

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE MEDICINA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA: CIÊNCIAS MÉDICAS

**CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS E GENÉTICAS DA DISTROFIA MUSCULAR
DE CINTURAS TIPO 2G/R7-TELETONINA NA POPULAÇÃO BRASILEIRA**

Tobias Gaviraghi

Porto Alegre

2023

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE MEDICINA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA: CIÊNCIAS MÉDICAS

**CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS E GENÉTICAS DA DISTROFIA MUSCULAR
DE CINTURAS TIPO 2G/R7-TELETONINA NA POPULAÇÃO BRASILEIRA**

Tobias Gaviraghi

Orientador: Prof. Dr. Jonas Alex Morales Saute

Dissertação apresentada como requisito parcial para obtenção de título de Mestre em Medicina: Ciências Médicas, da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Programa de Pós-Graduação em Medicina: Ciências Médicas.

Porto Alegre

2023

CIP - Catalogação na Publicação

Gaviraghi, Tobias
CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS E GENÉTICAS DA DISTROFIA
MUSCULAR DE CINTURAS TIPO 2G/R7-TELETONINA NA
POPULAÇÃO BRASILEIRA / Tobias Gaviraghi. -- 2023.
76 f.
Orientador: Jonas Alex Morales Saute.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal do
Rio Grande do Sul, Faculdade de Medicina, Programa de
Pós-Graduação em Medicina: Ciências Médicas, Porto
Alegre, BR-RS, 2023.

1. Distrofias Musculares. 2. Distrofia Muscular do
Cíngulo dos Membros. 3. Progressão da Doença. 4.
Doenças Neuromusculares. 5. Genética Humana. I. Saute,
Jonas Alex Morales, orient. II. Título.

Epígrafe:

“Não há prazer mais complexo que o do pensamento.”

Jorge Luís Borges.

Agradecimentos

Aos meus pais que me proporcionaram todas as oportunidades que um filho pode ter e por serem modelo de força, resiliência e carinho.

A minha irmã, Milena Virginia Gaviraghi, por sua ternura e compreensão.

À minha futura esposa, Gabriela Petitot Rezende, pelo apoio incondicional, mesmo nos momentos mais difíceis, e pelo amor, sempre.

A todos os pesquisadores que forneceram dados para esta pesquisa.

Ao grupo de pesquisa em genética de doenças neuromusculares da UFRGS (NEMUG).

Ao meu orientador Prof. Dr. Jonas Alex Morales Saute pela ajuda em todas as etapas do projeto, pela paciência, pelos ensinamentos e pela amizade.

RESUMO:

Introdução: A distrofia muscular de cinturas (LGMD, da sigla em inglês) tipo 2G/R7 relacionada à teletonina, causada por variantes patogênicas bi-alélicas no gene *TCAP*, leva à fraqueza muscular progressiva das cinturas pélvica e escapular, além do compartimento anterior da perna, iniciando usualmente a partir da segunda década de vida. A descrição do *locus* LGMD2G/R7 e do gene *TCAP* como causador da doença foi realizada no Brasil, onde é estimado que esta doença seja responsável por cerca de 5% dos casos de LGMD autossômicas recessivas e em que praticamente todos os casos são homozigotos para a variante *nonsense* c.157C>T/(p.Gln53*). **Objetivos:** Nosso objetivo foi expandir a descrição das características clínicas e genéticas dos pacientes com LGMD2G/R7 no Brasil e compará-la com os relatos e séries de casos já relatados na literatura mundial. **Metodologia:** Realizamos uma coorte histórica multicêntrica (13 centros, 8 na região sudeste, 4 na região sul e 1 no centro-oeste) em que dados clínicos e genéticos de casos-índices e familiares afetados com diagnóstico confirmado de LGMD2G/R7 foram revisados entre julho de 2017 até setembro de 2023. Foram construídas curvas de sobrevivência para necessidade de dispositivos auxiliares de marcha e de cadeira de rodas e estratificadas de acordo com o sexo do participante. Posteriormente foi realizada busca sistematizada da literatura dos casos já descritos até o momento de LGMD2G/R7 globalmente. **Resultados:** Foram identificados 39 casos de LGMD2G/R7 no Brasil, todos homozigotos para a variante patogênica c.157C>T/(p.Gln53*). Cerca de 60% necessitava do uso de dispositivos auxiliares de marcha, sendo a mediana de duração da doença para atingir esta incapacidade de 21 (5.2-36.7) anos. Já 36.8% necessitavam de cadeira de rodas para locomoção, sendo a mediana de duração da doença para atingir esta incapacidade de 33 (28.6-37.4) anos. Apesar da idade de início ter sido similar entre homens e mulheres, a progressão para incapacidade foi significativamente menor entre as mulheres. Envolvimento cardíaco e respiratório foram pouco frequentes. No mundo, encontramos 81 famílias (106 casos) descritas, sendo o Brasil o país com maior número de famílias, 31 (37,5% do total). Globalmente foram descritas variantes do tipo nonsense,

frameshift, intrônicas e pequena duplicação em homozigose ou heterozigose composta, sendo 88.7% das variantes de perda de função. As variantes mais frequentemente encontradas foram a c.157C>T/(p.Gln53*) presente em 38,75% das famílias, principalmente no Brasil, a c.75G>A (p.Trp25*) presente em 16,25%, principalmente na Bulgária, e a variante c.26_33dupAGGTGTCG/(p.Glu12Argfs*20) presente em 15%, principalmente na China. **Conclusão:** A LGMD2G/R7 é mais frequente no Brasil do que previamente relatado, sendo a totalidade dos casos, nesse estudo, causadas por uma mesma variante nonsense no *TCAP*. A velocidade de progressão para incapacidade foi similar ao de outras formas mais frequentes e mais estudadas de LGMD, como a LGMD2A/R1 relacionada à calpaína 3 e LGMD2B/R2 relacionada à disferlina, sendo possível, enquanto não há caracterização de sua história natural por desfechos de avaliação clínica, considerar comportamento similar ao dessas outras formas. Além disso, assim como descrito para LGMD2B/R2, as mulheres acometidas parecem ter progressão mais lenta da doença por fatores ainda desconhecidos. Os dados da presente dissertação são fundamentais para o planejamento de futuros estudos clínicos, incluindo estudos terapêuticos buscando tratamentos modificadores do curso incapacitante deste agravo crônico e negligenciado de saúde.

PALAVRAS-CHAVE: Distrofia muscular de cintura dos membros; LGMD2G; LGMD-R7-teletonina;TCAP; teletonina

ABSTRACT:

Introduction: Limb-girdle muscular dystrophy (LGMD) type 2G/R7 telethonin-related (LGMD2G/R7) is caused by biallelic pathogenic variants in the *TCAP* gene, and leads to progressive muscle weakness in the pelvic and scapular girdles, as well as the anterior compartment of the leg, typically beginning in the second decade of life. The causative LGMD2G/R7 *locus* and *TCAP* gene's were initially described in Brazil, where this condition is estimated to account for approximately 5% of autosomal recessive LGMD cases, with almost all cases being homozygous for the nonsense variant c.157C>T/(p.Gln53*). **Objectives:** Our aim was to expand the clinical and genetic characterization of LGMD2G/R7 patients in Brazil and compare it with previously reported cases and case series worldwide. **Methods:** We conducted a multicenter historical cohort study (13 centers, 8 in the southeast region, 4 in the south region, and 1 in the central-west region) where clinical and genetic data of index cases and affected family members with confirmed LGMD2G/R7 diagnosis were reviewed from July 2017 to September 2023. Survival curves for mobility aids and wheelchairs were constructed and stratified by participant gender. A systematic literature search was then conducted for globally reported LGMD2G/R7 cases up to the study period. **Results:** We identified 39 LGMD2G/R7 cases in Brazil, all homozygous for the pathogenic variant c.157C>T/(p.Gln53*). Approximately 60% required walking aids, with a median disease duration to reach this incapacity of 21 (5.2-36.7) years. Additionally, 36.8% were wheelchair bound, with a median disease duration to reach this incapacity of 33 (28.6-37.4) years. Despite similar age at onset between men and women, disease progression to incapacity was significantly slower in women. Cardiac and respiratory involvement was infrequent. In the systematic review, we identified 81 families (106 cases) with LGMD2G/R7 worldwide, with Brazil having the highest number of families, accounting for 31 (37.5% of the total). Worldwide reported variants included nonsense, frameshift, intronic, and small duplications in homozygosity or compound heterozygosity, with 88.7%

clearly causing loss-of-function of the gene. The most frequently found variants were c.157C>T/(p.Gln53*) in 38.75% of families, mainly in Brazil, c.75G>A (p.Trp25*) in 16.25%, mainly in Bulgaria, and the variant c.26_33dupAGGTGTCG/(p.Glu12Argfs*20) in 15%, mainly in China.

Conclusion: LGMD2G/R7 is more prevalent in Brazil than previously reported, with all cases in this study caused by the same nonsense variant in *TCAP*. The progression rate to incapacity was similar to other more common and well-studied forms of LGMD, such as LGMD2A/R1 related to calpain 3 and LGMD2B/R2 related to dysferlin. Until natural history is characterized through clinical assessment outcomes, LGMD2G/R7 can be considered to behave similarly to these other forms. Additionally, similar to LGMD2B/R2, affected women seem to experience slower disease progression due to as-yet-unknown factors. The data presented here are crucial for planning future clinical studies, including therapeutic investigations seeking to modify the disabling course of this chronic and neglected health condition.

KEY WORDS: Limb Girdle Muscular dystrophy; LGMD2G; LGMD-R7-telethonin related; *TCAP*; telethonin

LISTA DE FIGURAS:

Figura 1 - Fluxograma de pesquisa.

Figura 2 - Sarcômero muscular estriado.

Figura 3 - Estrutura do Disco Z.

Figura 4 - Estrutura da titina Z1Z2-teletonina.

Figura 5 - Knockdown do Tcap não afetou a montagem dos sarcômeros.

Figura 6 - O knockdown de Tcap afeta o desenvolvimento do túbulo T.

Figura 7 - Marco Conceitual.

Figura 8 - Mapa de distribuição da LGMD2G/R7.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

CK: creatina quinase

DM: distrofias musculares

LGMD: distrofias musculares de cinturas, da sigla do termo em inglês Limb Girdle Muscular dystrophy

LGMD2G: distrofias musculares de cinturas tipo 2G

LGMD-R7: distrofia muscular de cintura recessiva 7 relacionada à teletonina

LGMD2G/R7: distrofias musculares de cinturas tipo 2G/relacionada à teletonina

SUMÁRIO:

| | |
|---|-----------|
| 1. INTRODUÇÃO | 13 |
| 2. REVISÃO DA LITERATURA | 15 |
| 2.1 Aspectos históricos e características clínicas da LGMD2G/R7 | 16 |
| 2.2 Epidemiologia | 18 |
| 2.3 Genética Molecular e Fisiopatologia | 19 |
| 2.3.1 Modelos animais | 22 |
| 2.3.1.1 Zebrafish | 22 |
| 2.3.1.2 Modelo de camundongos | 23 |
| 2.4 Diagnóstico | 24 |
| 3. MARCO CONCEITUAL | 26 |
| 4. JUSTIFICATIVA | 27 |
| 5. OBJETIVOS | 29 |
| 5.1 Objetivo primário | 29 |
| 5.2 Objetivos secundários | 29 |
| 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS | 30 |
| 7. ARTIGO | 38 |
| 8. CONSIDERAÇÕES FINAIS | 63 |
| 8.1 Objetivo primário..... | 63 |
| 5.2 Objetivos secundários | 63 |
| 9. PERSPECTIVAS FUTURAS | 65 |
| 10. ANEXOS E APÊNDICES | 66 |

1. INTRODUÇÃO

As distrofias musculares (DM) são um grupo de doenças com grande heterogeneidade clínica e genética, compartilhando achados distróficos, tais como fibrose, variabilidade no tamanho da fibra muscular e internalização dos núcleos celulares, na análise patológica do tecido muscular (Mercuri & Muntoni, 2013). O principal fenótipo clínico é o envolvimento predominante das cinturas pélvica e escapular, como nas distrofias musculares das cinturas (LGMD, da sigla do termo em inglês).

A LGMD tipo 2G (LGMD2G), ou LGMD-R7-relacionada à teletonina (LGMD-R7), conforme nova proposta de classificação (Straub et al, 2018), é uma forma autossômica recessiva de LGMD causada por variantes patogênicas no gene *TCAP*. A perda da função da cauda de titina (*TCAP*), também conhecida como teletonina, o produto desse gene, leva à fraqueza precoce proeminente dos músculos quadríceps e tibial anterior com início médio na segunda década de vida (Moreira et al., 2000; Winckler et al., 2019). O *locus* LGMD2G/R7 foi mapeado em pacientes brasileiros em 1997 (Moreira et al., 1997). O mesmo grupo, em 2000, (Moreira et al, 2000) identificou 2 variantes patogênicas no *TCAP* em heterozigose composta como a causa da LGMD2G/R7 naquela primeira família, e que afetaram membros de 2 famílias adicionais com LGMD2G/R7, homozigotos para uma das variantes patogênicas no *TCAP* encontradas na família inicial (c.157C>T/(p.Gln53*)). Um grande e recente estudo colaborativo de LGMD2/R no Brasil liderado pelo nosso grupo de pesquisa estudou 305 famílias independentes e concluiu que a LGMD2G/R7 é responsável por 5,3% dos casos no país, sendo que todos os casos da série eram homozigotos para a variante p.Gln53* no *TCAP* (Winckler et al., 2019). Aparentemente, a LGMD2G/R7 é um subtipo ultrarraro de LGMD2/R fora do Brasil, com poucos relatos ou séries de casos descrevendo esta doença em outros países, cabendo à comunidade médica e científica brasileira assumir protagonismo no melhor entendimento desta condição e na busca por tratamentos.

O campo das doenças neuromusculares genéticas está experimentando uma revolução tanto nas possibilidades diagnósticas

(com o advento do sequenciamento massivo paralelo) quanto terapêuticas (com o advento de terapias avançadas específicas que atuam em nível de RNA ou DNA). Entretanto, o desconhecimento da história natural da LGMD2G/R7 e o baixo número de casos descritos até o momento dificultam a busca por tratamentos modificadores da doença. Não sabemos quais as melhores formas de mensuração de eficácia de terapias promissoras, nem quais os delineamentos dos estudos serão factíveis. Posto isso, o grupo de genética das doenças neuromusculares do HCPA/UFRGS iniciou linha de pesquisa para estudos avançados da LGMD2G/R7. Esta linha inclui o desenvolvimento de modelo celular em mioblastos de camundongos através de edição gênica, visando avançar no entendimento da fisiopatologia da condição e a descoberta de novas moléculas com potencial terapêutico, e a presente dissertação, que dá início aos estudos clínicos dedicados. Nosso objetivo aqui será expandir a casuística brasileira e compilar a casuística mundial desta doença, ampliando o conhecimento sobre características clínicas e genéticas da LGMD2G/R7, dando subsídios iniciais sobre o curso clínico até atingir marcos significativos de incapacidade de locomoção e seus modificadores.

2. REVISÃO DA LITERATURA

Realizamos busca na literatura de relatos de casos, séries de casos, ou coortes de pacientes com diagnóstico molecular confirmado de LGMD2G/R7. Para a busca dos estudos foram consultada as bases de dados PubMed e Bireme, utilizando-se os descritores de interesse: “LGMD2G/R7” OR “LGMDR7” OR “LGMD2G” OR “Telethoninopathy” OR “TCAP Muscular Dystrophy” em 27 de setembro de 2023.

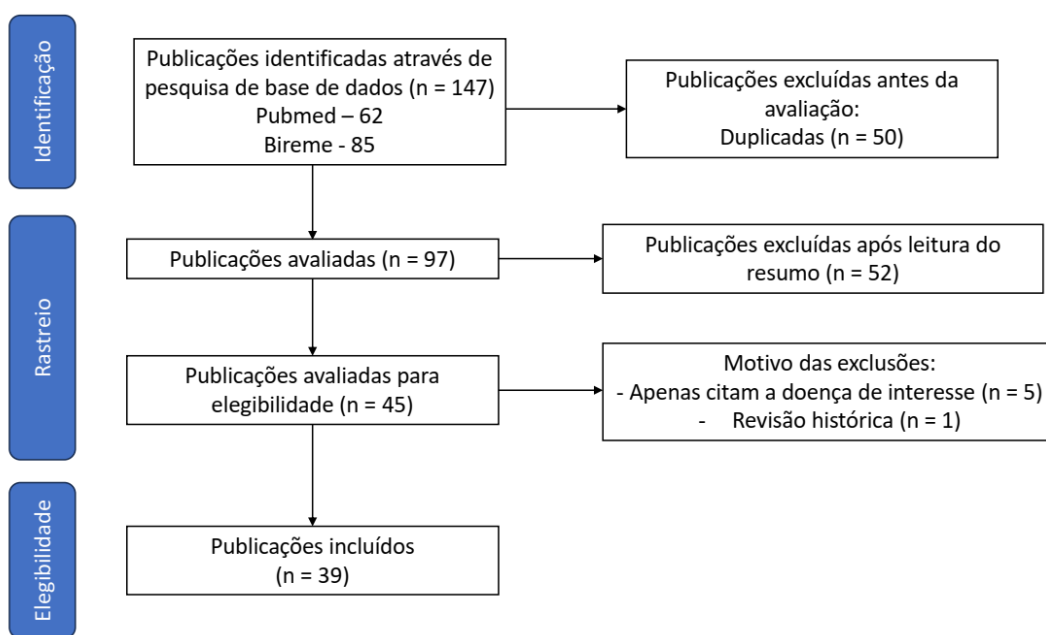


Figura 1: Fluxograma da seleção dos estudos

Foram encontradas 147 publicações, sendo 50 destas excluídas por serem duplicadas, restando 97 estudos para serem revisados. Destes 97, 52 foram excluídos após leitura do resumo por não apresentarem dados novos para a presente tese, se limitarem exclusivamente a revisão histopatológica e/ou fisiopatológica da doença, ou tratarem de modelos em animais, restando 45 publicações de interesse. Após a leitura completa, 5 publicações foram excluídas por apenas citarem a doença de interesse e 1 por se tratar de revisão histórica, restando, portanto, 39 publicações.

Antes de detalharmos os aspectos relacionados às questões da pesquisa encontrados na busca sistematizada à literatura, realizaremos uma breve revisão da literatura sobre a LGMD2G/R7 utilizando múltiplas referências

originais e de revisões narrativas sobre o tema obtidas tanto através da revisão sistematizada da literatura apresentada acima, quanto por buscas manuais sobre o tema.

2.1 Aspectos históricos e características clínicas do LGMD2G/R7

Moreira et al. (1997) relataram uma família brasileira de ascendência italiana na qual vários membros eram afetados por uma forma única de distrofia muscular de cinturas e dos membros. Os pais não afetados tiveram um total de 8 filhos, dos quais 6 foram afetados. A idade média de início foi de 12,5 anos, quando os pacientes mostraram dificuldade em caminhar, correr e subir escadas. Na mesma época, eles apresentaram dificuldade para realizar a dorsiflexão do pé. A dificuldade de andar sobre os calcanhares apareceu antes da dificuldade em caminhar na ponta dos pés. Os músculos faciais e extraoculares foram poupados em todos os pacientes. Embora os músculos do pescoço fossem levemente afetados ou não acometidos, a atrofia muscular proximal era marcada nos membros superiores e a atrofia muscular proximal e distal era evidente nos membros inferiores. Os reflexos tendinosos eram abolidos, não havendo envolvimento de nervos sensitivos e cranianos ou de coordenação motora. A presença de pés caídos foi uma característica comum a todos os pacientes. Quatro dos 6 irmãos afetados estavam em cadeira de rodas. Nenhuma evidência de doença cardíaca foi detectada. Os níveis plasmáticos de creatina quinase (CK) estavam 3 a 17 vezes aumentados nos primeiros estágios da doença, mas diminuíram a níveis quase normais naqueles pacientes que já estavam em cadeira de rodas.

