 2004b; Selcen et al., 2011). Na biopsia muscular, observa-se desorganização miofibrilar caracterizados por acúmulo intracitoplasmático fortemente imunorreativos para a miotilina, mas também a desmina. Vacúolos marginados são proeminentes e a presença dos corpos esferóides são altamente indicativos desta condição (Foroud et al., 2005).

2.2.4 Miopatia por *BAG3*

O gene *BAG3* codifica a proteína citoprotetora BAG3 (*Bcl2-associated athanogene* 3) que faz parte de uma família de proteínas responsáveis por se ligar e regular atividade de chaperonas moleculares, incluindo Hsp70, participando da degradação de proteínas mal dobradas (Selcen et al., 2009). BAG3 é expressa em grande quantidade nos miócitos, colocaliza-se na região do disco-Z, e sua função é importante para prevenir ativação de apoptose, em resposta ao estresse (Homma et al., 2006).

A miopatia por *BAG3* é uma das formas mais raras de miopatia miofibrilar, caracterizada por início precoce e rápida progressão motora com comprometimento respiratório grave e retrações articulares precoces. Os pacientes geralmente apresentam fraqueza distal e axial, marcha na ponta dos pés, ainda na primeira década de vida, e rapidamente desenvolvem cardiomiopatia e problemas respiratórios na segunda década (Selcen et al., 2009). Pacientes com mutação no *BAG3* também podem apresentar cardiomiopatia dilatada isolada e, mais recentemente, foram descritos casos se apresentando com o fenótipo de Charcot-Marie-Tooth tipo 2 (Shy et al., 2018).

Independentemente do local geográfico e grupo étnico, a maioria dos casos de miopatia por *BAG3* são causadas pela variante c.626C>T (p.Pro209Leu) (Andersen et al., 2018), que pode ser deletéria ao alterar o dobramento da proteína ou afetar alostericamente as propriedades de ligação dos domínios canônicos da BAG3 (Shy et al., 2018). A BAG3 se liga a chaperonas através de alguns domínios, e esta posição é importante na ligação com a chaperona HspB8 para atividades de "limpeza" de agregados mutantes (Shy et al., 2018). Esta função específica desta região pode justificar o fato de uma única variante estar presente em quase todos os casos já relatados.

Do ponto de vista histopatológico, os pacientes apresentam degeneração miofibrilar, com fibras demonstrando acúmulo intracitoplasmático de grânulos pequenos e densos, massas hialinas, ou material amorfo e imunorreatividade para diferentes proteínas da linha Z, como BAG3, desmina e αB-cristalina (Selcen et al., 2009).

2.2.5 Miopatia por *FHL1*

FHL1 (*Four-and-a-Half-LIM domains* 1, ou domínios de quatro e meio LIM 1) é uma proteína membro de um grupo de proteínas contendo domínios estruturais LIM, compostos por sequências altamente conservadas de dois motivos de dedo de zinco, ricos em cisteína contíguos, e que são necessários para a dobra e estabilidade de cada domínio da proteína (Bertrand et al., 2014).

A proteína FHL1 está envolvida em processos de sinalização, diferenciação e manutenção de elementos estruturais, como o sarcômero, e mutações nesta proteína podem levar a um subtipo de miopatia com desarranjo miofibrilar e presença de corpos intracitoplasmáticos, conhecida como miopatia com corpos redutores. Esta miopatia se caracteriza por fraqueza progressiva e presença de agregados citoplasmáticos que reduzem o *nitro-blue-tetrazolium* (NBT) nas fibras musculares, os chamados corpos redutores (Schessl et al., 2009).

Variantes no gene *FHL1* seguem um mecanismo dominante ligado ao X. Não há transmissão de homem para homem; mulheres e homens são afetados, mas homens com a mesma variante são mais gravemente afetados, embora

mulheres muito sintomáticas, com doença de início precoce tenham sido relatadas (Bertrand et al., 2014; Silva et al., 2020). Além do quadro clássico de miopatia com corpos redutores, de início na infância, estudos adicionais descreveram mutações no gene *FHL1* relacionadas a outros fenótipos, como a distrofia muscular de Emery-Dreifuss, miopatia escapuloperoneal ligada ao X e a cardiomiopatia hipertrófica isolada (Bertrand et al., 2014).

2.2.6 αB-cristalinopatia

As α-cristalinas são pequenas proteínas de choque térmico que se ligam a proteínas desdobradas e desnaturadas para suprimir sua agregação não específica (Selcen et al., 2011). Duas formas (A e B) são codificadas por diferentes genes, sendo a forma αB-cristalina, codificada pelo gene *CRYAB,* um gene de apenas três éxons, relacionado basicamente a quadros de miopatia miofibrilar. Os achados histopatológicos incluem alterações distróficas, agregados protéicos subsarcolemais, poucos corpos citoplasmáticos, vacúolos e lesões tipo core (Vicart et al. 1998; Sacconi et al., 2012).

Algumas poucas famílias foram descritas com mutação heterozigótica (Selcen et al., 2003). Os pacientes apresentam início da idade adulta, com fraqueza muscular proximal e distal simétricas e comprometimento respiratório. Alguns pacientes também apresentam cardiomiopatia hipertrófica e catarata.

2.2.7 Zaspopatia

A ZASP (proteína contendo motivo PDZ de *splicing* alternativo de banda Z) é uma proteína, codificada pelo gene *LDB3* (*LIM domain-binding 3*), expressa predominantemente no músculo cardíaco e esquelético, com importante função estrutural, ligando-se a α-actinina, o componente dos discos-Z que une os filamentos finos dos sarcômeros (Selcen et al., 2011). Variantes patogênicas em heterozigose neste gene podem causar miopatia miofibrilar, com apresentação clínica muito parecida àqueles pacientes com miotilinopatia (Olivé et al., 2013).

A zaspopatia como causa de miopatia miofibrilar foi descrita pela primeira vez por Selcen et al. (2005) e outros pacientes foram sendo descritos ao longo dos anos subsequentes (Zheng et al., 2017). Os pacientes apresentam sintomas na sexta década de vida e fraqueza muscular de predomínio distal. Cardiopatia e neuropatia periférica podem ocorrer.

As alterações miopatológicas são caracterizadas por padrões distróficos musculares com ruptura dos discos Z e acúmulo de detritos de degradação miofibrilar, além de presença de vacúolos marginados (Selcen et al. 2005; Selcen et al. 2011; Olivé et al., 2013).

3. JUSTIFICATIVA DO ESTUDO

As miopatias distais e as miopatias miofibrilares são grupos relevantes dentre as miopatias, pois apesar de serem pouco reconhecidas, podem apresentar manifestações cardíacas e respiratórias graves, e, portanto, o seu diagnóstico precoce é fundamental para prevenção e controle de complicações. Entretanto, não dispomos de dados em nossa população sobre a frequência e os subtipos das miopatias distais e miopatias miofibrilares, por não haver estudos em pacientes brasileiros, identificando ou classificando esses pacientes, do ponto de vista clínico e genético.

Adicionalmente, há poucos estudos na literatura que comparam aspectos clínicos e histológicos, entre os diferentes subtipos de miopatias distais e de miopatias miofibrilares. O conhecimento dessas caraterísticas e a comparação entre diferentes subtipos, dentro de um grupo de doenças heterogêneo, poderá melhorar o diagnóstico clínico-histológico e o direcionamento mais preciso dos estudos genéticos, bem como ajudar na validação de achados moleculares, a partir de um fenótipo mais bem caracterizado.

4. OBJETIVOS

4.1 Objetivo geral

Descrição clínica, histológica e molecular de pacientes com miopatia distal e miopatia miofibrilar, numa população brasileira, atendida em centro de referência terciário para doenças musculares.

4.2 Objetivos específicos

a) Descrever e comparar o padrão de comprometimento motor e funcional dos diferentes tipos de miopatia distal e miopatia miofibrilar.
b) Descrever os achados de exames de imagem muscular, relativos ao padrão de comprometimento muscular, comparando-os entre os diferentes grupos de miopatia distal e miopatia miofibrilar.
c) Descrever os achados de biopsia muscular, comparando-os entre os diferentes grupos de miopatia distal e miopatia miofibrilar.
d) Investigar os aspectos genéticos de pacientes com miopatia distal e miopatia miofibrilar, na nossa população, procedendo uma correlação entre genótipo e fenótipo, quando possível.

5. PACIENTES E MÉTODOS

5.1 Desenho do estudo e seleção de pacientes

Este é um estudo observacional, de corte transversal e de caráter retrospectivo, realizado no Grupo de Miopatias do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (HCFMUSP), no período de junho de 2018 a junho de 2020. O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética e Pesquisa do HCFMUSP, sob o CAAE 82677318.3.0000.0068, parecer 2.597.615 (Apêndice 1).

Pacientes com diagnóstico clínico e histológico de miopatia distal e miopatia miofibrilar foram identificados e incluídos no estudo e foram avaliados de 2018 a 2020. Todos os participantes e/ou seus familiares leram, compreenderam e assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) e os pacientes entre 12 e 18 anos leram, compreenderam e assinaram o Termo de Assentimento para participarem do estudo (Apêndices 2 e 3).

A seleção dos pacientes, para estabelecimento de casuística, seguiu dois grupos de definição e dois fluxos de construção (Figuras 5 e 6).

5.1.1 Grupo 1 - miopatia miofibrilar

Considerando que o diagnóstico de miopatia miofibrilar é predominantemente histológico, selecionamos pacientes a partir do banco de biopsias do LIM15 da FMUSP, realizadas entre os anos de 2011 e 2019, com suspeita de miopatia miofibrilar, para convocação e avaliação presencial. Foi definido como miopatia miofibrilar a presença na biopsia muscular de desintegração e desorganização das miofibrilas, associada a inclusões citoplasmáticas com reatividade para desmina na reação IHQ, com ou sem vacúolos intracitoplasmáticos, conforme definição clássica de Nakano et al. (1996). As biopsias que apresentavam apenas alterações vacuolares, sem agregados intracitoplasmáticos, foram excluídas deste grupo.

Neste grupo, foram incluídos posteriormente os pacientes sem biopsia muscular, mas que apresentavam quadro clínico compatível e história de miopatia miofibrilar confirmada em outro membro da família, como por exemplo, familiares dos probandos, que apresentassem quadro clínico de miopatia, compatível com o diagnóstico do probando.

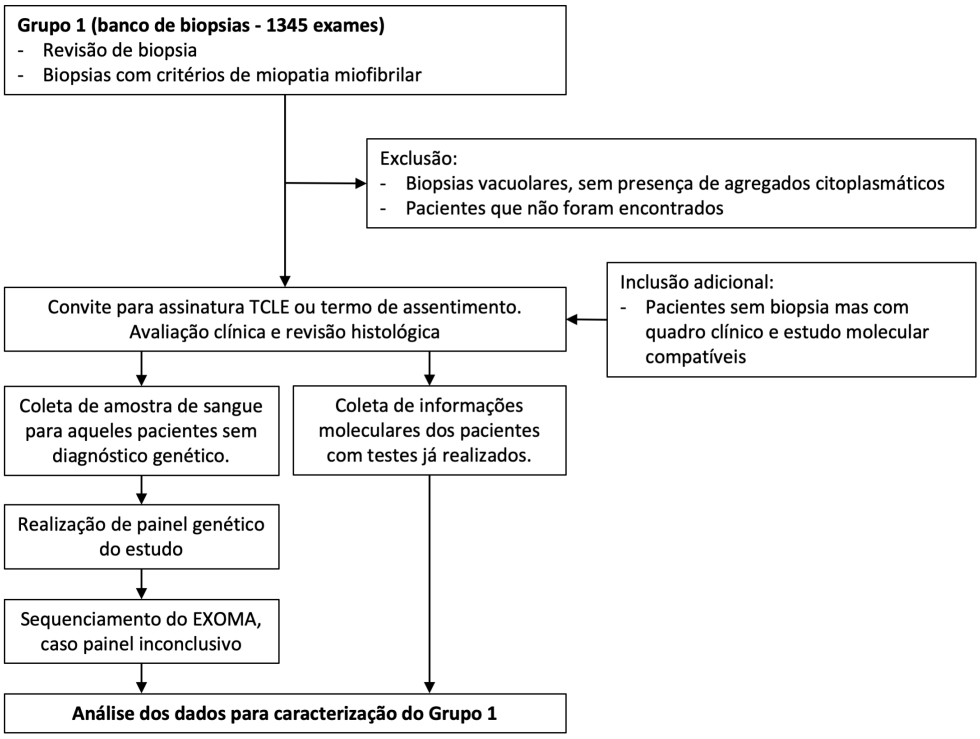


Figura 5. Metodologia de seleção dos pacientes para formação do grupo 1.

5.1.2 Grupo 2 – miopatias distais

Para formação do grupo de miopatias distais, incluímos pacientes do ambulatório de miopatias do HCFMUSP que apresentavam comprometimento miopático, com história inicial de instalação de sintomas predominantemente distal, com eletroneuromiografia ou biopsia muscular com achados miopáticos usualmente relacionados (predomínio de alterações em musculatura distal na eletroneuromiografia e/ou presença de vacúolos na biopsia muscular). Para possibilitar esta seleção, foi realizado inicialmente um processamento de tabulação dos pacientes do ambulatório de miopatias, avaliados nos períodos de 2011 a 2019, em um banco de dados.

Os pacientes com biopsia muscular com achados compatíveis com miopatia miofibrilar foram excluídos deste grupo, sendo incluídos no grupo 1, mesmo apresentando fraqueza distal predominante. Assim, neste segundo grupo, buscou-se incluir pacientes com diagnóstico predominantemente clínico, compatíveis com miopatia distal, sem histologia miofibrilar, aceitando-se, entretanto, a presença de vacúolos na biopsia muscular.

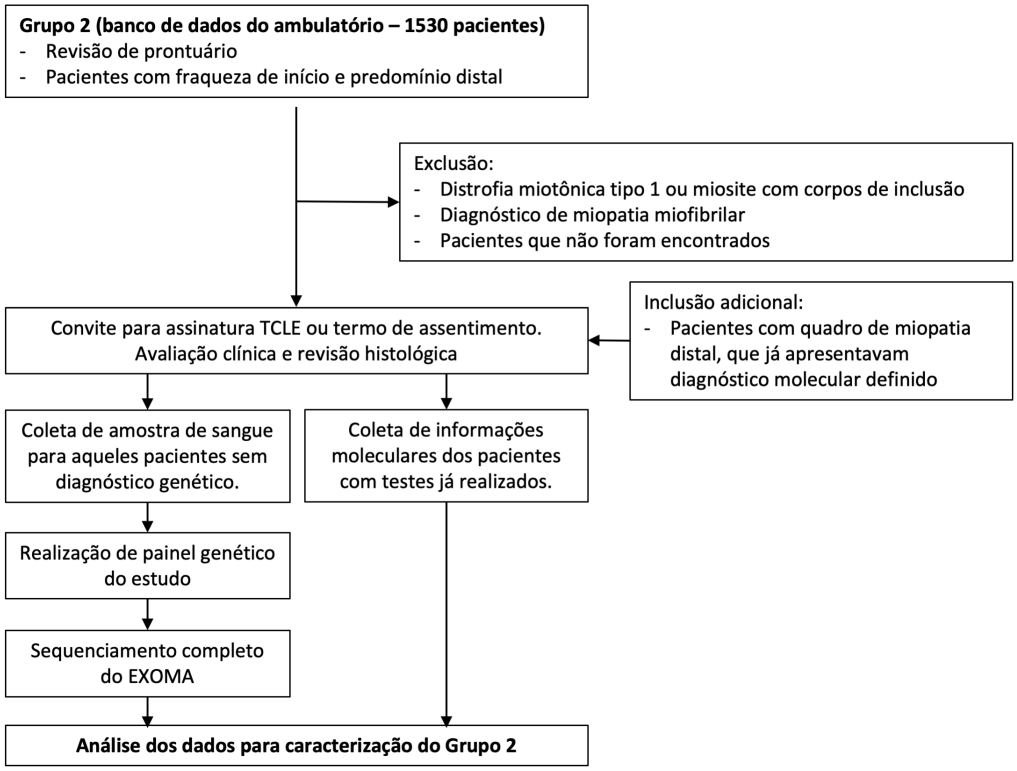


Figura 6. Metodologia de seleção dos pacientes para formação do grupo 2.

5.2 Critérios de inclusão e de exclusão

No grupo 1 foram incluídos pacientes com definição histológica ou molecular compatível com miopatia miofibrilar, avaliados no ambulatório de miopatias do HCFMUSP. Inicialmente, revisamos os descritores no banco de dados de 1.345 exames de biopsia muscular, buscando-se os seguintes descritores histológicos: miopatia miofibrilar, miopatia vacuolar, padrão distrófico com vacúolos, massas intracitoplasmáticas, acúmulo de desmina e presença de agregados proteicos. As biopsias com a presença destes descritores foram pré-

selecionadas e revisadas pelo investigador principal e pelo orientador. Aquelas com padrão histológico compatível com a definição de miopatia miofibrilar foram incluídas, enquanto as biopsias que apresentaram aspecto vacuolar, sem a presença de agregados intracitoplasmáticos, foram excluídas do grupo 1.

No grupo 2, foram incluídos pacientes com diagnósticos clínico compatível com miopatia distal em seguimento no ambulatório de miopatias do HCFMUSP. Os pacientes foram avaliados clinicamente e reexaminados pelo pesquisador principal, a fim de se confirmar o comprometimento predominantemente distal. Pacientes que, apesar do comprometimento predominantemente distal, apresentavam diagnóstico clínico e/ou molecular de distrofia miotônica, distrofia fascioescapulohumeral e de miosite por corpos de inclusão adquirida foram excluídos do grupo 2.

5.3 Caracterização clínica

Uma ficha clínica (Anexo A) foi aplicada pelo pesquisador principal, com dados extraídos em anamnese direcionada, com apoio de dados em prontuário, na primeira avaliação, incluindo dados da história clínica, da história familiar, dos exames complementares da investigação neuromuscular prévia, como CPK, ENMG e exames de imagem muscular. Os pacientes foram avaliados de forma sistematizada, através da normatização do *Medical Resource Counsil (*MRC) para avaliação da força muscular. Dados relativos à investigação cardiológica e respiratória também foram coletados, oriundos de exames complementares: ecocardiograma transtorácico (ECO), eletrocardiograma de repouso (ECG), e monitorização de holter de 24h, além de prova de função pulmonar (PFP).

5.4 Imagem por ressonância magnética e ultrassonografia de músculos

Os pacientes do ambulatório de miopatias são submetidos a exames de ressonância nuclear magnética (RNM) e ultrassonografia (US) *point-of-care* na investigação de sua condição clínica. Os pacientes que foram submetidos a exames de RNM e US de músculo, tiveram esses dados incluídos no estudo.

A avaliação desses dados pela RNM foi qualitativa e semi-quantitativa. Os músculos foram analisados sistematicamente usando rolagem de cortes axiais e coronais abrangendo todo o volume muscular. A lipossubistituição muscular foi avaliada de acordo com a distribuição da intensidade do sinal muscular anormal nas sequências ponderadas em T1. O grau de envolvimento foi classificado de acordo com uma escala de 5 pontos, conforme descrito anteriormente: 0, normal; 1, leve; 2, moderado (<50% de substituição de gordura); 3, grave (> 50% de substituição gordurosa); 4, músculo ausente (envolvimento de fase final) (Mercuri et al., 2002; Fischer et al., 2008).

Para análise das imagens de US, realizou-se uma avaliação qualitativa através da ecogenicidade do músculo estudado, utilizando a seguinte graduação: 1, ecogenicidade normal, com arquitetura do tecido muscular e contorno identificáveis, bem como do sinal ósseo subjacente; 2, ecogenicidade aumentada, com arquitetura do tecido muscular e contorno borrados; com perda discreta do sinal ósseo subjacente; 3, ecogenicidade aumentada, sem diferenciação da arquitetura do tecido muscular, com mínima delimitação do sinal ósseo subjacente; 4, ecogenicidade aumentada, não sendo possível identificar o sinal ósseo subjacente (Zaidman et al., 2016).

5.5 Avaliação histopatológica

Os pacientes com biopsia muscular previamente realizadas na investigação clínica, tiveram as lâminas revisadas. Fragmentos musculares estocados foram processados para complementação de análise imunoistoquimica.

Como protocolo do laboratório LIM45, as biopsias são processadas a fresco, a partir de montagem de fragmentos em cortiça usando *tissuetek*, e rapidamente congelados em nitrogênio líquido com isopentano. Os fragmentos são submetidos a cortes axiais em criostato, a uma temperatura de -25oC, com uma espessura de 6 a 8 micra, a os fragmentos remanescentes são estocados em freezer a -80oC, para processamento posterior, caso necessário. As lâminas

são submetidas às colorações morfológicas, histoquímicas e imunohistoquimicas.

As lâminas foram revisadas pelo pesquisador principal e orientador, através das seguintes colorações: hematoxilina e eosina (HE), tricrômio de Gömöri modificado (GO), NADH-tetrazolium redutase (NADH-TR), succinato desidrogenase (SDH), citocromo-c-oxidase (COX), fosfatase alcalina, e imuno-histoquímica (IHQ) usando anticorpos comerciais contra desmina, CD4, CD8, CD68 e complexo maior de histocompatibilidade tipo I (MHC-I). Os seguintes aspectos histológicos das biopsias musculares dos pacientes foram avaliados e graduados em leve (+), moderado (++) e acentuado (+++): variabilidade do tamanho da fibra, proporção de internalização de núcleos, presença de necroses, presença de vacúolos marginados, desorganização intermiofibrilar, presença de cores, presença de infiltrado inflamatório, e presença de agregados de desmina. Os agregados foram classificados em seu aspecto morfológico como difusos ou bem demarcados, e em sua localização, como predominantemente intracitoplasmáticos ou subsarcolemais.

5.6 Avaliação Molecular

5.6.1 Extração de DNA

Após a assinatura do termo de consentimento livre e esclarecido, foi coletada uma amostra de 5 a 10 mL de sangue periférico dos pacientes e dos familiares e enviado para o LIM45 onde foi realizada a extração de DNA linfocitário usando protocolo descrito por Miller et al. (1988). Os pacientes que já apresentaram teste genético previamente realizado por outros meios, foram incluídos na análise, sem necessidade de nova coleta de sangue.

5.6.2 Análise molecular por sequenciamento de nova geração

Inicialmente, um painel de sequenciamento customizado foi desenhado especificamente para este estudo, com os seguintes genes: *DES*, *CRYAB*,

MYOT, *LDB3*, *FLNC*, *TIA1*, *MYH7*, *GNE*, *BAG3*, *DNAJB6*, *TTN*, *PLEC*, *FHL1*, *LMNA*. Não foram incluídos os genes *DYSF* e *ANO5*, por limitação de custo e tamanho do painel, e pelo fato destes genes estarem cobertos em painel de projeto em paralelo no ambulatório, permitindo o diagnóstico dos pacientes fora deste protocolo. O desenvolvimento destes oligonucleotídeos foi realizado no software SureDesign (Agilent Technologies, Santa Clara, CA), sendo sequenciado na plataforma HiSeq2000 (Illumina, San Diego, CA, EUA) no LIM03 do Departameto de Patologia da FMUSP, em parceria com a Profa. Leslie Kulikowski.

Os pacientes que tiveram resultado negativo neste painel, ou seja, quando não foi encontrada nenhuma variante que explicasse o quadro clínico, foram submetidos ao sequenciamento completo do exoma. Amostras de DNA extraído no LIM15 foram encaminhadas para um laboratório privado (Mendelics), que realizou o sequenciamento do exoma por metodologia baseada em captura de regiões-alvo utilizando sondas, seguida de sequenciamento de nova geração com tecnologia Illumina e alinhamento e identificação de variantes utilizando protocolos de bioinformática, tendo como referência a versão GRCh38 do genoma humano. Os dados brutos gerados pelo laboratório, em arquivos *vcf* e *BAM* foram analisados pelo autor principal, com a plataforma Varstation (http://varstation.com), confirmado com o ANNOVAR, ambos utilizados para a anotação das variantes, com auxílio da Profa. Dra. Cristiane Moreno, colaboradora do trabalho.

Para identificação das variantes, foi inicialmente utilizado um filtro para frequência no gnomAD (http://gnomad.broadinstitute.org), com retenção daquelas com frequência não reportada ou menor que 0,01%. As variantes foram comparadas com os dados disponíveis no Human Gene Mutation Database (HGMD) e no ClinVar para identificação de variantes previamente reportadas. Caso uma variante conhecida e causadora do fenótipo do paciente não fosse encontrada nesse processo, buscava-se variantes nos genes potencialmente relacionadas ao fenótipo do paciente. Variantes em genes potencialmente causadores de miopatia, com mecanismo patogênico plausível para o gene em questão eram avaliadas quanto a conservação entre as espécies, a estrutura de

aminoácido e os preditores de bioinformática, para avaliação de impacto das variantes, usando o UCSC *Genome Browser* (http://genome.ucsc.edu) (KENT et al., 2002) e o *Ensembl* e sua ferramenta *VEP - Variant Effect Predictor* (https://www.ensembl.org/Tools/VEP). A predição *in silico* da patogenicidade foi realizada usando Polyphen2.2.2 (http: //genetics.bwh.harvard.edu/pph2/), SIFT (http://sift.jcvi.org/) e CADD (Adzhubei et al., 2010; Ng et al., 2001; Rentzsch, et al. 2019). A conservação filogenética foi estimada com o *genomic evolutionary rate profiling* (GERP ++) (Cooper et al., 2005).

Todas as variantes, incluindo aquelas identificadas por estudo molecular realizado previamente, fora deste protocolo, foram classificadas de acordo com os critérios de 2015 do American College of Medical Genetics and Genomics, ACMG (Richards et al., 2015) para definição de patogenicidade.

5.7 Análise estatística

Usamos média e desvio padrão para variáveis com distribuição gaussiana. Para a análise estatística de nossa amostra, comparamos as variáveis categóricas com os testes qui-quadrado ou de Fisher e usamos *t-student* ou ANOVA para variáveis contínuas. Foi utilizado o software IBM SPSS Statistics V.1.0.0-3239 (IBM, Armonk, New York, USA), e $P < 0,05$ bilateral foi considerado estatisticamente significativo.

6. RESULTADOS

Para identificação dos pacientes com miopatia miofibrilar, 1.345 biopsias foram triadas por meio de descritores histológicos, sendo 42 biopsias (3,0%) selecionadas para a análise inicial, por suspeita de miopatia miofibrilar. Destas, confirmamos 27 biopsias com o padrão miofibrilar e, assim, os pacientes foram convocados e 24 pacientes compareceram para avaliação. Posteriormente, incluímos 10 pacientes: uma paciente sintomática com história familiar positiva, sem biopsia muscular, mas com o exame molecular previamente realizado, confirmando o diagnóstico de desminopatia, um paciente com biopsia externa (a qual tivemos acesso) e estudo molecular compatível com titinopatia, bem como outros oito pacientes sintomáticos, familiares dos probandos previamente identificados. Desta forma, um total de 34 pacientes de 23 famílias não relacionadas foram incluídos nesta tese com o diagnóstico de miopatia miofibrilar, compondo o grupo 1 (Figura 7).

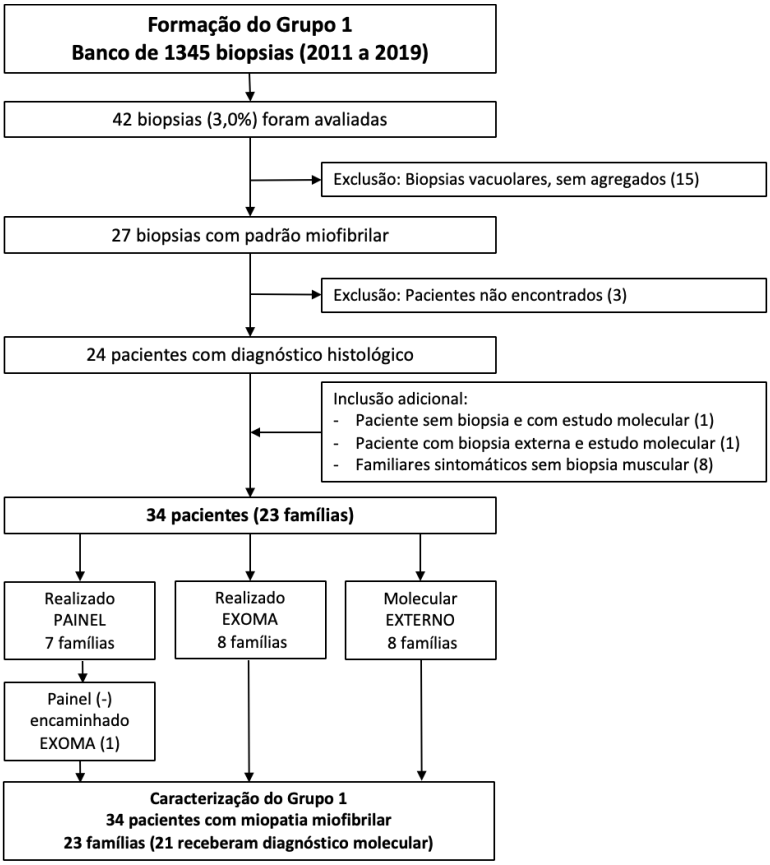


Figura 7. Fluxograma para formação do grupo 1 (miopatia miofibrilar).

