

Hipercolesterolemia familiar bialélica: estudo de caso

Biallelic Familial Hypercholesterolemia: Case study

Anna Claudia Monteiro Luz Santos¹, Taísa Machado-Lopes²,
Samuel Ulisses Chaves Nogueira do Nascimento¹, Roberto Meyer²

¹Hospital Universitário Professor Edgard Santos, Universidade Federal da Bahia, Salvador, Bahia, Brasil.; ²Instituto de Ciências da Saúde, Universidade Federal da Bahia, Salvador, Bahia, Brasil.

Resumo

Introdução: a hipercolesterolemia familiar (HF) é uma doença genética do metabolismo das lipoproteínas, de herança autossômica dominante. Caracteriza-se por níveis muito elevados do colesterol da lipoproteína de baixa densidade (LDL-c) no sangue e pela presença de sinais clínicos como xantomas tendíneos, xantelasmas, arco corneano. Os depósitos vasculares promovem aterosclerose progressiva e prematura, com consequente doença arterial coronariana e aumento da morbidade e mortalidade. **Objetivo:** descrever o rastreamento em cascata de uma família brasileira de portadores de HF. **Metodologia:** cinco membros de uma família, em que todos são pacientes acompanhados pelo serviço de pediatria, genética médica e cardiologia do Ambulatório Magalhães Neto do Hospital Universitário Professor Edgard Santos (HUPES), responderam questionários sobre história clínica, exame físico, antecedentes médicos, antecedentes familiares, exames complementares e realizaram testes genéticos. **Resultados:** o caso-índice apresentou 2 variantes patogênicas no gene *LDLR*, sendo uma variante patogênica, c.1118G>A, p. (Gly373Asp), no gene *LDLR*, em heterozigose, e a outra variante patogênica, c.1176C>A, p. (Cys392*), no gene *LDLR*, em heterozigose. Apresentou também uma variante de significado incerto, c.12635C>G, p. (Thr4212Ser), no gene *APOB*, em heterozigose. A genitora do caso-índice apresenta variante patogênica c.1118G>A: p. (Gly373Asp), no gene *LDLR*, em heterozigose; uma variante patogênica, c.796G>T: p. (Gly266*), no gene *LIPA*, em heterozigose; e uma variante de significado incerto, c.12635C>G, p. (Thr4212Ser), no gene *APOB*, em heterozigose. **Conclusão:** os achados contribuíram para o diagnóstico clínico e molecular, o tratamento e o aconselhamento genético de uma família com hipercolesterolemia familiar. **Palavras-chave:** Aterosclerose; Genotipagem; Teste genético; Hipercolesterolemia familiar.

Abstract

Introduction – Familial hypercholesterolemia (FH) is a genetic lipoprotein metabolism disease with autosomal dominant inheritance. It is characterised by very high levels of low-density lipoprotein cholesterol (LDL-c) in the blood and by the presence of clinical signs such as tendon xanthomas, xanthelasmas, and corneal arcus. Vascular deposits promote progressive and premature atherosclerosis, with consequent coronary artery disease and increased morbidity and mortality. **Objective** – to describe the cascade screening of a Brazilian family of FH carriers. **Methodology** – five members of a family, all of whom are patients followed by the paediatrics, medical genetics, and cardiology department of the Magalhães Neto Outpatient Clinic of the Professor Edgard Santos University Hospital (HUPES), answered questionnaires about clinical history and physical examination, medical history, family history, complementary exams, and underwent genetic testing. **Results** – The index case presented two pathogenic variants in the *LDLR* gene: one pathogenic variant, c.1118G>A, p. (Gly373Asp), in the *LDLR* gene, in heterozygosity, and the other pathogenic variant, c.1176C>A, p. (Cys392*), in the *LDLR* gene, in heterozygosity. It also presented a variant of uncertain significance, c.12635C>G, p. (Thr4212Ser), in the *APOB* gene, in heterozygosity. The mother of the index case presented a pathogenic variant c.1118G>A: p. (Gly373Asp), in the *LDLR* gene, in heterozygosity; a pathogenic variant, c.796G>T: p. (Gly266*), in the *LIPA* gene, in heterozygosity; and a variant of uncertain significance, c.12635C>G, p. (Thr4212Ser), in the *APOB* gene, in heterozygosity. **Conclusion** – The findings contributed to the clinical and molecular diagnosis, treatment, and genetic counselling of a family with familial hypercholesterolemia. **Keywords:** Atherosclerosis; Genotyping; Genetic testing; Familial hypercholesterolemia.

INTRODUÇÃO

A hipercolesterolemia familiar (HF) é uma doença genética do metabolismo das lipoproteínas, de herança autossômica dominante. Caracteriza-se por níveis muito elevados do colesterol da lipoproteína de baixa densidade (LDL-c) no sangue e pela presença de sinais clínicos, como xantomas tendíneos (depósitos de colesterol nos

tendões) e xantelasmas (depósitos cerosos amarelados, que podem ocorrer ao redor das pálpebras). Os pacientes com HF podem desenvolver arco corneano (anel opaco branco, cinza ou azul na margem da córnea como resultado da deposição de colesterol). Os depósitos vasculares promovem aterosclerose progressiva e prematura, com consequente doença arterial coronariana e aumento da morbidade e mortalidade¹.

Os níveis plasmáticos de colesterol persistentemente elevados desde o nascimento produzem alterações ateroscleróticas na infância, impactando no aumento do risco de DAC (doença arterial coronariana) prematura,

Corresponding / Correspondente: Roberto Meyer^{2*} – Endereço: Av. Reitor Miguel Calmon, 40110-902, Salvador, Bahia, Brasil. – E-mail: roberto.meyer@labimuno.ufba.br

tanto na forma HF heterozigótica, em que os portadores apresentam concentrações de LDL-c duas a três vezes maiores que as pessoas sem doença, quanto na HF homozigótica, que apresenta concentrações de LDL-c, seis a oito vezes maiores^{2,3}.

O defeito primário mais comum da HF é uma mutação no gene específico do receptor para LDL plasmático, que é o *LDLR*, e responde por 85 a 90% dos casos de HF. Outros fenótipos clínicos da HF também podem ser secundários a defeitos no gene *APOB*, que codifica a Apolipoproteína B-100, que, quando defeituosa, apresenta menor afinidade pelo *LDLR*, ou a HF pode ocorrer quando existe catabolismo acelerado do *LDLR* devido a mutações com ganho de função no gene pró-proteína convertase subtilisina/kexina tipo 9 (*PCSK9*). São descritas mutações ou variantes patogênicas em outros genes no metabolismo lipídico, de aparecimento menos frequente, como o gene da proteína adaptadora do receptor das LDL1 (*LDLRAP1*)¹.

