

Correlações clínicas, morfológicas e funcionais do músculo estriado esquelético de pacientes que se submeteram ao teste de contratura muscular *in vitro* para o diagnóstico de hipertermia maligna.

Helga CA Silva^{1,2}, Débora R Ramadan¹, Ana MC Tsanaclis², José LG Amaral¹.

1. Dept. Anestesiologia, Dor e Terapia Intensiva da UNIFESP; 2. Dept. Patologia da Faculdade de Medicina da USP.

Introdução. A hipertermia maligna (HM) é uma síndrome hipermetabólica desencadeada por anestésicos voláteis halogenados e succinilcolina, em indivíduos predispostos geneticamente, com herança autossômica dominante. A HM está relacionada principalmente ao gene RYR1 (cromossomo 19), que codifica o canal rianodina ou liberador de cálcio do retículo sarcoplasmático do músculo esquelético. Portanto, a HM está associada a uma falência na homeostase do cálcio nas fibras musculares, sendo caracterizada por elevação sustentada do cálcio mioplasmático que leva à hipercontratura muscular, ao hipermetabolismo e à hipertermia. O teste-padrão para a detecção de suscetibilidade à HM é o teste de contratura muscular *in vitro* (IVCT). Nesse teste, um fragmento de biópsia muscular é conectado a um transdutor que afere o grau de contração muscular; o músculo é, então, exposto a doses crescentes de cafeína (C) ou halotano (H). A diferença entre a resposta do músculo de indivíduos normais e de pessoas suscetíveis está no grau de contração alcançado e na sua sensibilidade às drogas. O principal objetivo do presente trabalho foi analisar se as características clínicas de um grupo de pacientes que realizou o IVCT para o diagnóstico de HM, bem como as características morfológicas e funcionais dos seus músculos, estão influenciando nos resultados do IVCT e, conseqüentemente, se estão ligadas à suscetibilidade à HM.

Casuística e metodologia. Foi realizada análise retrospectiva da amostra de indivíduos investigada no CEDHIMA (Centro de Estudo, Diagnóstico e Investigação de Hipertermia Maligna) no período 1997-2001. Foram analisados os dados demográficos (idade, sexo) e clínicos (antecedentes pessoais -AP- e familiares - AF, doenças associadas, exame físico e neurológico). A seguir foram analisados os seguintes parâmetros do IVCT: área transversa, tétano físico e químico, contração máxima nos primeiros 10 minutos e durante o teste, concentração limiar (CL) e específica, resultado parcial de cada teste - H ou C, e resultado global. Finalmente analisou-se o estudo anatomopatológico do músculo esquelético quanto à percentagem de fibras I e II, alterações e diagnóstico. Os dados foram analisados quanto à

normalidade, comparados por meio dos testes do qui-quadrado e teste t, e correlacionados com os testes de Pearson e Spearman.

Resultados. Da amostra de 63 indivíduos (14: controles, 5: dados suficientes), foram analisados 44 pacientes (22 masculinos/22 femininos; média de idade 37 ± 16 anos (14 a 84)). A investigação foi motivada por AP (2%) ou AF (71%) de HM anestésica, doença neuromuscular (20%) e síndrome neuroléptica maligna (7%). Houve positividade no IVCT a pelo menos uma das duas substâncias em 89% deles (positivos: 65%H/35%C). Alteração mitocondrial foi o achado mais freqüente nas biópsias (38%). Houve diferença significativa entre os resultados do teste de cafeína (positivo ou negativo) e a percentagem de tipo de fibras. Correlações significantes: idade e CL-H ($p 0,0372$).

Conclusões. No atual estudo, o diagnóstico de HM foi influenciado pela idade dos pacientes e pela porcentagem do tipo de fibras musculares presentes nos fragmentos de músculo usados para a realização do IVCT, mostrando assim a importância de se levar em conta uma idade mínima para indicação do teste e a necessidade de padronização de um tipo de músculo para a sua realização.

Teste de esforço cardiopulmonar na avaliação da resposta ao exercício na hipertermia maligna.