Para identificação dos pacientes com miopatia distal, revisamos um banco de dados com 1.530 pacientes acompanhados no ambulatório de miopatias do HCFMUSP e identificamos 31 pacientes suspeitos. Após a revisão de prontuário, foram excluídos cinco pacientes com outros diagnósticos, quatro pacientes que tinham biopsia com padrão miofibrilar (e foram incluídos no grupo 1) e dois pacientes que não atenderam a convocação. Assim, um total de 20 pacientes de 19 famílias foram avaliados e confirmados como portadores de miopatia distal, compondo a casuística do grupo 2 (Figura 8).

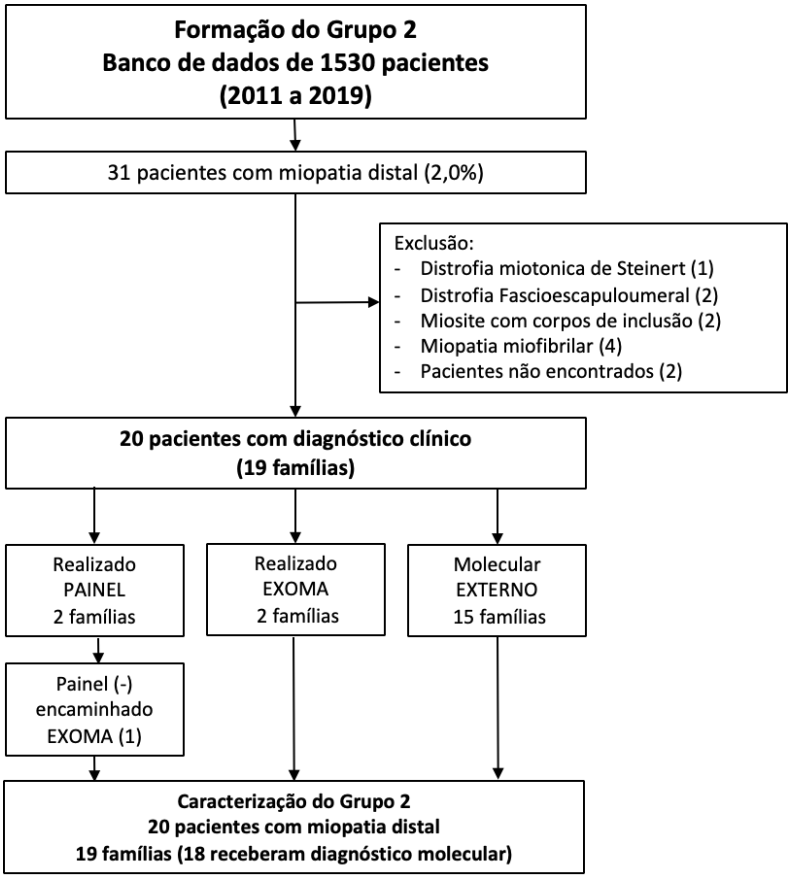


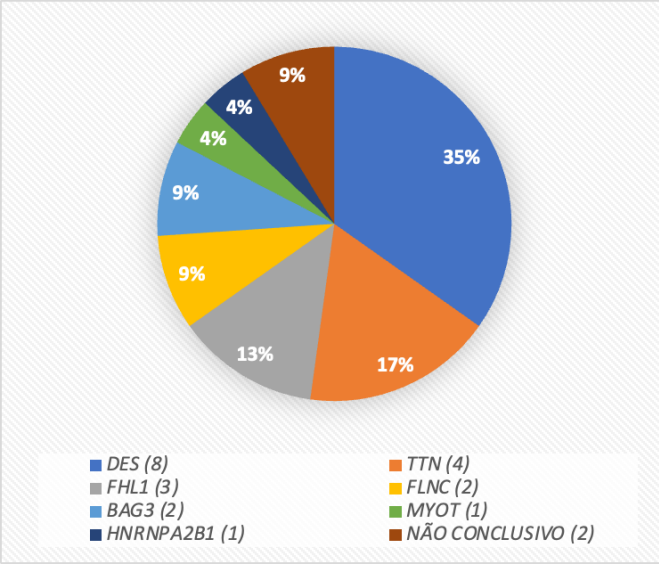
Figura 8. Fluxograma para formação do grupo 2 (miopatia distal).

Para melhor descrição dos pacientes desta tese, apresentaremos inicialmente os resultados moleculares, seguido da descrição clínica, histológica e radiológica, classificando os pacientes em subgrupos, baseado no gene causador da doença, permitindo assim uma melhor correlação fenótipo-genótipo.

6.1 Caracterização das miopatias miofibrilares (grupo 1)

Após consentimento informado, os pacientes com miopatia miofibrilar foram submetidos a avaliação clínica, revisão de prontuário e coleta de sangue para realização dos testes moleculares. Oito pacientes já apresentavam exame genético previamente realizado, confirmando o diagnóstico molecular: *DES* (n=3), *TTN* (n=2), *FHL1* (n=1), *FLNC* (n=2). Sete pacientes sem estudo genético prévio foram submetidos ao painel de sequenciamento customizado, sendo possível o diagnóstico molecular em mais seis pacientes: *DES* (n=2), *TTN* (n=1), *FHL1* (n=1), *BAG3* (n=1), *MYOT* (n=1). Em uma paciente, um diagnóstico molecular não pode ser estabelecido por meio do painel. Esta paciente e outros oito pacientes, que não haviam sido previamente incluídos na bateria do painel (por limitação de quantidade de amostras), foram submetidos a sequenciamento completo do exoma e, assim, mais sete pacientes obtiveram o diagnóstico molecular: *DES* (n=3), *TTN* (n=1), *BAG3* (n=1), *FHL1* (n=1), *HNRNPA2B* (n=1). Em dois pacientes a análise do exoma foi inconclusiva. Após todas as famílias terem sido submetida a análise molecular, o diagnóstico foi concluído em 21 famílias (91,3%), conforme mostra o Gráfico 1.

Gráfico 1 – Distribuição dos diagnósticos moleculares dos pacientes com miopatia miofibrilar, de acordo com o gene.



Nota: Entre parênteses o número de famílias.

A herança foi autossômica dominante em 15 famílias, enquanto três famílias apresentaram herança autossômica recessiva e, em outras três famílias, herança ligada ao X (Figura 9).

A idade de início dos sintomas variou de 1 a 63 anos, sendo a média de 26,2 (DP $\pm$ 16,0) anos. Quinze dos 34 pacientes eram do sexo masculino. Ao avaliar a distribuição de genes por idade dos pacientes, no subgrupo com início dos sintomas de 0–19 anos, dos 10 pacientes (29,4% da amostra), três deles apresentaram variantes no *FHL1*, dois pacientes na *TTN*, dois pacientes no *BAG3*, um paciente com variante na *FLNC* e dois pacientes permaneceram sem diagnóstico molecular. No subgrupo de 20–39 anos, dos 18 pacientes (52,9% da amostra), 12 apresentaram variantes na *DES*, enquanto so demais apresentaram variantes na *TTN*, *FHL1* e *FLNC*. Seis pacientes (17,7% da amostra) iniciaram os sintomas após os 40 anos, e destes, quatro deles apresentaram variantes na *DES*, uma paciente apresentou variante na *MYOT* e outro paciente apresentou variante no *HNRNPA2B1*.

A duração média da doença dos pacientes com miopatia miofibrilar foi 12,7 anos. O fenótipo neuromuscular mais comum foi fraqueza proximal-distal (incluindo o fenótipo escapuloperoneal), verificado em 18/34 (52,9%) pacientes, seguido de fraqueza proximal em 7/34 (20,6%) pacientes, e fraqueza predominantemente axial, em 6/34 (17,6%) pacientes. Apenas 3/34 (8,8%) pacientes apresentaram fraqueza exclusivamente distal.

Detalhamos na Tabela 3 as principais características clínicas dos pacientes com miopatia miofibrilar. Apresentamos na Tabela 4 as características de todas as variantes moleculares encontradas nos pacientes com miopatia miofibrilar deste estudo. Todas foram revisadas e classificadas baseado nos critérios do ACMG, inclusive dos pacientes que já haviam realizado o exame molecular previamente.

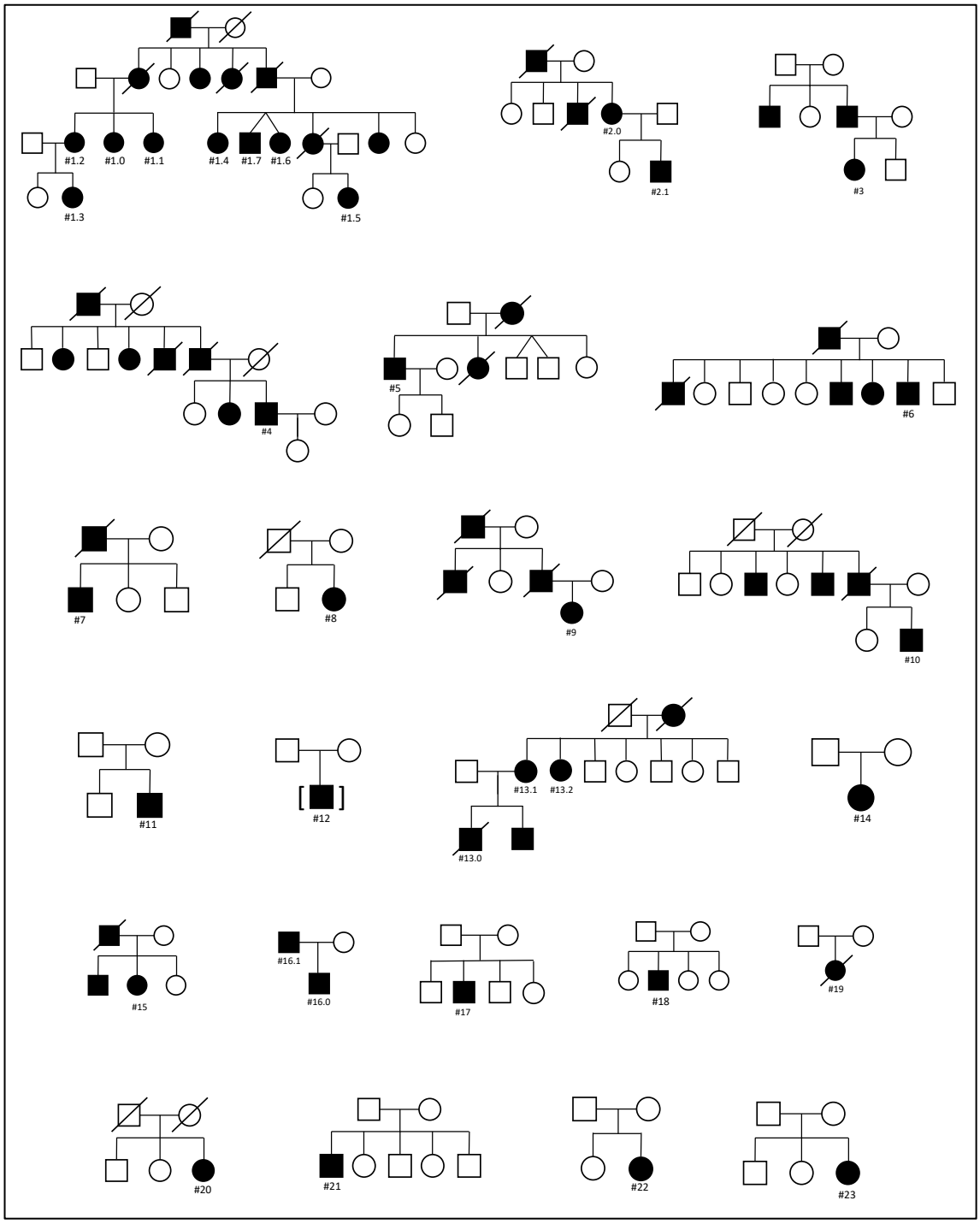


Figura 9. Heredograma das 23 famílias com miopatia miofibrilar.

= número de identificação do paciente

Tabela 3 – Características clínicas e histológicas dos 34 pacientes com miopatia miofibrilar (*continua na próxima página*)

#	Gene	Her	Idade inicial / Idade atual / Sexo	Manifestações iniciais	Fenótipo neuromuscular	Funcionalidade	Cardiopatia	IRp (CVF)	Achados histológicos	Achados moleculares
1.0*	***DES***	AD	29 / 53 / F	sincope	proximal-distal	marcha com apoio	BAV, MP	sim (40%)	var++, cent+, subsarc++	c.731_735+2delAAGAGGT
1.1	***DES***	AD	40 / 50 / F	sincope, palpitação	proximal-distal	marcha sem apoio	BAV, MP	sim (36%)	var++, cent+, subsarc++	não realizado*
1.2	***DES***	AD	35 / 55 / F	dispneia, palpitação	proximal	marcha sem apoio	BAV, MP	sim (59%)	not performed	não realizado*
1.3	***DES***	AD	23 / 29 / F	fraqueza proximal	proximal	marcha sem apoio	arritmia atrial	não	not performed	não realizado*
1.4	***DES***	AD	20 / 39 / F	dispneia, palpitaçào	proximal	marcha com apoio	BAV, MP	sim (49%)	var+, cent++, rub-out+, ring+, subsarc++	não realizado*
1.5	***DES***	AD	23 / 27 / F	sincope, dispneia	proximal-distal	marcha sem apoio	BAV, MP	não	not performed	não realizado*
1.6	***DES***	AD	34 / 41 / F	sincope, bradicardia	proximal-distal	marcha sem apoio	BAV, MP	não	not performed	c.731_735+2delAAGAGGT
1.7	***DES***	AD	20 / 40 / M	dispneia, bradicardia	proximal-distal	marcha com apoio	BAV, MP	sim (46%)	not performed	não realizado*
2.0*	***DES***	AD	15 / 44 / F	dispneia, palpitação	proximal-distal	cadeira de rodas	BAV, MP, MCD	sim (52%)	var+, cent+, subsarc++	c.735+1G>C
2.1	***DES***	AD	21 / 22 / M	palpitação	proximal	marcha sem apoio	arritmia atrial	não	not performed	c.735+1G>C
3	***DES***	AD	25 / 31 / F	fraqueza distal MMII	distal	marcha sem apoio	arritmia ventricular	não	not performed	c.1109T>C
4	***DES***	AD	26 / 33 / M	fraqueza proximal e distal	proximal-distal	cadeira de rodas	BAV, MP	sim (48%)	var++, conj++, cent++	c.1089_1106delCCAGGACAACATTGCGCG
5	***DES***	AD	34 / 56 / M	fraqueza distal MMII	proximal-distal	marcha sem apoio	BAV, MP	não	var++, conj+, cent++, rub-out+	c.38C>T
6	***DES***	AD	27 / 36 / M	fraqueza proximal	proximal-distal	marcha sem apoio	não	não	var++, cent+, vac+	c.1034T>C
7	***DES***	AD	20 / 55 / M	fraqueza axial	axial	marcha sem apoio	fibrilação atrial	não	var++, cent++, vac+, subsarc+	c.490_491insGCCAGGTGGAGGTGCTCCTGTCCT
8	***DES***	AD	34 / 37 / F	fraqueza proximal MMII	proximal-distal	marcha sem apoio	não	não	var+, cent++, vac+, rub-out+	c.38C>T
9	***TTN***	AR	1 / 15 / F	hipotonia e atraso motor	espinha rígida	marcha sem apoio	TxC por MCD	não	var+, cent+, vac+, type1-atro+	c.104779A>T; c.101766G>C
10	***TTN***	AR	25 / 35 / M	fraqueza proximal e distal	proximal-distal	marcha com apoio	não	não	var++, cent+, vac++, type1-atro+	c.79428_79429insCA; c.2676_2677insAAGAGT
11	***TTN***	AD	17 / 22 / M	fraqueza em quadriceps	proximal-distal (HMERF)	marcha com apoio	não	sim (53%)	var+, cent+, type1-atro+	c.95185T>C
12	***TTN***	AR	1 / 48 / M	hipotonia e atraso	proximal	cadeira de rodas	não	não	var+, conj+, cent+, cap-like+	c.85309G>A; c.65870C>T
13.0*	***FHL1***	X-L	7 / 13 / M	fraqueza proximal	proximal c/ contraturas	cadeira de rodas	não	sim (19%)	var+++, conj+++, cent++, necro++, vac++, mena+	c.310T>C
13.1	***FHL1***	X-L	31 / 36 / F	fraqueza distal	escapuloperoneal	marcha sem apoio	não	não	var+++, conj++, cent+, necro++, vac++, mena+	c.310T>C

Tabela 3 – Características clínicas e histológicas dos 34 pacientes com miopatia miofibrilar (*conclusão*)

#	Gene	Her	Idade inicial / Idade atual / Sexo	Manifestações iniciais	Fenótipo neuromuscular	Funcionalidade	Cardiopatia	IRp (CVF)	Achados histológicos	Achados moleculares
13.2	***FHL1***	X-L	25 / 32 / F	fraqueza distal	escapuloperoneal	marcha sem apoio	não	não	var+++, conj++, cent+, necro++, vac++, mena+	não realizado
14	***FHL1***	X-L	11 / 24 / F	fraqueza proximal e distal	escapuloperoneal	marcha com apoio	não	sim (65%)	var++, conj++, cent+, necro+, vac++, mena+	c.546T>G
15	***FHL1***	X-L	4 / 5 / F	fraqueza proximal	proximal	cadeira de rodas	não	sim (47%)	var+++, conj+++, cent++, necro++, vac++, mena+	c.302G>A
16.0*	***FLNC***	AD	1 / 19 / M	fraqueza proximal e axial	proximal-distal	cadeira de rodas	arritmia ventricular	TQT	var++, conj+, cent+, ring+	c.6962G>A
16.1	***FLNC***	AD	36 / 45 / M	fraqueza proximal	proximal-distal	marcha sem apoio	não	sim (49%)	var++, conj++, cent+, necro+, vac++, ring+	c.6962G>A
17	***FLNC***	AD	36 / 46 / M	fraqueza panturrilhas	distal	marcha sem apoio	BAV	não	var+++, conj+++, cent++, vac+	c.709C>T
18	***BAG3***	AD	2 / 17 / M	quedas e contraturas	espinha rígida e CMT	cadeira de rodas	não	sim (48%)	var+, conj+, cent+, rub-out+, group+	c.626C>T
19	***BAG3***	AD	1 / 17 / F	dispneia	espinha rígida e CMT	cadeira de rodas	TxC por MCR	sim (30%)	var++, conj++, cent++, vac+, rub-out+, group+	c.626C>T
20	***MYOT***	AD	63 / 68 / F	fraqueza em mãos	distal	marcha sem apoio	não	não	var++, conj+, cent+, vac+++, spheroid+	c.179C>T
21	***HNRNPA2B1***	AD	40 / 49 / M	fraqueza proximal	proximal	marcha com apoio	não	não	var++, conj++, cent+, necro+, vac-auto+	c.805T>G
22	**Inconclusivo**	-	4 / 18 / F	fraqueza axial	proximal c/ espinha rígida	marcha com apoio	não	sim (32%)	var++, conj++, cent+, necro+, vac++, ring+	-
23	**Inconclusivo**	-	1 / 22 / F	fraqueza axial	proximal c/ espinha rígida	marcha com apoio	não	sim (21%)	var+, conj+, cent+	-

Abreviações e codificação: # = número de identificação do paciente; * = caso índice; M = masculino; F = feminino; Her = Herança; AD = autossômica dominante; AR = autossômica recessiva; X-L = ligado ao X; CMT = Charcot-Marie-Tooth; CVF = capacidade vital forçada; MP = marcapasso definitivo; MMT = teste manual de músculos; BAV = bloqueio atrioventricular; TxC = transplante cardíaco; TQT = traqueostomia; VNI = ventilação não-invasiva. Var=variabilidade; Conj=presença de tecido conjuntivo endomisial; Central=aumento da centralização nuclear; Necro=presença de necroses; Inflam=presença de inflamação linfocitária endomisial; Vac-auto= presença de vacúolos com marcação para fosfatase ácida.

* Seis pacientes da família 1 com desminopatia não foram submetidos a teste molecular, por já apresentarem quadro clínico típico e diagnóstico familiar.

Tabela 4 – Características das variantes genéticas dos pacientes com miopatia miofibrilar

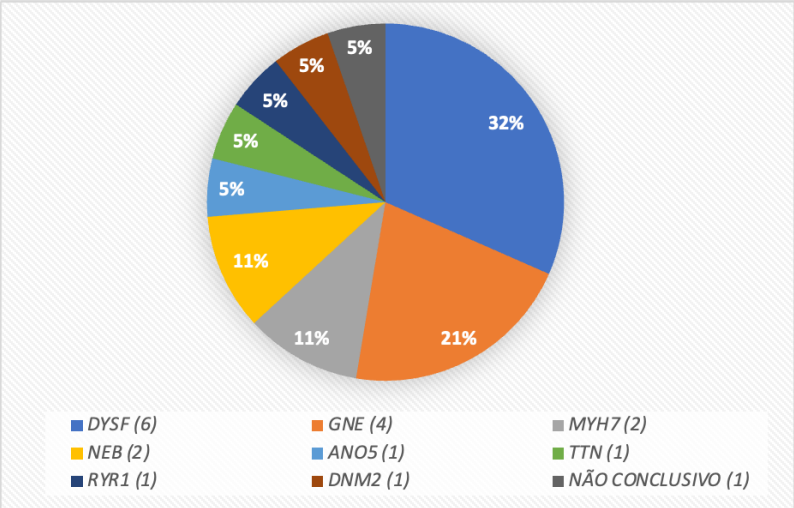
Gene	Transcrito	Variante	Predição de mudança do aminoácido	Localização	Impacto na proteina	No de famílias	Banco de dados Gnomad	Banco de dados Clinvar	Classificação ACMG
DES	NM_001927.4	c.731_735+2delAAGAGGT	p.?	E3 / segmento 1B	deleção *frameshift*	1	ausente	não reportada	patogênica
DES	NM_001927.4	c.735+1G>C	p.?	E3 / segmento 1B	sítio de *splicing*	1	ausente	provavelmente patogênica	patogênica
DES	NM_001927.4	c.1109T>C	p.Leu370Pro	E6 / segmento 2B	*missense*	1	ausente	patogênica	patogênica
DES	NM_001927.4	c.1089_1106delCCAGGACAACATTGCGCG	p.Gln364_Arg369del	E6 / segmento 2B	deleção *in-frame*	1	ausente	patogênica	patogênica
DES	NM_001927.4	c.38C>T	p.Ser13Pro	E1 / cabeça	*missense*	2	ausente	patogênica	patogênica
DES	NM_001927.4	c.1034T>C	p.Leu345Pro	E6 / segmento 2B	*missense*	1	ausente	patogênica	patogênica
DES	NM_001927.4	c.490_491insGCCAGGTGGAGGTGCTCCTGTCCT	p.Arg164delinsArgGlnValGluValLeuLeuSerCys	E1 / segmento 1B	inserção *in-frame*	1	ausente	não reportada	provavelmente patogênica
TTN	NM_001267550.2	c.104779A>T	p.Lys34927Ter	E358 / Banda-M	*nonsense*	1	ausente	não reportada	provavelmente patogênica
TTN	NM_001267550.2	c.101766G>C	p.Gln33922His	E358 / Banda-M	*missense*	1	0,007	significado incerto / benigna	significado incerto
TTN	NM_001267550.2	c.79428_79429insCA	p.Val26477fs	E326 / Banda-A	inserção *frameshift*	1	ausente	não reportada	provavelmente patogênica
TTN	NM_001267550.2	c.2676_2677insAAGAGT	p.Glu893delinsLysSerGlu	E16 / Banda-Z	inserção *in-frame*	1	ausente	não reportada	significado incerto
TTN	NM_001267550.2	c.95185T>C	p.Trp31729Arg	E343 / Banda-A	*missense*	1	ausente	patogênica	patogênica
TTN	NM_001267550.2	c.85309G>A	p.Gly28437Ser	E326 / Banda-A	*missense*	1	0,000004	significado incerto	significado incerto
TTN	NM_001267550.2	c.65870C>T	p.Pro21957Leu	E314 / Banda-A	*missense*	1	0,000004	não reportada	significado incerto
FHL1	NM_001449.5	c.310T>C	p.Cys104Arg	E4 / LIM2	*missense*	1	ausente	patogênica	patogênica
FHL1	NM_001449.5	c.302G>A	p.Cys101Tyr	E4 / LIM2	*missense*	1	ausente	não reportada	provavelmente patogênica
FHL1	NM_001449.5	c.546T>G	p.His182Gln	E6 / LIM3	*missense*	1	ausente	não reportada	provavelmente patogênica
FLNC	NM_001458.5	c.6962G>A	p.Gly2321Asp	E41 / CH2	*missense*	1	ausente	não reportada	provavelmente patogênica
FLNC	NM_001458.5	c.709C>T	p.Pro237Leu	E4 / Dominio21	*missense*	1	ausente	não reportada	patogênica
BAG3	NM_004281.3	c.626C>T	p.Pro209Leu	E3	*missense*	2	ausente	patogênica	patogênica
MYOT	NM_006790	c.179C>T	p.Ser60Phe	E2	*missense*	1	ausente	patogênica	patogênica
HNRNPA2B1	NM_031243.3	c.805T>G	p.Tyr269Asp	E8	*missense*	1	ausente	não reportada	provavelmente patogênica

Abreviações e codificação: ACMG = American College of Medical Genetics; E = éxon.

6.2 Caracterização das miopatias distais (grupo 2)

Após consentimento informado, os pacientes com diagnóstico de miopatia distal foram submetidos a avaliação clínica, revisão de prontuário e coleta de sangue para realização dos testes moleculares. Quinze pacientes já apresentavam exame genético previamente realizado, não sendo repetida a coleta de sangue para análise genética: *DYSF* (n=6), *GNE* (n=2), *MYH7* (n=2), *NEB* (n=2), *TTN* (n=1), *RYR1* (n=1), *DNM2* (n=1), *ANO5* (n=1). Três pacientes sem diagnóstico molecular foram submetidos ao painel de sequenciamento customizado, e encontramos variantes no *GNE* em dois deles (n=2) e em um deles um diagnóstico molecular não pode ser estabelecido. Este paciente e outros dois que não foram submetidos ao painel, e não apresentavam exame genético prévio, foram submetidos ao sequenciamento completo do exoma, sendo possível o diagnóstico molecular em dois pacientes: *GNE* (n=1) e *DYSF* (n=1). O paciente cujo painel foi negativo, também continuou com o diagnóstico inconclusivo após o sequenciamento do exoma. Assim todos os pacientes do grupo 2 foram submetidos a análise molecular, sendo possível o diagnóstico em 18 das 19 famílias, conforme mostra o Gráfico 2. A herança era autossômica recessiva em 15 (78,9%) famílias (Figura 10).

Gráfico 2 – Distribuição dos diagnósticos moleculares dos pacientes com miopatia distal, de acordo com o gene



Nota: Entre parêntese o número de famílias.

O início dos sintomas variou de 1 a 40 anos, com média de 16,2 anos. Doze pacientes iniciaram os sintomas na faixa etária de 0-19 anos (três apresentaram variantes na *DYSF*, dois no *GNE*, dois no *MYH7*, dois na *NEB*, um na *TTN* e um na *RYR1)*. Oito pacientes iniciaram os sintomas entre 20-39 anos, sendo três pacientes com variantes na *DYSF*, três no *GNE*, um na *ANO5* e um paciente com variante na *DNM2*.

Quinze (75%) pacientes apresentaram fraqueza proximal ou axial associada à manifestação distal. A duração média da doença para os pacientes com miopatia distal foi 12,7 anos. Quatro pacientes usavam cadeira de rodas (dois pacientes com variante no *GNE*, um com variante na *MYH7* e um com variante na *RYR1*), e outros quatro pacientes necessitavam de algum apoio para deambular. Nenhum paciente apresentou cardiopatia e apenas um paciente (com variante no *MYH7*) apresentou redução do grau de capacidade vital forçada.

Detalhamos na Tabela 5 as principais características clínicas dos pacientes com miopatia distal. Apresentamos na Tabela 6 as características das variantes moleculares encontradas nos pacientes com miopatia distal. Todas foram revisadas e classificadas baseado nos critérios do ACMG, inclusive dos pacientes que já haviam realizado o exame molecular previamente.