A HF é considerada um problema de saúde pública, devido a sua alta prevalência (em torno de 1:200 a 1:300 indivíduos da população geral), e sua associação com doença coronariana precoce e consequente redução da expectativa de vida é observada em várias famílias⁴. O diagnóstico precoce é fundamental, pois possibilita a introdução de medidas nutricionais, associada a tratamento com hipolipemiantes de alta intensidade que possam modificar a história natural da HF. Este estudo objetiva descrever o rastreamento em cascata de uma família brasileira de portadores de hipercolesterolemia familiar.

REVISÃO DA LITERATURA

História

Historicamente, a relação de colesterol elevado desde o nascimento com aterosclerose foi descrita, inicialmente, pelo médico Carl Muller, em 1939⁵. Posteriormente, dados semelhantes foram observados através de estudos sobre herança e o fenótipo da HF em famílias libanesas, publicados por Khachadurian em 1964⁶. Em seguida, identificou-se o receptor de LDL-c em 1974 e o isolamento do gene *LDLR* em 1985 por Goldstein e Brown⁷. A identificação da primeira variante relacionada à apolipoproteína B (*APOB*) como causa de hipercolesterolemia e sua definição molecular foi apresentada por Innerarity, em 1984, e Soria, em 1989⁸. Novas variantes da HF foram descobertas em 2003 por Abifadel e colaboradores⁹, que apresentaram o gene *PCSK9* (pró-proteína convertase subtilisina/kexina tipo 9). Esses três genes passaram a ser implicados no diagnóstico de HF.

Genes causadores

O defeito primário mais comum na HF heterozigótica é uma mutação no gene específico do receptor para LDL plasmático. Localizado na superfície das células hepáticas e de outros órgãos, o receptor se liga ao LDL e facilita sua captação por endocitose. A LDL é degradada nos

lisossomos⁹, e o colesterol é liberado na célula para uso metabólico. Quando os receptores de LDL são defeituosos, o nível de remoção de LDL plasmático diminui e, conseqüentemente, o nível de LDL plasmático aumenta de modo inversamente proporcional à quantidade de receptores funcionais presentes¹⁰.

Em pacientes heterozigotos, um alelo defeituoso para o receptor é herdado de um dos pais, e um alelo normal do outro. Como dois alelos funcionais são necessários para manter o nível plasmático normal do LDL, a ausência de um alelo funcional causa um aumento no nível de LDL aproximadamente duas vezes o normal, desde a infância¹¹. Porém os pacientes homozigotos herdam dois alelos com variantes patogênicas. Conseqüentemente, os receptores do LDL têm funcionalidade reduzida, e os pacientes têm uma hipercolesterolemia mais grave (colesterol duas a cinco vezes mais elevado) desde a infância e aterosclerose mais precoce¹¹.

O gene que codifica o receptor humano para LDL compreende aproximadamente 45 mil pares de bases de DNA e se localiza no cromossomo 19. O gene está dividido em 18 éxons (regiões que codificam as proteínas) e 17 íntrons (regiões que não codificam as proteínas). Há uma forte correlação entre os domínios estruturais no receptor de LDL e a sequência de éxons no gene. O receptor de LDL é uma proteína composta de 839 aminoácidos com vários domínios funcionais.

Atualmente, existem cerca de 2900 alterações genéticas associadas a HF, e aproximadamente 85 a 90% ocorrem no gene *LDLR*¹². A HF é mais comumente atribuível a mutações no gene *LDLR*, resultando em *LDLR* com reduções funcionais em remover o LDL da circulação. Existem cinco principais alterações no gene *LDLR*: classe I: o receptor LDL não é sintetizado; classe II, o receptor de LDL não é devidamente transportado do retículo sarcoplasmático para o aparelho de Golgi, e há menor expressão na superfície celular; classe III: o receptor de LDL não se liga diretamente ao LDL na superfície das células, devido a um defeito na apolipoproteína B ou no receptor LDL; classe IV: proteínas transportadoras ligam-se normalmente a LDL, mas não são internalizadas eficientemente pelo mecanismo de endocitose; classe V: o receptor de LDL não é reciclado de volta para a superfície celular^{13,14}.

O gene *APOB* é formado por 29 éxons e 28 íntrons e origina duas isoformas de proteínas: uma pequena, denominada de Apo B-48 (produzida no intestino, sendo componente de quilomícrons), e outra grande, chamada de Apo B-100 (produzida no fígado, sendo componente de lipoproteínas). Em contraste com o gene *LDLR*, apenas 353 variantes estão descritas até o momento para o gene *APOB*¹⁵, e a maioria delas se encontra no éxon 26¹⁵, foram citadas em populações do norte da Europa e raramente em outras populações^{15,16}.

Outra etiologia para o fenótipo da HF é o aumento da atividade de *PCSK9*, na qual mutações com ganho de função levam a maior degradação do *LDLR*^{16,17}. O gene

PCSK9 contém 12 éxons, originando uma proteína de 692 aminoácidos. É a causa menos comum de HF autossômica dominante, representando de 1 a 3% dos casos de HF clinicamente diagnosticados. Até o momento, 1200 variantes em *PCSK9* já estão registradas no banco de dados de agregação de genomas^{18,19}.

Além da HF heterozigótica, são descritos casos raros de hipercolesterolemia autossômica recessiva, que tem sido atribuída à expressão reduzida da proteína adaptadora do receptor de LDL tipo 1 (*LDLRAP1*), que facilita a associação de receptores de LDL com clatrina (principal componente estrutural das vesículas envolvidas na endocitose do *LDLR*), consequentemente reduzindo ou impedindo a internalização do complexo *LDL/LDLR* no hepatócito²⁰. O gene *LDLRAP1* é composto por 9 éxons e dá origem a uma proteína com 308 aminoácidos. O banco de dados do gene *LDLRAP1* lista 100 variantes que foram relatadas em vários países²¹.

Muito raramente, outros genes são apresentados como causadores de HF; entre eles, estão: *APOE*, *IDOL(MYLIP)*, *HCHOLA4*, *STAP1* e *LIPA*²¹⁻²³.

