

U. PORTO



INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOMÉDICAS ABEL SALAZAR
UNIVERSIDADE DO PORTO

Miocardopatias associadas à morte súbita

Dissertação de Mestrado em Medicina Legal

Luís Augusto Cirnes Cardoso

Porto, 2009

Universidade do Porto

Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar

Instituto de Patologia e Imunologia Molecular da Universidade do Porto

Miocardopatias associadas à morte súbita

Dissertação de tese de Mestrado em Medicina Legal

Dissertação de tese de Mestrado realizado no âmbito da unidade curricular do ano 2008/2009 do mestrado de Medicina Legal do Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar, orientado pelo Prof. Doutor José Carlos Machado.

Luís Augusto Cirnes Cardoso

Porto, 2009

Há momentos na vida que valem o que valem, outros há cujo valor é imensurável. Daí se diga que cada momento é único, então vamos aproveitar este, pois também é único!

Agradecimentos:

Bom, segundo as regras esta é a parte reservada ao autor de modo a transpor o que lhe vai na alma. Assim sendo, há muitas pessoas que merecem estar referenciadas nestas linhas contudo não poderei por não ter espaço!

A iniciar pelos colegas de curso, os Pedros, a Inês, o Melo e a Frederica. O meu bem haja!

Prof.^a Maria José, foi e é um prazer tê-la conhecido. Aprendi muito consigo, adorei as suas aulas com relevo para a transparência como fala!

Passando para o IPATIMUP, aqui a minha segunda casa, o meu agradecimento fica muito extenso e ainda bem. Aqui como diz o Malato, “eu fui feliz”, eu digo “eu sou feliz”! Licas, Zézinha, Cátia, Sr Mendes e o Lopes entre muitos mais colegas obrigado.

Sérgia ou o “gajo”, bom cara amiga de verdade, o meu carinho e obrigado por tudo em especial nos momentos em que estava “desorientado” e soubeste chamar-me à razão!

Rute (aina) aquele obrigado não só pela ajuda como pelo incentivo.

À Raquel Pinho um especial obrigado. Cátia “papagaio”, pessoas assim como tu fazem muita falta nos dias que correm. Continua... Agradecido!

Raquel Seruca, à 13 anos apostou em mim, fico muito agradecido por tudo o que me ensinou. Continue a partilhar o seu saber com os mais novos.

Ao Zé Carlos, rapaz é um privilégio trabalhar contigo e, teres dado a oportunidade de ter feito este trabalho.

Por norma a família vem sempre no fim. Assim, àqueles que me criaram e que eu chateei muito, aquele obrigado. Irmãos, cunhadas e sobrinhos (Touchè, Tiago, Afonso e Dinis), também incluídos.

Áquela que me atura, o meu doce, Mafalda obrigado por te teres cruzado na minha vida. E o nosso fruto, o João, o nosso menino espero que um dia ao ler estas palavras te dê muita força!

Índice Geral

Abreviaturas	4
Resumo.....	6
Abstract	7
Sommaire	10
Introdução	9
1. Cardiomiopatia Hipertrófica	11
2. Etiologia e Patofisiologia da Cardiomiopatia hipertrófica	13
2.1. Estrutura e fisiologia do sarcómero.....	13
2.2. Genes e mutações identificados na Cardiomiopatia Hipertrófica	14
2.2.1. Miosina.....	16
2.2.2. Proteína C que liga à miosina (MYBPC)	19
2.2.1. Actina	21
2.2.2. Tropomiosina	22
2.2.1. Troponina T cardíaca (cTnT)	23
2.2.2. Troponina C cardíaca	24
2.2.3. Troponina I cardíaca (cTnI)	25
2.2.4. Titina	26
2.2.5. Teletonina.....	27
2.2.6. Miozenina 2.....	27
2.3. Mecanismos patofisiológicos explicativos da CMH	28
2.4. Correlações genótipo-fenótipo	28
2.4.1. Gene MYH7	29
2.4.2. Gene MYBPC3	29
2.4.3. Gene TNNT2.....	30
2.4.4. Restantes genes	30
3. Morte súbita Cardíaca na Cardiomiopatia Hipertrófica	33
3.1. Exame <i>post-mortem</i>	34
3.1.1. Exame macroscópico do coração	36
3.1.2. Achados Microscópicos na CMH.....	38
3.1.3. Autópsia molecular na CMH.....	39

3.1.3.1.	Amostras.....	39
3.1.3.2.	Técnicas de Biologia molecular	40
4.	Achados <i>post-mortem</i> na gestão clínica de CMH	43
4.1.	Causa genética da MSC identificada.....	43
4.2.	MSC inexplicada ou com suspeita de CMH	44
5.	Impacto do diagnóstico precoce de CMH e as medidas preventivas	48
5.1.	Terapia preventiva.....	50
6.	Rastreio da Cardiomiopatia Hipertrófica	53
	Conclusão.....	55
	Referências Bibliográficas	57

Abreviaturas

aa	Aminoácido
ACTC	Gene codificador da α – Actina
ATP	Trifosfato de adenosina (do inglês <i>Adenosine triphosphate</i>)
CALR3	Gene codificador da Calreticulina
CAV3	Gene codificador da Caveolina 3
CDI	Cardioversor desfibrilador implantável
CMD	Cardiomiopatia Dilatada
CMH	Cardiomiopatia Hipertrófica
cTnC	Troponina C isoforma cardíaca
cTnI	Troponina I isoforma cardíaca
cTnT	Troponina T isoforma cardíaca
DNA	Ácido desoxirribonucleico (do inglês, <i>desoxyribonucleic acid</i>)
ECG	Electrocardiograma
HVE	Hipertrofia do ventrículo esquerdo
JPH2	Gene codificador da <i>Junctophilin-2</i>
LMM	Meromiosina leve (do inglês <i>Light meromyosin</i>)
LVOT	Obstrução da saída do ventrículo esquerdo (do inglês <i>Left Ventricular Outflow Tract Obstruction</i>)
MHC	Cadeia pesada da miosina (do inglês <i>Myosin Heavy Chain</i>)
MLC1	Cadeia leve da miosina (do inglês <i>Myosin Light Chain</i>) essencial
MLC2	Cadeia leve da miosina (do inglês <i>Myosin Light Chain</i>) reguladora
MLP	Proteína muscular LIM (do inglês <i>Muscle LIM Protein</i>)
MSC	Morte Súbita Cardíaca
MYBPC	Proteína C que liga à miosina (do inglês <i>Myosin Binding Protein C</i>)
MYBPC3	Gene codificador da Proteína C que liga à miosina
MYH6	Gene codificador da Cadeia pesada da α -miosina
MYH7	Gene codificador da Cadeia pesada β - miosina

MYL2	Gene codificador da Cadeia leve miosina reguladora
MYL3	Gene codificador da Cadeia leve miosina essencial
MYLK2	Gene codificador da <i>Myosin light chain kinase 2</i>
MYOZ2	Gene codificador da Miozenina 2 (Calsarcina 1)
PLN	Gene codificador da <i>Phospholamban</i>
TCAP	Gene codificador da Teletonina
TM	Tropomiosina (proteína)
TnC	Troponina C (proteína)
TnI	Troponina I (proteína)
TNNC1	Gene codificador da Troponina C cardíaca
TNNI3	Gene codificador da Troponina I cardíaca
TNNT2	Gene codificador da Troponina T cardíaca
TnT	Troponina T (proteína)
TPM1	Gene codificador da α -Tropomiosina
TTN	Gene codificador da Titina
VE	Ventrículo Esquerdo

Resumo

A MSC é normalmente definida como uma morte inesperada que ocorre, no prazo de uma hora após o início dos sintomas, que representa aproximadamente 20% de toda a mortalidade no mundo ocidental. Etiologicamente a MSC tem sido explicada pela presença de doença arterial coronária, doenças estruturais cardíacas e doenças arritmogénicas.

Nos últimos 50 anos tem-se enfatizado o estudo nas doenças estruturais cardíacas (Cardiomiopatias) não só por estas justificarem muitos dos casos até então sem explicação, mas também por este grupo de doenças ter uma origem genética, de carácter familiar e de transmissão autossómica dominante, com conseqüente importância no acompanhamento dos familiares vivos.

Tendo em conta que cerca de um terço dos casos de MSC ser acompanhado por uma macroscopia e histologia cardíacas aparentemente normais e dada a potencial etiologia molecular inerente às doenças cardíacas a análise molecular (ou “autópsia molecular”) tem sido defendida como útil para a explicação médico-legal de alguns casos de MSC principalmente entre jovens e atletas.

Neste sentido, o interesse de proceder à análise mutacional dos genes implicados nas Cardiomiopatias nos casos de MSC sem explicação é inquestionável quer para preencher a falha de conhecimento da verdadeira implicação causal das doenças estruturais cardíacas, quer para nos casos positivos proceder ao acompanhamento e prevenção de novos casos relacionados/familiares.

Palavras-chave: Cardiomiopatia hipertrófica; Morte súbita cardíaca; Autópsia; Etiologia; Gestão clínica; terapia preventiva

Abstract

MSC is usually defined as an unexpected death that occurs within one hour after the onset of symptoms, which represents approximately 20% of all deaths in the Western world. Etiologically MSC has been explained by the presence of coronary artery disease, structural heart disease and arrhythmogenic diseases.

Over the past 50 years the structural heart disease (cardiomyopathy) study has been emphasized, not only because it can justify many cases so far unexplained, but also due to the fact that this group of diseases have a genetic origin, with a family and autosomal dominant transmission with consequent importance in monitoring the family relatives.

Due to the potential molecular etiology of heart disease and knowing that one third of cases of SCD have an apparently normal cardiac anatomy and histology molecular analysis (or "molecular autopsy") has been advocated as useful for explaining some cases of SCD among young athletes because.

In this sense, the interest to proceed with the mutational analysis of genes involved in Cardiomyopathies of unexplained SCD is unquestionable to fill the knowledge gap of true causal implications of structural heart diseases and to monitor and prevent related / family members.

Key-Words: Hypertrophic cardiomyopathy, sudden cardiac death, Autopsy, Etiology, Clinical management, preventive therapy

Sommaire

Le MSC est généralement définie comme une mort inattendue qui survient dans l'heure suivant l'apparition des symptômes, ce qui représente environ 20% des décès dans le monde occidental. Étiologiquement MSC a été expliqué par la présence de la maladie coronarienne, de maladie cardiaque structurelle et des maladies arythmogène.

Au cours des 50 dernières années a été l'étude mettent en évidence la maladie cardiaque structurelle (cardiomyopathie) ne justifie pas que beaucoup de ces cas à ce jour inexplicée, mais aussi pour ce groupe de maladies ont une origine génétique, d'une famille de transmission et de transmission autosomique dominante avec une importance conséquente dans le suivi de la famille en vie.

Étant donné qu'environ un tiers des cas de SCD être accompagnée d'une histologie cardiaque macroscopiques et d'apparence normale et vu le risque inhérent à l'étiologie moléculaire de l'analyse moléculaire des maladies cardiaques (ou "autopsie moléculaire») a été préconisée comme utile pour expliquer médico-légaux certains cas de la MSC chez les jeunes athlètes.

En ce sens, l'intérêt de procéder à l'analyse des mutations des gènes impliqués dans les cardiomyopathies en cas de inexplicée SCD est incontestable veut combler une lacune dans la connaissance des véritables implications de causalité des maladies structurelles du coeur et pour les cas positifs et de surveiller la prévention des nouveaux cas connexes / membres de la famille.

Mots-clés: cardiomyopathie hypertrophique, la mort subite d'origine cardiaque, l'autopsie, étiologie, de gestion clinique, de prévention de thérapie

Introdução

A MSC é normalmente definida como uma morte inesperada que ocorre, no prazo de uma hora após o início dos sintomas, em pessoas aparentemente saudáveis ou cuja gravidade da doença não tenha sido suficiente para a sua previsão¹⁻⁵.

O seu impacto na sociedade tem constituído um problema público que reúne aproximadamente 20% de toda a mortalidade no mundo ocidental⁶. No entanto, a falta de padronização na sua definição e codificação na certidão de óbito têm dificultado a interpretação dos dados epidemiológicos⁴.

No que respeita à etiologia subjacente, a maioria dos casos tem sido explicada pela presença de doença arterial coronária (~80%)^{1-3,6-9} sendo os restantes relativos a doenças estruturais cardíacas (~10%), a doenças arritmogénicas (~5%) e a condições mecânicas graves (~5%)¹. Contudo, segundo Sung *et al* (2008)⁶, as causas da MSC variam significativamente entre os vários grupos etários tendo, em 70 a 80% dos indivíduos jovens (≤ 35 anos), uma base genética^{3,4,10}.

Mais de 40 doenças genéticas têm, então, sido associadas a um risco aumentado de MSC^{4,10} e coincidem, na sua maioria, com um padrão de herança autossómica dominante¹⁰. Dada a marcada variabilidade observada na penetrância destas doenças^{4,10}, a morte súbita surge frequentemente como a primeira manifestação.

Atendendo aos factos anteriormente expostos, a utilidade do exame *post-mortem* não se restringirá apenas ao esclarecimento da causa da morte. A informação forense obtida terá também importantes implicações na análise e gestão clínicas dos familiares vivos do falecido.

No entanto, cerca de um terço dos casos de MSC têm sido acompanhados por uma macroscopia e histologia cardíacas aparentemente normais^{5-7,11}. Neste sentido e atendendo ao aumento do conhecimento sobre a etiologia molecular inerente às doenças cardíacas⁶, a utilidade da análise molecular na autópsia (vulgarmente denominada de “Autópsia molecular”) tem sido defendida por vários autores.

Portanto, atendendo ao facto da CMH constituir uma das doenças genéticas responsável pela maior parte dos casos de MSC em jovens e atletas^{6,7}, o presente trabalho terá como principal objectivo a concretização de uma revisão do conhecimento existente sobre a etiologia, patofisiologia e tradução clínica da CMH. Adicionalmente, procurar-se-á demonstrar o contributo desta doença para a MSC bem como a importância das informações forenses na abordagem e gestão clínica em CMH e, por fim, discutir quanto à aplicabilidade dos rastreios na prevenção da MSC.

Capítulo 1

1. Cardiomiopatia Hipertrófica

Ao longo do tempo, o termo Cardiomiopatia tem sido alvo de diversas alterações na sua definição. Actualmente, a sua aplicação é relativa a um conjunto de patologias primárias do miocárdio com etiologia e fisiopatologia variáveis¹²⁻¹⁴.

Segundo a Organização Mundial de Saúde, com base nas suas características clinicopatológicas, estas podem ser classificadas em: Dilatada (CMD), Restritiva, Arritmogénica do ventrículo direito e Hipertrófica^{15,16}.

No que respeita à CMH, esta constitui uma das doenças genéticas cardíacas mais comuns e a primeira a ser elucidada a nível molecular¹⁷. Descrita um pouco por todo mundo⁶, a sua prevalência foi recentemente estimada em 1:500 indivíduos¹⁸⁻²². No entanto, dado o amplo espectro fenotípico observado, mesmo entre indivíduos da mesma família¹⁰, muitos autores têm alertado para a possível existência de casos não diagnosticados.

Ao longo dos últimos 50 anos, a CMH tem sido descrita em detalhe como uma doença primária do músculo cardíaco cuja imagem de marca consiste numa hipertrofia cardíaca inexplicada por outras causas capazes de produzir um fenótipo semelhante^{19,20,23}. O grau e gravidade da hipertrofia é variável o que tem impossibilitado o estabelecimento de um padrão morfológico típico^{24,25}.

Em termos de evolução clínica, a elevada heterogeneidade observada tem levado a ponderar que o seu desenvolvimento é influenciado quer por factores genéticos quer por factores ambientais^{22,24,26,27}. De um modo geral, episódios de síncope, insuficiência cardíaca, fibrilação auricular e MSC são sintomas que fazem parte do amplo espectro clínico e os quais ocorrem com maior frequência entre indivíduos jovens. Todavia, a ausência dos mesmos durante toda a vida ou a antecipação/retardamento na idade de apresentação são cenários possíveis²⁵.

Em atenção à importância clínica da CMH bem como ao seu potencial como modelo genético da hipertrofia cardíaca, várias investigações têm sido desencadeadas no sentido de compreender a sua etiologia molecular. Tais estudos têm mostrado que CMH é maioritariamente uma doença autossómica dominante de carácter familiar (50 a 60%) sendo os restantes casos explicados pela ocorrência de mutações *de novo*^{18,19,22,28,29}.

Capítulo 2

2. Etiologia e Patofisiologia da Cardiomiopatia hipertrófica

Desde o trabalho pioneiro de Seidman *et al.*, em 1990, o qual resultou na identificação da primeira mutação causadora de CMH – R403Q – no gene da cadeia pesada da β -miosina (MYH7), vários estudos foram e têm sido desenvolvidos no sentido de elucidar a etiologia molecular desta patologia^{24,26,30}.

Actualmente, cerca de dois terços dos seus casos apresentam uma causa genética conhecida^{26,30}, a qual tem coincidido com mutações em proteínas do sarcómero cardíaco^{6,22,31-33}.

2.1. Estrutura e fisiologia do sarcómero

O sarcómero é a unidade básica estrutural e funcional do músculo cardíaco cuja função é determinada pelos níveis de expressão de múltiplas isoformas e pelas modificações pós-tradução das proteínas sarcoméricas^{34,35}.

