Universidade do Estado do Rio de Janeiro

Centro Biomédico

Faculdade de Ciências Médicas

Ana Luiza Ferreira Sales

Influência da espironolactona na redução da fibrose miocárdica em portadores de Cardiomiopatia Hipertrófica

Rio de Janeiro

2019

Ana Luiza Ferreira Sales

Influência da espironolactona na redução da fibrose miocárdica em portadores de Cardiomiopatia Hipertrófica

Tese apresentada ao programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas, como requisito parcial para obtenção do título de Doutor em Ciências Médicas pela Universidade do Estado do Rio de Janeiro.

Orientador: Prof. Dr. Ricardo Mourilhe Rocha

Coorientadora: Profa. Dra. Dayse Aparecida da Silva

Rio de Janeiro

2019

CATALOGAÇÃO NA FONTE
UERJ/REDE SIRIUS/BIBLIOTECA CB-A

S163 Sales, Ana Luiza Ferreira.

Influência da espironolactona na redução da fibrose miocárdica em portadores de Cardiomiopatia Hipertrófica / Ana Luiza Ferreira Sales. - 2019.
104 f.

Orientador: Prof. Dr. Ricardo Mourilhe Rocha
Coorientadora: Profa. Dra. Dayse Aparecida da Silva

Tese (Doutorado) – Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Faculdade de Ciências Médicas. Pós-Graduação em Ciências Médicas.

1. Miocárdio - Doenças – Teses. 2. Fibrose – Teses 3. Espironolactona. 4. Cardiomiopatia hipertrófica. 5. Imagem por ressonância magnética. I. Rocha, Ricardo Mourilhe. II. Silva, Dayse Aparecida da. II. Universidade do Estado do Rio de Janeiro. Faculdade de Ciências Médicas. III. Título.

CDU 616.127

Bibliotecária: Thais Ferreira Vieira - CRB/7 5302

Autorizo, apenas para fins acadêmicos e científicos, a reprodução total ou parcial desta tese, desde que citada a fonte.

_____ _____

Assinatura Data

Ana Luiza Ferreira Sales

Influência da espironolactona na redução da fibrose miocárdica em portadores de Cardiomiopatia Hipertrófica

Tese apresentada ao programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas, como requisito parcial para obtenção do título de Doutor em Ciências Médicas pela Universidade do Estado do Rio de Janeiro.

Aprovada em 18 de junho de 2019.

Coorientadora: Profa. Dra. Dayse Aparecida da Silva
Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes – UERJ

Banca Examinadora:

_____
Prof. Dr. Ricardo Mourilhe Rocha (Orientador)
Faculdade de Ciências Médicas – UERJ

_____
Profª. Dra. Andrea Araújo Brandão
Faculdade de Ciências Médicas - UERJ

_____
Prof. Dr. Alfredo de Souza Bomfim
Faculdade de Ciências Médicas - UERJ

_____
Prof. Dr. Marcelo Iório Garcia
Universidade Federal do Rio de Janeiro

_____
Prof. Dr. Wolney de Andrade Martins
Universidade Federal Fluminense

Rio de Janeiro
2019

DEDICATÓRIA

Aos meus pais José e Maria das Graças, meus exemplos, meus grandes incentivadores: Que sejam sempre motivo de inspiração e orgulho.

Ao meu marido Breno, pela paciência e parceria: Que seja sempre meu porto seguro.

Ao meu filho Bernardo, por me “energizar com beijinhos”, por trazer leveza e fazer minha vida muito melhor: Que você entenda e valorize cada segundo da minha ausência.

AGRADECIMENTOS

Agradeço aos pacientes, motivo e inspiração para esse projeto. Pela disponibilidade. Por me deixarem fazer parte de suas vidas tão intimamente. Por serem fiéis e parceiros. Por acreditarem e por torcerem pelo sucesso da pesquisa. Essa tese é fruto do NOSSO trabalho.

Agradeço MUITO ao meu orientador Dr. Ricardo Mourilhe-Rocha, pelos ensinamentos, pela dedicação, precisão em estar presente sempre que necessário e pela tranquilidade que me guiou durante essa longa jornada. Sem dúvida o melhor que poderia ter.

A minha coorientadora Profa. Dra. Dayse Aparecida da Silva por toda ajuda e cuidado.

A minha fiel amiga Alyne Freitas Pereira Gondar, por dividir comigo esse projeto sempre pronta a ajudar.

A Jessica Damacena Galvão minha querida "acadêmica", hoje médica. Fundamental em todos os momentos, em especial naqueles em que as soluções pareciam faltar.

A Dra. Thereza Gil pela colaboração ao realizar e compartilhar todos os ecocardiogramas do estudo.

A Profa. Dra. Marcia Bueno Castier por acreditar neste projeto e por incentivar, sempre.

Ao Dr. Clério Francisco de Azevedo Filho, Dr. Marcelo Souza Hadlich, Dr. Amarino Carvalho de Oliveira Junior e Dr. Júlio Andrade pela dedicação e paciência. Por colaborarem com a realização e avaliação das ressonâncias magnéticas nas diferentes fases do estudo.

Aos queridos Felipe Albuquerque e Marcelo Bittencourt por toda colaboração e suporte.

Aos residentes do serviço de cardiologia do Hospital Universitário Pedro Ernesto que nos últimos quatro anos ativamente fizeram parte do projeto. Foram imprescindíveis!

Aos meus colegas e amigos de trabalho Lisimeire Cavalcante, Flavio Eduardo Nacul, Fernando Rodriguez, Paolla Martins e Jacqueline Sampaio Miranda pelo apoio e incentivo.

Ao muito querido "trio" Dra. Luciana Ferreira Lobbe, Andreia Alfradique e Sergio Mauricio da Silva - Meus amigos vocês foram fundamentais!

As inspiradoras amigas Ana Paula Oliveira, Ligia Neres Mattos, Tereza Felippe e Tamires Penna, pela fidelidade, pela ajuda incondicional, sempre.

Aos meus queridos tutores, meus exemplos Dr. Alexandre Siciliano, Dr. Sergio Salles e Dr. Marcelo Garcia: OBRIGADA.

A minha inquestionavelmente maravilhosa família, sempre unida, minha base sólida. Por viver comigo cada novo projeto, por nunca me deixar desistir.

RESUMO

SALES, Ana Luiza Ferreira. *Influência da espironolactona na redução da fibrose miocárdica em portadores de Cardiomiopatia Hipertrófica*. 2019. 104 f. Tese (Doutorado em Ciências Médicas) – Faculdade de Ciências Médicas. Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2019.

Cardiomiopatia hipertrófica (CMH) é a doença genética cardíaca mais comum. CMH tem como características fisiopatológicas a presença de diferentes graus de hipertrofia miocárdica, fibrose e deformação dos cardiomiócitos. A fibrose miocárdica vem sendo associada a um pior prognóstico nesta doença. No entanto, os gatilhos para a transformação do miocárdio em tecido fibrótico não foram elucidados. A ressonância magnética (RM) pode identificar áreas de fibrose miocárdica com grande definição espacial. Alguns micro RNA (miRNA) foram relacionados a fibrose miocárdica, mas seu papel na CMH ainda não foi estabelecido. Os inibidores da aldosterona parecem bloquear os sinalizadores para promoção de fibrose miocárdica. Avaliar se a utilização de antagonista de aldosterona (espironolactona) pode reduzir o percentual de miocárdio substituído por fibrose na RM portadores de CMH. Descrever as características clínicas e genéticas da população estudada. Avaliar a influência da espironolactona na evolução da função sistólica. Analisar as mutações patogênicas encontradas, assim como o polimorfismo da *Aldosterona sintase* e sua influência no prognóstico, em especial quanto a evolução do percentual de fibrose miocárdica a RM e da função sistólica de ventrículo esquerdo. Por fim, descrever as variações dos miRNA 21 e 29a nesta patologia, correlacionar sua variação com o prognóstico e como forma de avaliação da resposta terapêutica a espironolactona. Estudo realizado em um único centro, prospectivo, randomizado, duplo cego, com placebo. Excluídos pacientes com contraindicações ao uso da espironolactona ou que já vinham em uso desta droga e também aqueles com contra-indicação a realização de RM. O Seguimento mínimo foi de 21 meses. Nos primeiros três meses foram realizados ecocardiograma transtorácico, RM e eletrocardiograma. Além disso, colhidas amostras de sangue para análise bioquímica e estudo genético. Ao final dos 18 meses os pacientes repetiram a RM e os miRNA. Foram incluídos 53 pacientes entre setembro de 2014 e abril de 2016. Durante 18 meses fizeram uso de espironolactona (N=27) ou placebo (N=26). Média de idade 48 anos, 49% homens. Houve um óbito durante o período de seguimento. A droga foi suspensa em dois casos. Em 43% dos pacientes foi identificada a mutação patogênica. MYH7 foi a principal proteína sarcomérica mutada. A identificação das mutações não se correlacionou com pior prognóstico. Se comparada a evolução dos grupos "espironolactona" e "placebo", em ambos os grupos houve melhora sintomática e há melhora no percentual de fibrose naqueles que fizeram uso da droga. No entanto, não houve diferença estatística significativa para a variação de fibrose pela RM (p=0,371), disfunção sistólica (p=0,5) assim como nas variações de miRNA 21 (p=0,5) e 29a (p=0,08). A elevação de miRNA 21 associa–se a presença de fibrose grave (p=0,043). O polimorfismo da *Aldosterona sintase* mais comum foi T/C. O alelo C foi mais frequente dentre os portadores de disfunção sistólica ou fibrose grave, mas não houve relação entre polimorfismo e fibrose miocárdica (p=0,29) ou disfunção sistólica (p=0,62). A espironolactona não mostrou benefícios na evolução da função sistólica nem no percentual de substituição de miocárdio por fibrose à RM. MYH7 foi a principal proteína sarcomérica mutada. A identificação das mutações patogênicas e o polimorfismo da *Aldosterona sintase* não influenciaram o prognóstico. Os miRNA 21 sinalizam a presença de fibrose miocárdica grave. MiRNA 21 e 29a não devem ser usados como forma de monitorar a terapia com espironolactona na CMH.

Palavras-chave: Cardiomiopatia hipertrófica, fibrose, ressonância magnética e micro RNA

ABSTRACT

SALES, Ana Luiza Ferreira. *Influence of spironolactone on the reduction of myocardial fibrosis in patients with hypertrophic cardiomyopathy.* 2019. 104 f. Tese (Doutorado em Ciências Médicas) – Faculdade de Ciências Médicas. Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro,2019.

Hypertrophic cardiomyopathy (HCM) is the most common genetic disease in the heart. The pathophysiological features are the presence of different degrees of myocardial hypertrophy, fibrosis and cardiomyocyte deformation. Myocardial fibrosis is associated with a worse prognosis in this disease.The trigger for fibrosis has not been elucidated. Magnetic resonance imaging (MRI) can identify areas of myocardial fibrosis with high definition. Some micro RNA (miRNA) are related to myocardial fibrosis, but its role in HCM has not been established. Aldosterone inhibitors seem to block the signals that promote myocardial fibrosis. To assess whether the use of aldosterone antagonist (Spironolactone) may decrease the areas of myocardial fibrosis in MRI in patients with HCM. To describe clinical and genetic characteristics. To evaluate the influence of spironolactone on systolic function. To analyze the pathogenic mutations found, as well as the polymorphism of *Aldosterone synthase* and its influence on the prognosis, especially regarding the evolution of the percentage of myocardial fibrosis and left ventricular systolic function. Finally, to describe the variations of the miRNA 21 and 29a, to correlate its variation with the prognosis and as a form of evaluation of the therapeutic response to Spironolactone**.** A single-center, prospective, randomized, double-blind, placebo-controlled study. Excluded were patients with contraindications to the use of spironolactone, who were already using this drug and those with contraindication to MRI. The minimum follow-up was 21 months. In the first three months, transthoracic echocardiography, MRI and electrocardiogram were performed. In addition, blood samples were taken for biochemical analysis and genetic study. At the end of 18 months, the patients repeated MR and miRNA. 53 patients were included between september 2014 and april 2016. During 18 months, patients were given Spironolactone (N = 27) or placebo (N = 26). The mean age was 48 years, 49% were men. There was a death during the follow-up period and the drug was suspended in two cases. In 43% of the patients, it was possible to describe the pathogenic mutation. MYH7 was the major mutated sarcomeric protein. The identification of the mutations did not correlate with a worse prognosis. Comparing the evolution of groups, there was a symptomatic improvement in both groups as in the percentage of fibrosis in those who used Spironolactone. However, there was no statistically significant difference for fibrosis variation (p = 0,371), systolic dysfunction (p = zero, 5) as well as in miRNA 21 (p = 0, 5) and 29a (p = 0, 08). Elevation of miRNA 21 was associated with the presence of severe fibrosis (p = 0,043). The most common *Aldosterone synthase´*s polymorphism was T/C. The C allele was more frequent among patients with systolic dysfunction or severe fibrosis, but there was no relation between polymorphism and myocardial fibrosis (p = 0, 29) or systolic dysfunction (p = 0, 62). Spironolactone showed no benefit in the systolic function or in the percentage of myocardial replacement due to fibrosis. The identification of pathogenic mutations had no prognostic impact. *Aldosterone synthase´*s polymorphism did not have its prognostic role established in this disease. MiRNA 21 signals the presence of severe myocardial fibrosis. MiRNA 21 and 29a should not be used as a means of monitoring spironolactone therapy.

Keywords: Hypertrophic cardiomyopathy, fibrosis, magnetic resonance imaging and micro RNA

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Fluxograma seguimento.....35
Quadro 1 - Classificação da doença cardíaca pela *New York Heart Association* (NYHA).....37
Figura 2 - Fluxograma de inclusão e seguimento.....47
Figura 3 - Avaliação percentual da evolução dos sintomas pela classe funcional da NYHA.....48
Figura 4 - Prescrição de medicamentos ao longo do seguimento.....48
Figura 5 - Distribuição fenotípica entre os grupos espironolactona placebo 50
Figura 6 - Percentual de pacientes com gradiente obstrutivo de TSVE.....50
Figura 7 - Avaliação da fibrose miocárdica pela RM entre os grupos ao longo do seguimento..51
Quadro 2 - Mutações patogênicas pesquisadas e número de pacientes em que foram encontradas.....53
Figura 8 - Avaliação quanto ao percentual de múltiplas mutações por pacientes.....54
Figura 9 - Variação nos níveis de miRNA 21 ao longo do seguimento.....60
Figura 10 - Variação dos níveis de miRNA29 ao longo do seguimento.....61
Figura 11 - Correlação entre a variação do miRNA21 ao longo do seguimento e a presença de fibrose grave à RM de inclusão(T0) 62

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Principais mutações das proteínas sarcoméricas relacionadas a CMH.....25
Tabela 2 - Características clínicas da população.....46
Tabela 3 - Influência do controle da FC na melhora dos sintomas ao longo do seguimento.....49
Tabela 4 - Avaliação da fibrose miocárdica pela RM entre os grupos ao longo do seguimento..51
Tabela 5 - Relação entre o percentual de fibrose miocárdica e disfunção sistólica pela RM.....52
Tabela 6 - Avaliação da influência de múltiplas mutações patogênicas identificadas e prognóstico.....55
Tabela 7 - Descrição do número de mutações patogênicas encontradas dentre os pacientes portadores de disfunção sistólica ou fibrose grave a RM.....55
Tabela 8 - Mutações pesquisadas e número de pacientes em que foram encontradas.....56
Tabela 9 - Distribuição dos subtipos no polimorfismo da *Aldosterona sintase* entre os grupos espironolactona e placebo.....57
Tabela 10 - Associação entre os polimorfismos da Aldosterona sintase e disfunção sistólica (RM inclusão) 57
Tabela 11 - Associação entre os polimorfismos da Aldosterona sintase e disfunção diastólica(Ecocardiograma).....57
Tabela 12 - Grupo espironolactona: Associação entre o polimorfismo da Aldosterona sintase e Função diastólica (ao ecocardiograma), função sistólica e fibrose miocárdica (RM de inclusão- T0 e final- T21) 58
Tabela 13 - Grupo Placebo: Associação entre o polimorfismo da Aldosterona sintase e Função diastólica (Ecocardiograma), função sistólica e fibrose miocárdica (RM de inclusão- T0 e final- T21) 59
Tabela 14 - Variação dos níveis de miRNA 21 entre os grupos espironolactona e placebo ao longo do tempo.....59
Tabela 15 - Variação dos níveis de miRNA 29 entre os grupos espironolactona e placebo ao longo do tempo.....60
Tabela 16 - Correlação dos níveis de miRNA 21 ao longo do seguimento e evolução da fibrose miocárdica pela RM.....61
Tabela 17 - Correlação dos níveis de miRNA 29 ao longo do seguimento e evolução da fibrose miocárdica pela RM.....62

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AAS	Ácido Acetil Salicilico
APAC	Autorização para procedimento de alto custo
ASE	American Society of Echocardiography
AT I	Angiotensina I
AT II	Angiotensina II
BRA	Bloqueadores dos receptores de Angiotensina
CDI	Cardiodesfibrilador implantável
CF	Classe funcional
Clínica IC HUPE	Clínica de insuficiência cardíaca Hospital Universitário Pedro Ernesto
CMH	Cardiomiopatia Hipertrófica
CYP11B2 ou PGA	Polimorfismo genético da *Aldosterona sintase*
DAC	Doença arterial coronariana
DLP	Dislipidemia
DM	Diabetes *mielitus*
DNA	Ácido desoxirribonucleico
DNAc	Ácido desoxirribonucleico complementar
ECG	Eletrocardiograma
ECO	Ecocardiograma
FC	Frequência cardíaca
HAS	Hipertensão arterial sistêmica
HUCFF	Hospital Universitário Clementino Fraga Filho
HUPE	Hospital Universitário Pedro Ernesto
IC	Insuficiência cardíaca
IECA	Inibidor da enzima de conversão da angiotensina
IMC	Índice de massa corporal
INC	Instituto Nacional de Cardiologia
IM	Insuficiência Mitral
miRNA	micro–RNA
MPD	Marca–passo definitivo
MYBPC	Gene da proteína C ligante
MYH6	Gene da cadeia alfa pesada da miosina

MYH7	Gene da cadeia beta pesada da miosina
MS	Morte súbita
NYHA	New York Heart Association
PAD	Pressão arterial diastólica
PAS	Pressão arterial sistólica
PCR	Reação em cadeia de polimerase
RM	Ressonância magnética
RNA	Ácido ribonucleico
RNAm	Ácido ribonucleico mensageiro
SAM	Movimento sistólico anterior da valva mitral
SUS	Sistema único de saúde
SRAA	Sistema renina-angiotensina-aldosterona
TCAP	Teletonina
TCLE	Termo de consentimento livre e esclarecido
TLH	Tampão de lise de hemácias
TSVE	Trato de saída de ventrículo esquerdo
TTN	Titina
T0	Tempo zero: Inclusão dos pacientes
T3 a T18	Tempo três a Tempo dezoito – meses de seguimento(trimestral)
T21	Tempo vinte e um: encerramento do seguimento
UERJ	Universidade do Estado do Rio de Janeiro
UFF	Universidade Federal Fluminense
UFRJ	Universidade Federal do Rio de Janeiro
VCL	Vinculina
VE	Ventrículo esquerdo
VUS	Variante de patogenicidade não definida

LISTA DE SÍMBOLOS

%	Percentagem
bpm	Batimentos por minuto
cm	Centímetros
ºC	Graus Celsius
Kg	Quilograma
Kg/m2	Quilograma por metro quadrado
m^2	Metro quadrado
mm	Milímetro
mmHg	Milímetro de mercúrio
mg/dl	Miligrama/ decilitro
ml	Mililitro
ml/Kg/min	Mililitro/ quilograma/ minuto
®	Marca registrada
≥	Maior ou igual
≤	Menor ou igual

SUMÁRIO

	INTRODUÇÃO	15
1	**REVISÃO DA LITERATURA**	18
1.1	**Cardiomiopatia Hipertrofica**	18
1.1.1	Definição	18
1.1.2	Epidemiologia	18
1.1.3	Etiologia	19
1.1.4	Prognóstico	19
1.1.5	Diagnóstico	20
1.1.6	Tratamento	21
1.2	**Genética na CMH**	23
1.3	**MicroRNA e CMH**	25
1.4	**Polimorfismo da *Aldosterona sintase* e CMH**	26
1.5	**Fibrose e CMH**	27
2	**OBJETIVOS**	29
2.1	**Objetivo primário**	29
2.2	**Objetivos secundários**	29
3	**MÉTODOS**	30
3.1	**População estudada**	30
3.2	**Critérios de inclusão**	31
3.3	**Critérios de exclusão**	31
3.4	**Medicamentos do estudo**	32
3.5	**Seguimento**	32
3.6	**Variáveis avaliadas**	35
3.6.1	Variáveis clínicas	36
3.6.2	Variáveis eletrocardiográficas	38
3.6.3	Variáveis laboratoriais	38
3.6.4	Variáveis ecocardiográficas	39
3.6.5	Variáveis referentes a ressonância magnética	40
3.7	**Metodologia para análise genética**	41
3.7.1	Análises das mutações genéticas	41
3.7.2	Análise do polimorfismo da *Aldosterona sintase*	42

3.7.3 Análise dos miRNA.....43
4 **FINANCIAMENTO .**.....44
5 **ANÁLISE ESTATÍSTICA** 45
6 **RESULTADOS** 46
6.1 **Características clinicas e hemodinâmicas da população estudada** 46
6.2 **Avaliação da fibrose miocárdica** 51
6.3 **Avaliação das mutações patogênicas** 52
6.4 **Análise do polimorfismo da *Aldosterona sintase*** 56
6.5 **Análise dos miRNA** 59
7 **DISCUSSÃO** 63
8 **LIMITAÇÕES** 69
CONCLUSÕES 70
REFERÊNCIAS 71
ANEXO A - Parecer Consubstanciado do Comitê de Ética e Pesquisa (CEP).....83
ANEXO B - Termo de consentimento Livre e Esclarecido (TCLE).....87
ANEXO C - Ficha de acompanhamento ambulatorial.....91
ANEXO D – Declaração de aceite para publicação do primeiro ártico científico.....104

INTRODUÇÃO

A cardiomiopatia hipertrófica (CMH) é a doença genética cardíaca mais comum. Cerca de 0,2% da população mundial é portadora desta doença e parece haver relação da prevalência por estratos de idade, sendo mais raro o diagnóstico em menores de 25 anos.[1,2,3,4,5]

Em 60% dos casos sua etiologia está relacionada a mutações autossômicas dominantes de proteínas sarcoméricas[1,6,7]. São descritas milhares de mutações em mais de 20 proteínas sarcoméricas ou ligadas ao sarcômero.[4,8,9,10]

Em alguns casos (cerca de 10%), a doença está relacionada a doenças neuromusculares, metabólicas, síndromes genéticas e alterações cromossomiais.[11] Além disso, pode ser simulada por outras doenças como a Amiloidose, por exemplo.[12]

A CMH tem como características fisiopatológicas a presença de diferentes graus de hipertrofia miocárdica simétrica ou assimétrica, fibrose e deformação dos cardiomiócitos.[4,13]

O diagnóstico da doença depende do aumento da espessura miocárdica, assim como alterações no aparato valvar mitral, fibrose miocárdica, disfunção na microcirculação coronariana e alterações eletrocardiográficas.[1]

O fenótipo é amplamente variável com importante, mínima ou nenhuma hipertrofia.[4,14]

Quanto aos sintomas, também há grande variabilidade descrita, desde pacientes assintomáticos até os muito limitados por sintomas de dispneia, angina e síncope.[15]

A CMH é ainda a principal causa de morte súbita (MS) em jovens com idade inferior a 35 anos.[4,16]

No entanto, a despeito dos conhecimentos genéticos quanto as principais mutações envolvidas, pouco se conhece sobre os eventos moleculares e sinalizadores responsáveis pelas mutações que promovem os diferentes fenótipos desta doença.[8,16]

O tratamento atual da CMH tem como focos a prevenção primária e secundária de morte súbita e o alívio dos sintomas obstrutivos por cirurgia (miectomia) ou procedimentos de intervenção em laboratório de hemodinâmica (alcoolização septal).[4,17,18]

Na ausência de estudos randomizados, o tratamento farmacológico vem sendo utilizado de maneira empírica na tentativa de melhorar a capacidade funcional, diminuir sintomas e evitar a progressão da doença[1].