Nos membros afetados da família com LGMD2G/R7 relatados por Moreira et al. (1997), Moreira et al. (2000) identificaram duas variantes no gene *TCAP* em heterozigose composta. Além disso, membros afetados de 2 famílias adicionais eram homozigotos para uma das variantes patogênicas do *TCAP*. Nos nove pacientes LGMD2G/R7 dessas duas famílias, a idade de início variou de 9 a 15 anos, com acentuada fraqueza nos músculos distais das pernas e envolvimento proximal, frequentemente com hipertrofia da panturrilha que podia ser assimétrica. Desses pacientes, cinco perderam a capacidade de andar na terceira ou quarta década, enquanto os quatro restantes (idades

variando de 22 a 44 anos) ainda eram capazes de caminhar (Moreira et al, 2000).

Considerando as descrições iniciais e séries mais recentes, a idade média no início da fraqueza muscular na LGMD2G/R7 varia de 12,5 a 12,9 anos (Moreira et al, 2000; Winckler et al, 2019). Os níveis plasmáticos de CK são geralmente elevados (3 a 17 vezes; média de 600UI/L; Moreira et al, 2000; Winckler et al, 2019) na doença e vacúolos com aros são observados nas biópsias musculares (Moreira et al, 2000). Em casos raros, a apresentação da LGMD2G/R7 se assemelha a uma miopatia distal, semelhante a Miopatia de Miyoshi, com fraqueza acentuada das panturrilhas (Zatz et al, 2003), e pode apresentar, na eletromiografia de agulha, potenciais mistos de unidades motoras neurogênicas e miopáticas, fraqueza facial, com tibial anterior poupado (Cotta et al, 2014).

Em um estudo recente que avaliou 18 pacientes brasileiros com LGMD2G/R7, coordenado pelo nosso grupo, 25% dos pacientes estavam em cadeiras de rodas e 43,8% necessitavam de auxílio de muletas ou andador para caminhar. A mediana de idade na dependência de cadeira de rodas foi de 42 anos e na dependência de ajuda para caminhar foi de 36 anos, entretanto devido ao tamanho restrito da casuística naquele momento não foi possível construir curvas de sobrevida para incapacidade. Nenhum desses pacientes apresentou cardiopatia estrutural; diferente de uma família relatada por Moreira e colegas (2000), na qual foi observado envolvimento cardíaco em 3 dos 6 membros afetados; 23% apresentaram comprometimento respiratório (Winckler et al, 2019). A história natural da LGMD2G/R7 através de desfechos de avaliação clínica (como escalas clínicas e instrumentos de performance) é desconhecida.

É importante ressaltar que a cardiomiopatia hipertrófica-25 é causada por variantes patogênicas heterozigotas *missense* em *TCAP*, apresentando herança autossômica dominante e provavelmente um mecanismo fisiopatológico diferente do LGMD2G/R7 e que este fenótipo não alvo de estudo da presente dissertação

2.2 Epidemiologia

A LGMD2G/R7 é uma doença ultrarrara, mais frequente no Brasil do que em outras regiões do mundo. Um grande e recente estudo colaborativo em LGMD2/R no Brasil que estudou 305 famílias não relacionadas descobriram que LGMD2G/R7 é responsável por 5,3% dos casos e que todos os casos eram homocigotos para a variante p.Gln53* no *TCAP* (Winckler et al. al, 2019). Curiosamente, a LGMD2G/R7 foi encontrada em proporções semelhantes no Sul, Sudeste e Centro-oeste do país, mas nenhum caso nas regiões nordeste e norte foi relatado, sugerindo que algumas diferenças de etnias entre as regiões podem estar agindo para explicar esse fenômeno.

Em um estudo recente entre 246 indivíduos da Índia com diagnóstico de LGMD2/R, 8 casos (3,25%) de 7 famílias não relacionadas foram diagnosticados com LGMD2G/R7 baseado na patologia muscular (*Western Blot*), todos do sul da Índia, compartilhando a mesma origem étnica (grupo linguístico dravidiano). A análise genética revelou uma nova variante patogênica do tipo *nonsense* c.32C>A/(p.Ser11*) em homocigose em uma família e uma duplicação de 8pb c.26_33dupAGGTGTCG/(p.Arg12fs31* em homocigose em outro paciente. Não foram encontradas variantes patogênicas em *TCAP* nas outras 5 famílias (Francis et al, 2014).

Relatos de casos de LGMD2G/R7 com a mesma variante brasileira c.157C>T/(p.Gln53*) em *TCAP* foram descritas apenas em Portugal (Negrão et al, 2010). Relatos de casos de famílias com outras variantes de perda de função em *TCAP* foram descritos na Grécia (Brusa et al, 2018), Turquia (Ikenberg et al, 2017), Astúrias, norte da Espanha (de Fuenmayor-Fernández et al, 2016), Moldávia (Olivé et al, 2008) e em duas famílias chinesas (Yee et al, 2007).

Em estudos recentes que avaliaram as frequências relativas dos subtipos de LGMD em populações maiores, um único caso de LGMD2G/R7 foi encontrado entre 483 sujeitos da Itália (Magri et al, 2017), não foram encontrados casos na Austrália (N = 100, Waddell et al, 2011) e no México (N = 290, Gómez-Díaz et al, 2012), e nenhum caso foi encontrado nos EUA entre uma série de indivíduos com miopatia miofibrilar da Clínica Mayo (N = 63, Selcen et al., 2004). Em outra grande série dos EUA, 4656 pacientes com

suspeita clínica de LGMD foram recrutados e o diagnóstico molecular foi estabelecido em 27% dos casos. Os autores encontraram mutações em *TCAP*; no entanto, eles não mencionaram o número de famílias identificadas com LGMD2G/R7, apenas descreveram que o número foi inferior a 1% das famílias com diagnóstico molecular confirmado (Nallamilli et al, 2018).

2.3 Genética Molecular e Fisiopatologia

A teletonina é uma proteína sarcomérica de 197 aminoácidos e 19 kD expressa em células musculares estriadas esqueléticas e cardíacas, localizada na periferia do disco Z (Figura 2 e 3) e que serve como âncora estrutural e como centro de sinalização (Zatz et al, 2003; Zhang et al, 2009). A teletonina é um ligante de uma grande proteína sarcomérica, a titina, auxiliando na fosforilação do domínio C-terminal da teletonina nos miócitos em diferenciação inicial.

A titina é a maior proteína conhecida nos mamíferos, podendo medir de 2970 a 3700 kD e possuindo, em média, de 27 a 33 mil aminoácidos em sua composição, dependendo da isoforma. Estende-se da linha Z à linha M e, juntamente com a teletonina, é responsável por estabilizar a fibra muscular, sendo considerada um importante sensor biomecânico, que regula o comprimento e a distensibilidade do sarcômero conforme a tensão aplicada, sendo crucial para a manutenção da arquitetura tecidual, principalmente no tecido muscular cardíaco (Castro-Ferreira et al, 2011).

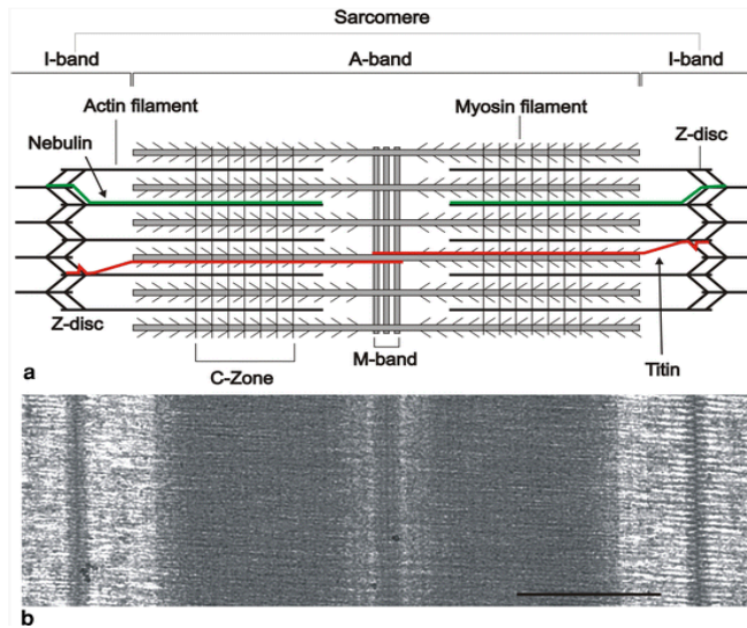


Figura 2: Sarcômero muscular estriado: a. Um diagrama esquemático mostrando os principais componentes do sarcômero. A banda A compreende filamentos de miosina reticulados no centro pela montagem da banda M. Os filamentos finos contendo actina são amarrados na extremidade farpada no disco Z e interdigitam com os filamentos grossos na banda A. Duas proteínas gigantes contribuem para a estrutura do disco Z, a nebulina (800 kDa) corre ao longo dos filamentos finos e se sobrepõe ao disco Z, e a titina (3 MDa) com 1 μm de comprimento corre entre a linha M e o disco Z. b. Micrografia eletrônica de uma seção longitudinal do músculo branco de peixe mostrando detalhes do sarcômero. Adaptado de Luther PK et al, 2009.

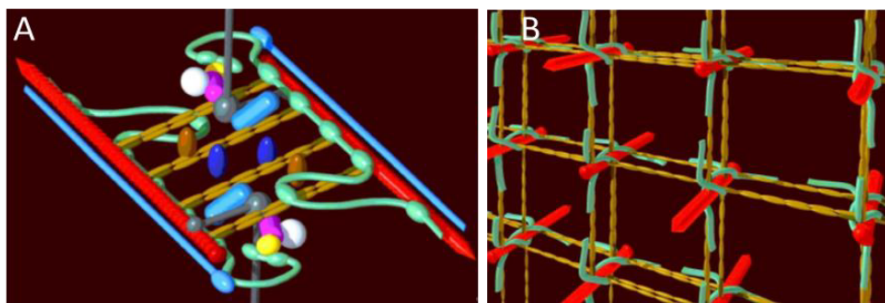


Figura 3. Estrutura do Disco Z: A) O disco Z está representado esquematicamente como um único par de F-actinas antiparalelas (barras vermelhas) unidas por α -actinina 2 (bege). A região N-terminal da titina (verde) interage com a teletonina (amarela) e com a região C terminal da nebulina (haste azul) antes de atravessar o disco Z, onde um número variável de repetições Z (ovais verdes) organiza a ligação de α -actinina 2. A titina também interage com a porção central da α -actinina 2, antes de prosseguir em direção ao centro do sarcômero (não mostrado). B) Essa representação 3D ajuda a definir a topologia correta de três componentes principais do disco Z: α -actinina (bege), F-actina (vermelho) e a parte N-terminal da titina

(verde). Neste desenho, a F-actina é organizada em uma geometria quadrada, conforme indicado pelos dados EM, e a α -actinina está unindo a F-actina nos "lados" dos quadrados. Duas moléculas de titina foram colocadas ao redor de cada F-actina. Adaptado de Faulkner et al., 2001.

A teletonina cola duas titinas paralelas (Figura 3) no mesmo sarcômero, ligando-se diretamente ao seu domínio Z1Z2 N-terminal, aumentando drasticamente a capacidade de resistência mecânica da titina (Zhang et al, 2009). A teletonina também pode se sobrepor à miosina e está entre as proteínas mais abundantes no músculo. A interação da teletonina com a titina parece ser importante na miofibrilogênese (Mayans et al., 1998; Zatz et al, 2003). A teletonina também interage com miostatina, cal sarcina, Ankrd2, proteína quinase D e BMP10 (Zhang et al, 2009). Vários parceiros detectados pelo TCAP em um interactoma de proteínas envolvidas nas LGMD sugerem que ela também pode desempenhar um papel na manutenção da integridade do genoma, de acordo com o recente relato que mostra uma relação entre TCAP e o *turnover* de p53 (Blandin et al, 2013).

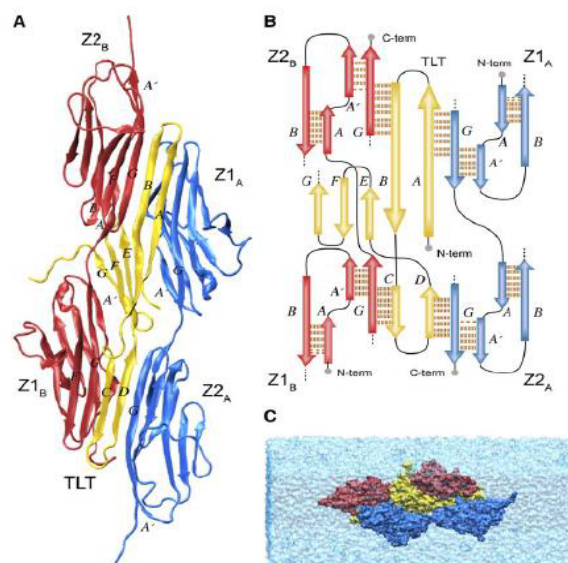


Figura 4. Estrutura da titina Z1Z2-teletonina: (A) Representação gráfica de dois domínios Z1Z2 Ig da titina N-terminal separados, unidos por um fragmento da molécula de teletonina N-terminal (TLT). Duas moléculas de titina são individualmente coloridas em azul e vermelho (ZA e ZB, respectivamente); TLT é colorido de amarelo. (B) Esquema detalhado do alinhamento da fita b para o complexo de titina Z1Z2-teletonina (T2T); (C) Vista em superfície do conjunto T2T, ilustrando o extenso contato e interdigitação dos domínios da folha TLT b entre moléculas de titina opostas. Adaptado de Lee et al, 2006.

2.3.1 Modelos animais

2.3.1.1 Zebrafish

O zebrafish emergiu recentemente como um modelo de organismo promissor para o estudo de distrofias musculares. A depleção de *tcap*, homólogo do TCAP no zebrafish, resultou em fenótipos do tipo distrofia muscular com uma interação sarcômero-membrana alterada, mas com reunião normal do sarcômero. Curiosamente, um padrão único de expressão de *Tcap* foi encontrado 48 horas após a fertilização (hpf), diferente em cada embrião. Em alguns embriões, os transcritos de *tcap* foram detectados apenas anteriormente, somente posteriormente, somente dorsalmente ou apenas ventralmente. A expressão variável da *Tcap* se correlaciona com o aparecimento de espasmos corporais, sugerindo que a transcrição da *tcap* pode responder à força de estiramento (Zhang et al, 2009).

O *knock-out* da expressão da teletonina no zebrafish leva a fenótipos moderados ou graves de fraqueza, que foram resgatados pela co injeção do mRNA de *TCAP* (Zhang et al, 2009), confirmando o modelo de perda de função para a patogênese desta doença. Estes estudos genéticos sugeriram que a patogênese no LGMD2G/R7 é devida a uma interrupção da interação sarcômero-túbulos T (Figura 5), mas não da estrutura de organização da unidade sarcomérica por si só.

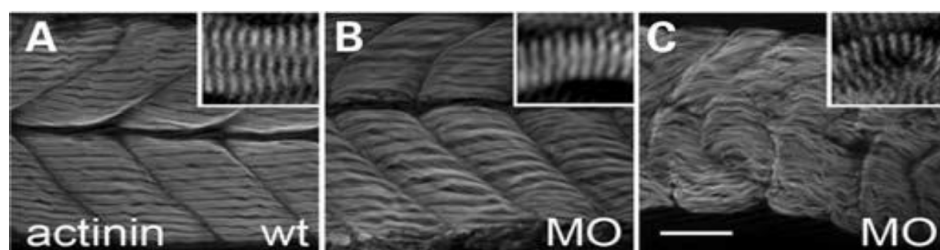


Figura 5 - Knockdown do Tcap não afetou a montagem dos sarcômeros: (A – C) Coloração anti- α -actinina de peixes de tipo selvagem (A) e mutantes de *tcap* com fenótipo fraco (B) ou grave (C). Embora as miofibrilas nos *tcap* parecessem onduladas, desorientadas e desiguais em comprimento, elas ainda tinham um padrão estriado bem organizado, indicando a montagem ininterrupta do disco Z. Adaptado de Zhang et al, 2009.

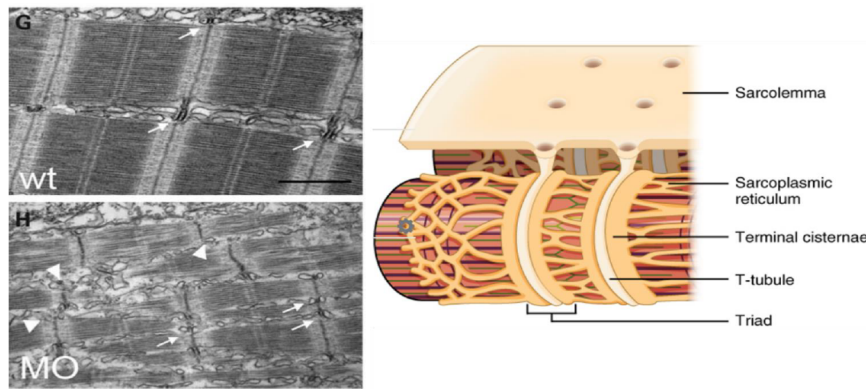


Figura 6 - O knockdown de Tcap afeta o desenvolvimento do túbulo T: Imagens representativas da microscopia eletrônica mostrando o alinhamento do túbulo T e do disco Z em peixes do tipo selvagem (G) ou em mutantes tcap (H). Ao contrário dos peixes do tipo selvagem com túbulos T e discos Z bem alinhados (seta), os túbulos T nos mutantes estavam desalinhados ou ausentes em algumas regiões (ponta de seta).

2.3.1.2 Modelo de camundongos

Em 2010, Markert et al. geraram camundongos *knockout* no *TCAP* e descreveram a função muscular esquelética em camundongos afetados com 4 e 12 meses de idade. A histologia muscular de camundongos *Tcap*-null revelou variação anormal do tamanho das miofibras com nucleação central, semelhante aos achados nos músculos de pacientes com LGMD2G/R7. Uma análise de uma proteína de ligação ao Tcap, miostatina, mostrou que a deleção do Tcap era acompanhada por níveis proteicos aumentados de miostatina. Os camundongos *Tcap*-null exibiram um declínio na capacidade de manter o equilíbrio no rota-rod em relação aos controles do tipo selvagem. Não foram detectadas diferenças nos ensaios de força ou fadiga dos músculos extensores longos dos dedos ou sóleo (Markert et al 2010). Ibrahim et al. descobriram que, aos 3 meses de idade, a densidade do túbulo T parecia normal em cardiomiócitos isolados de camundongo *Tcap* - / -, mas que havia defeitos isolados do túbulo T e pequenas alterações no manuseio do cálcio. Aos 8 meses de idade, os cardiomiócitos *Tcap* - / - apresentaram perda progressiva dos túbulos T, remodelação da superfície celular e potenciais de cálcio prolongados e dissíncronos. Os camundongos *Tcap* - / - foram mais sensíveis do que o tipo selvagem à sobrecarga mecânica crônica devido à constrição aórtica torácica, com maior frequência de disparo de cálcio, perda significativa

dos túbulos T e de sua regularidade. Esses autores concluíram que o TCAP é um regulador dependente da carga da estrutura e função dos túbulos T no coração (Ibrahim et al, 2013).