Estruturalmente, cada sarcómero é definido como uma região entre duas linhas Z na qual os filamentos finos e os grossos são alinhados paralelamente^{28,36} (figura 1).

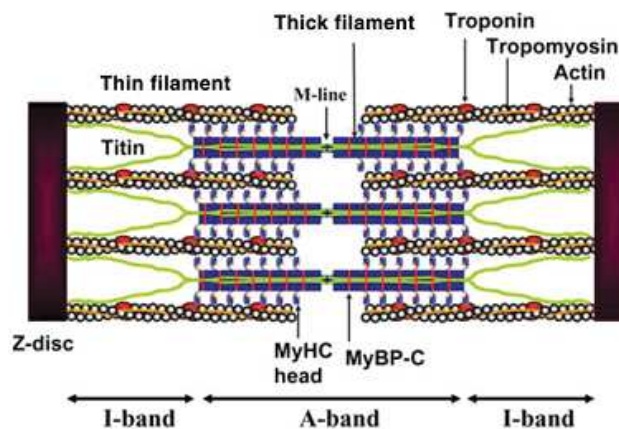


Figura 1 - Representação esquemática da estrutura do sarcómero. Retirado de Morimoto *et al* (2008)³⁷

Os filamentos finos, ancorados a uma linha Z, são essencialmente formados por uma dupla hélice de moléculas de actina polimerizadas^{35,36,38}. Ao longo do sulco principal desta hélice encontra-se, enrolado paralelamente, um dímero de tropomiosina (TM) que interaccua com sete moléculas de actina e está associado ao complexo de troponinas^{35,39}. Cada complexo é

composto por uma molécula de troponina T (TnT), C (TnC) e I (TnI)^{34,35,39-41}. Em conjunto, a TM e o complexo de troponinas – complexo Tropomiosina-troponinas – são responsáveis pela regulação da interacção entre as moléculas de miosina (filamento grosso) e as de actina (filamento fino)^{34,42}.

Os filamentos grossos são mantidos na sua posição por uma estrutura designada de linha M^{36,42}. A sua constituição é fundamentalmente à base de miosina (molécula motora)⁴³. Cada molécula de miosina é uma estrutura dimérica formada por duas cadeias pesadas (isoformas α e β) e duas leves (a essencial e a reguladora)^{39,44-46}. Os dois domínios funcionais são relativos às hastes e às cabeças onde estas últimas são necessárias para a produção de força e movimento^{28,46}.

A organização dos filamentos grossos e finos, sob a forma interdigitada, resulta na formação das bandas A (filamentos finos e grossos sobrepostos) e I (apenas filamentos finos)³⁶ (figura 1). A manutenção desta estrutura é garantida, num plano transversal, pela linha Z e pela banda M³⁶. Num plano longitudinal, tal facto é garantido por uma proteína estrutural – a titina – que, ao ancorar a sua região N-terminal na linha Z e a C-terminal na banda M, conecta estes dois componentes³⁶.

Segundo a teoria do “deslizamento dos filamentos”, durante a contracção muscular ocorre uma interacção molecular entre a actina e a miosina que promove o encurtamento do sarcómero^{34,36}. Aquando do aumento do cálcio intracelular (Ca^{2+}), este liga-se à troponina C cardíaca (cTnC) e desfaz o efeito inibidor do complexo tropomiosina-troponina^{34,42,47}. Deste modo, as cabeças de miosina ligam-se à actina e, impulsionados pela energia obtida da hidrólise de ATP (trifosfato de adenosina), os filamentos (finos e grossos) deslizam entre si provocando assim a contracção muscular³⁴.

2.2. Genes e mutações identificados na Cardiomiopatia Hipertrófica

As mutações identificadas têm envolvido genes codificadores de pelo menos 11 proteínas sarcoméricas (tabela 1). Recentemente, o espectro mutacional foi ampliado com a adição de mais 8 genes que registaram mutações em pacientes com CMH mas cuja causalidade ainda não se encontra estabelecida^{26,30} (tabela 1).

Tabela 1 – Genes envolvidos na etiologia molecular de CMH

GENE	SÍMBOLO	LOCUS NO CROMOSSOMA	FREQUÊNCIA (%) ^{26,28,30}
Genes estabelecidos como causadores			
Cadeia pesada β- miosina	MYH7	14q12	~25-30%
Proteína C que liga à miosina	MYBPC3	11p11.2	~25-30%
Troponina T cardíaca	TNNT2	1q32	<5,0%
Troponina I cardíaca	TNNI3	19q13.4	<5,0%
α –Tropomiosina	TPM1	15q22.1	<5,0%
Cadeia leve miosina reguladora	MYL2	12q24.11	<1,0 %
Cadeia leve miosina essencial	MYL3	3p21.2-p21.3	<1,0%
α –Actina	ACTC	15q11-q14	<1,0 %
Teletonina	TCAP	17q12	<1,0%
Titina	TTN	2q31	<0,5%
Miozenina 2 (Calsarcina 1)	MYOZ2	4q26–q27	1:250
Possíveis genes causadores ¹			
<i>Myosin light chain kinase 2</i>	MYLK2	20q13.31	-
Cadeia pesada da α-miosina	MYH6	14q12	-
Troponina C	TNNC1	3p21.3-p14.3	-
Caveolina 3	CAV3	3p25	-
<i>Phospholamban</i>	PLN	6q22.1	-
Calreticulina	CALR3	19p13.11	-
<i>Junctophilin-2</i>	JPH2	20q13.12	-
Mitochondrial tRNAs	MTTG, MTTI	DNA mitocondrial	-

¹ Identificados em pacientes com CMH mas a causalidade permanece por estabelecer

As frequências de envolvimento de cada gene ainda apresentam alguma controvérsia tendo-se assistido a uma variação mediante a composição da amostra e a localização geográfica, por exemplo. Contudo, de um modo geral, os genes MYH7 e MYBPC3 têm sido os mais comuns reunindo, no seu conjunto, mais de metade dos casos de CMH^{6,24,26,30}. Em contrapartida,

os genes TNNT2, TNNT3, TPM1 e ACTC1 abrangem cerca de 10 a 15% dos casos diagnosticados de CMH sendo os restantes genes tidos como causadores de baixa prevalência^{26,30}.

Mais de quatro centenas de mutações diferentes têm sido recentemente envolvidas na etiologia de CMH⁴⁸, as quais se encontram disponíveis, para consulta, na base de dados CardioGenomic (<http://genetics.med.harvard.edu/~seidman/cg3/index.html>). Na sua maioria, estas mutações coincidem com substituições de um único aminoácido por outro (isto é, mutações *missense*)²⁶. Contudo, têm também sido descritos outros tipos de mutações como inserções, deleções, mutações *nonsense* e de *splice site* cuja incidência varia com o gene^{22,24,26}.

2.2.1. Miosina

A miosina é uma molécula hexamérica, altamente assimétrica, que transforma a energia proveniente da hidrólise de ATP em movimentação dirigida que conduz ao encurtamento do sarcómero e, conseqüentemente, provoca a contracção muscular^{39,44-46}. Estruturalmente, consiste em duas cadeias pesadas (isoformas α e β de MHC) e duas cadeias leves (essencial – MLC1 – e a reguladora – MLC2)^{34,39,44-46}.

Os genes MYH6 e MYH7 codificam respectivamente as isoformas α e β de MHC cujos padrões de expressão parecem variar no tempo e no espaço⁴⁴.

O gene MYH7, localizado no braço longo do cromossoma 14 (14q11.2-q13), é constituído por 40 exões, 38 dos quais codificam um polipéptido de 1935 aminoácidos que corresponde à isoforma predominante no músculo cardíaco do ser humano adulto^{31,46,49}. Em contraste com o gene MYH6, em que o baixo número de mutações descritas em CMH ainda não permitiu estabelecer uma clara relação de causalidade, o gene MYH7 é considerado, por muitos autores, como o principal responsável por CMH aportando cerca de 200 mutações associadas a esta doença^{49,50}.

Cada cadeia pesada é composta de dois domínios principais – Cabeça e cauda/haste – que se encontram dimerizados numa estrutura onde as duas cabeças se juntam num domínio em α -hélice^{44,45} (figura 2). A cabeça globular (localizada no sub-fragmento S1) apresenta dois sub-domínios que desempenham papéis fundamentais na regulação da actividade mecanoquímica durante o ciclo contráctil: o sítio catalítico da ATPase (que determina a taxa de energia consumida e a velocidade de contracção) e o sítio de ligação à actina (que constitui a interface do complexo actina-miosina durante a contracção muscular)^{34,39,44-46,49}. A haste é composta, na região N-terminal, pelo sub-fragmento S2 (local de ligação para MLC1 e MLC2) e, na região C-terminal, pela meromiosina leve (LMM) a qual medeia a montagem dos

filamentos e oferece os locais de ligação para as proteínas associadas à miosina como a proteína C e a titina^{31,46,49}.

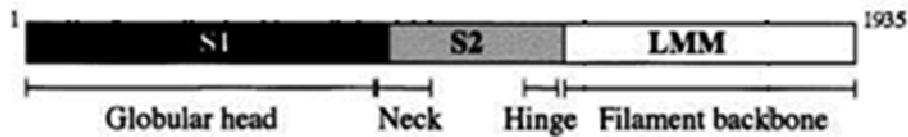


Figura 2 – Estrutura esquemática da proteína β -MyHC. Imagem adaptada de Blair *et al* (2002)³¹

A distribuição das mutações ao longo do gene MYH7 não é homogênea estando a maioria das mutações agrupada em regiões funcionalmente importantes como as da cabeça e pescoço (junção dos sub-fragmentos S1 e S2) da miosina (exões 3 - 23)^{25,31,46,51-53}. Contudo, estudos recentes como os de Blair *et al* (2002)³¹ e o de Hougs *et al* (2005)⁵⁴ identificaram mutações entre os exões 24 e 40, após a inclusão desta região codificante nas suas investigações.

Ao nível da cabeça, as consequências funcionais das respectivas mutações traduzem-se vulgarmente por uma redução da força desenvolvida e da eficiência do ATP³¹. As mutações localizadas no local de ligação do ATP (ex: T124L e F244L) parecem alterar a estrutura do sítio activo ou a posição dos resíduos críticos para a ligação do fosfato e, desta forma, comprometer a função catalítica¹⁷. As mutações localizadas na interface actina-miosina (ex: R403Q) podem alterar as ligações entre os filamentos¹⁷.

No que respeita às mutações da região do pescoço, pensa-se que afectem a comunicação dos rearranjos estruturais do domínio motor para os restantes domínios proximais ou distais. Uma outra consequência poderá ser traduzida, ao nível, da flexibilidade desta região durante a contracção muscular. Em adição, algumas mutações localizadas na região N-terminal do sub-fragmento S2 têm sido descritas com um possível efeito sobre a ligação de β -MHC ao domínio regulador N-terminal de MYBPC.

As mutações na haste da miosina, mais concretamente em LMM, parecem não afectar directamente a função motora crendo-se que a sua influência seja exercida na montagem do filamento da miosina ou na interacção desta molécula com as proteínas que se ligam aos filamentos grossos^{25,31,50,51}.

De um modo geral, as mutações descritas têm afectado aminoácidos conservados e são na sua maioria substituições de um aminoácido que conservam as suas propriedades^{49,55}. Embora as mutações *missense* sejam predominantes neste gene, também já foram registadas algumas deleções de um codão (K847del, E883del, E927del, E930del)⁵⁶. Todavia, as

características bioquímicas das mutações em MYH7 e o seu potencial impacto sobre a estrutura da miosina ainda carecem de uma avaliação sistemática⁴⁹.

MLC1 e MLC2 encontram-se dispostas em *tandem* na junção da cabeça com a haste da miosina (pescoço)⁴⁶. A sua ligação ao domínio regulador da miosina contribui para a estabilidade da α -helice desse local a qual apresenta um papel essencial na amplificação da força, por movimentos rotacionais, no decurso da contracção muscular^{46,57}.

Ambas são expressas no tecido cardíaco atrial e ventricular, e nenhuma parece ser necessária para a actividade de ATPase da cabeça. Porém, para além da função estrutural, tem-se assumido que possuem um papel na modelação e regulação da actividade contráctil^{34,57}.

MLC1 e MLC2 são duas proteínas cujo envolvimento na etiologia de CMH já se encontra estabelecido. No entanto, a compreensão do significado das suas mutações no desenvolvimento de CMH ainda é muito limitado dada a sua baixa prevalência (<1,0%).

MLC1 é codificada por um gene localizado no cromossoma 3p21.2-p21.3 – MYL3 – no qual 6 dos seus 7 exões codificam um polipéptido de 195 aminoácidos⁴⁶. Neste foram caracterizados 6 domínios funcionais: um relativo ao sítio de ligação da actina (N-terminal), outro a uma região rica em prolina e quatro sítios de ligação do cálcio⁴⁶ (Figura 3). A sua região N-terminal pode ser usada para promover a função sarcomérica aumentando a força sistólica gerada e as taxas de contracção e relaxamento³⁴.

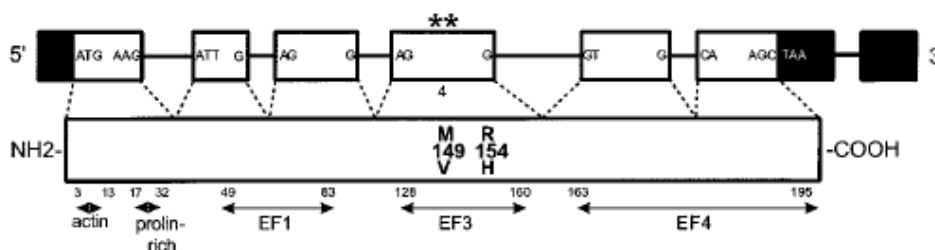


Figura 3 - Estrutura esquemática do gene (MYL3) e da proteína (MLC1) com a representação das mutações *missense* M149V e R154H causadoras de CMH. Na parte superior da imagem encontra estrutura genómica com os limites intrão-exão representados. As regiões não-codificantes estão indicadas a preto e os asteriscos indicam a localização genómica das mutações. Na parte inferior consta a proteína com os domínios funcionais delimitados pelo número dos respectivos aminoácidos: o sítio de ligação da actina (aa3-13); a região rica em prolina (aa17-32); os domínios *EF-hand* (EF1 – aa49-83; EF3 – aa128-160; EF4 – aa163-195). Imagem adaptada de Bonne *et al* (1998)⁴⁶.

M149V e R154H são dois exemplos de mutações descritas em pacientes com diagnóstico de CMH^{17,57} (Figura 3). Ambas localizadas na região de contacto com o domínio motor das cadeias pesadas, as suas consequências na função e estrutura da proteína ainda não se encontram claras^{17,57}. Contudo, estudos funcionais para M149V têm associado esta mutação a

um aumento da velocidade de deslizamento dos filamentos de actina, com diminuição da produção de força e concomitante enfraquecimento da interacção com a actina^{17,57}.

MLC2 é codificada pelo gene MYL2 cuja localização cromossómica é em 12q24.11⁴⁶. Os seus 7 exões codificam um polipéptido de 166 aminoácidos tendo sido identificados ao longo da sua extensão 5 domínios funcionais: um sítio de fosforilação na serina 15 (exão 2) e quatro sítios de ligação para o cálcio⁴⁶ (Figura 4).

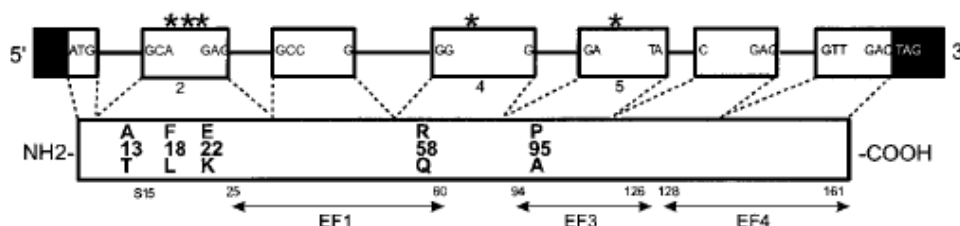


Figura 4 - Estrutura esquemática do gene (MYL2) e da proteína (MLC2) com a representação das mutações *missense* causadoras de CMH: A13T, F18L, E22K, R58Q e P95A. Na parte superior da imagem encontra estrutura genómica com os limites intrão-exão representados. As regiões não-codificantes estão indicadas a preto e os asteriscos indicam a localização genómica das mutações. Na parte inferior consta a proteína com os domínios funcionais delimitados pelo número dos respectivos aminoácidos: o sítio de fosforilação da serina 15 (S15); ligação da actina (aa3-13); a região rica em prolina (aa17-32); os domínios *EF-hand* (EF1 – aa25-60; EF3 – aa94-126; EF4 – aa128-161). Imagem adaptada de Bonne *et al* (1998)⁴⁶.

O codão 58 tem sido o mais afectado com a substituição da sua arginina por uma glutamina (Figura 4) ou por um ácido glutâmico. A mutação E22K (Figura 4) também tem sido das mais frequentes e a qual se localiza na interface entre os domínios N- e C-terminais da proteína pensando que a tradução do seu efeito se concretize no aumento da força em concentrações submáximas de Ca^{2+} . Outras mutações como A13T e P94R também têm sido descritas na proximidade do sítio de fosforilação da serina 15.