Os pacientes sintomáticos que apresentam obstrução do trato de saída do ventrículo esquerdo (TSVE) são tratados de acordo com suas características clínicas e hemodinâmicas com drogas (controle estrito de frequência cardíaca), miectomia ou alcoolização septal. .[1,2]

Na ausência de obstrução do TSVE, o tratamento objetiva diminuir arritmias, pressões de enchimento do ventrículo esquerdo e angina.[1,2]

Atualmente, o tratamento medicamentoso proposto com betabloqueadores ou bloqueadores dos canais de cálcio não-dihidropiridinicos pode promover alívio sintomático, mas não trata especificamente a doença e nem altera a sua história natural.[4,19]

A fibrose miocárdica, um dos pilares fisiopatológicos dessa doença, vem sendo relacionada a um pior prognóstico. A fibrose está relacionada a apoptose dos miócitos com subsequente substituição por matriz extracelular. O que resulta em isquemia microvascular e hipertrofia. O gatilho para fibrose na CMH não foi elucidado. [4,20,21,22]

Embora de grande importância para esta doença a quantificação da fibrose miocárdica é de difícil estimativa. Ressonância magnética (RM) usando contraste com gadolíneo pode identificar áreas de fibrose miocárdica (realce tardio) com grande definição espacial. Alguns estudos sugerem forte correlação entre o realce tardio de gadolíneo e morte súbita na CMH.[4,22]

Os microRNA (miRNA) são moléculas de 22 nucleotídeos não codificados que regulam inúmeros genes e parecem influir na fisiopatologia das doenças cardiovasculares.[23] Alguns miRNA foram relacionados à fibrose miocárdica. Destacam-se o "*up regulation*" dos micro RNA 21 (miRNA-21) e o "*downregulation*" dos micro RNA 29 (miRNA-29). A correlação de micro RNA e CMH ainda não está completamente estabelecida.[23,24,25,26]

A aldosterona também vem sendo associada à fibrose intersticial, hipertrofia miocárdica e insuficiência cardíaca(IC). Evidencias atuais sugerem que portadores de CMH têm níveis de aldosterona miocárdica e RNAm aldosterona sintase 4 a 6 vezes maiores.[27,28] Os inibidores da aldosterona parecem bloquear os sinalizadores para promoção de fibrose miocárdica como demonstrado na IC com disfunção sistólica. Estudos em humanos portadores de IC mostram que ao bloquear os receptores mineralocorticoides com a espironolactona há menor morbimortalidade cardiovascular. [29,30,31,32,33]

Alguns pequenos estudos em animais e humanos portadores de CMH mostraram diminuição de doença microvascular, fibrose, disfunção cardíaca e melhora sintomática ao bloquear o sistema renina-angiotensina-aldosterona com uso de Inibidores da enzima conversora da angiotensina (IECA)/ Bloqueadores dos receptores de angiotensina (BRA) ou espironolactona. [29,34] Não há evidências consistentes, no entanto, de que essas drogas tenham efeitos benéficos na CMH.[33]

Em posse destas evidencias e se considerada a fisiopatologia da CMH, a espironolactona, por inibir a aldosterona parece ser uma droga promissora no tratamento desta patologia.

Esse estudo, ao tentar comprovar a diminuição da fibrose miocárdica pelos inibidores da aldosterona (espironolactona), pode ser capaz de alterar a fisiopatologia da CMH e sua história natural.

1 REVISÃO DA LITERATURA

1.1 Cardiomiopatia Hipertrófica

1.1.1 Definição

As cardiomiopatias podem ser definidas por alterações funcionais e estruturais do miocárdio ventricular inexplicáveis por limitação de fluxo sanguíneo coronariano ou alterações de enchimento. As cardiomiopatias podem ser classificadas quanto aos critérios morfo-funcionais, posteriormente agrupados quanto a herança familiar, genética e quanto a presença de doença extra-cardíaca.[1,35]

A CMH é definida pela presença de hipertrofia das paredes ventriculares, não justificadas pela sobrecarga de pressão, outras cardiopatias, doenças sistêmicas, metabólicas ou sindrômicas.[1,36]

As primeiras referências a CMH são atribuídas a médicos e anatomo-patologistas do século XVII. Posteriormente, em 1958, *Donald Teare* publica um artigo descrevendo CMH como uma cardiomiopatia caracterizada pela hipertrofia ventricular.[37,38]

Há cerca de 55 anos o grupo do Professor *Eugene Braunwald* no *National Institute of Health* propôs a primeira descrição clínica desta doença.[36,39] Desde então, muito vem se investindo em busca da melhor definição, assim como etiologia, diagnóstico e prognóstico.[1]

1.1.2 Epidemiologia

CMH é uma doença global, com casos descritos em mais de 120 países nos três continentes. Ambos os sexos e etnias podem ser acometidas com mutações, clínica e fenótipos semelhantes. [36,39,40,41,42, 43]

É a doença genética cardíaca mais comum. A prevalência estimada por estudos baseados no diagnóstico ecocardiográfico é de 0,2% da população mundial (1:500).[4,5,38,43,44] Suspeita–se, entretanto, de uma prevalência ainda maior dada subnotificação, em especial, de casos

assintomáticos. [39,42] Se considerados estudos com diagnósticos clínicos e genéticos, essa prevalência pode aumentar para 1:200. [36,45]

Estima-se hoje a existência de 750.000 americanos portadores de CMH, no entanto apenas cerca de 100.000 recebeu o diagnóstico.[36,46]

A despeito de ocorrer em diversos países, etnias, raças e de ter distribuição equivalente entre os sexos, as características clínicas, as apresentações fenotípicas e o substrato genético não parece variar demograficamente. [36,47]

1.1.3 Etiologia

Estudos em genética sugerem que CMH seja resultado de mutações autossômicas dominantes com 50% de penetrância em 11 ou mais genes. As mutações ocorrem majoritariamente nas proteínas contrateis do sarcômero. Em quase 70% dos casos as mutações acometem o gene da cadeia β pesada da miosina (MYH7) e o gene da proteína C ligante (MYBPC3). Mais de 1500 mutações foram descritas. Além dos dois genes principais outros também frequentemente acometidos são: cadeia α pesada da miosina (MYH6), titina (TTN), teletonina (TCAP), vinculina (VCL), dentre outras.[48,49,50,51,52,53]

O fenótipo da doença se desenvolve ao longo dos anos de acordo com o remodelamento ventricular. Em geral é mais evidente após os dezessete anos, podendo ou não ser acompanhado por sintomas.[54]

Testes genéticos atualmente disponíveis são capazes de definir a mutação relacionada a CMH em apenas 50% dos casos.[1,48,55]

1.1.4 Prognóstico

Há cerca de cinquenta anos quando foi descrita, CMH era tida como uma rara doença genética e potencialmente intratável. Hoje, os avanços em seu conhecimento promovem estratégias que visam melhora na qualidade de vida. No entanto, muito ainda é necessário para impactar em melhor sobrevida.[39]

Em 1958, dos oito pacientes descritos por *Donald Teare* em seu clássico artigo sobre CMH, sete faleceram subitamente antes dos 45 anos.[38,56] Em coortes portadoras de CMH nos anos 70 e 80, a mortalidade anual para adultos chegava a 4 % e em crianças 5,9%.[56,57,58,59,60,61]

Ainda assim, se observarmos cronologicamente, as perspectivas prognósticas são otimistas.[51] Cerca de 60% dos portadores de CMH referem boa tolerância aos esforços (classe funcional I NYHA).[56,57,62]

Adolescentes e adultos têm mortalidade anual semelhante àquela da população sadia, estimada em 0,5%. A taxa anual de morte súbita varia de 0,5 a 1,0%.[1,56,63,64]

Um pequeno grupo de portadores de CMH (5% a 10%), evolui com disfunção sistólica, afilamento das paredes, dilatação ventricular e progressiva diminuição do gradiente em trato de saída do ventrículo esquerdo. Nesses casos o prognóstico é reservado, sendo descrita rápida progressão a IC refratária.[1,62,65]

1.1.5 Diagnóstico

Pode se suspeitar do diagnóstico clínico de CMH a partir da ausculta de seu característico sopro sistólico em borda esternal esquerda ou em eletrocardiogramas realizados em "rotinas de diagnóstico".[66,67]

No entanto, a confirmação do diagnóstico é feita por métodos de imagem: ecocardiograma transtorácico e/ou ressonância magnética de coração com evidencias de hipertrofia miocárdica (superior a 1,5cm) não explicada pela presença de outras doenças sistêmicas.[35]

O grau de hipertrofia é amplamente variável (1,3-1,5cm até superior a 5cm). Os segmentos miocárdicos acometidos são, também, muito variáveis: desde hipertrofia concêntrica (50%) a pequenos segmentos isoladamente acometidos (10%-20%), sendo o mais comum a confluência da septo interventricular com parede anterior do ventrículo esquerdo.[68,69]

O ecocardiograma é fundamental para determinação do tipo da hipertrofia e sua magnitude.[70,71] É importante também na detecção de anomalias funcionais que causam os sintomas na CMH. Além disso, a disfunção diastólica que marca a CMH pode ser facilmente avaliada pelo ecocardiograma. [70,72] . Em geral, os segmentos miocárdicos mais hipertrofiados apresentam maior grau de disfunção diastólica ao Doppler tecidual e *strain*. [70,73]

Aproximadamente um terço dos portadores de CMH apresentam gradiente obstrutivo em trato de saída do ventrículo esquerdo (TSVE) em repouso (25%) ou após estresse físico (até 60%). Tal gradiente pode ser estimado pelo ecocardiograma.[70,74] A presença de gradiente obstrutivo superior a 30mmHg em TSVE em geral está associado a sintomas como dispneia, angina, síncope e intolerância aos esforços. Ademais, a presença de gradiente obstrutivo em repouso vem sendo associado com uma pior sobrevida.[70,75]

A principal causa do gradiente obstrutivo em TSVE é o movimento sistólico anterior da valva mitral (SAM) e o contato da valva mitral com o septo interventricular.[70,76]

A RM do coração vem sendo valorizada como importante ferramenta na avaliação de portadores de CMH. A RM pode estabelecer o diagnóstico e fazer o diagnóstico diferencial das cardiopatias que cursam com hipertrofia ventricular. Permite, de maneira mais acurada, a medida da massa e espessura miocárdicas, análise funcional dos ventrículos além de identificar pacientes sob maior risco de morte súbita a partir da avaliação do percentual de miocárdio substituído por tecido fibrótico pela técnica de realce tardio.[22,77,78]

Até 1% dos portadores de CHM evolui com morte súbita. Estima-se que o desarranjo celular e a substituição de miócitos por tecido de fibrose são os principais substratos para as arritmias malignas (taquicardia ventricular e fibrilação ventricular). [1,56,77,79]

A presença de fibrose miocárdica parece ser fator de risco adicional para morte súbita na CMH. Em um estudo multicêntrico recentemente publicado, 15% de substituição de miocárdio por tecido de fibrose pela técnica de realce tardio foi definido como a presença de "fibrose grave". A presença de "fibrose grave" foi preditor independente do risco de morte súbita naquela população.[80,81]

1.1.6 Tratamento

Em relação ao tratamento da CMH, pouco se evoluiu nos últimos cinquenta anos. Não há estudos randomizados que objetivem encontrar tratamentos que alterem a história natural desta doença. Desta forma, os focos terapêuticos na CMH são prevenção primária e secundária de morte súbita, alívio dos sintomas obstrutivos por cirurgia (miectomia) ou intervenções no laboratório de hemodinâmica (alcoolização septal).[4,17,18]

O tratamento farmacológico, baseado em sua maioria na opinião de especialistas e pequenos estudos não randomizados, visa melhorar a capacidade funcional, diminuir sintomas e evitar a progressão da doença. [1,2]

Pacientes portadores de CMH, assintomáticos e com função sistólica de ventrículo esquerdo (VE) preservada não apresentam indicação para tratamento farmacológico, devendo apenas manter acompanhamento clínico regular. [1,2]

Os pacientes sintomáticos que apresentam obstrução do TSVE são tratados com drogas, miectomia, alcoolização septal e, em casos selecionados, ainda em caráter experimental, ablação do septo interventricular por radiofrequência.[1,2,56,82,83,84]

Na ausência de obstrução, o tratamento objetiva diminuir arritmias, pressões de enchimento do ventrículo esquerdo e *angina pectoris*.[1,2]

O tratamento medicamentoso com betabloqueadores ou bloqueadores dos canais de cálcio não dihidropiridinicos podem promover alívio sintomático, mas não tratam especificamente a doença e nem alteram a sua história natural.[4,19]

Neste contexto, torna-se imperativa a busca por novos fármacos que modifiquem as alterações moleculares característicos desta doença, assim como drogas capazes de impactar em qualidade de vida e sobrevida.[32,85,86]

Em estudos realizados em animais (ratos transgênicos portadores de CMH), aldosterona e angiotensina II foram relacionadas a hipertrofia dos miócitos, desarranjo celular e fibrose intersticial.[56,85,87]

Em portadores de CMH o nível de aldosterona miocárdica é cerca de quatro vezes maior que na população geral. No entanto não se observa, até o momento, maiores níveis séricos de aldosterona nessa população.[8,85]

Tais dados sugerem um *up regulation* do sistema renina angiotensina aldosterona (SRAA) envolvido no remodelamento cardíaco descrito como fenótipo da CMH.[85,88]

Estudos experimentais vêm demonstrando que o uso de drogas inibidoras da aldosterona como a espironolactona podem reduzir a fibrose, o remodelamento microvascular coronariano e o desarranjo celular com benefícios na função diastólica.[8,32,56,85,88,89,90]

O *trial INHERIT* não comprovou efeitos da Losartana na redução do percentual de fibrose observado em portadores de CMH pelo realce tardio na ressonância magnética de coração.[56,89,91]

Há ainda, estudos experimentais em andamento avaliando moduladores metabólicos como a Perhexiline e a Ranolazina e terapia molecular na CMH.[56,89,92,93,94]

A realização de estudos randomizados em CMH não é simples. A taxa de eventos fatais é baixa, o que exige grandes amostras e acompanhamento por longo período de tempo (décadas). Além disso, há grande diversidade genotípica e fenotípica nesta doença, não se sabe ao certo se a generalização dos resultados será efetiva.[8]

Buscar por "desfechos alternativos" como graus de disfunção sistólica e diastólica, novos métodos de imagem, sintomas clínicos, graus de isquemia miocárdica e fibrose, assim como padrões es graus de hipertrofia parece ser uma opção efetiva.[8]

1.2 **Genética na CMH**

Há cerca de 20 anos foi descrito o primeiro *locus* cromossômico para CMH e subsequentemente as mutações envolvendo genes da cadeia β pesada da miosina (MYH7) elucidando suas bases patogênicas.[51,95,96]

Estudos em genética sugerem que CMH seja resultado de mutações autossômicas dominantes com 50% de penetrância em 11 ou mais genes. As mutações ocorrem majoritariamente nas proteínas contrateis do sarcômero. Em cerca de 70% dos casos as mutações acometem genes da MYH7 e gene da proteína C ligante (MYBPC3). Mais de 1400 mutações foram descritas. Além dos dois genes principais outros também acometidos são: cadeia α pesada da miosina (MYH6), titina (TTN), teletonina (TCAP), vinculina (VCL), dentre outras.[43,44,48,49,50,51,52,53,97,98] Na Tabela 1 são descritas as principais mutações patogênicas relacionadas às proteínas do sarcômero na CMH.

O fenótipo da doença se desenvolve ao longo dos anos de acordo com o remodelamento ventricular. A manifestação fenotípica pode ocorrer em qualquer idade, mas em geral é mais evidente após os 17 anos, podendo ou não ser acompanhado por sintomas.[54]

A penetrância clínica é extremamente variável, indivíduos da mesma família, com a mesma mutação genética, podem apresentar manifestações fenotípicas distintas, sugerindo que genes modificadores e fatores locais e ambientais possam interferir na magnitude e nas características da hipertrofia. Os genes modificadores não causam CMH, mas definem sua manifestação fenotípica.[98,99,100]

Desde o início da "era genômica" na CMH, investigadores buscam correlacionar as alterações genéticas descritas e o prognóstico.[51] Algumas mutações específicas *missense* pareciam correlacionar-se com pior prognóstico. Desta forma, alguns estudos descrevem as

mutações encontradas como “malignas” ou “benignas”.[51, 100-108] No entanto, estes estudos genéticos são em maioria derivados de pequenas coortes e grandes famílias com importante penetrância da doença. Quando analisados estudos genótipo-fenótipo de pacientes não relacionados, sugere-se não afirmar relação de mutações especificas com determinado prognóstico.[50,51,109,110]

Recentemente um estudo com uma grande coorte italiana mostrou relação entre morte cardiovascular, acidente vascular cerebral, progressão de classe funcional, maior probabilidade de disfunção sistólica e padrão diastólico restritivo em pacientes com mutações nas proteínas do miofilamentos quando comparados com pacientes em que os testes genéticos são negativos para CMH. [51, 111]

Observa-se ainda, que pacientes portadores de múltiplas mutações, o que ocorre em cerca de 3 a 5% dos pacientes com testes genéticos positivos, apresentam um fenótipo mais grave e com maior chance de morte súbita. [51, 112-114]

Desta forma, a identificação da mutação na CMH parece estar relacionada a maior chance de evolução para disfunção sistólica e diastólica de VE assim como desenvolvimento de sintomas. Entretanto, as conclusões prognósticas devem ser cautelosas e individualizadas.[51]

Quanto a patogenicidade, as mutações podem ser classificadas em patogênicas, não patogênicas (ou benignas) e variantes de patogenicidade não definida (VUS). A patogenicidade é definida pela relação com o fenótipo, referência prévia a sua relação com CMH, não ser relacionada a controles sadios, ter relação com alteração funcional ou estrutural das proteínas mutadas e representar uma mudança na sequência de aminoácidos em um região conservada da proteína, sugerindo sua importância na base da função celular. São não patogênicas ou benignas as substituições de aminoácidos que não provocam a doença e podem ser encontradas em 0,5 a 1% da população normal. As mutações em que o significado clínico ainda não está estabelecido são definidas como VUS.[55, 115,116]

Tabela 1 - Principais mutações das proteínas sarcoméricas relacionadas a CMH

Proteínas do sarcômero	Gene	Localização cromossomial	% de mutações causando CMH
Beta miosina de cadeia pesada 7	MYH7	14q12	40-44%
Miosina ligante da proteína C3	MYBPC3	11p11	35-40%
Troponina T	TNNT2	1q32	5-15%
Troponina I	TNNI3	19q13	5%
Tropomiosina cadeia alfa-1	TPM1	15q22	3%
Miosina regulatória de cadeia leve	MYL2	12q24	1-2%
Miosina de cadeia leve essencial	MYL3	3p21	1%
Actina	ACTC1	11q14	1%
Troponina C	TNNC1	3p21	<1%

Fonte: Adaptado de Aktar, M e Elliot P 2018.[98]

1.3 Micro RNA e Cardiomiopatia Hipertrófica

Os microRNA (miRNA) são moléculas endógenas, naturais com aproximadamente 22 nucleotídeos não codificados, que regulam inúmeros genes envolvidos na fisiologia cardiovascular e em algumas doenças.[23,117-120]

Os miRNA são porções transcritas a partir de moléculas mais longas (pri-miRNA) que são processadas nos núcleos celulares em *hairpinas*RNA pela enzima *Drosha* e a proteína ligante DGCR8 formando os pre-miRNA (aproximadamente 70 nucleotídeos). Posteriormente os pre-miRNA são transportados ao citoplasma celular aonde serão clivados pela ribonuclease *Dicer* em miRNA.[23]

Mais da metade dos RNA mensageiros (RNAm) são regulados por miRNA e cada miRNA pode regular centenas de RNAm. Desta forma, miRNA são capazes de regular inúmeros processos como proliferação, diferenciação e apoptose.[119,120] A reativação de miRNA fetais parece contribuir para a modificação da expressão dos genes, promovendo modificações patológicas no miocárdio associadas ao remodelamento progressivo e insuficiência cardíaca.[23,24]

Fibroblastos parecem se comunicar com os cardiomiócitos por secreção parácrina de substâncias como fatores de crescimento tecidual do tecido conjuntivo, fatores de crescimento

dos fibroblastos, proteínas da matriz extracelular, ou comunicação celular direta. Esta comunicação parece ser o maior representante da resposta hipertrófica e os fibroblastos parecem ser os reguladores do remodelamento cardíaco.[23,121]

Alguns miRNA foram relacionados a fibrose miocárdica, destacam-se a "*up regulation*" dos micro RNA 21(miRNA-21) e "*downregulation*" dos micro RNA 29 (miRNA-29).[23,25,26]

O miRNA-21 fracamente expresso em corações normais, tem sua produção aumentada em modelos de hipertrofia e IC. Sua maior expressão parece estimular os fibroblastos na promoção de fibrose e hipertrofia. [24,122] Outros estudos, no entanto, sugerem que miRNA-21 promove um efeito inibitório sobre a hipertrofia cardiomiocitária [123,124]. O papel do miRNA-21 nas cardiopatias é ainda controverso e sua modulação parece diferir entre as diferentes cardiopatias.[23,122,123]

O miRNA-29 é preferencialmente expresso por fibroblastos cardíacos. Existe três membros da família miRNA-29: miRNA-29a, miRNA-29b, miRNA-29c. Dentre eles, miRNA-29a parece ter maior correlação com fibrose e hipertrofia miocárdica.[125, 126] O miRNA-29a vem sendo correlacionado com mutações na beta miosina de cadeia pesada 7 (MYH7).[126] O fator de crescimento tecidual beta promove a diminuição na expressão de todos os tipos de miRNA-29.[23]

Sugere-se que a combinação de miRNA, parece ter maior sensibilidade em predizer fibrose miocárdica quando comparado a medidas de miRNA isolados.[127]

A correlação de miRNA e CMH não está completamente estabelecida.[23,25,26]

1.4 Polimorfismo da *Aldosterona sintase* e Cardiomiopatia Hipertrófica

Os polimorfismos genéticos são alterações não letais presentes no genoma. Eles têm sido amplamente estudados em diversas doenças. Em especial, os polimorfismos do sistema renina-angiotensina-aldosterona (SRAA) potenciais modificadores da CMH.[128]

O SRAA está amplamente relacionado à fisiopatologia da IC. A angiotensina II (AII) é um potente vasoconstritor que eleva a pré e a pós-carga, além de promover o remodelamento cardíaco através da hipertrofia miocítica, apoptose e fibrose intersticial. Promove também a secreção de aldosterona que tem importante papel no aumento da deposição de colágeno.[129]

O SRAA influencia a homeostase da volemia, do sódio e do tônus vascular.[130,131] A renina, com origem nas células justa glomerulares, atua no angiotensinogênio sintetizado pelo

fígado, formando a angiotensina I (AI), que pela ação da enzima conversora da angiotensina (ECA) presente nos pulmões e tecidos vasculares é convertida em AII. A AII age por meio dos receptores AT1 e AT2 expressos em diversos tecidos, incluindo o miocárdio.[132,133]

Além disso, o SRAA regula a secreção de aldosterona. A aldosterona é sintetizada a partir de desoxicorticosterona metabolizada por uma enzima mitocondrial do citocromo P450, a *Aldosterona sintase* (CYP11B2). A aldosterona pode induzir diretamente hipertrofia das células do miocárdio através da ativação dos receptores mineralocorticóides. Assim, as variações genéticas na regulação da síntese de aldosterona podem influenciar a estrutura e a função ventricular.[134]

O polimorfismo genético da aldosterona sintase (CYP11B2 ou PGA) também parece estar associado ao desenvolvimento de CMH. O gene correspondente para esta enzima situa-se no cromossoma 8, banda 8q22. O *up-regulation* desta enzima está associada a um aumento de produção de aldosterona que promove a fibrose miocárdica. A fibrose miocárdica progressiva irá resultar em remodelamento ventricular, hipertrofia e aumento da massa ventricular.[135]

Os alelos variantes do PGA são o T e C, sendo possíveis, três genótipos diferentes: CC, TT e TC. O alelo C é o que está associado a uma maior atividade da *Aldosterona sintase* e, também a alterações estruturais, remodelamento, resposta vasodilatadora e massa ventricular.[134]

A relação entre este polimorfismo e CMH é ainda conflitante. Não se sabe, ao certo, qual dos alelos se associa a CMH e sua relação com o aumento de massa muscular.[134,136]

1.5 Fibrose e Cardiomiopatia Hipertrófica

Fibrose miocárdica é uma das características marcantes da CMH e parece contribuir para a morte súbita, arritmias ventriculares, disfunção sistólica, e IC.[4,20,21,22,137-142]

Na análise histopatológica da CMH, observa-se fibrose intersticial e focal. A fibrose focal pode ser facilmente quantificada pela RM do coração utilizando-se a técnica de realce tardio.[4,22,137,140,143-145]

O *trigger* para o estímulo a substituição de miocárdio por fibrose ainda não é bem estabelecido na CMH. Há provável relação com apoptose, estímulo a morte celular prematura secundária as mutações patogênicas, em especial das proteínas sarcoméricas.[4,22,137,146] Há ainda,

possível relação com gradiente obstrutivo intracavitário, doença microvascular e isquemia.[137,139,142,146]

Recentemente o percentual de miocárdio substituído por fibrose miocárdica vem sendo associado a um maior risco de morte súbita e pior prognóstico.[80,81] Pela técnica de realce tardio na RM, o gadolínio intravenoso injetado fica acumulado nas regiões de miocárdio substituído por fibrose. A fibrose pode ser quantificada percentualmente por essa técnica. Pacientes que apresentem taxas de substituição de miocárdio por fibrose superiores a 15%, são caracterizados como portadores de "fibrose grave" e estão relacionadas a pior prognóstico e morte súbita.[147-151]

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Primário

Avaliar se a utilização de um medicamento antagonistas da aldosterona (espironolactona) pode diminuir o percentual de miocárdio substituído por fibrose na RM cardíaca em pacientes portadores de CMH.

2.2 Objetivos Secundários

Avaliar a influência do uso de espironolactona na evolução da função sistólica ao longo do seguimento.

Descrever o genoma buscando as principais mutações envolvidas na CMH e avaliar a influência dessas mutações no prognóstico destes pacientes.

Descrever o polimorfismo genético da aldosterona na CMH e avaliar sua influência na evolução do percentual de fibrose miocárdica pela RM assim como nas funções sistólica (pela RM) e diastólica (pelo ecocardiograma transtorácico) de ventrículo esquerdo.

Definir o papel dos miRNA como marcadores de fibrose na CMH e correlaciona-los as variações do percentual de fibrose miocárdica pela RM.

Avaliar a importância dos miRNA como método de avaliação da resposta terapêutica a espironolactona.

.

3 MÉTODOS

Estudo prognóstico, prospectivo, randomizado, duplo cego, em um centro envolvido, com o uso de espironolactona ou placebo.

O estudo foi submetido e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Universitário Pedro Ernesto (HUPE) pela plataforma Brasil (ANEXO A).