2.4 Diagnóstico

Devido à grande heterogeneidade clínica e genética da LGMD, um diagnóstico definitivo não será possível com base apenas nos achados clínicos. A elevação da CK é inespecífica e sua ausência não exclui esse diagnóstico. A eletroneuromiografia é geralmente de pouca utilidade na diferenciação entre formas hereditárias de doença muscular (Paganoni S, et al, 2013)

Até recentemente, a biópsia muscular era considerada o exame diagnóstico de escolha para LGMD, permitindo a avaliação de achados morfológicos mais específicos e o uso de anticorpos para avaliar a quantidade e localização de diferentes proteínas musculares. Além das características distróficas usuais, muitas fibras musculares tinham um ou mais vacúolos com aros na histopatologia de pacientes com LGMD2G/R7. A imuno-histoquímica e a análise de Western blot demonstram deficiência de teletonina (Vainzof M, et al, 2002).

Novamente, a grande heterogeneidade clínica e genética da LGMD torna extremamente trabalhoso e caro o uso de técnicas convencionais de sequenciamento de DNA para essas condições. Com o advento da tecnologia de sequenciamento massivo paralelo, é possível analisar vários genes ao mesmo tempo, a um custo reduzido. O diagnóstico molecular precisará encerrar a investigação do paciente; na maioria das vezes, não haverá necessidade de exames complementares adicionais, geralmente caros e invasivos; possibilitará aconselhamento genético adequado e, assim, aumentará a possibilidade de opções reprodutivas apropriadas para o casal; além do desenvolvimento de novas estratégias terapêuticas. O *TCAP* é um gene pequeno que pode ser avaliado por técnicas convencionais de sequenciamento, no entanto, como a suspeita clínica não é específica o suficiente e mesmo no Brasil onde a LGMD2G/R7 é mais frequente, sua frequência representa apenas 5% dos casos de LGMD2/R (Winckler et al., 2019; Winckler et al, 2022), a análise de

múltiplos genes por painéis ou sequenciamento de exoma será geralmente uma abordagem diagnóstica mais eficiente.

3. MARCO CONCEITUAL:

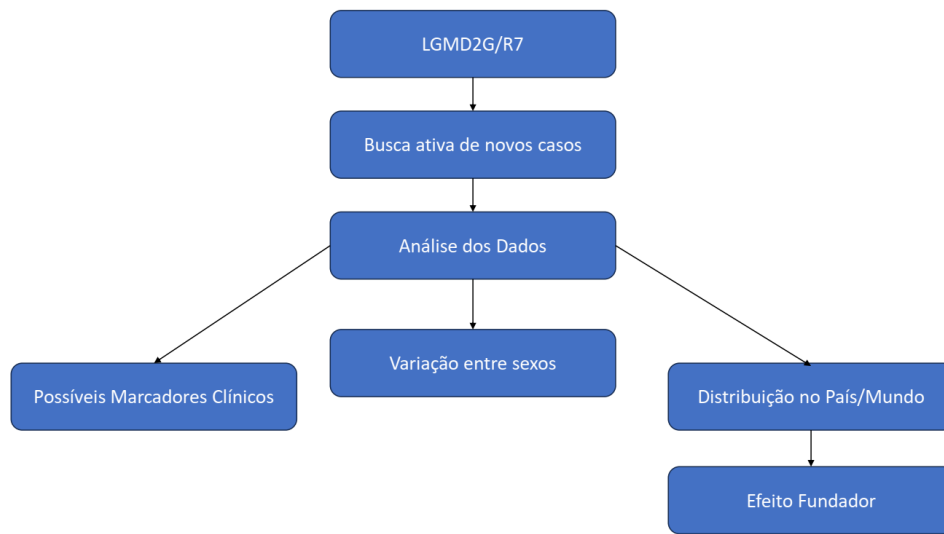


Figura 7: Marco Conceitual

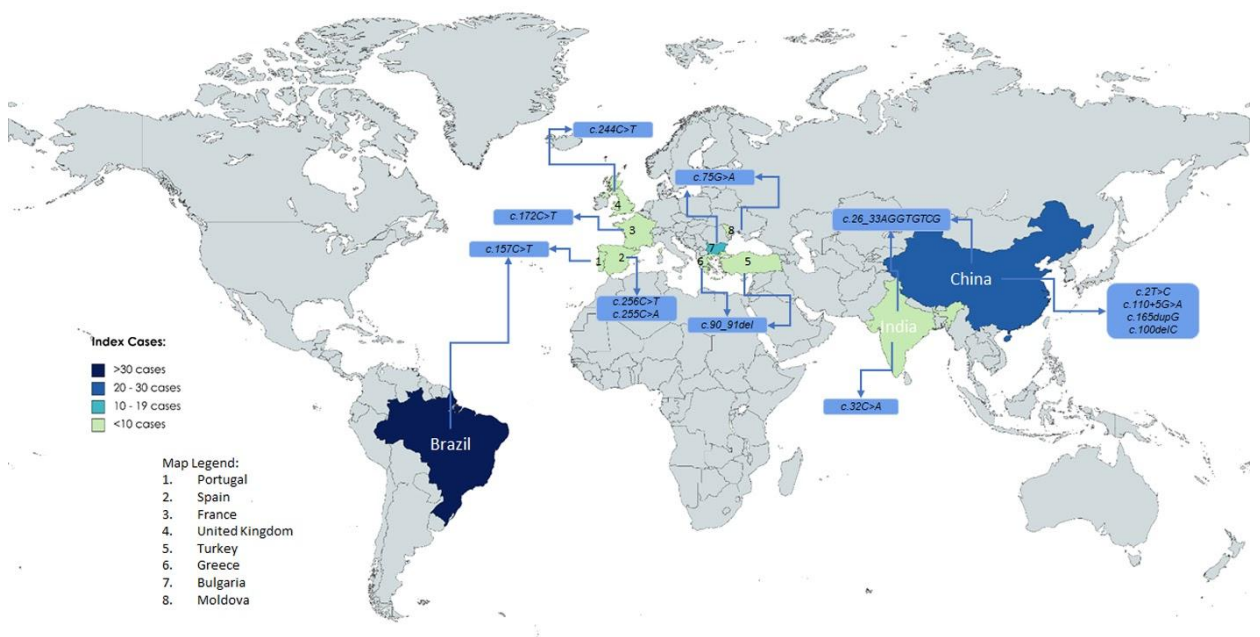


Figura 8: Mapa de distribuição da LGMD2G/R7.

4. JUSTIFICATIVA

A distrofia muscular de cinturas tipo 2G/R7-teletonina (LGMD2G/R7) é uma doença neuromuscular autossômica recessiva rara e atualmente incurável, causada por variantes patogênicas bi-alélicas no *TCAP*. A perda de função da teletonina, o produto desse gene, leva a uma fraqueza precoce proeminente dos grupos musculares do quadríceps e tibial anterior de início na adolescência ou no início da vida adulta que resulta em significativa incapacidade de locomoção.

A descrição do *locus* LGMD2G/R7 e do *TCAP* como gene causador da doença foi realizada no Brasil, onde essa doença é responsável por 5,3% do LGMD2/R e onde praticamente todos os casos são homozigotos para a variante *nonsense* p.Gln53* (Winckler et al., 2019). Fora do Brasil, a LGMD2G/R7 é um subtipo ultrarraro de LGMD2/R, com escassos relatos de casos descrevendo esta doença.

Nos últimos anos, o campo das doenças neuromusculares vem experimentando uma revolução nas ferramentas diagnósticas e nas possibilidades de tratamento, especialmente para doenças monogênicas. Contudo, a LGMD2G/R7 pertence ao grupo de enfermidades que não possui tratamento modificador da doença. Aparentemente, a LGMD2G/R7 é um subtipo ultrarraro de LGMD2/R fora do Brasil, com poucos relatos ou séries de casos, descrevendo esta doença em outros países, cabendo à comunidade médica e científica brasileira assumir protagonismo no melhor entendimento desta condição e na busca por tratamentos.

A maior casuística já relatada até o momento no Brasil, vem de um estudo recente (Winckler et al., 2019) liderado pelo nosso grupo no qual como já dito a LGMD2G/R7 foi responsável por 5,3% dos pacientes com LGMD2/R. Contudo, como iniciativa similar à presente, mas na LGMD2L/R12, encontrou 37 pacientes brasileiros (Silva et al, 2019), sendo que a coorte geral (Winckler et al, 2019) havia encontrado apenas 12 casos desta outra condição, é esperado que haja mais casos no Brasil, sendo possível, assim, a ampliação da série brasileira, facilitando a avaliação das características fenotípicas e genotípicas, facilitando o caminho para futuros estudos que se proponham a

pesquisa de biomarcadores clínicos e escalas funcionais específicas para a doença, pensando em medir resultados de novos tratamentos moleculares.

5. OBJETIVO

5.1 Objetivo primário:

Tentar expandir a descrição das características clínicas e genéticas dos pacientes com LGMD2G/R7.

5.2 Objetivos secundários:

5.2.1. Fornecer dados mais acurados sobre idade de início de doença, incapacidade de locomoção, níveis de CK e variantes patogênicas mais frequentes.

5.2.2 Descrever a progressão da doença através de marcos de incapacidade de locomoção

5.2.3. Buscar modificadores clínicos e genéticos desta progressão para incapacidade

5.2.4. Avaliar a frequência de acometimento respiratório e cardíaco.

5.2.5. Descrever a distribuição da doença no Brasil.

5.2.6. Descrever a distribuição da doença no Mundo.

5.2.7. Dar subsídios iniciais sobre a possibilidade de efeito fundador.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

1. Alfano LN, Miller NF, Berry KM, Yin H, Rolf KE, Flanigan KM, Mendell JR, Lowes LP. The 100-meter timed test: Normative data in healthy males and comparative pilot outcome data for use in Duchenne muscular dystrophy clinical trials. *Neuromuscul Disord.* 2017 May;27(5):452-457.
2. Anaya-Segura, M.A.; García-Martínez, F.A.; Montes-Almanza, L.Á.; Díaz, B.-G.; Ávila-Ramírez, G.; Alvarez-Maya, I.; Coral-Vázquez, R.M.; Mondragón-Terán, P.; Escobar-Cedillo, R.E.; García-Calderón, N.; Vázquez-Cardenas, N.A.; García, S.; López-Hernández, L.B. Non-Invasive Biomarkers for Duchenne Muscular Dystrophy and Carrier Detection. *Molecules* 2015, 20, 11154-11172.
3. Batcho CS, Van den Bergh PY, Van Damme P, Roy AJ, Thonnard JL, Penta M; BNMDR Scientific Committee. How robust is ACTIVLIM for the follow-up of activity limitations in patients with neuromuscular diseases? *Neuromuscul Disord.* 2016 Mar;26(3):211-20.
4. Bostrom P, Wu J, Jedrychowski MP, Korde A, Ye L, Lo JC, Rasbach KA, Bostrom EA, Choi JH, Long JZ, Kajimura S, Zingaretti MC, Vind BF, et al. A PGC1-alpha-dependent myokine that drives brown-fat-like development of white fat and thermogenesis. *Nature.* 2012; 481: 463-8.
5. Bradley, L.; Yaworsky, P.J.; Walsh, F.S. Myostatin as a therapeutic target for musculoskeletal disease. *Cell. Mol. Life Sci.* 2008, 65, 2119–2124.
6. Brooke MG, Griggs RC, Mendell JR, Fenichel, GM, Shumate JB and Peggegrino RJ (1981). Clinical trial in duchenne dystrophy. I The Design of the Protocol. *Muscle and Nerve:* 4:186-197.
7. Brusa R, Magri F, Papadimitriou D, Govoni A, Del Bo R, Ciscato P, Savarese M, Cinnante C, Walter MC, Abicht A, Bulst S, Corti S, Moggio M, Bresolin N, Nigro V, Comi GP. A new case of limb girdle muscular dystrophy 2G in a Greek patient, founder effect and review of the literature. *Neuromuscul Disord.* 2018 Jun;28(6):532-537.
8. Burch, P. M., Pogoryelova, O., Palandra, J., Goldstein, R., Bennett, D., Fitz, L., et al. (2017). Reduced serum myostatin concentrations

- associated with genetic muscle disease progression. *Journal of Neurology*, 264(3), 541–553.
9. CASTRO-FERREIRA, Ricardo et al. The role of titin in the modulation of cardiac function and its pathophysiological implications. *Arq. Bras. Cardiol.*, São Paulo , v. 96, n. 4, p. 332-339, abr. 2011
 10. Chang, J., Kim, T., Nguyen, T., Park, K., Kim, N. and Kong, I., 2017. Circulating irisin levels as a predictive biomarker for sarcopenia: A cross-sectional community-based study. *Geriatrics & Gerontology International*, 17(11), pp.2266-2273.
 11. Chung HK, D. Ryu, K.S. Kim, J.Y. Chang, Y.K. Kim, H.S. Yi, et al., Growth differentiation factor 15 is a myomitokine governing systemic energy homeostasis, *J. Cell. Biol.* 216 (2016) 149–165.
 12. Cotta A, Paim JF, da-Cunha-Junior AL, Neto RX, Nunes SV, Navarro MM, Valicek J, Carvalho E, Yamamoto LU, Almeida CF, Braz SV, Takata RI, Vainzof M. Limb girdle muscular dystrophy type 2G with myopathic-neurogenic motor unit potentials and a novel muscle image pattern. *BMC Clin Pathol.* 2014 Oct 4;14:41.
 13. DALGAS, U, KJØLHEDE, T, GIJBELS, D, ROMBERG, A, SANTOYO, C, NOORDHOUT, BM, KNUTS, K, FEYS, P. Aerobic intensity and pacing pattern during the six-minutewalk-test in patients with multiple sclerosis. *J Rehabil Med* 2014;46:59-66.
 14. de Fuenmayor-Fernández de la Hoz CP, Hernández-Laín A, Olivé M, Fernández-Marmiesse A, Domínguez-González C. Novel mutation in TCAP manifesting with asymmetric calves and early-onset joint retractions. *Neuromuscul Disord.* 2016 Nov;26(11):749-753.
 15. de Lattre C, Payan C, Vuillerot C, Rippert P, de Castro D, Bérard C, Poirot I; MFM-20 Study Group. Motor function measure: validation of a short form for young children with neuromuscular diseases. *Arch Phys Med Rehabil.* 2013 Nov;94(11):2218-26.
 16. Faulkner G, Lanfranchi G, Valle G. Telethonin and other new proteins of the Z-disc of skeletal muscle. *IUBMB Life.* 2001 May;51(5):275-82.
 17. Fanin M, Angelini C. Muscle pathology in dysferlin deficiency. *Neuropathol Appl Neurobiol* 2002, 28:461-470.

18. Fischer D, Kley RA, Strach K, et al. Distinct muscle imaging patterns in myofibrillar myopathies. *Neurology* 2008;71:758–65.; 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.
19. Francis A, Sunitha B, Vinodh K, Polavarapu K, Katkam SK, Modi S, Bharath MM, Gayathri N, Nalini A, Thangaraj K. Novel TCAP mutation c.32C>A causing limb girdle muscular dystrophy 2G. *PLoS One*. 2014 Jul 23;9(7):e102763.
20. Gómez-Díaz B, Rosas-Vargas H, Roque-Ramírez B, Meza-Espinoza P, Ruano-Calderón LA, Fernández-Valverde F, Escalante-Bautista D, Escobar-Cedillo RE, Sánchez-Chapul L, Vargas-Cañas S, López-Hernández LB, Bahena-Martínez E, Luna-Angulo AB, Canto P, Coral-Vázquez RM. Immunodetection analysis of muscular dystrophies in Mexico. *Muscle Nerve*. 2012 Mar;45(3):338-45.
21. Guy W, ECDEU Assessment Manual for Psychopharmacology, rev. ed. National Institute of Mental Health, Rockville (Maryland), 1976.
22. Ikenberg E, Karin I, Ertl-Wagner B, Abicht A, Bulst S, Krause S, Schoser B, Reilich P, Walter MC. Rare diagnosis of telethoninopathy (LGMD2G) in a Turkish patient. *Neuromuscul Disord*. 2017 Sep;27(9):856-860.
23. Henricson E, Abresch R, Han JJ, Nicorici A, Goude Keller E, de Bie E, et al. The 6-Minute Walk Test and Person-Reported Outcomes in Boys with Duchenne Muscular Dystrophy and Typically Developing Controls: Longitudinal Comparisons and Clinically-Meaningful Changes Over One Year. *PLoS Curr*. 2013;5.
24. Huh, J., Panagiotou, G., Mougios, V., Brinkoetter, M., Vamvini, M., Schneider, B. and Mantzoros, C., 2012. FNDC5 and irisin in humans: I. Predictors of circulating concentrations in serum and plasma and II. mRNA expression and circulating concentrations in response to weight loss and exercise. *Metabolism*, 61(12), pp.1725-1738.
25. Iredale JP Tissue inhibitors of metalloproteinases in liver fibrosis. *Int J Biochem Cell Biol* 29:43–54 21. (1997);
26. Iwabe C, Miranda-Pfeilsticker BH, Nucci A. *Rev Bras Fisioter*. 2008;12(5):417-24.
27. Jin, Q., Qiao, C., Li, J. et al. A GDF11/myostatin inhibitor, GDF11

- propeptide-Fc, increases skeletal muscle mass and improves muscle strength in dystrophic mdx mice. *Skeletal Muscle* 9, 16 (2019)
28. Jong L, Wolterman RA, Hillarius SM, Bolhuis PA. Collagen synthesis in cultured myoblasts and myotubes from patients with Duchenne muscular dystrophy. *J Neurol Sci* (1987)82:271–280.
 29. Katzberg HD, Barnett C, Merkies IS, Bril V. Minimal clinically important difference in myasthenia gravis: outcomes from a randomized trial. *Muscle Nerve*. 2014;49(5):661-5.
 30. Lee EH, Gao M, Pinotsis N, Wilmanns M, Schulten K. Mechanical strength of the titin Z1Z2-telethonin complex. *Structure*. 2006 Mar;14(3):497-509.
 31. Li H, Mittal A, Makonchuk DY, Bhatnagar S, Kumar A. Matrix metalloproteinase-9 inhibition ameliorates pathogenesis and improves skeletal muscle regeneration in muscular dystrophy. *Hum Mol Genet* 2009;18:2584–98
 32. Li, F., Li, Y., Duan, Y., Hu, C., Tang, Y. and Yin, Y., 2017. Myokines and adipokines: Involvement in the crosstalk between skeletal muscle and adipose tissue. *Cytokine & Growth Factor Reviews*, 33, pp.73-82.
 33. Luther, P.K. *J Muscle Res Cell Motil* (2009) 30: 171.
 34. Kim, H., So, B., Choi, M., Kang, D. and Song, W., 2015. Resistance exercise training increases the expression of irisin concomitant with improvement of muscle function in aging mice and humans. *Experimental Gerontology*, 70, pp.11-17.
 35. Magri F, Nigro V, Angelini C, Mongini T, Mora M, Moroni I, Toscano A, D'angelo MG, Tomelleri G, Siciliano G, Ricci G, Bruno C, Corti S, Musumeci O, Tasca G, Ricci E, Monforte M, Sciacco M, Fiorillo C, Gandossini S, Minetti C, Morandi L, Savarese M, Fruscio GD, Semplicini C, Pegoraro E, Govoni A, Brusa R, Del Bo R, Ronchi D, Moggio M, Bresolin N, Comi GP. The italian limb girdle muscular dystrophy registry: Relative frequency, clinical features, and differential diagnosis. *Muscle Nerve*. 2017 Jan;55(1):55-68.
 36. Maruyama N, Asai T, Abe C, Inada A, Kawauchi T, Miyashita K, Maeda M, Matsuo M, Nabeshima YI. Establishment of a highly sensitive