Helga CA Silva¹, João J Leite²

1. Dept. Anestesiologia, Dor e Terapia Intensiva da UNIFESP; Dept. Patologia da Faculdade de Medicina da USP. 2. Serviço de Pneumologia do Instituto do Coração do HC/FMUSP.

Introdução. Hipertermia maligna anestésica, ou hipertermia maligna (HM) propriamente dita, é uma reação hipermetabólica grave que ocorre, em pacientes geneticamente suscetíveis, após a administração de anestésicos inalatórios halogenados e relaxantes musculares despolarizantes tipo succinilcolina. Clinicamente, a HM caracteriza-se por hipertermia, rigidez muscular, rabdomiólise, acidose e evolução rápida para o óbito. Pacientes suscetíveis à HM podem raramente apresentar outras complicações, como hipertermia desencadeada por esforço físico. Pacientes suscetíveis à HM, mesmo assintomáticos, geralmente apresentam algum grau de doença neuromuscular, detectável por meio do exame clínico, do nível sérico de enzimas musculares, dos estudos eletrofisiológicos, do estudo anatomopatológico, da espectroscopia e dos testes metabólicos. Entre esses últimos estão testes dinâmicos, como o teste de esforço cardiopulmonar (TECP), que analisa as modificações cardiovasculares,

respiratórias e metabólicas que ocorrem durante esforço físico padronizado. O objetivo deste estudo foi: avaliar a resposta ao TECP em uma amostra de pacientes suscetíveis à HM.

Casuística e metodologia. Após consentimento informado, foram avaliados dois grupos, controle (GC) e teste (GT). O GC foi formado por 12 indivíduos sem antecedentes de HM, sem doenças pré-existentes, assintomáticos, com exame clínico e força muscular normais, investigados durante avaliação de rotina anual. O GT constou de 11 pacientes com diagnóstico de suscetibilidade à HM, estabelecido pelo teste de contratura muscular *in vitro* em resposta ao halotano e à cafeína, segundo o protocolo europeu. No TECP foi utilizado o protocolo do tipo rampa, com bicicleta como ergômetro, e carga de 7,5/10/15 w.min⁻¹, a depender das condições de cada indivíduo estudado. As variáveis analisadas foram potência do trabalho desenvolvido - PT (watts), frequência cardíaca de pico do exercício - FC (batimentos/minuto), frequência respiratória (incursões/minuto), ventilação minuto -VE (litros/minuto), consumo oxigênio -VO₂ (ml/min), gás carbônico expirado - VCO₂ (ml/min), quociente respiratório - QR (CO₂/O₂). Os dados entre os dois grupos foram comparados, após o teste de normalidade, por meio do teste do qui-quadrado e do teste t não pareado.

Resultados. Não houve diferenças entre os grupos quanto à idade (GC: 40±12; GT 31±12,5 anos) e gênero (GC: 7femininos/5 masculinos; GT: 7/4). Da mesma forma, não houve diferenças quanto à PT (GC:82±18%; GT: 82±21% do previsto), FC (GC:86,5±11%; GT: 83±9%), VO₂ de pico de exercício (GC:89±15%; GT: 81±17%), VO₂ no limiar ventilatório (GC:57,7±9,7%; GT: 57,7±12,2%) e QR pré-teste (GC:0,86±0,06; GT: 0,86±0,15). Houve diferença significativa entre os grupos no valor do QR de pico de exercício (GC:1,18±0,08; GT: 1,09±0,07; p<0,01).

Conclusões. A presença de diminuição do QR de pico do exercício, em pacientes com HM, pode resultar de vários fatores, tais como: diminuição da massa muscular, exercício fragmentado, maior custo energético do trabalho (maior VO₂ para mesma PT), utilização de músculos habitualmente inativos e mesmo utilização preferencial de lípidos pela fibra muscular. É necessário estudar maior número de pacientes com HM por meio de outros protocolos metabólicos e dinâmicos que possam levar a melhor discriminação das alterações encontradas.