Foi elaborado um Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE–ANEXO B) aprovado pela Comissão Científica e pelo Comitê de Ética, para a prévia assinatura dos pacientes antes de qualquer procedimento relacionado ao estudo(número do parecer 500.142).

3.1 População estudada

Os pacientes incluídos foram selecionados a partir da coorte dos ambulatórios de referência em CMH do HUPE e Instituto Nacional de Cardiologia (INC). Ambos são hospitais quaternários filiados ao Sistema único de Saúde (SUS).

Houve consentimento da coordenação do Serviço de IC e cardiomiopatias do INC, assim como do CEP local para o recrutamento de pacientes.

Tanto pacientes em acompanhamento ambulatorial prévio, quanto os que iniciaram o acompanhamento em algum desses ambulatórios durante o período de inclusão do estudo foram convidados a participar.

As atividades da pesquisa foram centralizadas em um único local, a clínica de insuficiência cardíaca e cardiomiopatias do Hospital Universitário Pedro Ernesto (clínica IC-HUPE). Aqueles pacientes que concordaram em participar do estudo foram encaminhados a clínica IC-HUPE.

Os serviços envolvidos foram a clínica IC-HUPE e o Laboratório de Diagnósticos por DNA do Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes da Universidade do Estado do Rio de Janeiro (UERJ) onde toda a análise genética foi realizada.

A clínica IC-HUPE foi estabelecida em 1996 e já realizou o acompanhamento de aproximadamente 1.500 pacientes desde sua criação. Possui uma infraestrutura para armazenamento dos prontuários médicos dos pacientes nela atendidos e, também, de *software* específico para atendimento de pacientes – Consultório Digital (fornecido pela Sociedade

Brasileira de Cardiologia) – onde são armazenadas todas as informações referentes ao pacientes, descrição das consultas e tratamentos realizados.

A equipe multidisciplinar da clínica IC-HUPE possui cinco médicos cardiologistas, responsáveis pelo atendimento clínico-cardiológico, uma nutricionista, dois enfermeiros e uma bióloga, estes últimos responsáveis pela coleta, armazenamento e transporte das amostras laboratoriais.

O Laboratório de Diagnósticos por DNA do Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes da UERJ, situado no Campus Maracanã e fundado em 1996 realiza tipagem de regiões polimórficas do DNA para fins de investigação de relação. Desde a sua criação, mais de 140.000 indivíduos foram genotipados em regiões polimórficas do DNA, relacionando-se com a emissão de quantitativo superior a 35.000 laudos periciais.

3.2 Critérios de Inclusão

- Indivíduos com idade maior ou igual a 16 anos ou inferior ou igual a 75 anos no momento da randomização;
- Pacientes com idade inferior a 18 anos necessariamente acompanhados e sob consentimento dos responsáveis;
- Diagnóstico de CMH confirmado por ecocardiograma transtorácico ou RM do coração;
- Assinatura de TCLE (ANEXO B).

3.3 Critérios de Exclusão

- Pacientes em uso prévio de espironolactona.
- Hiperpotassemia (níveis séricos superiores 5,5 mEq/l).
- Insuficiência renal (definidos por nível sérico de creatinina superiores a 2.5mg/dl ou clearance de creatinina inferior a 30 ml/kg/min).
- Presença de quaisquer outras contraindicações ao uso de antagonistas da aldosterona (alergia, gestação, intolerância a droga).
- Implante de marca-passo definitivo (MPD) ou cardiodesfibrilador implantável (CDI).

- Pacientes que realizaram previamente alcoolização septal ou miectomia septal.

3.4 Medicamento do estudo

A medicação do estudo, espironolactona de 25mg ou placebo, foi manipulada na farmácia universitária do Hospital Universitário Clementino Fraga Filho (HUCFF) da Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ), tendo sua produção e dispensação programadas para cada três meses, respeitando–se prazo de validade dos medicamentos.

Temporalmente, o pesquisador principal recebia diretamente do farmacêutico responsável pela farmácia universitária, a quantidade necessária para atender a demanda dos pacientes já incluídos no estudo, assim como uma reserva para os novos pacientes incluídos.

Todos os pesquisadores foram mantidos “cegos” pela farmácia universitária.

Os medicamentos foram identificados pelos códigos “CR “ou “TM”. As embalagens e as capsulas eram idênticas, diferiam apenas na inscrição da sigla “CR” ou “TM” na lateral dos rótulos.

Ao final do seguimento foi revelado pela farmacêutica responsável ao pesquisador principal que “CR” correspondia a espironolactona e “TM” placebo.

3.5 Seguimento

O período de inclusão total foi de setembro de 2014 a abril de 2016. Na Figura 1 é descrito o fluxograma de seguimento.

O atendimento ambulatorial dos pacientes selecionados foi feito na Clínica de IC do HUPE em um horário específico para o projeto de pesquisa semanalmente as quartas feiras a tarde. Os pacientes oriundos do ambulatório do INC foram encaminhados ao HUPE para inclusão e posterior seguimento. O atendimento ambulatorial, assim como a coleta de dados e organização dos exames complementares foi realizada pela pesquisadora principal e uma outra pesquisadora médica vinculada ao estudo. No ANEXO C é descrito o modelo da ficha de acompanhamento ambulatorial.

Observando-se os critérios de inclusão e exclusão no estudo e, após assinatura do TCLE explicitado no ANEXO B, os pacientes foram randomizados para o uso de espironolactona ou placebo.

A randomização foi simples, alternando a prescrição de medicamentos “CR” ou “TM” de acordo com a ordem de inclusão no estudo.

No momento da inclusão no estudo foram coletadas amostras biológicas (sangue) dos pacientes por profissional especializado (médicos, bióloga enfermeiros ou técnicos de enfermagem), sendo um tubo de ensaio comum contendo ativador de coágulo (tubo para coleta de bioquímica sanguínea) para armazenamento do sangue para estudo do DNA (análise das principais mutações relacionadas a CMH, polimorfismo da *Aldosterona sintase*) e um tubo especial *PAXgene Blood miRNA kit* para armazenamento e posterior análise dos miRNA 21 e 29a. Os pacientes que não apresentavam à inclusão bioquímica sanguínea recente (três meses anteriores à randomização), tinham também uma amostra de sangue colhida para avaliação da função renal (ureia e creatinina), e nível sérico de potássio.

As amostras destinadas à análise genética foram armazenadas sob condições próprias em refrigerador a -80°C e posteriormente encaminhadas para o Laboratório de Diagnósticos por DNA do Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes da UERJ. As amostras para análise da bioquímica sanguínea foram imediatamente encaminhadas para o laboratório de bioquímica (HUPE) para processamento e estudo do material.

Consultas médicas para controle do tratamento e dispensação da medicação do estudo foram realizadas no momento da randomização (T0), uma semana após (para avaliação da tolerância ao tratamento: sintomas clínicos, nível sérico de potássio, uréia e creatinina) e depois trimestralmente (T3, T6, T9, T12, T15, T18 e T21).

Após uma semana do início do tratamento, foram colhidas amostras de sangue para avaliação dos níveis séricos de potássio, ureia e creatinina. Os pacientes que se mantiverem sem contraindicações ao tratamento, permaneceram no estudo.

Nas consultas trimestrais foram reavaliados sintomas clínicos, sinais vitais e peso. Novas amostras de sangue foram solicitadas e seus resultados checados a cada consulta médica para a análise bioquímica (potássio, ureia, creatinina) para monitorar possíveis efeitos adversos da espironolactona, assim com a tolerância clínica a mesma.

Também em cada uma das consultas trimestrais os pacientes deveriam apresentar as medicações excedentes assim como as embalagens vazias e recebiam novas càpsulas seguindo seu grupo inicial (“CR ou “TM”). O número de comprimidos dispensados em cada consulta

foi equivalente ao número de dias até a próxima consulta médica com dez comprimidos excedentes.

Foram realizados ecocardiograma transtorácico bidimensional com Doppler colorido no T0. Todos os exames foram realizados pela mesma profissional no laboratório de ecocardiografia do HUPE.

Ressonâncias magnéticas (RM) do coração foram realizadas no *RIO IMAGEM*, INC, Hospital Pró-Cardiaco e HUPE entre T0 e T3 (RM de inclusão no estudo) e entre T18 e T21 (RM final).

Foram realizados também eletrocardiogramas de doze derivações após inclusão no estudo e sempre que existiu qualquer dúvida em relação ao ritmo cardíaco ou modificação sintomática.

Ao final dos dezoito meses (T18) foi interrompido uso da medicação do estudo (espironolactona ou placebo).

Também no T18, foi colhida nova amostra de sangue no tubo *PAX gene* para avaliação evolutiva dos níveis de miRNA 21 e 29a.

Neste momento, entre os 18 e 21 meses de seguimento, os pacientes deveriam realizar a RM cardíaca final.

Aos 21 meses de seguimento os pacientes foram formalmente desligados do estudo. Todos os pacientes foram reencaminhados aos seus ambulatórios de origem tanto no HUPE quanto INC, garantindo a continuidade de seus tratamentos específicos.

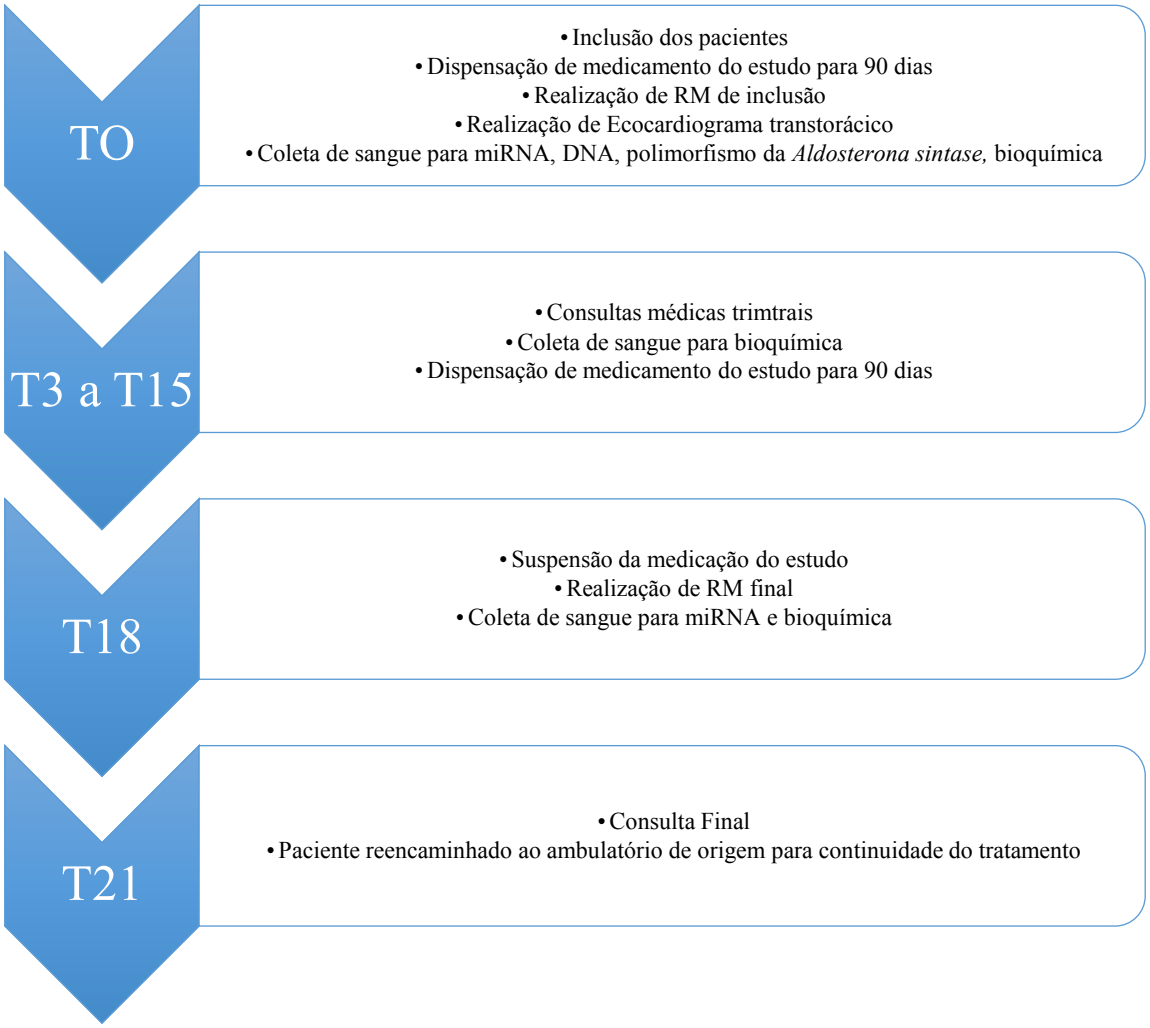
Vale ressaltar que alguns pacientes por particularidades sintomáticas ou presença de co-morbidades faziam uso de outras medicações diferentes do medicamento do estudo. Nestes casos, as medicações de uso regular foram mantidas, tendo sido ajustadas ao longo do seguimento segundo orientação clínica.

Em presença de quaisquer contra-indicações a manutenção do tratamento com espironolactona (intolerância clínica, alergia, gestação, mastalgia, insuficiência renal ou hiperpotassemia) ao longo do seguimento, a medicação do estudo (espironolactona ou placebo) foi suspensa e o paciente manteve seguimento ambulatorial regular sendo observado como "intenção de tratar".

Tempo de seguimento total de todos os pacientes incluídos foi de setembro de 2014 a janeiro de 2018.

Todos os dados clínicos, laboratoriais e de imagem registrados na ficha de inclusão e seguimento (ANEXO C) foram transferidos a um banco de dados (EXCEL) para posterior análise estatística.

Figura 1 – Fluxograma de seguimento



Legenda: RM: Ressonância magnética, T0: Inclusão, T3-T21: Consultas trimestrais de seguimento.
Fonte: A Autora, 2019.

3.6 Variáveis avaliadas

As variáveis avaliadas foram as demográficas, clínicas, terapêuticas, laboratoriais, eletrocardiográficas, ecocardiográficas, ressonância magnética e genéticas (DNA, miRNA e polimorfismos da *Aldosterona sintase*).

3.6.1 Variáveis Clínicas

Os dados clínicos foram coletados através de entrevista e exame físico dos indivíduos e/ou extraídos do prontuário médico de acompanhamento. As variáveis clínicas são listadas a seguir:

a) Características do paciente: idade, gênero, cor;

A cor foi observada pelo próprio médico assistente e classificada como branco, preto ou não branco/não preto. Como na clínica de IC-HUPE essa definição sempre era realizada pelo médico assistente, foi adotado o mesmo critério.

b) Características de acompanhamento médico;
   - Idade do diagnóstico;
   - Presença ou ausência de sintomas: dor torácica, palpitação, síncope, dispneia e outros;
   - Tempo de evolução dos sintomas;
   - Classe funcional de acordo com classificação proposta pela *New York Heart Association* (NYHA) no momento da consulta (Quadro 1);

Questionou-se objetivamente sintomas mais comumente descritos nos indivíduos com CMH e também se havia algum outro tipo de sintoma não mencionado.

Quadro 1 - Classificação da doença cardíaca pela *New York Heart Association* (NYHA)

Classe Funcional	Avaliação objetiva
Classe I	Pacientes com doença cardíaca, mas que não resulte em limitação da atividade física. A atividade física usual não provoca fadiga, palpitações, dispneia ou angina.
Classe II	Pacientes com doença cardíaca resultando em leve limitação das atividades físicas. Sentem-se confortáveis em repouso. A atividade física habitual provoca fadiga, palpitação, dispneia ou angina.
Classe III	Pacientes com doença cardíaca resultando em grande limitação da atividade física. Sentem-se confortáveis em repouso. Atividades físicas menos intensas que a habitual provocam fadiga, palpitação, dispneia ou angina.
Classe IV	Pacientes com doença cardíaca resultando em incapacidade de realizar qualquer atividade física sem desconforto. Os sintomas da insuficiência cardíaca ou angina podem estar presentes mesmo em repouso. Caso qualquer atividade física seja realizada, o desconforto é aumentado.

Fonte: adaptado de Libby et al. Braunwald Tratado de Doenças Cardiovasculares 8ª edição Rio de Janeiro: Elsevier, 2010 (p.619).[39]

c) Co-morbidades:
   - Hipertensão arterial sistêmica (HAS);
   - Diabetes mellitus (DM);
   - Dislipidemia (DLP);
   - Doença arterial coronariana (DAC);
   - Outras.

Para as co-morbidades analisadas, o diagnóstico do médico assistente foi utilizado. Assim, o relato da presença de HAS, DM, DLP, DAC era suficiente. Realização prévia de miectomia ou alcoolização septal;

d) História familiar de CMH: indagou-se sobre parentes com histórico de CMH e/ou morte súbita (MS);
e) Dados do exame físico - informações coletadas no momento da consulta;
   - Frequência cardíaca (FC);

- Pressão arterial sistólica (PAS) e pressão arterial diastólica (PAD);
- Dados antropométricos: peso, altura e, a partir desses dados, calculado o índice de massa corporal (IMC), segundo a fórmula:
  IMC (kg/m^2=peso (kg)/altura (m^2).

f) Medicação em uso: se estava em uso, ou não, de outras medicações cardiovasculares;
   - Betabloqueadores;
   - Inibidor da enzimaconversora de angiotensina/bloqueador receptor de angiotensina II (ECA/BRA);
   - Diuréticos;
   - Antiarrítmicos;
   - Estatina;
   - Anticoagulantes orais;
   - Ácido Acetilsalicílico (AAS);
   - Bloqueadores de canal de cálcio;
   - Outras.

3.6.2 Variáveis eletrocardiográficas

a) Avaliação da FC: alvo terapêutico FC ≤ 70bpm na CMH;
b) Presença de QRS maior que 120 ms, com padrão de bloqueio de ramo esquerdo;
c) Avaliação do ritmo, em especial se ritmo sinusal ou fibrilação atrial;

3.6.3 Variáveis laboratoriais

Os exames laboratoriais foram solicitados basicamente para a avaliação de hiperpotassemia e disfunção renal crônica. Foram considerados valores de normalidade, os seguintes valores de referência: ureia <50mg/dL, creatinina 0,5-1,2 mg/dL, potássio 3,6-5,5 mEq/L.

3.6.4 Variáveis ecocardiográficas

Os exames ecocardiográficos foram realizados no serviço de ecocardiografia do HUPE, no equipamento da marca Philips® iE33 Matrix, utilizando o transdutor matricial na frequência de 3-1 MHz. Todas as imagens dos ecocardiogramas transtorácicos realizados foram analisadas por uma mesma pesquisadora vinculada ao estudo no laboratório de ecocardiografia do HUPE. Os exames foram realizados no momento da inclusão no estudo e foram observadas as seguintes características ecocardiográficas:

- Quanto à forma ecocardiográfica: tipo I, tipo II, tipo III e tipo IV;
- Medida do segmento de maior espessura (em milímetros);
- Presença e quantificação de regurgitação valvar mitral;
- Função sistólica de ventrículo esquerdo (VE);
- Diâmetro do átrio esquerdo – não indexado (em milímetros);
- Análise da função diastólica de VE;
- Obstrução ou ausência de obstrução no trato de saída do VE (TSVE);
- Massa de VE (em grama) e massa de VE indexada pela superfície corporal.

A avaliação quanto a forma da cardiomiopatia hipertrófica seguiu a classificação proposta por Maron que classifica as formas de cardiomiopatia hipertrófica em quatro tipos de acordo com os segmentos acometidos:

- Tipo I: hipertrofia que acomete o septo basal
- Tipo II: hipertrofia que acomete todo o septo
- Tipo III: hipertrofia que acomete segmentos septal, anterior, e anterolateral
- Tipo IV: hipertrofia apical[153,154]

A função sistólica de VE foi avaliada pelo método de *Teichholtz*. Considerou-se função sistólica de VE preservada indivíduos com fração de ejeção acima de 52 % para homens e acima de 54% para mulheres. Para átrio esquerdo foi considerado normal o valor de até 38mm para mulheres e 40mm para homens. Os valores referência para massa de VE indexada pela superfície corporal, foram até o valor de 95 g/m^2 para mulheres e 115 g/m^2).[155]

A análise da função diastólica, avaliação e quantificação da regurgitação mitral seguiu os parâmetros ecocardiográficos recomendados pela *American Society of Echocardiography* (ASE).[156]

Para fins de análise da obstrução em trato de saída de VE utilizou-se os Doppler

contínuo e pulsado para avaliação do gradiente intraventricular. Considerou-se forma obstrutiva da cardiomiopatia hipertrófica quando o gradiente excedia 30mmHg em repouso ou à manobra de Valsalva.[1]

3.6.5 Variáveis referentes a ressonância magnética

Os exames de ressonância magnética foram realizados entre a admissão e o retorno em três meses (T0 a T3) e posteriormente após os 18 meses de seguimento (entre T18 e T21).

Utilizou–se os serviços de ressonância magnética do RIO IMAGEM, INC, HUPE e Hospital Pró-Cardíaco. Nos laboratórios de RM do RIO IMAGEM e Pró-Cardíaco a realização dos exames foi gratuita e o agendamento respeitou a disponibilidade de vagas nos serviços para realização de projetos de pesquisa.

Os exames realizados no HUPE e INC foram realizados conforme agendamento de rotina uma vez que os pacientes incluídos já possuíam número de prontuário nestes hospitais. Nas instituições vinculadas ao SUS (HUPE, INC e RIO IMAGEM) a realização das RM foi precedida pela emissão de autorização para realização de procedimentos ambulatoriais de alto custo (APAC).

Foram avaliados características do fenótipo, função sistólica, maior espessura parietal, evidências de obstrução em TSVE, evidências de insuficiência mitral e análise do percentual de fibrose miocárdica pela técnica de realce tardio.

Quanto as maquinas utilizadas: No INC RM GE modelo *MRIHDXT*® de 1,5 Tesla, no HUPE RM GE modelo *Optima* MR 360® de 1,5 Tesla e alto gradiente, no RIO IMAGEM RM Siemens modelo *Avanto*® de 1,5 Tesla e no Pro-Cardíaco RM GE modelo *Discovery* 750® de 3 Tesla.

Em relação aos aspectos técnicos, as imagens foram obtidas com as sequencias de pulso: Cine ressonância para avaliação da função ventricular direita e esquerda e *Fast spin–eco* com duplo e triplo pulso de inversão- recuperação para avaliação da anatomia (com e sem saturação de gordura respectivamente).

Para avaliação de função sistólica, função diastólica, funções valvares, massa e espessura miocárdicas utilizadas referencias explicitadas pelos próprios serviços de RM em seus laudos. Definida pela RM função sistólica de ventrículo esquerdo preservada se fração de ejeção de VE superior a 56% pelo método de *Simpson* para ambos os sexos.[157]

Na técnica de realce tardio, após a injeção de *gadolínio* venoso, o mesmo se deposita em áreas de substituição de miocárdio por fibrose. O resultado é expresso em percentual.

Em relação a fibrose miocárdica utilizamos como parâmetros de avaliação, como forma de padronização, os termos "fibrose leve" em referência a percentuais de fibrose entre 0 e 4,9%, "fibrose moderada" entre 5% e 14,9% e "fibrose grave" se superior a 15%.[147-151]

3.7 Metodologia para análise genética

3.7.1 Análise das mutações genéticas

Para a extração de DNA utilizou-se a técnica de *salting-out*. Os polimorfismos do gene *MHY7* (rs121913626, rs121913627, rs121913638, rs121913636, rs121913629, rs3218714, rs121913639, rs3218713, rs121913630, rs121913644, rs121913632, rs121913651, rs121913640, rs121913631, rs121913628, rs121913652, rs121913625), da *MIOSINA* (rs104894368, rs104894368, rs104894363), da *TROPOMIOSINA* (rs104894503) e da *TROPONINA T* (rs121964856, rs121964855) foram amplificados por um painel *Multiplex*, no qual em uma única PCR foram amplificados, simultaneamente, fragmentos de todas as regiões de interesse, cada qual a partir dos seus pares de *primers*.

Os fragmentos amplificados foram detectados em gel de agarose 2% e posteriormente purificados pela enzima ExoSAP-IT® (USB Corporation).

Em seguida, os produtos purificados foram submetidos à técnica de mini sequenciamento com o kit SNaPshot® (Applied Biosystems).

Os produtos do mini sequenciamento foram purificados pela enzima *Shrimp Alkaline Phosphatase* (SAP), e então separados por eletroforese capilar em condições desnaturantes utilizando o sequenciador automático *ABI Prism* 3500® (AppliedBiosystems).

Os resultados da eletroforese capilar foram analisados através dos *softwares GeneMapper* 4.1® (AppliedBiosystems) e *Sequencing Analysis* 3.7® (AppliedBiosystems) para fragmentos e sequências, respectivamente.

3.7.2 Análise do polimorfismo da *Aldosterona Sintase*

A análise das variantes do polimorfismo do gene da aldosterona sintase (rs1799998) foi realizada a partir de amostras de sangue venoso periférico, coletadas em tubos tipo *Vaccuntainer* com anticoagulante, na Clínica IC-HUPE por enfermeiros ou bióloga experientes. Após armazenamento sob uma temperatura de 5 a 15 grau *Celsius* (ºC), as amostras foram enviadas para o Laboratório de Diagnósticos por DNA da UERJ para as análises genéticas.