- sandwich ELISA for the N-terminal fragment of titin in urine. *Sci Rep.* 2016 Dec 19;6:39375.
37. Mavrogeni, SI; Markousis-Mavrogenis, G; Papavasiliou, A; Papadopoulos, G; Kolovou, G. Cardiac Involvement in Duchenne Muscular Dystrophy and Related Dystrophinopathies. *Methods Mol. Biol.*, 2018; 1687:31-42.
 38. Mayans O, van der Ven PF, et al. Structural basis for activation of the titin kinase domain during myofibrillogenesis. *Nature* 1998;395(6705):863–869.
 39. McCawley LJ, Matrisian LM (2001) Matrix metalloproteinases: they are not just for matrix anymore. *Curr Opin Cell Biol* 13:534–540.
 40. Mercuri E, Muntoni F. Muscular dystrophy: new challenges and review of the current clinical trials *Curr Opin Pediatr* 2013;25:701-7.
 41. Moore U, Jacobs M, James MK, et al. Assessment of disease progression in dysferlinopathy: A 1-year cohort study. *Neurology.* 2019 Jan 9;92(5):e461–74.
 42. Moreira ES, Wiltshire TJ, et al. Limb-girdle muscular dystrophy type 2G is caused by mutations in the gene encoding the sarcomeric protein telethonin. *Nat Genet* 2000;24(2):163–166.
 43. Murphy, K.T.; Ryall, J.G.; Snell, S.M.; Nair, L.; Koopman, R.; Krasney, P.A.; Ibebunjo, C.; Holden, K.S.; Loria, P.M.; Salatto, C.T.; et al. Antibody-directed myostatin inhibition improves diaphragm pathology in young but not adult dystrophic mdx mice. *Am. J. Pathol.* 2010, 176, 2425–2434.
 44. Nadarajah VD, van Putten M, Chaouch A, Garrood P, Straub V, Lochmüller H, Ginjaar HB, Aartsma-Rus AM, van Ommen GJ, den Dunnen JT, 't Hoen PA. Serum matrix metalloproteinase-9 (MMP-9) as a biomarker for monitoring disease progression in Duchenne muscular dystrophy (DMD). *Neuromuscul Disord.* 2011 Aug;21(8):569-78.
 45. Nallamilli BRR, Chakravorty S, Kesari A, Tanner A, Ankala A, Schneider T, da Silva C, Beadling R, Alexander JJ, Askree SH, Whitt Z, Bean L, Collins C, Khadilkar S, Gaitonde P, Dastur R, Wicklund M, Mozaffar T, Harms M, Rufibach L, Mittal P, Hegde M. Genetic landscape and novel

- disease mechanisms from a large LGMD cohort of 4656 patients. *Ann Clin Transl Neurol.* 2018 Dec 1;5(12):1574-1587.
46. Negrão L, Matos A, Geraldo A, Rebelo O. Limb-girdle muscular dystrophy in a Portuguese patient caused by a mutation in the telethonin gene. *Acta Myol.* 2010 Jul;29(1):21-4.
 47. Olivé M, Shatunov A, Gonzalez L, Carmona O, Moreno D, Quereda LG, Martinez-Matos JA, Goldfarb LG, Ferrer I. Transcription-terminating mutation in telethonin causing autosomal recessive muscular dystrophy type 2G in a European patient. *Neuromuscul Disord.* 2008 Dec;18(12):929-33.
 48. Paepe, Boel & Verhamme, Fien & Bleecker. The myokine GDF-15 is a potential biomarker for myositis and associates with the protein aggregates of sporadic inclusion body myositis. *Cytokine.* 127. Jan. (2020).
 49. Peyré-Tartaruga, L.A; Monteiro, E.P. PERSPECTIVE: A new integrative approach to evaluate pathological gait: locomotor rehabilitation index. *Clinical Trials in Degenerative Diseases.* 2016; 1(2):86-90.
 50. Rouillon J, Zocevic A, Leger T, et al. Proteomics profiling of urine reveals specific titin fragments as biomarkers of Duchenne muscular dystrophy. *Neuromuscul Disord.* 2014 Jul;24(7):563-73.
 51. Sartori R, et al. Smad2 and 3 transcription factors control muscle mass in adulthood. *Am J Physiol Cell Physiol.* 2009;296:C1248–57.
 52. Sartori R, Gregorevic P, Sandri M (2014) TGF beta and BMP signaling in skeletal muscle: potential significance for muscle-related disease. *Trends Endocrinol Metab* 25:464–47.
 53. Schmitz-Hübsch T, Coudert M, Giunti P, Globas C, Baliko L, Fancellu R, Mariotti C, Filla A, Rakowicz M, Charles P, Ribai P, Szymanski S, Infante J, van de Warrenburg BP, Dürr A, Timmann D, Boesch S, Rola R, Depondt C, Schöls L, Zdzienicka E, Kang JS, Ratzka S, Kremer B, Schulz JB, Klopstock T, Melegh B, du Montcel ST, Klockgether T. Self-rated health status in spinocerebellar ataxia--results from a European multicenter study. *MovDisord.* 2010; 25(5):587-95.
 54. Selcen D, Ohno K, Engel AG. Myofibrillar myopathy: clinical, morphological and genetic studies in 63 patients. *Brain.* 2004 Feb;127(Pt

- 2):439-51.
55. Shiba N, Miyazaki D, Yoshizawa T, et al. Differential roles of MMP-9 in early and late stages of dystrophic muscles in a mouse model of Duchenne muscular dystrophy. *Biochim Biophys Acta*. 2015 Oct;1852(10 Pt A):2170-82.
 56. Silva AMS, Coimbra-Neto AR, Souza PVS, Winckler PB, et al. Clinical and molecular findings in a cohort of ANO5-related myopathy. *Ann Clin Transl Neurol*. 2019 Jul;6(7):1225-1238.
 57. Straub V, Murphy A, Udd B; LGMD workshop study group. 229th ENMC international workshop: Limb girdle muscular dystrophies - Nomenclature and reformed classification Naarden, the Netherlands, 17-19 March 2017. *Neuromuscul Disord*. 2018 Aug;28(8):702-710.
 58. Turk R, Sterrenburg E, de Meijer EJ, van Ommen GJ, den Dunnen JT, t Hoen PA. Muscle regeneration in dystrophin-deficient mdx mice studied by gene expression profiling. *BMC Genomics* 2005;6:98.
 59. von Moers, A., Zwirner, A., Reinhold, A. et al. Increased mRNA expression of tissue inhibitors of metalloproteinase-1 and -2 in Duchenne muscular dystrophy. *Acta Neuropathol* 109, 285–293 (2005).
 60. Waddell LB, Tran J, Zheng XF, Bönnemann CG, Hu Y, Evesson FJ, Lek M, Arbuckle S, Wang MX, Smith RL, North KN, Clarke NF. A study of FHL1, BAG3, MATR3, PTRF and TCAP in Australian muscular dystrophy patients. *Neuromuscul Disord*. 2011 Nov;21(11):776-81.
 61. Welch EM, Barton ER, Zhuo J, Tomizawa Y, Friesen WJ, Trifillis P, et al. PTC124 targets genetic disorders caused by nonsense mutations. *Nature*. 2007; 447: 87-91.
 62. Winckler, PB, da Silva, AM, Coimbra-Neto, AR, et al. Clinicogenetic lessons from 370 patients with autosomal recessive limb-girdle muscular dystrophy. *Clin Genet*. 2019; 96: 341– 353.
 63. Woessner JF, Nagase H (eds) (2000) Matrix metalloproteinases and TIMPs. Oxford University Press, Oxford, pp 72–135
 64. Yee W, Pramono Z, Tan C, et al. Limb girdle muscular dystrophy 2G and novel TCAP mutations in ethnic Chinese. *Neuromuscular Disorders* 2007; 17(9): 814.

65. Zatz M, de Paula F, et al. The 10 autosomal recessive limb-girdle muscular dystrophies. *Neuromuscul Disord* 2003;13(7–8):532–544.
66. Paganoni S, Amato A. Electrodiagnostic evaluation of myopathies. *Phys Med Rehabil Clin N Am.* 2013 Feb;24(1):193-207. doi: 10.1016/j.pmr.2012.08.017. Epub 2012 Oct 16. PMID: 23177039; PMCID: PMC4435557.
67. Vainzof M, Moreira ES, Suzuki OT, Faulkner G, Valle G, Beggs AH, Carpen O, Ribeiro AF, Zanoteli E, Gurgel-Gianneti J, Tsanaclis AM, Silva HC, Passos-Bueno MR, Zatz M. Telethonin protein expression in neuromuscular disorders. *Biochim Biophys Acta.* 2002 Oct 9;1588(1):33-40. doi: 10.1016/s0925-4439(02)00113-8. PMID: 12379311.

7. ARTIGO:

Clinical and Molecular Characterization of Limb-Girdle Muscular Dystrophy 2G/R7 in a Large Cohort of Brazilian Patients

Authorship:

Tobias Gaviraghi^{1,2}; Eduardo B.U. Cavalcanti³; Paulo Lorenzoni⁴; Paulo Victor Sgobbi de Souza⁵; Elmano Carvalho⁶; André Dias de Oliveira⁷; Maria Tereza de Moraes⁸; Marcos Vinícius Oliveira Marques⁹; Karina Carvalho Donis¹; Pablo Brea Winckler¹; Cynthia Costa e Silva³; Wladimir Bocca Vieira de Rezende Pinto⁵; Cláudia Suemi Kamoi Kay⁴; Renata Dal-Prá Ducci⁴; Paula Raquel do Vale Pascoal Rodrigues⁴; Otto Jesus Hernandez Fustes⁴; André M.S. da Silva¹⁰; Edmar Zanoteli¹⁰; Marcondes C. França Jr^{11,12}; Cláudia F.R. Sobreira¹³; Acary S. Bulle Oliveira⁵; Rosana Herminia Scola⁴; Alzira A.S. Carvalho¹⁴; Jonas Alex Saute^{1,2,15,16}.

¹Neurology Service, Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA), Porto Alegre, Brazil

²Graduate Program in Medicine, Medical Sciences, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre, Brazil

³Rede SARA de Hospitais de Reabilitação, Brasília, Brazil

⁴Universidade Federal do Paraná, Hospital de Clínicas, Departamento de Medicina Interna, Divisão de Neurologia, Serviço de Doenças Neuromusculares, Curitiba, Brazil

⁵Universidade Federal de São Paulo, Department of Neurology and Neurosurgery, Division of Neuromuscular Diseases, São Paulo, Brazil

⁶Rede SARA de Hospitais de Reabilitação, Belo Horizonte, Brazil

⁷Neurology Division, Hospital Universitário Polydoro Ernani de São Thiago, Florianópolis, Brazil

⁸Neurology and Neurophysiology Division, Instituto de Neurologia de Curitiba - Hospital Ecoville, Curitiba, Brazil

⁹Neurology Division, Centro Integrado de Saúde, São Paulo, Brazil

¹⁰Neurology Department of Neurology, Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (FMUSP), São Paulo, Brazil

¹¹Department of Neurology, Faculdade de Ciências Médicas, Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Campinas, Brazil

¹²Graduate Program in Medical Physiopathology, UNICAMP, Campinas, Brazil

¹³Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto Medical School, Department of Neurosciences, Ribeirão Preto, Brazil

¹⁴Centro Universitário Saúde ABC, Santo André, Brazil

¹⁵Medical Genetics Service, HCPA, Porto Alegre, Brazil

¹⁶Department of Internal Medicine, UFRGS, Porto Alegre, Brazil

Acknowledgments: Financial and material support should also be mentioned.

Conflict of Interest Statement: The authors have no conflicts of interest to declare. All co-authors have seen and agree with the contents of the manuscript and there is no financial interest to report.

Data Availability Statement: All accepted manuscripts are required to publish a data availability statement to confirm the presence or absence of shared data.

Abstract: Limb-girdle muscular dystrophy type 2G/R7 (LGMD2G/R7) is an ultra-rare condition initially identified within the Brazilian population. We aimed to expand clinical and genetic information about this disease, including its worldwide distribution. A multicenter historical cohort study was performed at 13 centers in Brazil in which index cases and their affected relatives' data from consecutive families with LGMD2G/R7 were reviewed from July 2017 to August 2023. Additionally, a systematic literature review was conducted to identify case reports and series of the disease worldwide. Thirty-nine LGMD2G/R7 cases were described in the cohort, being all homozygous for the c.157C>T/(p.Gln53*) variant in TCAP. We generated survival curves, finding that the median disease duration before individuals needed walking aids was 21 years. Notably, women exhibited a slower disease progression, requiring walking aids 13 years later than men. LGMD2G/R7 was frequently reported not only in Brazil but also in China and Bulgaria, with 106 cases identified globally, with possible founder effects in the Brazilian, Eastern European, and Asian populations. These findings are pivotal in raising awareness of LGMD2G/R7, understanding its progression, and identifying potential modifiers. They will significantly contribute to the development of future natural history studies and clinical trials for this disease.

Keywords: limb-girdle muscular dystrophy; LGMD2G; LGMDR7; Telethonin; TCAP; natural history; epidemiology

1. INTRODUCTION

Limb-girdle muscular dystrophy type 2G, also known as telethonin-related LGMD2G/R7, is an autosomal recessive inherited condition caused by bi-allelic pathogenic variants in the *TCAP* gene (Mercuri et al., 2019; Zatz et al., 2003). The resulting loss of function in the titin tail, a protein that serves as a crucial structural anchor in both skeletal and cardiac muscle sarcomeres, leads to destabilization between the Z-lines, resulting in impairment in muscle contraction (Castro-Ferreira et al., 2011; Mercuri et al., 2019; Zatz et al., 2003).

The disease was initially described in 1997 by Eloisa Moreira (Moreira et al., 1997), and in 2000, the same authors identified, for the very first time, pathogenic variants in the *TCAP* gene on chromosome 17q12 as responsible for the clinical presentation of LGMD2G/R7 (Chamova et al., 2018). In Brazil, through a large collaborative study involving 370 subjects with LGMD2/R, it was found that LGMD2G/R7 accounted for 5.3% of cases, all of which had one of the variants described in Moreira's studies, *TCAP*: c.157C>T/(p.Gln53*) in homozygosity (Winckler et al., 2019). Individuals affected by the disease generally exhibit proximal tetraparesis predominantly in the lower limbs, accompanied by distal weakness of the lower limbs, especially in the tibial anterior muscle (Ikenberg et al., 2017). Occasionally, some individuals present with facial paresis (Cotta et al., 2014), abdominal weakness (de Fuenmayor-Fernández de la Hoz et al., 2016), and ventricular extrasystoles (Ikenberg et al., 2017).

Brazil is among the locations in the world with the highest number of identified cases of LGMD2G/R7; however, the existing descriptions lack detailed information regarding clinical, genetic, and disease progression milestones leading to disability. Therefore, our objective is to expand understanding of these aspects of the disease in the Brazilian population through a historical cohort study and globally through literature review, providing more robust information that can aid in patient and family care. This endeavor paves the way for designing studies to assess the effectiveness of future therapies specific to this condition.

2. METHODS

2.1 Design and subjects

A multicenter historical cohort was conducted involving 13 specialized neuromuscular disease centers in Brazil (8 in the southeast, 4 in the south, and 1 in the midwest region). The selection of centers stemmed from a previous study (Winckler et al., 2019) that also involved 13 centers in Brazil. However, six centers, two in the South, two in the North, and two in the Northeast, did not have LGMD2G/R7 cases and were therefore not included in this study. For the current study, six additional centers were added (3 in the South and 3 in the Southeast). A common clinical research file was established for these centers, where clinical and genetic data of all index cases with genetically confirmed diagnosis through the identification of bi-allelic pathogenic or likely pathogenic variants causing LGMD2G/R7 and their affected family members were collected from July 2017 to August 2023. Patients with the Cardiomyopathy, hypertrophic, 25 phenotype related to TCAP were excluded from the study (1 case from the southeast).

2.2 Clinical and genetic data collection

We collected data regarding sex, age, parental consanguinity, family recurrence, age at onset of weakness, age at any walking aid (AWA) and wheelchair (AWC) dependency, and highest creatine kinase (CK) levels. Such information was collected from patients and relatives and reviewed from medical records. When AWC was provided, but AWA was not, we considered the same value for both variables. When information regarding walking aid and wheelchair dependency was not provided data was censored. Cardiac and respiratory functions were assessed according to each center protocol. Conduction abnormalities were categorized as significant and non-significant, and structural cardiac abnormalities were classified as related and non-related to LGMD. Respiratory function was investigated by spirometry with forced vital capacity (FVC) and forced expiratory volume (FEV1). Necessity of non-invasive or invasive ventilatory support was also assessed. We reported data on the last available electrocardiogram, holter, echocardiogram and spirometry.

DNA was extracted from peripheral blood or saliva and most centers performed commercial or local massive parallel sequencing panels including *TCAP*. Some centers were able to target Sanger sequencing according to the pathological characteristics. Sequences were searched for using the National Center for Biotechnology Information (NCBI) protein database, and *TCAP* variants were described with reference to the transcript NM_003673.4. Sequence variations were compared to data available in the

Human Gene Mutation Database (HGMD) and ClinVar. Variants were classified according to 2015 American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG) criteria (Richards et al., 2015).

2.3 Ethics

The study was approved by the Ethics in Research Committees of the institutions (GPPG-HCPA/2020-0230), which follow the Declaration of Helsinki. Informed written consent was obtained from individuals' or their guardians or data utilization consent was signed for reviewing medical records.

2.4 Statistical analysis

Normal distribution was evaluated by Shapiro-Wilk test and histograms. Quantitative data were reported both as mean and standard deviation and median and interquartile-range. Age at onset comparisons between sexes were performed with Mann Whitney U test. Median age and disease duration at walking aid or wheelchair dependency were depicted by Kaplan-Meier analysis and progression comparisons between sexes were performed with Log-Rank. A P-value of <.05 was considered statistically significant. IBM SPSS Statistics 20 was used for the analysis.

2.5 Literature Review

A literature search was conducted to identify case reports, case series, or patient cohorts with genetically confirmed diagnosis of LGMD2G/R7. The search for studies was performed using the PubMed and Bireme databases on September 27, 2023, with the following search terms: "LGMD2G/R7" OR "LGMDR7" OR "LGMD2G" OR "Telethoninopathy" OR "TCAP Muscular Dystrophy." The focus of data collection for the review was on the number of cases and families per country/region, as well as the variants described in *TCAP*.