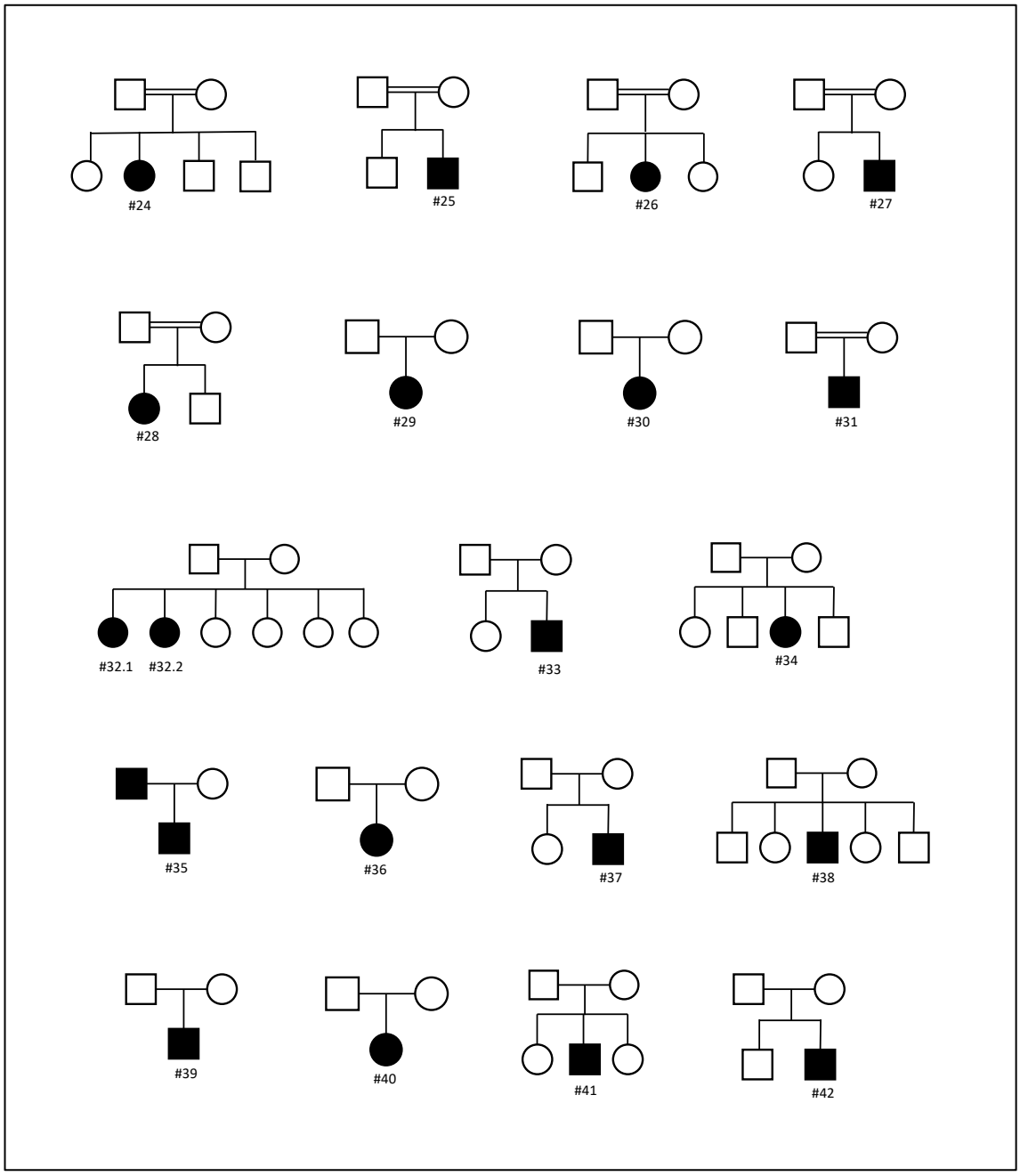


Figura 10. Heredograma das 19 famílias com miopatia distal.

= número de identificação do paciente

Tabela 5 – Características clínicas e histológicas dos 20 pacientes com miopatia distal (*continua na página seguinte*)

#	Gene	Her	Idade inicial / Idade atual / Sexo	Manifestações iniciais	Resumo do exame físico, com grau de força muscular	Funcionalidade	Cardiopatia	IRp (CVF)	Achados histológicos	Variantes
24	***DYSF***	AR	15 / 28 / F	fraqueza e dor panturrilhas	4 proximal MMII / 3 flexão plantar	marcha sem apoio	não	não	central+, necro++	c.2901dup (homozigose)
25	***DYSF***	AR	26 / 51 / M	fraqueza distal MMII	4 proximal / 2 dorsiflexores	marcha com apoio	não	não	var+, conj+, necro+, inflam+	c.6093dupA (homozigose)
26	***DYSF***	AR	17 / 28 / F	fraqueza distal MMII	4 proximal / 3 distal MMII	marcha com apoio	não	não	var+, necro+	c.2996G>A (homozigose)
27	***DYSF***	AR	23 / 25 / M	fraqueza e dor panturrilhas	4 flexão plantar	marcha sem apoio	não	não	var+, central+, necro+, inflam+	c.2875C>T (homozigose)
28	***DYSF***	AR	17 / 27 / F	fraqueza e dor panturrilhas	4 proximal MMII / 3 flexão plantar	marcha sem apoio	não	não	Não realizado	c.4638+1G>A (homozigose)
29	***DYSF***	AR	22 / 26 / F	fraqueza e dor panturrilhas	4 distal MMII	marcha sem apoio	não	não	Não realizado	c.6124C>T (homozigose)
30	***GNE***	AR	18 / 25 / F	fraqueza MMII	4 proximal / 3 dorsiflexores	cadeira de rodas	não	não	var+++, conj+++, vac-aut+++	c.577C>T / c.394C>T
31	***GNE***	AR	16 / 25 / M	fraqueza distal MMII	2 proximal / 1 distal MMII	cadeira de rodas	não	não	var+++, conj+++, vac-aut+++	c.829C>T (homozigose)
32.0	***GNE***	AR	30 / 31 / F	fraqueza distal MMII	4 proximal MMII / 2 dorsiflexores	marcha sem apoio	não	não	var+++, conj+++, vac-aut+++	c.829C>T (homozigose)
32.1	***GNE***	AR	24 / 35 / F	fraqueza distal MMII	3 proximal MMII / 1 dorsiflexores	marcha com apoio	não	não	não realizado	c.829C>T (homozigose)
33	***GNE***	AR	40 / 42 / M	fraqueza distal MMII	4 proximal / 1 dorsiflexores	marcha sem apoio	não	não	var+++, conj+++, vac-aut+++	c.2027C>G / c.1145T>G
34	***MYH7***	AD	3 / 38 / F	quedas e fraqueza mãos	3 MMSS / 2 proximal MMII / 2 dorsiflexores. retrações	cadeira de rodas	não	não	var++, atrofia tipo 1	c.4822C>A
35	***MYH7***	AD	2 / 15 / M	quedas e fraqueza mãos	3 distal MMSS / 3 MMII fraqueza cervical e escoliose	marcha com apoio	não	sim (60%)	predomínio fibras tipo 2	c.4814G>C
36	***NEB***	AR	1 / 15 / F	hipotonia primeiro ano	4 proximal e 2 dorsiflexores. Facieis alongada / Pés cavos	marcha sem apoio	não	não	var+, bastões++	c.4489A>G / c.11947_11948insAGGACTATG

Tabela 5 – Características clínicas e histológicas dos 20 pacientes com miopatia distal (*conclusão*)

#	Gene	Her	Idade inicial / Idade atual / Sexo	Manifestações iniciais	Resumo do exame físico, com grau de força muscular	Funcionalidade	Cardiopatia	IRp (CVF)	Achados histológicos	Variantes
37	***NEB***	AR	2 / 15 / M	fraqueza distal MMII	4 proximal / 1 dorsiflexores Facieis alongada / Pés cavos	marcha sem apoio	não	não	var+, bastões++	c.24465_24468delCAAT / c.21519C>A
38	***ANO5***	AR	24 / 42 / M	fraqueza e dor panturrilhas	4 flexão plantar	marcha sem apoio	não	não	var+++, conj+++, necro++	c.191dupA (homozigose)
39	***TTN***	AR	9 / 29 / M	quedas e fraqueza pés	4 distal MMII	marcha sem apoio	não	não	var+, conj+, central +, necro+, cores+	c.80182+1G>A / c.70297+1G>A
40	***RYR1***	AR	6 / 13 / F	quedas e fraqueza pés	3 distal MMII Retração distal e pés cavos	marcha com apoio	não	não	var++, conj+, central+, cores++	c.122T>C / c.14057G>A / c.11779-2A>C
41	***DNM2***	AD	20 / 33 / M	fraqueza panturrilhas	4 proximal MMII / 3 distal MMII	marcha sem apoio	não	não	Não realizado	c.1105C>T
42	***Negativo***	-	10 / 15 / M	fraqueza distal MMII	4 proximal / 3 distal. Retrações	marcha sem apoio	não	não	var+++, conj+++, vac-aut+++	-

Abreviações e codificação: #=número de identificação do paciente; M=masculino; F=feminino; AD=autossômica dominante; AR=autossômica recessiva; Spo=esporádico; CVF= capacidade vital forçada; Var=variabilidade; Conj=presença de tecido conjuntivo endomisial; Central=aumento da centralização nuclear; Necro=presença de necroses; Inflam=presença de inflamação linfocitária endomisial; Vac-auto= presença de vacúolos com marcação para fosfatase ácida.

Tabela 6 – Características das variantes genéticas dos pacientes com miopatia distal

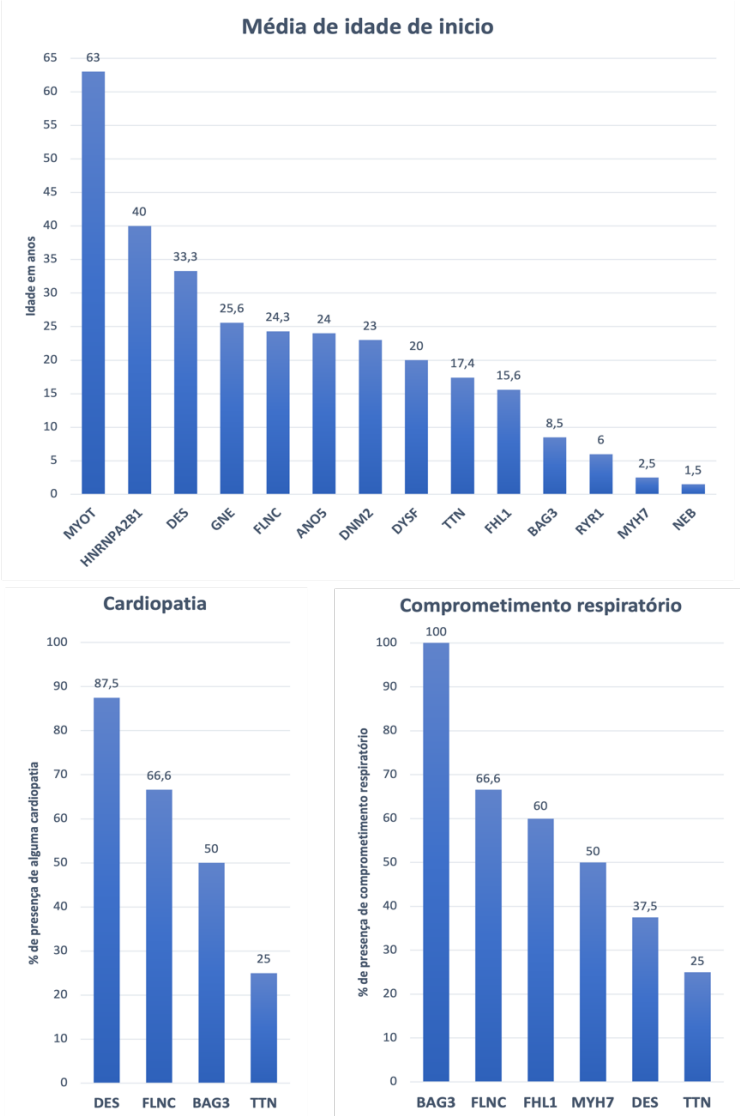
Gene	Transcrito	Variante	Predição de mudança do aminoácido	Localização	Impacto na proteina	No de famílias	Banco de dados Gnomad	Banco de dados Clinvar	Classificação ACMG
DYSF	NM_003494.3	c.2901dup	p.Met968HisfsTer3	éxon 27	inserção *frameshift*	1	ausente	patogênica	patogênica
DYSF	NM_003494.3	c.6093dupA	p.Tyr2032Ilefs	éxon 54	inserção *frameshift*	1	ausente	não reportada	patogênica
DYSF	NM_003494.3	c.2996G>A	p.Trp999Ter	éxon 28	*nonsense*	1	ausente	patogênica	patogênica
DYSF	NM_003494.3	c.2875C>T	p.Arg959Trp	éxon 27	*missense*	1	ausente	patogênica	patogênica
DYSF	NM_003494.3	c.4638+1G>A	p.?	éxon 27	sítio de *splicing*	1	0,000004	não reportada	patogênica
DYSF	NM_003494.3	c.6124C>T	p.Arg2042Cys	éxon 54	*missense*	1	0,00003	patogênica	patogênica
GNE	NM_001128227.3	c.577C>T	p.Arg193Cys	éxon 3	*missense*	1	0,00001	patogênica	patogênica
GNE	NM_001128227.3	c.394C>T	p.Arg132Cys	éxon 3	*missense*	1	0,00001	provavelmente patogênica	provavelmente patogênica
GNE	NM_001128227.3	c.829C>T	p.Arg277Trp	éxon 4	*missense*	2	0,00001	patogênica	patogênica
GNE	NM_001128227.3	c.2027C>G	p.Ala676Gly	éxon 12	*missense*	1	ausente	não reportada	provavelmente patogênica
GNE	NM_001128227.3	c.1145T>G	p.Phe382Cys	éxon 6	*missense*	1	ausente	não reportada	provavelmente patogênica
MYH7	NM_000257.4	c.4822C>A	p.Arg1608Ser	éxon 34	*missense*	1	ausente	não reportada	significado incerto
MYH7	NM_000257.4	c.4814G>C	p.Thr1605Arg	éxon 34	*missense*	1	ausente	não reportada	significado incerto
NEB	NM_001164508.1	c.4489A>G	p.Thr1497Ala	éxon 38	*missense*	1	ausente	não reportada	significado incerto
NEB	NM_001164508.1	c.17050_17051insAGGACTATG	p.Ala5683_Gly5684insGluAspTyr	éxon 108	inserção *inframe*	1	ausente	não reportada	significado incerto
NEB	NM_001164508.1	c.24465_24468delCAAT	p.His8155fs	éxon 173	deleção *frameshift*	1	ausente	não reportada	patogênica
NEB	NM_001164508.1	c.21519C>A	p.Ser7173Arg	éxon 144	*missense*	1	ausente	não reportada	significado incerto
ANO5	NM_213599.3	c.191dupA	p.Asn64Lysfs*15	éxon 5	inserção *frameshift*	1	0,001	patogênica	patogênica
TTN	NM_001267550.2	c.107377+1G>A	p.?	intron 361	sítio de *splicing*	1	0,00001	patogênica	patogênica
TTN	NM_001267550.2	c.97492+1G>A	p.?	intron 349	sítio de *splicing*	1	0,000004	nao reportada	patogênica
RYR1	NM_000540.3	c.122T>C	p.Phe41Ser	éxon 2	*missense*	1	0,00002	provavelmente patogênica	significado incerto
RYR1	NM_000540.3	c.14057G>A	p.Gly4686Asp	éxon 96	*missense*	1	ausente	não reportada	significado incerto
RYR1	NM_000540.3	c.11779-2A>C	p.?	intron 85	sítio de *splicing*	1	ausente	não reportada	significado incerto
DNM2	NM_001005361.3	c.1105C>T	p.Arg369Trp	éxon 8	*missense*	1	ausente	patogênica	patogênica

Abreviações e codificação: ACMG = American College of Medical Genetics

6.3 Comparação entre os subtipos de miopatias distais e miofibrilares

Avaliamos as características clínicas de acordo com os diferentes genes encontrados. O Gráfico 3 compara a idade de início e as complicações cardiorrespiratórias de acordo com os genes identificados. A Tabela 7 organiza as principais características clínicas, histológicas e radiológicas dos pacientes com miopatia miofibrilar e miopatia distal, categorizando os achados pela etiologia genética.

Gráfico 3 – Comparação da idade de início e complicações cardiorrespiratórias entre os subtipos de miopatia distal e miofibrilar.



Nota: Média da idade de início dos sintomas e proporções (%) de acometimento cardíaco e respiratório das miopatias distal e miofibrilar, organizado de acordo com o gene.

Tabela 7 – Principais características clínicas, histológicas e radiológicas dos pacientes com miopatia miofibrilar e miopatia distal, categorizado pela etiologia genética

Gene (N pacientes)	Média de idade de início em anos (intervalo)	Fenótipo proximal e distal N (%)	Fenótipo distal N (%)	dependência motora N (%)	Achados adicionais	Cardiopatia N (%)	Insuficiência respiratória N (%)	CK média em U/L	Histologia muscular	Principais músculos afetados na RNM
DES *(n=16)*	27 (15 – 40)	10 (62,5)	1 (6,3)	5 (31,2)	marcapasso, fraqueza de extensão de mãos	14 (87,5)	8 (50)	460	agregados difusos ou subsarcolemais	ST, Sart, Grac
DYSF *(n=6)*	21 (15 – 26)	4 (66,7)	2 (33,3)	2 (33,3)	atrofia da panturrilha	0	0	7724	alterações leves, poucas necroses	GM, GL, SM
TTN *(n=5)*	17 (9 – 25)	2 (40)	1 (20)	3 (75)	contraturas,e spinha rígida	1 (20)	1 (20)	973	núcleos, atrofia tipo 1, cap-like	ST, TA, Sol, Quad
GNE *(n=5)*	26 (16 – 40)	5 (100)	0	4 (60)	Fraqueza de dorsiflexão	0	0	176	alterações distróficas, vacúolos autofágicos	TA, GM, GL, Sol
FHL1 *(n=5)*	16 (4 – 31)	4 (80)	0	3 (60)	contraturas, assimetria	0	3 (60)	1277	inflamação, menadiona+	Bi, TA, Glu, PV (SP) SM, BF, Quad, PV (RBM)
FLNC *(n=3)*	24 (1 – 36)	1 (33,3)	1 (33,3)	1 (33,3)	atrofia da mão	2 (66,7)	2 (66,7)	602	fibras de anel	GM, GL, Sol, SM, Vi, PV
BAG3 *(n=2)*	8 (1 – 2)	2 (100)	0	2 (100)	coluna rígida, CMT	1 (50)	2 (100)	1238	padrão neurogênico associado	Sart, PV, Ad
MYH7 *(n=2)*	2.5 (2 – 3)	2 (100)	0	2 (100)	contraturas, fraqueza no pescoço	0	1 (50)	177	atrofia tipo 1, bastonetes nemalinos	TA, Sart, Grac, ST, Ad
NEB *(n=2)*	1.5 (1 – 2)	2 (100)	0	0	Deformidades do tipo CMT	0	0	35	mudanças leves,	TA, GM, GL, VL
MYOT *(n=1)*	63	0	1 (100)	0	Fraqueza distal leve	0	0	122	grandes vacúolos, corpos esferóides	GM, Sol, TA, Vm, Vi, PV
HNRNPA2B1 (*n=1)*	40	0	0	0	Fraqueza de cinturas, assimetria	0	0	697	agregados e vacúolos marginados	-
ANO5 *(n=1)*	24	0	1 (100)	0	atrofia de panturrilhas, assimetria	0	0	6182	distrófico,	GM, GL, SM, BF, VL, Vi
RYR1 *(n=1)*	6	0	1 (100)	1 (100)	Deformidades do tipo CMT	0	0	135	cores	-
DNM2 *(n=1)*	20	1 (100)	0	0	Atrofia de panturrilhas	0	0	220	-	GM, GL, Sol, SM, ST, BF, PV

Abreviaturas: CMT=Charcot-Marie-Tooth; ST=semitendinos; Sart=sartório; Grac=gracilis; GM=gastrocnêmio medial; GL= gastrocnêmio lateral; Sol=sóleo; TA=tibial anterior; Quad=quadríceps; Glu=glúteo; PV=paravertebral; SP=fenótipo escapuloperoneal; RBM=fenótipo de miopatia do corpo redutor; SM=semimembranus; Vi = vasto intermediário; Ad=adutores; Vm=vasto medial; BF=bíceps femoral; VL = vasto lateral.

Em pacientes com variantes na *DES*, os sintomas cardíacos precederam a apresentação dos sintomas musculoesqueléticos em 62,5% dos pacientes. Todos esses pacientes apresentavam bloqueios atrioventriculares com necessidade de implante de marcapasso. O achado de coluna rígida foi proeminente em um paciente com variantes na *TTN*, em duas crianças com miopatia por *FHL1* e nos dois pacientes com miopatia por *BAG3*. A fraqueza predominante na extensão dos dedos foi observada em todos os pacientes com desminopatia e miotilinopatia. Além disso, a miopatia relacionada ao *BAG3* apresentou algumas características que se sobrepuseram ao fenótipo CMT devido ao envolvimento associado de nervos periféricos. Observamos comprometimento cardiorrespiratório em mais de dois terços dos pacientes com miopatia miofibrilar (*DES*, *TTN*, *FLNC, FHL1* e *BAG3*).

O padrão de acometimento foi homogêneo no paciente com variantes na *DYSF*, com idade média de início de 20 anos, duração média de 10 anos de doença e fraqueza para flexão plantar, com dor na panturrilha em todos os pacientes. Quatro pacientes com disferlinopatia progrediram para fraqueza proximal. Em comparação, todos os pacientes com miopatia por *GNE* começaram com fraqueza na dorsiflexão dos pés, com idade média de início de 25 anos e duração média de 6 anos de doença. Todos os pacientes com variantes no *GNE* evoluíram com fraqueza proximal. Além destes dois fenótipos, observamos um fenótipo semelhante a CMT (pés cavos e dedos em martelo) em pacientes com variantes em *NEB* e *RYR1*, mas o envolvimento de nervos periféricos não foi confirmado nesses pacientes, e um fenótipo com fraqueza cervical associado, nos pacientes com miopatia distal de Laing (*MYH7*). Um fenótipo parecido com a disferlinopatia, com fraqueza e atrofia de panturrilhas, foi encontrado nos pacientes com variantes na *ANO5*, na *TTN* e na *DNM2*.

Detalharemos nas próximas seções, a caracterização clínica, histológica, radiológica dos pacientes com miopatias miofibrilar e distal, de acordo com a frequência dos diagnósticos dos subgrupos genéticos: a) desminopatia; b) disferlinopatia; c) titinopatia; c) miopatia por *GNE*; d) miopatia por *FHL1*; e) filaminopatia; e) miopatia por *BAG3*; f) miopatia distal de Laing (*MYH7*); g) miopatia distal da *NEB*; h) outras miopatias miofibrilares; i) outras miopatias distais.

6.3.1 Desminopatia

Dezesseis pacientes de oito famílias não relacionadas foram identificados com variantes patogênicas ou provavelmente patogênicas no gene *DES* e constitui o maior subgrupo desta tese. Suas características são detalhadas na Tabela 8.

A maioria dos pacientes iniciou os sintomas na idade adulta (média de 27 anos). A apresentação mais comum foi fraqueza muscular de início proximal (87,5% dos pacientes), embora todos os pacientes apresentaram algum grau de fraqueza distal, especialmente dos extensores dos dedos das mãos. O bloqueio atrioventricular (BAV) e a necessidade de implante de marcapasso (MP) foram as complicações cardíacas mais comuns, observadas em 10 pacientes (62,5%). História familiar de marca-passo e morte súbita foi presente em seis das oito famílias. Insuficiência respiratória foi observada em metade dos pacientes.

Tabela 8 – Características clínicas, histológicas e moleculares dos pacientes com desminopatia

	Total N (%) ou média (DP)
Características clínicas (N=16)	
Sexo masculino	6 (37,5)
Idade de início	27 (7,2)
Presença de cardiopatia	14 (87,5)
Bloqueio atrioventricular ou implante de marcapasso	10 (62,5)
Insuficiência respiratória	8 (50,0)
Fraqueza proximal no início dos sintomas musculares	14 (87,5)
História familiar de morte súbita	13 (81,3)
Início com manifestações cardíacas	10 (62,5)
Cardiomiopatia	2 (12,5)
Achados de biopsia (N=9)	
Internalização nuclear	9 (100)
Aumento de tecido conjuntivo	6 (67,5)
Presença de vacúolos marginados	2 (22,2)
Tipo de agregado de desmina (N=9)	
Predominantemente difusos intracitoplasmáticos	4 (44,4)
Predominantemente bem demarcados subsarcolemais	5 (55,6)
Tipo de variantes (N=7)	
Missense	3 (42,8)
In-frame deletion/insertion	2 (28,6)
Splicing site	2 (28,6)

N = número total da amostra; DP = desvio-padrão

Todos os sete pacientes com ENMG disponível apresentaram potenciais miogênicos, e presença de atividade espontânea. O aumento da CPK sérica foi cerca de 2 vezes o limite superior da normalidade. Nove pacientes haviam realizado biopsia muscular, e o achado mais frequente, identificado em todos os pacientes, foi a presença de internalização nuclear. Em dois pacientes foi verificada a presença de vacúolos marginados.

Duas formas de distribuição de agregados de desmina foram identificadas: uma distribuição com agregados bem-delimitados predominantemente subsarcolemal e uma forma intracitoplasmática difusa (Figura 11). Todos os pacientes com agregados subsarcolemais apresentavam variantes no segmento helicoidal 1B da proteína e, por outro lado, nenhum paciente com distribuição difusa dos agregados intracitoplasmáticos apresentavam variante patogênica neste segmento.

Após identificar esta correlação, foi realizada uma comparação de características clínicas e histológicas entre 11 pacientes com variante no segmento 1B e cinco pacientes com variantes patogênicas localizada em outro segmento do gene (Tabela 9). Além da formação de agregados subsarcolemais, a presença de cardiopatia precoce foi mais comum em pacientes com variante no segmento 1B.