A extração do DNA foi realizada pelo método de *Salting-out* que é realizado da seguinte forma: uma alíquota de sangue total (2 ml) é transferida para um tubo cônico. Adicionam-se 2 mL de tampão de lise de hemácias (TLH), homogeneizando-se a solução contida no tubo e centrifugando-a a 3.000 rpm (rotações por minuto) por 5 minutos. Terminada a centrifugação descarta-se o sobrenadante. Observa-se a presença de um *pellet* que é desprendido manualmente e a este são acrescentados 500 µL de tampão de lise de célula e 30 µL de proteinase K (20mg/ml). Homogeneíza-se o tubo manualmente e incuba-se a 37°C por 12 horas. Após a digestão, adicionam-se 300 µL de NaCl 6M e faz-se o agito da solução por cerca de 30 segundos. O tubo é centrifugado por 10 minutos a 3.000 rpm. O sobrenadante é transferido para um novo tubo cônico, adiciona-se a este 1ml de etanol gelado, homogeneíza-se o tubo e descarta-se o etanol. Observa-se a precipitação de DNA após o descarte do álcool. Ao precipitado são adicionados 300 µL de TE e a amostra é mantida a -20°C.

Foram utilizadas as técnicas da reação em cadeia da polimerase, associada à técnica de fragmentação de DNA com enzimas de restrição (PCR-RFLP) para detectar o polimorfismo -344T/C CYP11B2 com ligeiras modificações do método. O PCR para o polimorfismo -344T / C foi realizada utilizando iniciador senso 5'-GTG TCA GGG GGG CAG GTA-3 ' e iniciador anti-senso 5'-CGT GGG AGG GTC TGG ACT-3'. O DNA foi amplificado durante 35 ciclos com desnaturação a 94° C durante 30 segundos, anelamento a 60° C durante 30 segundos e extensão a 72° C durante 1 minuto. Os produtos da PCR amplificados de 228 foram digeridos com uma endonuclease de restrição, *Hae*III a 37 ° C durante 16 horas.

Através de sangue coletado de cada paciente foi realizada a genotipagem da amostra que pode ser dividida em três subtipos de polimorfismos da aldosterona sintase:

- TT: alelo T + alelo T;
- TC: alelo T + alelo C;
- CC: alelo C + alelo C.[158]

3.7.3 Análise dos miRNA

Para a extração dos microRNA e seus RNA mensageiros (RNAm) alvo foi utilizado *The PAXgene Blood miRNA kit* (QIAGEN/BD Company®) a partir do sangue total coletado com os tubos *PAXgene*, seguindo as orientações do fabricante. RNA total > 18 nt (incluindo miRNA) é purificado das amostras de sangue estabilizadas utilizando tecnologia *PAXgene* de membrana de sílica. Os RNA extraídos foram imediatamente armazenados no refrigerador -80ºC até o momento da construção do DNA complementar (cDNA).

As amostras de RNA foram quantificadas por fluorimetria por meio do equipamento *Qubit 3.0*® e kits específicos para quantificação de RNA total (*Thermo Scientific*®), com a finalidade de mensurar a concentração dos RNA em cada amostra. A partir das concentrações obtidas, as amostras foram diluídas de acordo com as instruções do fabricante.

O passo seguinte consistiu na obtenção dos cDNA por reação com transcriptase reversa, seguida de análise de expressão por PCR em tempo real (RT-PCR), utilizando os reagentes dos kits *miScript II RT* e *miScript SYBR Green PCR* (Qiagen® GmbH, Hilden, Alemanha), respectivamente, seguindo as instruções do fabricante.

A análise de expressão foi realizada no equipamento *ABI 7500 Fast PCR System*® (Thermo Fisher Scientific, MA), sob as seguintes condições: 1 ciclo à 95ºC por 1 minutos, 1 ciclo à 95ºC por 15 minutos e 40 ciclos à 94ºC por 15 segundos, à 60ºC por 30 segundos e à 70 ºC por 34 segundos, utilizando para além do kit de RT-PCR os *primers Hs_miR-21_2 miScript Primer Assay* (MS00009079) e *Hs_miR-29a_1 miScript Primer Assay* (100) (MS00003262) para os miRNA 21 e 29a, respectivamente. Para normalização foi utilizado a estratégia gene endógeno (RNU6: Hs_RNU6-2_11 – miScript Primer Assay - MS00033740 - Qiagen® GmbH, Hilden, Alemanha) e cálculo da expressão relativa através do método ΔΔCt (Life Technologies®, CA, USA).

4 FINANCIAMENTO

Este estudo faz parte de um projeto desenvolvido pelo Serviço de Cardiologia do HUPE intitulado: *Cardiomiopatia hipertrófica: análise do perfil epidemiológico, clínico, genético, laboratorial e de imagem de uma população do estado do Rio de Janeiro*, que conta com o financiamento parcial da Fundação Carlos Chagas Filho de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro (CAAE: 23561113.2.0000.5259).

Tal verba foi utilizada na compra parcial de insumos para o laboratório de genética e biologia molecular e um novo aparelho de ecocardiografia para o serviço de cardiologia.

A verba para compra das medicações do estudo e parte dos insumos foi financiada pela pesquisadora principal.

5 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Todos os dados obtidos foram analisados por computador *Apple-Macintosh*, através do programa estatístico *SPSS (Statistical Package for Social Sciences) for Windows*, versão 17.0 de 2008. Em todos os testes utilizados, fixou-se em 0,05 ou 5% ($p<0,05$) como nível de rejeição da hipótese de nulidade e intervalo de confiança de 95%. As medidas de tendência central foram expressas como média ± desvio padrão.

Foram utilizados os seguintes testes estatísticos:

a) Teste do Chi-quadrado (χ^2) e Exato de Fisher: utilizado para a comparação das distribuições de frequência das variáveis de amostras independentes. As associações envolvendo variáveis categóricas estão expressas em contagem e percentual por grupo (CR ou TM)

b) Análise de Variância (ANOVA): utilizado para a comparação das médias de variáveis de três ou mais amostras que apresentem distribuição normal e haja homogeneidade das variâncias pelo teste de Levene.

c) Teste t: As associações envolvendo variáveis numéricas com distribuição Normal estão expressas em média e desvio padrão (SD).

d) Teste Mann- Whitney: As associações envolvendo variáveis numéricas com distribuição não Normal estão expressas em mediana e intervalo interquartil (IQR).

e) O N amostral foi calculado pela seguinte fórmula: [159]

$$n = \frac{\sigma^2 . p.q.N}{e^2.(N-1) + \sigma^2 . p.q}$$

6 RESULTADOS

6.1 Características clínicas e hemodinâmicas da população estudada

Foram incluídos 53 pacientes entre setembro de 2014 e abril de 2016. Os pacientes foram acompanhados por um mínimo de 21 meses (mais de oito consultas por paciente), tendo sido a última avaliação realizada em janeiro de 2018. Durante 18 meses os pacientes fizeram uso de espironolactona ou placebo.

Na Tabela 2 são descritas as características clínicas da população estudada.

Tabela 2 - Características clínicas da população

Variável	População geral (n=53)	Espirono. (n=26)	Placebo (n=27)	P
Sexo Masculino (%)	26 (49)	12 (46)	14 (51)	0,786
Média de idade anos	48,6	48,8	48,5	0,942
Negros (%)	15 (28)	9 (34)	6 (22)	0,676
IMC (média)	27,3	27,3	27,3	0.995
Tempo de sintomas (mediana/anos)	12,3	10	13	0,418
Mutação encontrada (%)	23 (43)	11 (42)	12 (44)	0,782
Fenótipo Apical (%)	6 (11)	4 (15)	2 (7,4)	0,9
HAS (%)	30 (56)	15 (57)	15 (55)	1
DM (%)	6 (11)	3 (11)	3 (11)	1
AVC (%)	2 (3,7)	0	2 (7,3)	0,490
Tabagismo (%)	6 (11)	3 (11)	3 (11)	1
Fibrilação atrial (%)	6 (11)	1 (3,8)	5 (18,5)	0,9
CF da NYHA ≥II (%)	39 (73)	20 (73)	19 (69,2)	0,768
Disfunção diastólica >I (%)	18 (33,9)	11 (42,3)	7 (25,9)	0,389
Disfunção sistólica (%)	3 (5,6)	1 (3,8)	2 (7,4)	1
Fibrose grave(RM) (%)	3 (5,6)	2 (7,7)	1 (3,7)	0,684
Dispneia (%)	36 (66)	19 (73)	17 (61,9)	0,559
Angina (%)	26 (49)	13 (50)	13 (48)	1
Sincope (%)	6 (11)	5 (19)	1 (3,7)	0,1
SAM (%)	15 (28,3)	8 (32)	7 (25)	0,762
Gradiente TSVE ≥ 40 (%)	22 (41)	14 (53)	8 (29)	0,389
IM > leve (%)	4 (7,5)	2 (7,7)	7,4 (2)	0,471
FC≤ 70bpm (%)	30 (56,6)	17 (65)	13 (48)	0,271

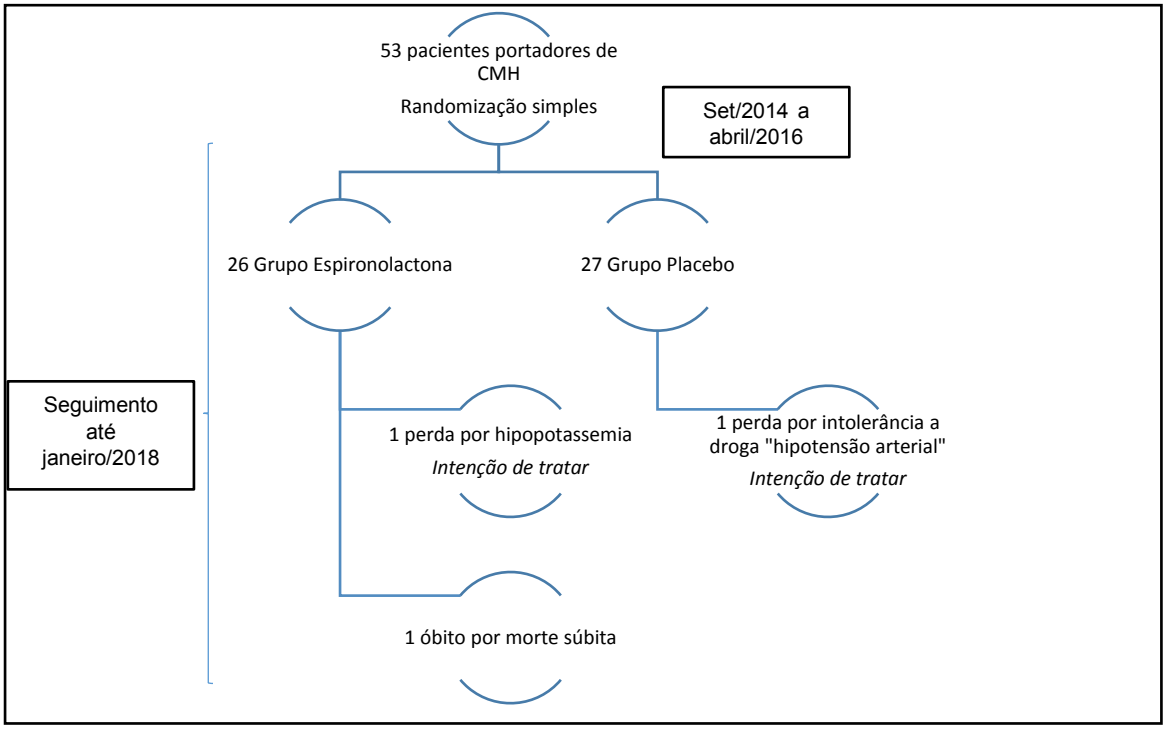
Legenda: Espirono: Espironolactona, IMC: índice de massa corporal, HAS: hipertensão arterial sistêmica, DM: diabetes miellitus, AVC: acidente vascular cerebral, CF: Classe funcional, NYHA: New York Heart Association, RM: Ressonância magnética, SAM: Movimento sistólico anterior da valva mitral, TSVE: Trato de saída do ventrículo esquerdo, IM: Insuficiência mitral, FC: Frequência cardíaca.

Fonte: A Autora, 2019.

Ao longo do seguimento houve um óbito (morte súbita) no grupo que fez uso de espironolactona.

Quanto a tolerância do fármaco em estudo, em apenas um paciente de cada grupo foi suspensa a medicação. Um dos pacientes referiu intolerância por hipotensão arterial sistêmica e lipotimia e em um segundo caso houve hiperpotassemia. Em ambos os casos os pacientes foram seguidos pela "intenção de tratar". Na Figura 2 é descrito o fluxograma da inclusão e seguimento no estudo, assim como as perdas em cada um dos grupos.

Figura 2- Fluxograma de inclusão e seguimento

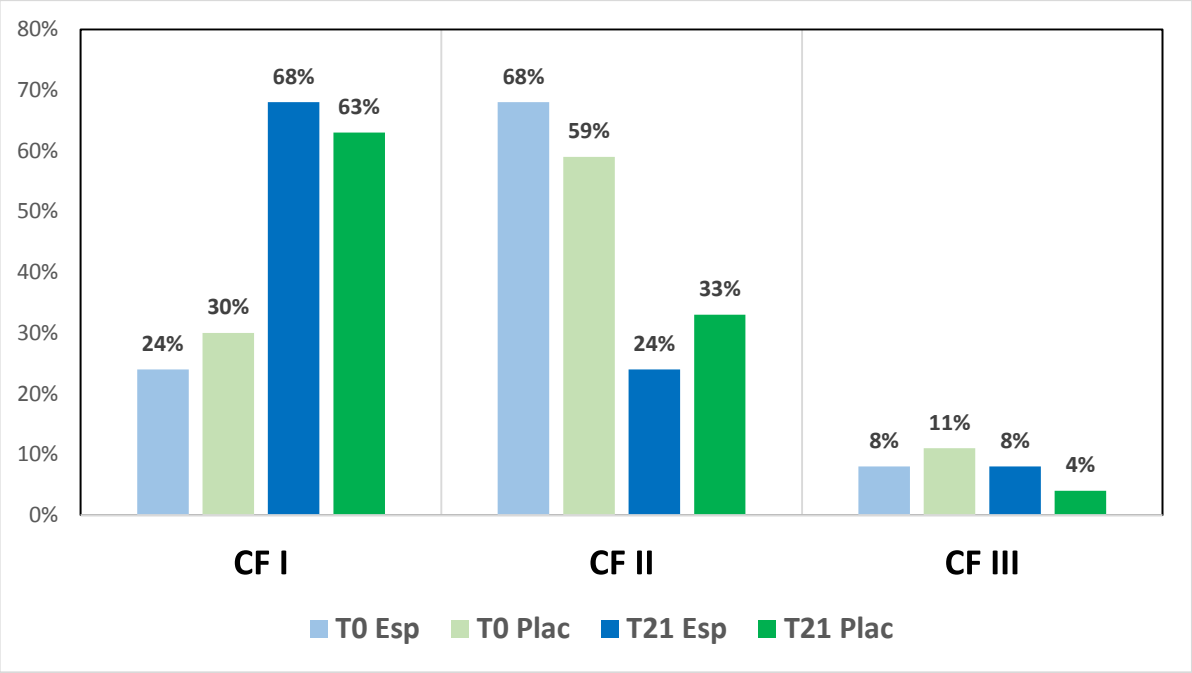


Fonte: A Autora, 2019.

Na admissão 39 pacientes (73%) apresentavam sintomas (classe funcional NYHA superior a II) e ao final do seguimento apenas 18 pacientes referiam sintomas (33%). Se comparados os grupos espironolactona e placebo, em ambos, ao longo dos 21 meses de seguimento houve melhora da classe funcional (Figura 3).

No grupo que usou espironolactona, no momento da inclusão no estudo, apenas 3 pacientes apresentavam-se em classe funcional I NYHA, após o período de seguimento 17 pacientes (p= 0,024).

Figura 3 – Avaliação percentual da evolução dos sintomas pela classe funcional da NYHA

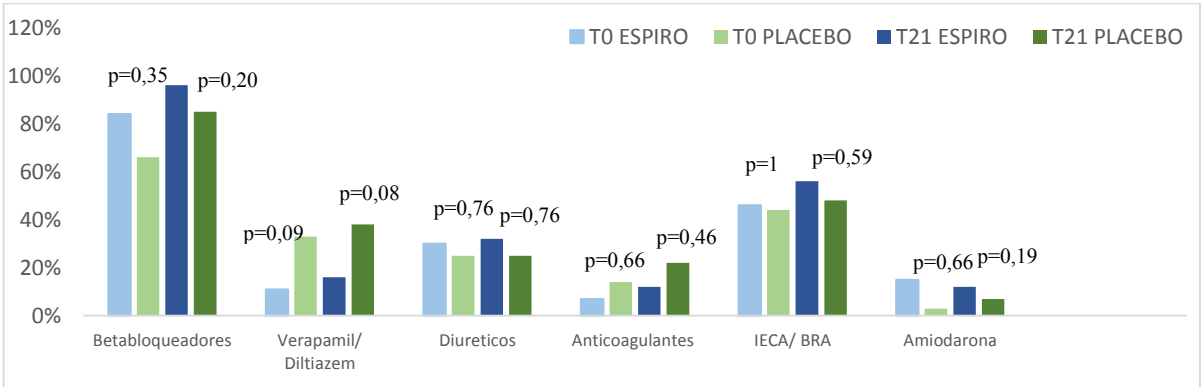


Legenda: CF :Classe funcional, T0: Inclusão, T21: Consulta final, Esp: Espironolactona, Plac: Placebo.
Fonte: A Autora. 2019.

No grupo que usou placebo, no momento da inclusão no estudo, 8 pacientes apresentavam-se em Classe funcional I NYHA, após o período de seguimento 17 pacientes (p= 0,018).

Quanto a prescrição dos pacientes, na comparação do momento da inclusão e seguimento temos grande homogeneidade. Não houve diferenças com significância estatística entre os grupos ao longo do tempo (Figura 4).

Figura 4 - Prescrição de medicamentos ao longo do seguimento



Legenda: IECA: Inibidores da enzima conversora da Angiotensina; BRA: Bloqueadores dos receptores da Angiotensina.
Fonte: A Autora, 2019.

Avaliada a influência do controle adequado da FC (definida como FC ≤ 70bpm) na melhora sintomática apresentada pela amostra em questão ao longo do seguimento. Na Tabela 3 observa–se que não houve associação estatisticamente significativa para essa relação.

Tabela 3 - Influência do controle de FC na melhora de sintomas ao longo do seguimento

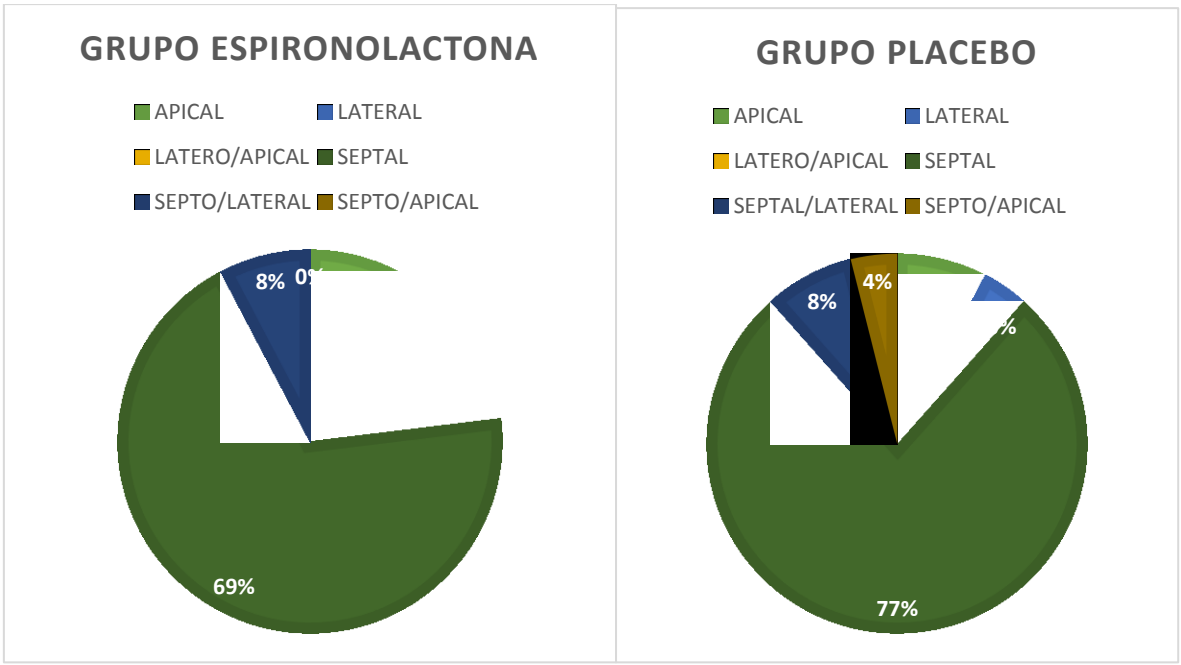
	FC ≤ 70bpm T0	**FC ≤ 70bpm T21**	**P**
CF NYHA T0 I	9	5	0,696
CF NYHA T0 II	19	15	
CF NYHA T0 III	2	3	
CF NYHA T21 I	19	15	0,327
CF NYHA T21 II	7	8	
CF NYHA T21 III	3	0	

Legenda: CF: Classe funcional; NYHA: New York Heart Association, FC: frequência cardíaca, T0: inclusão; T21: Final do seguimento
Fonte: A Autora, 2019.

Ao avaliar a presença de fibrilação atrial na população do estudo observamos que seis (11%) pacientes foram incluídos já em ritmo de fibrilação atrial. Não houve diferença entre os grupos espironolactona e placebo(p=1). Ao longo do seguimento não houve novos casos de fibrilação atrial.

Quanto ao fenótipo, houve predomínio do padrão septal entre os dois grupos analisados (Figura 5).

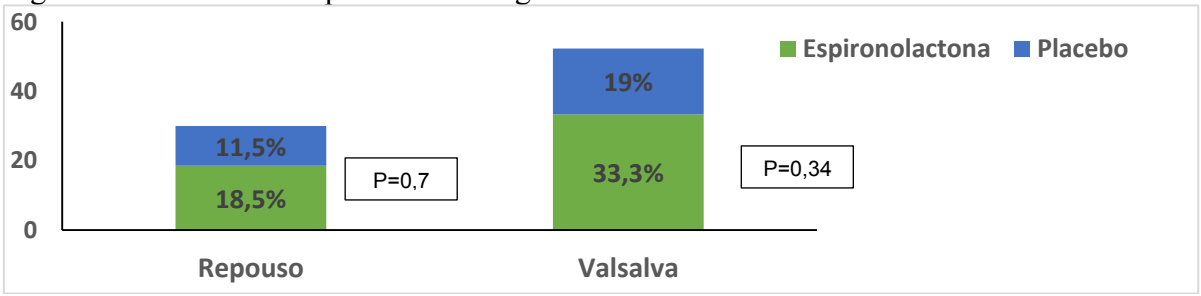
Figura 5 - Distribuição fenotípica entre os grupos espironolactona e placebo



Fonte: A Autora, 2019

Na Figura 6 foram descritos os grupos em relação a presença ou não de gradiente obstrutivo em TSVE. No grupo que fez uso de espironolactona 5 pacientes apresentavam gradiente obstrutivo em repouso e 9 após a manobra de Valsalva, um total de 14 (53%) pacientes portadores de CMH em sua forma obstrutiva. Já no grupo placebo, 3 pacientes apresentavam gradiente obstrutivo em repouso e 5 após manobra de Valsalva, 8 pacientes (29%) portadores de CMH em sua forma obstrutiva. Ainda em relação forma obstrutiva da CMH, não foi encontrada diferença estatisticamente significativa entre os grupos (p=0,70 para a avaliação do gradiente TSVE em repouso e p=0,34 após manobra de Valsalva).

Figura 6 – Percentual de pacientes com gradiente obstrutivo de TSVE



Fonte: A Autora, 2019.

6.2 Avaliação da Fibrose miocárdica

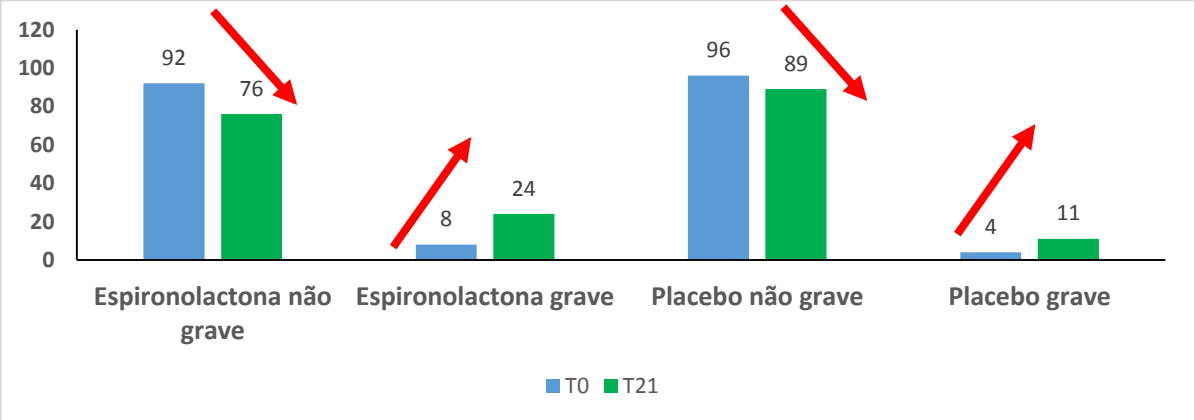
Avaliado percentual de fibrose miocárdica descrita pelas RM realizadas antes e após do uso de espironolactona e placebo. Nota – se uma diminuição do número de pacientes que apresentavam fibrose grave ao final do seguimento no grupo que fez uso de espironolactona, no entanto, não houve diferença estatística significativa entre os grupos ao longo do tempo (Tabela 4 e Figura 7).

Tabela 4 - Avaliação da fibrose miocárdica pela RM entre os grupos ao longo do seguimento

	*Espironolactona (N=27)**	*Placebo (N=26)*	*P*
Fibrose Não grave T0	25(92%)	26(96%)	0,68
Fibrose grave T0	2(8%)	1(4%)	
Fibrose Não grave T21	19(76%)	24(89%)	0,11
Fibrose grave T21	6(24%)	3(11%)	

Fonte: A Autora, 2019.