2.2.2. Proteína C que liga à miosina (MYBPC)

O gene MYBPC3, localizado no *locus* 11p11.2, é composto por 35 exões dos quais 34 codificam uma proteína sarcomérica – MYBPC – de 1274 aminoácidos^{17,42,58,59}. A função desta proteína ainda é incerta porém, diversos estudos têm-lhe atribuído um papel essencial na montagem do sarcómero ao promover a polimerização dos filamentos grossos^{46,60,61}.

Por ligação a moléculas como a miosina, titina e actina contribuí para a integridade estrutural do sarcómero e regula a contractilidade cardíaca em resposta à estimulação adrenérgica^{27,59}.

No ser humano existem três isoformas desta proteína: a esquelética rápida, a esquelética lenta e a cardíaca⁶¹⁻⁶⁴. A isoforma cardíaca apenas é expressa no coração e consiste de 11 domínios globulares: 8 domínios da classe das imunoglobulinas (C0 a C5, C8 e C10), três domínios de fibronectina do tipo III (C6, C7 e C8) (Figura 5)^{61,62,64,65}.

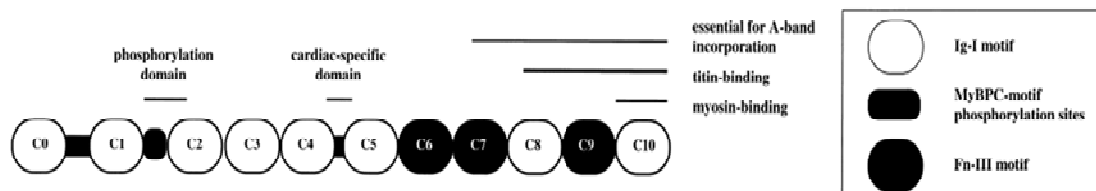


Figura 5 – Representação esquemática dos domínios estruturais e funcionais da proteína MYBPC. Imagem adaptada de Erdmann *et al* (2001)⁶⁵.

A função específica da região N-terminal (C0 a C2) no miocárdio ainda não está clara⁶¹. Contudo, por análise da homologia das sequências, tem sido sugerido o seu envolvimento em possíveis ligações, embora fracas, com as moléculas de actina e miosina (sub-fragmento S2)^{61,64}.

Os motivos da região central (C3 a C6) não têm apresentado nenhum papel definido experimentalmente porém, tem-se levantado a hipótese de serem necessários para a flexibilidade da região N-terminal aquando da sua interacção com o sub-fragmento S2 da miosina e com o filamento de actina⁶¹.

Os domínios C-terminais (C7 a C10) são os que se encontram melhor caracterizados e aportam em si os principais locais de ligação da miosina (LMM) e da titina (C10 e C8-C10, respectivamente) pelo que constituem os requisitos mínimos para a incorporação da banda A no sarcómero^{46,61,64} (Figura 5).

Mais de 150 mutações têm sido descritas ao longo de todo o gene. Contrariamente ao observado nos demais genes, onde mutações *missense* são predominantes, estas apenas correspondem a cerca de um terço de todas as mutações em MYBPC3. As demais são relativas a mutações *frameshift* (aproximadamente um terço), e a mutações que conduzem à formação de codões STOP prematuros, inserções/ deleções *in-frame* e mutações *splice site*^{27,58,66}.

Cerca de dois terços das mutações prevê-se que resultem em proteínas truncadas causadas ou por mutações *splice site* ou por inserções/deleções que conduzam a uma alteração do quadro de leitura e, conseqüentemente, origemem codões STOP prematuros^{62,66,67}. A formação de codões STOP prematuros, como resultado directo da substituição de um nucleótido singular, é um evento pouco comum⁶².

O mecanismo preciso pelo qual muitas das mutações (que causam CMH) neste gene continua por resolver⁶¹.

De um modo geral, a maioria das mutações que resultam em proteínas truncadas (como E1096codão de terminação) falham os locais de ligação à miosina e/ou titina o que provavelmente origina uma estrutura sarcomérica desorganizada^{59,61,68}.

Ao nível da região N-terminal, a maioria das mutações localiza-se na proximidade ou no interior (R282W) da região fosforilável existente entre os motivos C1 e C2. Nenhuma das mutações descritas, na base de dados *CardioGenomics*, afectou os potenciais resíduos-alvo de fosforilação. Contudo, mutações como G281E e G279A, que ocorrem na proximidade da dita região, poderão impedir o acesso das quinases na medida em que a substituição glicina (o único aminoácido sem cadeia lateral) por outro resíduo pode induzir uma mudança na estrutura tridimensional⁶¹. Atendendo ao facto de que a fosforilação da MYBPC cardíaca regula a interacção entre a miosina e a actina, mediante a sua ligação ao sub-fragmento S2 da miosina⁶¹, crê-se que as mutações nesta região surtam o seu efeito na contracção muscular.

A região central é a que abrange um maior número de mutações e as quais consequentemente podem afectar a estrutura da proteína na região C-terminal. O efeito das mutações que ocorrem nesta região ainda não se encontra esclarecido. No entanto, estudos realizados sobre as mutações do domínio C5 (ex: R654H e R668H) têm revelado que estas parecem não afectar a estrutura do domínio, com excepção de N755K que foi associada a uma diminuição (10 vezes menor) da afinidade existente entre C5 e C8⁶¹. Algo semelhante tem sido relatado com as mutações que ocorrem em C6. É o caso de R810H e K811R que por não resultarem numa alteração da carga dos resíduos parecem ser menos susceptíveis de afectar a estabilidade estrutural^{61,62}.

Por fim, as mutações *missense* da região C-terminal podem afectar a integridade estrutural da proteína⁶². É o caso das substituições P873H, V896M e N948T no motivo C7 e R1008Q no motivo 8 que, embora pareçam afectar as interacções entre os diferentes domínios da proteína, não têm sido associadas a uma alteração do seu *folding*⁶¹. Nos motivos C9 e C10, o efeito das mutações pode envolver as interacções entre MYBPC e as moléculas de miosina e titina. As mutações V1115I, A1255T e A1194T são exemplos de substituições que ocorrem ao nível destes dois últimos domínios⁶¹.

2.2.1. Actina

A actina é uma proteína contráctil altamente conservada que pode resultar da tradução de 6 genes diferentes³⁵. Dois são comumente expressos nos músculos estriados sendo relativos à α -actina esquelética e à α -actina cardíaca³⁵. Ambas são compostas por 375 aminoácidos e são expressas no músculo cardíaco. Todavia, a α -actina cardíaca representa ~80% do total de actina³⁵.

O gene α -actina cardíaca (ACTC), cuja localização é em 15q11-q14, foi o primeiro gene identificado na etiologia molecular de ambas CMH e CMD^{35,69,70}. Num total de 7 mutações causadoras de CMH, a mutação E101K tem sido a mutação mais vulgar e está associada com a uma diminuição na geração de força sarcomérica que poderá provocar uma resposta hipertrófica compensatória^{50,70}. A mutação M123V encontra-se bastante próxima do ácido glutâmico da posição 101 pelo que se tem ponderado que o efeito de ambas será semelhante⁷⁰.

2.2.2. Tropomiosina

A TM é um dímero enrolado em α -hélice que se encontra ao longo dos filamentos de actina e onde dímeros adjacentes se encontram dispostos numa organização cabeça-cauda^{35,47,58,71}. Em conjunto com o complexo de troponinas que liga ao Ca^{2+} , compõe a cadeia reguladora do filamento fino⁴⁷. No decorrer da contracção assume três posições diferentes (mediante alterações conformacionais) no filamento de actina e as quais são responsáveis pela regulação dos três estados de activação do filamento fino: estado bloqueado (na ausência de Cálcio); estado fechado (na presença de Cálcio); e estado aberto (aquando da ligação do Cálcio a TnC)⁴⁷.

O gene TPM1, no *locus* 15q22.1, é um dos quatro genes que codificam tropomiosinas³⁵. Em concreto, este gene codifica a α -TM que, por *splicing* alternativo, gera várias isoformas. A isoforma cardíaca é uma das isoformas geradas que é expressa no miocárdio ventricular³⁵. A sua estrutura geral é comum às restantes tropomiosinas e a qual é baseada num padrão repetitivo de 7 aminoácidos com resíduos hidrofóbicos na primeira e quarta posições³⁵. Ao longo da sua extensão contém dois domínios de ligação à TnC: um N-terminal (aminoácidos 175-190) que vincula o complexo de troponinas e um C-terminal (aminoácidos 258-284) que desempenha um papel fundamental na estrutura e função do filamento fino (incluindo as interações cabeça-cauda, a cooperatividade e as interações com a actina e a TnT)⁷² (Figura 6).

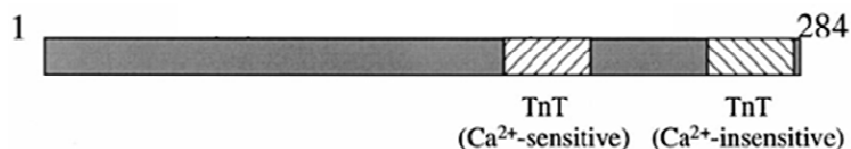


Figura 6 – Representação esquemática da estrutura proteica da TM e respectivos domínios funcionais. Imagem adaptada de Redwood *et al* (1999)¹⁷.

As mutações neste gene representam, menos de 5% de CMH, e ao contrário do que se sucede nos outros genes sarcoméricos, o seu espectro mutacional parece ser limitado²⁸.

Num total de 11 mutações *missense*, TM mutada tem sido associada a um aumento da sensibilidade para o cálcio. A distribuição das mutações, ao longo da molécula, tem afectado as regiões de ligação à TnT (D175, E180G, E180V, L185R e M259T), a região N-terminal (E62Q, A63V e K70T), a região central (V95A) e a região entre os dois domínios de ligação à TnT (E192K).

Segundo Chung *et al* (2003)²⁸, a mutação D175N pode constituir um *hot-spot* mutacional no gene uma vez que tem emergido, de forma independente, em diferentes famílias. O mecanismo pelo qual causam doença ainda não se encontra estabelecido porém, D175N e E180G têm sido associadas a um rompimento das estruturas enroladas em α -hélice³¹.

2.2.1. Troponina T cardíaca (cTnT)

A TnT é o único componente do complexo de troponinas que interacciona com a TM³⁵. No miocárdio humano, o gene TNNT2 (cromossoma 1q32) produz múltiplos transcritos via *splicing* alternativo^{17,35,46}. A principal isoforma no coração normal adulto é composta de 288 aminoácidos¹⁷.

Em termos estruturais, TnT humana consiste de uma porção N-terminal (T1; aminoácidos 1-187) que fica ao longo do filamento fino e de uma porção globular C-terminal (T2; aminoácidos 188-288) à qual ligam a TM, a TnI e a TnC¹⁷ (Figura 7). A região N-terminal parece ancorar à TM na sua região C-terminal. Dado que, aquando da ligação do Ca^{2+} à TnC, a sua ligação à TM é enfraquecida o que resulta na libertação do local de ligação da miosina ao filamento fino, pensa-se que TnT tenha um papel regulador no controlo das ligações cruzadas ao filamento fino^{35,47}. Na região C-terminal, onde se forma o complexo TM-Tn modelado pelo cálcio, foi relatada a presença de três sítios de fosforilação que quando fosforilados promovem a inibição da actividade máxima da ATPase da miosina⁴⁶.

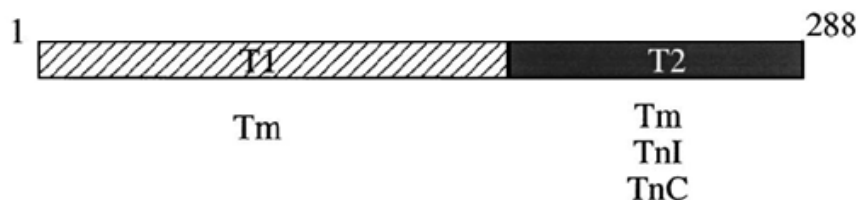


Figura 7 - Representação esquemática da estrutura proteica da Troponina T e respectivos domínios. Imagem adaptada de Redwood *et al* (1999)¹⁷.

Segundo a base de dados *CardioGenomics*, até à data, foram registadas 31 mutações diferentes responsáveis pelo desenvolvimento de CMH. Embora as mutações descritas sejam na

sua maioria mutações *missense*, uma deleção *in-frame* do codão 160 (E160del) e uma mutação *splice site* (Int15 G1>A) que leva à formação de uma proteína truncada, também foram descritas¹⁷. De um modo geral, as mutações têm afectado ambas as porções da molécula. A arginina da posição 92 e a fenilalanina 110 podem constituir possíveis *hot-spots* visto que em cada uma foram reportadas três substituições diferentes: Q, L e W no resíduo 92 e I, L e V no resíduo 110¹⁷.

As consequências funcionais das suas mutações ainda não se encontram claramente estabelecidas na medida em que a sua expressão é bastante variável entre as espécies o que dificulta a extrapolação dos resultados obtidos nos modelos animais³⁵. Todavia, como na maioria das mutações associadas a CMH, tem sido descrito um aumento da sensibilidade ao cálcio⁷³. As mutações descritas ao nível da cauda têm sido associadas a perturbações nas interações entre a TnT e a TM⁴⁷.

2.2.2. Troponina C cardíaca

A cTnC é o produto proteico do gene TNNC1, localizado no *locus* 3p21.3-p14.3, e cujas propriedades funcionais têm uma influência significativa sobre a regulação da reacção contráctil do miócito^{35,74-76}.

Ao nível do sarcómero, a ligação do Ca^{2+} à cTnC constitui um evento-chave na iniciação da cascata de mudanças conformacionais que induzem a ligação da miosina à actina e consequente geração de força^{75,76}.

Estruturalmente, apresenta duas cabeças globulares (domínios N- e C-terminais) conectadas por uma longa hélice central (aminoácidos 82-96)^{74,75}. Cada cabeça globular apresenta dois sítios de ligação para o cálcio porém, a afinidade dos locais N-terminais é baixa na medida em que se encontram localizados no domínio regulador (aminoácidos 18-82) enquanto os locais de ligação C-terminais se situam no domínio estrutural (aminoácidos 96-158)⁷⁵ (Figura 8).

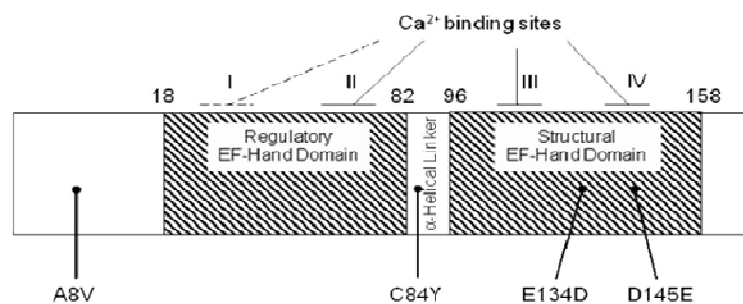


Figura 8 - Representação esquemática da estrutura proteica da Troponina C e respectivos domínios funcionais delimitados pelo número dos aminoácidos dos bordos. Imagem adaptada de Landstrom *et al* (2008)⁷⁵.

cTnC mutante tem sido encontrado em pacientes com diagnóstico de CMH porém, o estabelecimento de uma relação clara de causalidade ainda não foi possível⁷⁶. Num total de 5 mutações *missense*, os seus efeitos sobre a proteína têm sido estudados em modelos animais mas os resultados têm envolvido alguma controvérsia. É o caso da mutação L29Q que foi funcionalmente estudada em dois grupos independentes e cujos resultados revelaram um aumento e uma diminuição da sensibilidade ao cálcio⁷⁵.

De um modo geral, as mutações distribuíram-se ao longo de toda a molécula. As mutações A8V e D145E (Região N-terminal e domínio regulador, respectivamente) mostraram um aumento quase equivalente da sensibilidade ao cálcio aquando do desenvolvimento e recuperação da força⁷⁵. Em contraste, C84Y foi a única mutação que demonstrou uma diminuição ligeira, mas significativa, na cooperatividade da força de desenvolvimento e a qual afecta uma cisteína situada no início da hélice central⁷⁵.

Por fim, a mutação E134D não teve qualquer efeito nos parâmetros medidos no estudo de Landstrom *et al* (2008)⁷⁵ tendo sido sugerido um potencial efeito indirecto na regulação de outros sistemas fisiológicos. Deste modo, é possível que não seja patogénica mas simplesmente uma variante rara e insignificante em termos funcionais⁷⁵.

2.2.3. Troponina I cardíaca (cTnI)

A TnI é o componente inibitório do complexo de troponinas^{17,35}. Ao nível do genoma humano, a isoforma cardíaca é composta de 210 aminoácidos codificados ao longo dos 8 exões do gene TNNI3 (cromossoma 19q13.4)^{35,46,74,77}.

Em termos estruturais, cTnI apresenta uma serie de áreas funcionais (Figura 9). Na região N-terminal, constam quatro sítios de fosforilação e um local de ligação à TnT^{46,78}.