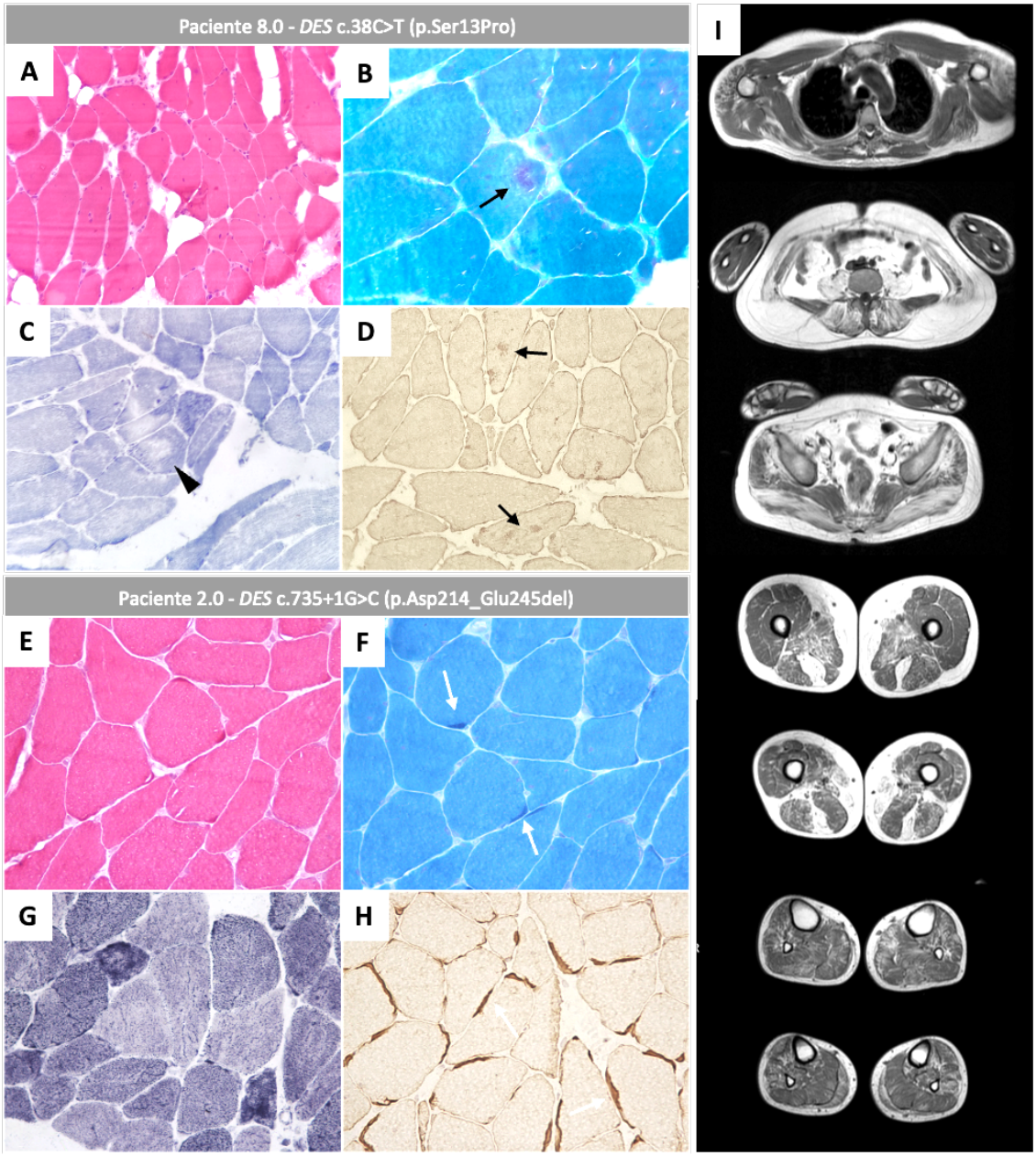


Figura 11. Padrões de agregados intracitoplasmáticos e padrão de imagem muscular em pacientes com desminopatia. Biopsia de quadríceps direito da paciente 8 (A–D) demonstrando aumento de tecido conjuntivo e centralização nuclear no HE (A, 20X) presença de material amorfo, mal delimitado, de aspecto azul-avermelhado (seta preta) na coloração de GO (B, 40X), áreas com falhas na atividade oxidativa, com desorganização das miofibrilas (cabeça de seta preta) na coloração pelo NADH-TR (C, 40C) e formação de agregados intracitoplasmáticos mal delimitados (setas pretas) com imunomarcação positiva para desmina (D, 40X). Biopsia de bíceps braquial esquerdo da paciente 2.0 (E–H) sem apresentar acúmulo de tecido conjuntivo significativo ao HE (E, 40X), mas com formação de agregados bem delimitados subsarcolemais de aspecto azul-avermelhado (setas brancas) na coloração de GO (F, 40X), áreas de desorganização da arquitetura miofibrilar na coloração pelo NADH (G, 40X) e formação de agregados intracitoplasmáticos bem delimitados, de localização subsarcolemal, com formato em crescente (setas brancas) e com imunomarcação positiva para desmina (H, 40X). RNM com imagens ponderadas em T1 do paciente 6 (I) demonstrando comprometimento predominante dos músculos semitendinoso, grácil e sartório

Tabela 9 – Comparação de características clínico-histológicas entre pacientes com variantes no segmento 1B e pacientes com variantes em outros segmentos da *DES*

	Variantes no segmento 1B (N=11)	Variantes em outros segmentos (N=5)	p valor*
Características clínicas (N=16)			
Idade de início, média (DP)	25,4 (7,8)	33,0 (1,4)	0.21
Sexo masculino, N (%)	3 (27,3)	3 (60,0)	0.29
Início com sintomas cardíacos, N (%)	9 (81,8)	1 (20,0)	0,03
Presença de cardiopatia, N (%)	11(100)	3 (60,0)	0,08
Presença de BAV, N (%)	8 (72,3)	2 (40,0)	0.29
Início proximal da fraqueza, N (%)	11 (100)	3 (60,0)	0,08
Insuficiência respiratória	7 (63,6)	1 (20,0)	0,28
Características histológicas (N=9)			
Agregados subsarcolemais, N (%)	5 (100)	0 (0)	0,008
Presença de vacúolos, N (%)	1 (20,0)	2 (50,0)	0,17
Aumento de tecido conjuntivo, N (%)	2 (40)	4 (100,0)	0,16

* A significância se refere ao teste exato de Fisher para comparação das proporções e ANOVA para comparação das médias. N=número total da amostra; DP=desvio-padrão.

Quanto aos achados de imagem, dois pacientes realizaram RNM, sendo um paciente submetido a exame de corpo inteiro e um paciente realizou RNM de membros inferiores. O achado mais característico foi envolvimento predominante dos músculos semitendinoso, grácil e sartório (Figura 11I).

6.3.2 Disferlinopatia

Disferlinopatia foi a condição mais frequente dentre as miopatias distais (seis famílias). O padrão de envolvimento foi semelhante em todos os pacientes, com idade média de início aos 20 anos e fraqueza para flexão plantar, geralmente associado a dor nas panturrilhas. Em quatro pacientes, houve progressão para fraqueza proximal, e o paciente avaliado aos 51 anos apresentava também fraqueza importante para dorsiflexão dos pés. Nenhum paciente estava em cadeira de rodas, nem apresentavam comprometimento cardiopulmonar, após uma duração média da doença de 10 anos.

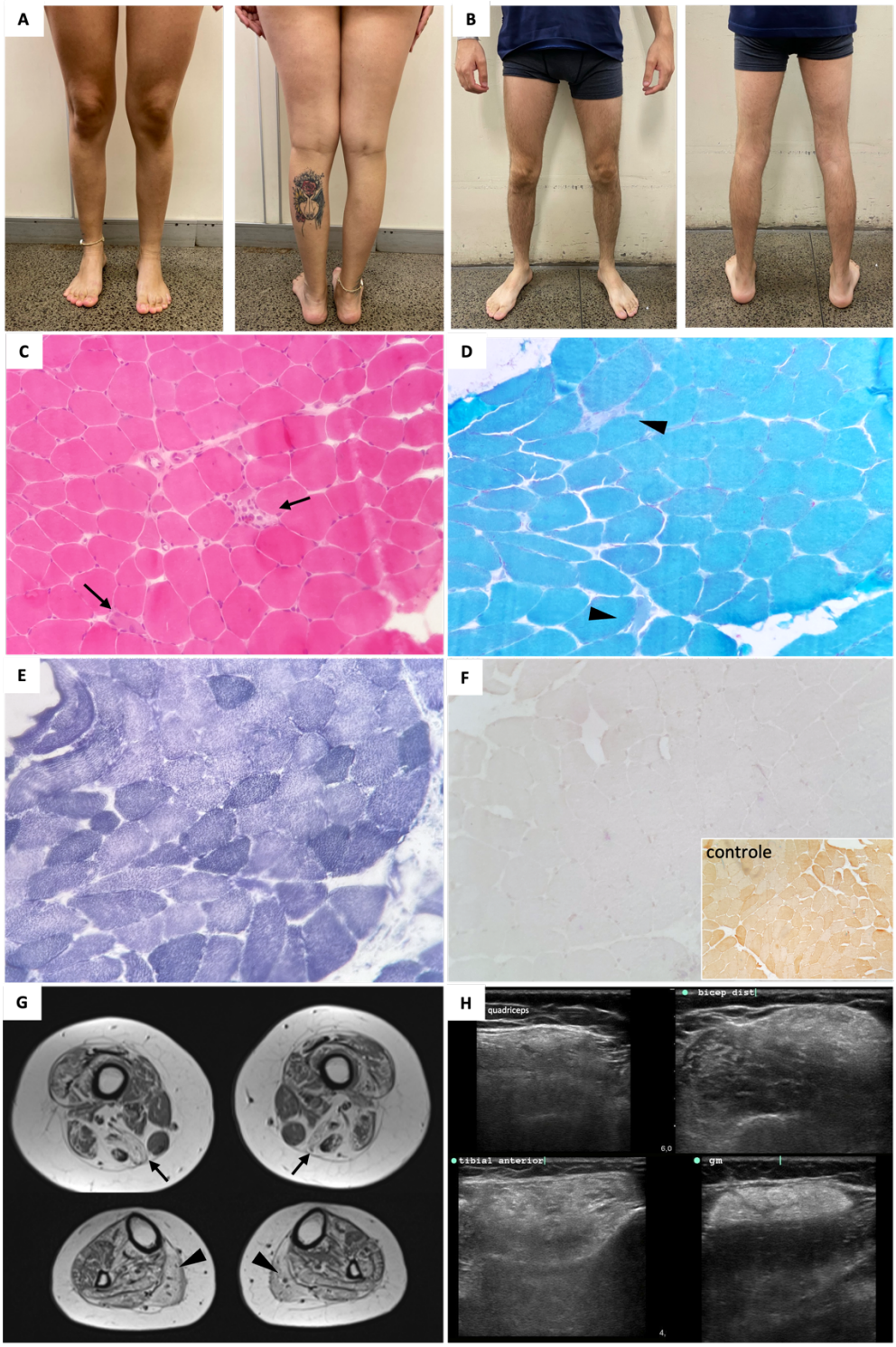


Figura 12. Achados clínicos, histológicos e radiológicos em pacientes com disferlinopatia. Presença de atrofia de panturrilhas dos pacientes 27 (A) e 29 (B). A biopsia de bíceps braquial esquerdo da paciente 24 demonstrava necroses esparsas nas colorações de HE (C, 20X) e GO (D, 20X), com arquitetura interna das fibras musculares preservada no NADH-TR (E, 20X) e ausência de imunomarcação para disferlina (F, 20X). Imagens de RNM, ponderadas em T1 (G) e de US (H) mostrando sinais de lipossubstituição predominando no gastrocnêmio medial (cabeças de setas, gm), mas também com envolvimento dos músculos bíceps braquial, semimembranoso (setas) e tibial anterior.

Todos os pacientes apresentavam aumento significativo dos níveis séricos de CPK, com uma média de 7.724 U/L. Quatro pacientes tinham biopsia muscular, sendo a presença de necrose o achado mais frequente (Figura 12 C-D). Três pacientes haviam sido tratados previamente como miosite, com uso de imunossupressores orais.

Em relação aos exames de imagem, a paciente 27 havia realizado RNM de membros inferiores e as pacientes 26 e 29 realizaram US neuromuscular. Observamos comprometimento distal e proximal, com envolvimento preferencial do gastrocnêmio medial, bíceps braquial, semimembranoso e vasto lateral (Figura 12 G-H).

6.3.3 Titinopatia

Cinco pacientes foram classificados com o diagnóstico de titinopatia, sendo quatro deles com fenótipo de miopatia miofibrilar e um paciente com fenótipo de miopatia distal. Alguns padrões clínicos foram identificados:

a) **titinopatia recessiva de início precoce, com padrão miofibrilar**: a paciente 9 apresentou um quadro de hipotonia no primeiro ano de vida, seguido de cardiopatia dilatada precoce, com necessidade de transplante cardíaco, CPK normal e presença de duas variantes em heterozigose composta, sendo uma delas em perda de função. Os pacientes 10 e 12 se apresentaram com fraqueza de membros inferiores entre a terceira e a quarta décadas de vida, sem cardiopatia, CPK entre 2 e 3 vezes o limite superior da normalidade e presença de duas variantes em heterozigose composta, sendo pelo menos uma delas em perda de função;

b) **titinopatia dominante, subtipo HMERF, com padrão miofibrilar**: o paciente 11 iniciou fraqueza de músculos tibiais anteriores na adolescência associada a retrações axiais e de aquileus, com insuficiência respiratória precoce, CPK cerca de 4 vezes o limite superior da normalidade e uma variante patogênica conhecida no éxon 343;

c) **titinopatia recessiva distal de início precoce, sem padrão miofibrilar:** O paciente 39 apresentou um quadro de início na infância de fraqueza com predomínio distal. O nível sérico de CPK estava aumentado em torno de 10 vezes o limite superior da normalidade e a biopsia muscular sem alterações miofibrilares.

Do ponto de vista histológico, os pacientes 9, 10 e 11 apresentavam um padrão similar, com centralização nuclear, desorganização intermiofibrilar e massas intracitoplasmáticas, além de atrofia predominando nas fibras do tipo 1 (Figura 13 A-D). O paciente 12 apresentou um aspecto *cap-like*, com presença de agregados e desorganização miofibrilar subsarcolemais (Figura 13 E-F). A biopsia muscular do paciente 39 com apresentação de miopatia distal, mostrava centralizações nucleares e falhas oxidativas (*cores*), sem histologia miofibrilar (Figura 13 G-H).

Exame de RNM havia sido realizada apenas no paciente 11 (Figura 13 I) e revelou um padrão de envolvimento preferencial de músculos quadríceps, semitendinoso, sóleo e compartimento anterolateral das pernas (Figura 13 J).

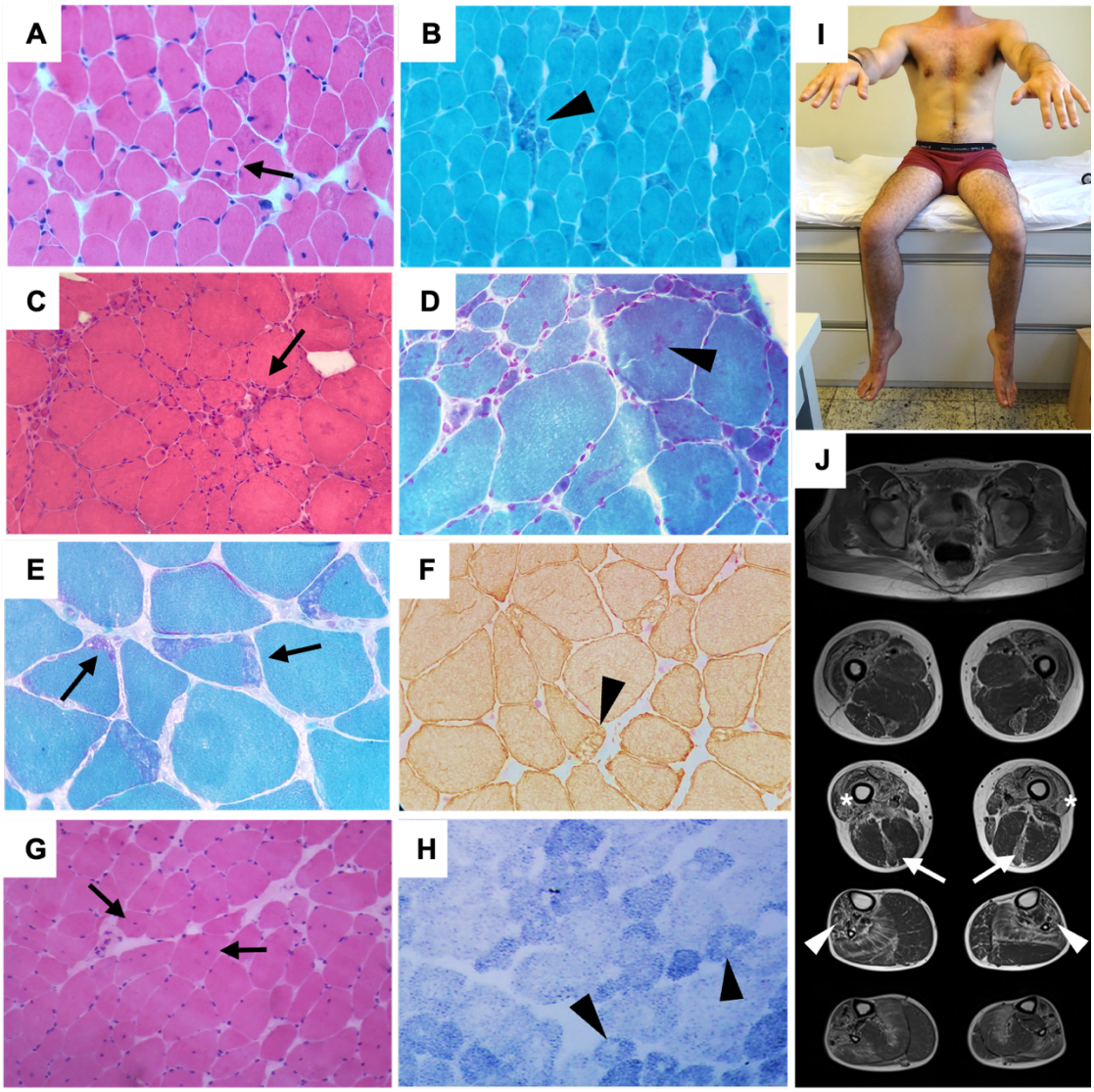


Figura 13. Achados clínicos, histológicos e radiológicos nos pacientes com titinopatia. Biopsia de músculo bíceps braquial esquerdo da paciente 9 mostrando internalização nuclear (seta preta) ao HE (A, 20X) e variação na área das fibras com formação de agregados intracitoplasmáticos (cabeça de seta preta) na coloração GO (B, 20X). Biopsia de músculo vasto lateral esquerdo do paciente 10 revelando atrofia e acúmulo intracitoplasmático eosinofílico (seta), com aspecto agrupado no HE (C, 40X) e presença de massas intracitoplasmáticas (cabeça de seta) no GO (D, 40X). Biopsia de músculo vasto lateral esquerdo do paciente 11 demonstrando agregados proteicos subsarcolemais com aspecto *cap-like* (setas) no GO (E, 40X) e na IHQ para a desmina (F, 40X). Biopsia de bíceps braquial esquerdo do paciente 39 com titinopatia distal, demonstrando internalização nuclear (setas) no HE (G,20X) e minicores (cabeças de setas) no SDH (H, 20X). Paciente 11 com fraqueza distal em mãos (I) e a RNM na sequência ponderada em T1 deste paciente (J) mostrando liposubstituição em músculos semitendinosos (setas), vasto lateral (asteriscos) e compartimento anterolateral das pernas (cabeças de setas).

6.3.4 Miopatia por *GNE*

Cinco pacientes de quatro famílias foram identificados com miopatia por *GNE*. Todos os pacientes iniciaram um quadro de fraqueza distal de membros inferiores (fraqueza para dorsiflexão dos pés), com idade média de início de 25 anos e duração média de 6 anos de doença, no momento da avaliação. No entanto, todos os pacientes evoluíram para algum grau de fraqueza também proximal. Dois pacientes estavam em cadeira de rodas e um necessitava de auxílio para deambulação, na última avaliação. Nenhum paciente apresentava comprometimento cardíaco ou respiratório. O nível sérico de CPK foi normal ou levemente aumentado nesses pacientes.

Quatro pacientes realizaram biopsia muscular e em todos foi possível identificar um padrão distrófico com presença de abundantes vacúolos autofágicos, com ativação lisossomal demonstrado na coloração pela fosfatase ácida (Figura 14 A-F).

Imagens por RNM de corpo inteiro foram obtidas em dois pacientes e por US muscular em um paciente, e mostraram liposubstituição em compartimento posterior a adutor das coxas e músculos das pernas, com predominância de envolvimento do tibial anterior, mas também com acometimento de gastrocnêmio e sóleo. No paciente 31 havia também liposubstituição de musculatura paravertebral. Em todos os casos, o músculo quadríceps estava relativamente poupado (Figura 14 G).

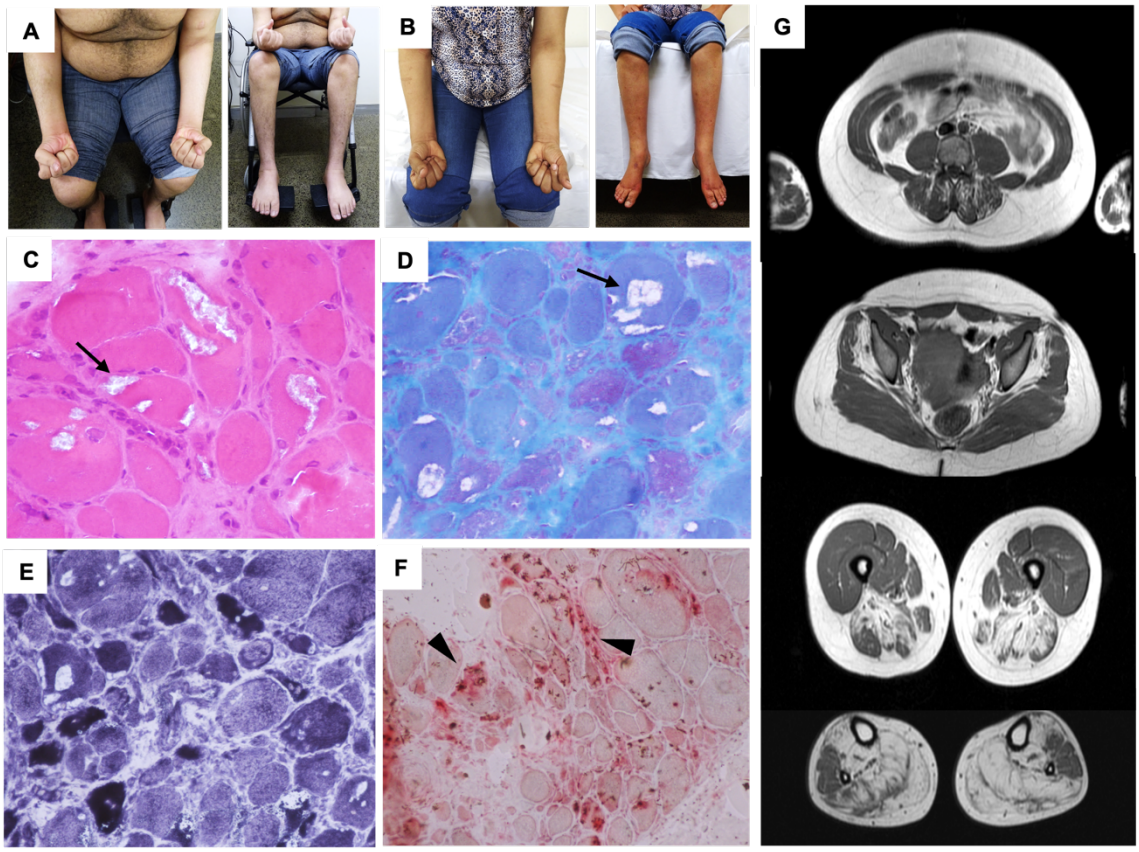


Figura 14. Achados clínicos, histológicos e radiológicos em pacientes com miopatia por *GNE*. Pacientes 31 (A) e 32.0 (B) com fraqueza de dorsiflexão dos pés. A paciente 32.0 também apresentava fraqueza de flexores dos dedos das mãos. Biopsia muscular de quadríceps esquerdo do paciente 31 mostrando aspecto distrófico e grandes vacúolos marginados (setas) nas colorações pelo HE (C, 40X) e GO (D, 40X), presença de desorganização da intermiofibrilar pelo NADH (E, 40X) e aumento da atividade (cabeças de setas) na fosfatase ácida (F, 40X), Imagens de RNM ponderadas em T1 dos pacientes 31 (G) demonstra infiltração gordurosa predominante em músculos adutores, isquiotibiais, gastrocnêmios medial e lateral, sóleos, tibiais anteriores e musculatura paravertebral lombar, poupando relativamente o quadríceps.

6.3.5 Miopatia por *FHL1*

Identificamos três famílias com miopatia miofibrilar e variante patogênica no *FHL1,* com três fenótipos distintos, descritos a seguir.

a) **Miopatia com corpos redutores:** O paciente 13.0, avaliado aos 12 anos, apresentou fraqueza muscular proximal com contraturas desde os 7 anos, com importante comprometimento ventilatório, evoluindo ao óbito aos 14 anos. A biopsia muscular demonstrou agregados intracitoplasmáticos, compatíveis com corpos redutores, ou seja, que reduzem à reação com a

NBT-menadiona (Figura 15). A RNM de corpo inteiro demonstrou um padrão de envolvimento axial difuso e simétrico de membros inferiores, mas com preservação e hipertrofia relativa dos músculos glúteo máximo, semitendinoso e grácil.

b) **Miopatia miofibrilar escapuloperoneal:** A paciente 13.1 e sua irmã, a paciente 13.2, respectivamente mãe e tia do paciente 13.0, apresentavam tropeços frequentes, iniciado na terceira década de vida, aumento de CPK sérica de cerca de 5 vezes o limite superior da normalidade e um padrão de fraqueza muscular do tipo escapulo-peroneal assimétrico (Figura 16 A). A biopsia muscular da paciente 13.2 apresentou achados similares ao do probando 13.0 (Figura 16 C-D). A paciente 14 também apresentou um fenótipo escapulo-peroneal e achados histológicos compatíveis com a presença de corpos redutores (Figura 16 A-H). A RNM das pacientes 13.2 e 14 mostrou um padrão semelhante entre si, mas diferente do probando 13.0, com envolvimento preferencial e assimétrico de músculos bíceps braquial, paravertebrais, glúteos, adutores e tibial anterior (Figura 16 I-J).

c) **Miopatia com corpos redutores com fenótipo inflamatório:** A terceira família foi representada pela paciente 15, uma criança do sexo feminino com um quadro de fraqueza de rápida evolução, aumento de CPK sérica de 4 vezes o limite superior da normalidade e exame de RNM de coxas com edema muscular difuso, sem lipossubstituição. A biopsia muscular revelou a presença de inflamação linfocitátia (CD8+) e macrofágica (CD68+), mas também corpos intracitoplasmáticos, que reduziam a NBT-menadiona (Figura 17). Inicialmente a paciente foi tratada com imunossupressores, mas após uma resposta motora transitória, houve evolução para grave fraqueza axial e retrações.

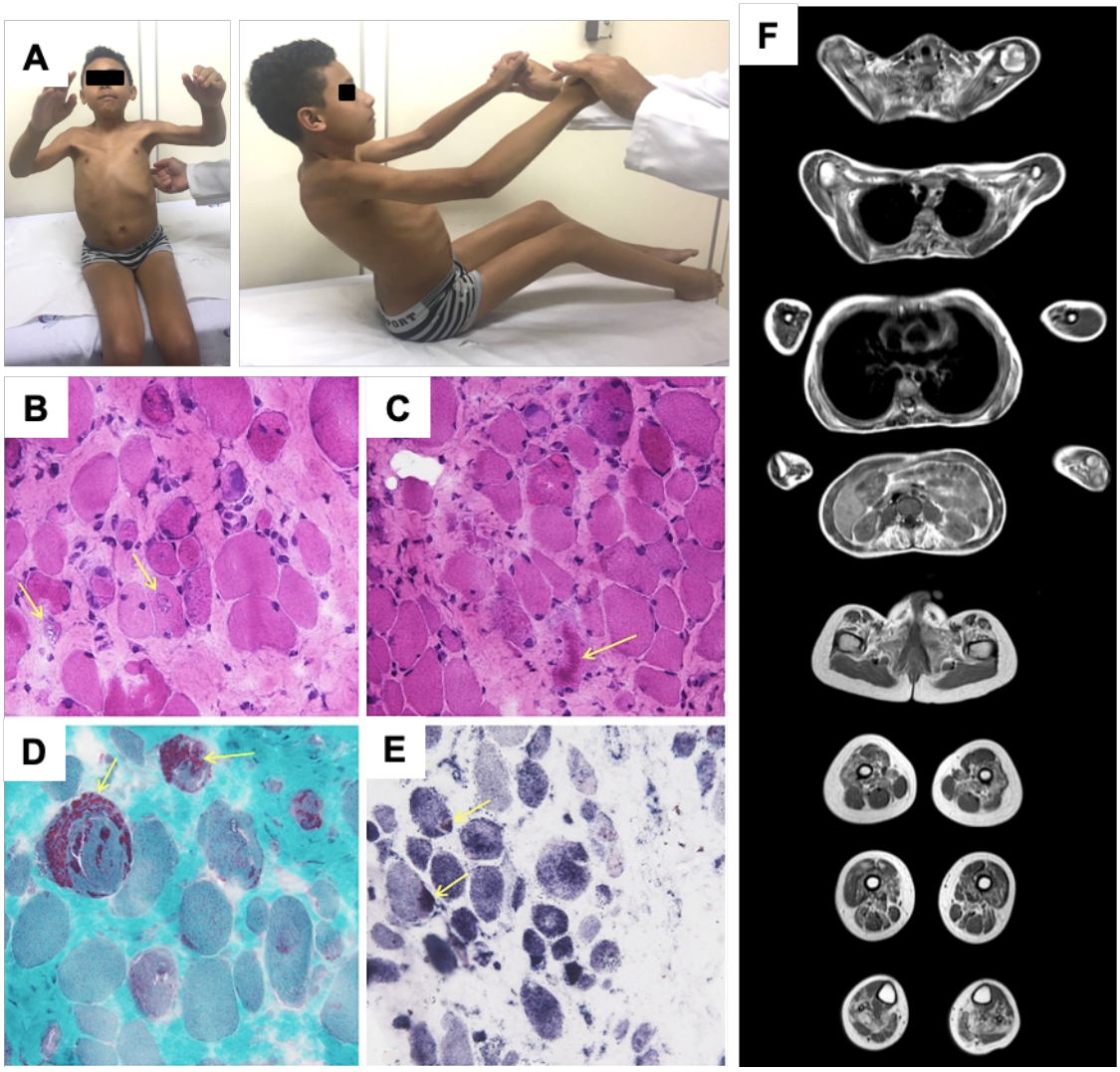


Figura 15. Achados clínicos, histológicos e radiológicos em paciente com miopatia com corpos redutores. Probando 13.0 apresentando fenótipo de miopatia por corpos redutores. Presença de retrações articulares difusas (A). Biopsia de músculo bíceps esquerdo mostra alterações distróficas com inclusões intracitoplasmáticas, material amorfo hialino e vacúolos marginados (setas amarelas) na coloração pelo HE (B e C, 20X) e presença de corpos intracitoplasmáticos de coloração vermelha (setas amarelas) na coloração GO (D, 40X). A coloração pela NBT-menadiona marcou agregados de coloração azul escuro, confirmando a presença dos corpos redutores (E, 20X). A RNM de corpo inteiro demonstrou liposubstituição muscular levemente assimétrica, em todos os segmentos, predominando na cintura escapular, na musculatura paravertebral e nos compartimentos anterior e posterior dos membros inferiores, com relativa preservação dos músculos glúteo máximo, semitendinoso, semimembranoso e grácil, que se encontravam hipertrofiados (F).