Figura 7 - Avaliação da fibrose miocárdica pela RM entre os grupos ao longo do seguimento



Fonte: A Autora,2019.

Avaliada função sistólica de ventrículo esquerdo nas RM realizadas no início e final do seguimento. Em nenhum dos pacientes incluídos foi descrita disfunção sistólica grave. Buscou–

se, então, a relação entre presença ou não de fibrose grave e sua associação com a evolução da disfunção sistólica durante o período de seguimento (Tabela 5).

Tabela 5 – Relação entre o percentual de fibrose miocárdica e disfunção sistólica (VE) pela RM

T21	**Fibrose Grave**	**Fibrose Não grave**	**P**
Disfunção sistólica leve (T21)	3	0	**0,0204**
Disfunção sist. Moderada (T21)	2	0	
Função sistólica normal (T21)	20	27	
T0	**Fibrose Grave**	**Fibrose não grave**	**P**
Disfunção sistólica leve (T21)	3	0	0,164
Disfunção sist. Moderada (T21)	1	1	
Função sistólica normal (T21)	20	27	

Legenda: T21: 21 mês de seguimento; T0: inclusão no estudo, VE: Ventrículo esquerdo.
Fonte: A Autora, 2019.

Houve associação entre a presença de disfunção sistólica e fibrose grave na RM ao final do seguimento.

6.3 Avaliação das mutações patogênicas

Na avaliação genotípica dos pacientes foram avaliados os polimorfismos do gene beta miosina de cadeia pesada(MHY7), miosina, tropomiosina e da troponina T. Investigadas 25 das mutações mais frequentemente descritas como patogênicas (Quadro 2).

Quadro 2 - Mutações patogênicas pesquisadas e número de pacientes em que foram encontradas

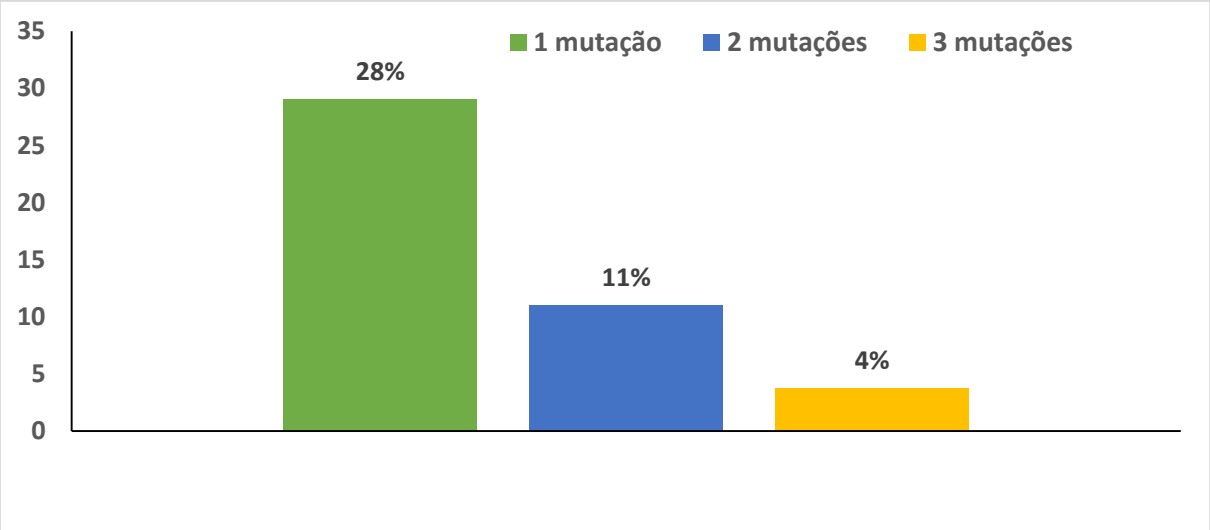
MUTAÇÃO	GENE	PROTEINA MUTADA	NÚMERO DE PACIENTES
GLY256GLU	MHY7	GLY148	3
GLY584ARG	MHY7	GLY227.1F	1
VAL606MET	MHY7	GLY227.2F	2
GLY716ARG	MHY7	GLY394.1F	1
PHE513CYS	MHY7	GLU166.2F	0
GLU949LYS	MHY7	GLU280	6
GLU483LYS	MHY7	GLU166.1F	0
ARG403TRP	MHY7	ARG219	0
GLU935LYS	MHY7	GLU234	0
ARG249GLN	MHY7	ARG249	0
ARG723CYS	MHY7	GLY394.2F	0
ALA728VAL	MHY7	GLY394.3F	0
GLY741ARG	MHY7	GLY394.4F	0
MET349THR	MHY7	MET198	1
LEU908VAL	MHY7	LEU170.1F	7
GLU924LYS	MHY7	LEU170.2F	0
GLU1883LYS	MHY7	GLU202	6
ARG453CYN	MHY7	ARG283	0
ARG403GLN	MHY7	ARG300.SR	0
GLU22LYS	Miosina	GLU188	4
PRO94ARG	Miosina	PRO326	1
ALA13THR	Miosina	ALA106	0
ASP175ASN	Tropomiosina	ASP416	0
ARG92GLN	Troponina T	ARG138	1
ILE79ASN	Troponina T	ILE236	0

Legenda: ARG: Arginina, TRP: Triptofano, GLU: Glutamato, LYS: Lisina, GLN: Glutamina, CYS: Cisteina, ALA: Alanina, VAL: Valina, GLY: Glicina, MET: Metionina, THR: Treonina, LEU: Leucina, CYN: Cistina, PRO: Prolina, ASP: Aspartato, ASN: Asparagina, ILE: Isoleucina

Fonte: A Autora, 2019.

Foram colhidas 53 amostras para avaliação do DNA. Em 30(57%) pacientes não foram encontradas mutações patogênicas. Em 15 pacientes (28%) foram encontradas apenas uma mutação patogênica. Em 6 pacientes (11%) encontradas 2 mutações patogênicas e em 2 pacientes (4%) encontradas 3 mutações patogênicas (Figura 8). Como anteriormente descrito, um dos pacientes da amostra faleceu por morte súbita ao longo do seguimento. Este paciente apresentava 3 mutações patogênicas.

Figura 8: Avaliação quanto ao percentual de múltiplas mutações por paciente



Fonte: A Autora, 2019.

Quanto a implicação da presença de múltiplas mutações no prognóstico:

- Dois pacientes apresentavam 3 mutações patogênicas: um faleceu por morte súbita ao longo do seguimento e o outro não apresenta disfunção sistólica ou fibrose grave à RM T0 e T21.

- Seis pacientes apresentaram 2 mutações patogênicas: Em apenas um deles foi descrita a presença de fibrose grave, todos os seis apresentavam função sistólica de VE preservada nas RM de T0 e T21.

- Três pacientes apresentaram disfunção sistólica de VE na RM do T0, em nenhum deles foi possível identificar a mutação patogênica.

- Cinco pacientes evoluíram com disfunção sistólica de VE na RM em T21. Em dois deles foi identificada apenas uma mutação patogênica.

- Oito pacientes evoluíram com fibrose grave na RM em T21: 3 pacientes que já tinham fibrose grave no momento da inclusão e outros 5 pacientes. Destes, em apenas um foi descrita sua mutação patogênica.

Dada a baixa prevalência de eventos, optou-se por criar um desfecho combinado de óbito, disfunção sistólica e fibrose grave a RM. Avaliou–se a relação da identificação de múltiplas mutações patogênicas e o prognóstico. Novamente não houve significância estatística (Tabela 6).

Tabela 6 – Avaliação da influência de múltiplas mutações patogênicas identificadas e prognóstico

	RESPOSTA	0 OU 1 MUTAÇÃO	2 OU 3 MUTAÇÕES	P
Desfecho combinado (%)	NÃO	34 (75.6)	6 (75)	1
	SIM	11 (24.4)	2 (25)	

Fonte: A Autora, 2019.

Na Tabela 7 são descritas as características dos pacientes que evoluíram com disfunção sistólica de VE ou fibrose grave à RM ao longo do período de seguimento.

Tabela 7: Descrição do número de mutações patogênicas encontradas dentre os pacientes com disfunção sistólica ou fibrose grave à RM

Paciente	Disf. sist. T0	Disf. sist. T21	Fibrose grave T0	Fibrose grave T21	Espirono.	Mutação (N°)
DSJ	N	N	S	S	S	S(2)
NMN	S	S	S	S	N	N
PCFG	S	N	N	N	N	N
FCM	N	N	S	S	S	N
SRJC	N	N	N	S	S	N
DAP	N	S	N	N	N	S(1)
ALOS	S	S	N	S	S	N
MSO	N	S	N	S	S	N
WLSS	N	S	N	N	N	S(1)
AGP	N	N	N	S	N	N
RBGS	N	N	N	S	N	S(1)

Legenda: Disf. Sist..: Disfunção sistólica, Espirono: Espironolactona, S: Sim, N: Não, N°: número. T0: inclusão, T21: Final do seguimento.

Fonte: A Autora, 2019.

Foi avaliada a associação entre as mutações encontradas individualmente e a evolução para disfunção sistólica ou disfunção diastólica ao longo do seguimento, no entanto não houve significância estatística. Considerando o baixo volume das mutações quando avaliadas individualmente, tentou-se associar as proteínas mutadas (MHY7, Troponina T, Tropomiosina ou miosina) com a evolução para disfunção sistólica ou disfunção diastólica ao longo do seguimento. Mais uma vez não houve significância estatística. Vale ressaltar que não foram descritas na população do estudo mutações na Tropomiosina.

Tentou-se ainda, associar a presença de mutações patogênicas das proteínas sarcoméricas com evolução para fibrose grave à RM. Tal associação também não se mostrou estatisticamente significativa (Tabela 8).

Tabela 8 – Relação entre a presença de mutações nas proteínas sarcoméricas e fibrose grave

VARIÁVEIS	RESPOSTA	FIBROSE GRAVE(N=26)	FIBROSE NÃO GRAVE(N=27)	P
MYH7(%)	NÃO	4(36,4%)	2(15,4%)	0,357
	SIM	7(63,6%)	11(84,6%)	
MIOSINA (%)	NÃO	9(81,8%)	11(84,6%)	1
	SIM	2(18,2%)	2(15,4%)	
TROPONINA T (%)	NÃO	10(90,9%)	13(100%)	0,458
	SIM	1(9,1%)	0	

Fonte: A Autora, 2019.

6.4 Análise do polimorfismo da *Aldosterona sintase*

´Foram descritos os resultados encontrados na avaliação do polimorfismo da *Aldosterona sintase* e seus três subtipos: TT, TC, CC. Nota-se que o subtipo mais frequente na população estudada foi T/C (Tabela 9).

Tabela 9 - Distribuição dos subtipos no polimorfismo da Aldosterona sintase entre os grupos espironolactona e placebo

Subtipos	*Espironolactona (N=26)*	*Placebo (N=27)*	*P*
C/C	3 (11.5%)	2 (7,4%)	0,654
T/C	12 (46.2%)	16 (59,3%)	
T/T	11 (42.3%)	9 (33,3%)	

Fonte: A Autora, 2019.

Buscou-se associação entre os subtipos no polimorfismo da *Aldosterona sintase* e a presença de disfunção sistólica pela RM ou diastólica pelo ecocardiograma na amostra estudada. Tanto a presença de disfunção sistólica quanto a disfunção diastólica foram mais frequentes nos pacientes dos subtipo T/C. Não houve, entretanto, significância estatística para estas associações. (Tabelas 10 e 11).

Tabela 10 - Associação entre o polimorfismo da *Aldosterona sintase* e disfunção sistólica (RM T0)

Subtipos	*Disfunção sistólica leve (n=2)*	*Disfunção sistólica grave (n=1)*	*Normal (n=50)*	*P*
C/C	0 (0,0)	0 (0,0)	5 (10,0)	0,88
T/C	1 (50,0)	1 (100,0)	26 (52,0)	
T/T	1 (50,0)	0 (0,0)	19 (38,0)	

Fonte: A Autora, 2019.

Tabela 11 - Associação entre o polimorfismo da *Aldosterona sintase* e disfunção diastólica (Ecocardiograma)

Subtipos	*Disfunção diastólica> II*	*Prejudicada*	*P*
C/C	2 (5,7)	3 (16,7)	0,242
T/C	21 (60,0)	7 (38,9)	
T/T	12 (34,3)	8 (44,4)	

Fonte: A Autora, 2019.

Posteriormente, avaliados separadamente os grupos espironolactona e placebo quanto a associação entre os subtipos no polimorfismo da *Aldosterona sintase*, presença ou não de disfunção diastólica ao ecocardiograma, fibrose grave e a presença de disfunção sistólica na avaliação das RM de inclusão e ao final do seguimento (Tabelas 12 e 13). Não houve significância estatística para nenhuma das variáveis analisadas no grupo espironolactona. No grupo Placebo houve associação com significância estatística entre pacientes com análise da função sistólica prejudicada e o subtipo C/C.

Tabela 12 - Grupo espironolactona; Associação entre o polimorfismo da *Aldosterona sintase* e função diastólica (Ecocardiograma), função sistólica e fibrose miocárdica (RM de inclusão- T0 e final- T21)

Variáveis	Respostas	C/C (n =3)	T/C (n =12)	T/T (n = 11)	P
Função Diastólica (%)	Disf. Diast.	2 (66.7)	7 (58.3)	6 (54.5)	0,93
	Prejudicada	1 (33.3)	5 (41.7)	5 (45.5)	
Fibrose RM T0 (%)	Não grave	3 (100.0)	11 (91.7)	1 (9.1)	0,866
	Grave	0 (0.0)	1 (8.3)	10 (90.9)	
Fibrose RM T21 (%)*	Não grave	3 (100.0)	9 (75.0)	7 (50.0)	0,562
	Grave	0 (0.0)	3 (25.0)	3 (30.0)	
Função sistólica VE RM T0 (%)	Disf. Leve	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (9.1)	NA
	Disf.Grave	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	
	Normal	3 (100.0)	12 (100.0)	10 (90.9)	
Função sistólica VE RM T21 (%)*	Disf. Leve	0 (0.0)	1 (8.3)	0 (0.0)	0,625
	Disf. Mod	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (10.0)	
	Normal	3 (100.0)	11 (91.7)	9 (90.0)	

Legenda: RM: Ressonância magnética; T0: Momento da inclusão, T21: avaliação final, VE: Ventrículo esquerdo, Disf.: Disfunção, Mod: Moderada, Disf. Diast. Disfunção diastólica. *n= 10 referente a um óbito no seguimento.

Fonte: A Autora, 2019.

Tabela 13 - Grupo Placebo: Associação entre o polimorfismo da *Aldosterona sintase* e função diastólica (Ecocardiograma), função sistólica e fibrose miocárdica (RM de inclusão- T0 e final- T21)

Variáveis	Respostas	C/C(n=2)	T/C(n=16)	T/T(n=9)	P
Função Diastólica (%)	Disf. Diast.	0 (0.0)	14 (87.5)	6 (66.7)	0,024
	Prejudicada	2 (100.0)	2 (12.5)	3 (33.3)	
Fibrose RM T0 (%)	Não grave	2 (100.0)	15 (93.8)	9 (100.0)	0,7
	Grave	0 (0.0)	1 (6.2)	0 (0.0)	
Fibrose RM T21 (%)	Não grave	2 (100.0)	14 (87.5)	8 (88.9)	0,869
	Grave	0 (00.0)	2 (12.5)	1 (11.1)	
Função sistólica RM T0 (%)	Disf.Leve	0 (0.0)	1 (6.2)	0 (0.0)	0,829
	Disf. Grave	0 (0.0)	1 (6.2)	0 (0.0)	
	Normal	2 (100.0)	14 (87.5)	9 (100.0)	
Função sistólica RM T21 (%)	Disf. Leve	0 (0.0)	2 (12.5)	0 (0.0)	0,677
	Disf. Mod	0 (0.0)	1 (6.2)	0 (0.0)	
	Normal	2 (100.0)	13 (81.2)	9 (100.0)	

Legenda: RM: Ressonância magnética; T0: Momento da inclusão, T21: avaliação final, VE: Ventrículo esquerdo, Disf.: Disfunção, Mod: Moderada Disf. Diast: Disfunção diastólica.
Fonte: A Autora, 2019.

6.5 Análise dos miRNA

Avaliada evolução dos níveis séricos de miRNA 21 e 29 ao longo do período de seguimento em ambos os grupos (Tabelas 14 e 15).

Tabela 14 - Variação dos níveis de miRNA 21 entre os grupos espironolactona e placebo ao longo do tempo

miRNA 21 T0	**MÉDIA**	**DP**	**Mínimo**	**Máximo**	**n**	**Missing**
Espironolactona	1,993133	2,322821	2,322821	12,02772	25	1
Placebo	5,497424	16,090018	16,090018	84,67367	27	0
miRNA 21 T18	**MÉDIA**	**DP**	**Mínimo**	**Máximo**	**n**	**Missing**
Espironolactona	5,21925	6.103872 0	0,03231021	22,195	25	1
Placebo	4,086622	4.683454 0	0,22656203	18,12476	27	0

Legenda: miRNA: micro RNA; T0: Momento da inclusão, T21: avaliação final, DP: Desvio padrão.
Fonte: A Autora, 2019.

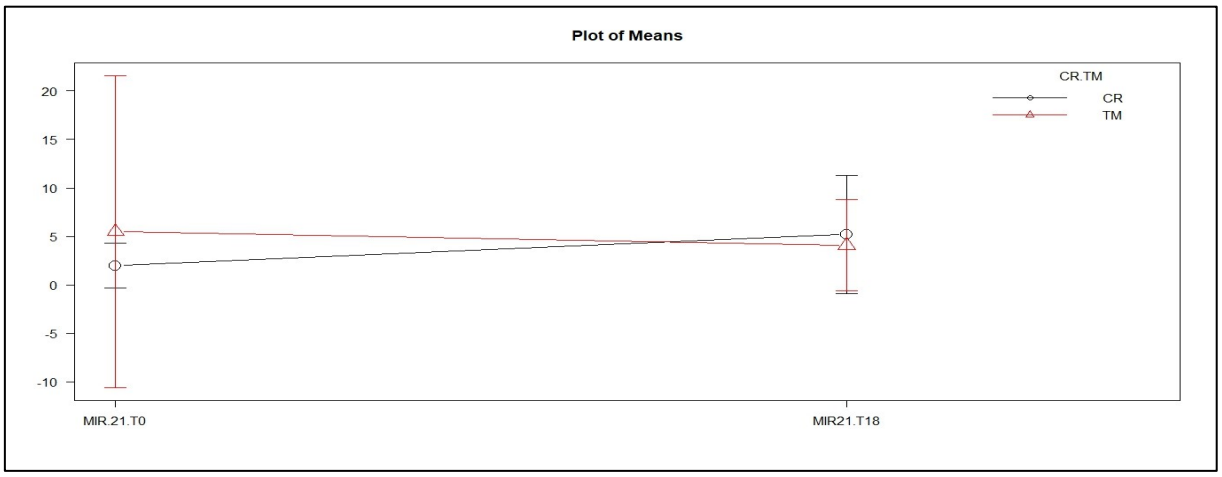
Tabela 15 - Variação dos níveis de miRNA 29 entre os grupos espironolactona e placebo ao longo do tempo

miRNA 29 T0	MÉDIA	DP	Mínimo	Máximo	n	Missing
Espironolactona	62,23874	102,67905	1,031946	457,8944	25	1
Placebo	72,61293	86,66656	1	349,3395	27	0
miRNA 29 T18	**MÉDIA**	**DP**	**Mínimo**	**Máximo**	**n**	**Missing**
Espironolactona	26,24083	29,44833	0,7558982	136,5947	25	1
Placebo	95,35488	162,63273	2,2490404	786,6751	27	0

Legenda: miRNA: micro RNA; T0: Momento da inclusão, T21: avaliação final, DP: Desvio padrão.
Fonte: A Autor, 2019.

Posteriormente avaliada a relação entre a evolução do miRNA 21 ao longo do tempo e entre os grupos espironolactona e placebo. Não foi encontrada diferença estatisticamente significativa para estas relações (Figura 9). Diferença entre os grupos ao longo do tempo: p = 0,2063. Diferença entre os grupos: p=0,506. Diferença pelo tempo: p= 0,206.

Figura 9 - Variação dos níveis de miRNA21 ao longo do seguimento

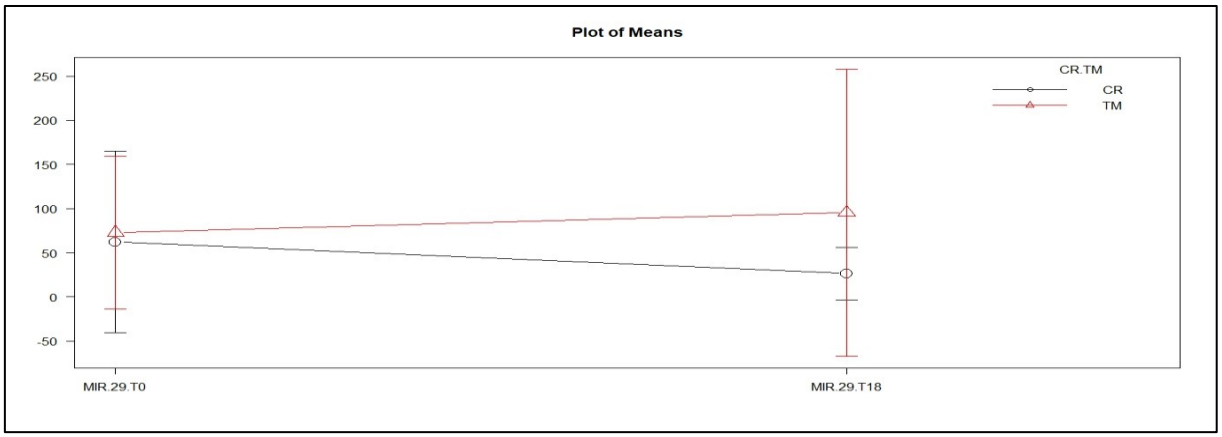


Fonte: A Autora, 2019.

Da mesma forma foi testada a relação entre a evolução do miRNA 29 entre os grupos ao longo do tempo. Nota-se ao longo do seguimento o *down regulation* do miRNA 29 para o grupo que fez uso de espironolactona. Também não houve significância estatística para estas

associações. Diferença entre os grupos ao longo do tempo: p = 0,1361, Diferença pelo tempo: p=0,73, Diferença entre os grupos: p= 0,08 (Figura 10).

Figura 10 - Variação dos níveis de miRNA29 ao longo do seguimento



Fonte: A Autora, 2019.

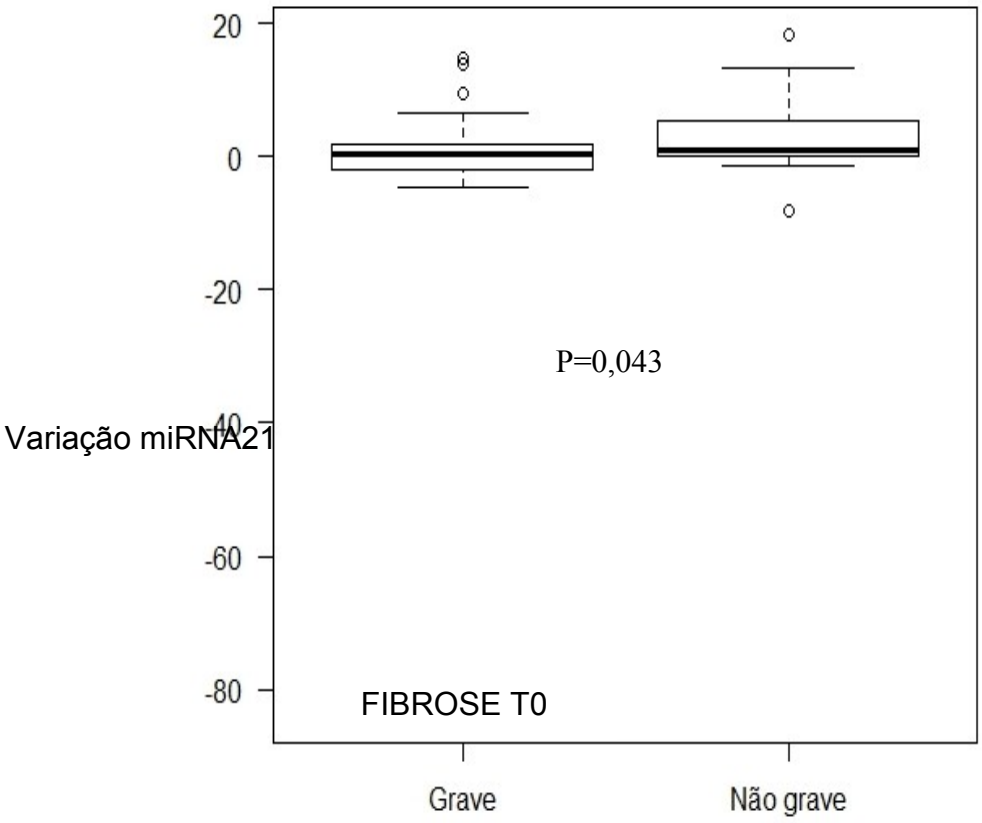
Avaliada ainda, se a variação dos valores de miRNA 21 apresentavam correlação com o grau de fibrose miocárdica pela RM ao longo do seguimento (Tabela 16). Observa – se que pacientes que apresentavam fibrose grave a RM no momento da inclusão evoluíram com elevações estatisticamente significativas de valores deste miRNA (Figura 11).