Triagem de mutações na região C-terminal do gene RYR1 identifica alta frequência de formas autossômicas recessivas de Miopatia de Central Core (CCD) no Brasil.

Patrícia M Kossugue¹, Viviane P Muniz¹, Rita CM Pavanello¹, Mayana Zatz¹, Helga C Silva², Juliana G Giannetti³, Júlia FO Paim⁴, Mariz Vainzof¹.

1) Centro de Estudos do Genoma Humano, IBUSP; 2-) Depto. de Patologia, FMUSP; Depto de Anestesiologia, UNIFESP; 3) UFMG, Belo Horizonte, MG; 4) RSHAL, Belo Horizonte, MG.

A miopatia de Central Core (CCD) é associada à hipotonia neonatal, fraqueza muscular lentamente progressiva, possíveis deformidades ósseas e susceptibilidade à Hipertermia Maligna (HM). O achado histológico predominante na biópsia muscular é a presença de “cores”, lesões dos sarcômeros localizadas centralmente, ou não no interior da fibra muscular. O primeiro gene responsável identificado, RYR1 (19q13), codifica o canal de liberação de Ca⁺⁺ do retículo sarcoplasmático. O gene é muito grande, composto por mais de 160 kb, contendo 106 exons, o que dificulta significativamente o seu estudo. Recentemente, verificou-se que a região terminal do gene agrega grande parte das mutações já descritas em pacientes com CCD. Na grande maioria das famílias descritas, o padrão de herança é autossômico dominante. Apenas quatro famílias com herança autossômica recessiva (AR) foram descritas, sendo que duas delas apresentam quadro clínico muito grave. Estamos realizando uma triagem de mutações no gene RYR1 em pacientes com CCD pertencentes a 9 famílias brasileiras. O estudo molecular está sendo realizado em DNA genômico. Os exons 94 a 106 são amplificados por PCR, a detecção das mutações está sendo feita por técnica de SSCP, e a confirmação das alterações encontradas, por sequenciamento automático das amostras.

Até a presente data, a análise de 3 exons (94, 101 e 102) foi finalizada. Identificamos 6 mutações (3 descritas e 3 novas) em 5 das famílias estudadas. Além disso, identificamos 2 famílias com 3 pacientes moderadamente afetados portadores de mutações em ambos alelos do gene RYR1, indicando um padrão de herança autossômico recessivo. Constatamos em um dos pacientes a mutação V4849I em homozigose. Os pais são consangüíneos e ambos portadores assintomáticos da mutação. Os 2 pacientes da segunda família são heterozigotos compostos para duas mutações novas (R4558Q/A4846V) transmitidas por cada um dos pais assintomáticos. As 2 mutações recém descritas não foram encontradas em 100 cromossomos normais; além disso, estão localizadas em regiões evolutivamente conservadas. Estes dados favorecem a possibilidade dessas mutações serem patogênicas.

A identificação de 2/5 famílias com herança autossômica recessiva, sugere que este padrão de herança possa ser mais freqüente do que esperado, e poderia explicar a falta de penetrância e a expressividade muito variável observada em portadores de mutações neste gene em algumas famílias. Assim, mutações descritas em indivíduos assintomáticos e consideradas como não-patogênicas podem ser potencialmente responsáveis por um quadro de miopatia quando presente em ambos alelos, em homozigose ou heterozigose composta. Além disso, deve-se considerar o risco de susceptibilidade à Hipertermia Maligna nos pais heterozigotos assintomáticos.

O estudo de mutações no gene RYR1 é muito importante para o diagnóstico de pacientes, para o aconselhamento genético e melhor caracterização da Miopatia de Central Core. O presente estudo irá permitir estimar a proporção de mutações no gene RYR1 na população estudada. Além disso, a identificação destas mutações irá permitir uma análise mais detalhada de seu efeito, relacionando-as com os padrões de “cores” observados nas biópsias musculares dos respectivos pacientes. A correlação genótipo/fenótipo é de fundamental importância para a compreensão do mecanismo fisiopatológico da miopatia CCD.

FAPESP-CEPID, CNPq, PRONEX.