Diagnóstico

A HF é clinicamente diagnosticada com base em uma combinação ponderada de achados físicos (depósitos extracelulares de colesterol), história pessoal ou familiar de hipercolesterolemia e (ou) doença aterosclerótica prematura, associada à identificação de mutações e polimorfismos genéticos que favoreçam o desenvolvimento de HF²⁴. É uma entidade subdiagnosticada e subtratada e, por isso, as sociedades médicas mundiais propuseram vários critérios na tentativa de uniformizar e formalizar o diagnóstico de HF, como US Make Early Diagnosis Prevent Early Death Program (USA MEDPED)²⁵, os da Dutch Lipid Clinic Network (DLCN)²⁶ e os critérios do Simon Broome Register Group²⁷. O Departamento de Aterosclerose da Sociedade Brasileira de Cardiologia, que publicou a Atualização da Diretriz Brasileira de HF em 2021¹, adotou o critério Dutch MEDPED, que inclui: história familiar, história clínica de evento coronariano, presença de xantoma tendíneo ou arco corneano, níveis de LDL-c e presença de mutação do gene do receptor de LDL-c. Cada critério é categorizado por pontos, e o diagnóstico é considerado de certeza se o paciente tem mais de 8 pontos, provável se tem de 6 a 8 pontos, e possível se tem entre 3 e 5 pontos.

Em relação ao diagnóstico laboratorial de HF, deve haver suspeita quando LDL-c \geq 190 mg/dL, ou colesterol total \geq 310 mg/dL em adultos e colesterol total \geq 230 mg/dL e LDL-c \geq 160 mg/dL em crianças e adolescentes até 19 anos. Geralmente, os triglicerídeos são normais, e a lipoproteína de alta densidade (HDL-c) pode ser reduzida ou normal.

A HF heterozigótica e a HF homozigótica podem ser diagnosticadas com precisão com o auxílio dos testes genéticos. Eles fornecem informações prognósticas

importantes para a estratificação de risco em pacientes com HF. Dados recentes, de 7 estudos caso-controle e 5 estudos de coortes prospectivas de mais de 26 mil indivíduos, sugerem que qualquer nível de LDL-c e uma mutação patogênica relacionada com HF estão associados a um risco cardíaco maior que o do indivíduo com o mesmo LDL-c, mas sem a mutação patogênica aparente²⁸. Os testes genéticos são importantes para a identificação de uma alteração causal em famílias recém-identificadas ou com forte suspeita de HF, fornecendo uma resposta simples e definitiva para o diagnóstico de HF, tornando-se uma ferramenta incontestável e padrão ouro para o diagnóstico de certeza da HF²⁸. Entretanto, os testes genéticos têm limitações. Entre os indivíduos hipercolesterolêmicos com diagnóstico de possível HF, a taxa de identificação de uma alteração causal por meio do teste genético gira em torno de 50% ou menos. Porém, em pacientes com HF definitiva, a taxa de identificação da mutação atinge 86%^{28,29}. Portanto, um teste negativo não exclui a HF. Dessa maneira, indivíduos com LDL-c elevados permanecem em alto risco cardiovascular e devem ser tratados independentemente dos testes genéticos.

Na HF, o rastreamento genético em cascata vem sendo utilizado para a identificação de novos indivíduos afetados, sendo uma estratégia com bom custo-efetividade^{30,31}. A partir do caso-índice positivo para HF, são recrutados todos os familiares de primeiro grau (pai, mãe, irmãos e filhos) dos pacientes para determinação do perfil lipídico e realização de teste genético. À medida que novos casos vão sendo identificados, novos parentes são convocados para o rastreamento. As chances de identificação de outros portadores de HF a partir de um caso-índice são de 50% nos familiares de primeiro grau, 25% nos de segundo grau e 12,5% nos de terceiro grau¹.

Risco cardiovascular na hipercolesterolemia familiar

A associação entre hipercolesterolemia familiar e doença arterial coronariana está bem demonstrada em vários estudos^{32,33}. Mesmo na ausência de terapia hipolipemiante, existe um risco cumulativo de doença coronariana fatal e não fatal de aproximadamente 50% em homens e 33% em mulheres de até 60 anos. Estudos recentes, em pacientes com HF, relataram associação de risco cardiovascular aumentado em pacientes com HF monogênica, se comparados com os de HF poligênica³⁴.

Um aspecto importante na estratificação do risco de doença aterosclerótica em pacientes com HF é o efeito aditivo de outros fatores de risco de aterosclerose, como hipertensão arterial, tabagismo e diabetes mellitus nesses pacientes. O tabagismo, em pacientes com HF, aumenta o risco em mais de 1,7 a 1,8 vezes de doença arterial coronariana³³⁻³⁵, e a presença de diabetes mellitus e hipertensão foi descrita, em uma metanálise de 102 estudos prospectivos, com uma associação de risco duas vezes maior de DAC em pacientes com HF^{34,35}.

Tratamento

Todos os pacientes e seus familiares devem ser orientados quanto às mudanças no estilo de vida, incluindo dieta saudável, com redução do consumo de gorduras saturadas e suspensão de gorduras trans, cessação do tabagismo, atividade física regular e controle de peso.

As diretrizes recomendam, no início do tratamento medicamentoso e como primeira escolha, utilizar as estatinas de alta potência em doses máximas toleradas. Seu uso, em pacientes com HF, baseia-se em idade, valores iniciais de LDL-c, risco cardiovascular, história familiar e comorbidades associadas. Recomenda-se que, após a mudança de estilo de vida, a terapia hipolipemiante seja iniciada após os oito anos de idade. O tratamento em menores de oito anos pode ser indicado em casos graves e após avaliação individualizada, e tem como objetivo a redução de, pelo menos, 50% no LDL-c e, se possível, o alcance da meta de valores < 110 mg/dl de LDL-c (desejável), ou no mínimo de 130 mg/dl (limítrofe), além da redução de xantomatose e prevenção do aparecimento de DAC^{36,37}.

Em associação às estatinas, pode-se acrescentar a ezetimiba³⁸, fármaco que age inibindo a absorção de colesterol no jejuno e dificulta a reabsorção intestinal do colesterol por se ligar aos ácidos biliares, aumentando sua excreção.