Tabela 16 - Correlação dos níveis de miRNA 21 ao longo do seguimento e evolução da fibrose miocárdica pela RM

miRNA21	Mínimo	Mediana	Máximo	p
FIBROSE GRAVE T0	-8,223749	0,9492637	18,2911	**0,0438**
FIBROSE NÃO GRAVE.T0	-83,851003	0,3275121	14,94119	
FIBROSE GRAVE T21	-8,223749	0,7220309	18,2911	0,561
FIBROSE NÃO GRAVE T21	-83,851003	0,6447591	14,94119	

Legenda: miRNA: micro RNA; T0: Momento da inclusão, T21: avaliação final.
Fonte: A Autora, 2019.

Figura 11 - Correlação entre a variação do miRNA21 ao longo do seguimento e presença de fibrose grave a RM à inclusão



Fonte: A Autora, 2019

A mesma avaliação foi realizada para os níveis de miRNA 29. A evolução de miRNA 29, no entanto, não se correlacionou com a evolução da fibrose miocárdica a RM (Tabela 17).

Tabela 17 - Correlação dos níveis de miRNA 29 ao longo do seguimento e evolução da fibrose miocárdica pela RM

miRNA 29	Mínimo	Mediana	Máximo	p
FIBROSE GRAVE T0	-282,3189	-0,3455788	614,15988	0,848
FIBROSE NÃO GRAVE T0	-391,2991	3,134751	363,09504	
FIBROSE GRAVE T21	-282,3189	1,598265	614,15988	0,215
FIBROSE NÃO GRAVE T21	-391,2991	-2,9798538	92,50311	

Legenda: miRNA: micro RNA; T0: Momento da inclusão, T21: avaliação final.
Fonte: A Autora, 2019.

7 DISCUSSÃO

A despeito de representar a cardiopatia genética mais comum, CMH tem baixo número de publicações com foco em terapia farmacológica desde sua descrição inicial há cerca de cinquenta anos. Além disso, as publicações existentes em maioria envolvem poucos pacientes, as amostras costumam ser heterogêneas e os desfechos analisados, em geral não avaliam o impacto das drogas na história natural desta doença. Por esta razão, desenvolver terapias farmacológicas baseadas em evidências tornou se uma prioridade.[8,85]

Assim como descrito para outras doenças genéticas, há algumas limitações ao se pensar em desenvolver estudos randomizados em CMH. Dada a prevalência desta cardiopatia na população geral, os estudos deverão partir de centros terciários especializados.[1,2,3,4,5,85] Além disso, as taxas de eventos cardiovasculares como morte, morte súbita, acidente vascular cerebral e IC com fração de ejeção reduzida são baixas entre os portadores desta doença. Portanto, estudos que avaliem prognóstico ou benefício de alguma terapia necessitam envolver grandes amostras populacionais em longos períodos de seguimento.[1,51,56,63,64,85]

Os inibidores da aldosterona, dos quais a espironolactona é um dos representantes, são medicamentos efetivos em melhorar a morbimortalidade e a taxa de hospitalização de pacientes portadores de IC com fração de ejeção reduzida e sintomáticos. [1,32,85,90,160]

Os níveis de aldosterona parecem estar aumentados no miocárdio de pacientes portadores de CMH. Tal fato contribui para a hipótese de que a aldosterona estaria envolvida nos mecanismos de remodelamento cardíaco.[31,85,87,90]

Em 2004, um estudo que utilizou ratos como modelos de CMH humana, mostrou benefícios da espironolactona em reverter a fibrose miocárdica e na melhora da função diastólica.[29]

Em um grande estudo multicêntrico envolvendo 3445 pacientes portadores de IC com fração de ejeção preservada sintomáticos, os inibidores da aldosterona (espironolactona) não mostraram benefício em sobrevida. No entanto, houve menor número de hospitalizações no grupo de pacientes tratados com espironolactona. Além disso, análises de subgrupos questionam a qualidade da administração ou controle da droga ao longo do seguimento por alguns centros (Rússia e Geórgia). Se avaliados apenas os centros pesquisadores americanos a espironolactona foi claramente superior ao placebo na prevenção de eventos cardiovasculares.[161,162]

Por tratar-se de um fármaco pertencente a classe dos diuréticos poupadores de potássio e também por apresentar propriedades anti-androgênicas, havia grande preocupação quanto a tolerância da droga.[160] Ao longo do seguimento, apenas em dois casos houve suspensão da espironolactona. Em um dos casos, a suspensão foi motivada por hipotensão arterial. Como foi um paciente incluído no grupo que fez uso de placebo, certamente o efeito hipotensor não se relacionava a utilização da droga. No outro caso, em um paciente em uso de espironolactona, a suspensão foi secundária a hiperpotassemia, um dos efeitos adversos esperados. Feita a reintrodução da espironolactona ao final de duas semanas, mas pela recidiva da hiperpotassemia optou-se por suspensão definitiva da droga e acompanhamento deste paciente por intenção de tratar.

A fibrose miocárdica efetivamente quantificada pela técnica de realce tardio na RM, vem sendo correlacionada a um pior prognóstico na CMH. Pacientes que apresentam fibrose miocárdica grave têm maior chance de morte súbita e evolução para disfunção sistólica de ventrículo esquerdo.[1,147,151] Como previamente mencionado, a taxa anual de eventos cardiovasculares maiores é pequena nesta doença. Por esta razão foi utilizada a evolução da fibrose miocárdica avaliada pela técnica de realce tardio na RM como desfecho principal do presente estudo.

Ao descrever a população analisada, observa-se que a randomização simples foi adequada em promover grupos “espironolactona” e “placebo” de características bastante semelhantes. Os pacientes são relativamente jovens, de raça predominantemente branca, equilibrada entre os sexos em acordo com as expectativas baseadas nas populações de CMH descritas pela literatura.[1]

A grande maioria dos pacientes era sintomática no momento da randomização e, em geral os sintomas vinham evoluindo ao longo de anos. Por se tratar de ambulatório de referência, tal achado era esperado. O controle sintomático foi feito predominantemente com uso de betabloqueadores e bloqueadores dos canais de cálcio em acordo com as recomendações internacionais.[1] Ainda em relação ao controle dos sintomas ao longo do tempo, em ambos os grupos estudados, houve melhora sintomática com uma maior proporção de pacientes referindo classe funcional inferior a II após 18 meses de seguimento. Como a melhora sintomática foi descrita para ambos os grupos estudados, é provável que o seguimento regular trimestral tenha influenciado na otimização do uso da prescrição médica, com mais efetivo controle de duplo produto cardíaco.

Cerca de um terço dos pacientes, assim como descrito em outros estudos em CMH, apresentava gradiente obstrutivo em TSVE avaliado pelo ecocardiograma transtorácico realizado na inclusão (41%). [70,74]

Na CMH é descrita um prevalência de 5 a 10% de evolução para disfunção sistólica do ventrículo esquerdo.[1] A presença de disfunção sistólica de ventrículo esquerdo foi descrita em 5,6% da população estudada pelos exames de RM realizados entre T0 e T3. Não foi identificada disfunção sistólica pelo ecocardiograma transtorácico bidimensional realizado. Tal diferença pode ser secundária a utilização de definições diferentes para disfunção sistólica entre os métodos.[155, 157]

Cerca de 11% da amostra apresentou fibrilação atrial e vinha em uso de anticoagulação oral. Percentual bastante inferior ao estimado pelos estudos internacionais em CMH, nos quais são descritas prevalências de até 30% de fibrilação atrial associada a essa patologia.[163]

A prevalência de HAS associada a CMH é estimada em cerca de 20%.[164] Na população incluída neste estudo, mais da metade dos pacientes era hipertensa (56%). Seria esperada uma maior prevalência de HAS para uma população mais idosa. Em presença desta associação, a RM cardíaca faz se imprescindível para o diagnóstico diferencial entre cardiopatia hipertensiva e CMH.[165]

Apenas 3 pacientes apresentaram descrição de fibrose grave. Tal fato pode estar relacionado aos critérios de inclusão no estudo. Ao excluir os pacientes portadores de CDI ou MPD, assim como os que foram anteriormente submetidos a alcoolização septal ou miectomia cirúrgica, excluímos a população mais grave de pacientes portadores de CMH, estes possivelmente apresentariam maior percentual de fibrose à RM. A presença de CDI ou MPD tornaria inviável a realização de RM nos aparelhos disponíveis para o estudo. Da mesma forma, tanto a alcoolização septal como a miectomia cirúrgica podem promover cicatrizes (fibrose) após o procedimento e poderiam prejudicar a avaliação do percentual de substituição miocárdica por fibrose a RM.

Em 2018, Maron e cols. publicaram um estudo de um único centro norte americano bastante semelhante ao aqui apresentado. Foi incluída uma amostra de também 53 pacientes. Estes pacientes foram acompanhados por período inferior: 12 meses. Foram randomizados 1:1 para uso de espironolactona em dose duas vezes maior, 50mg ao dia ou placebo.[90] As características da população avaliada em muito se assemelham as características da população incluída no presente estudo, eram discretamente mais jovens na população norte americana e com maior número de homens incluídos. Nesta população, a espironolactona 50mg ao dia por 12 meses não mostrou benefício em redução de fibrose miocárdica pela RM ou na redução dos

biomarcadores para fibrose ao longo do seguimento. Os autores questionaram a influência do tempo de seguimento como possível razão para não resposta a espironolactona.[90]

No presente estudo, a espironolactona 25mg utilizada diariamente por 18 meses mostrou redução da "fibrose grave" em relação ao placebo na evolução do percentual de substituição miocárdica na RM, porém sem diferença estatística significativa, fato que pode ser atribuída a pequeno número de pacientes.

Na amostra estudada, em acordo com achados da literatura internacional, a presença de "fibrose grave" pode ser relacionada a uma maior incidência de disfunção sistólica ao longo do tempo.[1,147,151] No entanto, quando avaliada a influência da espironolactona na evolução dos pacientes em relação a função sistólica de VE, assim como no estudo norte americano, não houve associação com significância estatística.[90]

Quanto a análise genética, em 43% dos pacientes incluídos foi possível descrever a mutação patogênica relacionada a CMH. A literatura estima uma taxa de 50% de testes genéticos positivos para esta doença.[1,48,55] A menor taxa de testes positivos pode ser explicada pelo estudo de apenas 25 mutações patogênicas. Sabe-se que há mais de 1500 mutações patogênicas descritas para CMH.[1] As mutações da MYH7 foram as mais comuns nesta população, também em acordo com a literatura mundial.[1,48,55]

Avaliada a associação entre a identificação das mutações patogênicas e a presença de disfunção sistólica ou maior percentual de substituição miocárdica por fibrose. Não foi possível, no entanto, estabelecer relação entre a presença de mutações patogênicas identificadas e a evolução dos pacientes quanto ao percentual de fibrose miocárdica descrito pela RM ou função sistólica ao longo do seguimento. O tamanho amostral assim como o ainda pequeno número de mutações patogênicas testadas podem ter contribuído para que essa associação tenha sido negativa.

Além disso, a presença de múltiplas mutações patogênicas em um mesmo indivíduo vem sendo associada a um pior prognóstico evolutivo na CMH. [51, 112-114] Foram encontradas 3 mutações patogênicas em dois pacientes (4%). Em um destes casos, o pacientes evoluiu com morte súbita ao longo do seguimento. Já o outro paciente não apresentou disfunção sistólica ou "fibrose grave". Foram ainda descritas duas mutações patogênicas em seis outros pacientes (11%), nestes casos também não foi possível estabelecer relação direta entre a presença das múltiplas mutações e o prognóstico. Vale destacar, entretanto, que na população estudada foram descritos 15% de pacientes portadores de múltiplas mutações patogênicas, percentual até três vezes maior que o descrito em outras séries populacionais. [51, 112-114]

Tentou-se ainda, associar os polimorfismos descritos para a *Aldosterona sintase* e a evolução dos pacientes quanto ao percentual de fibrose miocárdica descrito pela RM ou função sistólica ao longo do seguimento. Existem poucos estudos que associam este polimorfismo com a CMH e demonstram resultados conflitantes em relação ao alelo mais associado a esta doença.[56,61] O alelo C vem sendo relacionado a uma maior atividade da *Aldosterona sintase* e, também a alterações estruturais, remodelamento, resposta vasodilatadora e massa ventricular.[134] Na amostra analisada, o polimorfismo mais comum foi C/T, em acordo com resultados apresentados em outras coortes internacionais.[134] Pacientes portadores do alelo C, também nesta população apresentaram uma maior proporção de disfunção sistólica e diastólica de VE. Não houve, entretanto, associação com significância estatística para quaisquer dos polimorfismos e a evolução em relação as funções sistólica ou diastólica de VE ou ainda em relação ao percentual de substituição do miocárdio por fibrose a RM.

Por fim, avaliados os miRNA. Estes são moléculas pequenas de RNA não codificado, relacionadas a regulação da expressão gênica. [125] Os miRNA vem sendo descritos desde 1990, e evidências atuais sugerem que por influir na transcrição de inúmeras proteínas, estejam intimamente ligados a patogênese das doenças cardiovasculares, sejam elas arrítmicas, isquêmicas ou estruturais. Foram escolhidos os miRNA 21 e 29 hoje fortemente associados pela literatura internacional à fibrose miocárdica. [23,25,26] Buscou-se entender o comportamento dos miRNA 21 e 29a ao longo do seguimento dos pacientes portadores de CMH, a influência do uso de espironolactona nos níveis desses miRNA, assim como sua utilidade como marcadores de pior evolução quanto a fibrose miocárdica e disfunção sistólica.

Um estudo Europeu, publicado em 2014, avaliou o comportamento de 21 diferentes miRNA específicos e não específicos do coração em pacientes portadores de CMH. Foram encontrados 12 miRNA cujos níveis séricos estavam elevados naquela população. Destes, somente três tiveram relação com a hipertrofia miocárdica e dentre estes apenas o miRNA 29a pode ser associado a fibrose miocárdica. [125]

Posteriormente em 2015, um outro estudo australiano incluiu 55 pacientes portadores de CMH e avaliou o papel de 30 diferentes miRNA como possíveis biomarcadores de fibrose miocárdica. Nesta população, novamente destacaram-se os miRNA 21 e 29 em associação com a fibrose miocárdica detectada pela RM na técnica de realce tardio. Este estudo fortalece a hipótese de que os miRNA parecem ser eficazes como biomarcadores de fibrose miocárdica na CMH, no entanto seu valor é mais expressivo quando avaliados em combinação de oito diferentes miRNA.[127]

Na amostra populacional avaliada foi possível observar a associação de níveis elevados de miRNA 21 e a presença de "fibrose grave" descrita pela RM. Entretanto, não houve diferença estatística significativa ao se comparar os grupos espironolactona e placebo.

Já em relação ao miRNA 29a, ao longo do seguimento houve um *down grade* de seus níveis no grupo que fez uso de espironolactona, sugerindo evolução do processo de transformação do miocárdio por tecido fibrótico sem influência protetora da droga do estudo. Não houve também associação com significância estatística para a evolução dos níveis de miRNA 29a e a presença de fibrose miocárdica grave ou disfunção sistólica. Tais achados podem ser atribuídos ao período de seguimento, talvez insuficiente para análise de modificações fenotípicas tão expressivas.

Novos estudos randomizados que busquem respostas para a terapêutica farmacológica na CMH são necessários e, a despeito das dificuldades próprias devido as características desta doença, devem ser incentivados.

8 **LIMITAÇÕES**

A taxa de eventos cardiovasculares maiores como morte súbita, morte por causas cardiovasculares, acidente vascular cerebral e evolução para IC com fração de ejeção reduzida é baixa. Desta forma, um desfecho de imagem como o percentual de substituição miocárdica por fibrose identificada e quantificada pela técnica de realce tardio na RM cardíaca foi utilizado para avaliar benefício terapêutico da droga em investigação.

Ao excluir pacientes portadores de marca-passo definitivo e cardiodesfibrilador implantável, assim como os pacientes anteriormente submetidos a alcoolização septal ou miectomia cirúrgica, foram excluídos os pacientes potencialmente mais graves e com maior chance de apresentar maior percentual de substituição miocárdica por fibrose. É possível ter excluído os pacientes que mais benefício teriam do uso da espironolactona.

O tempo de seguimento de dezoito meses, estabelecido com base em estudos experimentais, em especial estudos veterinários, pode ter sido insuficiente para as variações de miRNA e no percentual de substituição miocárdica por fibrose.

Não houve regularidade no agendamento das ressonâncias magnéticas de coração por limitações referentes ao SUS. É possível que variações (máximo de três meses) entre os pacientes tenha influenciado na análise dos resultados.

Não foi possível, por limitações referentes a modificações do laboratório de Ecocardiografia do HUPE, a realização de ecocardiograma transtorácico ao final do seguimento. Perdeu-se, desta forma, a chance de analisar evolutivamente uma ampla gama de variáveis ecocardiográficas de grande importância a esta população.

A análise genética de outras proteínas sarcoméricas frequentemente acometidas na CMH poderia tornar maior o percentual de mutações patogênicas encontradas nesta população.

CONCLUSÕES

A espironolactona não foi capaz de modificar o percentual de substituição de miocárdio por fibrose avaliada pela RM cardíaca nesta população. Além disso, a droga de estudo não foi capaz de modificar sintomas ou prevenir evolução para disfunção sistólica de ventrículo esquerdo.

As mutações patogênicas mais frequentes foram na MYH7. No entanto, as mutações patogênicas encontradas não foram capazes de predizer maior ou menor tendência a fibrose miocárdica grave ou evolução para disfunção sistólica de ventrículo esquerdo.

O polimorfismo genético da *Aldosterona sintase* mais comum foi o T/C. Todavia, a despeito do alelo C ser mais prevalente estre os pacientes que apresentaram disfunções sistólica ou diastólica de VE, para nenhum dos polimorfismos houve associação a maior ou menor tendência a fibrose miocárdica grave ou evolução para disfunção sistólica de ventrículo esquerdo.

A presença de "fibrose grave" na RM pode ser correlacionada a elevação de miRNA 21.

Os níveis séricos de miRNA, no entanto, não pareceram ser influenciados pelo uso de espironolactona. Nem tão pouco, foi possível correlacionar as variações do miRNA com a evolução de função sistólica.

REFERÊNCIAS

1. ELLIOT, P.M. et al. *2014 ESC guidelines on diagnosis and management of hypertrophic cardiomyopathy*. Ear heart J. 2014; 29: 1-55.

2. HADA, I.S. et al. *Prevalence of Hypertrophic cardiomyopathy in a population of adults Japanese workers as detected by echocardiographic screening.* Am J Cardiol 1997; 59: 183-184.

3. NG, C.T. et al. *Prevalence of Hypertrophic cardiomyopathy on an electrocardiogram bases pre participation screening in Young male South*: *East Asian population*. Euro Pace. 2011; 13: 883-88.

4. FREY, N. et al. *Mechanisms of disease: hypertrophic cardiomyopathy.* Nat Rev Cardiol. 2012; 9: 91-100.

5. ASHARAFIAN, H and WATKINS, H. *Reviews of translational mechanisms and genomics in cardiovascular disease: new disease, taxonomy and therapeutic implications cardiomyopathies: therapeutics based on molecular phenotype*. J Am Coll Cardiol. 2007; 49: 1251-1264.

6. VAN, D.S. et al. *Yeld of genetic testing in hypertrophic cardiomyopathy*. Mayo Clin Proc. 2005; 80: 739-44.

7. LOPES, L.R. et al. *Genetic complexity in hypertrophic cardiomyopathy revealed by high – throughout sequencing.* J Med Genetics. 2013; 50: 228-239.

8. FORCE, T. et al. *Research priorities in the Hypertrophic cardiomyopathy: Report of a working group of the National Heart, Lung and Blood institute*. Circulation. 2010; 122: 1130-1133.

9. HO, C.Y. *Genetics and clinical destiny: improving care in hypertrophic myocardiopathy*. Circulation. 2010; 122: 2430-2440.

10. LANDSTROM, A.P. and ACHERMAN, M.J. *Mutation type is not clinically useful in predicting prognosis in hypertrophic cardiomyopathy*. Circulation. 2010; 122: 2441-2449.

11. WARKINS, H et al. *Inherit Cardiomyopathies*. N Engl J Med. 2011; 364: 1643-1656.

12. RAPEZZI, C et al. *Disease profile and differential diagnosis of hereditary trantirretine-related amyloidosis with exclusive cardiac phenotype in an Italian prospective*. Eur Heart J. 2013; 34: 520-528.

13. MCLEOD, C.J. et al. *Histologic characterization of hypertrophic cardiomyopathy with and without myofilaments mutations*. Am Heart J. 2009; 158: 799- 805.

14. WATKINS, H. et al. *Mutation in genes for cardiac troponin T and alfa –tropomyosin in hypertrophic cardiomyopathy.* N Engl J Med. 1995; 332: 1058-1064.

15. NAGUOTH, S.F. et al. *Tissue Doppler imaging consistently detects myocardial abnormalities in patients with hypertrophic cardiomyopathy and provide a novel means for an early diagnosis before and independently of hypertrophy*. Circulation. 2001; 104: 128-130.

16. MARON, B.J. et al. *Sudden death in Young competitive atlethetes*: *Clinical, demographic, and pathological profiles*. JAMA. 1996; 276: 199-204.

17. MORROW, A.G.et al. *Left ventricle myotomy and myectomy in patients with obstructive hypertrophic cardiomyopathy and previous cardiac arrest*. Am J Cardiol. 1980; 46: 313 – 316.

18. SIGWART, U. *Non-surgical myocardial reduction for hypertrophic obstructive cardiomyopathy*. Lancet. 1995; 346: 211-214.

19. MARON, B.J. *Hypertrophic cardiomyopathy: a systematic review*. JAMA. 2002; 287: 1308-1320.

20. MARIAN, A.J. *Hypertrophic cardiomyopathy from genetics to treatment.* Eur J Clin Invest. 2010; 40: 360-369.

21. KONNO, T. et al. *Heterogeneous myocite enhancer factor 2(Mef 2) activation in myocites predicts focal scaring in hypertrophic cardiomyopathy*. Proc Natl Acad Sci U.S. A. 2010; 107: 18097- 18102.

22. MARON, B.J., et al. *Intramural ("small vessels") coronary artery disease in hypertrophic cardiomyopathy*. J Am Coll Cardiol. 1986; 8: 545- 557.

23. BAUERSACHS, J. *Regulation of Myocardial Fibrosis by Micro RNA*. J Cardiovasc Pharmacol. 2010; 56: 454 – 459.

24. LOMBARDI, R., et al. *Myocardial collagen turnover in hypertrophic cardiomyopathy*. Circulation. 2003; 108: 1455-1460.

25. AMBROS, V. *The functions of animal micro RNAs*. Nature. 2007; 446: 444-448.

26. VAN ROOJI, E., OSLON, E.N. *Searching for mir – acles in cardiac fibrosis*. Circ Res. 2009; 104: 138-140.

27. TATSUGUCHI, M., et al. *Expression of micro RNA is dynamically regulated during cardiomyocyte hypertrophy*. J Mol Cell Cardiol. 2007; 42: 1137-1141.

28. VAN ROOJI, E., et al. *Dysregulation of micro RNAs after myocardial infarction reveals a role of mir-R 29 in cardiac fibrosis*. Proc Natl Acad Sci USA. 2008; 105: 13027-13032.

29. TSYBOULEVA, N. et al. *Aldosterone through novel signaling proteins is a fundamental molecular bridge between the genetic defect and the cardiac phenotype of hypertrophic cardiomyopathy*. Circulation. 2004; 109: 1284-1291.

30. MACDONALD, K.A. et al. *Effect of spironolactone on diastolic function and left ventricular mass in Maine Coon cats with familial hypertrophic cardiomyopathy.* J Vet Intern Med. 2008; 22: 235 – 241.

31. GERSH, B.J. et al. *2011 ACCF/AHA Guideline for the diagnosis and treatment of hypertrophic cardiomyopathy: A report of the American College of Cardiology Foundation/ American Heart Association Task Force on Practice Guidelines.* J Am Coll Cardiol. 2011; 58: e212 – 60.

32. PITT, B. et al. *Eplerenone, a selective aldosterone blocker, in patients with left ventricular dysfunction after myocardial infarction*. N Engl J Med. 2003; 348(14): 1309-1321.

33. PITT, B. et al. *The effect of spironolactone on morbidity and mortality in patients with severe heart failure. Randomized Aldactone Evaluation Study Investigators*. N Engl J Med. 1990; 341(10):709-717.

34. ASHRAFIAN, H., MCKENNA, W.J. and WATKINS, H. *Disease pathway and novel therapeutic targets in hypertrophic cardiomyopathy*. Circulation Research. 2010; 109: 86-96.

35. ELLIOT, P. et al. *Classification of the cardiomyopathies: A positional statement from the European Society of Cardiology working group on myocardial and pericardial diseases.* Eur Heart J. 2008; 29: 270-276.

36. MARON, B.J. *Clinical course and Management of hypertrophic cardiomyopathy*. New Engl J Med. 2018; 379: 655-68.

37. ELLIOT, P. *Hypertrophic Cardiomyopathy: Lifelong disease requiring lifelong treatment.* Circulation. 2018; 138: 1399-1401.

38. TEARE, D. *Asymmetrical hypertrophy of the heart in young adults*. Br Heart J. 1958; 20: 1-8.

39. BRAUNWALD, E. et al. *Idiopathic hypertrophic subaortic stenosis. A description of the disease based on an analysis of 64 parents.* Circulation. 1964; 3(4): 3-119.