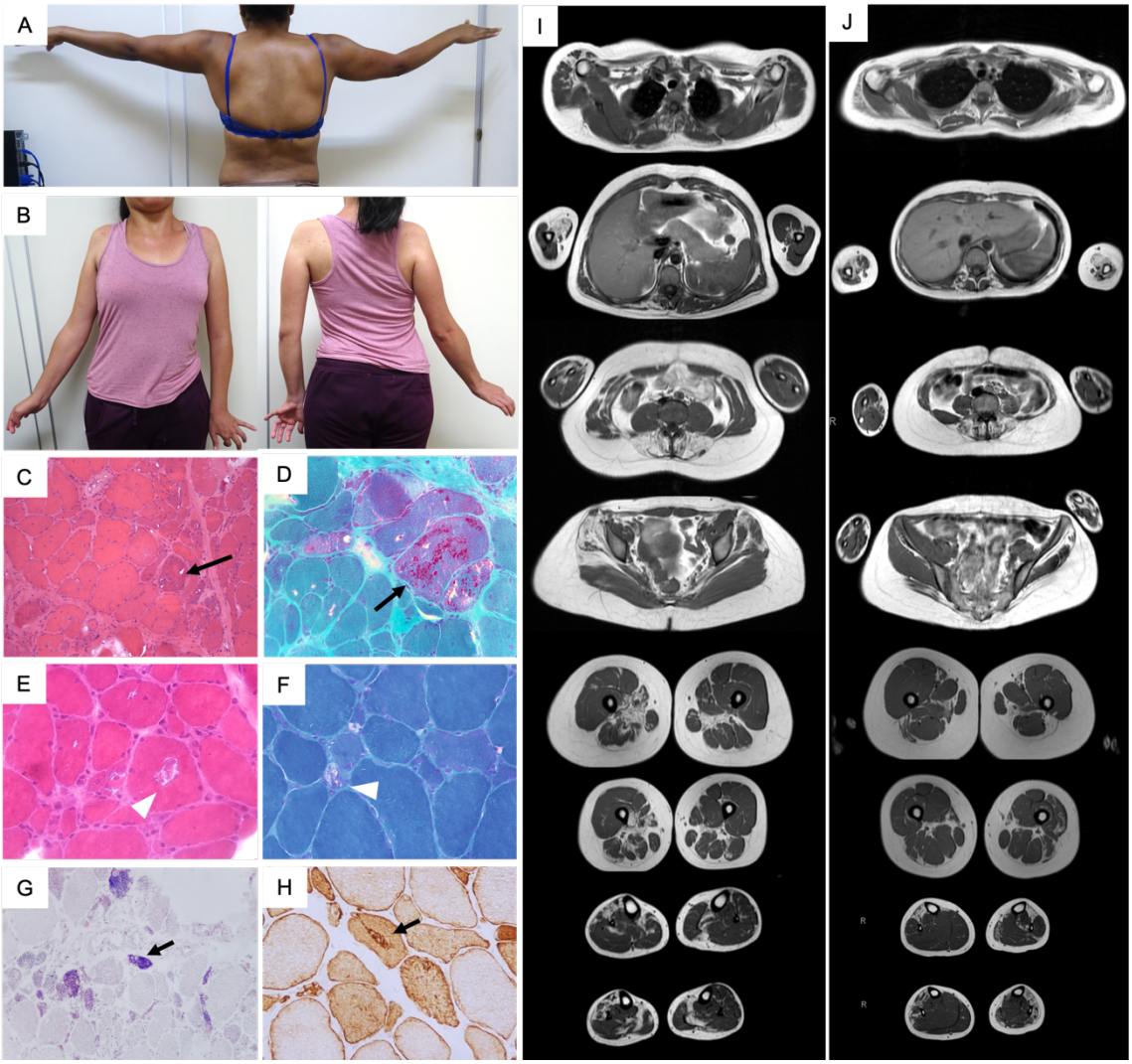


Figura 16. Fenótipo escapulo-peroneal assimétrico nas mulheres portadoras sintomáticas de variantes no *FHL1*, com patologia de miopatia miofibrilar. A paciente 13.2 apresentava fraqueza escapulo-humero-peroneal assimétrica (A) e a biopsia do bíceps braquial esquerdo mostrou um padrão distrófico, com necroses e vacúolos marginados na coloração HE (C, 40X) e corpos intracitoplasmáticos de coloração avermelhada no GO (D, 40X). A paciente 14 (B) apresentava vacúolos marginados visualizados no HE (E, 40X) e no GO (F, 40X), agregados na cor azul escuro na coloração NBT-menadiona (G, 20X) e agregados de desmina a imuno-histoquímica (H, 40X). RNM, com sequências ponderadas em T1 da paciente 13.2 (I) e da paciente 14 (J) mostrando um evidente envolvimento muscular assimétrico.

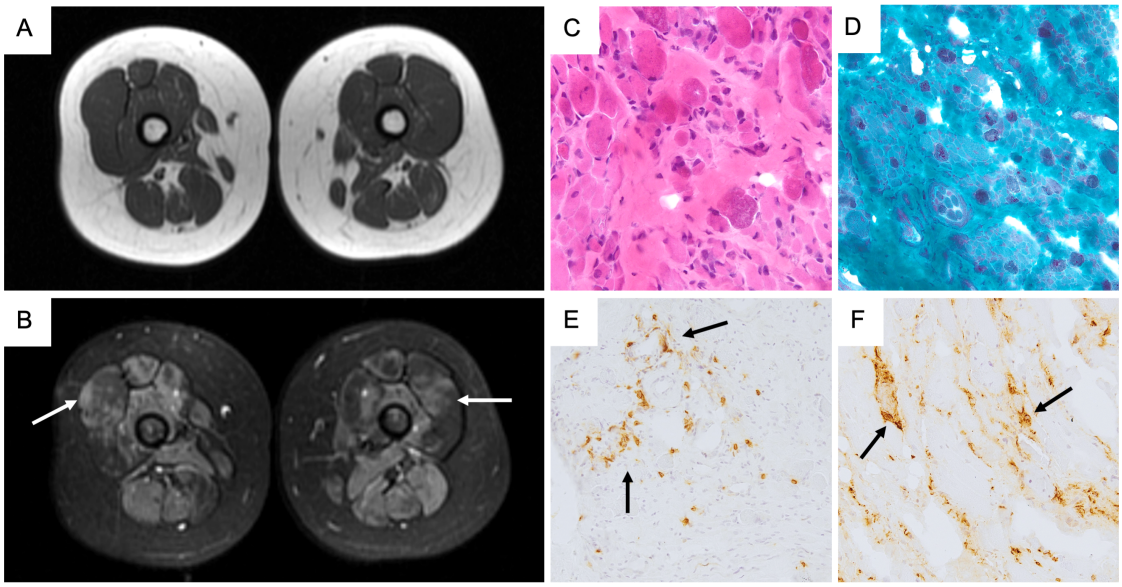


Figura 17. Sinais inflamatórios em paciente com miopatia com corpos redutores em exame de imagem e biopsia muscular. RNM da paciente 15 mostra uma sequência axial ponderada em T1 com um sinal muscular relativamente preservado nos músculos da coxa (A), em contraste com a hiperintensidade nos músculos quadríceps (setas) em uma sequência ponderada no STIR (B). Padrão distrófico no HE (C, 20X) e no GO (D, 20x). As colorações de imunoperoxidase mostram a presença de linfócitos CD8+ (pontas de seta) em E (20X) e infiltrados de macrófagos CD68+ (setas) em F (20X).

Diante deste achado de intensa atividade inflamatória na paciente 15, realizamos uma análise do padrão inflamatório nos demais pacientes (probando 13.0, paciente 13.1 e paciente 14) e identificamos um padrão similar, com presença de aumento de atividade da fosfatase ácida dentro das fibras musculares e nas células endomisiais, infiltrado predominantemente de células CD4+, CD68+, além da presença de infiltrado endomisial CD8+, com aumento leve a moderado na marcação para o MHC-I (Figura 18).

6.3.6 Filaminopatia

Identificamos três pacientes, de duas famílias, com miopatia miofibrilar e variantes patogênicas na *FLNC*.

Os pacientes 16.0 e 16.1, probando e seu genitor, respectivamente, se apresentaram com fraqueza proximal e distal, com envolvimento axial, contraturas e deformidades de coluna e caixa torácica, associado a comprometimento respiratório e necessidade de suporte ventilatório intermitente.

O nível de CPK sérico variou entre 2 a 3 vezes o limite superior da normalidade. A biopsia muscular de ambos os pacientes demonstrou massas intracitoplasmáticas amorfas e desorganização miofibrilar, com presença de fibras em anel (Figura 19 A-H).

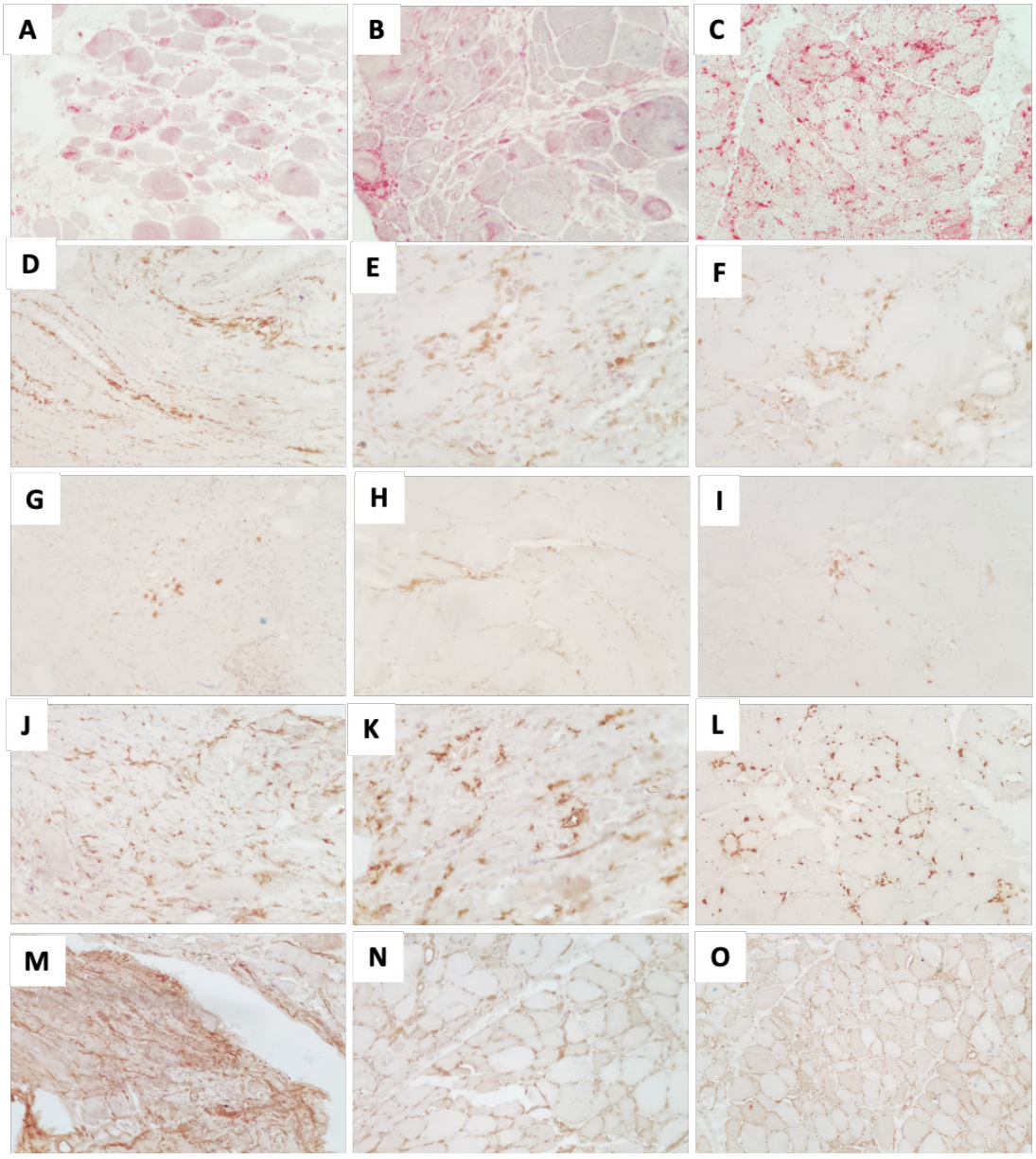


Figura 18. Padrão inflamatório na biopsia muscular de pacientes com miopatia por *FHL1*. Biopsia muscular dos pacientes 13.0, 13.1 e 15.0, mostrando, respectivamente, aumento da atividade da fosfatase ácida nas fibras musculares e em células inflamatórias endomisiais (A, B e C), aumento moderado da reação de imunoperoxidase para linfócitos CD4+ (D, E e F), aumento discreto da reação de imunoperoxidase para linfócitos CD8+ (G, H e I), aumento intenso da reação de imunoperoxidase para macrófagos CD68+ (J, K e L) e aumento leve a moderado da reação para antígeno de histocompatibilidade I (M, N e O). Aumento de 20X em todas as imagens.

O paciente 17 apresentava um fenótipo distinto, caracterizado por fraqueza muscular distal de membros inferiores e na musculatura lombar, como início dos sintomas na quarta década de vida, sem envolvimento de cinturas ou comprometimento respiratório. Havia distúrbio de ritmo cardíaco do tipo BAV de segundo grau. O nível de CPK era em torno de 3 vezes o limite superior da normalidade. A biopsia muscular mostrou um padrão distrófico com poucos agregados intracelulares amorfos e intensa alteração da citoarquitetura das miofibrilas (Figura 19 I-L). A RNM de corpo inteiro mostrou comprometimento muscular acentuado em musculatura paravertebral lombar e compartimento posterior das pernas (Figura 19 M).

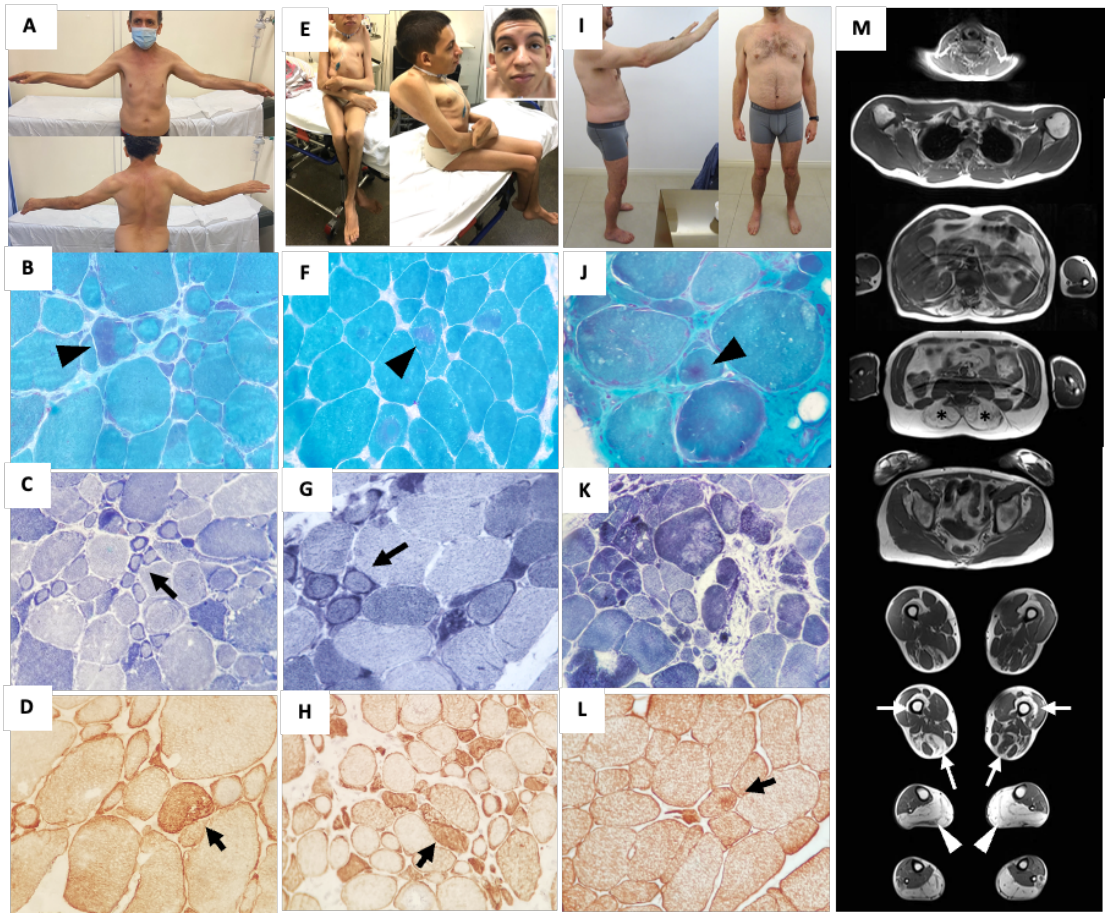


Figura 19. Achados clínicos, histológicos e radiológicos em pacientes com filaminopatia. Paciente 16.1 apresentou comprometimento proximal e axial (A) e sua biopsia de bíceps braquial esquerdo mostrou massas amorfas (cabeça de seta) na coloração GO (B, 20X), fibras em anel na coloração de NADH (seta preta) (C, 20X) e agregados de desmina (seta preta) (D, 20X). Imagem do paciente 16.0 com atrofia e deformidades significativas na região axial e distal, associado a semiptose (E), e biopsia de bíceps braquial esquerdo que mostrou massas amorfas (cabeça de seta) na coloração GO (F, 40X), fibras em anel na coloração de NADH (seta preta) (G, 40X) e agregados de desmina

(seta preta) (H, 20X). Imagem do paciente 17 demonstrando atrofia de panturrilhas e postura com retificação lombar em I. Biopsia muscular de gastrocnêmico lateral mostra menor intensidade de alterações miofibrilares, mas observa-se massas amorfas no GO (J, 40X), falhas focais da atividade oxidativa ao NADH (K, 20X) e discreta marcação para desmina, através de IHQ (L, 40X). RNM de corpo inteiro, em cortes axiais ponderados em T1 do paciente 17 demonstra liposubstituição acentuada em músculos paravertebrais lombares (asterisco), gastrocnêmios e sóleos (cabeças de seta), e moderada nos músculos vasto intermédio e semimembranoso e bíceps femoral, poupando o semitendinoso e demais músculos dos quadríceps.

6.3.7 Miopatia por *BAG3*

Identificamos dois pacientes, não relacionados, com variante patogênica no gene *BAG3*. Ambos os pacientes apresentaram um fenótipo neuromuscular semelhante.

O paciente 18 iniciou quadro de quedas frequentes no segundo ano de vida, seguido de fraqueza axial com retrações cervicais, seguido de fraqueza distal em membros inferiores, com perda de marcha funcional aos 12 anos (Figura 20 A). Havia comprometimento respiratório tipo restritivo, sem comprometimento cardíaco. A paciente 19 iniciou a doença também no segundo ano de vida, mas com apresentação de cardiomiopatia restritiva, dispneia progressiva e necessidade de transplante cardíaco (aos 10 anos), seguido de fraqueza muscular axial e distal de membros inferiores e grave comprometimento respiratório, seguido de perda de marcha aos 16 anos (Figura 20 B).

Ambos os pacientes apresentavam um fenótipo sobreposto de CMT, com alteração no estudo de condução nervosa motora e sensitiva. O nível sérico de CPK dos dois pacientes variou de 4 a 8 vezes o limite superior da normalidade. A paciente 19 evoluiu ao óbito por insuficiência respiratória aos 18 anos.

A biopsia muscular demonstrou presença de grandes massas intracitoplasmáticas mal delimitadas em ambos os pacientes (Figura 20 C-F). A imagem muscular em ambos os pacientes mostrava predomínio de envolvimento na musculatura paravertebral cervical, torácica e lombar, além da musculatura adutora das coxas (Figura 20 G-H).

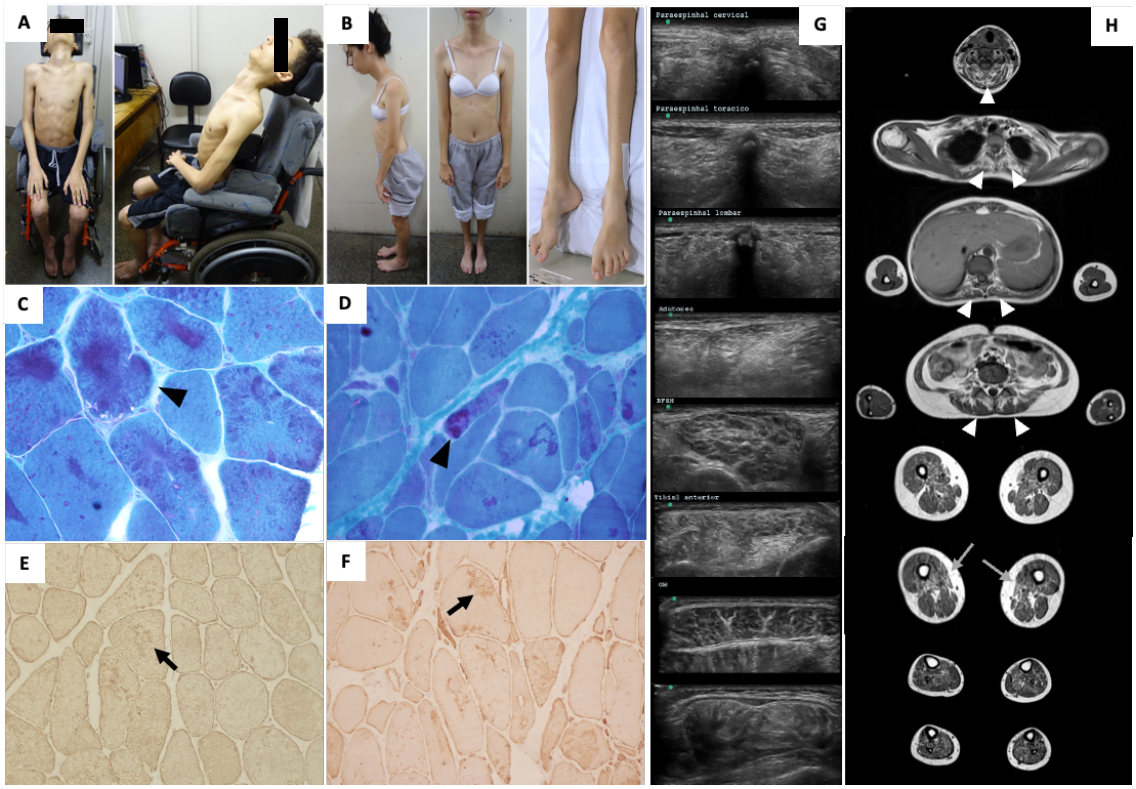


Figura 20. Características clínicas, histológicas e radiológicas em pacientes com variantes na *BAG3*. Os pacientes 18 (A) e 19 (B), apresentavam quadro de espinha rígida com retração cervical posterior e alterações neuropáticas periféricas (CMT) em pernas e pés. A biopsia muscular de ambos mostrava, na coloração de GO (40X), grandes massas amorfas intracitoplasmáticas (cabeças de setas), em C e D, respectivamente. A reação de imunohistoquímica revelou presença de agregados de desmina (setas) em ambos os pacientes (E e F, respectivamente) (40X). O US muscular do paciente 18.0 demonstrou hiperecogenicidade acentuada em musculatura paravertebral em toda sua extensão e nos adutores, bem como leve a moderado acometimento de tibiais anteriores (G). A RNM de corpo total da paciente 19 apresentava um padrão de distribuição da liposubstituição semelhante, com predomínio de hipersinal em músculos paravertebrais (cabeças de setas) e em músculos adutores (setas cinzas) (H).

6.3.8 Miopatia distal de Laing (*MYH7*)

Dois pacientes com miopatia distal de início na infância foram diagnosticados com miopatia por *MYH7*, com o fenótipo de miopatia distal de Laing. Ambos os pacientes iniciaram com fraqueza distal em pés e mãos, seguido de fraqueza cervical progressiva (Figura 21 A-B). A paciente 34 evoluiu com retrações proximais e distais dos membros e perda de marcha na idade adulta. O paciente 35 apresentava escoliose e importante fraqueza de flexores cervicais.

A biopsia muscular mostrou mínimas alterações, como atrofia de fibras tipo 1 (paciente 34) e predomínio das fibras tipo 2 (paciente 35) (Figura 21 C-F). O nível sérico da CPK foi normal nesses pacientes. A RNM muscular de ambos os pacientes revelou assimetria, envolvimento dos músculos tibiais anteriores e comprometimento semelhante ao aspecto em sanduíche. (Figura 21 G).

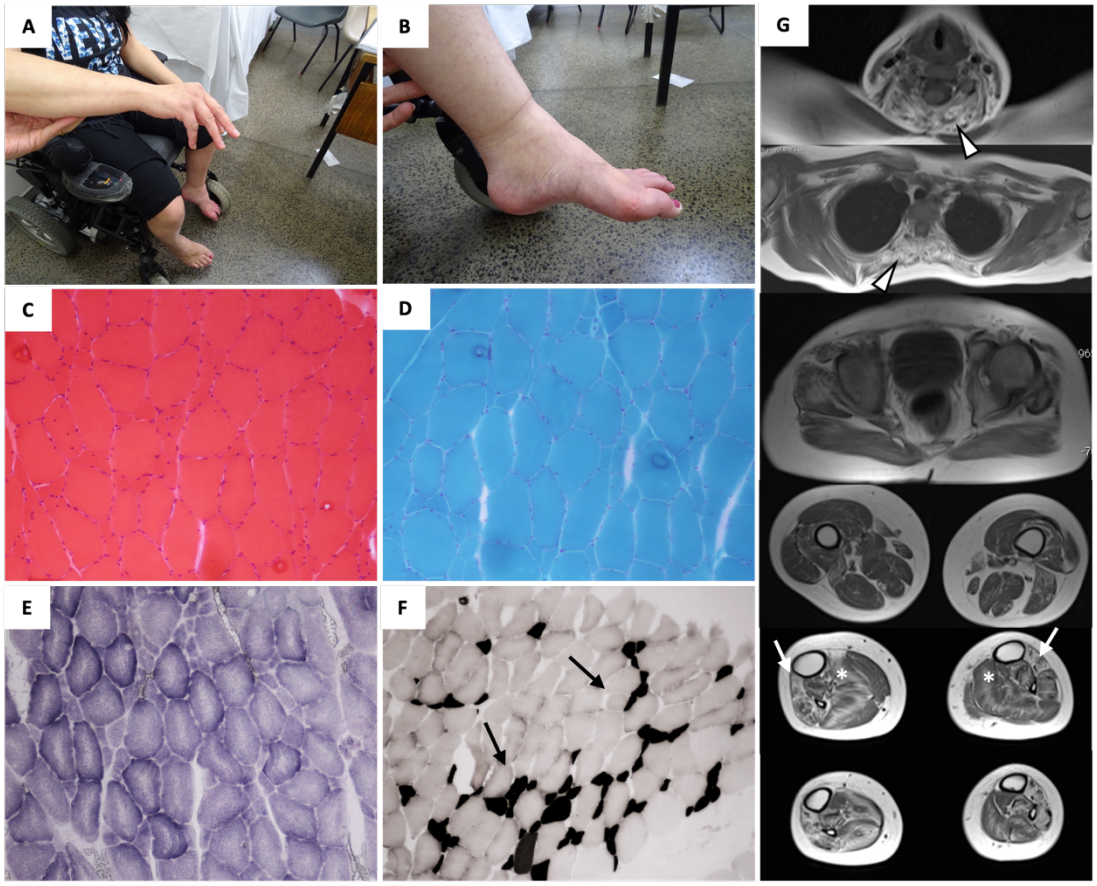


Figura 21. Características clínicas, histológicas e radiológicas em pacientes com miopatia distal de Laing (*MYH7*). Fraqueza de extensores de dedos e de hálux (A e B) e biopsia de bíceps braquial da paciente 34, mostrando variação na área das fibras, no HE (C, 20X) e no GO (D, 20X), falhas da atividade oxidativa ao NADH (E, 20X) e atrofia de fibras tipo 1 (setas) na reação de ATPase 4.3 (F, 10X). Imagens de RNM do paciente 35 ponderadas em T1 (G), mostrando infiltração gordurosa assimétrica e predominante dos músculos sartório, tibial anterior (setas) e musculatura paravertebral torácica e cervical (cabeças de setas). O sinal do sanduiche invertido é observado nos músculos sóleos (asteriscos).