3. RESULTS

3.1 Original Study: Historical Cohort

A total of 39 cases (35 families) of LGMD2G/R7 were identified in Brazil from the South, Southeast, and Midwest regions (**Supplementary Figure 1**). The main clinical characteristics are described in **Table 1**. All patients were homozygous for the variant c.157C>T/(p.Gln53*) in *TCAP*, with reports of consanguinity in 13 out of 37 cases

(35.1%) and familial recurrence in 12 out of 39 cases (30.8%). Age at onset was generally before the age of 12, and the median of maximum creatine kinase levels was 739 IU/L.

Any kind of walking aid was required by 57.6% of the subjects under study, with a median age and disease duration for this outcome being 34 years (**Figure 1A**) and 21 years (**Figure 1C**), respectively. For the use of a wheelchair (36.8% of patients), the median age and disease duration for this outcome were 45 years (**Figure 1B**) and 33 years (**Figure 1D**), respectively. The median age for the need of walking aids was higher for women (38 years, 95% CI: 33.4 to 42.5) than for men (25 years, 95% CI: 14.4 to 35.6, $p=0.002$, **Figure 2A**). Similarly, the disease duration when assistive walking devices were needed was longer for women (31 years, 95% CI: 14.6 to 47.3) than for men (18 years, 95% CI: 1 to 38.8, $p=0.01$, **Figure 2C**). The median age for the need of a wheelchair was higher for women (45 years, 95% CI: NA) than for men (29 years, 95% CI: 22.6 to 35.4, $p<0.020$, **Figure 2B**). However, there was no significant difference in disease duration at the need for a wheelchair between women (34 years, 95% CI: 29.8 to 38.1) and men (25 years, 95% CI: 11.8 to 38.1, $p=0.101$, **Figure 2D**).

Only 3 cases (8%) demonstrated cardiac involvement. Of the two patients, in which detailed cardiac information was provided, one exhibited a right bundle branch block, and the other had mild mitral regurgitation without hemodynamic consequences. Concerning pulmonary involvement, 20% of the patients showed abnormalities in pulmonary function tests, all of which were restrictive disorders, mostly of mild degree. None of the subjects required ventilatory support.

3.2 Literature Review

In the systematic literature review, 147 articles were found. After analyzing abstracts and conducting a comprehensive review, 39 articles were included (**Supplementary Figure 2**).

Globally, a total of 81 families (106 cases) were described, including those from the present study and excluding duplicates mentioned in our group's previous study in 2019 (Negrão et al., 2010; Winckler et al., 2019). Brazil had the highest number of families, accounting for 31 (37.5% of the total), followed by China with 28, Bulgaria with 12, India and Spain with 2 each, and Turkey, Greece, England, France, Portugal, and Moldova with 1 each. Cases were caused by nonsense, frameshift, intronic, and small duplication variants in homozygosity or compound heterozygosity in *TCAP* (Barresi et

al., 2015; Blanco-Palmero et al., 2019; Brusa et al., 2018; Chamova et al., 2018; Chen et al., 2020; Cotta et al., 2014; de Fuenmayor-Fernández de la Hoz et al., 2016; Francis et al., 2014; Ikenberg et al., 2017; Lv et al., 2023; Negrão et al., 2010; Olivé et al., 2008; Paim et al., 2013). These variants are detailed in **Figure 3A**, with 88.7% of them being conceptually loss-of-function variants (nonsense, frameshift, or start loss, **Figure 3B**). The most frequently found variants were the predominant variant in Brazil, c.157C>T/(p.Gln53*), present in 38,75% of total families (Winckler et al., 2019; Negrão et al., 2010), the predominant variant in Bulgaria, c.75G>A/(p.Trp25*), present in 16,25% of total families (Chamova et al., 2018; Olivé et al., 2008), and the exclusive variant from Asia (Chinese predominance), c.26_33dupAGGTGTCG/(p.Glu12Argfs*20), present in 15% of total families (Chen et al., 2020; Francis et al., 2014; Lv et al., 2023). **Figure 4** illustrates the geographical distribution of the identified variants, further detailed in **Supplementary Table 1**.

4. DISCUSSION

In this study, we have provided a comprehensive description of clinical and genetic data from the largest Brazilian cohort of patients with LGMD2G/R7. Additionally, our extensive literature review revealed that LGMD2G/R7 was frequently reported not only in Brazil but also in China and Bulgaria. We also documented the most common pathogenic variants in each region. Furthermore, we described the progression to significant motor disability in Brazilian cases and explored the influence of gender on this progression.

All 39 patients from the 35 Brazilian families described in this series were homozygous for the pathogenic variant c.157C>T/(p.Gln53*) in *TCAP*, originally reported in the disease's original description by Moreira (Moreira et al., 2000). This finding suggests a potential founder effect of this variant in Brazil. The presence of the same variant only in Portuguese patients, in addition to Brazilians, supports this hypothesis. Analyzing the disease's distribution within Brazil (**Supplementary Figure 1**), we observed a clear predominance in the southern half of the country, specifically in the South, Southeast, and Central-West regions. No cases were reported in other regions. This geographical pattern could be a reflection of this founder effect and the influence of regional ethnic composition differences in Brazil (IBGE, 2022). Alternatively, it might indicate underdiagnosis of this condition in other regions due to regional healthcare disparities (Albuquerque et al., 2017). Future studies will be necessary to better understand the probable founder effect of this variant. This investigation should consider the possibility

of its origin from Portuguese settlers during the colonization of Brazilian territories or its potential origin in indigenous Brazilian populations.

In the Brazilian cohort, LGMD2G/R7 typically begins in late childhood, displaying slow progression to significant motor disability. The median disease duration until the need for walking aid was approximately 21 years, and for wheelchair dependence, 33 years. We conducted a similar analysis for LGMD2A/R1 (106 patients) and LGMD2B/R2 (100 patients) in a recent study (Winckler et al., 2019), where the median disease duration until the need for walking aids was 20 and 21 years, respectively, and for wheelchair dependence, 26 and 27 years, respectively (Winckler et al., 2019). We did not find studies that prospectively evaluated disease progression in LGMD2G/R7, nor studies that used clinical outcome assessments (COA) for this purpose, as recently done for LGMD2B/R2 using the clinician-rated outcome (ClinRO) North Star Assessment for Limb Girdle Type Muscular Dystrophies (NSAD, Jacobs et al., 2021). Considering that the disease duration of LGMD2G/R7 patients reaching disability milestones in our study was similar to that previously demonstrated for the more common subtypes LGMD2A/R1 and LGMD2B/R2 (Winckler et al., 2019), it is plausible to speculate that their progression in ClinROs might be similar to what is observed in these other subtypes (Jacobs et al., 2021). However, future prospective studies should explore this progression using ClinROs and patient-reported outcome measures to define the outcomes to be assessed when specific therapies become available for LGMD2G/R7.

Women with LGMD2G/R7 exhibited a similar age of onset but slower progressions to significant disability compared to men, with a difference of 13 years in disease duration until the need for walking aids. In the study by Winckler and colleagues, we had found earlier ages and shorter disease durations at walking aid dependency for men than for women with LGMD2B/R2 (Winckler et al., 2019). The LGMD2B/R2 results indicated by cross-sectional data of Winckler et al. were recently confirmed by a longitudinal study, where women showed milder scores on NSAD and better performance in the 6-minute walking test than men, even when controlling for disease duration. There was a trend of a higher annual progression rate in these clinical outcome assessments (COAs) in men (Jacobs et al., 2021). Although the cause of the phenotype attenuation in women with LGMD2B/R2 is unknown, pathological studies confirmed clinical findings by describing a higher fiber atrophy factor in males than females with the disease (Angelini et al., 2014). We did not find previous studies reporting differences in LGMD2G/R7 progression between men and women. It is crucial that future studies confirm such associations, and prospective studies using different COAs should more

thoroughly evaluate the individual's gender-modifying effect on disease progression. This analysis is essential for future therapeutic studies' sample size estimations, similar to what is being done for LGMD2B/R2 (Jacobs et al., 2021). Additionally, understanding the pathophysiology of the attenuated progression in women can assist in identifying disease-modifying therapeutic targets that may be common across different subtypes of muscular dystrophies.

Regarding cardiac and respiratory manifestations of LGMD2G/R7, we confirmed what had been described in most case series and cohorts worldwide (Winckler et al., 2019; Barresi et al., 2015; Blanco-Palmero et al., 2019; Brusa et al., 2018; Chamova et al., 2018; Chen et al., 2020; Cotta et al., 2014; de Fuenmayor-Fernández de la Hoz et al., 2016; Francis et al., 2014; Ikenberg et al., 2017; Lv et al., 2023; Negrão et al., 2010; Olivé et al., 2008; Paim et al., 2013). Cardiac abnormalities are not common in the disease, and when present, they have little clinical impact. Similarly, respiratory involvement was present in 20% of cases (with a median disease duration of 23 years), and none required ventilatory support. This mild cardiac and respiratory profile is similar to that found in LGMD2A/R1 and LGMD2B/R2 subtypes (Winckler et al., 2019). These findings provide valuable information to guide the care and monitoring of LGMD2G/R7 patients.

In the literature review, we found LGMD2G/R7 cases in South America, Asia, and Europe, suggesting regional clusters of specific variants. Although genotypes differ across these regions, phenotypes are similar, with proximal paresis starting between the first and second decades of life and progressing to distal involvement, especially dorsiflexion of the foot (Chen et al., 2020; Chamova et al., 2018; Lv et al., 2023). Additionally, there are few reports of joint contractures and/or calf hypertrophy in these patients (Chen et al., 2020; Lv et al., 2023).

Among the highlighted variants, the c.157C>T/(p.Gln53*) variant was described in 31 Brazilian families and 1 Portuguese family; the c.75G>A/(p.Trp25*) variant was reported only in Eastern Europe among 12 families of Bulgarian Muslims and in one family from Moldova; the c.26_33dupAGGTGTCG/(p.Glu12Argfs20) variant was described only in Asia (13 families in China and 1 in India); and the c.110+5G>A and c.165dupG/(p.Gln56Alafs52) variants were reported only in China in 7 and 6 families, respectively. Another interesting finding was that almost 90% of the variants were clearly related to telethonin loss of function (**Figure 3B**), supporting the understanding of the disease's causal mechanism, consistent with autosomal recessive inheritance.

Knowledge of the most common variants by region can be crucial for defining local diagnostic algorithms and future therapeutic strategies. Therapies involving readthrough, given the high frequency of nonsense variants, and gene replacement therapies (Guschina et al, 2022) are the most promising approaches.

4.1 Study Limitations

Our study represents one of the largest reported cohorts with comprehensive clinical and molecular data on LGMD2G/R7. Although the study design was retrospective, we had missing data for only 1 case related to cardiac involvement and use of walking aid/wheelchair and 4 cases for pulmonary involvement. Because all cases were recruited at specialized hospital centers, there might be recruitment bias related to more severe cases. However, such a population would be similar to that of future therapeutic clinical trials for this condition, representing a conservative bias. As mentioned earlier, it is necessary for future prospective studies to assess the disease progression more thoroughly and accurately using different clinical outcome assessments (COAs). Additionally, efforts should be made to identify progression biomarkers, both wet (biological markers) and related to imaging methods.

5. CONCLUSION

We were able to characterize the clinical and genetic aspects of LGMD2G/R7, estimating its progression to significant disability and identifying the protective effect of the female sex-related phenotype. The disease has a widespread geographical distribution, but there appears to be a founder effect for some variants, such as the most common variant in Brazil. Our results are essential to raise awareness of this condition and to better understand its progression and modifiers. These findings will be crucial for designing future natural history studies and clinical trials for LGMD2G/R7.

6. ACKNOWLEDGEMENTS

The authors are grateful to patients and their families for participation in this study and professionals who also attended these individuals, but were not directly involved in this research project. This study was funded by FIPE-HCPA (GPPG-HCPA 2020-0230). Saute JA is supported by Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq)

7. REFERENCES:

- Albuquerque, M. V. de, Viana, A. L. D., Lima, L. D. de, Ferreira, M. P., Fusaro, E. R., & Iozzi, F. L. (2017). Desigualdades regionais na saúde: mudanças observadas no Brasil de 2000 a 2016. *Ciência & Saúde Coletiva*, 22(4), 1055–1064.
- Angelini, C., Tasca, E., Nascimbeni, A. C., & Fanin, M. (2014). Muscle fatigue, nNOS and muscle fiber atrophy in limb girdle muscular dystrophy. *Acta Myologica: Myopathies and Cardiomyopathies: Official Journal of the Mediterranean Society of Myology / Edited by the Gaetano Conte Academy for the Study of Striated Muscle Diseases*, 33(3), 119–126.
- Barresi, R., Morris, C., Hudson, J., Curtis, E., Pickthall, C., Bushby, K., Davies, N. P., & Straub, V. (2015). Conserved expression of truncated telethonin in a patient with limb-girdle muscular dystrophy 2G. *Neuromuscular Disorders: NMD*, 25(4), 349–352.
- Blanco-Palmero, V. A., Hernández-Laín, A., Uriarte-Pérez de Urabayen, D., Cantero-Montenegro, D., Olivé, M., & Domínguez-González, C. (2019). Late onset distal myopathy: A new telethoninopathy. *Neuromuscular Disorders: NMD*, 29(1), 80–83.
- Brusa, R., Magri, F., Papadimitriou, D., Govoni, A., Del Bo, R., Ciscato, P., Savarese, M., Cinnante, C., Walter, M. C., Abicht, A., Bulst, S., Corti, S., Moggio, M., Bresolin, N., Nigro, V., & Comi, G. P. (2018). A new case of limb girdle muscular dystrophy 2G in a Greek patient, founder effect and review of the literature. *Neuromuscular Disorders: NMD*, 28(6), 532–537.
- Castro-Ferreira, R., Fontes-Carvalho, R., Falcão-Pires, I., & Leite-Moreira, A. F. (2011). The role of titin in the modulation of cardiac function and its pathophysiological implications. *Arquivos Brasileiros de Cardiologia*, 96(4), 332–339.
- Chamova, T., Bichev, S., Todorov, T., Gospodinova, M., Taneva, A., Kastreva, K.,

- Zlatareva, D., Krupev, M., Hadjiivanov, R., Guergueltcheva, V., Grozdanova, L., Tzoneva, D., Huebner, A., der Hagen, M., V., Schoser, B., Lochmüller, H., Todorova, A., & Tournev, I. (2018). Limb girdle muscular dystrophy 2G in a religious minority of Bulgarian Muslims homozygous for the c.75G>A, p.Trp25X mutation. *Neuromuscular Disorders: NMD*, *28*(8), 625–632.
- Chen, H., Xu, G., Lin, F., Jin, M., Cai, N., Qiu, L., Ye, Z., Wang, L., Lin, M., & Wang, N. (2020). Clinical and genetic characterization of limb girdle muscular dystrophy R7 telethonin-related patients from three unrelated Chinese families. *Neuromuscular Disorders: NMD*, *30*(2), 137–143.
- Cotta, A., Paim, J. F., da-Cunha-Junior, A. L., Neto, R. X., Nunes, S. V., Navarro, M. M., Valicek, J., Carvalho, E., Yamamoto, L. U., Almeida, C. F., Braz, S. V., Takata, R. I., & Vainzof, M. (2014). Limb girdle muscular dystrophy type 2G with myopathic-neurogenic motor unit potentials and a novel muscle image pattern. *BMC Clinical Pathology*, *14*, 41.
- de Fuenmayor-Fernández de la Hoz, C. P., Hernández-Laín, A., Olivé, M., Fernández-Marmiesse, A., & Domínguez-González, C. (2016). Novel mutation in TCAP manifesting with asymmetric calves and early-onset joint retractions. *Neuromuscular Disorders: NMD*, *26*(11), 749–753.
- Francis, A., Sunitha, B., Vinodh, K., Polavarapu, K., Katkam, S. K., Modi, S., Bharath, M. M. S., Gayathri, N., Nalini, A., & Thangaraj, K. (2014). Novel TCAP mutation c.32C>A causing limb girdle muscular dystrophy 2G. *PloS One*, *9*(7), e102763.
- IBGE: Pesquisa Nacional por Amostra de Domicílios. Características gerais dos domicílios e dos moradores 2022. Available at: https://biblioteca.ibge.gov.br/visualizacao/livros/liv102004_informativo.pdf. Accessed in oct 2023.
- Ikenberg, E., Karin, I., Ertl-Wagner, B., Abicht, A., Bulst, S., Krause, S., Schoser, B., Reilich, P., & Walter, M. C. (2017). Rare diagnosis of telethoninopathy (LGMD2G) in a Turkish patient. *Neuromuscular Disorders: NMD*, *27*(9), 856–860.

- Jacobs, M. B., James, M. K., Lowes, L. P., Alfano, L. N., Eagle, M., Muni Lofra, R., Moore, U., Feng, J., Rufibach, L. E., Rose, K., Duong, T., Bello, L., Pedrosa-Hernández, I., Holsten, S., Sakamoto, C., Canal, A., Sanchez-Aguilera Práxedes, N., Thiele, S., Siener, C., ... Straub, V. (2021). Assessing Dysferlinopathy Patients Over Three Years With a New Motor Scale. *Annals of Neurology*, *89*(5), 967–978.
- Lv, X., Lin, F., Wu, W., Wang, H., Luo, Y., Wang, Z., Yan, C., Lv, H., Luo, S., & Lin, P. (2023). The clinical features and TCAP mutation spectrum in a Chinese cohort of patients with limb-girdle muscular dystrophy R7. *Human Molecular Genetics*, *32*(15), 2502–2510.
- Mercuri, E., Bönnemann, C. G., & Muntoni, F. (2019). Muscular dystrophies. *The Lancet*, *394*(10213), 2025–2038.
- Moreira, E. S., Vainzof, M., Marie, S. K., Sertié, A. L., Zatz, M., & Passos-Bueno, M. R. (1997). The seventh form of autosomal recessive limb-girdle muscular dystrophy is mapped to 17q11-12. *American Journal of Human Genetics*, *61*(1), 151–159.
- Moreira, E. S., Wiltshire, T. J., Faulkner, G., Nilforoushan, A., Vainzof, M., Suzuki, O. T., Valle, G., Reeves, R., Zatz, M., Passos-Bueno, M. R., & Jenne, D. E. (2000). Limb-girdle muscular dystrophy type 2G is caused by mutations in the gene encoding the sarcomeric protein telethonin. *Nature Genetics*, *24*(2), 163–166.
- Negrão, L., Matos, A., Geraldo, A., & Rebelo, O. (2010). Limb-girdle muscular dystrophy in a Portuguese patient caused by a mutation in the telethonin gene. *Acta Myologica: Myopathies and Cardiomyopathies: Official Journal of the Mediterranean Society of Myology / Edited by the Gaetano Conte Academy for the Study of Striated Muscle Diseases*, *29*(1), 21–24.
- [No title]. (n.d.). Retrieved October 16, 2023, from <https://doi.org/10.1016/j.nmd.2022.07.310>
- Olivé, M., Shatunov, A., Gonzalez, L., Carmona, O., Moreno, D., Quereda, L. G., Martinez-Matos, J. A., Goldfarb, L. G., & Ferrer, I. (2008).

Transcription-terminating mutation in telethonin causing autosomal recessive muscular dystrophy type 2G in a European patient. *Neuromuscular Disorders: NMD*, 18(12), 929–933.