Quando os pacientes não conseguem atingir os níveis de LDL-c recomendados, apesar da terapia com estatinas, com ou sem ezetimiba, a terceira opção terapêutica são os inibidores da PCSK9 (pró-proteína convertase subtilisina/kexina tipo 9)³⁹⁻⁴³. Esses agentes, alirocumabe e evolocumabe, anticorpos monoclonais, atuam aumentando o LDL-R disponível e reduzindo acentuadamente os níveis plasmáticos de LDL-c, e podem ser usados em monoterapia ou em combinação com estatinas e ezetimiba.

METODOLOGIA

Os indivíduos do estudo fazem parte de uma família composta de membros com suspeita diagnóstica de HF. Em consulta pediátrica de rotina, o caso-índice apresentava, ao exame físico, xantomas tendíneos em articulações de joelhos, calcâneos, cotovelos e xantelasmas. Diante disso, foi feita a suspeita diagnóstica de HF, solicitados exames bioquímicos e de imagem e encaminhada a consulta com genética médica.

Todos os participantes são acompanhados pelo serviço de endocrinopediatria (menores de idade), genética médica e cardiologia do ambulatório Magalhães Neto do Hospital Universitário Professor Edgard Santos (HUPES) e responderam questionários sobre história clínica, exame físico, antecedentes médicos, antecedentes familiares, além de realizaram exames complementares e teste genéticos.

A análise laboratorial foi realizada com amostras de sangue após jejum de 12 horas, no laboratório de bioquímica do Laboratório Central do Hospital Univer-

sitário Professor Edgard Santos (HUPES), utilizando-se o analisador de química clínica ARCHITECT c4000 (Abbott, Alemanha). Na avaliação laboratorial, foi realizado o lipidograma, com o objetivo de verificar as dosagens de colesterol total, LDL-c, HDL-c, e triglicerídeos. Para a determinação do LDL-c, usou-se a fórmula de Friedewald, em que o [LDL] = (CT - HDL) - (TG/5). Os exames são repetidos semestralmente.

O teste genético foi realizado para identificação de mutação em genes associados a HF. Para a realização do teste genético, foram coletadas células no interior da bochecha, a partir do uso de *kit* de coleta contendo um cotonete *swab* e um líquido conservante. Depois da coleta, o *swab* foi armazenado dentro do tubo. Além do conservante, alguns cuidados devem ser tomados para garantir a qualidade da amostra de saliva, como não escovar os dentes e permanecer em jejum completo (sem ingerir comida ou líquidos) por pelo menos 30 minutos antes de fazer a coleta. Esses passos são importantes, pois restos de alimentos podem comprometer o efeito do conservante, estimulando a proliferação de microrganismos, além de impedir as etapas posteriores de extração e análise do DNA.

O material coletado foi avaliado por sequenciamento completo (NGS – sequenciamento de nova geração) de todas as regiões codificantes e regiões flanqueadoras adjacentes aos éxons de 11 genes relacionados à hipercolesterolemia familiar, *LDLR*, *PCSK9*, *APOB*, *LDLRAP1*, *SLCO1B1*, *LIPA*, *ABCG5*, *ABCG8*, *LPL*, *APOE* e *STAP1*, sob a responsabilidade do laboratório Fleury Medicina e Saúde. Esse protocolo permite a identificação de variantes de nucleotídeo único (SNVs), pequenas inserções e deleções (INDELS), bem como variações no número de cópias (CNVs) que compreendam variantes com pelo menos 50 nucleotídeos, independentemente do número de éxons acometidos. É realizada uma análise criteriosa em busca de variantes genéticas patogênicas e provavelmente patogênicas. Variantes benignas e provavelmente benignas não serão reportadas.

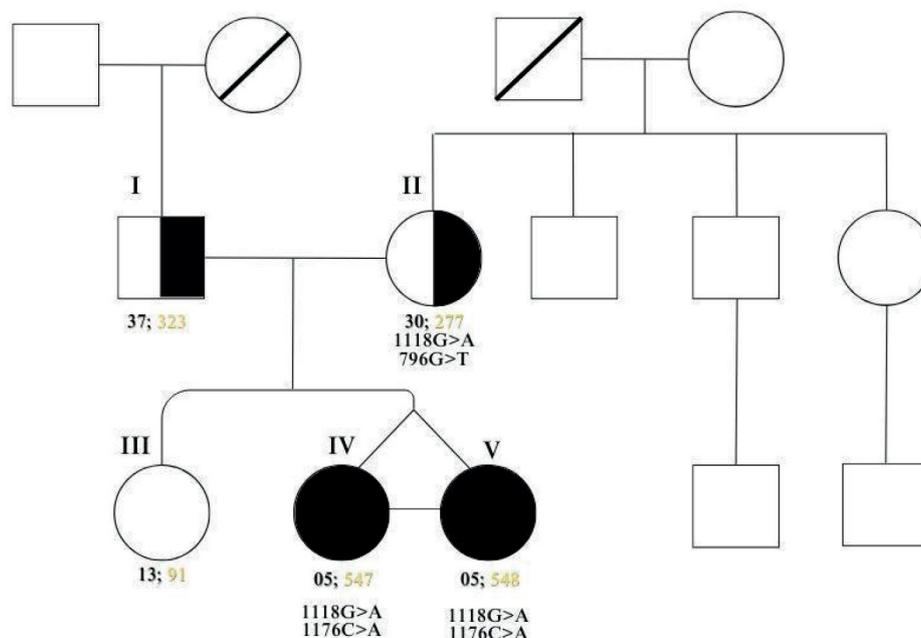
Os exames de eletrocardiograma, ecocardiograma, *doppler* das artérias carótidas e radiografia do tórax foram realizados no HUPES. A aterosclerose coronariana subclínica não foi avaliada através de angiotomografia computadorizada das artérias coronárias com medida do escore de cálcio, pois o exame não está disponível no HUPES.

Todos os participantes assinaram um termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE) do protocolo de pesquisa, incluindo os testes genéticos. Os participantes menores de idade tiveram o TCLE e os testes genéticos assinados por seus responsáveis. Esta investigação faz parte do Estudo “Perfil genético de pacientes com hipercolesterolemia familiar acompanhados no ambulatório de doença arterial coronariana de um centro de referência em Salvador, Bahia”, que foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos do Hospital Universitário Professor Edgard Santos (CAAE: 77110224.2.0000.0049)

e o Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos do Instituto de Ciências em Saúde da Universidade Federal da Bahia (CAAE: 77110224.2.3001.5662)

RESULTADOS

A árvore genealógica a seguir mostra o caso-índice (indivíduo IV) e seus familiares.