6.3.9 Miopatia distal por *NEB*

Dois pacientes (36 e 37) com quadro distal iniciado na infância foram classificados com miopatia distal de herança autossômica recessiva causada por

variantes na *NEB*. Ambos os pacientes foram inicialmente diagnosticados como portadores de CMT, devido a atrofia e comprometimento distal em mãos e pés (Figura 22 A), redução dos reflexos osteotendinosos, pés cavos, além de redução nas amplitudes dos potenciais motores distais na ENMG e nível sérico de CPK normal. Com a evolução da infância, foram notadas também fraqueza cervical e aspecto facial miopático e a eletroneuromiografia evolutiva mostrou potenciais miopáticos em músculos distais (Figura 22 B). Não foi detectado comprometimento cardiorrespiratório e ambos os pacientes mantinham marcha independente, à avaliação.

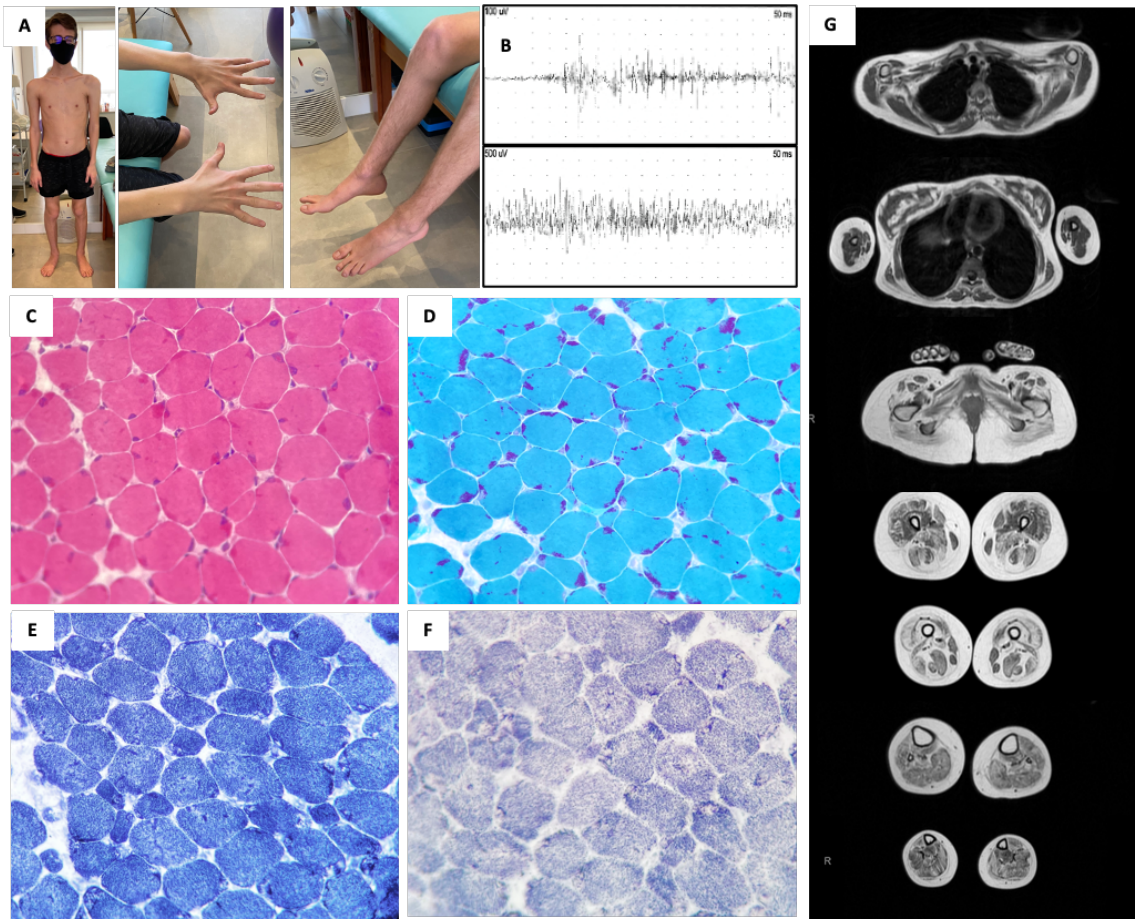


Figura 22. Achados clínicos, histológicos e radiológicos em pacientes com miopatia distal associada a *NEB*. Imagens do paciente 37.0 (A) mostrando atrofia em mãos e pés e potenciais miopáticos no seu exame de eletromiografia dos músculos tibial anterior e primeiro interósseo. Biopsia muscular de bíceps braquial da paciente 36.0 demonstra agregados proteicos com aspecto de bastões intracitoplasmáticos e de localização subsarcolemal (C e D, 20X) nas colorações de HE e GO, e alterações da arquitetura interna das fibras ao NADH (E, 20X) e SDH (F, 20X). Imagem de RNM ponderada em T1 da paciente 36.0 mostrando liposubstituição difusa e simétrica nos músculos dos membros inferiores (G).

A biopsia muscular revelou presença de bastões nemalínicos e falhas focais na atividade oxidativa (Figura 22 C-F). A ressonância magnética de corpo inteiro da paciente 36.0 mostrou comprometimento difuso muscular em membros inferiores, com certo predomínio em quadríceps distal e tibial anterior, com preservação relativa da cintura escapular (Figura 22 G).

6.3.10 Outras miopatias miofibrilares: *MYOT* e *HNRNPA2B1*

Variantes em heterozigose nos genes *MYOT* e *HNRNPA2B1* foram encontradas, isoladamente, em dois pacientes.

A paciente 20 foi identificada como portadora da variante patogênica p.Ser60Phe no gene *MYOT* e apresentou, a partir dos 63 anos, com fraqueza distal (extensores de punhos e dedos e extensores do hálux) e nível sérico de CPK normal (Figura 23 A-B). A RNM de corpo inteiro mostrou envolvimento difuso e heterogêneo, com liposubstituição predominando em extensores dos dedos no antebraço e nos compartimentos anterior e posterior das pernas, envolvendo músculos gastrocnêmicos e tibiais anteriores, de forma levemente assimétrica (Figura 23 C). A biopsia muscular mostrava agregados imunorreativos a desmina e miotilina, além de grandes vacúolos marginados e corpos esferoides (Figura 23 D-F).

O paciente 21 se apresentou com um fenótipo de fraqueza de cinturas, e presença de agregados intracitoplasmáticos e vacúolos marginados, com padrão de imagem de predomínio proximal em compartimento posterior das coxas e aumento da CPK em torno de 3 vezes o limite superior da normalidade (Figura 23 G-L). O estudo molecular deste paciente identificou a variante c.769T>G (p.Tyr257Asp) em troca de sentido (*missense*), classificada como de significado incerto, no gene *HNRNPA2B1*.

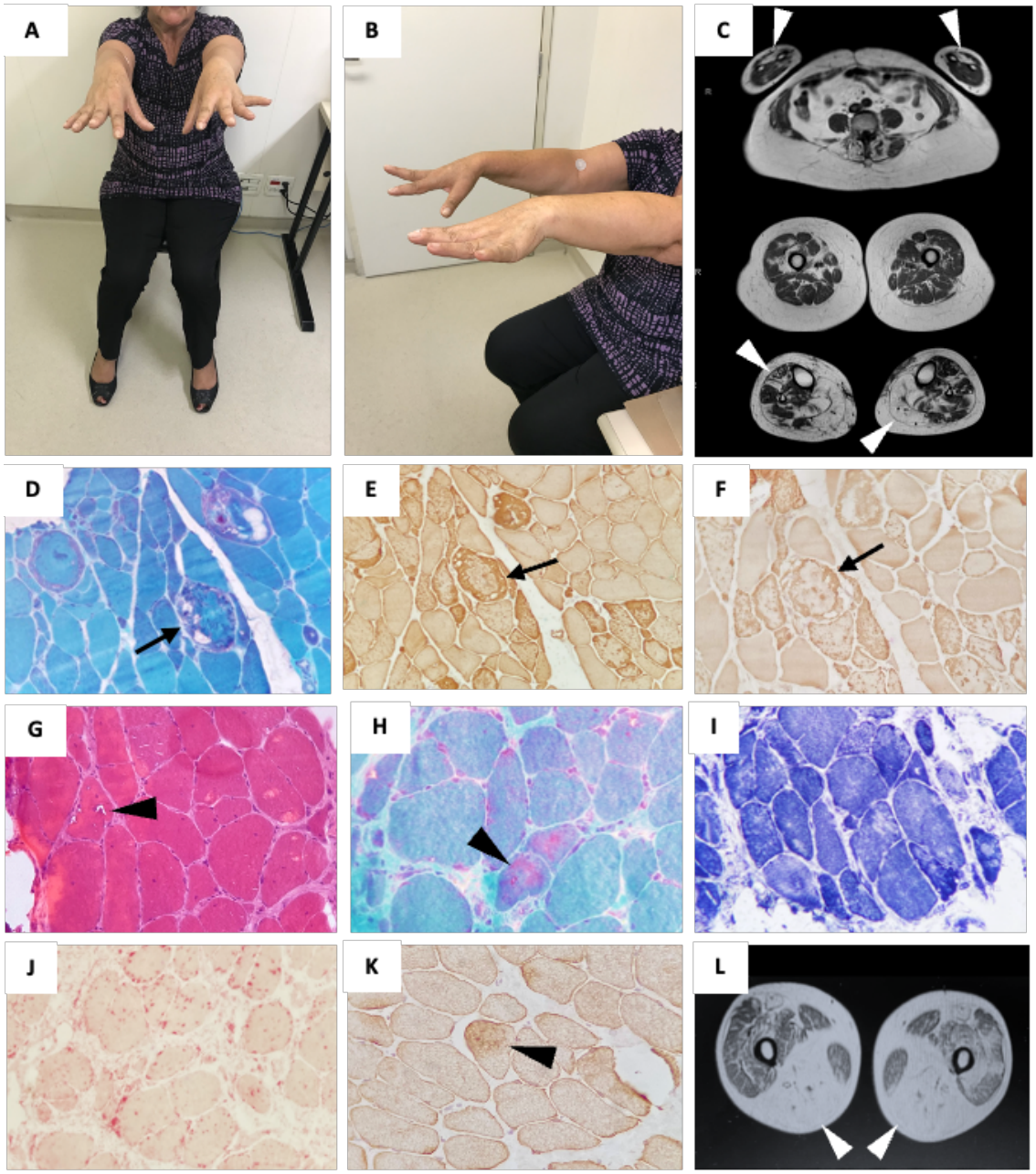


Figura 23. Achados clínicos, histológicos e radiológicos em pacientes com miopatia miofibrilar e variantes nos genes *MYOT* e *HNRPNA2B1*. Imagens da paciente 20 mostrando fraqueza de extensores dos dedos em A e B e sua RNM de corpo total demonstrou nas sequências ponderadas em T1, uma liposubstituição acentuada na musculatura extensora do antebraço e no compartimento anterior e posterior das pernas, com algum grau de assimetria (cabeças de setas) em C. Biopsia muscular da paciente 20 demonstrando vacúolos marginados e agregados intracitoplasmáticos (seta) na coloração de GO (D, 20X), e positividade na imunohistoquimica com anticorpos para desmina (seta) (E, 20X) e para miotilina (seta) (F, 20X). Biopsia de quadríceps esquerdo do paciente 21 demonstra vacúolos marginados, com ativação lisossomal, desarranjo miofibrilar e agregados intracitoplasmáticos (cabeças de setas) nas colorações HE (G, 40X), GO (H, 40X), NADH (I, 40X), fosfatase ácida (J, 40X), e imunohistoquímica para desmina (K, 40X). A RNM das coxas deste paciente mostra intensa liposubstituição no compartimento posterior e nos retos femorais, e em menor intensidade nos vastos laterais.

6.3.11 Outras miopatias distais: *ANO5*, *RYR1* e *DNM2*

O paciente 38 que tinha fenótipo distal de membros inferiores e atrofia das panturrilhas, apresentava variantes patogênicas em heterozigose composta no gene *ANO5*, sendo classificado com Miyoshi tipo 3. O nível sérico de CPK estava em torno de 6.000U/L. Sua biopsia muscular apresentava um aspecto distrófico e a ressonância magnética mostrou envolvimento muscular assimétrico das porções distais dos compartimentos posteriores das coxas e panturrilhas (Figura 24 C).

A paciente 40 apresentou quadro compatível com miopatia do central *core* de início distal por mutação na *RYR1*, com início dos sintomas na infância e nível normal da CPK. A paciente foi inicialmente diagnosticada como portadora de CMT devido ao quadro de fraqueza distal de membros inferiores com deformidades tipo pés cavos e dedos em martelo (Figura 24 A). A biopsia muscular mostrava centralizações nucleares e *cores* em ambos os pacientes, sendo bem delimitado no paciente com variante no *RYR1* (Figura 24 B). A RNM demonstrava comprometimento musculatura paravertebral associada a comprometimento de compartimento posterior das pernas.

O paciente 41.0 apresentou fraqueza em panturrilhas e musculatura lombar, com início na terceira década, nível sérico normal da CPK e recebeu diagnóstico molecular de miopatia distal por *DNM2,* com presença de variante patogênica em heterozigose. Ele não foi submetido a biopsia muscular. As imagens de RNM demonstraram comprometimento muscular do compartimento posterior das coxas e nas panturrilhas, além de lipossubstituição muscular paravertebral (Figura 24 D)

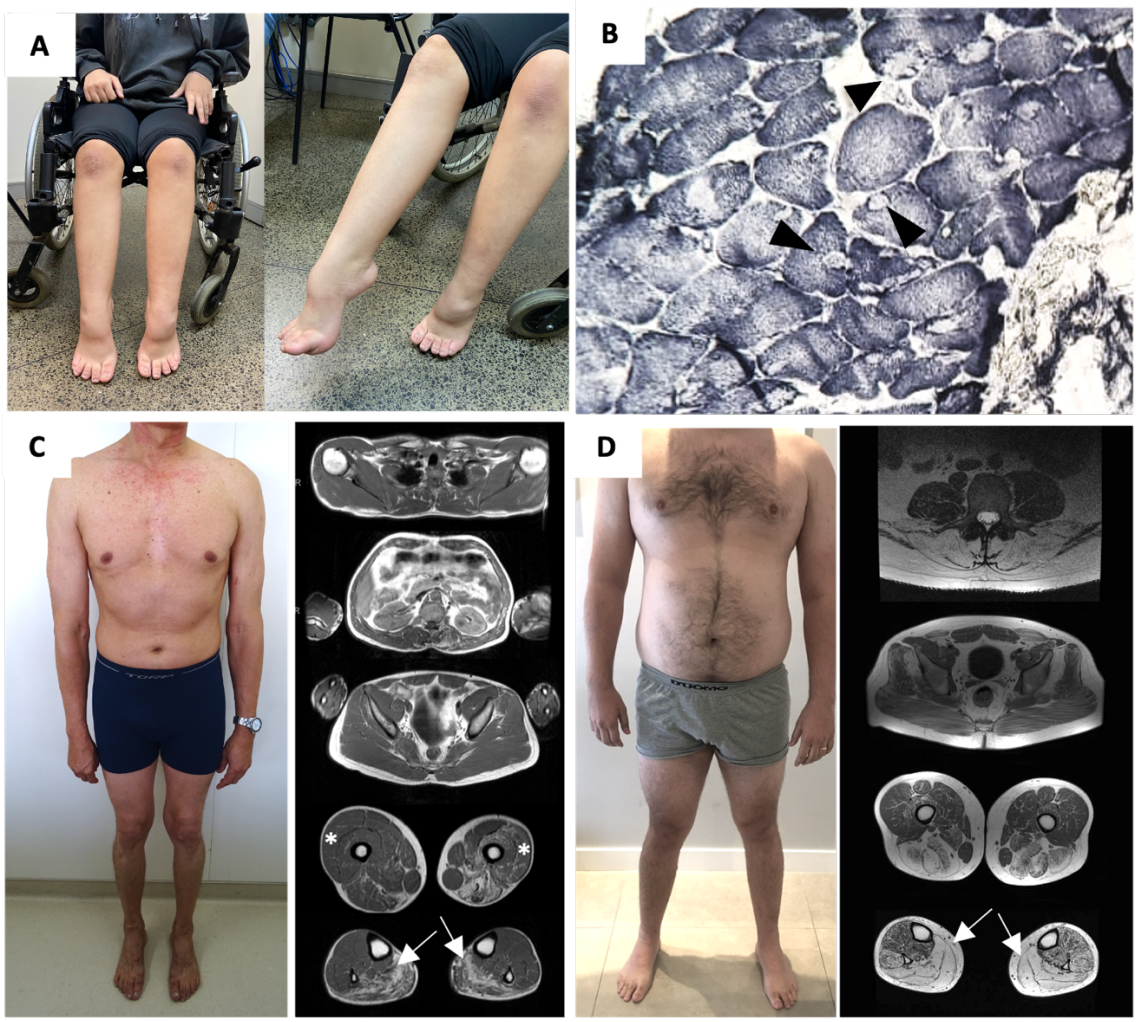


Figura 24. Achados clínicos, histológicos e radiológicos em pacientes com miopatia distal por *ANO5*, *RYR1* e *DNM2*. Paciente 40 com variantes no gene *RYR1* apresentando deformidades distais tipo pés cavos, dedos em martelo e retrações de aquileus (A). Biopsia de músculo bíceps braquial esquerdo da mesma paciente 40 mostrando presença de *cores* bem delimitados pela coloração de NADH-TR (B, 40X). Exames de RNM, ponderada em T1, dos pacientes 38 (C) com anoctaminopatia e 41 (D) com miopatia por *DNM2*, mostrando envolvimento muscular paravertebral, e do compartimento posterior das coxas, além dos músculos sóleo e gastrocnêmio, sendo assimétrico no paciente com anoctaminopatia (C).

7. DISCUSSÃO

7.1 Caracterização geral da casuística

Neste estudo, descrevemos aspectos clínicos, histológicos, radiológicos e genéticos de 54 pacientes com miopatia miofibrilar e miopatia distal. Até onde sabemos, esta é a primeira coorte brasileira que descreve e compara as características destes grupos de miopatias. Os genes *DES*, *TTN*, *DYSF* e *GNE* foram as causas mais frequentes nesses pacientes. Nós mostramos também que existem particularidades clínicas e histológicas específicas que ajudam a diferenciar essas miopatias, embora ambos os grupos tenham características sobrepostas, particularmente a presença de fraqueza distal, associada ou não a fraqueza proximal, além do potencial de gravidade motora semelhante.

Encontramos um gene causador em 91% das famílias do grupo de miopatia miofibrilar. A etiologia mais comum foi a presença em heterozigose de uma variante no gene *DES*, em acordo com casuísticas previamente publicadas em outros países, até o ano de 2018, quando iniciamos este estudo (Selcen et al., 2004a; Fischer et al., 2008; Olivé et al., 2011; Olivé et al., 2011). Nesses estudos, além do gene *DES,* os autores também encontraram *CRYAB*, *LDB3*, *MYOT* e *BAG3* como genes causadores de miopatia miofibrilar. Entretanto, não havia inclusão, por exemplo de análise molecular para *FHL1* ou *TTN*, por não serem classicamente reconhecidas causas de mioparia miofibrilar, até recentemente. Em 2018, Carvalho et al. descreveram retrospectivamente uma coorte francesa de 45 pacientes com miopatia miofibrilar, com ampliação dos genes investigados, e encontraram pacientes com variantes na *DES*, *LDB3*, *FLNC*, *MYOT*, *BAG3*, *CRYAB* e *DNAJB6*. Em um trabalho ainda mais recente, Luo et al. (2021) descreveram 14 famílias chinesas com miopatia miofibrilar, que foram submetidas a painéis de sequenciamento de nova geração. Eles encontraram variantes nos genes *DES*, *TTN*, *BAG3*, *FLNC* e *FHL1*, sendo *DES* e *TTN* as etiologias mais frequentes, semelhante aos nossos resultados. Desta forma, esses últimos estudos, incluindo esta tese, mostram como os avanços recentes nos métodos de pesquisa molecular expandiram a lista de genes relacionados a

miopatia miofibrilar, incluindo de forma mais consistente os genes *FHL1* e *TTN*, por exemplo.

No grupo de miopatia distal, variantes em *DYSF* e *GNE* foram as causas mais comuns da doença, seguidas, em menor frequência, por *MYH7*, *NEB*, *ANO5*, *TTN*, *RYR1* e *DNM2*. Notavelmente, se incluirmos pacientes com patologia miofibrilar e fenótipo distal neste grupo, outros genes expandem esta lista: *DES*, *FHL1*, *FLNC* e *MYOT*. Historicamente, poucos subtipos de miopatia distal foram descritos, e os estudos consideraram principalmente as formas clássicas, como miopatia por *GNE* (Zhao et al., 2015), zaspopatia (Selcen et al., 2005), miopatia de Miyoshi (Nguyen et al. 2007), miopatia de Udd (Udd et al. 1993) e miopatia distal de Laing (Laing et al., 1995). No entanto, faltavam estudos avaliando pacientes com miopatia distal como um único grupo para identificar a prevalência dos genes causadores e diferenciar suas características (Udd, 2009; Dimachkie et al. 2014; Palmio et al., 2016). Em 2010, cerca de 14 genes eram reconhecidos como causadores de miopatia distal. Em 2020, com ajuda do sequenciamento de nova geração, a lista de causadores de miopatia distal já contava com cerca de 30 genes. Atualmente, se considera um novo panorama de diversas etiologias genéticas, avanços que justificam a realização de painéis amplos ou sequenciamento completo do exoma nesses pacientes (Savarese et al. 2020).

7.2 Considerações sobre as miopatias miofibrilares

O diagnóstico mais comum desta tese foi desminopatia, o principal subgrupo de miopatia miofibrilar. Estes pacientes apresentaram maior frequência de cardiopatia, principalmente BAV total, com necessidade de marcapasso e frequente história de morte súbita familiar. Foi possível observar uma correlação genótipo-fenótipo neste subgrupo, mesmo com um número limitado de 16 pacientes, onde verificamos uma maior frequência de apresentação de fraqueza proximal e de complicações cardiológicas nos pacientes cuja mutação se localizava no segmento 1B da proteína, em acordo com achados prévios de literatura (Kostera-Pruszczyk et al., 2008**)**.

Adicionalmente, encontramos uma correlação dos achados histológicos com o genótipo, onde constatamos que pacientes com variantes no segmento 1B apresentavam agregados de desmina bem delimitados em região subsarcolemal, com aspecto em crescente ou *cap-like*. Este aspecto não foi encontrado em nenhum outro subgrupo das miopatias miofibrilares. Apenas um paciente com titinopatia também se apresentou com estruturas *cap-like*, mas com agregados de aspecto mal delimitado.

Numa ampliação desses resultados, realizamos um estudo colaborativo com outras 11 famílias com desminopatia de uma coorte espanhola, em colaboração com a Dr. Montse Olivé, totalizando 30 pacientes. Assim, confirmamos esta associação das variantes em segmento 1B com complicações cardiológicas e aspecto histológico específico (Silva AMS et al., 2022, submetido para publicação). Desta forma, o achado histológico de agregados proteicos, bem delimitados em região subsarcolemal é indicativo de desminopatia, com variantes no segmento 1B, e maior potencial de gravidade, devido a presença de cardiopatia precoce. Nestes pacientes, a incidência de história familiar de morte súbita foi maior, reforçando a importância de um diagnóstico precoce para cuidados cardiológicos preventivos adequados, como implante de marcapasso.

Em relação aos achados moleculares na desminopatia, sete variantes foram identificadas em heterozigose, sendo três variantes do tipo de troca de sentido (*missense)*, nas quais um aminoácido foi trocado por prolina, um aminoácido conhecido por instabilizar a formação de dupla hélice da desmina (Clemen et al., 2013). Duas variantes ocorreram em sítio aceptor de *splicing* (uma *missense* e outra em deleção *frameshift*), na posição 735, que é descrito levar ao salto do éxon 3, causando sua exclusão, ou seja, uma deleção do tipo p.Asp214_Glu245del (Goldfarb et al., 2008). Outras duas variantes ocorreram como deleção ou inserção em fase (*in-frame*).

A titinopatia foi o segundo grupo mais frequente, sendo encontrada em quatro famílias com miopatia miofibrilar e uma família com miopatia distal. A apresentação, apesar de heterogênea, reunia alguns achados em comum: início nas primeiras duas décadas de vida, presença de centralização nuclear e atrofia de fibras do tipo 1. Alguns pacientes apresentavam *cores* na biópsia muscular.

Em um paciente foi observado um padrão *cap-like*, já descrito nas titinopatias (Oates et al., 2018). Todos os pacientes apresentaram ao menos uma variante truncada com uma variante *missense* adicional em região de banda-A ou banda-M, que são os segmentos na proteína mais associadas a miopatias (Savarese et al., 2016). Entretanto, a presença de variante *missense* no gene da titina, que é muito tolerante a este tipo de troca de nucleotídeo, necessita de confirmação com estudo de segregação familiar e avaliação por WB, não realizado neste estudo. Uma das pacientes com titinopatia, apresentava uma variante que classificamos como significado incerto (c.101766G>C), apesar dela ser frequente (0,7% da população, com entrada benignas no Clinvar), por ela estar presente na banda-M da proteína, estar em trans com outra variante patogênica e apresentar um quadro de miopatia com cardiopatia, um dos fenótipos da *TTN*.

A miopatia por *FHL1* foi outro tipo importante de miopatia miofibrilar, com três fenótipos: miopatia por corpos redutores (fraqueza proximal com retrações na infância), miopatia escapulohumeral (fraqueza proximal e distal assimétrica nas mulheres portadoras) e miopatia por corpos redutores com apresentação semelhante a miopatia inflamatória. O padrão de herança apesar de ser ligado ao X, se mostrou dominante, acometendo ambos os sexos. As mulheres apresentaram tanto quadro grave na infância e fraqueza escapulohumeral na idade adulta. Um achado interessante neste estudo foi a similaridade na histologia, independente do fenótipo, com presença de abundantes necroses e infiltrado inflamatório linfocitário em todos os pacientes avaliados, o que pode confundir com o diagnóstico de miopatia inflamatória, como demonstramos com a paciente 14, a qual foi publicada recentemente (Silva et al., 2020). Schessl et al (2009) já havia demonstrado características clínicas e moleculares detalhadas de miopatia com corpos redutores. Um de seus pacientes reportados era uma menina com fraqueza generalizada, que foi inicialmente tratada para miosite, com imunoglobulina e prednisona, embora a histologia desse caso não estivesse disponível.

O outro aspecto que relaciona a proteína FHL1 e miopatias inflamatórias é ainda mais intrigante. Albrecht et al. (2015) demonstraram o desenvolvimento de autoanticorpos anti-FHL1 em um quarto dos pacientes com miopatia inflamatória

idiopática e correlacionaram sua presença com uma doença mais grave. Nesse estudo, os soros de 141 pacientes com miopatia inflamatória foram avaliados; 25% apresentavam anticorpos anti-FHL1, e seu tecido muscular apresentava expressão alterada da proteína FHL1, demonstrando um padrão semelhante ao encontrado em pacientes com variantes na *FHL1*. Eles também demonstraram *in vitro* que a granzima-B, uma protease que poderia levar à geração de neoepítopos, pode clivar a proteína FHL1, desencadeando uma imunidade secundária (Albrecht et al., 2015).

Outra miopatia miofibrilar importante, especialmente por sua gravidade, é a miopatia por variantes no *BAG3*. Os pacientes deste subgrupo se apresentaram com fraqueza na infância e grave comprometimento motor de predomínio axial, miocardiopatia restritiva grave, com necessidade de transplante cardíaco em uma paciente, e insuficiência respiratória, que foi a causa de óbito desta paciente. Este conjunto de achados (idade precoce, grave complicação cardíaca, comprometimento motor axial grave, insuficiência respiratória e óbito) pode nos fazer considerar a miopatia por *BAG3* como o subtipo mais grave de miopatia miofibrilar de nossa casuística. Clinicamente, além da miopatia, esses pacientes apresentaram fenótipo sobreposto de neuropatia periférica (CMT), o que pode atrasar o diagnóstico e reconhecimento desta grave condição. A adoção de medidas cardiológicas e ventilatórias preventivas devem ser precoces, bem como avaliação motora, devido às retrações proeminentes e limitantes.