Paim, J. F., Cotta, A., Vargas, A. P., Navarro, M. M., Valicek, J., Carvalho, E., da-Cunha, A. L., Jr, Plentz, E., Braz, S. V., Takata, R. I., Almeida, C. F., & Vainzof, M. (2013). Muscle phenotypic variability in limb girdle muscular dystrophy 2 G. *Journal of Molecular Neuroscience: MN*, 50(2), 339–344.

Richards, S., Aziz, N., Bale, S., Bick, D., Das, S., Gastier-Foster, J., Grody, W. W., Hegde, M., Lyon, E., Spector, E., Voelkerding, K., Rehm, H. L., & ACMG Laboratory Quality Assurance Committee. (2015). 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. *Genetics in Medicine: Official Journal of the American College of Medical Genetics*, 17(5), 405–424.

Winckler, P. B., da Silva, A. M. S., Coimbra-Neto, A. R., Carvalho, E., Cavalcanti, E. B. U., Sobreira, C. F. R., Marrone, C. D., Machado-Costa, M. C., Carvalho, A. A. S., Feio, R. H. F., Rodrigues, C. L., Gonçalves, M. V. M., Tenório, R. B., Mendonça, R. H., Cotta, A., Paim, J. F. O., Costa E Silva, C., de Aquino Cruz, C., Bená, M. I., ... Saute, J. A. (2019). Clinicogenetic lessons from 370 patients with autosomal recessive limb-girdle muscular dystrophy. *Clinical Genetics*, 96(4), 341–353.

Zatz, M., de Paula, F., Starling, A., & Vainzof, M. (2003). The 10 autosomal recessive limb-girdle muscular dystrophies. *Neuromuscular Disorders: NMD*, 13(7-8), 532–544.

Figures and tables:

Table 1: Clinical characteristics of LGMD2G/R7 cohort

| Families/Patients | 35/39 | |
|------------------------------------|------------------|------------------------|
| Female sex (%) | 25/39 (64.1%) | |
| | <i>Mean (SD)</i> | <i>Median (IQR)</i> |
| Age | 36.4 (12.2) | 37 (30 – 44) |
| Age at Onset^a | 11.1 (8.1) | 10 (4-17) |
| Disease Duration | 25.3 (12.9) | 23 (16 – 34) |
| Max CK IU/L^a | 1022.9 (847.2) | 739.5 (391.7 – 1318.7) |
| Walking aid (%) | 22/38 (57.9%) | |
| AWA^b (95%CI) | 34 (27.1-40.8) | |
| DDWA^b (95%CI) | 21 (5.2-36.7) | |
| Wheelchair bound (%) | 14/38 (36.8%) | |
| AWC^b (95%CI) | 45 (34.5-55.4) | |
| DDWC^b (95%CI) | 33 (28.6-37.4) | |
| Heart disease (%) | 3/38 (7.9%) | |
| Respiratory Involvement (%) | 7/35 (20%) | |

TABLE 1 AWA, age at walking aid dependency; AWC, age at wheelchair dependency; DDWA, disease duration at walking aid dependency; DDWC, disease duration at wheelchair dependency; IQR, interquartile range; SD, standard deviation; a variables without normal distribution; b median from Kaplan-Meier survival analysis.

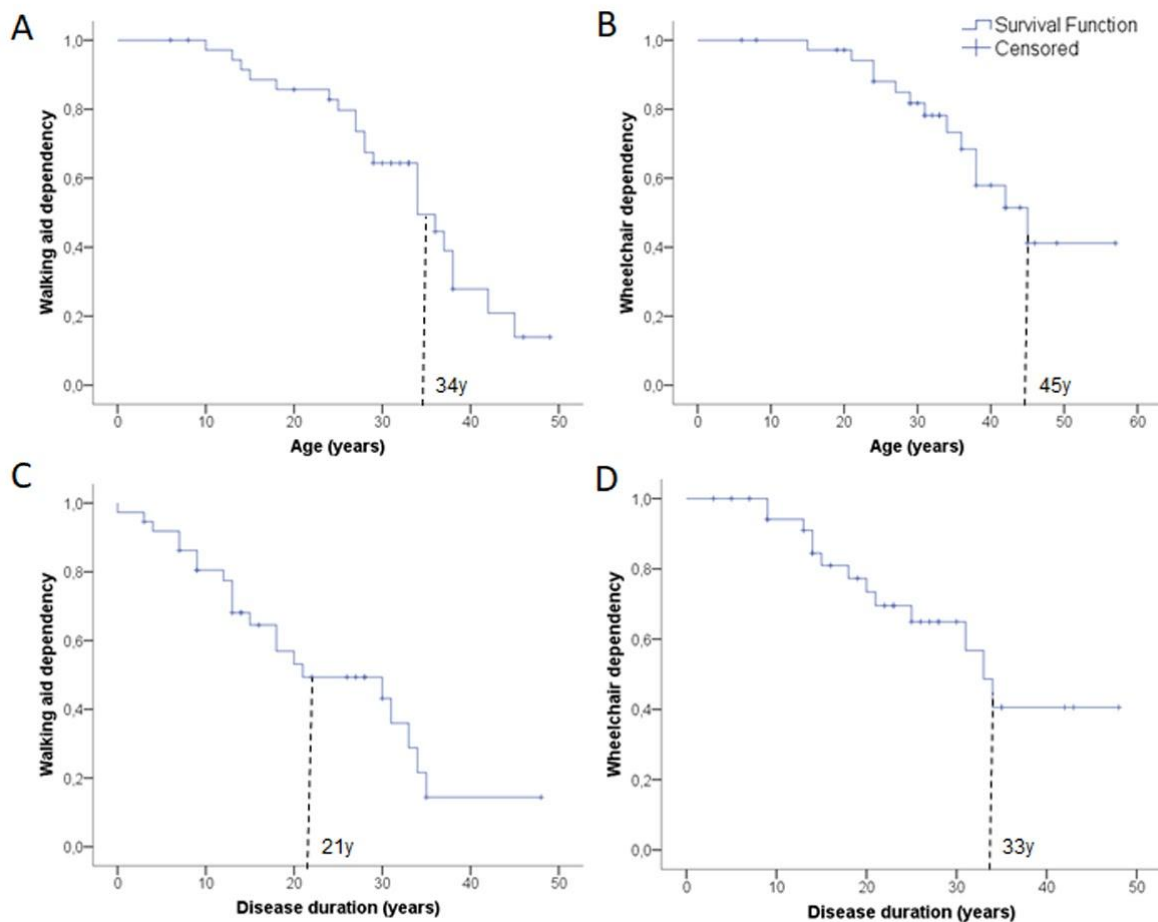


FIGURE 1 Progression to major handicap in LGMD2G/R7-telethonin-related.

The figure shows Kaplan-Meier analysis of loss of independent walking (A) and wheelchair dependency (B) according to age, and loss of independent walking (C) and of wheelchair dependency (D) according to disease duration for individuals with LGMD2G/R7-telethonin-related. Median values of progressions to major handicap are informed and highlighted by dashed lines.

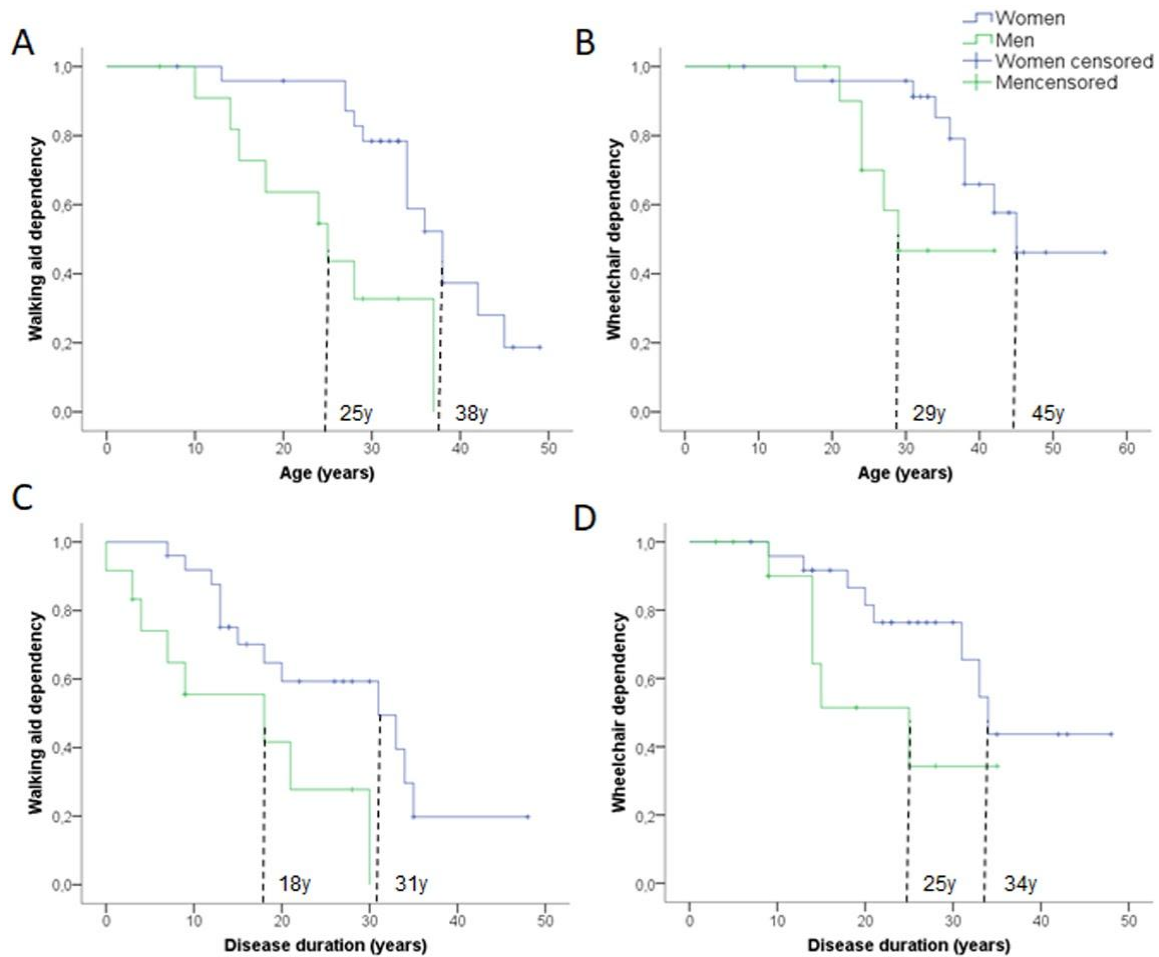


FIGURE 2 Comparison of Progression to major handicap in LGMD2G/R7-Telethonin-Related disorder in males and females The figure shows Kaplan-Meier analysis of loss of independent walking (A) and wheelchair dependency (B) according to age in males and females, and loss of independent walking (C) and of wheelchair dependency (D) according to disease duration in males and females with LGMD2G/R7-telethonin-related. Median values of progressions to major handicap are informed and highlighted by dashed lines.

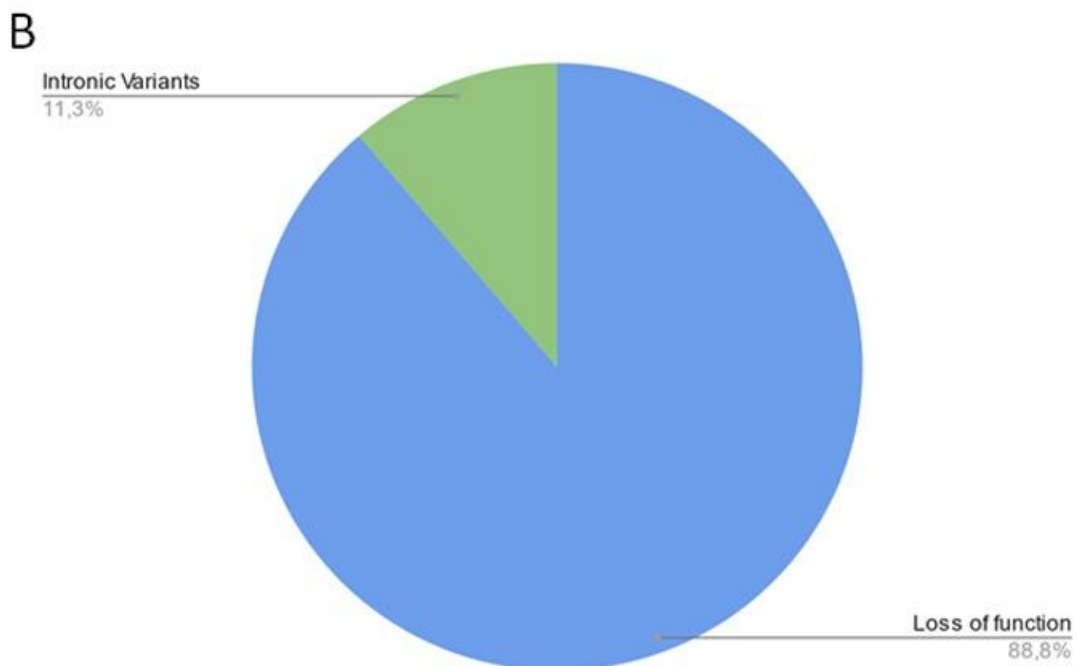
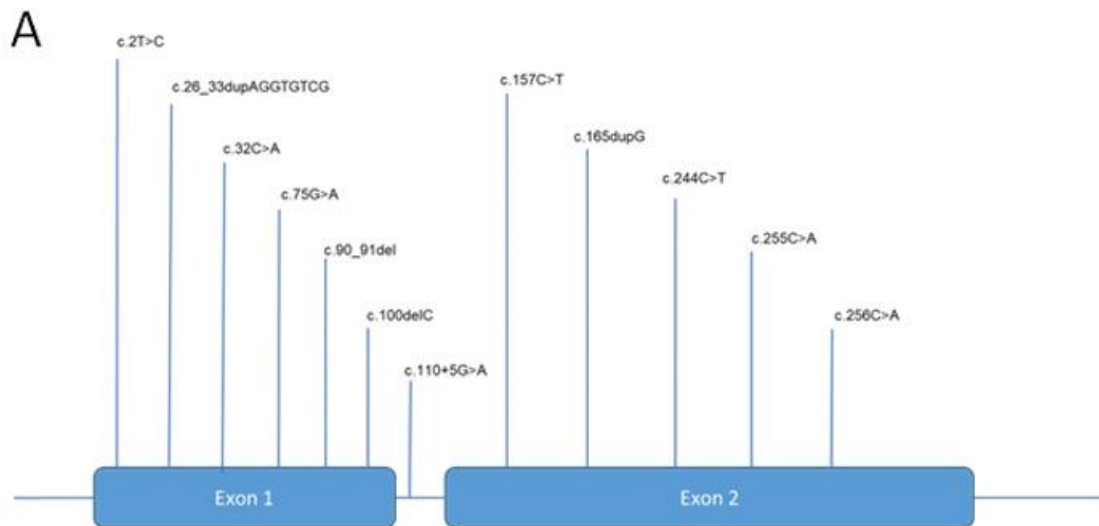


FIGURE 3: A) This schematic diagram illustrates the TCAP gene along with the described mutations. **B)** The correlation between loss-of-function variants (nonsense, frameshift, or start loss) and intronic variants in TCAP gene.

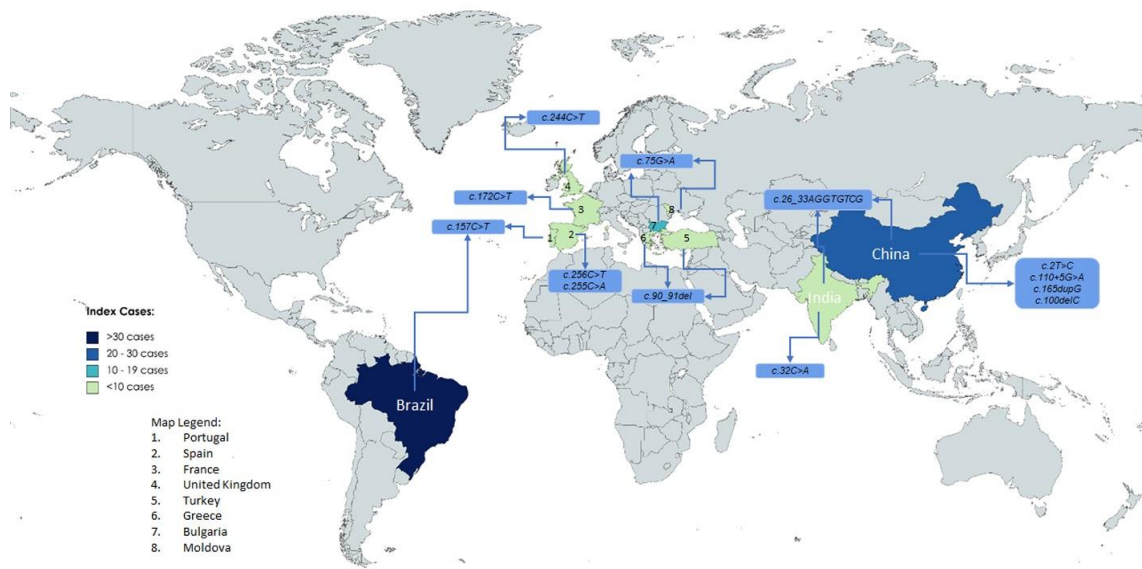
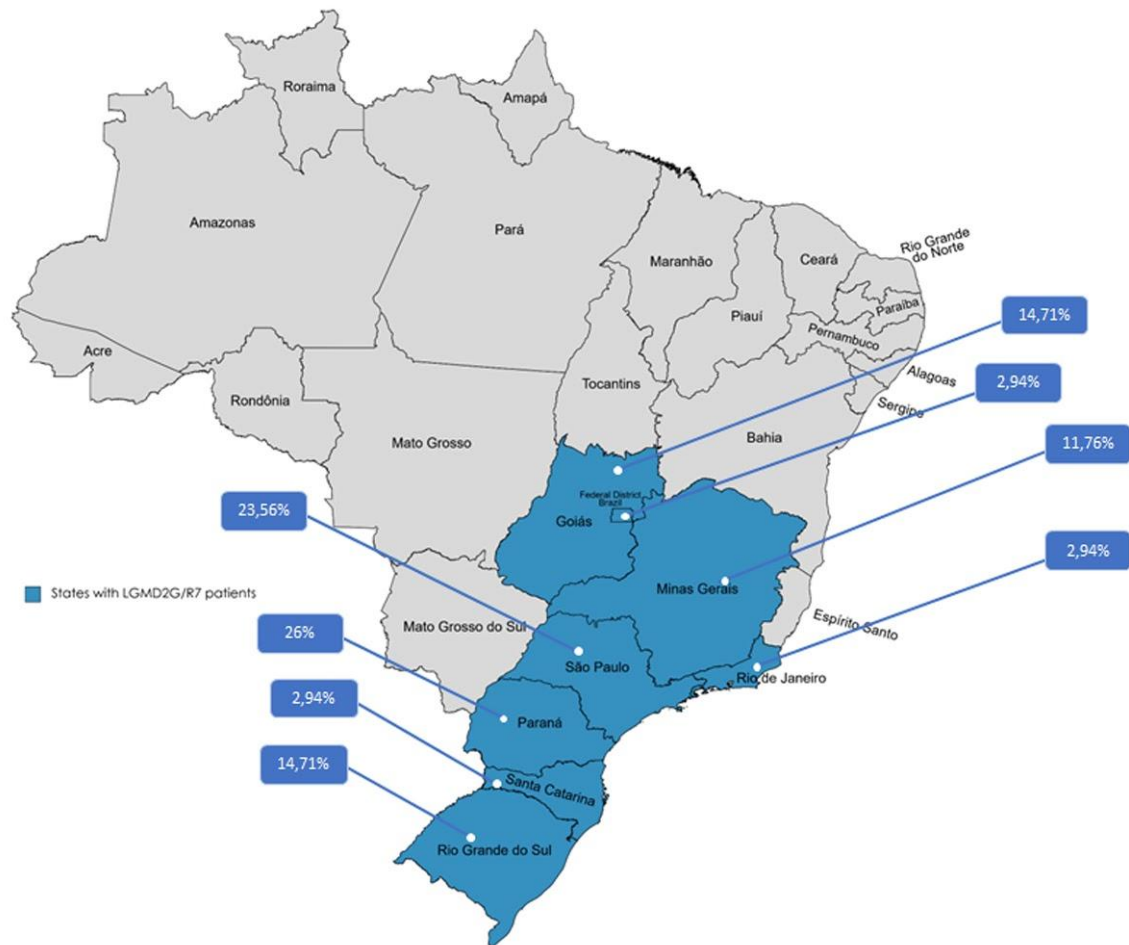


FIGURE 4: Global distribution of LGMD2G/R7 index cases and *TCAP* gene variants.