Árvore genealógica: Os quadrados indicam os indivíduos do sexo masculino e os círculos indicam indivíduos do sexo feminino. Os símbolos parcialmente preenchidos em branco e preto representam indivíduos com diagnóstico de HF, porém o indivíduo I não realizou o exame molecular para pesquisa da mutação. Os símbolos totalmente preenchidos representam indivíduos com diagnóstico de HF monozigótica e que apresentam variantes patogênicas. Os símbolos com traço indicam indivíduos falecidos. A numeração preta abaixo de cada indivíduo indica a idade (anos), a numeração amarela indica LDL-C(mg/dL) e as variantes patogênicas estão representadas logo abaixo.

O caso-índice (indivíduo IV) é uma paciente de cinco anos de idade, gênero feminino, gêmea univitelina, do indivíduo V. Apresentou desenvolvimento psicomotor adequado para a idade. O exame físico revelou a presença de xantomas em regiões de cotovelos, calcâneo e joelhos. O perfil lipídico revelou: colesterol total (CT) 613mg/dL, lipoproteína de alta intensidade (HDL-c) 44mg/dL, não HDL: 569mg/dL; lipoproteína de baixa intensidade (LDL-c): 547mg/dL, triglicérides (TG) 109mg/dL e glicose em jejum: 74 mg/dL. Em tratamento com atorvastatina 20mg/dia, realizou teste genético com painel multigênico que incluiu 11 genes: *ABCG5*, *ABCG8*, *APOB*, *APOE*, *LDLR*, *LDLRAP1*, *LIPA*, *LPL*, *PCSK9*, *SLCO1B1*, *STAP1*. O exame revelou a presença de duas variantes patogênicas no gene *LDLR*, sendo uma variante (NM_000527.5):c.1118G>A, p. (Gly373Asp), e a outra (NM_000527.5):c.1176C>A, p.(Cys392*), ambas em heterozigose. Apresentou também uma variante de significado incerto, (NM_00038):c.12635C>G, p.(Thr4212Ser), no gene *APOB*, em heterozigose. Realizou ultrassom *doppler* das artérias carótidas, que não mostrou aumento da espessura intimal nem placa aterosclerótica. A radiografia do tórax revelou transparência pulmonar satisfatória, seios costofrênicos

livres, área cardíaca normal e arcabouço costal íntegro.

O indivíduo V, paciente de cinco anos de idade, gênero feminino, realizou consulta pediátrica e foi observada a presença de xantomas tendinosos em cotovelos, sendo encaminhada para consulta com genética médica. Realizou ultrassom *doppler* das artérias carótidas, que não mostrou aumento da espessura intimal nem placa aterosclerótica. Radiografia do tórax com transparência pulmonar satisfatória, seios costofrênicos livres, área cardíaca normal e arcabouço costal íntegro. O perfil lipídico revelou: colesterol total 609mg/dL, HDL-c; 42mg/dL, não HDL: 567mg/dL; LDL-c: 548mg/dL, triglicérides 94mg/dL e glicose em jejum: 71mg/dL. Encontra-se em uso de atorvastatina 20mg/dia. O genótipo apresentado no painel multigênico pelo indivíduo V é idêntico ao apresentado pelo indivíduo IV, com as mesmas duas variantes patogênicas no gene *LDLR* e uma variante de significado incerto, no gene *APOB*, em heterozigose.

No rastreamento em cascata, os pais do caso-índice foram avaliados. A mãe (indivíduo II), tem 30 anos de idade, é portadora de hipertensão arterial sistêmica, diabetes mellitus tipo 2, obesidade grau III (IMC: 45,67) e dislipidemia. Apresenta colesterol total: 352mg/dL

LDL-c 277mg/dL, HDL: 58mg/dL, não HDL 294 mg/dL e TG: 87mg/dL, e está em uso de atorvastatina 80mg/dia e ezetimiba 10mg/dia. A avaliação cardiológica revelou eletrocardiograma normal, ecocardiograma com câmaras cardíacas normais, e função ventricular esquerda preservada. O ultrassom *doppler* das artérias carótidas não mostrou aumento da espessura intimal e não revelou placa aterosclerótica. A aterosclerose coronariana subclínica não foi avaliada através de angiotomografia computadorizada das artérias coronárias com medida do escore de cálcio, pois esse exame não está disponível no HUPES. No exame físico, a paciente não apresentou xantomas tendíneos nem arco corneano. O teste genético realizado revelou variante patogênica: *LDLR* (NM_000527.5); c.1118G>A; p.(Gly373Asp), em heterozigose, uma variante patogênica no gene *LIPA* (NM_000235.4);c.796G>T: p.(Gly266*), em heterozigose e uma variante de significado incerto, no gene *APOB* (NM_000384.3);c.12635C>G, p.(Thr4212Ser), em heterozigose.

O pai do caso-índice (indivíduo I) tem 37 anos de idade, diagnóstico de obesidade grau II (IMC: 37,18), pré-diabetes e dislipidemia. Apresenta colesterol total

384mg/dL, HDL-c 40mg/dL, não-HDL 344mg/dL, LDL-c 323mg/dL, TG 107 mg/dL e glicose jejum: 113mg/dL. Está em uso de atorvastatina 80mg/dia e ezetimiba 10mg/dia. Realizou eletrocardiograma, ecocardiograma e ultrassom *doppler* das artérias carótidas, todos dentro da normalidade. Aguarda o resultado do teste genético.

O caso-índice possuiu outra irmã, com 13 anos de idade (indivíduo III), que revela desenvolvimento neuropsicomotor adequado para a idade e não apresenta dislipidemia. O perfil lipídico mostrou: colesterol total 162 mg/dL, HDL-c:61 mg/dL, LDL-c 91 mg/dL, triglicerídeos: 55 mg/dL, colesterol não HDL:101 mg/dL e glicose jejum: 88,1 mg/dL. Aguarda o resultado do teste genético.

Neste estudo, o diagnóstico de HF foi realizado com base nos Critérios da Dutch Lipid Clinic Network (Dutch MEDPED). O caso-índice e o indivíduo V somam 21 pontos, portanto diagnóstico de certeza de HF. O indivíduo II apresenta 13 pontos, logo diagnóstico de certeza de HF. O indivíduo I apresenta 8 pontos, portanto tem diagnóstico de provável HF. O indivíduo III não apresenta critérios para diagnóstico de HF.