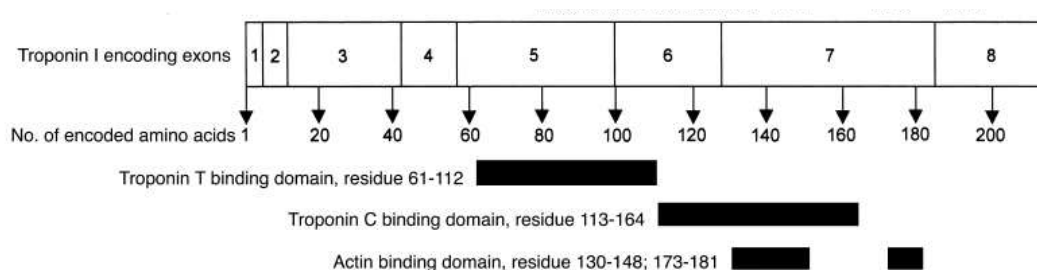


Figura 9 – Estrutura esquemática do gene TNNI3 com representação, na parte inferior, dos locais de interacção de cTnI com as outras proteínas sarcoméricas. Imagem adaptada de Mogensen *et al* (2003)⁷⁸.

A fosforilação das serinas 23 e 24 tem por consequência uma alteração da sensibilidade ao cálcio e a eliminação da ligação cooperativa da actina^{46,77}. Em contrapartida, as serinas 42 e 44 quando fosforiladas reduzem a taxa máxima da ATPase⁴⁶. Os resíduos 61 ao 112 estão envolvidos na ligação (independente de Ca^{2+}) de cTnI à metade C-terminal de TnT⁷⁸.

A região abrangida pelos resíduos 129 ao 149 (conhecida por região inibitória) constitui o local de ligação comum à actina e à troponina C. Como tal, a ligação de uma inibe a ligação da outra^{77,78}. O domínio C-terminal é importante para a regulação do local inibitório na visto que contém os locais de ligação secundária para a actina (aminoácidos 173-181) e para a TnT (aminoácidos 149-164)⁷⁸. Portanto, a ligação da actina ao seu local de ligação secundário reforça o efeito inibitório (desencadeado aquando da ligação de TnT ao local inibitório) sendo a ligação do N-terminal de TnT, ao seu local secundário, dependente de Ca^{2+} ^{17,77}.

As mutações descritas neste gene também têm sido associadas a um aumento da sensibilidade para o cálcio⁷³. Segundo a base de dados *CardioGenomics*, as mutações registadas são, na sua maioria, *missense*. Porém, destaca-se a descrição de uma mutação em *frameshift* que resultou de uma deleção de 33 nucleótidos (G203fs).

Com excepção da deleção da lisina 178 (segundo local de ligação da actina) e da mutação R21C, as mutações registadas localizaram-se ou na proximidade ou dentro de domínios importantes da TnI para a normal função do complexo de troponinas⁷⁸. Os seus efeitos precisos ainda não são conhecidos mas, de um modo geral, crê-se que sejam traduzidos numa diminuição do efeito inibitório⁷⁸.

2.2.4. Titina

A titina é uma proteína multifuncional que contém múltiplos sítios de ligação para proteínas estruturais e sinalizadoras, um domínio quinase C-terminal que fosforila a teletonina e uma região N-terminal estende a linha Z e que funciona como uma espécie de “mola molecular”³⁶. Codificada pelo gene TNN (cromossoma 2q31) consiste de uma proteína gigante de 26.926 aminoácidos com peso molecular de 2993 kD⁷⁹.

Como a α -actina cardíaca, as suas mutações têm explicado ambas CMH e CMD. As mutações em CMH (como R740L) parecem estar confinadas ao domínio de interacção com a α -actinina e as quais, contrariamente ao observado em CMD, resultam num aumento da capacidade de interacção entre a titina e a α -actinina^{73,79}.

2.2.5. Teletonina

Teletonina é uma proteína de 167 aminoácidos (19Kd) que desempenha um papel-chave na montagem do sarcómero⁷⁹. Codificada pelo gene *Tcap* (cromossoma 17q12), interage com a calsarcina e com minK na metade N- e C-terminal, respectivamente, mas também com a proteína muscular LIM (MLP)^{73,79}.

As primeiras mutações associadas a CMH foram descritas por Hayashi *et al* (2004)⁷³ – T137I e R153H – e as quais envolveram resíduos evolucionariamente conservados. Posteriormente, as mutações R70W e P90L foram detectadas nos domínios que ligam a MLP e à titina, respectivamente. Para além das mutações *missense*, também houve o registo de uma deleção do ácido glutâmico da posição 13 (E13del)⁷⁹.

De um modo geral, presume-se que as mutações em *Tcap* tenham por consequência um aumento da sensibilidade ao cálcio cuja mudança parece ser comum e fundamental às mutações causadoras de CMH⁷³.

2.2.6. Miozenina 2

As miomezinas são proteínas da linha Z exclusivas de músculos estriados com uma alta expressão nos sarcómeros cardíacos⁷³.

O gene *MYOZ2*, localizado no locus 4q26-q27, codifica a calsarcina-1 que é um regulador negativo das funções da calcineurina (um conhecido mediador da hipertrofia)^{73,80}. As mutações (como S48P e I246M) neste gene são causas incomuns de CMH (1:250) e não têm afectado importantes domínios da proteína como os de ligação à α -actinina (aminoácidos 153-200) e à calcineurina (aminoácidos 217-240)⁸⁰. Contudo, dada a proximidade destes aminoácidos altamente conservados dos referidos locais pensa-se que a sinalização da calcineurina e/ou a ligação da α -actinina possam ser secundariamente afectadas em virtude de uma alteração da estrutura proteica⁸⁰.

Estudos são necessários para delinear os mecanismos moleculares envolvidos na causalidade deste gene em CMH. No entanto, Osio *et al* (2007)⁸⁰ especulou que as mutações em *MYOZ2* poderiam causar CMH pela activação da via calcineurina.

2.3. Mecanismos patofisiológicos explicativos da CMH

O modo como as mutações causadoras de CMH conduzem à expressão da doença ainda não se encontra claramente estabelecido⁶². Várias teorias têm sido levantadas e testadas ao longo das duas últimas décadas mas apenas duas têm prevalecido⁸¹.

Muitas das mutações causadoras de CMH, consistem em pequenas e subtis substituições de um aminoácido (mutações *missense*) que raramente levam à perda da função na proteína mutante produzida^{17,82}. Segundo a teoria do polipéptido tóxico, esta proteína é juntamente incorporada com a do tipo selvagem no sarcómero onde o seu efeito dominante negativo pode alterar a função e/ou a montagem do sarcómero e, conseqüentemente, desenvolver uma resposta hipertrófica compensatória^{17,46,48,81}.

Praticamente todas as mutações que causam CMH têm sido explicadas pela teoria acima enunciada^{62,66}. Contudo, a situação torna-se mais complexa quando as mutações conduzem a proteínas truncadas. É o caso da maioria dos produtos proteicos mutantes do gene MYBPC3^{17,62}.

A teoria da haploinsuficiência é, então, a segunda teoria que tem explicado distúrbios dominantes como CMH^{62,81}. Estudos sobre esta teoria têm demonstrado que as proteínas mutantes produzidas são rapidamente degradadas e como tal não incorporadas no sarcómero⁶². Portanto, dado que a proteína sarcomérica é exclusivamente produzida a partir do alelo normal, é criado um desequilíbrio na estequiometria dos componentes dos filamentos (finos e grossos) e o qual é suficiente para alterar a estrutura e função do sarcómero^{17,22,46,81}.

2.4. Correlações genótipo-fenótipo

Ao longo das últimas décadas, o interesse sobre as correlações genótipo-fenótipo tem crescido intensamente sobretudo devido à potencialidade das informações fornecidas para a definição adequada do prognóstico e/ou das medidas preventivas.

As investigações desenvolvidas no sentido de avaliar a relação entre a evolução clínica da doença e as mutações causadoras localizadas em regiões específicas, têm-se baseado grandemente nos conhecimentos da estrutura e função das proteínas envolvidas. Todavia, o estabelecimento de relações claras permanece muito limitado. A raridade das mutações mais recorrentes (<1,0%) e o carácter privado de muitas delas (associadas a apenas uma família) tem sido um dos entraves colocados à progressão do conhecimento nesta área^{26,27,30}. Daí o facto de muitas das correlações estabelecidas emergir da extrapolação dos resultados obtidos em modelos animais como ratos e coelhos, por exemplo^{22,35,42}.

A acentuar as dificuldades sentidas encontra-se também a heterogeneidade fenotípica observada, inclusive entre os membros de uma mesma família, o que reforça a possível existência de factores ambientais e genes modificadores e/ou polimorfismos que modelam, a expressão clínica da doença^{22,24,26,27}. Até ao momento, apenas foi estabelecida a influência dos polimorfismos do sistema renina-angiotensina-aldosterona (SRAA) sobre a manifestação clínica de CMH^{26,46,82}.

Diversos autores têm defendido que é possível que as características clínicas de CMH não dependam tanto do gene envolvido mas principalmente do tipo de mutação subjacente⁸³. Neste sentido, a localização regional da mutação no gene/ proteína poderá constituir um factor determinante da benignidade/ malignidade da mutação em causa²⁰. Por outro lado, atendendo ao facto de as interacções dinâmicas no sarcómero ocorrerem via carga electrostática dos resíduos, é também razoável afirmar que as mutações não-conservadoras (i.é, que não mantêm a carga do resíduo) podem culminar num fenótipo de maior gravidade^{52,84}.

Por fim, a presença de duas mutações causadoras da doença num mesmo indivíduo tem também sido associada a resultados adversos¹⁰.

2.4.1. Gene MYH7

Nas famílias portadoras de mutações neste gene, o prognóstico varia de acordo com a conotação de benignidade/ malignidade da mutação subjacente.

Na generalidade, as mutações denominadas “malignas” têm sido associadas a uma penetrância elevada e a um início precoce das manifestações clínicas onde o grau de hipertrofia cardíaca é elevado^{28,29,53,85-87}. A expectativa de vida é significativamente menor e o risco de morte súbita encontra-se aumentado⁸⁵. De um modo geral, as mutações não-conservativas no sítio activo da hidrólise de ATP e na junção cabeça-haste têm sido associadas a um prognóstico desfavorável. É o caso das mutações R403Q e R453C (na região da cabeça) bem como da mutação R719W no pescoço^{22,65,83,88-90}. No entanto, algumas mutações conservativas nestas regiões também têm estado subjacentes a fenótipos graves.

Em contraste, das mutações benignas decorrem geralmente uma hipertrofia leve, uma expectativa de vida quase normal e uma baixa penetrância⁵². As mutações A26V, N232S e R719Q constituem alterações associadas a um prognóstico favorável^{85,88}.

2.4.2. Gene MYBPC3

No gene MYBPC3, as correlações disponíveis são em número reduzido e algumas contraditórias.

De um modo geral, mutações neste gene têm sido associadas a uma penetrância incompleta e extremamente dependente da idade^{28,32,85,91}. O início dos sintomas é tardio podendo a hipertrofia cardíaca estar *quiescente* até à quarta/quinta décadas de vida²⁸. Contrariamente ao observado em CMH, as mutações em MYBPC3 revelam um aumento progressivo da hipertrofia cardíaca com a idade⁹².

O prognóstico é um pouco controverso quanto ao risco de MSC na medida em que a literatura consultada tem associado as mutações neste gene a ambos alto e baixo risco²⁹. Todavia, o risco aumentado para a insuficiência cardíaca parece reunir consenso⁵⁹.

No que respeita ao tipo de mutações, as que conduzem à produção de proteínas truncadas têm geralmente um fenótipo suave, início tardio e prognóstico favorável o que possivelmente será devido à degradação do péptido mutante que impede que este exerça o seu efeito dominante negativo⁶¹. Algumas mutações *missense* como N755K e N948T (em resíduos conservados) foram associadas a um fenótipo grave⁶¹. Em contrapartida, mutações como R654H, K811R e R1002Q foram associadas a um fenótipo mais suave⁶¹.

Por fim, MYBPC3 parece agir tanto como causador da doença como modificador²⁵ estando incluída neste último efeito a mutação V896M a qual pode não causar doença mas pode aumentar a sua gravidade na presença de outras mutações⁶¹.

2.4.3. Gene TNNT2

Como em MYBPC3, as mutações descritas no gene TNNT2 têm sido associadas a penetrância incompleta extremamente dependente da idade²⁸. O prognóstico tem-se revelado mais fraco traduzindo-se por uma redução significativa da expectativa de vida aliada a um alto risco de MSC antes dos 30 anos de idade^{6,91}. Contudo, a mutação S179F tem sido associada a um fenótipo benigno⁸⁸.

A agravar esta situação, encontra-se o facto de a maior parte dos indivíduos afectados não poder ser diagnosticado pelos métodos clínicos nos quais a hipertrofia cardíaca não é frequentemente evidente na ecocardiografia^{28,29,93}.

2.4.4. Restantes genes

Nos restantes genes o número reduzido de casos não têm permitido estabelecer relações claras porém, o fenótipo associado a algumas mutações tem sido descrito.

Assim, mutações ocorrentes nas cadeias leves da miosina como M149V (MYL2) e as mutações A13T e E22K (MYL3) têm sido associadas a morfologias cardíacas distintas com predomínio da hipertrofia assimétrica²⁸.

A maioria das mutações descritas na TM tem sido relacionada com baixa penetrância, hipertrofia moderada e a baixa incidência de MSC²². Contudo, a mutação V95A tem sido acompanhada de alta incidência de MSC e de hipertrofia mínima²².

Por fim, nas mutações E101K (no gene ACTC)^{50,94}, K183del e R21C (no gene TNNI3), a morfologia cardíaca apical tem sido predominante⁹⁴.

Capítulo 3

3. Morte súbita Cardíaca na Cardiomiopatia Hipertrófica

A MSC tem sido reconhecida como uma das consequências da CMH desde as primeiras descrições modernas da doença^{95,96}. A ocorrência deste evento trágico é uma das suas complicações mais temidas e o qual tem constituído, com frequência, a manifestação inicial da doença em indivíduos assintomáticos^{21,30,97}.

A mortalidade anual para os pacientes com CMH tem sido estimada em cerca de 1%^{18,21,30,97,98}, em que aproximadamente metade ocorre subitamente e as restantes resultam de insuficiência cardíaca e acidente vascular cerebral²¹. No entanto, existem pequenos subgrupos em que esta taxa se encontra mais elevada⁹⁷. É o caso das crianças e adolescentes cuja mortalidade anual tem sido referida entre 2 a 4%^{18,97,98}.

A CMH tem sido apontada como a causa mais comum de morte súbita em indivíduos jovens (aparentemente saudáveis) e em atletas durante o exercício sobretudo atletas de competição^{18,20,28,30,97}. Adicionalmente, Doolan *et al* (2004)⁷ afirmaram que a CMH pode estar na origem de um número inestimável de mortes em jovens decorrentes de alguns acidentes de viação ou afogamento.

Embora a literatura publicada se tenha revelado pouco clara e, por vezes, controversa no que respeita à distribuição da morte súbita segundo as características dos pacientes com CMH, algumas conclusões têm sido retiradas de estudos epidemiológicos efectuados.

No que respeita à idade, a incidência de morte súbita tem sido mais predominante em indivíduos com uma idade igual ou inferior a 35 anos. Contudo, o risco estende-se por uma ampla faixa etária a partir da meia-idade em diante pelo que o atingir de uma determinada idade não confere imunidade a este trágico evento^{22,28,97}.

Relativamente ao género, a sua distribuição tem sido equitativa porém, em contexto desportivo, a proporção de mortes súbitas em homens é significativamente superior à das mulheres (10:1). Subjacente a este facto pensa-se que esteja a maior participação masculina em desportos competitivos inclusive os que exigem um exercício físico mais intenso, onde o futebol e o basquetebol reúnem o maior número de casos^{97,99,100}.

Dado o impacto da ocorrência de MSC em desportos de alta competição, vários têm sido os estudos efectuados em diferentes países no sentido de compreender as causas subjacentes. De um modo geral, a CMH é apontada como principal causa de MSC (entre os 25 e

os 50%), durante eventos desportivos, na maioria dos países europeus e nos Estados Unidos da América (EUA)¹⁰⁰.

Curiosamente, em Itália, o número de MSC por CMH é actualmente insignificante. Dado que a prevalência da doença na população italiana é semelhante à de outros países europeus, crê-se que estes resultados paradoxais sejam facilmente explicados pela existência de programas nacionais de rastreio, mais ou menos eficazes, nos diferentes países.

Ainda no contexto desportivo, estudos como o de Maron *et al* (2003), têm demonstrado uma prevalência superior de MSC em atletas afro-americanos nos EUA¹⁰¹. Todavia, o estabelecimento de uma relação clara entre MSC e a etnia ainda não foi conseguido na medida em que acredita-se que esta diferença possa advir da existência de factores socioeconómicos que limitam o acesso de indivíduos afro-americanos aos cuidados médicos¹⁰². Tal facto poderá ser indicativo da existência de um rastreio e uma abordagem clínica de CMH desproporcionais nas comunidades caucasianas e negras, o que se traduz num aumento do número de indivíduos afro-americanos cujo diagnóstico de CMH é apenas realizado aquando da necrópsia¹⁰².