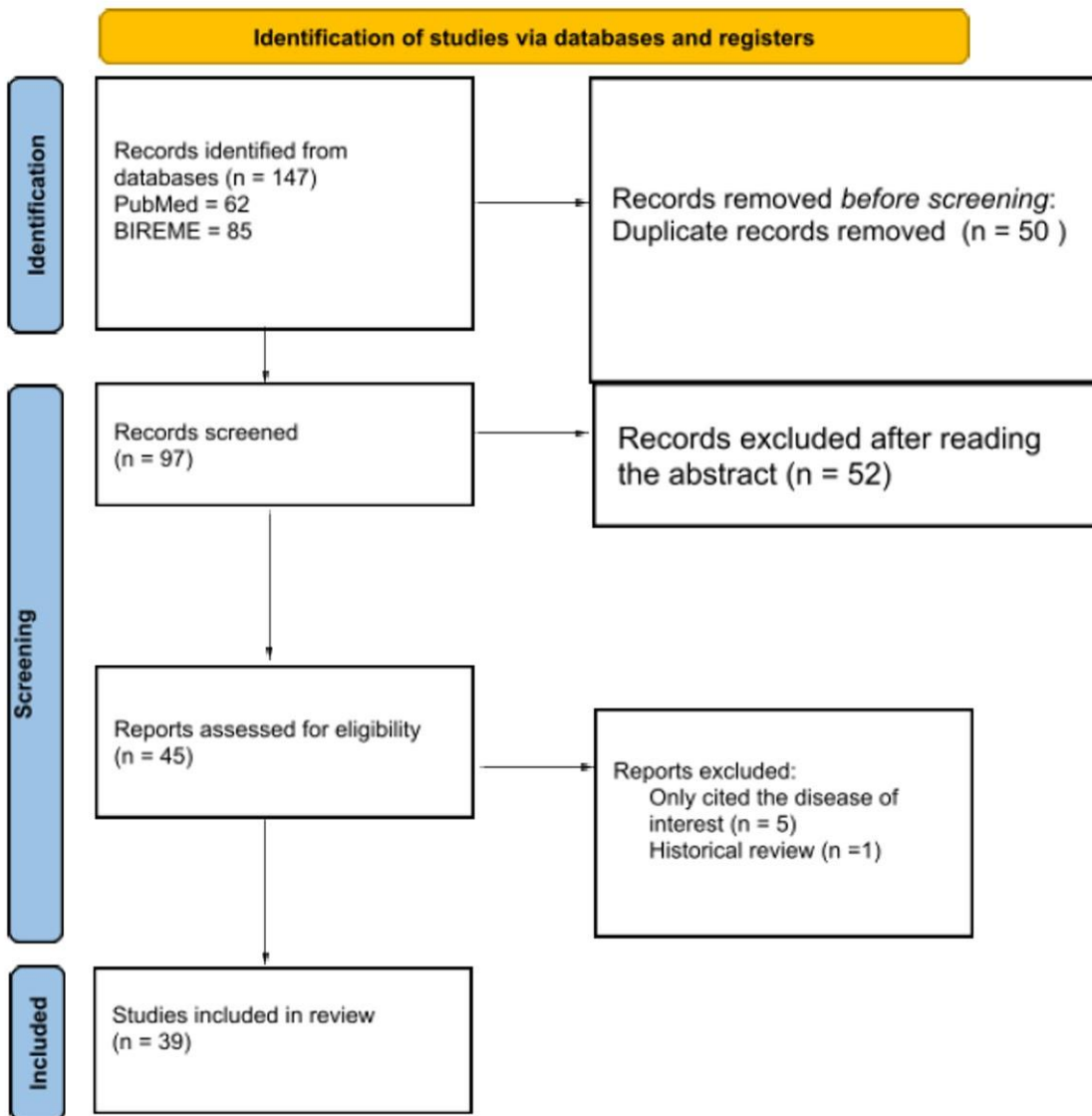
Supplementary Content:

| Country/Gene | c.157C>T | c.75G>A | c.26_33dup AGGTGTC G | c.110+5G> A | c.165dupG | c.90_91del | c.2T>C | c.32C>A | c.100delC | c.172C>T | c.244C > T | c.255C>A | c.256C>T | Total |
|--------------|---------------|---------------|----------------------------|----------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|----------------|
| Brazil | 37,50% | 0% | 0% | 0% | 0% | 0% | 0% | 0% | 0% | 0% | 0% | 0% | 0% | 37,50% |
| China | 0% | 0% | 13,75% | 11,25% | 7,50% | 0% | 1,25% | 0% | 1,25% | 0% | 0% | 0% | 0% | 35,00% |
| Bulgaria | 0% | 15,00% | 0% | 0% | 0% | 0% | 0% | 0% | 0% | 0% | 0% | 0% | 0% | 15,00% |
| India | 0% | 0% | 1,25% | 0% | 0% | 0% | 0% | 1,25% | 0% | 0% | 0% | 0% | 0% | 2,50% |
| Spain | 0% | 0% | 0% | 0% | 0% | 0% | 0% | 0% | 0% | 0% | 0% | 1,25% | 1,25% | 2,50% |
| France | 0% | 0% | 0% | 0% | 0% | 0% | 0% | 0% | 0% | 1,25% | 0% | 0% | 0% | 1,25% |
| Greece | 0% | 0% | 0% | 0% | 0% | 1,25% | 0% | 0% | 0% | 0% | 0% | 0% | 0% | 1,25% |
| U.K. | 0% | 0% | 0% | 0% | 0% | 0% | 0% | 0% | 0% | 0% | 1,25% | 0% | 0% | 1,25% |
| Moldova | 0% | 1,25% | 0% | 0% | 0% | 0% | 0% | 0% | 0% | 0% | 0% | 0% | 0% | 1,25% |
| Portugal | 1,25% | 0% | 0% | 0% | 0% | 0% | 0% | 0% | 0% | 0% | 0% | 0% | 0% | 1,25% |
| Turkey | 0% | 0% | 0% | 0% | 0% | 1,25% | 0% | 0% | 0% | 0% | 0% | 0% | 0% | 1,25% |
| Total | 38,75% | 16,25% | 15,00% | 11,25% | 7,50% | 2,50% | 1,25% | 1,25% | 1,25% | 1,25% | 1,25% | 1,25% | 1,25% | 100,00% |

Supplementary Table 1: Geographical distribution of the identified variants.



Supplementary Figure 1: Distribution of index-cases of LMGD2G/R7 in Brazil.



Supplementary Figure 2: Prisma flow-chart diagram.

STROBE Statement—checklist of items that should be included in reports of observational studies

| | Item No | Recommendation | Page No. | Relevant text from manuscript |
|---------------------------|---------|--|----------|-------------------------------|
| Title and abstract | 1 | (a) Indicate the study's design with a commonly used term in the title or the abstract | 1 | |
| | | (b) Provide in the abstract an informative and balanced summary of what was done and what was found | 2 | |
| Introduction | | | | |
| Background/rationale | 2 | Explain the scientific background and rationale for the investigation being reported | 3 | |
| Objectives | 3 | State specific objectives, including any prespecified hypotheses | 3 | |
| Methods | | | | |
| Study design | 4 | Present key elements of study design early in the paper | 3 | |
| Setting | 5 | Describe the setting, locations, and relevant dates, including periods of recruitment, exposure, follow-up, and data collection | 3-4 | |
| Participants | 6 | (a) <i>Cohort study</i> —Give the eligibility criteria, and the sources and methods of selection of participants. Describe methods of follow-up <i>Case-control study</i> —Give the eligibility criteria, and the sources and methods of case ascertainment and control selection. Give the rationale for the choice of cases and controls <i>Cross-sectional study</i> —Give the eligibility criteria, and the sources and methods of selection of participants | 3-4 | |
| | | (b) <i>Cohort study</i> —For matched studies, give matching criteria and number of exposed and unexposed <i>Case-control study</i> —For matched studies, give matching criteria and the number of controls per case | NA | |
| Variables | 7 | Clearly define all outcomes, exposures, predictors, potential confounders, and effect modifiers. Give diagnostic criteria, if applicable | 3-4 | |
| Data sources/measurement | 8* | For each variable of interest, give sources of data and details of methods of assessment (measurement). Describe comparability of assessment methods if there is more than one group | 3-4 | |

| | | | |
|------------------------|-----|---|--------------------------|
| Bias | 9 | Describe any efforts to address potential sources of bias | 8 |
| Study size | 10 | Explain how the study size was arrived at | 3 |
| Quantitative variables | 11 | Explain how quantitative variables were handled in the analyses. If applicable, describe which groupings were chosen and why | 4 |
| Statistical methods | 12 | (a) Describe all statistical methods, including those used to control for confounding | 4 |
| | | (b) Describe any methods used to examine subgroups and interactions | 4 |
| | | (c) Explain how missing data were addressed | 3 |
| | | (d) <i>Cohort study</i> —If applicable, explain how loss to follow-up was addressed <i>Case-control study</i> —If applicable, explain how matching of cases and controls was addressed <i>Cross-sectional study</i> —If applicable, describe analytical methods taking account of sampling strategy | |
| | | (e) Describe any sensitivity analyses | NA |
| Results | | | |
| Participants | 13* | (a) Report numbers of individuals at each stage of study—eg numbers potentially eligible, examined for eligibility, confirmed eligible, included in the study, completing follow-up, and analysed | 4 |
| | | (b) Give reasons for non-participation at each stage | 3 |
| | | (c) Consider use of a flow diagram | |
| Descriptive data | 14* | (a) Give characteristics of study participants (eg demographic, clinical, social) and information on exposures and potential confounders | 4-5 |
| | | (b) Indicate number of participants with missing data for each variable of interest | 8 - Table 1 |
| | | (c) <i>Cohort study</i> —Summarise follow-up time (eg, average and total amount) | 3 |
| Outcome data | 15* | <i>Cohort study</i> —Report numbers of outcome events or summary measures over time | 5 |
| | | <i>Case-control study</i> —Report numbers in each exposure category, or summary measures of exposure | NA |
| | | <i>Cross-sectional study</i> —Report numbers of outcome events or summary measures | Table 1, Figures 1 and 2 |
| Main results | 16 | (a) Give unadjusted estimates and, if applicable, confounder-adjusted estimates and their precision (eg, 95% confidence interval). Make clear which confounders were adjusted for and why they were included | 5 |

| | | | |
|--------------------------|--------|--|--------------------|
| | | (b) Report category boundaries when continuous variables were categorized | Table 1 and Page 5 |
| | | (c) If relevant, consider translating estimates of relative risk into absolute risk for a meaningful time period | NA |
| Other analyses | 1 7 | Report other analyses done—eg analyses of subgroups and interactions, and sensitivity analyses | 5 |
| Discussion | | | |
| Key results | 1 8 | Summarise key results with reference to study objectives | 4-5 |
| Limitations | 1 9 | Discuss limitations of the study, taking into account sources of potential bias or imprecision. Discuss both direction and magnitude of any potential bias | 8 |
| Interpretation | 2 0 | Give a cautious overall interpretation of results considering objectives, limitations, multiplicity of analyses, results from similar studies, and other relevant evidence | 7-8 |
| Generalisability | 2 1 | Discuss the generalisability (external validity) of the study results | 8 |
| Other information | | | |
| Funding | 2 2 | Give the source of funding and the role of the funders for the present study and, if applicable, for the original study on which the present article is based | 9 |

*Give information separately for cases and controls in case-control studies and, if applicable, for exposed and unexposed groups in cohort and cross-sectional studies.

Note: An Explanation and Elaboration article discusses each checklist item and gives methodological background and published examples of transparent reporting. The STROBE checklist is best used in conjunction with this article (freely available on the Web sites of PLoS Medicine at <http://www.plosmedicine.org/>, Annals of Internal Medicine at <http://www.annals.org/>, and Epidemiology at <http://www.epidem.com/>). Information on the STROBE Initiative is available at www.strobe-statement.org.

8. CONSIDERAÇÕES FINAIS:

8.1 Objetivo primário: Tentar expandir a descrição das características clínicas e genéticas dos pacientes com LGMD2G/R7.

O objetivo primário foi alcançado através da coleta de dados e, com isso, foi possível não só expandir a casuística de pacientes com a distrofia muscular de cinturas tipo 2G/R7 (LGMD2G/R7) no Brasil de forma significativa, mas também aperfeiçoar a descrição clínica e molecular desta entidade.

8.2 Objetivos secundários:

8.2.1. Fornecer dados mais acurados sobre idade de início de doença, incapacidade de locomoção, níveis de CK e variantes patogênicas mais frequentes:

Conforme pode ser visualizado na tabela com dados clínicos (*table 1* do artigo) da presente coorte, conseguimos dados mais acurados sobre o início da doença, seus marcos de progressão na locomoção e os níveis médios de CK. Além disso, com a revisão de literatura, foi possível descrever as variantes patogênicas mais comumente descritas no Brasil e no mundo.

8.2.2 Descrever a progressão da doença através de marcos de incapacidade de locomoção:

Através das curvas ROC foi possível estimar a progressão da doença para seus marcos mais importantes na locomoção (uso de dispositivo auxiliar para marcha e/ou cadeira de rodas - *figure 1* do artigo).

8.2.3. Buscar modificadores clínicos e genéticos desta progressão para incapacidade:

Na avaliação das curvas ROC de progressão estimada da doença em ambos os sexos, foi encontrada diferença significativa positiva no tempo médio que os pacientes do sexo feminino necessitaram de dispositivo auxiliar para marcha e/ou cadeira de rodas, não sendo claro o motivo para tal diferença, mas abrindo discussão para o papel do hormônios sexuais nos fenômenos epigenéticos da doença.

8.2.4. Avaliar a frequência de acometimento respiratório e cardíaco.

Conforme dados presentes no artigo (*table 1*), descrevemos o acometimento cardíaco e respiratório na nossa coorte. Ambos são infreqüentes, 7,9% e 20% do total de pacientes, respectivamente, e, quando presentes, de baixa repercussão clínica, assim como já havia sido descrito em relatos e séries de casos prévios.

8.2.5. Descrever a distribuição da doença no Brasil:

Descrevemos de forma clara a quantidade de casos no Brasil, bem como a sua distribuição geográfica (*supplementary figure 1 - artigo*).

8.2.6. Descrever a distribuição da doença no Mundo:

Através da revisão da literatura, foi possível descrever a distribuição de casos no mundo, bem como a frequência das variantes patogênicas mais comuns em cada região do planeta (*figure 4 - artigo*).

8.2.7. Dar subsídios iniciais sobre a possibilidade de efeito fundador:

Conseguimos dar subsídios iniciais para a presença de um efeito fundador no Brasil, uma vez que a variante patogênica presente no país é a mesma para todos os casos deste estudo.

9. PERSPECTIVAS FUTURAS:

Realização de estudos longitudinais com os pacientes da série de casos para validar escalas clínicas e biomarcadores que permitam medir, de forma objetiva, a progressão da doença, com intuito de avaliar a eficácia de terapias avançadas específicas que venham a ser desenvolvidas para a condição no futuro.

10. ANEXOS E APÊNDICES:

10.1 Termo de Consentimento Livre e Esclarecido:

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Grupo Casos

Nº do CAAE:

Título do Projeto: História Natural da Distrofia Muscular de Cinturas tipo 2G/R7- relacionada à teletonina: biomarcadores séricos e urinários

Você está sendo convidado (a) a participar de uma pesquisa cujo objetivo é caracterizar marcadores biológicos no sangue e na urina da Distrofia Muscular de Cinturas tipo 2G/R7 (LGMD2G/R7) e de sua progressão. Esta pesquisa está sendo realizada pelo Serviço de Genética Médica do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA), ambulatório de neurogenética, em que você já é regularmente acompanhado.

Se você concordar com a participação na pesquisa, os procedimentos envolvidos são os seguintes:

1) Exame clínico: será realizado através de escalas padronizadas do exame neurológico que já é realizado em suas consultas;

2) Aplicação dos questionários: Impressão Clínica Global do Paciente e ACTIVLIM

3) Coleta de sangue periférico para dosagem dos marcadores musculares irisina, metaloproteinase de matriz-2 (MMP-2), miostatina, metaloproteinase de matriz 9 (MMP-9), inibidores teciduais das metaloproteinases (TIMPs), folistatina, fator de crescimento e diferenciação 11 (GDF-11) e 15 (GDF-15). Serão coletados cerca de 10 ml de sangue (o equivalente a duas colheres de chá). O material biológico coletado será armazenado de forma codificada. A amostra de sangue será utilizada apenas para fins desta pesquisa. O restante da amostra que não for utilizada no projeto será descartado.

4) Coleta de amostra de urina por jato média para dosagem do fragmento N-terminal da titina (outro marcador relacionado aos músculos).

O tempo total previsto para estas avaliações é de 45 minutos.

As avaliações serão realizadas no início do estudo e repetidas após 1 e 2 anos da consulta inicial.

A avaliação clínica e a coleta de sangue e urina serão realizadas no Centro de Pesquisa Clínica do HCPA.

Você poderá apresentar desconforto e/ou cansaço relacionados à realização do exame físico neurológico e os desconfortos relacionados à coleta de sangue como mal-estar passageiro e mancha roxa no local da coleta. O desconforto será mínimo, pois se trata de uma coleta de sangue geralmente da veia do braço que será realizada por profissional treinado e devidamente habilitado para realizar esse procedimento.

Durante o estudo poderá ser necessário consultar o seu prontuário médico para revisar informações de consultas anteriores como a idade do início dos sintomas e também para revisar exames complementares realizados no passado como a dosagem de creatina quinase no sangue, exames de função respiratória (espirometria) e cardíaca (ecocardiograma e eletrocardiograma), eletroneuromiografia e biópsia muscular. Desta forma, solicitamos a sua autorização para este acesso ao prontuário médico. Salientamos que, caso você não autorize esta consulta, ainda será possível participar da pesquisa realizando os demais procedimentos mencionados neste termo.

Autorizo a revisão do meu prontuário médico

Não autorizo a revisão do meu prontuário médico

A participação no estudo não trará benefício direto ao participante. O estudo poderá possibilitar a definição de novos biomarcadores para distrofias musculares que podem ajudar em um melhor entendimento da sua condição e podem ser importantes para futuras pesquisas de tratamentos.