Nos dois pacientes com miopatia por *BAG3* foi encontrada a variante c.626C>T que leva a uma troca da prolina por leucina no resíduo 209, em uma posição altamente conservada, responsável por interação com proteínas do choque térmico (Behl, et al. 2016). A variante já foi previamente publicada em diversos pacientes com miopatia miofibrilar por *BAG3*, sendo que todos os pacientes relatados com manifestações neuromusculares por variante no *BAG3* apresentaram variante na posição 209 (Behl et al., 2016; Andersen et al., 2018).

Outro importante achado deste estudo foi a caracterização histológica do paciente com filaminopatia de apresentação distal. O fenótipo distal relacionado a *FLNC* é causado por variantes no segmento N-terminal e foi por muito tempo

descrito como de patologia não miofibrilar (Duff et al., 2011). Entretanto, o paciente 17 com a variante p.Pro237Leu, na região N-terminal, apresentou alterações miofibrilares típicas na biopsia muscular. Na literatura, encontramos uma outra descrição recente que reportou histologia miofibrilar associadas a variantes na poção N-terminal, em concordância com o nosso achado (Gemelli et al., 2019).

Um paciente com fenótipo de fraqueza de cinturas e patologia miofibrilar, com presença de vacúolos marginados, apresentou uma variante de significado incerto, ainda não descrita, no gene *HNRNPA2B1*. Variantes missense em proteínas de ligação de RNA, incluindo *HNRNPA2B1* estão sendo reconhecidas como causadoras de um espectro de fenótipos de doenças, incluindo esclerose lateral amiotrófica, demência frontotemporal, distrofia óculo-faringea e miopatia de corpos de inclusão hereditária (Kim et al., 2022). A variante que encontramos no paciente se encontra no resíduo 269 em um domínio semelhante ao príon (*príon-like domain*), que vai do 261 ao 303 e apresenta um risco de patologia com inclusões proteícas que se espalham no tecido (Kim et al., 2015). Entretanto, não foi possível realizar estudo de seus familiares para ajudar na validação desta variante. O conceito de proteinopatia multissistêmica, com patologia degenerativa associada a acúmulos proteicos em músculo e neurônios, tem crescido nos últimos anos e existe plausabilidade de ser mais uma causa de miopatia com patologia miofibrilar (Leoni et al., 2021). Entretanto, mais estudos precisam confirmar esta associação.

7.3 Considerações sobre as miopatias distais

No grupo de miopatia distal, a maioria dos pacientes apresentou fenótipo de Miyoshi, incluindo seis pacientes com disferlinopatia (*DYSF*) e um paciente com anocaminopatia (*ANO5*) distal. Eles apresentaram fraqueza e dor nas panturrilhas e aumentos significativos nos níveis séricos de CPK. No entanto, a anoctaminopatia costuma se apresentar em uma idade mais avançada do que a disferlinopatia, geralmente após os 30 anos de idade (Silva et al., 2019).

Por outro lado, os cinco pacientes com miopatia por *GNE* apresentaram envolvimento muscular anterior da perna e níveis séricos de CPK normais, além de maior envolvimento de músculos axiais e maior dependência motora. De fato, os pacientes com miopatia por *GNE* apresentam clinicamente um espectro que vai desde casos leves a envolvimento proximal mais grave (Zhao et al., 2015), numa evolução provavelmente relacionada à duração da doença. A condição evolui dos músculos da perna para os músculos da coxa e da pelve, com relativa preservação do quadríceps. O uso de cadeira de rodas geralmente é necessário cerca de 20 anos após o início da doença (Zhao et al., 2015).

Um importante achado de nosso estudo foi a identificação de genes comumente relacionados a miopatias congênitas como causas de miopatia distal (*NEB*, *TTN*, *RYR1*, *DNM2*), além do já conhecido envolvimento da *MYH7* na miopatia de Laing. Este achado já vem sendo descrito nos últimos anos, com o avanço do sequenciamento de nova geração (Savarese et al., 2020). Esses pacientes se apresentaram com sintomas na primeira ou segunda décadas de vida e a biopsia muscular se mostrou com achados também semelhantes à das miopatias congênitas, tais como, centralização nuclear, presença de *cores* e atrofia das fibras do tipo I. Adicionalmente, os dois pacientes com miopatia distal por *NEB* e a paciente com miopatia distal por *RYR1* foram inicialmente diagnosticados como portadores de neuropatia periférica (CMT), devido as deformidades nos pés.

Destes genes relacionados a miopatias congênitas, com apresentação distal, a paciente com variante na RYR1 nos chamou mais a atenção. Mutações patogênicas no gene do receptor de rianodina 1 (*RYR1*) apresentam um espectro de manifestações clínicas que vai desde manifestações intrauterinas e congênitas graves, até fenótipo de miopatia leve no adulto, quadros pseudometabólicos ou mesmo pacientes assintomáticos com susceptibilidade a hipertermia maligna (Fusto et al., 2022). Recentemente, algumas descrições reportaram apresentação com fenótipo distal de início tardio, com fraqueza de mãos e contraturas, alguns com marcha nas pontas dos pés na infância (Laughlin et al., 2017; Jokela et al., 2019). Esses pacientes relatados apresentavam herança dominante e um curso lento e não grave. Entretanto, a

nossa paciente com miopatia distal por RYR1 se apresentou na infância com fraqueza e deformidades distais e incapacidade para deambular ainda na adolescência, possivelmente mais grave, pelo mecanismo recessivo. Uma melhor caracterização posterior deste e dos outros fenótipos relacionados a *RYR1* é necessária. Essas descrições de sobreposição fenotípica servem como alerta para a adequada caracterização clínica nos casos de fraqueza distal de membros inferiores, de início precoce, mesmo na presença de deformidades como pés cavos e dedos em martelo.

Do ponto de vista geral, ao compararmos as características clínicas de pacientes com miopatia miofibrilar e miopatia distal, observamos que estes últimos tiveram uma idade mais precoce de início dos sintomas, herança mais frequentemente recessiva e muito menos envolvimento cardiopulmonar. Notavelmente, em ambos os grupos, a fraqueza exclusivamente distal foi incomum (8-25%); a maioria dos pacientes tinha envolvimento proximal-distal. Em relação à gravidade motora, as proporções de pacientes com comprometimento da marcha, com necessidade de suporte ou cadeira de rodas, foram comparáveis em ambos os grupos (40-50%). Esses dados sugerem que a miopatia distal também pode ser uma condição grave com início mais precoce e incapacidade motora significativa, embora não apresente comprometimento cardíaco ou respiratório significativo.

A miopatia distal com maior gravidade foi causada por variantes em heterozigose no gene da *MYH7*, por apresentar um comprometimento motor precoce, progressivo, envolvendo também musculatura axial, com perda da independência da marcha entre a segunda e terceira décadas de vida. A miopatia distal de Laing foi a primeira miopatia distal com que teve um gene identificado, e classicamente foi descrita como uma fraqueza de início na infância, com fraqueza e extensor longo do hálux, levando a hálux caído (Laing et al., 1995). Entretanto, formas graves com escoliose, fraqueza cervical e contraturas graves passaram a ser reportadas (Dabaj et al. 2018; Savarese et al., 2020).

7.4 Considerações finais

Este estudo tem algumas limitações. Primeiro, foi um estudo de centro único terciário, e muitos genes foram representados para um ou poucos pacientes, o que dificultou a categorização das características clínicas. Em segundo lugar, como um estudo retrospectivo e observacional, não obtivemos os exames complementares, como a RNM, para todos os pacientes, prejudicando maiores análises de imagem. Terceiro, não pudemos validar novas variantes de *TTN* com estudos funcionais, o que seria desejável, embora todos os pacientes com titinopatia tivessem pelo menos uma variante de perda de função e presença de variantes na banda A ou M, características geralmente necessárias para causar a doença. Além disso, a variante no gene *HNRNPA2B1* também não pode ser validada como causa inequívoca, embora as características da variante e a presença de vacúolos marginados na biopsia muscular no paciente favoreçam a associação etiológica. Três casos não tiveram um diagnóstico molecular estabelecido e estudos morfofuncionais, como microdissecção histológica, não puderam ser realizados.

Em conclusão, as miopatias miofibrilares e as miopatias distais compreendem grupos heterogêneos complexos, com algumas características comuns, mas também com diversas características fenotípicas que permitem uma categorização relativa em subgrupos. Os avanços nos estudos moleculares permitiram o reconhecimento de uma grande lista de etiologias genéticas para esses grupos de miopatias. Reconhecer essas miopatias e seus genes é importante devido à sua gravidade potencial, incapacidade motora, complicações cardíacas precoces e insuficiência respiratória crônica, que podem levar à morte evitável.

8. CONCLUSÕES

a) As miopatias distais e miofibrilares compõem grupos heterogêneos, mas com algumas características em comum, sendo a principal delas a concomitância de fraqueza proximal e distal. A minoria dos pacientes nos dois grupos apresentava uma fraqueza exclusivamente distal.

b) As miopatias miofibrilares mais comumente encontradas neste estudo foram desminopatia (*DES*), titinopatia (*TTN*), miopatia por *FHL1*, miopatia por *BAG3* e filaminopatia (*FLNC*).

c) As miopatias distais mais comumente encontradas neste estudo foram as miopatia de Miyoshi (*DYSF*), miopatia de Nonaka (*GNE*), miopatia distal de Laing (*MYH7*) e miopatia distal por *NEB*.

d) No geral, a gravidade do comprometimento motor ocorreu em proporção parecida entre a miopatia distal e a miopatia miofibrilar, sendo mais acentuado nos pacientes com variantes nos genes *BAG3*, *FHL1*, *MYH7* e *GNE*.

e) No geral, as miopatias miofibrilares apresentam maior proporção e gravidade de comprometimento cardiorrespiratório, principalmente em pacientes com variantes nos genes *DES*, *FLNC*, *BAG3*, *FHL1* e *TTN.* Podemos considerar esses subgrupos como os de maior potencial de gravidade.

f) As miopatias miofibrilares e distais podem se apresentar com o fenótipo de CMT. Pacientes com miopatia por *BAG3* apresentaram neuropatia periférica sobreposta, e pacientes com miopatia distal por *NEB* e *RYR1* apresentaram deformidades, como pés cavos e dedos em martelo, tendo sido inicialmente diagnosticados como portadores de neuropatia hereditária.

g) A RNM pode auxiliar na validação de estudos genéticos em alguns pacientes, por apresentar padrão de comprometimento peculiar em alguns subgrupos genéticos.

h) A biopsia muscular pode ajudar na diferenciação em alguns casos de miopatia miofibrilar, pois agregados subsarcolemais bem delimitados, na frma de crescente, só foram encontrados em desminopatia. Na miopatia por *FHL1* os agregados que reduzem à menadiona e a presença de inflamação podem diferenciá-la dos demais subgrupos de miopatia miofibrilar.

i) Correlação genótipo-fenótipo foi possível de se estabelecer nas desminopatias, que apresentavam um número maior de pacientes, e foi observado que variantes patogênicas no segmento 1B da proteína se correlaciona com presença de cardiopatia e com agregados subsarcolemais bem delimitados na biopsia muscular, sendo um importante preditor de gravidade.

j) O reconhecimento das miopatias miofibrilares e distais se mostrou importante, especialmente devido a potencial gravidade motora e cardiopulmonar.

9. ANEXOS

9.1 Anexo A – Ficha clínica das miopatia miofibrilar e miopatias distais

A. Identificação

Nome do Paciente	
RGHC	
Data de Nascimento	
Sexo	
Raça	
Telefones	
Cidade que reside	

A. História Clínica (Descrever o momento do início dos sintomas)

Idade no início dos sintomas	
Idade no momento da avaliação	
RESUMO DA HISTÓRIA DE INSTALAÇÃO	
Disfagia - ☐ SIM ☐ NÃO	
Dor muscular - ☐ SIM ☐ NÃO	
Palpitação - ☐ SIM ☐ NÃO	
Dispneia - ☐ SIM ☐ NÃO	
Síncope - ☐ SIM ☐ NÃO	
Comorbidades (HAS, DM, DLP, Obesidade):	
CPK na ordem crescente de realização	
Eletroneuromiografia - Descrever a agulha repouso e contração: SINAIS DE ATIVIDADE DE REPOUSO (OP OU FIB OU MIOTONIA): ☐ SIM ☐ NAO SINAIS DE COMPROMETIMENTO NEUROGÊNICO: ☐ SIM ☐ NAO DESCARGA COMPLEXA REPETITIVA: ☐ SIM ☐ NAO	

B. História Familiar

Pais consanguíneos - ☐ SIM ☐ NAO
Familiar com miopatia - ☐ SIM ☐ NAO
Familiar com cardiopatia estrutural < 60 anos - ☐ SIM ☐ NAO
Familiar com MP < 60 anos - ☐ SIM ☐ NAO
Familiar com morte súbita - ☐ SIM ☐ NAO
Informações relevantes dos familiares:

Espaço para heredograma

C. Avaliação de funcionalidade

ACTIVLIM:
MFM:
Escala modificada de Rankin:
Cadeira de rodas - ☐ SIM ☐ NAO
Apoio para marcha - ☐ unilateral ☐ bilateral ☐nenhum

D. Avaliação Cardiopulmonar

ECG:
ECO-TT:
Holter:
PFP- Distúrbio restritivo ☐ Distúrbio obstrutivo ☐ CFV ( )

E. Exame Físico

MRC	D	E	MRC	D	E
Flexores do pescoço			Flexores do quadril		
Extensores do pescoço			Extensores do quadril		
Elevação do ombro			Abdutores do quadril		
Abdução do ombro			Adutores do quadril		
Flexores do cotovelo			Flexores do joelho		
Extensores do cotovelo			Extensores do joelho		
Flexores do punho			Dorsiflexão do pé		
Extensores do punho			Flexão plantar do pé		
Flexores dos dedos			Eversores do pé		
Extensores dos dedos			Inversores do pé		
Abdução dos dedos mão					

Atrofia - Proximal ☐ Distal ☐ Proximal e distal ☐ pescoço☐ tronco☐
Deformidades axiais - ☐ SIM ☐ NAO
Deformidades distais - ☐ SIM ☐ NAO
Marcha miopática - ☐ SIM ☐ NAO
Pé caído - ☐ SIM ☐ NAO
Alterações craniofaciais (inclui ptose)- ☐ SIM ☐ NAO

F. Imagem por RM de músculo

Anormalidades T1 - Atrofia (indicar cada musculo e o grau – leve, moderado e intenso)
Anormalidades T2 / STIR (indicar cada músculos e o grau)

G. Caracterização histopatológica

Número da Biopsia
Alterações estruturais
Marcação para ☐ Desmina ☐AB cristalina ☐Miotilina ☐Vermelho congo
Microscopia eletrônica

F. Desfechos

Marcapasso - ☐ SIM ☐ NAO
Tx cardíaco - ☐ SIM ☐ NAO
Suporte ventilatório - ☐ SIM ☐ NAO
Óbito - ☐ SIM ☐ NAO

10. REFERÊNCIAS

Adzhubei IA, Schmidt S, Peshkin L, Ramensky VE, Gerasimova A, Bork P, et al. A method and server for predicting damaging missense mutations. Nat Methods. 2010;7(4):248-249.

Albrecht I, Wick C, Hallgren Å, et al. Development of autoantibodies against muscle-specific FHL1 in severe inflammatory myopathies. J Clin Invest. 2015;125(12):4612-4624.

Andersen AG, Fornander F, Schrøder HD, et al. BAG3 myopathy is not always associated with cardiomyopathy. Neuromuscul Disord. 2018;28(9):798-801.

Behl C. Breaking BAG: The Co-Chaperone BAG3 in Health and Disease. Trends Pharmacol Sci. 2016;37(8):672-688.

Bertrand AT, Bönnemann CG, Bonne G; FHL1 myopathy consortium. 199th ENMC international workshop: FHL1 related myopathies, June 7-9, 2013, Naarden, The Netherlands. Neuromuscul Disord. 2014;24(5):453-462.

Carrillo N, Malicdan MC, Huizing M. GNE Myopathy: Etiology, Diagnosis, and Therapeutic Challenges. Neurotherapeutics. 2018;15(4):900-914.

Carvalho AAS, Lacene E, Brochier G, et al. Genetic Mutations and Demographic, Clinical, and Morphological Aspects of Myofibrillar Myopathy in a French Cohort. Genet Test Mol Biomarkers. 2018;22(6):374-383.

Celeste FV, Vilboux T, Ciccone C, de Dios JK, Malicdan MC, Leoyklang P, et al. Mutation update for GNE gene variants associated with GNE myopathy. Hum Mutat. 2014;35(8):915–926.

Clemen CS, Herrmann H, Strelkov SV, Schröder R. Desminopathies: pathology and mechanisms. Acta Neuropathol. 2013;125(1):47-75.

Cooper GM, Stone EA, Asimenos G, et al. Distribution and intensity of constraint in mammalian genomic sequence. Genome Res 2005;15:901–13.

Dabaj I, Carlier RY, Gómez-Andrés D, Neto OA, Bertini E, D'amico A, et al. Clinical and imaging hallmarks of the MYH7-related myopathy with severe axial involvement. Muscle Nerve. 2018;58(2):224-234.

Dalakas MC, Park KY, Semino-Mora C, Lee HS, Sivakumar K, Goldfarb LG. Desmin myopathy, a skeletal myopathy with cardiomyopathy caused by mutations in the desmin gene. N Engl J Med. 2000;342(11):770-780.

De Bleecker JL, Engel AG, Ertl BB. Myofibrillar myopathy with abnormal foci of desmin positivity. II. Immunocytochemical analysis reveals accumulation of multiple other proteins. J Neuropathol Exp Neurol. 1996;55(5):563-577.

Dimachkie MM, Barohn RJ. Distal myopathies. Neurol Clin. 2014;32(3):817-x.

Dubowitz V, Sewry C, Oldfors A. Muscle biopsy: A practical approach. 4th ed. Oxford: Saunders Elsevier; 2013

Duff RM, Tay V, Hackman P, et al. Mutations in the N-terminal actin-binding domain of filamin C cause a distal myopathy. Am J Hum Genet. 2011;88(6):729-740.

Estephan EP, Moreno CAM, Silva AMS, et al. Muscle biopsy with dystrophic pattern and rimmed vacuoles: GNE myopathy in a Brazilian patient. Arq Neuropsiquiatr. 2017;75(1):72-73.

Evilä A, Vihola A, Sarparanta J, et al. Atypical phenotypes in titinopathies explained by second titin mutations. Ann Neurol. 2014;75(2):230-240.

Felice KJ. Distal Myopathies. Neurol Clin. 2020;38(3):637-659.

Fichna JP, Maruszak A, Żekanowski C. Myofibrillar myopathy in the genomic context. J Appl Genet. 2018;59(4):431-439.

Fischer D, Kley RA, Strach K, et al. Distinct muscle imaging patterns in myofibrillar myopathies. Neurology 2008;71:758–65.

Foroud T, Pankratz N, Batchman AP, et al. A mutation in myotilin causes spheroid body myopathy. Neurology. 2005;65(12):1936-1940.

Fusto A, Cassandrini D, Fiorillo C, et al. Expanding the clinical-pathological and genetic spectrum of RYR1-related congenital myopathies with cores and minicores: an Italian population study. Acta Neuropathol Commun. 2022;10(1):54.

Gemelli C, Prada V, Fiorillo C, et al. A novel mutation in the N-terminal acting-binding domain of Filamin C protein causing a distal myofibrillar myopathy. J Neurol Sci. 2019;398:75-78.

Ghaoui R, Palmio J, Brewer J, et al. Mutations in HSPB8 causing a new phenotype of distal myopathy and motor neuropathy [published correction appears in Neurology. 2016 Mar 15;86(11):1077]. Neurology. 2016;86(4):391-398.

Goldfarb LG, Dalakas MC. Tragedy in a heartbeat: malfunctioning desmin causes skeletal and cardiac muscle disease [published correction appears in J Clin Invest. 2011 Jan 4;121(1):455]. J Clin Invest. 2009;119(7):1806-1813.

Goldfarb LG, Olivé M, Vicart P, Goebel HH. Intermediate filament diseases: desminopathy. Adv Exp Med Biol. 2008;642:131-164.

Goldfarb LG, Vicart P, Goebel HH, Dalakas MC. Desmin myopathy. Brain. 2004;127(Pt 4):723-734.

Griffin DA, Johnson RW, Whitlock JM, et al. Defective membrane fusion and repair in Anoctamin5-deficient muscular dystrophy. Hum Mol Genet. 2016;25(10):1900-1911.

Homma S, Iwasaki M, Shelton GD, Engvall E, Reed JC, Takayama S. BAG3 deficiency results in fulminant myopathy and early lethality. Am J Pathol. 2006;169(3):761-773.

Jokela M, Tasca G, Vihola A, et al. An unusual ryanodine receptor 1 (RYR1) phenotype: Mild calf-predominant myopathy. Neurology 2019;92:e1600-9.

Kent WJ, Sugnet CW, Furey TS, Roskin KM, Pringle TH, Zahler AM, Haussler D. The human genome browser at UCSC. Genome Res. 2002 Jun;12(6):996-1006.

Keppler OT, Hinderlich S, Langner J, Schwartz-Albiez R, Reutter W, Pawlita M. UDP-GlcNAc 2-epimerase: a regulator of cell surace sialylation. Science. 1999;284(5418):1372–1376.

Kim HJ, Kim NC, Wang YD, Scarborough EA, Moore J, Diaz Z, et al. Mutations in prion-like domains in hnRNPA2B1 and hnRNPA1 cause multisystem proteinopathy and ALS. Nature. 2013;495(7442):467-73.

Kim HJ, Mohassel P, Donkervoort S, et al. Heterozygous frameshift variants in HNRNPA2B1 cause early-onset oculopharyngeal muscular dystrophy. Nat Commun. 2022;13(1):2306.

Kley RA, Olivé M, Schröder R. New aspects of myofibrillar myopathies. Curr Opin Neurol. 2016;29(5):628-634.

Kley RA, Serdaroglu-Oflazer P, Leber Y, et al. Pathophysiology of protein aggregation and extended phenotyping in filaminopathy. Brain. 2012;135(Pt 9):2642-2660.

Kostera-Pruszczyk A, Pruszczyk P, Kaminska A, Lee H, Goldfarb LG. Diversity of cardiomyopathy phenotypes caused by mutations in desmin. Int J Cardiol. 2008:131:146-147.

Laing NG, Laing BA, Meredith C, Wilton SD, Robbins P, Honeyman K, et al. Autosomal dominant distal myopathy: linkage to chromosome 14. Am J Hum Genet. 1995;56(2):422-7.

Laughlin RS, Niu Z, Wieben E, Milone M. RYR1 causing distal myopathy. Mol Genet Genomic Med. 2017;5(6):800-804.

Lehtokari VL, Pelin K, Herczegfalvi A, et al. Nemaline myopathy caused by mutations in the nebulin gene may present as a distal myopathy. Neuromuscul Disord. 2011;21(8):556-562.

Leoni TB, González-Salazar C, Rezende TJR, et al. A Novel Multisystem Proteinopathy Caused by a Missense ANXA11 Variant. Ann Neurol. 2021;90(2):239-252.

Linssen WHJP, Notermans NC, Van der Graaf Y, et al. Miyoshi type distal muscular dystrophy: clinical spectrum in 24 patients. Brain 1997;120:1989-1996.

Liu J, Aoki M, Illa I, et al. Dysferlin, a novel skeletal muscle gene, is mutated in Miyoshi myopathy and limb girdle muscular dystrophy. Nat Genet. 1998;20(1):31-36.

Luo YB, Peng Y, Lu Y, et al. Expanding the Clinico-Genetic Spectrum of Myofibrillar Myopathy: Experience From a Chinese Neuromuscular Center [published correction appears in Front Neurol. 2021 Jan 08;11:636981]. Front Neurol. 2020;11:1014.

Mao Z, Nakamura F. Structure and Function of Filamin C in the Muscle Z-Disc. Int J Mol Sci. 2020;21(8):2696. Published 2020 Apr 13.

Mercuri E, Cini C, Counsell S, et al. Muscle MRI findings in a three-generation family affected by Bethlem myopathy. Eur J Paediatr Neurol 2002;6:309–14.

Miller SA, Dykes DD, Polesky HF. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. Nucleic Acids Res. 1988;16(3):1215.

Milone M, Liewluck T. The unfolding spectrum of inherited distal myopathies. Muscle Nerve. 2019;59(3):283-294.

Nakano S, Engel AG, Waclawik AJ, Emslie-Smith AM, Busis NA. Myofibrillar myopathy with abnormal foci of desmin positivity. I. Light and electron microscopy analysis of 10 cases. J Neuropathol Exp Neurol. 1996;55(5):549-562.

Ng PC, Henikoff S. Predicting deleterious amino acid substitutions. Genome Res. 2001;11(5):863-874.

Nguyen K, Bassez G, Krahn M, et al. Phenotypic study in 40 patients with dysferlin gene mutations: high frequency of atypical phenotypes. Arch Neurol. 2007;64(8):1176-1182.

Nonaka I, Sunohara N, Ishiura S, Satoyoshi E. Familial distal myopathy with rimmed vacuole and lamellar (myeloid) body formation. J Neurol Sci. 1981;51(1):141–155.

Nonaka I. Distal myopathies. Curr Opin Neurol. 1999;12(5):493-499.

Oates EC, Jones KJ, Donkervoort S, et al. Congenital Titinopathy: Comprehensive characterization and pathogenic insights. Ann Neurol. 2018;83(6):1105-1124.

Olivé M, Odgerel Z, Martínez A, et al. Clinical and myopathological evaluation of early- and late-onset subtypes of myofibrillar myopathy. Neuromuscul Disord. 2011;21(8):533-542.

Olivé M; Kley RA; Goldfarb LG. Myofibrillar myopathies: new developments. Curr Opinion Neurol 2013; 26:527-535

Palmio J, Leonard-Louis S, Sacconi S, et al. Expanding the importance of HMERF titinopathy: new mutations and clinical aspects. J Neurol. 2019;266(3):680-690.

Palmio J, Udd B. Myofibrillar and distal myopathies. Rev Neurol (Paris). 2016; 172(10):587-593.

Piñol-Ripoll G, Shatunov A, Cabello A, et al. Severe infantile-onset cardiomyopathy associated with a homozygous deletion in desmin. Neuromuscul Disord. 2009;19(6):418-422.

Potulska-Chromik A, Jędrzejowska M, Gos M, et al. Pathogenic Mutations and Putative Phenotype-Affecting Variants in Polish Myofibrillar Myopathy Patients. J Clin Med. 2021;10(5):914.

Rentzsch P, Witten D, Cooper GM, Shendure J, Kircher M. CADD: predicting the deleteriousness of variants throughout the human genome. Nucleic Acids Res. 2019;47(D1):D886-D894.

Richards S, Aziz N, Bale S, et al. Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology. Genet Med. 2015;17(5):405-424.

Ruparelia AA, Oorschot V, Ramm G, Bryson-Richardson RJ. FLNC myofibrillar myopathy results from impaired autophagy and protein insufficiency. Hum Mol Genet. 2016;25(11):2131-2142.

Sacconi S, Féasson L, Antoine JC, et al. A novel CRYAB mutation resulting in multisystemic disease. Neuromuscul Disord. 2012;22(1):66-72.

Salmikangas P, Mykkänen OM, Grönholm M, Heiska L, Kere J, Carpén O. Myotilin, a novel sarcomeric protein with two Ig-like domains, is encoded by a candidate gene for limb-girdle muscular dystrophy. Hum Mol Genet. 1999;8(7):1329-1336.

Sarkozy A, Hicks D, Hudson J, et al. ANO5 gene analysis in a large cohort of patients with anoctaminopathy: confirmation of male prevalence and high occurrence of the common exon 5 gene mutation. Hum Mutat. 2013;34(8):1111-1118.

Savarese M, Sarparanta J, Vihola A, Udd B, Hackman P. Increasing role of titin mutations in neuromuscular disorders. J Neuromuscul Dis. 2016; 3(3):293-308.

Schessl J, Bach E, Rost S, et al. Novel recessive myotilin mutation causes severe myofibrillar myopathy. Neurogenetics. 2014;15(3):151-156.

Schessl J, Taratuto AL, Sewry C, et al. Clinical, histological and genetic characterization of reducing body myopathy caused by mutations in FHL1. Brain. 2009;132(Pt 2):452-464.

Selcen D, Ohno K, Engel AG. Myofibrillar myopathy: clinical, morphological and genetic studies in 63 patients. Brain. 2004;127(Pt 2):439-451.

Selcen D, Engel AG. Mutations in myotilin cause myofibrillar myopathy [published correction appears in Neurology. 2004 Jul 27;63(2):405]. Neurology. 2004;62(8):1363-1371.