Tabela 1 – Principais características da família avaliada

Parâmetros	Pacientes				
	I	II	III	IV	V
Anos de idade	37	30	13	5	5
CT (mg/dL)	384	352	162	613	609
HDL-C (mg/dL)	40	58	61	44	42
Não HDL (mg/dL)	344	294	101	569	567
LDL-C (mg/dL)	323	277	91	547	548
TG (mg/dL)	107	87	55	109	94
Glicose (mg/dL)	113	107	88	74	71
IMC (kg/m2)	37,18	45,67	18,37	15,47	14,65
Xantomas	Não	Não	Não	Não	Sim
Eletrocardiograma	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal
Ultrassom <i>doppler</i> carótidas	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal
Terapia	Atorvastatina+ Ezetimiba	Atorvastatina+ Ezetimiba	Sem tratamento	Atorvastatina	Atorvastatina
Arco coreano	Não	Não	Não	Não	Não
Variantes	Não realizou exame molecular	c.1118G>A c.796G>T	Não realizou exame molecular	c.1118G>A c.1176C>A	c.1118G>A c.1176C>A

CT: colesterol total; TG: triglicerídeos; HDL-c: lipoproteína de alta densidade; LDL-c: lipoproteína de baixa densidade; IMC: índice de massa corporal.

Fonte: dados da pesquisa

DISCUSSÃO

O caso-índice e sua irmã gêmea (indivíduo V) apresentam o painel genético idêntico, como já esperado, pois são gêmeas univitelinas, sendo uma variante patogênica, (NM_000527.5):c.1118G>A, p.(Gly373Asp), no gene *LDLR*, em heterozigose, e a outra variante patogênica: (NM_000527.5):c.1176C>A, p.(Cys392*), no gene *LDLR*, em heterozigose. Além de uma variante no gene *APOB*, classificada como variante de significado incerto:

(NM_00038); c.12635C>G, p.(Thr4212Ser), no gene *APOB*, em heterozigose. O programa de visualização de variantes no painel multigênico permite que sejam determinadas suas posições por sua proximidade. Com isso, foi possível observar que as variantes estão em alelos distintos e, logo, as alterações estão em cromossomos diferentes, ou seja, foram herdadas de diferentes origens, caracterizando estado de heterozigoto composto. Portanto, o caso-índice herdou dois alelos mutantes de um gene, porém as alterações genéticas são diferentes entre si.

A variante (NM_000527.5); c.1118G>A, p.(Gly373Asp), identificada em heterozigose no gene *LDLR*, substituiu o códon, devido à substituição de aminoácido Gly (glicina) pelo Asp (aspartato), na posição 373 da cadeia proteica. Consequentemente, ocorre a substituição de um aminoácido apolar por um carregado negativamente, o que afeta a atividade de ligação proteína-ligante.

A variante (NM_000527.5); c.1176C>A, p.(Cys392*), identificada em heterozigose no gene *LDLR*, resulta na substituição de um aminoácido por um códon de parada prematuro no RNA mensageiro, com impacto na proteína codificada e, dessa forma, preenche as especificações para pontuar os critérios ACMG (Colégio Americano de Genética Médica), que definiu 5 categorias de variantes genéticas: benignas (que definitivamente não causam doenças); provavelmente benignas (que provavelmente não causam doenças); de significado incerto (que têm efeito desconhecido); provavelmente patogênicas (que provavelmente causam doenças); e patogênicas (que definitivamente causam doenças).

A variante (NM_00038); c.12635C>G, p.(Thr4212Ser), identificada em heterozigose no gene *APOB*, resulta em uma substituição de aminoácido na proteína codificada. Assim, preenche as especificações para pontuar os critérios ACMG, mas tal variante não tem impacto na proteína. Por isso, atualmente, é classificada como variante de significado incerto.

A mãe do caso-índice (indivíduo II) apresentou, no painel multigênico, três variantes, sendo uma no gene *LDLR*: (NM_000527.5):c.1118G>A:p.(Gly373Asp), no cromossomo 19, considerada patogênica em heterozigose, no éxon 8. Trata-se de uma variante missense, que consiste na substituição de um nucleotídeo do DNA, gerando uma troca de aminoácidos na proteína codificada. Essa variante está presente no banco de controles populacionais, foi descrita na literatura científica e está reportada no ClinVar (arquivo público internacional de livre acesso de relatórios de variações humanas classificadas por doenças)⁴⁴.

A segunda variante é a patogênica (NM_000235.4) c.796G>T: p.(Gly266*), no gene *LIPA*, no cromossomo 10, em heterozigose, que está associada à Doença de Wolman e à Doença de depósito de éster colesterol (são doenças metabólicas hereditárias, causadas pelo acúmulo de colesterol e triglicérides nos tecidos). Essa variante se encontra depositada no banco de controles populacionais, reportada no ClinVar, e foi descrita na literatura científica.

A terceira variante está relacionada à herança autossômica dominante, designada como (NM_000384.3) c.12635C>G, p.(Thr4212Ser), encontra-se na posição 2 do cromossomo, no gene *APOB*, em heterozigose, e tem significado incerto. Portanto, não existem dados científicos, até o momento, sobre sua relação com patogenicidade.

O caso-índice e a irmã gêmea apresentam um fenótipo mais grave, com presença de xantomas tendinosos em articulações e valores muito elevados no LDL-C (>

500mg/dL). Portanto, é fundamental a realização de acompanhamento médico e instituição de tratamento adequado, com dieta saudável, atividade física e tratamento com drogas hipolipemiantes potentes, pois eles poderão apresentar, precocemente, calcificação valvar aórtica e doença arterial coronariana.

Os pais do caso-índice apresentam, em associação aos níveis elevados de LDL-c, comorbidades como hipertensão arterial e obesidade, o que aumenta, consideravelmente, o risco cardiovascular. Deverão manter acompanhamento médico frequente e realizar avaliação de aterosclerose coronariana subclínica.

CONCLUSÃO

Concluimos que os dados apresentados neste estudo contribuíram para o diagnóstico clínico e molecular, indicação de tratamento, manejo e indicação de acompanhamento por equipe multidisciplinar, rastreamento em cascata, além de aconselhamento genético dessa família com hipercolesterolemia familiar.