Não está previsto nenhum tipo de pagamento pela participação no estudo e a participante não terá nenhum custo com respeito aos procedimentos envolvidos.

A participação na pesquisa é totalmente voluntária, ou seja, não é obrigatória. Caso você decida não autorizar a participação, ou ainda, retirar a autorização após a assinatura desse Termo, não haverá nenhum prejuízo ao atendimento que o participante da pesquisa recebe ou possa vir a receber na instituição.

Caso ocorra alguma intercorrência ou dano, resultante da pesquisa, a participante receberá todo o atendimento necessário, sem nenhum custo pessoal.

Os dados coletados durante a pesquisa serão sempre tratados confidencialmente. Os resultados serão apresentados de forma conjunta, sem a identificação dos participantes, ou seja, os nomes não aparecerão na publicação dos resultados.

Caso você tenha dúvidas, poderá entrar em contato com o pesquisador responsável Dr. Jonas Alex Morales Saute pelo telefone (51) 3359-8011, com o pesquisador Tobias Gaviraghi, pelo telefone (54) 99182-6636, ou com o Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA), pelo

telefone (51) 33597640, ou pelo e-mail: cep@hcpa.edu.br, ou no 2º andar do HCPA, sala 2229, de segunda à sexta, das 8h às 17h.

Esse Termo é assinado em duas vias, sendo uma para o participante e seu responsável e outra para os pesquisadores.

Nome do participante da pesquisa

Assinatura

Nome do pesquisador que aplicou o Termo

Assinatura

Local e Data: _____

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Grupo Controle

Nº do CAAE:

Título do Projeto: História Natural da Distrofia Muscular de Cinturas tipo 2G/R7- relacionada à teletonina: biomarcadores séricos e urinários

Você está sendo convidado (a) a participar de uma pesquisa cujo objetivo é caracterizar marcadores biológicos no sangue e na urina da Distrofia Muscular de Cinturas tipo 2G/R7 e de sua progressão.

Para a realização do estudo é necessário comparar os resultados obtidos com o grupo de pacientes que apresentam Distrofia Muscular de Cinturas tipo 2G/R7 com um grupo de pessoas que não apresenta esta doença. Você está sendo convidado para participar do grupo controle do estudo, ou seja, que não possui a doença.

Esta pesquisa está sendo realizada pelo Serviço de Genética Médica do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA), ambulatório de neurogenética.

Se você concordar com a participação na pesquisa, os procedimentos envolvidos são os seguintes:

1) Coleta de sangue periférico para dosagem dos marcadores musculares irisina, metaloproteinase de matriz-2 (MMP-2), miostatina, metaloproteinase de matriz 9 (MMP-9), inibidores teciduais das metaloproteinases (TIMPs), folistatina, fator de crescimento e diferenciação 11 (GDF-11) e 15 (GDF-15). Serão coletados cerca de 10 ml de sangue (o equivalente a duas colheres de chá). O material biológico coletado será armazenado de forma codificada. A amostra de sangue será utilizada apenas para fins desta pesquisa. O restante da amostra que não for utilizada no projeto será descartado.

2) Coleta de amostra de urina por jato médio (cerca de 50ml) para dosagem do fragmento N-terminal da titina (outro marcador relacionado aos músculos).

O tempo total previsto para estas avaliações é de 15 minutos.

As avaliações serão realizadas no início do estudo e repetidas após 1 e 2 anos da consulta inicial.

A coleta de sangue e urina serão realizadas no Centro de Pesquisa Clínica do HCPA.

Você poderá apresentar desconforto e/ou cansaço relacionados à coleta de sangue como mal-estar passageiro e mancha roxa no local da coleta. O desconforto será mínimo, pois se trata de uma coleta de sangue geralmente da veia do braço que será realizada por profissional treinado e devidamente habilitado para realizar esse procedimento.

A participação no estudo não trará benefício direto ao participante. O estudo poderá possibilitar a definição de novos biomarcadores para distrofias musculares que podem ajudar em um melhor entendimento dessas condições e podem ser importantes para futuras pesquisas de tratamentos.

Não está previsto nenhum tipo de pagamento pela participação no estudo e a participante não terá nenhum custo com respeito aos procedimentos envolvidos.

A participação na pesquisa é totalmente voluntária, ou seja, não é obrigatória. Caso você decida não autorizar a participação, ou ainda, retirar a autorização após a assinatura desse Termo, não haverá nenhum prejuízo ao atendimento que o participante da pesquisa recebe ou possa vir a receber na instituição.

Caso ocorra alguma intercorrência ou dano, resultante da pesquisa, o participante receberá todo o atendimento necessário, sem nenhum custo pessoal.

Os dados coletados durante a pesquisa serão sempre tratados confidencialmente. Os resultados serão apresentados de forma conjunta, sem a identificação dos participantes, ou seja, os nomes não aparecerão na publicação dos resultados.

Caso você tenha dúvidas, poderá entrar em contato com o pesquisador responsável Dr. Jonas Alex Morales Saute pelo telefone (51) 3359-8011, com o pesquisador Tobias Gaviraghi, pelo telefone (54) 99182-6636, ou com o Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA), pelo telefone (51) 33597640, ou pelo e-mail: cep@hcpa.edu.br, ou no 2º andar do HCPA, sala 2229, de segunda à sexta, das 8h às 17h.

Esse Termo é assinado em duas vias, sendo uma para o participante e seu responsável e outra para os pesquisadores.

Nome do participante da pesquisa

Assinatura

Nome do pesquisador que aplicou o Termo

Assinatura

Local e Data: _____

10.2 Aprovação no Comitê de Ética em Pesquisa:

HOSPITAL DE CLÍNICAS DE
PORTO ALEGRE DA
UNIVERSIDADE FEDERAL DO
RIO GRANDE DO SUL - HCPA
UFRGS



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: História Natural da Distrofia Muscular de Cinturas tipo 2G/R7- relacionada à teletonina: escalas clínicas e exames de imagem

Pesquisador: Jonas Alex Morales Saute

Área Temática: Genética Humana:

(Trata-se de pesquisa envolvendo Genética Humana que não necessita de análise ética por parte da CONEP;);

Versão: 2

CAAE: 31626720.1.1001.5327

Instituição Proponente: Hospital de Clínicas de Porto Alegre

Patrocinador Principal: Hospital de Clínicas de Porto Alegre
Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 5.032.925

Apresentação do Projeto:

A distrofia muscular de cinturas tipo 2G/R7-teletonina (LGMD2G/R7) é causada por variantes patogênicas bi-alélicas no gene TCAP e leva a fraqueza muscular progressiva das cinturas pélvica e escapular e do compartimento anterior da perna, iniciando usualmente a partir da segunda década de vida. A descrição do locus LGMD2G/R7 e do TCAP como gene causador da doença foi realizada no Brasil, em que esta doença é responsável por 5,3% dos casos de LGMD autossômica recessiva e em que quase todos os casos são homozigotos para a variante nonsense p.Gln53*. Na maior série de casos reportados de LGMD2G/R7 a idade média para dependência de cadeira de rodas foi de 42 anos, contudo há poucos dados padronizados através de escalas validadas que permitam um melhor entendimento da história natural desta doença. O objetivo é caracterizar através de ferramentas clínicas validadas para distrofias musculares, teste funcionais cronometrados, ressonância nuclear magnética (RM) muscular e cardíaca a história natural de indivíduos com LGMD2G/R7, através de uma Coorte prospectiva multicêntrica em que todos os indivíduos com diagnóstico molecular de LGMD2G/R7 registrados na força-tarefa da Academia Brasileira de Neurologia serão recrutados como casos. As escalas semiquantitativas North Star for

Endereço: Rua Ramiro Barcelos 2.350 sala 2229

Bairro: Santa Cecília

CEP: 90.035-903

UF: RS

Município: PORTO ALEGRE

Telefone: (51)3359-7640

Fax: (51)3359-7640

E-mail: cep@hcpa.edu.br

HOSPITAL DE CLÍNICAS DE
PORTO ALEGRE DA
UNIVERSIDADE FEDERAL DO
RIO GRANDE DO SUL - HCPA
UFRGS



Continuação do Parecer: 5.032.925

Dysferlinopathy, medida de função motora-20 (MFM-20), Brooke Upper Extremity Scale, e estágio da doença modificado de Gardner-Medwin-Walton; os testes funcionais cronometrados (TFT), teste de caminhada de 6 minutos (TC6M), teste de caminhada de 100 metros (TC100M), teste de caminhada de 10 metros (TC10M) com velocidade autosselecionada e máxima, e timed up and go serão aplicados aos casos. Espirometria e estudos de RNM de corpo inteiro (para análise muscular) e cardíaca serão realizados nos centros que tiverem esses recursos. A avaliação subjetiva de progressão de doença será realizada pela Impressão Clínica Global do Paciente e sua capacidade funcional pelo questionário ACTIVLIM, os quais serão utilizados para definir as diferenças mínimas clinicamente significativas (MCID) dos diferentes instrumentos de avaliação. Os instrumentos clínicos e exames de imagem serão realizados no tempo zero e repetidos em 12 e 24 meses. A análise de progressão será realizada no total de pacientes com LGMD2G/R7, sendo estratificada de acordo com o estágio da doença. Os resultado do presente estudo auxiliarão na definição de qual(ais) instrumento(s) apresenta(ão) maior sensibilidade às mudanças na doença e qual a magnitude de efeito representa uma mudança significativa para os pacientes afetados. Os resultados deste estudo proverão melhor entendimento da evolução da LGMD2G/R7 e auxiliarão no delineamento de futuros ensaios clínicos para drogas modificadores do curso desta condição, ainda intratável.

Estudo multicêntrico tendo o HCPA como centro coordenador e centros participantes: Fundação do ABC - FMABC; Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da USP e a Faculdade de Ciências Médicas - UNICAMP. Será realizado no Serviço de Genética Médica do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA), ambulatório de neurogenética.

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Primário:

Caracterizar a história natural da LGMD2G/R7 através de ferramentas clínicas validadas para distrofias musculares, teste funcionais cronometrados e ressonância nuclear magnética de corpo interior e cardíaca.

Objetivo Secundário:

- Quantificar a progressão da doença utilizando as escalas padronizadas semiquantitativas North Star Assessment for Dysferlinopathy, Motor Function Measure (MFM), Brooke Upper Extremity

Endereço: Rua Ramiro Barcelos 2.350 sala 2229

Bairro: Santa Cecília

CEP: 90.035-903

UF: RS

Município: PORTO ALEGRE

Telefone: (51)3359-7640

Fax: (51)3359-7640

E-mail: cep@hcpa.edu.br

HOSPITAL DE CLÍNICAS DE
PORTO ALEGRE DA
UNIVERSIDADE FEDERAL DO
RIO GRANDE DO SUL - HCPA
UFRGS



Continuação do Parecer: 5.032.925

Scale, e estágio da doença Modificada de Gardner-Medwin-Walton;

- Quantificar a progressão da doença através de testes funcionais que incluem a Espirometria, o Teste Caminhada de 6 minutos (TC6MIN), teste de caminhada de 100 metros (TC100M), teste de caminhada de 10 metros (T10M) em velocidade autosselecionada e máxima, e Timed Up and Go (TUG);
- Quantificar a progressão da doença através de exame de Ressonância Nuclear Magnética de corpo inteiro;
- Quantificar a progressão da doença através de exame de Ressonância Nuclear Magnética cardíaca;
- Quantificar as diferenças clínicas minimamente relevantes para o paciente com LGMD2G/R7 através da avaliação subjetiva de progressão de doença pelos questionários de Impressão Clínica Global do Paciente e de habilidade funcional através do questionário ACTIVLIM e pelo método distributivo.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos:

Desconforto e/ou cansaço relacionados à realização do exame físico neurológico e das escalas de locomoção. Os desconfortos associados ao exame de ressonância magnética são o desconforto de ter que ficar parado, em um espaço fechado, e ouvir um barulho alto (como um tambor). O campo magnético produzido para se obter a imagem de Ressonância Magnética traz riscos para quem carregar consigo objetos ou próteses metálicas, pois os metais podem se deslocar quando expostos a ímãs. Há riscos se o participante tiver implantes de marca-passo cardíaco ou equivalentes, clips colocados em aneurisma intracraniano e alguns outros tipos de implantes ou próteses metálicas. Há riscos de alergia ao meio de contraste gadolínico.

Benefícios:

A participação no estudo não trará benefício direto ao participante. Entretanto os resultados dos testes poderão ser disponibilizados ao participante e equipe assistente, que poderão ter uma avaliação mais detalhada de sua função cardíaca e muscular. Se encontrarmos alguma informação clínica relevante para a sua saúde, nós encaminharemos você a atendimento na rede de saúde. O estudo poderá possibilitar a definição de quais instrumentos de avaliação de progressão de

Endereço: Rua Ramiro Barcelos 2.350 sala 2229

Bairro: Santa Cecília

CEP: 90.035-903

UF: RS

Município: PORTO ALEGRE

Telefone: (51)3359-7640

Fax: (51)3359-7640

E-mail: cep@hcpa.edu.br

HOSPITAL DE CLÍNICAS DE
PORTO ALEGRE DA
UNIVERSIDADE FEDERAL DO
RIO GRANDE DO SUL - HCPA
UFRGS



Continuação do Parecer: 5.032.925

doença devem ser utilizados em futuras pesquisas de tratamentos para a sua condição.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Coorte prospectiva multicêntrica, com amostra de conveniência, em que todos os 18 indivíduos com diagnóstico molecular de LGMD2G/R7 que foram acompanhados na força-tarefa da Academia Brasileira de Neurologia (Winckler et al, 2019) serão convidados a participar do estudo. Temos uma expectativa de recrutar um número maior do que 18 casos (4 casos no HCPA), considerando o interesse específico em LGMD2G/R7. Esta expectativa deriva de recente estudo aninhado à força-tarefa da Academia Brasileira de Neurologia com foco em apenas um subtipo de LGMD, a LGMD2L/R12 relacionada ao gene ANO5, que conseguiu avaliar 37 pacientes com esta condição (Silva et al, 2019), um número 3x maior do que havia sido relatado pela iniciativa nacional, que era de apenas 12 casos de LGMD2L/R12 (Winckler et al, 2019). Durante a coorte, os instrumentos clínicos, exames de imagem, e os biomarcadores serão realizados no tempo zero e repetidos em 12 e 24 meses. A análise de progressão será realizada no total de pacientes com LGMD2G/R7, sendo estratificada de acordo com o estágio da doença. Caso haja dados faltantes, uma segunda análise será realizada com dados imputados considerando o melhor cenário (estabilidade), o qual funcionará como um viés de conservação. Ao final do estudo serão realizadas análises de poder para cada um dos desfechos avaliados.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Apresentados.

Recomendações:

Informamos que o endereço do Comitê de Ética em Pesquisa deve ser atualizado no presente TCLE aprovado para: Av. Protásio Alves, 211 - Portão 4 - 5º andar do Bloco C - Rio Branco - Porto Alegre/RS, CEP 90410-000.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

As pendências emitidas para o projeto no parecer Nº 4.044.247 foram respondidas pelos pesquisadores, conforme carta de respostas adicionada em 14/09/2021. Não apresenta novas pendências. Ver Recomendações.

Considerações Finais a critério do CEP:

Lembramos que a presente aprovação (versão projeto e TCLE de 14/09/2021, incluindo as Recomendações deste parecer, e demais documentos que atendem às solicitações do CEP) refere-

Endereço: Rua Ramiro Barcelos 2.350 sala 2229

Bairro: Santa Cecília

CEP: 90.035-903

UF: RS

Município: PORTO ALEGRE

Telefone: (51)3359-7640

Fax: (51)3359-7640

E-mail: cep@hcpa.edu.br

HOSPITAL DE CLÍNICAS DE
PORTO ALEGRE DA
UNIVERSIDADE FEDERAL DO
RIO GRANDE DO SUL - HCPA
UFRGS



Continuação do Parecer: 5.032.925

se apenas aos aspectos éticos e metodológicos do projeto.

Os pesquisadores devem atentar ao cumprimento dos seguintes itens:

- a) Este projeto está aprovado para inclusão de 04 participantes no Centro HCPA, de acordo com as informações do projeto ou do Plano de Recrutamento apresentado. Qualquer alteração deste número deverá ser comunicada ao CEP e ao Serviço de Gestão em Pesquisa para autorizações e atualizações cabíveis.
- b) O projeto está cadastrado no sistema AGHUse Pesquisa (20200320) para fins de avaliação logística e financeira e somente poderá ser iniciado após aprovação final do Grupo de Pesquisa e Pós-Graduação.
- c) Qualquer alteração nestes documentos deverá ser encaminhada para avaliação do CEP. Informamos que obrigatoriamente a versão do TCLE a ser utilizada deverá corresponder na íntegra à versão vigente aprovada.
- d) Deverão ser adicionados relatórios semestrais e um relatório final do projeto no cadastro do mesmo, no Sistema AGHUse Pesquisa.
- e) Eventos adversos deverão ser comunicados de acordo com as orientações da Comissão Nacional de Ética em Pesquisa - Conep (Carta Circular nº 13/2020-CONEP/SECNS/MS). Os desvios de protocolo também deverão ser comunicados em relatórios consolidados, por meio de Notificação.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

| Tipo Documento | Arquivo | Postagem | Autor | Situação |
|---|---|------------------------|--------------------------|----------|
| Informações Básicas do Projeto | PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1552906.pdf | 14/09/2021 10:24:56 | | Aceito |
| Outros | CartaCEP.pdf | 14/09/2021 10:24:29 | Jonas Alex Morales Saute | Aceito |
| Outros | Plano_de_Recrutamento.pdf | 14/09/2021 10:22:20 | Jonas Alex Morales Saute | Aceito |
| TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência | TCLEHNLGMD2GClinaeimagem.doc | 14/09/2021 10:21:34 | Jonas Alex Morales Saute | Aceito |

Endereço: Rua Ramiro Barcelos 2.350 sala 2229

Bairro: Santa Cecília

CEP: 90.035-903

UF: RS

Município: PORTO ALEGRE

Telefone: (51)3359-7640

Fax: (51)3359-7640

E-mail: cep@hcpa.edu.br

HOSPITAL DE CLÍNICAS DE
PORTO ALEGRE DA
UNIVERSIDADE FEDERAL DO
RIO GRANDE DO SUL - HCPA
UFRGS



Continuação do Parecer: 5.032.925

| | | | | |
|---|--|------------------------|-----------------------------|--------|
| Projeto Detalhado / Brochura Investigador | TCAP_historia_natural_clinica_e_image m.pdf | 14/09/2021 10:21:22 | Jonas Alex Morales Saute | Aceito |
| Outros | Delegacao_de_Funcoes.pdf | 08/05/2020 18:05:39 | Jonas Alex Morales Saute | Aceito |
| Folha de Rosto | folhaDeRosto.pdf | 08/05/2020 10:51:15 | Jonas Alex Morales Saute | Aceito |

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

PORTO ALEGRE, 12 de Outubro de 2021

Assinado por:
Têmis Maria Félix
(Coordenador(a))

Endereço: Rua Ramiro Barcelos 2.350 sala 2229

Bairro: Santa Cecília

CEP: 90.035-903

UF: RS

Município: PORTO ALEGRE

Telefone: (51)3359-7640

Fax: (51)3359-7640

E-mail: cep@hcpa.edu.br