3.1. Exame *post-mortem*

A morte súbita de um indivíduo constitui sempre uma situação de grande impacto na comunidade (inclusive a médica) mas sobretudo na família do falecido. Encontra-se bem estabelecido que os membros da família confrontada, com este evento trágico, mostram uma grande necessidade de compreensão da causa da morte¹⁰.

Por outro lado, como mencionado na introdução, aquando da ocorrência deste tipo de morte em jovens (≤ 35 anos), as causas da morte têm habitualmente uma base genética e onde a maioria das doenças descritas são compatíveis com um padrão familiar de herança autossómica dominante. Neste sentido, a informação *forense* obtida no exame *post-mortem* poderá ser de grande utilidade não só na gestão médica da família mas também na psico-emocional.

Segundo Basso *et al* (2008)⁵, o papel da autópsia na morte súbita passa pelo estabelecimento ou consideração se na sua origem estiveram eventos de natureza cardíaca ou não; se no caso de doença cardíaca, esta adveio de mecanismos arritmogénicos, mecânicos ou estruturais e se a mesma poderá ser hereditária; porém, também deve ser ponderada a possibilidade da morte ter emergido de causas não naturais como abuso de drogas ilícitas ou produtos tóxicos.

A resposta a estas questões requer uma série de procedimentos padronizados endereçados às principais causas cardíacas e extra-cardíacas responsáveis pela morte súbita⁵.

Numa fase inicial, a obtenção de informação clínica/ pré-mórbida relevante (Tabela 1) poderá constituir um forte auxílio para a compreensão dos achados observados no decorrer da

necrópsia. Deste modo, qualquer potencial fonte de informação (ex: familiares, polícia, testemunhas do momento da morte, socorristas,...) deve ser interrogada.

Tabela 2 – Informação clínica relevante para a Autópsia^{5,10,11}

Informações a obter no exame <i>post-mortem</i>
Idade, sexo, ocupação, estilo de vida, actividade desportiva
Circunstâncias da morte
<ul style="list-style-type: none"> – data – intervalo de tempo (instantânea ou < 1h) – local da morte (casa, trabalho, hospital, ...) – durante o repouso, sono, actividade física (atlética ou não-atlética), <i>stress</i> emocional – testemunhada ou não-testemunhada – outras: acidente de viação, afogamento,...
História clínica
<ul style="list-style-type: none"> – doenças prévias significativas <ul style="list-style-type: none"> ▪ síncope ▪ dor torácica e palpitações, especialmente durante o exercício ▪ enfarte do miocárdio ▪ hipertensão arterial ▪ doenças respiratórias ▪ doenças infecciosas recentes ▪ epilepsia, etc. – intervenções cirúrgicas prévias – resultados de anteriores exames médicos (ex: ECG e radiografias)

- **medicação com/sem prescrição médica**

História familiar cardíaca

- **doença cardíaca isquémica**
- **mortes súbitas prematuras**
- **arritmias**
- **doenças cardíacas hereditárias**

Na prática, nenhuma morte súbita natural poderá ser considerada de natureza cardíaca sem antes se terem excluído as causas não-cardíacas. Deste modo, a autópsia realizada deve ser sempre completa e de abordagem sequencial a fim de excluir causas extra-cardíacas, de morte súbita, comuns e incomuns⁵. Portanto, ao nível do exame do hábito externo, deverá ser estabelecido o peso e a altura do corpo (como vista a uma posterior correlação com o peso cardíaco e espessura da parede cardíaca) bem como verificada a presença do cardiodesfibrilador *in situ*, de almofadas de ECG (electrocardiograma), de queimaduras eléctricas; de sítios de drenagem, entre outras situações⁵.

3.1.1. Exame macroscópico do coração

A análise macroscópica do coração consiste de um procedimento minucioso e que requer grande atenção dado o extenso espectro de possíveis causas cardíacas a pesquisar e o frequente envolvimento de estruturas cardíacas cuja integridade é essencial para a função cardíaca normal⁵. As artérias coronárias, o miocárdio, as válvulas cardíacas, o sistema condutor, a aorta intra-pericárdica e a artéria pulmonar constituem exemplos dessas estruturas⁵.

A CMH é considerada uma patologia cardíaca estrutural que se traduz habitualmente, na autópsia, por um coração de peso superior ao normal¹⁰⁰. Na origem de tal aumento encontra-se, por norma, uma acentuada hipertrofia do miocárdio que classicamente é mais evidente no ventrículo esquerdo e no septo interventricular^{46,100} (Figura 10).

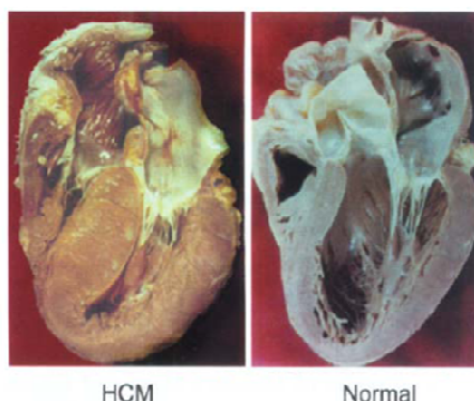


Figura 10 – Imagens *post-mortem* dois corações, em corte sagital, um com CMH observando-se hipertrofia septal assimétrica com evidente redução do tamanho da cavidade do ventrículo esquerdo (VE) e um sem patologia cardíaca aparente. Imagem adaptada de Chung *et al* (2003)²⁸

Comumente, o espessamento do septo é desproporcional quer quando comparado com a parede livre do ventrículo esquerdo quer no que respeita às regiões basal e apical que o compõe¹⁰⁰. Em termos de medidas da espessura absoluta, a parede septal pode estar significativamente aumentada com valores entre os 15 e os 50 milímetros¹⁰⁰. Todavia, persiste ainda alguma controvérsia quanto aos valores considerados fisiológicos e patológicos. De um modo geral, nos adultos, tem-se considerado normal uma espessura inferior a 13 milímetros e patológica quando superior a 15 milímetros. Porém, segundo Maron *et al* (2004)²⁴ não se encontra estabelecida uma espessura mínima da parede ventricular patognomónica para o diagnóstico de CMH. Na prática qualquer valor, mesmo quando situado dentro do intervalo fisiológico, poderá ser consistente com a presença de CMH dada a variabilidade na penetrância da doença.

Adicionalmente, valores *borderline*, num adulto, poderão desencadear a necessidade de um diagnóstico diferencial com situações de base fisiológica como o coração dos atletas que sofrem remodelações compensatórias em virtude da intensa actividade física. Nestes, contrariamente à CMH, a hipertrofia é difusa e acompanhada de uma dilatação compensatória das câmaras cardíacas^{1,24,100}.

Em corte transversal, a cavidade ventricular de um coração com CMH apresenta frequentemente uma configuração semelhante a uma banana em virtude da saliência do septo interventricular para o lúmen do ventrículo¹³. Tal achado constitui uma evidência da diminuição do enchimento ventricular durante a sístole reportada nesta patologia¹³.

Em cerca de 25% dos casos portadores deste padrão morfológico observa-se um tracto de saída do ventrículo esquerdo estenótico. Para além da conseqüente obstrução do fluxo sanguíneo^{19,28,100,103,104}, desta situação poderão emergir, por vezes, anomalias como prolapso da

válvula mitral, espessamento fibrótico excessivo do folheto anterior e das cordas tendinosas da válvula em questão mas também uma inserção anômala dos músculos papilares¹⁹.

A hipertrofia do ventrículo direito raramente é observada. Contudo, o seu envolvimento, aquando do padrão simétrico de CMH, tem ocorrido entre os 10 e os 18% e em que a porção média apical se encontra mais afectada¹⁹.

Embora o padrão assimétrico seja a forma de apresentação mais frequente²⁸, a CMH apresenta uma grande variação na sua expressão ao nível da morfologia cardíaca o que justifica a inexistência de um padrão morfológico verdadeiramente típico¹⁹.

Por outro lado, a existência de várias situações (fisiológicas ou patológicas) que originam hipertrofia cardíaca constitui um obstáculo no apuramento da causa de morte. Neste sentido, a presença de critérios definidos e o detalhe histológico poderão ser essenciais na realização dessa diferenciação.

3.1.2. Achados Microscópicos na CMH

A análise histológica, em pacientes com morte súbita, pode ser crucial no estabelecimento de um diagnóstico diferencial na medida em que a observação poderá revelar quer alterações na arquitectura e disposição dos componentes tecidulares em corações aparentemente normais quer um padrão aceitável em termos fisiológicos em corações macroscopicamente alterados^{2,5}.

Histopatologicamente, a característica mais relevante da CMH é a desorganização das fibras musculares hipertróficas sob uma disposição casual e não em feixes paralelos^{19,28,103,105} (Figura 11). Os miócitos hipertróficos apresentam geralmente núcleos bizarros e aumentados com hiper cromasia e pleomorfismo^{19,28}. Adicionalmente, a desordem dos miócitos é acompanhada de fibrose intersticial (focal ou difusa)^{5,28,100} e de anomalias ao nível das artérias coronárias intra-miocárdicas tais como densidade arteriolar reduzida, densa deposição perivascular de colagénio e hiperplasia do músculo liso das camadas média e íntima^{5,19,100}.

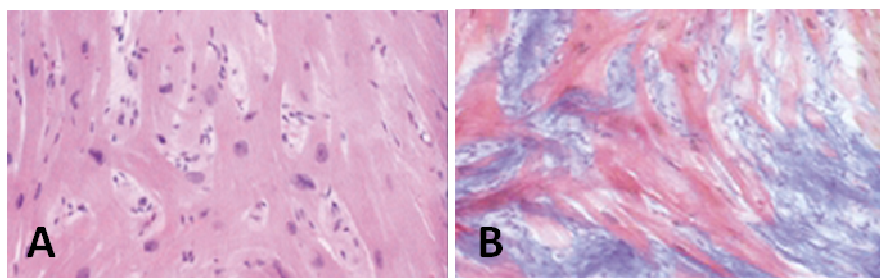


Figura 11 - Características histológicas do músculo cardíaco normal (A) e de um portador de CMH (B) onde se observa arquitectura desorganizada dos miócitos (hipertróficos) e fibrose intersticial (azul). Imagens retiradas de Arad *et al* (2002)¹⁰⁶

Todavia, o desarranjo dos miócitos não é específico da CMH podendo ser observado noutras doenças cardiovasculares e até mesmo no coração normal onde tal padrão deverá ser considerado normal quando isolado e confinado às junções e septo posterior¹⁹. Em adição, nestes locais é habitual a presença de adiposidade intersticial¹⁹.

Por fim, um outro aspecto que poderá auxiliar na diferenciação é o grau de desorganização o qual deve exceder os 5-10%^{5,19}.

3.1.3. Autópsia molecular na CMH

O estabelecimento da causa patológica que esteve na origem da MSC é possível na maioria dos casos⁵. Todavia, em muitas das doenças cardíacas genéticas subjacentes, o limite entre as mudanças fisiológicas e as patológicas encontra-se pouco definido⁵. Nesta sequência, a realização de uma análise macroscópica e histológica detalhadas poderá não ser suficiente para estabelecer claramente a causa da morte⁵.

Em virtude do aumento do conhecimento sobre base genética da MSC bem como do padrão hereditário autossómico dominante da maioria das patologias relacionadas, a utilidade da autópsia molecular tem sido defendida por diversos autores. Embora a sua aplicação se revele dispendiosa e trabalhosa, a identificação da base genética da morte súbita é crucial para a gestão das famílias afectadas por este evento trágico^{4,10}.

No entanto, atendendo ao grande número de genes envolvidos, a análise molecular deve ser tecida com base numa suspeita e a qual pode ser indicada pelos exames macroscópico e histológico⁵.

Para efectuar a análise molecular de CMH, as informações obtidas nas fases anteriores da autópsia são então extremamente úteis na orientação de qual dos genes é o mais provável de se encontrar na base genética do caso em questão⁵. Segundo Ingles *et al* (2007)¹⁰, aquando da ausência de informação relevante, a autópsia molecular pode traduzir-se em maior complexidade não só pelo grande número de genes envolvidos e pela inexistência de *hot-spots* mas também pela possibilidade de envolver a identificação de mais do que uma mutação causadora da doença. Deste modo, a análise não deve ser terminada assim que for detectada a primeira mutação genética, principalmente na presença de fenótipos graves²⁶.

3.1.3.1. Amostras

Para pesquisa de mutações na CMH, a maioria dos estudos descritos na literatura utiliza ácido desoxirribonucleico (DNA) extraído de amostras de sangue periférico. No âmbito do

exame *post-mortem*, Basso *et al* (2008) recomendam a utilização de 10 mL de sangue em ácido etilenodiaminotetracético (EDTA) e 5g de tecido cardíaco e esplénico⁵.

Todas as amostras devem ser enviadas com a documentação necessária para a realização da autópsia molecular, assim como uma requisição onde devem constar todos os dados que permitam identificar, de forma inequívoca, cada paciente.

3.1.3.2. Técnicas de Biologia molecular

A extracção do DNA é realizada por protocolos manuais *standard* ou, na maioria dos casos, por métodos automatizados^{90,107}. A extracção constitui um passo crucial para todo o diagnóstico, uma vez que o DNA obtido deve apresentar elevada pureza e quantidade suficiente para o estudo das regiões de interesse.

Actualmente, a ampla heterogeneidade genética observada em CMH tem feito com que a análise molecular se processe por técnicas clássicas de Biologia Molecular como *single-strand conformation polymorphism analysis* (SSCP)^{25,29,106} e *denaturing high-performance liquid chromatography* (DHPLC)^{4,53,108}. Todavia, dado que a sequenciação directa de produtos da reacção da polimerase em cadeia (PCR) permite não só a detecção mas também a identificação directa da mutação envolvida, esta têm sido a técnica mais vulgarmente aplicada^{24,28,29,51}.

Os *primers* necessários para a concretização de PCR encontram-se disponibilizados, na base de dados *CardioGenomics*, juntamente com as respectivas temperaturas de emparelhamento e os pesos moleculares dos fragmentos amplificados.

Dada a amplitude de genes a análise, várias têm sido a optimizações efectuadas no sentido de rentabilizar quer o tempo quer os recursos.

No âmbito da aplicação da técnica de sequenciação, as estratégias de diagnóstico poderão variar consoante a presença ou ausência de informação clínica relevante. Na sua ausência, diversos autores têm defendido a concretização de uma análise molecular baseada nas frequências mutacionais dos respectivos genes. Neste sentido, numa primeira fase, deve proceder-se à sequenciação directa dos genes MYH7 e MYBPC3 (abrangência de 50 a 60% da etiologia de CMH)¹⁰⁹. Em caso de negatividade, é indicada a análise dos genes TNNT2, TNNI3, MYL2, MYL3, TPM1 e ACTC que possibilitam a identificação adicional 10 a 20% das mutações¹⁰⁹. A análise dos restantes genes não é recomendada nos cuidados de rotina excepto, se existirem evidências que justifiquem a sua análise^{10,109}.

Recentemente, uma tecnologia de *microarray* para ressequenciação tem-se revelado vantajosa, face às técnicas convencionais, na medida em que permite a análise simultânea de múltiplos genes num único ensaio¹¹⁰. A técnica tem-se revelado confiável na detecção de substituições de um único nucleótido (em homo- ou heterozigotia) sendo as suas matrizes

vulgarmente compostas por 12 genes causadores de CMH, que abrigam mais de 98% de todas as mutações relatadas até o momento¹¹⁰. Embora, esta técnica seja significativamente mais barata que a sequenciação directa e apresente uma taxa de detecção próxima, as suas matrizes não detectam inserções/delecções.

Há que salientar ainda que, mesmo com o exame genético, existe a possibilidade de se obterem falso-negativos. Deste modo, um resultado negativo poderá emergir de situações como a ocorrência de mutações em genes e/ou sequências (reguladoras ou não-codificantes) não avaliados bem como do envolvimento de outros genes ainda não identificados no âmbito da etiologia de CMH^{106,110}.

Adicionalmente, a fim de excluir as hipóteses anteriores, poderá ser efectuado o teste genético de genes envolvidos em fenocópias de CMH como é o caso dos genes α -GAL, PRKAG2 e LAMP2 a fim de concretizar um diagnóstico diferencial^{30,106,109}.

Capítulo 4

4. Achados *post-mortem* na gestão clínica de CMH

Como comprovado no capítulo anterior, o estabelecimento da causa de morte de uma pessoa, aquando de MSC, requer uma extensa investigação que, muitas vezes, é infrutífera¹⁰. No entanto, dadas as implicações médicas e psicológicas nos familiares sobreviventes, a mesma deverá ser levada adiante.

Atendendo ao facto de a maioria das mortes súbitas em jovens apresentar subjacente uma patologia hereditária, a utilidade da análise clínica dos familiares poderá não se restringir apenas à identificação dos indivíduos sobreviventes afectados¹⁰. Nos casos particulares de morte súbita inexplicável, a avaliação da restante família poderá fornecer informações úteis sobre as doenças cardíacas que afectam a família em causa¹⁰. Segundo Ingles *et al* (2007)¹⁰, em aproximadamente 40% das mortes súbitas inexplicadas é diagnosticada uma doença cardíaca nos familiares que pode constituir a provável causa de morte.

Pelo exposto, torna-se evidente que o exame *post-mortem*, nos casos de MSC, pode ter um papel preditivo no prognóstico dos sobreviventes. Deste modo, é crucial um serviço multidisciplinar baseado numa estreita colaboração entre cardiologistas, geneticistas clínicos, conselheiros genéticos e o patologista *forense* directamente envolvido no caso^{10,110}.