REFERÊNCIAS

1. Izar MC de O, Giraldez VZR, Bertolami A, Dos Santos Filho RD, Lottenberg AM, Assad MHV, et al. Update of the Brazilian Guideline for Familial Hypercholesterolemia - 2021. *Arq Bras Cardiol.* 2021 Oct;117(4):782-844. doi: 10.36660/abc.20210788
2. Nordestgaard BG, Chapman MJ, Humphries SE, Ginsberg HN, Masana L, Descamps OS, et al. Familial hypercholesterolemia is underdiagnosed and undertreated in the general population: guidance for clinicians to prevent coronary heart disease: consensus statement of the European Atherosclerosis Society. *Eur Heart J.* 2013;34(45):3478-90a. doi: 10.1093/eurheartj/eh273
3. Cuchel M, Bruckert E, Ginsberg HN, Raaijmakers F, Santos RD, Hegele RA, et al. Homozygous familial hypercholesterolemia: new insights and guidance for clinicians to improve detection and clinical management. A position paper from the Consensus Panel on Familial Hypercholesterolemia of the European Atherosclerosis Society. *Eur Heart J.* 2014;35:2146-57. doi: 10.1093/eurheartj/ehu274
4. Brønne I, Kleiwecke M, Reiz B, Graf E, Strom T, Wieland T, et al. Systematic analysis of variants related to familial hypercholesterolemia in families with premature myocardial infarction. *Eur J Hum Genet.* 2016; 24(2):191-7. doi: 10.1038/ejhg.2015.100
5. Müller C. Xanthomata, hypercholesterolemia and angina pectoris. *Acta Med Scand Suppl.* 1938;89:75-84 doi: 10.1111/j.0954-6820.1938.tb19279.x
6. Khatchadourian AK. The inheritance essential familial hypercholesterolemia. *Am J Med.* 1964;37:402-7. doi: 10.1016/0002-9343(64)90196-2
7. Goldstein JL, Brown MS. Regulation of the mevalonate pathway. *Nature.* 1990; 343(6257):425-30. doi: 10.1038/343425a0
8. Soria LF, Ludwig EH, Clarke HR, Vega GL, Grundy SM, McCarthy BJ. Association between a specific apolipoprotein B mutation and familial defective apo B 100. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1989;86(2):587-91. doi: 10.1073/pnas.86.2.587
9. Abifadel M, Varret M, Rabès JP, Allard D, Ouguerram K, Devillers M, et al. Mutations in PCSK9 cause autosomal dominant hypercholesterolemia. *Nat Genet.* 2003;34(2):154-6. doi: 10.1038/ng1161