Selcen D, Engel AG. Mutations in ZASP define a novel form of muscular dystrophy in humans. Ann Neurol. 2005;57(2):269-276.

Selcen D, Engel AG. Myofibrillar myopathy caused by novel dominant negative alpha B-crystallin mutations. Ann Neurol 2003;54:804–10.

Selcen D, Muntoni F, Burton BK, et al. Mutation in BAG3 causes severe dominant childhood muscular dystrophy. Ann Neurol. 2009;65(1):83-89.

Selcen D. Myofibrillar myopathies. Current Opinion in Neurology 2010, 23:477–481.

Selcen D. Myofibrillar myopathies. Neuromuscul Disord. 2011;21(3):161-171.

Shy M, Rebelo AP, Feely SM, et al. Mutations in BAG3 cause adult-onset Charcot-Marie-Tooth disease. J Neurol Neurosurg Psychiatry. 2018;89(3):313-315.

Silva AMS, Camelo CG, Matsui-Júnior C, et al. Child Neurology: A Case of FHL1-Related Disease Presenting as Inflammatory Myopathy. Neurology. 2021;96(9):e1383-e1386.

Silva AMS, Coimbra-Neto AR, Souza PVS, et al. Clinical and molecular findings in a cohort of ANO5-related myopathy. Ann Clin Transl Neurol. 2019;6(7):1225-1238.

Stossel TP, Condeelis J, Cooley L, et al. Filamins as integrators of cell mechanics and signalling. Nat Rev Mol Cell Biol. 2001;2(2):138-145.

Tajsharghi H, Oldfors A. Myosinopathies: pathology and mechanisms. Acta Neuropathol 2013;125(1):3-18.

Udd B, Partanen J, Halonen P, Falck B, Hakamies L, Heikkilä H, et al. Tibial muscular dystrophy. Late adult-onset distal myopathy in 66 Finnish patients. Arch Neurol. 1993;50(6):604-8.

Udd B. 165th ENMC International Workshop: distal myopathies 6-8th February 2009 Naarden, The Netherlands. Neuromuscul Disord. 2009;19(6):429-438.

Udd B. The constantly evolving spectrum of phenotypes in titinopathies - will it ever stop?. Curr Opin Neurol. 2020;33(5):604-610.

van der Flier A, Sonnenberg A. Structural and functional aspects of filamins. Biochim Biophys Acta. 2001;1538(2-3):99-117.

Vicart P, Caron A, Guicheney P, et al. A missense mutation in the alpha-B crystallin chaperone gene causes a desmin-related myopathy. Nature Genetics 1998;20:92–5

Vorgerd M, van der Ven PF, Bruchertseifer V, et al. A mutation in the dimerization domain of filamin c causes a novel type of autosomal dominant myofibrillar myopathy. Am J Hum Genet. 2005;77(2):297-304.

Wallgren-Pettersson C, Lehtokari VL, Kalimo H, et al. Distal myopathy caused by homozygous missense mutations in the nebulin gene. Brain. 2007;130(Pt 6):1465-1476.

Winckler PB, da Silva AMS, Coimbra-Neto AR, et al. Clinicogenetic lessons from 370 patients with autosomal recessive limb-girdle muscular dystrophy. Clin Genet. 2019;96(4):341-353.

Zaidman CM, van Alfen N. Ultrasound in the assessment of myopathic disorders. J Clin Neurophysiol 2016;33: 103–111

Zhao J, Wang Z, Hong D, Lv H, Zhang W, Chen J, et al. Mutational spectrum and clinical features in 35 unrelated mainland Chinese patients with GNE myopathy. J Neurol Sci. 2015;15;354(1-2):21-6.

Zheng J, Chen S, Chen Y, Zhu M, Hong D. A novel mutation in the PDZ-like motif of ZASP causes distal ZASP-related myofibrillar myopathy. Neuropathology. 2017;37(1):45-51.

Apêndice I – Parecer do Comitê de Ética e Pesquisa

USP - HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE

Plataforma Brasil

PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Estudo clínico, histológico e molecular de pacientes com miopatias distal e miofibrilar

Pesquisador: Edmar Zanoteli
Área Temática:
Versão: 1
CAAE: 82677318.3.0000.0068
Instituição Proponente: Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da USP
Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 2.597.615

Apresentação do Projeto:
Os pesquisadores vão caracterizar clínica e genéticamente pacientes com miopatias distal e miofibrilar, para auxiliar no diagnostico precoce e redução das complicações motoras e cardiológicas.O projeto está claro, apresenta objetivos relevantes na especialidade médica e não trará riscos para o sujeito da pesquisa.

Objetivo da Pesquisa:
Os pesquisadores vão avaliar o padrão de comprometimento motor e funcional dos diferentes tipos de miopatias distais e miofibrilares,exames de imagem muscular do de comprometimento muscular e comparar entre os diferentes grupos de miopatias distais e miofibrilares. Ainda serão descritos os dados provenientes da biópsia muscular realizada anteriormente e a descrição das alterações genéticas encontradas nos pacientes com miopatias distais e miofibrilares.Os objetivos do estudo estão bem estabelecidos e apresentam relevância na área médica.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:
O estudo não apresenta riscos para o sujeito da pesquisa.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:
Os resultados do protocolo proposto se positivos poderão contribuir para alterações na conduta terapêutica.

Endereço: Rua Ovídio Pires de Campos, 225 5º andar
Bairro: Cerqueira Cesar **CEP:** 05.403-010
UF: SP **Município:** SAO PAULO
Telefone: (11)2661-7585 **Fax:** (11)2661-7585 **E-mail:** cappesq.adm@hc.fm.usp.br

USP - HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE

Plataforma Brasil

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

O TCLE está adequado para o estudo.

Recomendações:

Recomendamos sua aprovação.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Aprovado.

Considerações Finais a critério do CEP:

Em conformidade com a Resolução CNS nº 466/12 – cabe ao pesquisador: a) desenvolver o projeto conforme delineado; b) elaborar e apresentar relatórios parciais e final; c)apresentar dados solicitados pelo CEP, a qualquer momento; d) manter em arquivo sob sua guarda, por 5 anos da pesquisa, contendo fichas individuais e todos os demais documentos recomendados pelo CEP; e) encaminhar os resultados para publicação, com os devidos créditos aos pesquisadores associados e ao pessoal técnico participante do projeto; f) justificar perante ao CEP interrupção do projeto ou a não publicação dos resultados.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1060889.pdf	31/01/2018 07:54:56		Aceito
Declaração de Pesquisadores	CompromissodedoutoradoAndreMacedo.docx	31/01/2018 07:53:02	Edmar Zanoteli	Aceito
Outros	anexoIIedmarandrecadastroassinado0001.pdf	31/01/2018 07:52:43	Edmar Zanoteli	Aceito
Cronograma	CronogramaAndreMacedo.docx	31/01/2018 07:51:18	Edmar Zanoteli	Aceito
Folha de Rosto	FRedmarPB.pdf	24/01/2018 18:37:47	Edmar Zanoteli	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	ProjetoMiopatiaMiofibrilarPB.docx	24/01/2018 18:36:23	Edmar Zanoteli	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TermoAssentimentoMiopatiaPB.doc	24/01/2018 18:35:36	Edmar Zanoteli	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de	TCLEmiopatiaPB.doc	24/01/2018 18:35:25	Edmar Zanoteli	Aceito

Endereço: Rua Ovídio Pires de Campos, 225 5º andar
Bairro: Cerqueira Cesar **CEP:** 05.403-010
UF: SP **Município:** SAO PAULO
Telefone: (11)2661-7585 **Fax:** (11)2661-7585 **E-mail:** cappesq.adm@hc.fm.usp.br

USP - HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE

Plataforma Brasil

Continuação do Parecer: 2.597.615

Ausência	TCLEmiopatiaPB.doc	24/01/2018 18:35:25	Edmar Zanoteli	Aceito

Situação do Parecer:
Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:
Não

SAO PAULO, 13 de Abril de 2018

Assinado por:
ALFREDO JOSE MANSUR
(Coordenador)

Endereço: Rua Ovídio Pires de Campos, 225 5º andar
Bairro: Cerqueira Cesar **CEP:** 05.403-010
UF: SP **Município:** SAO PAULO
Telefone: (11)2661-7585 **Fax:** (11)2661-7585 **E-mail:** cappesq.adm@hc.fm.usp.br

Apêndice II – Termo de consentimento livre e esclarecido



Setor de Doenças Neuromusculares da Divisão de Clínica Neurológica do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo



TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Título da pesquisa: Estudo clínico, histológico e molecular de pacientes com miopatias distal e miofibrilar.

Pesquisador principal: André Macedo Serafim da Silva, CRM 152.431-SP

Pesquisador orientador: Edmar Zanoteli

Instituição: Departamento de Neurologia, Hospital das Clínicas, Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (HCFMUSP)

Convidamos você a participar desta pesquisa que tem como objetivo a caracterização clínica, histológica e do perfil genético dos pacientes com miopatia distal e miopatia miofibrilar. Nesta pesquisa serão feitas avaliações clínicas, revisão das biópsias musculares já realizadas e estudo do DNA. O exame do DNA, neste caso, visa identificar alterações nos genes (mutações) que produzem proteínas importantes para a contração muscular. Para esse fim, iremos colher amostra de sangue por meio de punção de veia superficial visível na região do braço. A coleta será realizada no Laboratório Central do HCFMUSP, por profissional especializado. Este exame é feito com uso de agulha descartável e apresenta desconforto ou risco mínimo com retirada de no máximo 10 mL de sangue. O material será então enviado ao nosso laboratório para as análises. Os riscos para a retirada de sangue incluem sangramento local, a qual é pequeno e facilmente controlado, formação de hematoma e desconforto transitório relacionado a introdução da agulha de coleta.

Este estudo trará para você ou seu filho (a) o benefício de conhecer com exatidão o tipo de miopatia distal, para que a equipe médica possa orientar melhor o seu tratamento, além de oferecer informações sobre a evolução da doença e o risco de repetição, caso desejem ter outros filhos.

Em qualquer etapa do estudo, o Sr (a) terá acesso aos profissionais responsáveis pela pesquisa para esclarecimento de eventuais dúvidas. O principal investigador é o Dr André Macedo Serafim da Silva, que pode ser encontrado no endereço Av. Dr. Enéas de Carvalho Aguiar, 255, Cerqueira César, São Paulo, Prédio dos Ambulatórios, 6o andar, telefone (11) 26616000, ramal 6341 e na sua sala 5131, quinto andar do Instituto Central, telefone (11) 26617878, das 7 às 16 horas de 2a a 5a feira, das 7 às 16 horas, e às 6as feiras, das 7 às 12 horas e no e-mail macedosera@gmail.com. Se você tiver alguma consideração ou dúvida sobre a ética da pesquisa, entre em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) – Rua Ovídio Pires de Campos, 225 – 5º andar – tel: (11) 2661-7585, (11) 2661-1548, (11) 2661-1549; e-mail: cappesq.adm@hc.fm.usp.br

É garantida a liberdade de retirar o consentimento a qualquer momento e deixar de participar do estudo, sem qualquer prejuízo à continuidade de seu tratamento na Instituição. Não há

despesas pessoais para o participante em qualquer fase do estudo, incluindo exames e consultas. Também não há compensação financeira relacionada à sua participação.

As informações obtidas serão analisadas pelos pesquisadores em conjunto com aquelas de todos os demais pacientes, não sendo divulgada a identificação de nenhum paciente. O Sr (a) tem o direito de ser mantido (a) atualizado (a) sobre os resultados parciais e final da pesquisa que neste caso corresponde ao diagnóstico do tipo de miopatia distal.

*Fui suficientemente informado a respeito do estudo "*Estudo clínico, histológico e molecular de pacientes com miopatias distal e miofibrilar*". Eu discuti as informações acima com o pesquisador responsável (Dr André Macedo Serafim da Silva) sobre a minha decisão em participar nesse estudo. Ficaram claros para mim os objetivos, os procedimentos, os potenciais desconfortos e riscos e as garantias. Ficou claro também que minha participação é isenta de despesas e que tenho garantia do acesso a tratamento hospitalar quando necessário. Concordo voluntariamente em participar deste estudo e poderei retirar o meu consentimento a qualquer momento, antes ou durante o mesmo, sem penalidades ou prejuízo ou perda de qualquer benefício que eu possa ter adquirido, ou no meu atendimento neste Serviço.*

_____ _____

Assinatura do participante /representante legal Assinatura do responsável pelo estudo

Data__/__/__ Data__/__/__

NOME:.....

DOCUMENTO DE IDENTIDADE No : ..... SEXO : .M ( ) F ( )

DATA NASCIMENTO: ...../...../..... TELEFONE: DDD (.....).....

RESPONSÁVEL LEGAL (menores):.....

NATUREZA (grau de parentesco, tutor, curador etc.).....

DOCUMENTO DE IDENTIDADE :.....SEXO: M ( ) F ( )

DATA NASCIMENTO: ...../...../..... TELEFONE: DDD (.....) .....

Apêndice III – Termo de assentimento informado



Setor de Doenças Neuromusculares da Divisão de Clínica Neurológica do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo



TERMO DE ASSENTIMENTO INFORMADO (PACIENTES ENTRE 12-18 ANOS)

Título da pesquisa: Estudo clínico, histológico e molecular de pacientes com miopatias distal e miofibrilar.
Pesquisador principal: André Macedo Serafim da Silva, CRM 152.431-SP
Pesquisador orientador: Edmar Zanoteli
Instituição: Departamento de Neurologia, Hospital das Clínicas, Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (HCFMUSP)

Convidamos você a participar desta pesquisa que tem como objetivo a caracterização clínica, histológica e do perfil genético dos pacientes com miopatia distal e miopatia miofibrilar. Nesta pesquisa serão feitas avaliações clínicas, revisão das biópsias musculares já realizadas e estudo do DNA. O exame do DNA, neste caso, visa identificar alterações nos genes (mutações) que produzem proteínas importantes para a contração muscular. Para esse fim, iremos colher amostra de sangue por meio de punção de veia superficial visível na região do braço. A coleta será realizada no Laboratório Central do HCFMUSP, por profissional especializado. Este exame é feito com uso de agulha descartável e apresenta desconforto ou risco mínimo com retirada de no máximo 10 mL de sangue. O material será então enviado ao nosso laboratório para as análises. Os riscos para a retirada de sangue incluem sangramento local, a qual é pequeno e facilmente controlado, formação de hematoma e desconforto transitório relacionado a introdução da agulha de coleta.

Este estudo trará para você o benefício de conhecer com exatidão o tipo de miopatia distal, para que a equipe médica possa orientar melhor o seu tratamento, além de oferecer informações sobre a evolução da doença e o risco de repetição, caso desejem ter outros filhos.

Em qualquer etapa do estudo, você terá acesso aos profissionais responsáveis pela pesquisa para esclarecimento de eventuais dúvidas. O principal investigador é o Dr André Macedo Serafim da Silva, que pode ser encontrado no endereço Av. Dr. Enéas de Carvalho Aguiar, 255, Cerqueira César, São Paulo, Prédio dos Ambulatórios, 6o andar, telefone (11) 26616000, ramal 6341 e na sua sala 5131, quinto andar do Instituto Central, telefone (11) 26617878, das 7 às 16 horas de 2a a 5a feira, das 7 às 16 horas, e às 6as feiras, das 7 às 12 horas e no e-mail macedosera@gmail.com. Se você tiver alguma consideração ou dúvida sobre a ética da pesquisa, entre em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) – Rua Ovídio Pires de Campos, 225 – 5º andar – tel: (11) 2661-7585, (11) 2661-1548, (11) 2661-1549; e-mail: cappesq.adm@hc.fm.usp.br

Em caso de você tiver menos de 18 anos (menor de idade), esse termo especial conhecido como termo de Assentimento deve ser assinado, o que significa que você concorda em fazer parte de um grupo de crianças e adolescentes para participar de uma pesquisa. Para isso precisamos

da autorização e assinatura de seus pais ou de um responsável legal para incluir seu caso no estudo.

Se por algum motivo você ou seu responsável não autorizar o uso dos seus dados no trabalho, não haverá problemas, pois seu tratamento no ambulatório continuará normalmente, sem nenhum prejuízo no seu acompanhamento. Mas caso deseje participar do nosso trabalho, você estará ajudando outras pessoas com suspeita de miopatias distais e miofibrilares no futuro. Em qualquer etapa da pesquisa, você terá acesso aos profissionais responsáveis pela pesquisa para esclarecimento de dúvidas.

*Fui suficientemente informado a respeito do estudo "*Estudo clínico, histológico e molecular de pacientes com miopatias distal e miofibrilar*". Eu discuti as informações acima com o pesquisador responsável (Dr André Macedo Serafim da Silva) sobre a minha decisão em participar nesse estudo. Ficaram claros para mim os objetivos, os procedimentos, os potenciais desconfortos e riscos e as garantias. Ficou claro também que minha participação é isenta de despesas e que tenho garantia do acesso a tratamento hospitalar quando necessário. Concordo voluntariamente em participar deste estudo e poderei retirar o meu consentimento a qualquer momento, antes ou durante o mesmo, sem penalidades ou prejuízo ou perda de qualquer benefício que eu possa ter adquirido, ou no meu atendimento neste Serviço.*

_____ _____

Assinatura do participante Assinatura do responsável legal

Data__/__/__ Data__/__/__

_____

Assinatura do responsável pelo estudo

Data__/__/__

NOME:.....

DOCUMENTO DE IDENTIDADE No : ..... SEXO : .M ( ) F ( )

DATA NASCIMENTO: ...../...../..... TELEFONE: DDD (.....).....

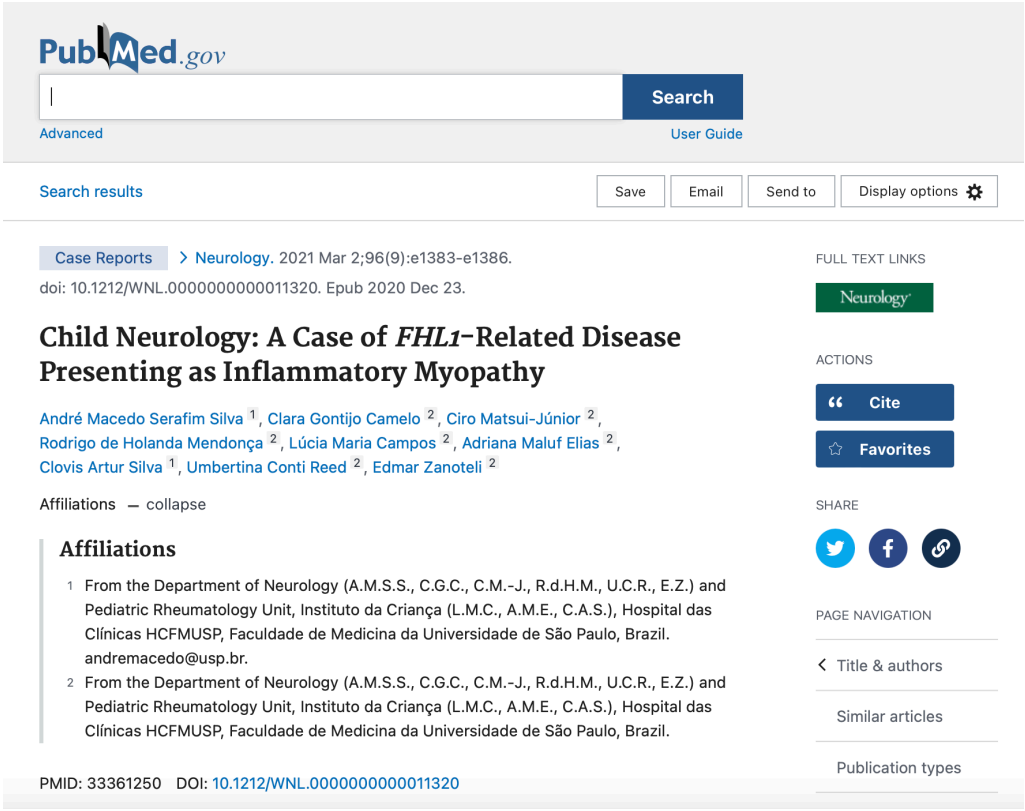
RESPONSÁVEL LEGAL (menores):.....

NATUREZA (grau de parentesco, tutor, curador etc.).....

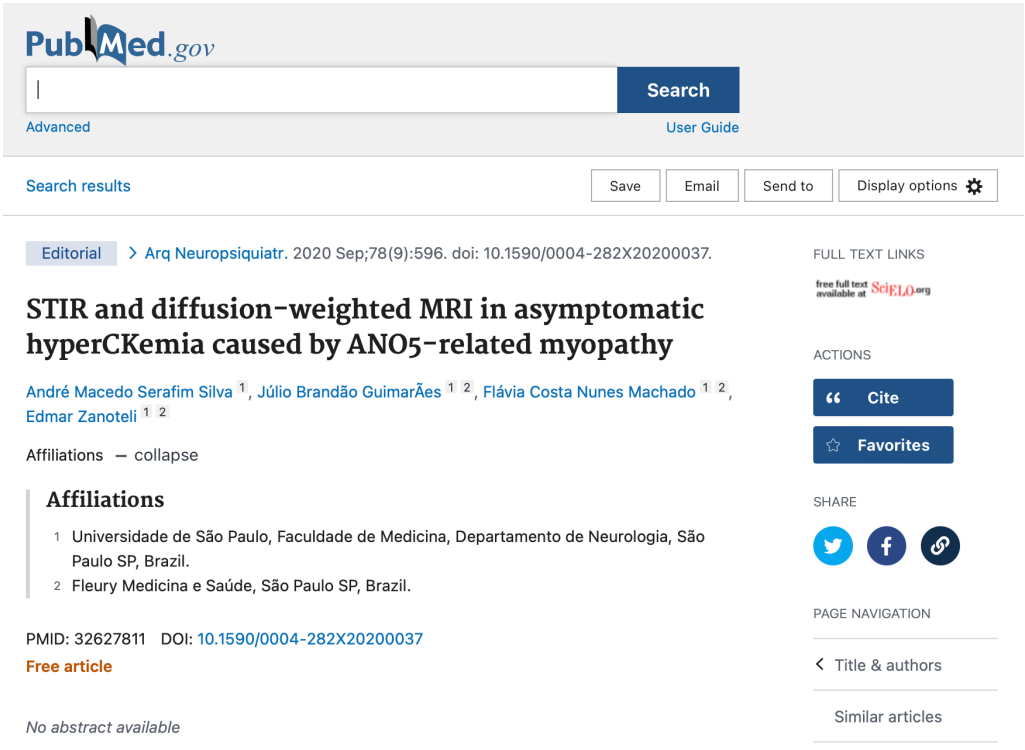
DOCUMENTO DE IDENTIDADE :.....SEXO: M ( ) F ( )

DATA NASCIMENTO: ...../...../..... TELEFONE: DDD (.....) .....

Apêndice IV – Artigos científicos publicados e submetidos desta tese



Fonte: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33361250/



Fonte: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32627811/



PubMed.gov

Search

Advanced User Guide

Search results Save Email Send to Display options

Ann Clin Transl Neurol. 2019 Jul;6(7):1225-1238. doi: 10.1002/acn3.50801. Epub 2019 Jun 11.

Clinical and molecular findings in a cohort of ANO5-related myopathy

André M S Silva [1], Antônio R Coimbra-Neto [2], Paulo Victor S Souza [3], Pablo B Winckler [4], Marcus V M Gonçalves [5], Eduardo B U Cavalcanti [6], Alzira A D S Carvalho [7], Cláudia F D R Sobreira [8], Clara G Camelo [1], Rodrigo D H Mendonça [1], Eduardo D P Estephan [1], Umbertina C Reed [1], Marcela C Machado-Costa [9], Mario E T Dourado-Junior [10], Vanessa C Pereira [11], Marcelo M Cruzeiro [12], Paulo V P Helito [13], Laís U Aivazoglou [14], Leonardo V D Camargo [15], Hudson H Gomes [15], Amaro J S D Camargo [16], Wladimir B V D R Pinto [3], Bruno M L Badia [3], Luiz H Libardi [3], Mario T Yanagiura [3], Acary S B Oliveira [3], Anamarli Nucci [2], Jonas A M Saute [4 17 18], Marcondes C França-Junior [2], Edmar Zanoteli [1]

Affiliations + expand

PMID: 31353849 PMCID: PMC6649425 DOI: 10.1002/acn3.50801

Free PMC article

FULL TEXT LINKS

WILEY Free Full Text

PMC FREE Full text

ACTIONS

Cite

Favorites

SHARE

PAGE NAVIGATION

Title & authors

Fonte: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31353849/



Journal of Neuropathology and Experimental Neurology

The location of disease-causing DES variants determines the severity of phenotype and the morphology of sarcoplasmic aggregates

--Manuscript Draft--

Manuscript Number:	JNEN-22-076
Full Title:	The location of disease-causing DES variants determines the severity of phenotype and the morphology of sarcoplasmic aggregates
Article Type:	Original Article
Keywords:	desminopathy; myofibrillar myopathy; desmin-related myopathy; desmin
Corresponding Author:	André Macedo Serafim da Silva, M.D. University of Sao Paulo: Universidade de Sao Paulo Sao Paulo, BRAZIL
Corresponding Author Secondary Information:	
Corresponding Author's Institution:	University of Sao Paulo: Universidade de Sao Paulo
Corresponding Author's Secondary Institution:	
First Author:	André Macedo Serafim da Silva, M.D.
First Author Secondary Information:	
Order of Authors:	André Macedo Serafim da Silva, M.D.
	Patricia Rodrigo, MD
	Cristiane Araújo Martins Moreno, MD, PhD
	Rodrigo Mendonça, MD
	Eduardo Estephan, MD, PhD
	Clara Gontijo Camelo, MD
	Eliene Dutra Campos
	Alexandre Torchio Dias, PhD
	Amom Mendes Nascimento, PhD
	Leslie Domenici Kulikowski, PhD
	Acary Souza Bulle Oliveira, MD, PhD
	Umbertina Conti Reed, MD, PhD
	Lev G Goldfarb, MD, PhD
	Montse Olivé, MD, PhD
	Edmar Zanoteli, MD, PhD

Fonte: Artigo submetido ao *Journal of Neuropathology and Experimental Neurology* em 04 de maio de 2022.

Neuromuscular Disorders

Clinical and Molecular Spectrum of Distal and Myofibrillar Myopathies

--Manuscript Draft--

Manuscript Number:	NMD-D-22-00130
Article Type:	Research paper
Keywords:	myofibrillar myopathy; distal myopathy; vacuolar myopathy; desminopathy; dysferlinopathy
Corresponding Author:	Andre Silva SAO PAULO, SP Brazil
First Author:	Andre Macedo Serafim Silva, MD
Order of Authors:	Andre Macedo Serafim Silva, MD
	Cristiane Araújo Martins Moreno, MD, PhD
	Rodrigo de Holanda Mendonça, MD
	Clara Gontijo Camelo, MD
	Eduardo Estephan, MD, PhD
	Eliene Dutra Campos, Bio
	Marcela Alcântara Machado, MD, PhD
	Paulo Victor Partezani Helito, MD
	Alexandre Torchio Dias, PhD
	Amom Mendes Nascimento, PhD
	Leslie Domenici Kulikowski, PhD
	Acary Souza Bulle Oliveira, MD, PhD
	Edmar Zanoteli, MD, PhD

Abstract: Distal myopathies (DMs) are a group of muscle diseases featuring a predominance of weakness in the distal extremities, while myofibrillar myopathies (MFMs) are skeletal and cardiac muscle diseases with Z-disk protein aggregates and myofibril disarray. Our observational study identified 54 patients from 42 families, at a tertiary neuromuscular center, with MFMs and DMs. Patients underwent a next-generation sequencing panel, followed by whole-exome sequencing. Among the MFM families, variants in DES were the main cause (n=8), followed by TTN (n=4), FHL1 (n=3), FLNC (n=2), BAG3 (n=2), MYOT (n=1) and HNRNPA2B1 (n=1). Among the DM families, DYSF (n=6) and GNE (n=4) were the most frequent disease-causative genes, followed by MYH7 (n=2), NEB (n=2), TTN (n=1), ANO5 (n=1), RYR1 (n=1), and DNM2 (n=1). DES myopathy was related to more frequent caridopathy. BAG3 myopathy was an early and severe subgroup with axial contractures, cardiac and respiratory impairment. Child FHL1 patients presented with inflammatory histology, and adult female presented a scapuloperoneal phenotype. Miyoshi phenotype was seen in dysferlinopathy and anoctaminopathy. GNE myopathy, in turn, presented with involvement of the anterior leg muscles. Recognizing these myopathies is important due to their potential severity, early cardiac complications, and respiratory failure, which can lead to preventable death.

Fonte: Artigo submetido à *Neuromuscular Disorders* em 03 de abril de 2022.