4.1. Causa genética da MSC identificada

No âmbito da CMH, como acontece noutras patologias familiares autossómicas dominantes, a identificação da causa genética da morte permite definir o estado genético de todos os membros da família. Todavia, uma serie de questões relacionadas com implicações na vida do portador (ex: emprego, seguros,...) devem ser consideradas.

Por outro lado, dada a complexidade e os custos inerentes ao teste molecular, este só deve ser realizado, como exame complementar, aquando de indivíduos com suspeita ou diagnóstico clínico de CMH^{4,6,10}.

Assim sendo, o teste genético deve ser aconselhado aos familiares da vítima de MSC, inclusive os aparentemente saudáveis, a fim de determinar se são ou não portadores de CMH. Perante um resultado negativo, é então possível excluir o risco de desenvolver ou transmitir a doença à descendência, invalidando a necessidade de efectuar um acompanhamento clínico como também, eliminando a ansiedade relacionada com a incerteza da manifestação da doença.

Todavia, aquando de um resultado positivo, é necessário ter em consideração uma série de informações que auxiliam na decisão da estratégia de acompanhamento clínico e/ou intervenção preventiva. Tais informações dizem respeito quer ao padrão clínico do paciente

quer às obtidas em estudos científicos realizados previamente (como as correlações genótipo-fenótipo).

4.2. MSC inexplicada ou com suspeita de CMH

Dada a variabilidade observada na expressão clínica bem como as limitações ainda presentes no conhecimento e diagnóstico moleculares, não é de todo incompreensível que alguns casos de morte súbita inexplicável sejam relativos a CMH.

Neste sentido e atendendo aos motivos expostos no início deste capítulo, é igualmente aconselhável a extensão da análise iniciada na autópsia aos restantes membros da família afectada.

Como acontece na necrópsia da vítima de MSC, a história familiar é extremamente útil não só para a percepção da possível presença de doença familiar cardíaca mas também para a identificação dos indivíduos provavelmente afectados¹⁰. Assim, é aconselhável a inclusão de informações detalhadas abrangendo, no mínimo, três gerações e que a mesma se centre nos membros da família com sintomatologia suspeita¹⁰.

Dispneia, angina de peito e palpitações são possíveis sintomas que poderão ser desenvolvidos pelos portadores de CMH^{28,30}. Contudo, a maioria dos pacientes é assintomático ou apresenta uma sintomatologia mínima^{28,30}. Ocasionalmente, podem ocorrer episódios de síncope os quais se encontram associados a um risco aumentado de MSC, fibrilação arterial e arritmias supraventriculares^{28,30}. No estágio final da doença, podem ocorrer sintomas associados a insuficiência cardíaca.

De um modo geral, a história natural da doença traduz-se numa evolução gradual dos sintomas porém, a MSC pode emergir como primeira manifestação da doença²⁸.

O diagnóstico clínico de CMH requer a demonstração da presença de hipertrofia cardíaca inexplicada, afectando principalmente o ventrículo esquerdo, sem dilatação compensatória da cavidade ventricular^{28,30,111}. Classicamente, é assimétrica com especial envolvimento do septo interventricular mas também pode ser concêntrica, difusa ou local^{19,24,28}.

Por convenção, em adultos, é considerada a presença de hipertrofia aquando de uma espessura ecocardiográfica da parede do ventrículo esquerdo superior a 15mm^{30,111}.

Na prática clínica, o exame prospectivo para verificar o *status* de afectado/ não-afectado é realizado principalmente através de ecocardiografia bidimensional, ECG, história clínica do paciente e exame/prova física^{10,24}.

Segundo alguns estudos, cerca de 75 a 95% dos casos de CMH apresentam um ECG anormal⁹⁷ onde a alteração mais característica é a presença de ondas T invertidas e proeminentes

denominadas ondas T gigantes negativas (figura 12) ^{18,19,22,94}. Alterações ao nível do complexo QRS também podem ocorrer ^{112,113}.

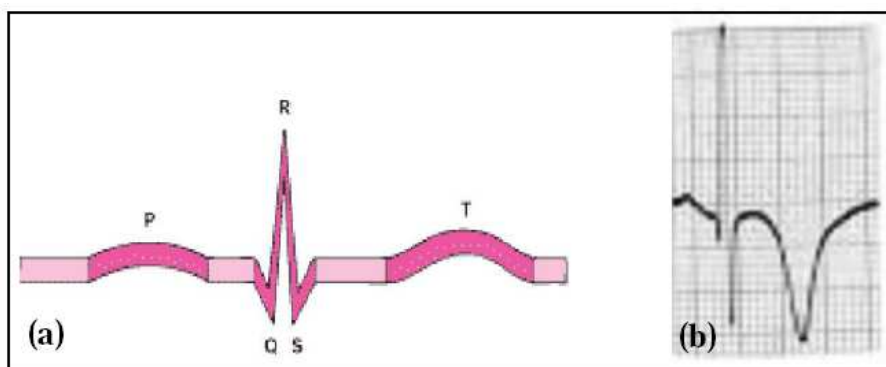


Figura 12 - Electrocardiograma. (a) Representação esquemática do registo da variação do potencial eléctrico no tempo, com a obtenção das respectivas ondas. Pode observar-se que, em casos normais, a onda T, correspondente à repolarização ventricular, é positiva e arredondada. (b) Registo parcial de uma ECG realizada num paciente com CMH. Verifica-se a inversão da onda T. Imagem adaptada de Wigle ED (2001) ¹¹²

Adicionalmente, poderão ser considerados outros testes como a angiografia coronária e a ressonância magnética sendo esta última mais vantajosa que a ecocardiografia na visto oferecer imagens tomográficas de alta resolução ¹⁹. Deste modo, é possível efectuar uma melhor avaliação quer da espessura da parede quer da distribuição da doença assim como a análise de posições incomuns no interior da cavidade ventricular ^{19,24}.

Na sequência de MSC associada a CMH não confirmada molecularmente, a obtenção de negatividade nos exames clínicos não permite concluir quanto à presença/ausência da doença nos familiares analisados. Como tal, é aconselhável prolongar a vigilância clínico-morfológica no tempo ¹⁵.

Atendendo à história natural desta patologia (nomeadamente a idade de início), tem sido recomendado que o acompanhamento clínico seja feito entre a adolescência e a meia idade ²⁴. Deste modo, na ausência de evidências de doença, dever-se-á efectuar uma avaliação clínica anual durante a adolescência enquanto que em adultos, aconselha-se que seja a cada 5 anos ^{10,24}. Contudo, dependendo do curso familiar da doença bem como do desenvolvimento clínico do paciente, pode ser justificável a aplicação de intervalos mais curtos ^{10,24}.

Por outro lado, devido ao facto de a hipertrofia raramente aparecer numa idade inferior a 12 anos bem como de a morte súbita ou outras complicações da doença serem incomuns numa fase tão tenra da vida, os estudos ecocardiográficos são desaconselháveis na prática clínica destas crianças ^{18,24}. Não obstante, a identificação do fenótipo nesta faixa etária geralmente não desencadeia intervenções terapêuticas ²⁴.

Embora tudo este procedimento seja em prole da saúde do paciente, é necessário ter em atenção as suas implicações negativas nomeadamente a ansiedade desnecessária criada nos familiares na sequência quer do extenso período de vigilância quer da indecisão quanto ao diagnóstico clínico²⁴. Deste modo, segundo Maron *et al* (2004)²⁴, a fim de difundir a tensão psicológica criada deve ser realçada a probabilidade de estes não serem afectados.

Em adição, todo este processo exige também por parte dos profissionais de saúde e dos pacientes uma grande motivação²⁴.

Capítulo 5

5. Impacto do diagnóstico precoce de CMH e as medidas preventivas

O número significativo de indivíduos em que a MSC ou a paragem cardíaca constitui a primeira manifestação da doença faz com que o seu diagnóstico precoce seja um aspecto crucial na gestão clínica de CMH³⁰.

Independentemente da idade e do *status* da sintomatologia, todos os indivíduos com diagnóstico de CMH devem ser abordados, uma vez que MSC pode ocorrer em qualquer idade embora seja mais comum entre adolescentes e adultos jovens¹¹⁴.

A abordagem efectuada deve ser abrangente de modo a considerar todos os factores de risco para a estratificação adequada dos pacientes³⁰.

Estudos recentes têm analisado prospectivamente o significado prognóstico e a inter-relação de diferentes características de CMH e o risco de MSC. Embora ainda persista alguma incerteza em torno de certas relações, de um modo geral, as características enumeradas na tabela 3 têm sido associadas a este prognóstico desfavorável.

Tabela 3 – Factores predisponentes a MSC em pacientes com diagnóstico de CMH^{18,20,21,30,104}

Factores de Risco para SDC em CMH	
Estabelecidos	
–	história de paragem cardíaca
–	história familiar de morte súbita (particularmente em idade ≤ 45 anos)
–	mutações “malignas” e/ou em duplicado
–	síncope
–	taquicardia ventricular mantida espontaneamente ou não mantida mas repetitiva
–	hipertrofia cardíaca grave (≥ 30mm)
Menos estabelecidos	
–	hipotensão induzida pelo exercício
–	obstrução do trato de saída do ventrículo esquerdo (LVOT)

-
- **fibrose intersticial severa e desordem dos miócitos**
 - **isquemia do miocárdio**
-

Segundo Frenneaux *et al* (2004)²¹, o uso individual destes marcadores para aconselhar e orientar os pacientes quanto ao seu risco de MSC é geralmente inadequado visto que apresentam, por norma, um valor preditivo positivo baixo (~20%)^{18,96}. Em contraste, a combinação de dois ou mais factores traduz-se geralmente num aumento da taxa anual de MSC para valores entre os 4 e os 5%^{18,114}.

Neste sentido é importante salientar que, dadas as implicações que a terapia preventiva pode ter na vida do paciente, é crucial a realização de uma correcta estratificação de risco de MSC já que tal procedimento apresenta um peso relevante na decisão terapêutica^{30,114}.

Segundo Marian *et al* (2009)³⁰, uma história familiar de MSC em apenas um membro não é suficiente para justificar o implante de cardioversor desfibrilador implantável (CDI) dada a variabilidade fenotípica que pode existir entre os membros de uma mesma família. Em contrapartida, a presença de síncope por arritmia é uma causa suficiente para considerar a hipotética implantação³⁰.

A magnitude da hipertrofia cardíaca presente em vítimas de MSC tem apresentado grande variabilidade. Assim, é compreensível que inicialmente não tenha sido estabelecida qualquer associação entre magnitude da HVE e risco de MSC²¹. Contudo, a raridade com que pacientes idosos apresentam hipertrofia extrema tem conduzido à reavaliação deste factor²¹. Em consequência, diversos estudos têm demonstrado que uma espessura ventricular superior a 30 mm constitui efectivamente um factor de risco significativo quando associado a outro marcador^{20,21,30,97,104}. Porém, tais estudos também têm alertado para o facto de que a sua ausência não é necessariamente um factor tranquilizador^{21,77,104}.

Com os avanços efectuados nas correlações genótipo-fenótipo, a identificação da(s) mutação(ões) subjacente(s) poderá constituir um procedimento de elevado valor preditivo. Apesar das limitações ainda presentes, algumas alterações já foram associadas a um risco aumentado de morte súbita nomeadamente, R719Q e R403Q no gene MYH7, TNNT2 mutado bem como a presença de duas mutações no mesmo indivíduo^{18,30,97}.

Não obstante, é importante ter presente que a prevalência e a relevância dos factores de risco em crianças e adolescentes diferem das dos adultos pelo que a idade será um factor a considerar na interpretação dos resultados¹¹⁴. A taquicardia ventricular não-sustentada é um dos exemplos a ter em atenção. Enquanto que, a sua presença nos adultos é vista como um pequeno incremento de risco, nos jovens, a sua presença é preocupante dada ser de apresentação incomum nesta faixa etária¹¹⁴.

Nos restantes factores não têm existido evidências suficientes para os estabelecer como marcadores específicos nas estratégias de prevenção^{18,30}.

5.1. Terapia preventiva

A intervenção farmacológica ou não-farmacológica precoce pode evitar ou atenuar a evolução do fenótipo em pacientes com diagnóstico (clínico e/ou molecular) independentemente da presença/ ausência de sintomatologia^{18,30}.

Nos pacientes assintomáticos ou com sintomatologia mínima, a prevenção primária é delineada com base no risco de MSC³⁰. Assim, perante um baixo risco, o paciente deve ser acompanhado periodicamente com a realização de ecocardiografias 2D e de Doppler, ECG, monitor de Holter e exame físico^{30,97}. Em contraste, aquando de um risco aumentado, o doente passa a ser candidato ao implante de um CDI^{18,30,97,104,115}. Apesar da eficácia demonstrada por este dispositivo na prevenção de MSC, a sua implementação nem sempre é viável^{96,97}. No caso das crianças, este procedimento raramente é efectuado sendo-lhes administrado amiodaroma (anti-arritmogénico) até que atinjam a idade adulta¹⁸. Por detrás de tal opção encontram-se não só questões de ordem técnica como a necessidade de implante abdominal e substituição por causa do desenvolvimento somático mas também de ordem psicossocial^{18,30}.

Nos pacientes sintomáticos, a escolha do tratamento é grandemente determinada pela presença ou ausência de LVOT¹⁸.

Na ausência de obstrução, a terapia é farmacológica e pode envolver β -bloqueadores, bloqueadores dos canais de cálcio, disopiramida (anti-arritmogénico da classe I) e diuréticos (em baixas doses)¹¹⁶.

Os β -bloqueadores (sem actividade simpática intrínseca) são a primeira escolha em todos os pacientes especialmente aquando de um quadro clínico onde predomina a dispneia. Os seus efeitos benéficos passam pelo aumento da frequência cardíaca, da contractilidade ventricular e da rigidez¹⁸.

Os bloqueadores dos canais de cálcio (como o Verapamil e o Diltiazem) devem ser usados em alternativa aos β -bloqueadores (quando não tolerados) ou aquando do predomínio da angina de peito no quadro clínico¹⁸. Os efeitos da sua administração são essencialmente inotrópicos e cronotrópicos fazendo-se também sentir a nível diastólico^{18,97}. Antagonistas de cálcio com propriedades vasodilatadoras não devem ser utilizados em pacientes com CMH em virtude da possibilidade de induzirem hipotensão, síncope e, eventualmente, a morte¹⁸.

Os diuréticos são destinados aos pacientes que evidenciam sobrecarga significativa de volume e devem ser administrados em pequenas quantidades para evitar a depleção de volume intravascular e hipotensão^{18,30}.

LVOT encontra-se presente em cerca de 25% dos pacientes com CMH^{28,104}. Na maioria dos pacientes a sintomatologia é leve e pode ser controlada medicamentosamente por uma combinação de β -bloqueadores e dizopirâmida^{30,116}. Adicionalmente, podem ser administrados antibióticos a fim de prevenir o desenvolvimento de endomiocardites⁹⁷. Contudo, em aproximadamente um terço dos pacientes, esta terapia revela-se ineficaz³⁰. A permanência significativa dos sintomas em conjunto com uma hipertrofia superior a 15mm coloca os pacientes como potenciais candidatos a intervenções invasivas³⁰.

A miectomia cirúrgica (também conhecida por miectomia de Morrow) consiste na ressecção de uma pequena porção basal do septo interventricular^{30,97,116,117}. Em alternativa, a ablação septal alcoólica envolve a introdução de uma pequena quantidade de álcool no ramo descendente da artéria coronária anterior a fim de reduzir a necrose miocárdica localizada no septo e, assim, reduzir a obstrução de LVOT^{30,97,116,117}. Ambas as intervenções têm reduzidas taxas de mortalidade no pós-operatório (até 5%) porém, a realização da ablação septal requer uma anatomia coronária adequada^{30,97,116}.

Por fim, outras medidas preventivas passaram por mudanças de estilo de vida como, por exemplo, o evitar a prática de desportos competitivos e exercício físico intenso²⁸.

Capítulo 6

6. Rastreio da Cardiomiopatia Hipertrófica

O diagnóstico precoce de CMH é uma necessidade concreta e estabelecida para o desencadeamento da prevenção primária e/ou secundária das complicações que emergem desta patologia, com especial destaque para a MSC. Neste sentido, e atendendo à prevalência recentemente estimada da doença, muito se tem questionado quanto à validade da implementação de programas de rastreio. Todavia, decorrente da complexidade envolvida em torno do diagnóstico (clínico e molecular), diversos autores têm salientado a sua inadequação na população em geral.

No que respeita ao diagnóstico/rastreio clínico, para além da variedade de exames e vertentes a análise, a amplitude do espectro fenotípico pode resultar em falsos negativos. Por outro lado, segundo Marian *et al* (2009)³⁰, 5 a 10% dos casos são falsos positivos que emergem de fenocópias como a doença de Fabry e a doença de armazenamento de glicogénio.

Em contrapartida, a análise molecular pode estabelecer o diagnóstico definitivo aquando da identificação de mutações nos genes envolvidos na etiologia de CMH. Todavia, a relação custo-efectividade têm limitado a sua aplicação na rotina sendo, por isso, actualmente visto como um meio de diagnóstico complementar^{4,6}.