10. Seidah NG, Awan Z, Chrétien M, Mbikay M. PCSK9: a key modulator of cardiovascular health. *Circ Res*. 2014; 114(6):1022-36. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.114.301621
11. Goldstein JL, Brown MS. Familial hypercholesterolemia. In: Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, Valle D, editores. *The metabolic basis of inherited disease*. New York (NY): McGraw-Hill; 1989. p. 1195-250.
12. Iacocca MA, Chora JR, Carrié A, Freiberger T, Leigh SE, Defesche JC, et al. ClinVar database of global familial hypercholesterolemia-associated DNA variants. *Hum Mutat*. 2018; 9(11):1631-40. doi: 10.1002/humu.23634
13. Hobbs HH, Brown MS, Goldstein JL. Molecular genetics of the LDL receptor gene in familial hypercholesterolemia. *Hum Mutat*. 1992;1(6):445-66. doi: 10.1002/humu.1380010602
14. Hobbs HH, Russell DW, Brown MS, Goldstein JL. The LDL receptor locus in familial hypercholesterolemia: mutational analysis of a membrane protein. *Annu Rev Genet*. 1990; 24:133-70. doi: 10.1146/annurev.ge.24.120190.001025
15. Varret M, Abifadel M, Rabès JP, Boileau C. Genetic heterogeneity of autosomal dominant hypercholesterolemia. *Clin Genet*. 2008;73(1):1-13. doi: 10.1111/j.1399-0004.2007.00915.x
16. Villéger L, Abifadel M, Allard D, Rabès J-P, Thiart R, Kotze MJ, et al. The UMD-LDLR database: additions to the software and 490 new entries to the database. *Hum Mutat*. 2002;20(2):81-7. doi: 10.1002/humu.10102
17. Horton JD, Cohen JC, Hobbs HH. Molecular biology of PCSK9: its role in LDL metabolism. *Trends Biochem Sci*. 2007;32(2):71-7. doi: 10.1016/j.tibs.2006.12.008
18. Karczewski KJ, Francioli LC, Tiao G, Cummings BB, Alföldi J, Wang Q, et al. The mutational constraint spectrum quantified from variation in 141,456 humans. *Nature*. 2020;581(7809):434-43. doi: 10.1038/s41586-020-2308-7
19. Garcia CK, Wilund K, Arca M, Zuliani G, Fellin R, Maioli M, et al. Autosomal recessive hypercholesterolemia caused by mutations in a putative LDL receptor adaptor protein. *Science*. 2001;292(5520):1394-8. doi: 10.1126/science.1060458
20. He G, Gupta S, Yi M, Michaely P, Hobbs HH, Cohen JC. ARH is a modular adaptor protein that interacts with the LDL receptor, clathrin, and AP-2. *J Biol Chem*. 2002;277(46):44044-9. doi: 10.1074/jbc.M208539200
21. Leigh S. The LDLRAP1 gene homepage—Global Variome shared LOVD [Internet]. [cited: 2022 Jul 4]. Available from: <https://databases.lovd.nl/shared/genes/LDLRAP1>
22. Kamar A, Khalil A, Nemer G. The digenic causality in familial hypercholesterolemia: revising the genotype-phenotype correlations of the disease. *Front Genet*. 2020;11:572045.161. doi: 10.3389/fgene.2020.572045
23. Brautbar A, Leary E, Rasmussen K, Wilson DP, Steiner RD, Virani S et al. Genetics of familial hypercholesterolemia. *Curr Atheroscler Rep*. 2015;17(4):491. doi: 10.1007/s11883-015-0491-z
24. Sawhney JPS, Madan K. Familial hypercholesterolemia. *Indian Heart J*. 2024 Mar;76 (Suppl 1):S108-S12. doi: 10.1016/j.ihj.2023.12.002
25. World Health Organization - WHO. Human Genetics Programme. Familial hypercholesterolemia (FH): report of a second WHO consultation. Geneva; 1999. doi: 10.1080/07853890.1999.11904394
26. Williams RR, Hunt SC, Schumacher MC, Hegele RA, Leppert MF, Ludwig EH, et al. Diagnosing heterozygous familial hypercholesterolemia using new practical criteria validated by molecular genetics. *Am J Cardiol*. 1993;72(2):171-6. doi: 10.1016/0002-9149(93)90155-6
27. National Collaborating Centre for Primary Care (UK). Identification and management of familial hypercholesterolemia (FH) [Internet]. London: Royal College of General Practitioners (UK); 2008 [cited: 2023 Dez 15]. Available from: <http://www.nice.org.uk/CG71>. 29 abr 2018
28. Sturm AC, Knowles JW, Gidding SS, Ahmad ZS, Ahmed, CD, Ballantyne CM, et al. Clinical Genetic Testing for Familial Hypercholesterolemia: JACC Scientific Expert Panel. *J Am Coll Cardiol*. 2018;72(6):662-80. doi: 10.1016/j.jacc.2018.05.044
29. Pollex RL, Hegele RA. Genomic copy number variation and its potential role in lipoprotein and metabolic phenotypes. *Curr Opin Lipidol*. 2007;18(2):174-80. doi: 10.1097/MOL.0b013e32802e6c12
30. Marks D, Wonderling D, Thorogood M, Lambert H, Humphries SE, Neil HA. Screening for hypercholesterolemia versus case finding for familial hypercholesterolemia: a systematic review and cost-effectiveness analysis. *Health Technol Assess*. 2000;4(29):1-123
31. Watts GF, Sullivan DR, Poplawski N, van Bockxmeer F, Hamilton-Craig I, Clifton PM, et al. Familial hypercholesterolemia: a model of care for Australasia. *Atheroscler Suppl*. 2011;12(2):221-63. doi: 10.1016/j.atherosclerosis.2011.06.001
32. Slack J. Risks of ischaemic heart-disease in familial hyperlipoproteinemic states. *Lancet*. 1969; 2(7635):1380-2. doi: 10.1016/j.atherosclerosis.2011.06.001
33. Trinder M, Li X, DeCastro ML, Cermakova L, Sadananda S, Jackson LM, et al. Risk of premature atherosclerotic disease in patients with monogenic versus polygenic familial hypercholesterolemia. *J Am Coll Cardiol*. 2019; 74(4):512-22. doi: 10.1016/j.jacc.2019.05.043
34. Akioyamen LE, Genest J, Chu A, Inibhunu H, Ka DT, Tu JV. Risk factors for cardiovascular disease in heterozygous familial hypercholesterolemia: a systematic review and meta-analysis. *J Clin Lipidol*. 2019;13(1):15-30. doi: 10.1016/j.jacl.2018.10.012
35. Alonso R, Mata N, Castillo S, Fuentes F, Saenz P, Muñiz O, et al. Cardiovascular disease in familial hypercholesterolemia: influence of low-density lipoprotein receptor mutation type and classic risk factors. *Atherosclerosis*. 2008;200(2):315-21. doi: 10.1016/j.atherosclerosis.2007.12.024
36. Grundy SM, Stone NJ, Bailey AL, Beam C, Birtcher KK, Blumenthal RS, et al. 2018 AHA/ACC/AACVPR/AAPA/ABC/ACPM/ADA/AGS/APHA/ASPC/NLA/PCNA Guideline on the Management of Blood Cholesterol: A Report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Clinical Practice Guidelines. *Circulation*. 2019;139(25):e1046-e1081. doi: 10.1161/CIR.0000000000000624
37. ESC Committee for Practice Guidelines (CPG). ESC National Cardiac Societies. 2019 ESC/EAS guidelines for the management of dyslipidaemias: lipid modification to reduce cardiovascular risk. *Atherosclerosis*. 2019;290:140-205. doi: 10.1016/j.atherosclerosis.2019.08.014
38. Giugliano RP, Cannon CP, Blazing MA, Nicolau JC, Corbalán R, Špinar J, et al. IMPROVE-IT (Improved Reduction of Outcomes: Vytorin Efficacy International Trial) Investigators. Benefit of Adding Ezetimibe to Statin Therapy on Cardiovascular Outcomes and Safety in Patients With Versus Without Diabetes Mellitus: Results From IMPROVE-IT (Improved Reduction of Outcomes: Vytorin Efficacy International Trial). *Circulation*. 2018;137(15):1571-82. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.117.030950
39. Schmidt AF, Pearce LS, Wilkins JT, Overington JP, Hingorani AD, Casas JP. PCSK9 monoclonal antibodies for the primary and secondary prevention of cardiovascular disease. *Cochrane Database Syst Rev*. 2017;4(4):CD011748. doi: 10.1002/14651858.CD011748.pub2

40. Szarek M, White HD, Schwartz GG, Alings M, Bhatt DL, Bittner VA, et al. Alirocumab Reduces Total Nonfatal Cardiovascular and Fatal Events: The ODYSSEY OUTCOMES Trial. *J Am Coll Cardiol*. 2019;73(4):387-96. doi: 10.1016/j.jacc.2018.10.039
41. Sabatine MS, Giugliano RP, Keech AC, Honarpour N, Wiviott SD, Murphy SA, et al. Evolocumab and Clinical Outcomes in Patients with Cardiovascular Disease. *N Engl J Med*. 2017;376(18):1713-22. doi: 10.1056/NEJMoa1615664
42. Arrieta A, Hong JC, Khera R, Virani SS, Krumholz HM, Nasir K. Updated Cost-effectiveness Assessments of PCSK9 Inhibitors From the Perspectives of the Health System and Private Payers: Insights Derived From the FOURIER Trial. *JAMA Cardiol*. 2017;2(12):1369-74. doi: 10.1001/jamacardio.2017.3655
43. Seidah NG, Prat A, Pirillo A, Catapano AL, Norata GD. Novel strategies to target proprotein convertase subtilisin kexin 9: beyond monoclonal antibodies. *Cardiovasc Res*. 2019;115(3):510-8. doi: 10.1093/cvr/cvz003
44. Landrum MJ, Chitipiralla S, Brown GR, Chen C, Gu B, Hart J, et al. ClinVar: improvements to accessing data. *Nucleic Acids Res*. 2020 Jan 8;48(D1):D835-D844. doi: 10.1093/nar/gkz972

Submetido em: 30/06/2024

Aceito em: 08/08/2024