40. MARON, B.J., MARON, M.S. *Hypertrophic cardiomyopathy*. Lancet 2013: 382; 241-255.

41. MARON, B.J. *Hypertrophic Cardiomyopathy: an important global disease*. Am J Med. 2004; 116: 63-65.

42. OLIVOTTO, I. et al. *Gender related differences in the clinical presentation and outcome of Hypertrophic cardiomyopathy*. J Am Coll Cardiol. 2005; 46: 480-487.

43. MARON, B. J. et al. *Clinical course of Hypertrophic cardiomyopathy in a regional United States cohort.* JAMA. 1999; 281: 650-55.

44. MARON, M.S., et al. *Hypertrophic cardiomyopathy is predominantly a disease of left ventricle outflow tract obstruction*. Circulation. 2006; 114: 2232-39.

45. SEMSARIAN, C. et al. *New perspectives on prevalence of hypertrophic cardiomyopathy*. J Am Coll Cardiol. 2015; 65: 1249-54.

46. MARON, M.S. et al. *Occurrence of clinically diagnosed hypertrophic cardiomyopathy in the United States*. Am J Cardiol. 2016; 117: 1651-54.

47. MARON, B.J., ROWIN, E.J., MARON, M.S.. *Global burden of hypertrophic cardiomyopathy.* JACC Heart Fail. 2018; 6: 376-8.

48. MARON, B.J. et al. *Prevalence of Hypertrophic cardiomyopathy in a general population of young adults: echocardiographic analysis of 4111 subjects in the CARDIA study*. Circulation. 1995; 92: 785-89.

49. ACALAI, R. et al. *Genetic basis of Hypertrophic cardiomyopathy: from bench to the clinics*. J Cardiovasc Eletrophisiol. 2008; 19: 104-10.

50. ACKERMAN, M.J. et al. *Prevalence and age dependence of malignant mutations in the beta myosin heavy chain and troponin T genes in Hypertrophic cardiomyopathy: a comprehensive outpatient's perspective*. J Am Coll Cardiol. 2002; 39: 2042-48.

51. BOS, J.M. et al. *Diagnosis, prognosis and therapeutic implications of genetic testing for Hypertrophic cardiomyopathy*. J Am Coll Cardiol. 2009; 54: 201-11.

52. LANDSTROM, A.P. et al. *Mutations type is not clinical useful in predict prognosis in Hypertrophic cardiomyopathy*. Circulation. 2010; 122: 2441-49.

53. RICHARD, P. et al. *The EUROGENE heart failure Project. Hypertrophic cardiomyopathy: distribution of disease genes, spectrum of mutations and implications for a molecular diagnosis strategy*. Circulation. 2003; 107: 2227-32.

54. MARON, B.J. et al. *Development and progression of left ventricle hypertrophy in children with Hypertrophic cardiomyopathy*. N Engl J Med. 1986; 315: 610-14.

55. MARON, B.J. et al. *Genetics of Hypertrophic cardiomyopathy after 20 years: clinical perspectives.* J Am Coll Cardiol. 2012; 60(8): 705-715.

56. SEN-CHOWDHRY, S. et al. *Update on hypertrophic cardiomyopathy and a guide to the guidelines.* Nature Reviews Cardiol. 2016; 13: 651- 675.

57. MARON, B.J. et al. *Hypertrophic cardiomyopathy in children, adolescents, and young adults associated with low cardiovascular mortality with contemporary management strategies.* Circulation. 2016; 133:62-73.

58. COLAN, S.D. et al. *Epidemiology and cause-specific outcome of hypertrophic cardiomyopathy in children: findings from the Pediatrics Cardiomyopathy Registry*. Circulation. 2007; 115: 773-781.

59. MARON, B.J. et al. *Asymmetric septal hypertrophy in childhood*. Circulation 1976; 53: 9-19.

60. MCKENNA, W. et al. *Prognosis in hypertrophic cardiomyopathy: role of age and clinical electrocardiographic and hemodynamic features*. Am J Cardiol. 1981; 47: 532-538.

61. ZIÓLKOWSKA, L. et al. *Predictors of long-term outcome in children with hypertrophic cardiomyopathy.* Pediatr Cardiol. 2015; 37: 448-458.

62. MARON, B.J. et al. *Hypertrophic cardiomyopathy in adulthood associated with low cardiovascular mortality with contemporary management strategies*. J Am Coll Cardiol. 2015; 65: 1915-1928.

63. SOLER, R. et al. *Phenotypes of hypertrophic cardiomyopathy. An illustrative review of MRI findings.* Insights Imaging. 2018: 9; 1007-1020.

64. O´MAHONY, C. et al. *A novel clinic risk prediction model for sudden cardiac death in hypertrophic cardiomyopathy (HCM risk-SCD).* Eur Heart J. 2014; 35: 2010-2020.

65. OLLIVOTO, I. et al. *Patterns of disease progression in hypertrophic cardiomyopathy: an individualized approach to clinical staging*. Circ Heart Fail. 2012; 5(4): 535-546.

66. ADABAG, A.S. et al. *Determinants for a clinical diagnosis of Hypertrophic cardiomyopathy*. Am J Cardiol. 2006; 98: 1507-11.

67. CONRADO, D. et al. *Screening for Hypertrophic cardiomyopathy in young athletes*. N Engl J Med. 1998; 339: 364-69.

68. SPIRITO, T. et al. *Magnitude of left ventricle hypertrophy and risk of sudden death in Hypertrophic cardiomyopathy*. N Engl J Med. 2000; 342: 1778-85.

69. KLUES, H.G. *Phenotypic spectrum and patterns of left ventricle hypertrophy in Hypertrophic cardiomyopathy: morphologic, observation and significances as assessed by two-dimensional echocardiography in 600 patients*. J Am Coll Cardiol. 1995; 26: 1699-708.

70. SHERRID, M.D., ARABADIJIIAN, M.. *Echocardiography to individualize treatment for Hypertrophic cardiomyopathy.* Progress in Cardiov Disease. 2012; 54: 461-476.

71. BINDER, J., et al. *Echocardiography- guided genetic testing in Hypertrophic cardiomyopathy: septal morphological features predict the presence of myofilaments mutations.* Mayo Clin Proc. 2006; 81: 459-467.

72. NAHJUET, S.R., et al. *American society of echocardiography clinical recommendations for multimodality cardiovascular imaging of patients with Hypertrophic cardiomyopathy: endorsed by American Society of Nuclear Cardiology, Society for cardiovascular Magnetic resonance and society for cardiovascular computer tomography*. J Am Soc Echocardiogr. 2011; 24: 473-498.

73. MATSUBARA, H., et al. *Salutary effect of disopramyde on left ventricular diastolic function in Hypertrophic cardiomyopathy*. J Am Coll Cardiol. 1995; 26: 768-775.

74. JOSHI, S., et al. *Standing and exercising echocardiography in obstructive Hypertrophic cardiomyopathy: the range of gradients with upright activities*. J Am Soc Echocardiog. 2011; 24: 75-82.

75. MARON, M.S., et al. *Effect of left ventricular outflow tract obstruction on clinical outcome in Hypertrophic cardiomyopathy*. N Engl J Med. 2003; 348: 295-303.

76. SHAH, P.M., GRAMIAK, R., KRAMER, D. H.. *Ultrasound localization of left ventricular outflow obstruction in Hypertrophic cardiomyopathy*. Circulation. 1969; 40: 3-11.

77. HOEY, E.T.D., et al. *The role of magnetic resonance imaging in Hypertrophic cardiomyopathy.* Quant Imag Med Surg. 2014; 4(5): 397-406.

78. RICKER, C., et al. *Utility of cardiac magnetic resonance imaging in diagnosis of Hypertrophic cardiomyopathy*. Circulation. 2005; 112: 855-62.

79. ELLIOT, P.M., et al. *Sudden death in Hypertrophic cardiomyopathy*. J Am Coll Cardiol. 2000; 36: 2212-8.

80. BOGAERT, J., OLIVOTTO, I. *MR imaging in Hypertrophic cardiomyopathy: from magnet to bedside.* Radiology. 2014; 237(2): 329 – 348.

81. CHAN, R.H., et al. *Prognostic utility of contrast- enhanced cardiovascular magnetic resonance in Hypertrophic cardiomyopathy: an international multicentric study*. J Am Coll Cardiol. 2012; 59(13): e 1570.

82. CHIANG, Y.P. *Septal myectomy for hypertrophic cardiomyopathy: important surgical knowledge and technical tips in the era of increasing alcohol septal ablation*. Gen Thoracic and Cardiovasc Surg. 2018; 66: 192-200.

83. LIU, L. et al. *Percutaneous, Intramyocardial Septal Radiofrequency ablation for hypertrophic obstructive cardiomyopathy.* JACC. 2018; 72(16): 1898-1909.

84. SORAJJA, P., KATSIYANNIS, W.T., HARRIS, K.M. *Searching for surgical alternatives in hypertrophic cardiomyopathy.* JACC. 2018; 72(16): 1910-1912.

85. SPOLATORE, R., et al. *Pharmacological treatment options for hypertrophic cardiomyopathy: high time for evidence*. Eur Heart J. 2012; 33: 1724-1733.

86. DE RESENDE, M.M.., KRIGEL, A.J.., GREENE, A.S.. *Combined effects of low – dose spironolactone and captopril therapy in a rat model of hypertrophic cardiomyopathy*. J Cardiovasc Pharmacol. 2006; 48: 265-73.

87. ORENES-PINERO, E., HERNANDEZ-ROMERO, D., JOYER, E. et al. *Impact of polymorphism in the renin- angiotensin- aldosterone system on hypertrophic cardiomyopathy.* J Renin Angiotensin Aldosterone Syst. 2011; 12: 521-30.

88. LIM, D.S., et al. *Angiotensin II blockade reverses myocardial fibrosis in a transgenic mouse model of human hypertrophic cardiomyopathy*. Circulation. 2001; 103: 789-791.

89. COOPER, R.M., et al. *New developments in hypertrophic cardiomyopathy*. Can J Cardiol. 2017; 33: 1254-1265.

90. MARON, M.S., et al. *Effect of spironolactone on myocardial fibrosis and other clinical variables in patients with hypertrophic cardiomyopathy.* Am J Med 2018; 131(7): 837-841.

91. AXELSSON, A., et al. *Efficacy and safety of the angiotensin II receptor blocker losartan for hypertrophic cardiomyopathy the INHERIT randomized, double blind, placebo-controlled trial*. Lancet Diabetes Endocrinol. 2015; 3: 123-31.

92. ABZOGUIA, K. et al. *Metabolic modulator Perhexiline corrects energy deficiency and improves exercise capacity in symptomatic hypertrophic cardiomyopathy*. Circulation. 2010; 122:1562-9.

93. GENTRY, J.L.3rd, et al. *Ranolazine for treatment of angina or dyspnea in hypertrophic cardiomyopathy patients (RHYME).* Jam Coll Cardiol. 2016; 68: 1815-7.

94. STERN, J.A., et al. *A small molecule inhibitor of sarcomere contractility acutely relieves left ventricular outflow tract obstruction in feline hypertrophic cardiomyopathy*. PLoS One. 2016; 11:e0168407.

95. JARCHO, J.A., et al. *Mapping a gene for familial hypertrophic cardiomyopathy to chromosome 14q1*. N Engl J Med. 1989; 321: 1372-8.

96. GEISTERFER-LOWRANCE, A.A., et al. *A molecular basis for familial hypertrophic cardiomyopathy: a beta cardiac myosin heavy chain gene missense mutation*. Cell. 1990; 62: 999-1006.

97. CIRINO, A.L., SEIDMAN, C.E., HO, C.Y. *Genetic testing and counseling for hypertrophic cardiomyopathy*. Cardio Clin. 2019; 37: 35-43.

98. AKTAR, M., ELLIOT, P. *The genetics of hypertrophic cardiomyopathy.* Global Cardiology Science and Practice. 2018; 36: 1-9.

99. RANI, B., et al. *Renin-angiotensin system gene polymorphisms as potential modifiers of hypertrophic and dilated cardiomyopathy phenotypes*. Mol Cell Biochem. 2017; 427(1-2): 1-11.

100. KOLDER, I.C., et al. *The role of renin-angiotensin-aldosterone system polymorphisms in phenotypic expression of MYBPC3-related hypertrophic cardiomyopathy*. Eur J Hum Genet. 2012; 20(10): 1071-7.

101. WATKINS, H., et al. *Characteristics and prognostic implications of myosin missense mutations in familial hypertrophic cardiomyopathy*. N Engl J Med. 1992; 326:1108 –14.

102. ANAN, R., et al. *Prognostic implications of novel beta cardiac myosin heavy chain gene mutations that cause familial hypertrophic cardiomyopathy*. J Clin Invest. 1994; 93: 280 –5.

103. COVIELLO, D.A., et al. *Clinical features of hypertrophic cardiomyopathy caused by mutation of a "hot spot" in the alpha-tropomyosin gene*. J Am Coll Cardiol. 1997; 29: 635– 40.

104. MOOLMAN, J.C., et al. *Sudden death due to troponin T mutations*. J Am Coll Cardiol. 1997; 29: 549 –55.

105. VARNAVA, A., et al. *A new mutation of the cardiac troponin T gene causing familial hypertrophic cardiomyopathy without left ventricular hypertrophy.* Heart. 1999; 82: 621– 4.

106. ELLIOT, P.M., et al. *Sudden death in hypertrophic cardiomyopathy: identification of high-risk patients*. J Am Coll Cardiol. 2000; 36: 2212– 8.

107. SEIDMAN, J.G., SEIDMAN, C. *The genetic basis for cardiomyopathy: from mutation identification to mechanistic paradigms.* Cell 2001; 104: 557–67.

108. NIIMURA, H., et al. *Sarcomere protein gene mutations in hypertrophic cardiomyopathy of the elderly*. Circulation. 2002; 105: 446 –51.

109. VAN DRIEST, S.L., MARON, B.J., ACHERMAN, M.J. *From malignant mutations to malignant domains: the continuing search for prognostic significance in the mutant genes causing hypertrophic cardiomyopathy.* Heart. 2004; 90: 7– 8.

110. VAN DRIEST, S.V., 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. 2002; 106:3085–90.

111. OLIVOTTO, I. et al. *Myofilament protein gene mutation screening and outcome of patients with hypertrophic cardiomyopathy*. Mayo Clin Proc. 2008; 83: 630–8.

112. VAN DRIEST, S.L., et al. *Myosin binding protein C mutations and compound heterozygosis in hypertrophic cardiomyopathy*. J Am Coll Cardiol. 2004; 44: 1903–10.

113. INGLES, J., et al. *Compound and double mutations in patients with hypertrophic cardiomyopathy: implications for genetic testing and counseling*. J Med Genet. 2005; 42: e59.

114. HO, C.Y., et al. *Homozygous mutation in cardiac troponin T: implications for hypertrophic cardiomyopathy*. Circulation 2000; 102: 1950 – 5.

115. TESTER, D.J., ACKERMAN, M.J. *Genetic testing for potentially lethal, highly treatable inherited cardiomyopathies/ channelopathies in clinical practice*. Circulation. 2011; 123:1021-37.

116. RICHARDAS, C.S., et al. *ACMG recommendations for standards for interpretation and reporting of sequence variations: Revisions 2007*. Genet Med. 2008; 10:294-300.

117. JOHANN, B. *Regulation of Myocardial fibrosis by microRNAs*. J Cardiovasc Pharmac. 2010; (56): 454-58.

118. CONDORELLI, G., LATRONICO, M.V., DORN, G.W. II. *MicroRNAs in heart diseases: putative novel therapeutic targets?* Eur Heart J. 2010; 31: 649-58.

119. BARTEL, D.P. *Micro RNAs: Genomics, biogenesis, mechanism, and function.* Cell. 2004; 116(23): 281-297.

120. GURTAN, A.M., SHARP, P.A. *The role of mi RNA in regulating gene expression networks.* J Mol. Biol. 2013; 425: 3582-3600.

121. TAKEDA, N., et al. *Cardiac fibroblast are essential for the adaptive response of the murine heart to pressure overload*. J Clin Invest. 2010; 120: 254-265.

122. SAYED, D., et al. *Micro-RNA-21 targets Sprouty2 and promotes cellular outgrowths*. Mol Biol Cell. 2008; 19: 3272-82.

123. TATSUGUCHI, M., et al. *Expression of microRNA is dynamically regulated during cardiomyocyte hypertrophy.* J Mol and Cell Cardiol. 2007; 42: 1137-41.

124. CHAN, J.A., et al. *MicroRNA-21 is an antiapoptotic factor in human glioblastoma cells*. Cancer Res. 2005; 65(14): 6029-33.

125. RONCARATI, R., et al. *Circulating miR-29a, among other up—regulated micro-RNAs, is the only biomarker for both hypertrophy and fibrosis in patients with hypertrophic cardiomyopathy.* J Am Coll Cardiol. 2014: 63(9): 920-926.

126. DERDA, A.A., et al. *Blood-based microRNA signatures differentiate various forms of cardiac hypertrophy*. Int J Cardiol. 2015; 196: 115-122.

127. FANG, L., et al. *Circulating microRNA as biomarkers for diffuse myocardial fibrosis in patients with hypertrophic cardiomyopathy.* J Transl Med. 2015; 13: 314-25.

128. LECHIN, M., et al. *Angiotensin- I converting enzyme genotypes and left ventricular hypertrophy in patients with hypertrophic cardiomyopathy*. Circulation. 1995; 92:1808-12.

129. LIBBY, P., et al. *Braunwald Tratado de Doenças Cardiovasculares 8ª edição* Rio de Janeiro: Elsevier, 2010. 2v.: 1763-74.

130. LIMA, S.G., HATAGIMA, A. DA SILVA, N.L.. *Sistema Renina-Angiotensina: é Possível Identificar Genes de Suscetibilidade à Hipertensão?* Arq Bras Cardiol.

2007; 89(6):427-33.

131. RIGATTO, K.V., BOHLKE, M., IRIGOYEN, M.C. *Sistema renina angiotensina: da Fisiologia ao Tratamento*. Rev Soc Cardiol do Rio Grande do Sul. 2004; 3: 1-5.

132. SIRAGY, H.M., CAREY, R. M.. *Role of the intrarenal renin-angiotensin-aldosterone system in chronic kidney disease.* Am J Nephrol. 2010; 31(6): 541-50.

133. BADER, M., GANTEN, D. *Update on tissue renin-angiotensin systems*. J Mol Med (Berl). 2008; 86(6): 615-21.

134. KUPARI, M., et al. *Associations between human aldosterone synthase (CYP11B2) gene polymorphisms and left ventricular size, mass, and function.* Circulation. 1998; 97(6): 569-75.

135. ORENES-PIÑERO, E., et al. *Impact of polymorphisms in the renin-angiotensin-aldosterone system on hypertrophic cardiomyopathy*. J Renin Angiotensin Aldosterone Syst. 2011; 12(4): 521-30.

136. SCHUNKERT, H., et al. *Lack of association between a polymorphism of the aldosterone synthase gene and left ventricular structure*. Circulation. 1999; 99(17): 2255-60.

137. HO, C.Y, et al. *Myocardial fibrosis as an early manifestation of hypertrophic cardiomyopathy.* N Engl J Med. 2010; 363(6): 552-563.

138. BASSO, C., et al. *Hypertrophic cardiomyopathy and sudden death in the young: pathologic evidence of myocardial ischemia*. Hum Pathol. 2000; 31: 988-98.

139. SHIRANI, J., et al. *Morphology and significance of the left ventricular collagen network in young patients with hypertrophic cardiomyopathy and sudden death*. J Am Coll Cardiol. 2000; 35: 36-44.

140. CHOUDHURY, L., et al. *Myocardial scarring in asymptomatic or mildly symptomatic patients with hypertrophic cardiomyopathy*. J Am Coll Cardiol. 2002; 40: 2156-64.

141. VARNAVA, A.M., et al. *Relation between myocite disarray and outcome in hypertrophic cardiomyopathy.* Am J Cardiol. 2001; 88: 275-9.

142. VARNAVA, A.M., et al. *Hypertrophic cardiomyopathy: the interrelation of disarray, fibrosis and small vessels disease*. Heart. 2000; 84: 476-82.

143. MOON, J.C., et al. *Toward clinical risk assessment in hypertrophic cardiomyopathy with gadolinium cardiovascular magnetic resonance*. J Am Coll Cardiol. 2003; 41:1561-7.

144. MARON, M.S., et al. *Clinical profile and significance of delays enhancement in hypertrophic cardiomyopathy.* Circ Heart Fail. 2008; 1:184-91.

145. RUDOLPH, A., et al. *Noninvasive detection of fibrosis applying contrast- enhanced cardiac magnetic resonance in different forms of left ventricular hypertrophy relation to remodeling.* J Am Coll Cardiol. 2009; 53: 284-91.

146. TARDIFF, J.C., *Sarcomeric protein and familial hypertrophic cardiomyopathy: linking mutations in structural proteins to complex cardiovascular phenotype*s. Heart Fail Rev. 2005; 10: 237-48.

147. MARON, M.S., ROWIN, E.J., MARON, B.J. How to Image Hypertrophic Cardiomyopathy. Circ Cardiovasc Imaging. 2017; 10: 1-15.

148. MARON, M.S., MARON, B.J. *Clinical impact of contemporary cardiovascular magnetic resonance imaging in hypertrophic cardiomyopathy*. Circulation. 2015; 132: 292–298.

149. ADABAG, A.S., et al.. *Occurrence and frequency of arrhythmias in hypertrophic cardiomyopathy in relation to delayed enhancement on cardiovascular magnetic resonance*. J Am Coll Cardiol. 2008; 51: 1369–1374.

150. WENG, Z., et al. *Prognostic value of LGE-CMR in HCM: a meta-analysis*. JACC Cardiovasc Imaging. 2016; 9: 1392–1402.

151. CHAN, R.H., et al.. *Prognostic value of quantitative contrast-enhanced cardiovascular magnetic resonance for the evaluation of sudden death risk in patients with hypertrophic cardiomyopathy*. Circulation. 2014; 130: 484–495.

152. PASTORE, C.A., et al. *III Diretrizes da Sociedade Brasileira de Cardiologia sobre Análise e Emissão de Laudos Eletrocardiográficos*. Arq Bras Cardiol 2016; 106(4Supl.1): p.2.

153. MARON, B.J., GOTTDIENER, J.S., EPSTEIN, S.E.. *Patterns and significance of distribution of left ventricular hypertrophy in hypertrophic cardiomyopathy. A wide angle, two-dimensional echocardiographic study of 125 patients.* Am J Cardiol. 1981; 48(3):418-28.

154. REANANT, P., et al. *Clinical and imaging description of the Maron subtypes of hypertrophic cardiomyopathy*. Int J Cardiovasc Imaging. 2015; 31(1):47-55.

155. LANG, R.M., et al. *Recommendations for Cardiac Chamber Quantification by Echocardiography in Adults: An Update from the American Society of Echocardiography and the European Association of Cardiovascular Imaging*. J Am Soc Echocardiogr. 2015; 28 (1): 1-39e14.

156. NAGUEH, S.F., et al. *Recommendations for the evaluation of left ventricular diastolic function by echocardiography*. J. Am Soc. Echocardiogr. 2009; 22(2): 107-33.

157. MACEIRA, A.M., et al. *Normalized left ventricular systolic and diastolic function by steady state free precession cardiovascular magnetic resonance*. J Cardiovasc Magn Reson. 2006; 8(3): 417-26.

158. GU, D., et al.. *Haplotype analyses of the aldosterone synthase gene CYP11B2 associated with stage-2 hypertension in northern Han Chinese*. Clin Genet. 2004; 66:409-16.

159. GIL, A.C.. *Como Elaborar Projetos de Pesquisa*. 5ª ed. São Paulo: Atlas, 2010, 200p.

160. PONIKOWSKI, P. et al. *2016 ESC Guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure: The task force for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure of The European Society of Cardiology (ESC). Developed with the special contribution of the Heart Failure Association (HFA) of the ESC.* Eur Heart J. 2016; 37(27):2129-2200.

161. PITT, B. et al. *Spironolactone for heart failure with preserved ejection fraction*. N Engl J Med. 2014; 370: 1383-1392.

162. MITTER, S.S., SHAH, S.J.. *Spironolactone for management of heart failure with preserved ejection fraction: Whither to after TOPCAT?* Curr Atheroscler Rep. 2015; 17(11):64.

163. GARG, L., et al. *Atrial fibrillation in hypertrophic cardiomyopathy: prevalence, clinical impact and management.* Heart Fail Rev. 2019; 24(2):189-197.

164. KATO, T.S., et al. *Discrimination of nonobstructive hypertrophic cardiomyopathy from hypertensive left ventricular hypertrophy on the basis of strain rate imaging by tissue Doppler ultrasonography.* Circulation. 2004; 110(25):3808-14.

165. RODRIGUES, J.C., et al. *Hypertensive heart disease versus hypertrophic cardiomyopathy: multi- parametric cardiovascular magnetic resonance discriminators when end – diastolic wall thickness ≥ 15mm*. Eur Radiol. 2017; 27(3):1125-35.