Embora a prática desportiva de alta competição não tenha sido colocada como um factor de risco para MSC (capítulo 4), a relação da morte súbita em eventos desportivos e a CMH tem sido evidente. Neste sentido, após a morte mediática do futebolista Miklós Fehér (em 2004), muito se ponderou quanto à adequabilidade do rastreio cardiovascular pré-competição tendo o Comité Olímpico Internacional elaborado uma série de propostas – “Recomendações de Lausana” – com vista a melhorar a eficácia do rastreio¹¹⁸.

De um modo geral, este rastreio baseia-se em quatro elementos fundamentais: história pessoal do atleta, história familiar, exame físico e ECG de doze derivações. Nos casos com anomalias suspeitas detectadas, são realizados exames adicionais como ecocardiografias ou, caso se justifique, a biopsia endomiocárdica. Confirmada a presença de anomalias cardíacas, nomeadamente CMH, a prática de desportos de alta competição deve ser restringida^{118,119}.

Em Itália, a implementação de um protocolo de avaliação cardiovascular semelhante a estas recomendações, tem resultado na diminuição do número de MSC em atletas, desde 1982^{113,119,120}. Em contraposição, nos EUA, o programa de rastreio em vigor, baseado na avaliação do historial clínico do paciente e no exame físico, tem-se revelado ineficiente na medida em a incidência de MSC permanece elevada¹¹³.

Ainda que os resultados italianos revelem uma grande sensibilidade do programa de rastreio implementado, os exames realizados nem sempre permitem afirmar claramente se as alterações observadas se devem a uma condição fisiológica ou a um estágio inicial da CMH¹²⁰.

Deste modo, a inclusão da análise molecular na metodologia de rastreio poderá ter um papel crucial nessa diferenciação. Contudo, a ausência de expressão fenotípica em muitos dos casos portadores de mutações malignas (ex: mutações no gene TNNT2) levanta a questão da utilização restrita, ou não, da análise molecular como meio complementar de diagnóstico no rastreio cardiovascular desportivo.

Conclusão

No actual conhecimento sobre a CMH encontra-se evidente que toda a heterogeneidade genotípica e fenotípica existente tem estado na base das limitações presentes na compreensão, diagnóstico e prognóstico desta patologia.

A gravidade de algumas das manifestações que podem decorrer nos portadores de CMH tem reclamado a realização de um diagnóstico precoce a fim de serem tomadas as medidas preventivas adequadas. Todavia, como constatado, esse diagnóstico é, por vezes, impossível de ser realizado em indivíduos assintomáticos e sem antecedentes familiares e nos quais a MSC pode surgir como primeira manifestação clínica.

Apesar da sua componente trágica, a MSC pode ser o alerta “necessário” para o evitar de outras mortes. A necrópsia, como exame de abordagem ampla e sistemática, pode fornecer informações cuja utilidade vai muito mais além do que a resposta à pergunta do “porquê”. Assim, a potencialidade das informações forenses reside não só no despoletar da pesquisa de novos portadores na família afectada mas também, no aumento da compreensão da doença em si e das suas características que predispõem à MSC.

No entanto, a variabilidade fenotípica e as fenocópias nem sempre tornam evidente a causa da morte no exame macroscópico e histológico. Desta situação poderão emergir quer falsos positivos quer falsos negativos pelo que a realização de uma diferenciação (nomeadamente molecular) poderá ser de grande importância na gestão clínica e psicossocial dos familiares da vítima.

A análise molecular destaca-se da clínica não só por permitir a realização de um diagnóstico numa fase subclínica como também pelo carácter inequívoco dos seus achados. Todavia, o desconhecimento da causa genética em cerca de um terço dos casos bem como a não inclusão da totalidade das regiões envolvidas na etiologia de CMH (genes de baixa prevalência; regiões não-codificantes; regiões reguladoras) poderá levar à presença de falsos negativos.

A fim de minimizar as limitações de um e outro método (clínico e molecular) é aconselhável que ambos sejam utilizados de modo complementar. Assim, conseguir-se-á um aumento do rendimento do diagnóstico quer aquando da extensão da análise iniciada no exame *post-mortem* à restante família quer nos programas de rastreio cardiovascular.

Embora a identificação da(s) mutação(ões) permita o estabelecimento de um diagnóstico preciso de CMH, os exames efectuados aquando do diagnóstico clínico não poderão deixar de ser realizados uma vez que os seus resultados são essenciais para a estratificação do risco de MSC e conseqüente decisão quanto à terapia preventiva a ser aplicada.

Portanto, pelo exposto fica patente a necessidade de preencher as lacunas de conhecimentos existentes na etiologia, patofisiologia e evolução clínica de CMH. A pesquisa de

causalidade de CMH em outros genes codificadores de proteínas sarcoméricas bem como o estabelecimento de correlações claras de genótipo-fenótipo poderá constituir uma mais-valia quer para reduzir o número de falsos negativos quer para aumentar o valor preditivo positivo dos achados moleculares no prognóstico do paciente. Deste modo, estudos sobre as consequências estruturais e/ou funcionais das mutações a nível proteico bem como sobre os factores e/ou mecanismos que conduzem à manifestação clínica da doença poderão ser de grande relevo.

Em suma, embora a posse de um amplo conhecimento sobre a etiologia e clínica da doença seja determinante para uma boa gestão médica do paciente, a sua aplicação exige, por parte do profissional de saúde, a ponderação de uma serie de questões de ordem psicossocial.

Referências Bibliográficas

1. Marcin Dziduszko, T.W.-C. Sudden cardiac death – most frequent causes, risk factors, individual and population-based prevention. *Annales Universitatis Mariae Curie - Skloowskaublin – Polonia* **LXI**(2006).
2. Sumeet S. Chugh, K.R., Carmen Teodorescu, Audrey Evanado, Elizabeth Kehr, Mershed Al Samara, Ronald Mariani, Karen Gunson, Jonathan Jui. Epidemiology of Sudden Cardiac Death: Clinical and Research Implications. *Prog Cardiovasc Dis.* **51**, 213–228 (2008).
3. Aris Anastasakis, W.M., Christodoulos Stefanadis. Prevention of Sudden Cardiac Death in the Young Targeted Evaluation of Those at Risk. *Hellenic Journal of Cardiology* **47**, 251-254 (2006).
4. Silke Kaufenstein, N.K., Thomas Neumann, Heinz-Friedrich Pitschner, Hansjürgen Bratzke. Cardiac Gene Defects Can Cause Sudden Cardiac Death in Young People. *Deutsches Ärzteblatt International* **106**, 41-47 (2008).
5. Basso, C., *et al.* Guidelines for autopsy investigation of sudden cardiac death. *Virchows Arch* **452**, 11-18 (2008).
6. Ruey J Sung, C.-T.K., Shan-Nan Wu, Wen-Ter Lai, Nazar Luqman, Ngai-Yin Chan. Sudden Cardiac Death Syndrome: Age, Gender, Ethnicity, and Genetics. *Acta Cardiol Sin* **24**, 65-74 (2008).
7. Alessandra Doolan, N.L.a.C.S. Causes of sudden cardiac death in young Australians. *MJA* **180**, 110–112 (2004).
8. Arun Sridhar, Y.N., Dmitry Terentyev, Radmila Terentyeva, Rebecca Uelmen, Monica Kukielka, Ingrid M. Bonilla, Gail A. Robertson, Sandor Györke, George E. Billman, Cynthia A. Carnes. Repolarization abnormalities and afterdepolarizations in a canine model of sudden cardiac death. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* (2008).
9. Morris, V.B., *et al.* Sudden cardiac death in the young: a 1-year post-mortem analysis in the Republic of Ireland. *Ir J Med Sci* **178**, 257–261 (2009).
10. J. Ingles, C.S. Sudden cardiac death in the young: a clinical genetic approach. *Internal Medicine Journal* **37**, 32-37 (2007).
11. Jennings, K. Sudden cardiac death. *J R Coll Physicians Edinb* **36**, 117–119 (2006).
12. Fatkin, D. & Graham, R.M. Molecular Mechanisms of Inherited Cardiomyopathies. *Physiol. Rev.* **82**, 945-980 (2002).
13. Kumar V, A.A., Fausto N. Robbins, Cotran The Heart. in *Pathologic Basis of Diseases* (ed. Saunders) 604-606 (Elsevier Inc, 2005).
14. Saffitz, j.E. The heart. in *Rubin's Pathology: Clinicopathologic foundations of Medicine* 580-588 (Lippincott, Williams & Wilkins, Philadelphia, 2006).
15. Hoedemaekers, Y.M., *et al.* Cardiac {beta}-myosin heavy chain defects in two families with non-compaction cardiomyopathy: linking non-compaction to hypertrophic, restrictive, and dilated cardiomyopathies. *Eur Heart J* **28**, 2732-2737 (2007).
16. Towbin, J.A., *et al.* Incidence, Causes, and Outcomes of Dilated Cardiomyopathy in Children. *JAMA* **296**, 1867-1876 (2006).

17. Charles S. Redwood, J.C.M.-S., Hugh Watkins. Properties of mutant contractile proteins that cause hypertrophic cardiomyopathy. *Cardiovascular Research* **44**, 20–36 (1999).
18. Dimitris Georgakopoulos, V.T. Hypertrophic Cardiomyopathy in Children, Teenagers and Young Adults. *Hellenic Journal of Cardiology* **48**, 228-233 (2007).
19. Hansen, M.W. & Merchant, N. MRI of Hypertrophic Cardiomyopathy: Part I, MRI Appearances. *AJR* **189**, 1335–1343 (2007).
20. Georgios K Efthimiadis, C.P., Efstathios D Pagourelis, Despina G Parcharidou, Georgios Giannakoulas, Vasileios Kamperidis, Stavros Hadjimiltiades, Charalambos Karvounis, Stavros Gavrielidis, Ioannis H Styliadis, Georgios Parcharidis. Identification of high risk patients with hypertrophic cardiomyopathy in a northern Greek population. *Cardiovascular Ultrasound* **7**, 1-7 (2009).
21. Frenneaux, M.P. Assessing the Risk of Sudden Cardiac Death in a Patient with Hypertrophic Cardiomyopathy. *Heart* **90**, 570–575 (2004).
22. Roberts, R. & Sigwart, U. New concepts in hypertrophic cardiomyopathies, part I. *Circulation* **104**, 2113 - 2116 (2001).
23. Waldmuller, S., *et al.* Array-Based Resequencing Assay for Mutations Causing Hypertrophic Cardiomyopathy. *Clin Chem* **54**, 682-687 (2008).
24. Maron, B.J., Seidman, J.G. & Seidman, C.E. Proposal for contemporary screening strategies in families with hypertrophic cardiomyopathy. *J Am Coll Cardiol* **44**, 2125-2132 (2004).
25. Richard, P., *et al.* Hypertrophic cardiomyopathy: distribution of disease genes, spectrum of mutations, and implications for a molecular diagnosis strategy. *Circulation* **107**, 2227 - 2232 (2003).
26. Marian, A.J. Genetic determinants of cardiac hypertrophy. *Curr Opin Cardiol.* **23**, 199–205 (2008).
27. Alders, M., *et al.* The 2373insG mutation in the MYBPC3 gene is a founder mutation, which accounts for nearly one-fourth of the HCM cases in the Netherlands. *Eur Heart J* **24**, 1848-1853 (2003).
28. M. Chung, T.T., C. Semsarian Hypertrophic cardiomyopathy: from gene defect to clinical disease. *Cell Research* **13**, 9-20 (2003).
29. Mónica García-Castro, E.C., Julián R. Reguero, José R. Berrazueta, Victoria Álvarez, Belén Alonso, Rocío Sainz, María Martín, César Morís. Mutations in Sarcomeric Genes MYH7, MYBPC3, TNNT2, TNNI3, and TPM1 in Patients With Hypertrophic Cardiomyopathy. *Rev Esp Cardiol* **62**, 48-56 (2009).
30. Marian, A.J. Contemporary Treatment of Hypertrophic Cardiomyopathy. *Texas Heart Institute Journal* **36**(2009).
31. Blair, E., *et al.* Mutations of the Light Meromyosin Domain of the {beta}-Myosin Heavy Chain Rod in Hypertrophic Cardiomyopathy. *Circ Res* **90**, 263-269 (2002).
32. Ehlermann, P., *et al.* Adverse events in families with hypertrophic or dilated cardiomyopathy and mutations in the MYBPC3 gene. *BMC Medical Genetics* **9**, 95 (2008).
33. Daw, E.W., *et al.* Genome-wide mapping of modifier chromosomal loci for human hypertrophic cardiomyopathy. *Hum. Mol. Genet.* **16**, 2463-2471 (2007).

34. Nazha Hamdani, V.K., Sabine van Dijk, Daphne Merkus, Walter J. Paulus, Cris dos Remedios, Dirk J. Duncker, Ger J.M. Stienen, Jolanda van der Velden. Sarcomeric dysfunction in heart failure. *Cardiovascular Research* **77**, 649-658 (2008).
35. Steven B. Marston, C.S.R. Modulation of Thin Filament Activation by Breakdown or Isoform Switching of Thin Filament Proteins - Physiological and Pathological Implications. *circulation Research* **93**, 1170-1178 (2003).
36. Samuel Y. Boateng, P.H.G. Assembly and maintenance of the sarcomere night and day. *Cardiovascular Research* **77**, 667-675 (2008).
37. Morimoto, S. Sarcomeric proteins and inherited cardiomyopathies. *Cardiovascular Research* **77**, 659-666 (2008).
38. Keiko Yamauchi-Takahara, M.J.S., Jack Liew, Doug Ing, Choong-Chin Liew. Characterization of human cardiac myosin heavy chain genes. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **86**, 3504-3508 (1989).
39. Bernardo Nadal-Ginard, V.M. Molecular Basis of Cardiac Performance - Plasticity of the Myocardium Generated through Protein Isoform Switches. *J. Clin. Invest.* **84**, 1693-1700 (1989).
40. Tatiana Tsoutsman, L.L., Christopher Semsarian. Genes, calcium and modifying factors in hypertrophic cardiomyopathy. *Proceedings of the Australian Physiological Society* **36**, 63-70 (2005).
41. Coudrey, L. The Troponins. *Arch Intern Med* **158**, 1173-1180 (1998).
42. Yu, B., *et al.* Molecular pathology of familial hypertrophic cardiomyopathy caused by mutations in the cardiac myosin binding protein C gene. *J Med Genet* **35**, 205-210 (1998).
43. Armel, T.Z. & Leinwand, L.A. Mutations in the β -myosin rod cause myosin storage myopathy via multiple mechanisms. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **106**, 6291-6296 (2009).
44. L. Vikstrom, S.H.S., Regina L. Sohn, Michael Strauss, Allison Weiss, Robert E. Welikson, Leslie A. Leinwand. The Vertebrate Myosin Heavy Chain: Genetics and Assembly Properties. *Cell Structure and Function* **22**, 123-129 (1997).
45. Alpert, N.R., *et al.* Molecular and phenotypic effects of heterozygous, homozygous, and compound heterozygote myosin heavy-chain mutations. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* **288**, H1097-1102 (2005).
46. Gisèle Bonne, L.C., Pascale Richard, Bernard Hainque, Ketty Schwartz. Familial Hypertrophic Cardiomyopathy From Mutations to Functional Defects. *Circulation Research* **21**(1998).
47. Richard L. Moss, M.R., Daniel P. Fitzsimons. Myosin Crossbridge Activation of Cardiac Thin Filaments - Implications for Myocardial Function in Health and Disease. *circulation Research* **94**, 1290-1300 (2004).
48. R. Alcalai, C.S., CE Seidman Genetic basis of hypertrophic cardiomyopathy: from bench to the clinics. *J Cardiovasc Electrophysiol* **19**, 104-110 (2008).
49. Massimo Buvoli, M.H., Leslie A. Leinwand, Rob Knight. Bioinformatics Assessment of β -Myosin Mutations Reveals Myosin High Sensitivity to Mutations. *Trends Cardiovasc Med.* **18**, 141-149 (2008).
50. Klaassen, S., *et al.* Mutations in Sarcomere Protein Genes in Left Ventricular Noncompaction. *Circulation* **117**, 2893-2901 (2008).

