

# Estudos genéticos na Hipertermia Maligna e Miopatia de Central Core

## *Malignant hyperthermia genetics*

**Patrícia M Kossugue, Viviane P Muniz, Mariz Vainzof**

*Centro de Estudos do Genoma Humano, Depto. de Genética e Biologia Evolutiva, Instituto de Biologia da Universidade de São Paulo - IBUSP.*

A hipertermia maligna (HM) e a miopatia de Central Core (CCD), obedecem predominantemente a padrão de herança autossômica dominante. O principal defeito primário em ambas doenças ocorre no gene RYR1, que codifica o canal de liberação de cálcio do músculo esquelético, chamado também de receptor de rianodina. O gene RYR1 (19q13.1) contém 106 exons, sendo 2 modificados por emenda (“splicing”) alternativa e codifica uma proteína de 5037 aminoácidos, que se organiza em elaborada estrutura tetramérica, composta por 4 sub-unidades de cerca de 560 kDa cada, formando o canal de liberação de cálcio do retículo sarcoplasmático do músculo esquelético. Esta proteína tem também uma função estrutural, formando um pedúnculo que promove a ligação do retículo sarcoplasmático e dos túbulos T.

O número de mutações identificadas no gene RYR1 vem crescendo muito, com a implantação de novas metodologias de triagens. Até a presente data, pelo menos 70 mutações diferentes já foram descritas em pacientes com HM e mais de 40 em pacientes com CCD. Os diversos estudos mostraram entretanto, que a frequência de cada uma das mutações é muito baixa, variando nas diferentes populações entre 2% e 10% dos casos, sendo algumas delas encontradas em famílias únicas ou em uma população específica. Embora não exista uma predominância de certas mutações, 3 regiões grandes vêm sendo consideradas como “hot spots” para mutações: região 1 (códon 34 a 614), região 2 (códon 2163 a 2458) e a região 3 (códon 4136 a 4973). A análise da distribuição das mutações descritas no gene RYR1 mostra que a maioria das mutações ligadas a HM estão localizadas nas regiões 1 e 2, enquanto as ligadas a CCD estão concentradas na região 3 da proteína.

Alem do gigantesco tamanho do gene, um segundo fator que dificulta muito o estudo molecular é a significativa heterogeneidade genética que ocorre na HM. Mutações no gene

RYR1 correspondem a cerca de 50% dos casos de HM. Em diversas famílias onde ligação com o gene RYR1 foi excluída, estudos complementares têm identificado ligação com vários outros loci, nos mais diversos cromossomos, como em: 17q11-24 (Gene candidato: SCN4A), 7q11-21 (Gene candidato: CACNLA2), 3q13.1 (Genes candidatos: IAP e MSH4ORF2), 1q31-32 (Gene candidato: CACNL1A3), 5p, 1p32 (Gene candidato: CPTII); e ainda restam famílias cuja ligação com todos os loci citados já foi excluída, sugerindo a existência de pelo menos mais um locus. Heterogeneidade genética também foi descrita na miopatia CCD. Foram identificadas mutações em um segundo gene, MYH7, que codifica a cadeia pesada da  $\alpha$ -miosina, localizado no cromossomo 14, em pacientes com cardiomiopatia hipertrófica e presença de cores em biópsia muscular.

Uma grande variabilidade na manifestação clínica tem sido observada tanto na HM com na CCD. Em grande parte das famílias estudadas, a segregação do fenótipo sugere uma herança autossômica dominante, mas com penetrância reduzida e expressividade muito variável. Somente 4 famílias com CCD e herança AR foram descritos até a presente data no mundo todo. Interessantemente, em estudo recente finalizado em 5 famílias brasileiras com pacientes com diagnóstico de CCD, identificamos duas famílias com mutações nos dois alelos do gene RYR1, compatíveis com padrão de herança autossômica recessiva, sugerindo que este padrão de herança possa ser mais freqüente do que esperado.

O teste de contratura *in vitro* é o exame diagnóstico padrão para a HM. Entretanto, a identificação e descrição de mutações em um número crescente de famílias tem mostrado que uma correlação total entre os achados nos testes de contratura *in vitro* e dados moleculares nem sempre ocorre. Apesar da MHS estar ligada ao gene RYR1 em cerca de 50% dos casos, são encontradas mutações no gene RYR1 em cerca de apenas 22 a 25% dos indivíduos com resultados positivos no IVCT. Estudos da literatura relatam em uma mesma família, casos de indivíduos MHN portadores de mutações no gene RYR1 e diversos indivíduos MHS ou MHE sem mutações. Heterogeneidade foi observada para a mutação R614C tanto em estudos internacionais como em uma família brasileira, onde a mutação foi identificada em 3 dentre os 10 indivíduos com resultado positivo para o IVCT. Também para a mutação G1021A, que corresponde a cerca de 10% das mutações encontradas na população européia, observou-se esta variabilidade. Foi sugerido que um outro gene ou outra mutação poderia ser a causa deste padrão discordante entre o teste de contratura *in vitro* e a mutação, mas esta hipótese ainda não foi comprovada.

Apesar destes resultados, há um consenso internacional de que embora o teste molecular seja bem mais direto e muito menos invasivo, a realização do estudo de DNA nas famílias em risco é demorada e muito cara, por causa da grande heterogeneidade de mutações, bem como a baixa eficiência de sua identificação molecular. Portanto, até que esta metodologia seja aprimorada para poder ser oferecida de forma eficiente para as famílias em risco, o teste de contratura continuará a ser o exame mais seguro para prevenir novos episódios de HM.

### Referências

1. Davis MR, Haan E, Jungbluth H, et al. Principal mutation hotspot for central core disease and related myopathies in the C-terminal transmembrane region of the RYR1 gene. *Neuromuscul Disord*. 2003, 13(2):151-157.
2. Kossugue PM, Muniz VP, Pavanello RCM, et al. Screening for mutations in the C-terminal region of RYR1 gene identify high frequency of autosomal recessive form of Central Core Disease (CCD) in Brazil. 10th International Congress of the World Muscle Society, Iguassu Falls, Brazil, September 28 to October 1, 2005.
3. Muniz VP, Silva HCA, Tsanaclis AMC, Vainzof M. Screening for mutations in the RYR1 gene in families with malignant hyperthermia. *J Molec Neurosc* 2003; 21(1):35-42.
4. Phillips MS, Fuji J, Khanna VK, et al. The RYR1 gene. The structural organization of the human skeletal muscle ryanodine receptor (RYR1) gene. *Genomics* 15. 1996, 34 (1):24-41.
5. Sambughin N, Holley H, Muldoon S, et al. Screening of the Entire Ryanodine Receptor Type 1 Coding Region for Sequence Variants Associated with Malignant Hyperthermia Susceptibility in the North American Population. *Anesthesiol* 2005; 102(3):515-521.