ANEXO A - Parecer Consubstanciado do Comitê de Ética e Pesquisa (CEP)

HOSPITAL UNIVERSITÁRIO PEDRO ERNESTO/ UNIVERSIDADE DO ESTADO

PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Cardiomiopatia hipertrófica: análise do perfil epidemiológico, clínico, genético, laboratorial e de imagem de uma população no estado do Rio de Janeiro

Pesquisador: RICARDO MOURILHE-ROCHA

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 23561113.2.0000.5259

Instituição Proponente: Hospital Universitário Pedro Ernesto/UERJ

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 500.142

Data da Relatoria: 13/11/2013

Apresentação do Projeto:

Cardiomiopatia hipertrófica (CMH) é a doença genética cardíaca mais comum no coração, presente em cerca de 0,2% da população mundial. CMH é também a principal causa de morte súbita em jovens com idade inferior a 35 anos. CMH tem como características fisiopatológicas a presença de diferentes graus de hipertrofia miocárdica simétrica ou

Endereço: Avenida 28 de Setembro 77 - Térreo
Bairro: Vila Isabel **CEP:** 20.551-030
UF: RJ **Município:** RIO DE JANEIRO
Telefone: (21)2868-8253 **Fax:** (21)2264-0853 **E-mail:** cep-hupe@uerj.br

assimétrica, fibrose e deformação dos cardiomiócitos. O gatilho para fibrose na CMH não foi elucidado. Fibrose está relacionada a apoptose dos miócitos com subsequente substituição por matriz extra celular, o que resulta em isquemia microvascular e hipertrofia. Embora de grande importância para esta patologia a quantificação da fibrose miocárdica é de difícil estimativa. Ressonância magnética (RM) cardíaca usando contraste com gadolíneo pode identificar áreas de fibrose miocárdica com grande definição espacial. Os antagonistas da aldosterona, em pacientes com insuficiência cardíaca por disfunção sistólica, parecem inibir os sinalizadores para promoção de fibrose miocárdica. Não há evidências, no entanto, de que essas drogas tenham efeitos benéficos na CMH.

Este estudo objetiva avaliar se a utilização de antagonistas da aldosterona pode diminuir as áreas de fibrose miocárdica na ressonância magnética miocárdica (RM) de pacientes portadores de CMH em um Hospital Universitário do estado do Rio de Janeiro. Trata se de um estudo prospectivo, randomizado, cego, com placebo. Após consentimento informado, serão incluídos 46 pacientes com idade superior a 18 anos e diagnóstico de CMH pelo ecocardiograma transtorácico (ECO) ou pela RM. Pacientes em uso regular de antagonista da aldosterona, insuficiência renal, hiperpotassemia ou quaisquer outras contra indicações ao uso de inibidores da aldosterona serão excluídos. Todos os pacientes realizarão uma RM de coração e um ECO antes da randomização. Após os exames os pacientes serão randomizados para receber espironolactona 25mg ou placebo.

Novas RM cardíaca/ECO serão realizadas em seis, doze e dezoito meses. Será observada resposta das duas populações ao uso de espironolactona ou placebo em 18 meses.

Neste período serão realizadas consultas ambulatoriais para monitorizar tratamento e dispensação da droga em estudo. Serão colhidas amostras de sangue regularmente para monitorização dos níveis de potássio e função renal. Além disso, serão avaliados níveis séricos de aldosterona, análise das possíveis mutações genéticas para CMH, polimorfismo da ECA e da espironolactona, dosagem de biomarcadores e microRNA relacionados a fibrose miocárdica.

Endereço: Avenida 28 de Setembro 77 - Térreo

Bairro: Vila Isabel **CEP:** 20.551-030

UF: RJ **Município:** RIO DE JANEIRO

Telefone: (21)2868-8253 **Fax:** (21)2264-0853 **E-mail:** cep-hupe@uerj.br

Objetivo da Pesquisa:

Avaliar se a utilização de antagonistas de aldosterona pode diminuir as áreas de fibrose miocárdica na RM cardíaca e no ecocardiograma em pacientes portadores de cardiomiopatia hipertrófica.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos: Hipersensibilidade, hipercalemia, insuficiência renal e ginecomastia dolorosa induzida pela espironolactona, conforme informado na bula do medicamento.

Benefícios: Diminuição das áreas de fibrose miocárdica que pioram o prognóstico desses pacientes com cardiomiopatia hipertrófica.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Pesquisa relevante para o conhecimento da CMH

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Em conformidade

Recomendações:

Aprovado

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Sem pendências

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Considerações Finais a critério do CEP:

1. Comunicar toda e qualquer alteração do projeto e termo de consentimento livre e esclarecido. Nestas circunstâncias a inclusão de pacientes deve ser temporariamente interrompida até a resposta do Comitê, após análise das mudanças propostas. 2. Os dados individuais de todas as etapas da pesquisa devem ser mantidos em local seguro por 5 anos para possível auditoria dos órgãos competentes. 3. O Comitê de Ética solicita a V. Sª., que ao término da pesquisa encaminhe a esta comissão um sumário dos resultados do projeto.

RIO DE JANEIRO, 18 de Dezembro de 2013

Assinado por: ANTONIO FELIPE SANJULIANI

(Coordenador)

Endereço: Avenida 28 de Setembro 77 - Térreo

Bairro: Vila Isabel **CEP:** 20.551-030

UF: RJ **Município:** RIO DE JANEIRO

Telefone: (21)2868-8253 **Fax:** (21)2264-0853 **E-mail:** cep-hupe@uerj.br

ANEXO B - Termo de consentimento Livre e Esclarecido (TCLE)

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

PESQUISA: Cardiomiopatia hipertrófica: análise do perfil epidemiológico, clínico, genético, laboratorial e de imagem de uma população no estado do Rio de Janeiro

As informações contidas nessa folha, tem por objetivo firmar acordo escrito com o (a) voluntária (o) para participação da pesquisa acima referida, autorizando sua participação com pleno conhecimento da natureza dos procedimentos a que ela (e) será submetida (o).

1) Natureza da pesquisa: Esta pesquisa tem como finalidade definir se o uso de espironolactona (antagonista da aldosterona) é capaz de diminuir as áreas de fibrose miocárdica em pacientes portadores de cardiomiopatia hipertrófica (CMH).

2) Participantes da pesquisa: Serão avaliados 50 pacientes portadores de cardiomiopatia hipertrófica diagnosticada pelo ecocardiograma ou pela ressonância magnética cardíaca. Serão incluídos pacientes com idade superior a 18 anos, portadores de cardiomiopatia hipertrófica que não fazem uso de espironolactona. Os participantes da pesquisa necessariamente devem ter nível de potássio no sangue inferior a 5meq/l e função renal normal (nível de creatinina no sangue inferior a 2,5meq/l). Serão excluídos pacientes portadores de hipersensibilidade (alergia) a medicação do estudo (espironolactona).

3) Envolvimento na pesquisa: Você tem liberdade de se recusar a participar e ainda de se recusar a continuar participando em qualquer fase da pesquisa, sem qualquer prejuízo para você. Sempre que quiser poderá pedir mais informações sobre a pesquisa através do telefone dos pesquisadores responsáveis pelo projeto e, se necessário, por meio do telefone do Comitê de Ética em Pesquisa.

4) Sobre as coletas ou entrevistas: Ao aceitar participar desta pesquisa, você deverá comparecer regularmente as consultas marcadas na clínica e Insuficiência cardíaca no serviço de cardiologia no segundo andar do Hospital Universitário Pedro Ernesto (HUPE). No início do Estudo, serão colhidas amostras e sangue para análise do genoma (em busca das principais mutações responsáveis pela cardiomiopatia hipertrófica), pesquisa de polimorfismos da ECA e aldosterona, biomarcadores de fibrose, microRNA, marcadores de função renal e níveis séricos de potássio. Periodicamente novas coletas de sangue serão necessárias para monitorização de níveis de potássio e função renal. Além disso serão realizadas avaliações evolutivas dos biomarcadores de fibrose, níveis de aldosterona e microRNA.
Serão realizados exames de ecocardiograma transtorácico bi e tridimensional para quantificação das áreas de fibrose miocárdica e avaliação da função diastólica. Serão quatro exames realizados com intervalo de seis meses. Os exames serão realizados por um dos pesquisadores do estudo no laboratório de ecocardiografia no segundo andar do HUPE.

Além disso, serão realizadas quatro ressonâncias magnéticas cardíacas, também com intervalo de seis meses. Tais exames serão fundamentais para a quantificação das áreas de fibrose miocárdica. Esses exames serão realizados no serviço de ressonância magnética do centro de

diagnóstico por Imagem do Estado do Rio de Janeiro "Rio Imagem" na Av. Presidente Vargas1733, Centro.

5) Protocolo experimental

Trata se de um estudo prospectivo, randomizado, cego, com placebo, com intervenção. Após consentimento informado, serão incluídos 50 pacientes (conforme cálculo amostral) com idade superior a 18 anos com diagnóstico de CMH pelo Ecocardiograma transtorácico (presença de hipertrofia muscular com espessura superior a 15mm em qualquer segmento do ventrículo esquerdo, na ausência de qualquer outra doença sistêmica que a justifique), ou pela ressonância magnética miocárdica.na ausência de qualquer outra doença sistêmica que a justifique), ou pela ressonância magnética miocárdica.

Pacientes em uso regular de antagonistas da aldosterona, insuficiência renal (definidos por nível sérico de creatinina superiores a 2.5mg/dl ou clearance de creatinina inferior a 30 ml/kg/min), hiperpotassemia (potássio sérico superior a 5meq/l) ou quaisquer outras contra indicações ao uso de antagonistas da aldosterona serão excluídos.

Todos os pacientes farão ecocardiograma transtorácico antes da randomização com o objetivo de confirmar o diagnóstico de CMH e observação do padrão da função diastólica.

Todos os pacientes realizarão uma RM de coração e um ecocardiograma antes da randomização ("T zero").

Após os exames, os pacientes serão randomizados para receber espironolactona 25mg ou placebo.

Novos exames serão realizados em seis meses ("T 6"), 12 meses ("T 12") e 18 meses ("T18"). Também no décimo oitavo mês após a randomização será realizado novo exame ecocardiográfico para reavaliação da função diastólica.

Será observada resposta das duas populações ao uso de espironolactona ou placebo em relação a quantificação da fibrose miocárdica pela RM e pelo ecocardiograma.

Serão colhidas amostras de sangue antes da randomização para avaliação de níveis séricos de potássio, função renal, aldosterona, análise das possíveis mutações genéticas, dosagem de biomarcadores relacionados a fibrose miocárdica PIIIP, PINP, ICTP, PICP, MMP-1, MMP-2, MMP-3, MMP-9 e TIMP-1 e micro- RNA (mir-21 e mir-29).

As principais mutações envolvidas na CMH e que serão pesquisadas em amostras de sangue colhidas antes da randomização são: mutações nos genes MYH7 e MYBPC3(correspondem a cerca de 70% das mutações para MCH), mutações em proteínas filamentares como troponina T, troponina I e tropomiosina (menos de 10% dos casos), proteínas não sarcoméricas: TCAP (teletonina), MYOZ2 (miosenina 2 ou calsarcina 1), ANKRD1 (anquirina), PLN (fosfolamban cardíaca), JPH2 (junctofilina 2) e CAV3 (caveolina 3)

Nos primeiros três meses serão colhidas amostras de sangue mensalmente para monitorização dos níveis séricos de potássio e escórias nitrogenadas.

No sexto, décimo segundo e décimo oitavo meses após a randomização serão colhidas amostras de sangue para análise dos níveis de aldosterona, biomarcadores, microRNA e monitorização de potássio e função renal.

A cada nova coleta de sangue os pacientes serão reavaliados em consultas médicas ambulatoriais para monitorização do tratamento e tolerância clínica ao uso da droga.

A dispensação das medicações aos pacientes (espironolactona ou placebo) será realizada a cada consulta médica. O número de comprimidos será equivalente ao número de dias até a próxima consulta médica com dez comprimidos excedentes. As medicações excedentes assim como as embalagens vazias deverão ser entregues ao médico responsável a cada consulta médica.

Em presença de quaisquer contra – indicações a manutenção do tratamento com espironolactona (intolerância clínica, mastalgia, insuficiência renal ou hiperpotassemia) será suspensa medicação do estudo (espironolactona ou placebo).

6) Riscos e desconforto: Os procedimentos utilizados nesta pesquisa obedecem aos Critérios da Ética na Pesquisa com Seres Humanos conforme resolução n. 196/96 do Conselho Nacional de Saúde – Brasília – DF. Podem ocorrer alergia ao medicamento em estudo (espironolactona). Aumento dos níveis de potássio do sangue que podem propiciar arritmias no coração. Piora da função renal. Aumento e dolorimento das mamas. Todos esses efeitos adversos serão monitorizados por consultas médicas regulares e coletas periódicas de amostras de sangue. Em presença de quaisquer destes eventos adversos implicara em descontinuação do tratamento.

7) Confidencialidade: Todas as informações coletadas neste estudo são estritamente confidenciais. Os dados da (o) voluntária (o) serão identificados com um código, e não com o nome. Apenas os membros da pesquisa terão conhecimento dos dados, assegurando assim sua privacidade.

8) Benefícios: Ao participar desta pesquisa você poderá ou não apresentar diminuição das áreas de fibrose miocárdica. O que pode diminuir os riscos de arritmias cardíacas e pode melhorar o prognóstico de sua doença. Além disso, esperamos que este estudo contribua com informações importantes que deve acrescentar elementos importantes à literatura, onde o pesquisador se compromete a divulgar os resultados obtidos.

9) Pagamento: Você não terá nenhum tipo de despesa ao autorizar sua participação nesta pesquisa, bem como nada será pago pela participação.

10) Liberdade de recusar ou retirar o consentimento: Você tem a liberdade de retirar seu consentimento a qualquer momento e deixar de participar do estudo sem penalizastes.

Após estes esclarecimentos, solicitamos o seu consentimento de forma livre para permitir sua participação nesta pesquisa. Portanto, preencha os itens que seguem:

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Eu,_____, RG_____após a leitura e compreensão destas informações, entendo que a é voluntária, e que ele(a) pode sair a qualquer momento do estudo, sem prejuízo algum. Confiro que recebi cópia deste termo de consentimento, e autorizo a execução do trabalho de pesquisa e a divulgação dos dados obtidos neste estudo.

Obs: Não assine esse termo se ainda tiver dúvida a respeito.

Rio de Janeiro,_____/_____/_____
Telefone para contato:_____
Nome do Voluntário:

_____

Assinatura do Responsável:

_____

Assinatura do Pesquisador:

_____

Assinatura do pesquisador assistente:

_____

Contatos: RICARDO MOURILHE ROCHA, MÁRCIA CASTIER, THEREZA CRISTINA PEREIRA GIL, ANA LUIZA SALES FERREIRA, ALYNE GONDAR. Telefones: 2868-8673; 2868-8439; 2868-8513.

Termo de Consentimento Livre e Esclarecido com versão datada de 24/10/2013 do Protocolo de pesquisa: Cardiomiopatia hipertrófica: análise do perfil epidemiológico, clínico, genético, laboratorial e de imagem de uma população no estado do Rio de Janeiro

ANEXO C – Ficha de acompanhamento ambulatorial

CARDIOMIOPATIA HIPERTRÓFICA

IDENTIFICAÇÃO:

Nome:	
Idade:	**Data de nascimento:**
Endereço:	
Telefones:	

Consulta # T zero

Tempo de diagnóstico:
Início dos sintomas:

Sintomas:

☐ **Dispneia** ☐ **dor torácica** ☐ **"palpitações"** ☐ **edema**

☐ **outros:**_____

Drogas de uso regular:

Droga	**Tipo**	**Dose**
Betabloqueadores		
Bloq. de c. calcio		
Diurético		
Anti coagulante		
Amiodarona		
outros		

Procedimentos realizados:

☐ Miectomia ☐ alcoolização septal ☐ CDI ☐ Marca-passo

Exames complementares:

Ecocardiograma Transtorácico: DATA:

AO	AE	VEd	VEs	SIV	PP	FE	PSAP	GTSVE

☐ SAM ☐ Insuf. Mitral: leve☐ moderada☐ grave☐

☐ Insuf. Tricúspide: leve ☐ moderada☐ grave☐

☐ Insuf. Aórtica: leve ☐ moderada☐ grave☐

☐ Disfunção sistólica VE: leve☐ moderada☐ grave

☐ Disfunção de VD

☐ Disfunção diastólica ☐ I ☐ II☐ III ☐IV

Ecocardiograma com estresse: DATA:

Grad TSVE:

Ecocardiograma 3D DATA:

AO	AE	VEd	VEs	SIV	PP	FE	PSAP	GTSVE

☐ SAM ☐ Insuf. Mitral: leve☐ moderada☐ grave☐

☐ Insuf. Tricúspide: leve ☐ moderada☐ grave☐

☐ Insuf. Aórtica: leve ☐ moderada☐ grave☐

☐ Disfunção sistólica VE: leve☐ moderada☐ grave

☐ Disfunção de VD

☐ Disfunção diastólica ☐ I ☐ II☐ III ☐IV

CAT: DATA:

Laudo:

Holter 24h: DATA:

☐ Pausas n_____

☐ Arritmias ventriculares: ☐ Extra sístoles _____ ☐ TVNS _____

☐ TVS☐

☐Arritmias supraventriculares: ☐ Extra sístoles ☐ taquicardia

FC Máxima_____, mínima_____, média _____

Ressonância Magnética: DATA:

% DE FIBROSE:_____

Laudo:

Laboratório: DATA:

Ur _____ Cr _____ K_____

Micro RNA 21: _____ Micro RNA 29:_____

Mutação encontrada:_____

Polimorfismo ECA:_____

Polimorfismo aldosterona:_____

Aldosterona:_____

Hereidograma e História familiar:

Consulta # T3

Sintomas:

☐ Dispneia ☐ dor torácica ☐ "palpitações" ☐ edema

☐ outros:_____

Drogas de uso regular:

Droga	**Tipo**	**Dose**
Betabloqueadores		
Bloq. de c. calcio		
Diurético		
Anti coagulante		
Amiodarona		
outros		

Laboratório: DATA:

Ur _____ Cr _____ K_____

Consulta # T6

Sintomas:

☐ Dispneia ☐ dor torácica ☐ "palpitações" ☐ edema

☐ outros:_____

Drogas de uso regular:

Droga	Tipo	Dose
Betabloqueadores		
Bloq. De c. calcio		
Diurético		
Anti coagulante		
Amiodarona		
outros		

Laboratório: DATA:

Ur _____ Cr _____ K_____

Ecocardiograma Transtorácico: DATA:

AO	AE	VEd	VEs	SIV	PP	FE	PSAP	GTSVE

☐ SAM ☐ Insuf. Mitral: leve☐ moderada☐ grave☐

☐ Insuf. Tricúspide: leve ☐ moderada☐ grave☐

☐ Insuf. Aórtica: leve ☐ moderada☐ grave☐

☐ Disfunção sistólica VE: leve☐ moderada☐ grave

☐ Disfunção de VD

☐ Disfunção diastólica ☐ I ☐ II☐ III ☐IV

Ecocardiograma 3D DATA:

AO	AE	VEd	VEs	SIV	PP	FE	PSAP	GTSVE

☐ SAM ☐ Insuf. Mitral: leve☐ moderada☐ grave☐

☐ Insuf. Tricúspide: leve ☐ moderada☐ grave☐

☐ Insuf. Aórtica: leve ☐ moderada☐ grave☐

☐ Disfunção sistólica VE: leve☐ moderada☐ grave

☐ Disfunção de VD

☐ Disfunção diastólica ☐ I ☐ II☐ III ☐IV

Ressonância Magnética: DATA:

% DE FIBROSE:_____

Laudo:

_____

_____

Consulta # T 9

Sintomas:

☐ Dispneia ☐ dor torácica ☐ "palpitações" ☐ edema

☐ outros:_____

Drogas de uso regular:

Droga	**Tipo**	**Dose**
Betabloqueadores		
Bloq. de c. calcio		
Diurético		
Anti coagulante		
Amiodarona		
outros		

Laboratório: DATA:

Ur _____ Cr _____ K_____

Consulta # T12

Sintomas:

☐ Dispneia ☐ dor torácica ☐ "palpitações" ☐ edema

☐ outros:_____

Drogas de uso regular:

Droga	Tipo	Dose
Betabloqueadores		
Bloq. de c. calcio		
Diurético		
Anti coagulante		
Amiodarona		
outros		

Laboratório: DATA:

Ur _____ Cr _____ K_____

Ecocardiograma Transtorácico: DATA:

AO	AE	VEd	VEs	SIV	PP	FE	PSAP	GTSVE

☐ SAM ☐ Insuf. Mitral: leve☐ moderada☐ grave☐

☐ Insuf. Tricúspide: leve ☐ moderada☐ grave☐

☐ Insuf. Aórtica: leve ☐ moderada☐ grave☐

☐ Disfunção sistólica VE: leve☐ moderada☐ grave

☐ Disfunção de VD

☐ Disfunção diastólica ☐ I ☐ II☐ III ☐IV

Ecocardiograma 3D DATA:

AO	AE	VEd	VEs	SIV	PP	FE	PSAP	GTSVE

☐ SAM ☐ Insuf. Mitral: leve☐ moderada☐ grave☐

☐ Insuf. Tricúspide: leve ☐ moderada☐ grave☐

☐ Insuf. Aórtica: leve ☐ moderada☐ grave☐

☐ Disfunção sistólica VE: leve☐ moderada☐ grave

☐ Disfunção de VD

☐ Disfunção diastólica ☐ I ☐ II☐ III ☐IV

Ressonância Magnética: DATA:

% DE FIBROSE:_____

Laudo:

_____

_____

Consulta # T15

Sintomas:

☐ Dispneia ☐ dor torácica ☐ "palpitações" ☐ edema

☐ outros:_____

Drogas de uso regular:

Droga	**Tipo**	**Dose**
Betabloqueadores		
Bloq. de c. calcio		
Diurético		
Anti coagulante		
Amiodarona		
outros		

Laboratório: DATA:

Ur _____ Cr _____ K_____

Consulta # T18

Sintomas:

☐ Dispneia ☐ dor torácica ☐ "palpitações" ☐ edema

☐ outros:_____

Drogas de uso regular:

Droga	Tipo	Dose
Betabloqueadores		
Bloq. de c. calcio		
Diurético		
Anti coagulante		
Amiodarona		
outros		

Laboratório: DATA:

Ur _____ Cr _____ K_____

Micro RNA 21: _____ Micro RNA 29:_____

Aldosterona:_____

Ecocardiograma Transtorácico: DATA:

AO	AE	VEd	VEs	SIV	PP	FE	PSAP	GTSVE

☐ SAM ☐ Insuf. Mitral: leve☐ moderada☐ grave☐

☐ Insuf. Tricúspide: leve ☐ moderada☐ grave☐

☐ Insuf. Aórtica: leve ☐ moderada☐ grave☐

☐ Disfunção sistólica VE: leve☐ moderada☐ grave

☐ Disfunção de VD

☐ Disfunção diastólica ☐ I ☐ II☐ III ☐IV

Ecocardiograma 3D DATA:

AO	AE	VEd	VEs	SIV	PP	FE	PSAP	GTSVE

☐ SAM ☐ Insuf. Mitral: leve☐ moderada☐ grave☐

☐ Insuf. Tricúspide: leve ☐ moderada☐ grave☐

☐ Insuf. Aórtica: leve ☐ moderada☐ grave☐

☐ Disfunção sistólica VE: leve☐ moderada☐ grave

☐ Disfunção de VD

☐ Disfunção diastólica ☐ I ☐ II☐ III ☐IV

Ressonância Magnética: DATA:

% DE FIBROSE:_____

Laudo:

_____

_____

Consulta # T21

Sintomas:

☐ Dispneia ☐ dor torácica ☐ "palpitações" ☐ edema

☐ outros:_____

Drogas de uso regular:

Droga	Tipo	Dose
Betabloqueadores		
Bloq. de c. calcio		
Diurético		
Anti coagulante		
Amiodarona		
outros		

Laboratório: DATA:

Ur _____ Cr _____ K_____

ANEXO D – Declaração de aceite para a publicação do primeiro artigo científico

Sociedade Brasileira de Cardiologia

Utilidade Pública Federal
(Dec. 45.342 de 27/jan/1959)

Departamento de
Cardiologia da AMB

Diretoria
(Gestão 2018/2019):

Presidente
Oscar Pereira Dutra

Vice-presidente
José Wanderley Neto

Presidente-eleito
Marcelo Queiroga

Diretor Financeiro
Denilson Campos de Albuquerque

Diretor Científico
Dalton Bertolim Précoma

Diretor Administrativo
Wolney de Andrade Martins

Diretor de Qualidade Assistencial
Evandro Tinoco Mesquita

Diretor de Comunicação
Romeu Sergio Meneghelo

Diretor de Tecnologia
da Informação
Miguel Antonio Moretti

Diretor de Relações
Governamentais
José Carlos Quinaglia e Silva

Diretor de Relações com
Estaduais e Regionais
Weimar Kunz Sebba Barroso de Souza

Diretor de Promoção de Saúde
Cardiovascular - SBC/Funcor
Fernando Augusto Alves da Costa

Diretor de Departamentos
Especializados
Audes Diógenes de Magalhães Feitosa

Diretor de Pesquisa
Fernando Bacal

Editor Chefe do ABC
Carlos Eduardo Rochitte

Rio de Janeiro
Av. Marechal Câmara, 160
3° andar - Centro - 20020-907
Rio de Janeiro / RJ - Brasil
Tel.: 55 21 3478-2700
Fax: 55 21 3478-2770

São Paulo
Alameda Santos, 705 - 11° andar
Cerqueira César - 01419-001
São Paulo / SP - Brasil
Tel.: 55 11 3411-5500
Fax: 55 11 3411-5504

sbc@cardiol.br
www.cardiol.br

Rio de Janeiro, 14 de março de 2019

DECLARAÇÃO

Declaro para os devidos fins que o artigo "**Avaliação da função ventricular esquerda na associação de cardiomiopatia hipertrófica e hipertensão arterial sistêmica pela técnica de strain**", dos autores Thereza Cristina Pereira Gil, Alyne Freitas Pereira Gondar, Ana Luiza Ferreira Sales, Marceli de Oliveira Santos, Fernanda Cristina da Silva de Lima, Ricardo Mourilhe Rocha, foi aceito para publicação no periódico Arquivos Brasileiros de Cardiologia em 30 de janeiro de 2019.

Carlos Eduardo Rochitte

Editor-Chefe dos Arquivos Brasileiro de Cardiologia

Gestão 2018-2022