51. Perrot, A., *et al.* Prevalence of cardiac beta-myosin heavy chain gene mutations in patients with hypertrophic cardiomyopathy. *J Mol Med* **83**, 468–477 (2005).
52. S L Van Driest, B.J.M., M J Ackerman. From malignant mutations to malignant domains: the continuing search for prognostic significance in the mutant genes causing hypertrophic cardiomyopathy. *Heart* **90**, 7–8 (2004).
53. Sara L. Van Driest, M.A.J., Steve R. Ommen, Melissa L. Will, Bernard J. Gersh, A. Jamil Tajik, Michael J. Ackerman. Comprehensive Analysis of the Beta-Myosin Heavy Chain Gene in 389 Unrelated Patients With Hypertrophic Cardiomyopathy. *Journal of the American College of Cardiology* **44**, 602–610 (2004).
54. Lotte Hougs, O.H., Henning Bundgaard, Lars Kober, Jens Vuust, Lars Allan Larsen, Michael Christiansen, Paal Skytt Andersen. One third of Danish hypertrophic cardiomyopathy patients have mutations in MYH7 rod region *European Journal of Human Genetics* **13**, 161-165 (2005).
55. Lamah Fananapazir, M.C.D., Francis Cyran, Gabriel Cohn, Neal D. Epstein. Missense mutations in the β -myosin heavy-chain gene cause central core disease in hypertrophic cardiomyopathy. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **90**, 3993-3997 (1993).
56. Pascale R, V.E., Charron P, Isnard R. . The Genetic Bases of Cardiomyopathies. *J Am Coll Cardiol.* **48**, 79–89 (2006).
57. Marcus C. Schaub, M.A.H., Richard A. Zuellig, Ingo Morano. Modulation of contractility in human cardiac hypertrophy by myosin essential light chain isoforms. *Cardiovascular Research* **37**, 381–404 (1998).
58. Van Driest, S., *et al.* Myosin binding protein C mutations and compound heterozygosity in hypertrophic cardiomyopathy. *J Am Coll Cardiol* **44**, 1903 - 1910 (2004).
59. Dhandapany, P.S., *et al.* A common MYBPC3 (cardiac myosin binding protein C) variant associated with cardiomyopathies in South Asia. *Nat Genet* **41**, 187-191 (2009).
60. Tomasz Rudziński, K.S., Jarosław Drożdż, Maria Krzemińska-Pakuła. Selected mutations in the myosin binding protein C gene in the Polish population of patients with hypertrophic cardiomyopathy. *Kardiologia Polska* **66**, 821-825 (2008).
61. Cecily E Oakley, B.D.H., Paul MG Curmi, Louise J Brown. Myosin binding protein C: Structural abnormalities in familial hypertrophic cardiomyopathy. *Cell research* **14**, 95-110 (2004).
62. Emily Flashman, C.R., Johanna Moolman-Smook, Hugh Watkins. Cardiac Myosin Binding Protein C - Its Role in Physiology and Disease. *Circulation Research* **94**, 1279-1289 (2004).
63. Winegrad, S. Cardiac Myosin Binding Protein C. *circulation Research* **84**, 1117-1126 (1999).
64. Winegrad, S. Myosin Binding Protein C, a Potential Regulator of Cardiac Contractility. *circulation Research* **86**, 6-7 (2000).
65. Erdmann, J., *et al.* Spectrum of clinical phenotypes and gene variants in cardiac myosin-binding protein C mutation carriers with hypertrophic cardiomyopathy. *J Am Coll Cardiol* **38**, 322 - 330 (2001).
66. Frank-Hansen, R., *et al.* Micro-exons of the cardiac myosin binding protein C gene: flanking introns contain a disproportionately large number of hypertrophic cardiomyopathy mutations. *Eur J Hum Genet* **16**, 1062-1069 (2008).
67. Meurs, K.M., *et al.* A cardiac myosin binding protein C mutation in the Maine Coon cat with familial hypertrophic cardiomyopathy. *Hum. Mol. Genet.* **14**, 3587-3593 (2005).

68. Richard, P., *et al.* Double heterozygosity for mutations in the beta -myosin heavy chain and in the cardiac myosin binding protein C genes in a family with hypertrophic cardiomyopathy. *J Med Genet* **36**, 542-545 (1999).
69. Vang, S., *et al.* Actin mutations in hypertrophic and dilated cardiomyopathy cause inefficient protein folding and perturbed filament formation. *FEBS Journal* **272**, 2037-2049 (2005).
70. Monserrat, L., *et al.* Mutation in the alpha-cardiac actin gene associated with apical hypertrophic cardiomyopathy, left ventricular non-compaction, and septal defects. *Eur Heart J* **28**, 1953-1961 (2007).
71. Singer, J.M. & Shaw, J.M. Mdm20 protein functions with Nat3 protein to acetylate Tpm1 protein and regulate tropomyosin-actin interactions in budding yeast. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **100**, 7644-7649 (2003).
72. Jagatheesan, G., *et al.* Rescue of tropomyosin-induced familial hypertrophic cardiomyopathy mice by transgenesis. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* **293**, H949-958 (2007).
73. Takeharu Hayashi, T.A., Manatsu Itoh-Satoh, Kazuo Ueda, Shigeru Hohda, Natsuko Inagaki, Megumi Takahashi, Hisae Hori, Michio Yasunami, Hirofumi Nishi, Yoshinori Koga, Hiroshi Nakamura, Masunori Matsuzaki, Bo Yoon Choi, Sung Won Bae, Cheol Woon You, Kyung Hoon Han, Jeong Euy Park, Ralph Knöll, Masahiko Hoshijima, Kenneth R. Chien, Akinori Kimura. Tcap Gene Mutations in Hypertrophic Cardiomyopathy and Dilated Cardiomyopathy. *Journal of the American College of Cardiology* **44**, 2192-2201 (2004).
74. M. Adamcová, V.P. Isoforms of Troponin in Normal and Diseased Myocardium. *Physiol. Res* **48**, 235-247 (1999).
75. Andrew P. Landstrom, M.S.P., Jose R. Pinto,*, Michelle L. Marquardt, J. Martijn Bos, David J. Tester, Steve R. Ommen, James D. Potter, Michael J. Ackerman. Molecular and Functional Characterization of Novel Hypertrophic Cardiomyopathy Susceptibility Mutations in TNNC1- Encoded Troponin C. *J Mol Cell Cardiol.* **45**, 281-288 (2008).
76. Todd E. Gillis, C.R.M., Glen F. Tibbits. Functional and evolutionary relationships of troponin C. *physiological Genomics* **32**, 16-27 (2007).
77. Elliott, K., Watkins, H. & Redwood, C.S. Altered Regulatory Properties of Human Cardiac Troponin I Mutants That Cause Hypertrophic Cardiomyopathy. *Journal of Biological Chemistry* **275**, 22069-22074 (2000).
78. Mogensen, J., *et al.* Idiopathic restrictive cardiomyopathy is part of the clinical expression of cardiac troponin I mutations. *The Journal of Clinical Investigation* **111**, 209-216 (2003).
79. Bos JM, P.R., Ny M, Tester DJ, Xu X, Vatta M, Towbin JA, Gersh BJ, Ommen SR, Ackerman MJ. Genotype-phenotype relationships involving hypertrophic cardiomyopathy-associated mutations in titin, muscle LIM protein, and telethonin. *Molecular Genetics and Metabolism* **88**, 78-85 (2006).
80. Osio, A., *et al.* Myozenin 2 Is a Novel Gene for Human Hypertrophic Cardiomyopathy. *Circ Res* **100**, 766-768 (2007).
81. P. Sorajja, P.M.E., W. J. McKenna. The molecular genetics of hypertrophic cardiomyopathy: prognostic implications *Europace* **2**, 4-14 (2000).

82. Perkins, M.J., *et al.* Gene-specific modifying effects of pro-LVH polymorphisms involving the renin-angiotensin-aldosterone system among 389 unrelated patients with hypertrophic cardiomyopathy. *Eur Heart J* **26**, 2457-2462 (2005).
83. Navarro-López, F. Hypertrophic Cardiomyopathy: Never-Ending Complexity. *Rev Esp Cardiol* **59**, 994-996 (2006).
84. A Woo, H.R., J C Liew, M-S Zhao, C-C Liew, T G Parker, M Zeller, E D Wigle, M J Sole. Mutations of the b myosin heavy chain gene in hypertrophic cardiomyopathy: critical functional sites determine prognosis. *Heart* **89**, 1179–1185 (2003).
85. Shuxia Wang, Y.Z., Chunyan Fu, Xiqi Xu, Jizheng Wang, Lei Song, Hu Wang, Jingzhou Chen, Jianwei Wang, Tujun Huan, Rutai Hui. Worse Prognosis with Gene Mutations of Beta-myosin Heavy Chain than Myosin-Binding Protein C in Chinese Patients with Hypertrophic Cardiomyopathy *Clin. Cardiol* **31**, 114–118 (2008).
86. Forissier, J.-F., *et al.* First description of germline mosaicism in familial hypertrophic cardiomyopathy. *J Med Genet* **37**, 132-134 (2000).
87. Havndrup, O., *et al.* Outcome of clinical versus genetic family screening in hypertrophic cardiomyopathy with focus on cardiac {beta}-myosin gene mutations. *Cardiovasc Res* **57**, 347-357 (2003).
88. Van Driest, S.L., *et al.* Prevalence and Severity of "Benign" Mutations in the {beta}-Myosin Heavy Chain, Cardiac Troponin T, and {alpha}-Tropomyosin Genes in Hypertrophic Cardiomyopathy. *Circulation* **106**, 3085-3090 (2002).
89. Tae-Hong Hwang, W.-H.L., Akinori Kimura, Manatsu Satoh, Takeyuki Nakamura, Myung-Kon Kim, Suk-Ku Choi, Jeong-Euy Park. Early Expression of a Malignant Phenotype of Familial Hypertrophic Cardiomyopathy Associated With a Gly716Arg Myosin Heavy Chain Mutation in a Korean Family *The American Journal of Cardiology* **82**(1998).
90. Waldemar Bobkowski, M.S., Anna Turska-Kmieć, Agnieszka Nowak, Józef Jagielski, Marzena Gonerska, Arleta Lebioda, Aldona Siwińska. Mutation of the MYH7 gene in a child with hypertrophic cardiomyopathy and Wolff-Parkinson-White syndrome. *J Appl Genet* **42**, 185-188 (2007).
91. Charron, P., *et al.* Clinical features and prognostic implications of familial hypertrophic cardiomyopathy related to the cardiac myosin-binding protein C gene. *Circulation* **97**, 2230 - 2236 (1998).
92. Miriam Revera, L.V.D.M., Marshall Heradien, Althea Goosen, Valerie A Corfield, Paul A Brink, Johanna C Moolman-Smook. Long-term follow-up of R403W (MYH7) and R92W (TNNT2) HCM families: mutations determine left ventricular dimensions but not wall thickness during disease progression. *Cardiovascular Journal of Africa* **18**, 146–153 (2007).
93. Mónica García-Castro, J.R.R., Alberto Batalla, Felicitas Catalán, Juan Mayordomo, Eliecer Coto. Direct Detection of Malignant Mutations in Patients With Hypertrophic Cardiomyopath. *Rev Esp Cardiol* **56**, 1022-1025 (2003).
94. Michael Arad, M.P.-L., Lorenzo Monserrat, Barry J. Maron, Mark Sherrid, Carolyn Y. Ho, Scott Barr, Ahmad Karim, Timothy M. Olson, Mitsuhiko Kamisago, J.G. Seidman, Christine E. Seidman. Gene Mutations in Apical Hypertrophic Cardiomyopathy. *Circulation* **112**, 2805-2811 (2005).
95. Spirito, P., *et al.* Magnitude of left ventricular hypertrophy and risk of sudden death in hypertrophic cardiomyopathy. *N Engl J Med* **342**, 1778 - 1785 (2000).

96. Barry J. Maron, I.O., Martin S. Maron. The dilemma of left ventricular outflow tract obstruction and sudden death in hypertrophic cardiomyopathy: do patients with gradients really deserve prophylactic defibrillators? *European Heart Journal* **27**, 1895–1897 (2006).
97. Maron, B. Hypertrophic cardiomyopathy: a systematic review. *JAMA* **287**, 1308-1320 (2002).
98. Hansen, M.W. & Merchant, N. MRI of Hypertrophic Cardiomyopathy: Part 2, Differential Diagnosis, Risk Stratification, and Posttreatment MRI Appearances. *AJR* **189**, 1344–1352 (2007).
99. Maron BJ, S.J., Poliac LC, Mathenge R, Roberts WC, Mueller FO. Sudden death in young competitive athletes. Clinical, demographic, and pathological profiles. *JAMA* **276**, 199–204 (1996).
100. Koester, M.C. A Review of Sudden Cardiac Death in Young Athletes and Strategies for Preparticipation Cardiovascular Screening. *Journal of Athletic Training* **36**, 197-204 (2001).
101. Nicole M. Panhuyzen-Goedkoop, F.W.A.V. Sudden cardiac death due to hypertrophic cardiomyopathy can be reduced by pre-participation cardiovascular screening in young athletes. *European Heart Journal* **27**, 2152-2153 (2006).
102. Maron, B., *et al.* American College of Cardiology/European Society of Cardiology Clinical Expert Consensus Document on Hypertrophic Cardiomyopathy. A report of the American College of Cardiology Foundation Task Force on Clinical Expert Consensus Documents and the European Society of Cardiology Committee for Practice Guidelines. *Eur Heart J* **24**, 1965 - 1991 (2003).
103. Gaetano Thiene, D.C., Cristina Basso. Sport and sudden cardiac death. *Kardiovaskuläre Medizin* **12**, 179–185 (2009).
104. Perry M. Elliott, J.R.G., Maria T. Tomé, Jaymin Shah, Deirdre Ward, Rajesh Thaman, Jens Mogensen, William J. McKenna. Left ventricular outflow tract obstruction and sudden death risk in patients with hypertrophic cardiomyopathy. *European Heart Journal* **27**, 1933–1941 (2006).
105. Martina Montagnana, G.L., Massimo Franchini, Giuseppe Banfi, Gian Cesare Guidi. Sudden Cardiac Death in Young Athletes. *Internal Medicine* **47**, 1373-1378 (2008).
106. Michael Arad, J.G.S., Christine E. Seidman. Phenotypic diversity in hypertrophic cardiomyopathy. *Human Molecular Genetics* **11**, 2499–2506 (2002).
107. Carolyn Y. Ho, H.M.L., Roman DeSanctis, Carol F. Farver, J.G. Seidman, Christine E. Seidman. Homozygous Mutation in Cardiac Troponin T - Implications for Hypertrophic Cardiomyopathy. *Circulation* **102**, 1950-1955 (2000).
108. Michael J. Ackerman, S.L.V., Seve R. Ommen, Melissa L. Will, Rick A. Nishimura, A. Jamil Tajik, Bernard J. Gersh. Prevalence and Age-Dependence of Malignant Mutations in the Beta-Myosin Heavy Chain and Troponin T Genes in Hypertrophic Cardiomyopathy. *Journal of the American College of Cardiology* **39**, 2042– 2048 (2002).
109. Pascale Richard, P.C., Lucie Carrier, Céline Ledeuil; Theary Cheav; Claire Pichereau; Abdelaziz Benaiche, Richard Isnard, Olivier Dubourg, Marc Burban, Jean-Pierre Gueffet, Alain Millaire, Michel Desnos, Ketty Schwartz, Bernard Hainque, Michel Komajda. Hypertrophic Cardiomyopathy - Distribution of Disease Genes, Spectrum of Mutations, and Implications for a Molecular Diagnosis Strategy. *Circulation* **107**, 2227-2232 (2003).

110. Siv Fokstuen, R.L., Analia Munoz, Corinne Gehrig, René Lerch, Andreas Perrot, Karl Josef Osterziel, Christian Geier, Maurice Beghetti, François Mach, Juan Sztajzel, Ulrich Sigwart, Stylianos E. Antonarakis, Jean-Louis Blouin. A DNA Resequencing Array for Pathogenic Mutation Detection in Hypertrophic Cardiomyopathy. *Human Mutation* **29**, 879–885 (2008).
111. McKenna, W. & Behr, E. Hypertrophic cardiomyopathy: management, risk stratification, and prevention of sudden death. *Heart* **87**, 169 - 176 (2002).
112. ED., W. Cardiomyopathy: the diagnosis of hypertrophic cardiomyopathy. *Heart online* **86**, 709-714 (2001).
113. Williams RG, C.A. Identifying athletes at risk for sudden death. *J Am Coll Cardiol* **42**, 1964-1966 (2003).
114. McKenna, W.J., Sharma, S. & Elliott, P.M. Management strategies in hypertrophic cardiomyopathy: influence of age and morphology. *Eur Heart J Suppl* **3**, L10-14 (2001).
115. Imke Christiaans, E.B., Gouke J Bonsel, Arthur AM Wilde, Irene M van Langen. Uptake of genetic counselling and predictive DNA testing in hypertrophic cardiomyopathy. *European Journal of Human Genetics* **16**, 1201–1207 (2008).
116. Joseph A Dearani, S.R.O., Bernard J Gersh, Hartzell V Schaff, Gordon K Danielson. Surgery Insight: septal myectomy for obstructive hypertrophic cardiomyopathy—the Mayo Clinic experience. *Nature Clinical Practice Cardiovascular Medicine* **4**(2007).
117. Giovanni La Canna, F.A., Elvia Capritti, Antonio Grimaldi, Antonio Colombo and Ottavio Alfieri. Alcohol septal ablation versus surgical myectomy: a patient with obstructive HCM. *Nature Clinical Practice Cardiovascular Medicine* **4**(2007).
118. Commission, I.M. Sudden Cardiovascular Death in Sport. Lausanne Recommendations. (2005).
119. Pelliccia A, P.M., Corrado D, Buccolier C, Quattrini FM, Pisicchio C, Spataro A, Biffi A, Granata M, Maron BJ. . Evidence for efficacy of the Italian national pre-participation screening programme for identification of hypertrophic cardiomyopathy in competitive athletes. *Eur Heart J*. **27**, 2196-2200 (2006).
120. Ji ZM, J.D., Biao S, Peng J, Di Y, Ji NZ. Cardiovascular pre-participation screening of young competitive athletes for prevention of sudden death in China. . *Journal of Science and Medicine in Sport*. **10**, 227-233 (2007).