

Caracterização bioquímica e molecular de doentes com hipercolesterolemias genéticas

A.C. Alves^{1,2}, A.M. Medeiros^{1,2}, A. Gomes^{1,2}, M. Bourbon^{1,2} em nome dos investigadores do estudo português de Hipercolesterolemia Familiar

1 Grupo de Investigação Cardiovascular, DPSDC, Instituto Nacional Saúde Dr Ricardo Jorge, Lisboa, Portugal

2 Center for Biodiversity, Functional & Integrative Genomics

mafalda.bourbon@insa.min-saude.pt

Estudo Português de Hipercolesterolemia Familiar

Introdução

O colesterol elevado no sangue contribui para o processo arteriosclerótico, que está na base das doenças cardiovasculares (DCV). Perturbações no metabolismo lipídico podem dever-se a alterações nos receptores ou seus ligandos, como é o caso da Hipercolesterolemia Familiar (FH).

A FH é uma doença autossómica dominante que se caracteriza a nível clínico por níveis elevados de cLDL, levando ao aparecimento prematuro de doenças cardiovasculares. A nível genético esta doença caracteriza-se por mutações em três genes: LDLR, APOB e PCSK9.

O objectivo deste estudo foi analisar o perfil bioquímico e molecular de doentes com FH diagnosticada clinicamente e o aparecimento de doença cardiovascular prematura nos doentes referenciados ao Estudo Português de Hipercolesterolemia Familiar (EPFH).

Material e Métodos

• Desde 1999 o Estudo Português de Hipercolesterolemia Familiar recebeu 635 casos-índice com diagnóstico clínico de FH e mais de mil familiares. O estudo molecular é realizado em 3 fases. No gene LDLR os 18 exões são amplificados por PCR e analisados por DHPLC e sequenciação directa. O estudo de grandes rearranjos no gene LDLR é realizado por MLPA (*Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification*). A pesquisa de mutações nos genes APOB e PCSK9 é realizado por amplificação por PCR dos fragmentos que contêm mutações já descritas, seguidos de sequenciação directa.

• Os parâmetros bioquímicos, colesterol total (CT), LDLc, HDLc, triglicéridos, ApoB e ApoAI foram determinados para todos os casos-índice pelos métodos de imunoturbidimetria e colorimetria /enzimático em que o LDL foi determinado directamente, em equipamento automatizado. Estes dados foram posteriormente analisados por SPSS (versão 17.0), utilizando os testes ANOVA e de Turkey.

Resultados e Discussão

• Até a data foram identificados 461 doentes (casos índice e familiares), nomeadamente 337 adultos e 124 crianças, com uma alteração genética num dos 3 genes (figura 1), correspondendo a 2,3% dos casos que se estima (OMS) que existam em Portugal. Neste trabalho são só apresentados os resultados do grupo de FH adultos.

• Cerca de 23% (30/136) dos casos índice, apresentavam já DCV prematura (idade 47,38 ± 10,71 anos). Dos 201 familiares identificados 14% (28/201) também apresentavam DCV prematura (idade 41,72 ± 8,07 anos). Nos casos índice com suspeita clínica de FH nos quais não foi encontrada uma causa genética, 22% (50/228) apresentam DCV (idade 43,00 ± 10,68 anos), indicando que pode existir outra causa genética que justifique a hipercolesterolemia (figura 2).

• Verificou-se que os doentes com DCV e identificados molecularmente com FH apresentam um valor de CT=415,15 ± 19,05mg/dL e cLDL=324,98 ± 18,28mg/dL, estatisticamente significativo ($p < 0,001$) em relação aos valores apresentados por os doentes com FH sem DCV, CT=321,18 ± 6,02mg/dL e cLDL=240,06 ± 5,96mg/dL (figura 3).

• Doentes com FH apresentam um valor de sdLDL (54,94 ± 7,09mg/dL) significativamente mais elevados ($p = 0,005$) do que os doentes sem mutação (sdLDL=35,28 ± 3,07mg/dL). No entanto esta análise é baseada num número pequeno de doentes (71/565) uma vez que a maioria dos doentes já estão medicados aquando a referenciação ao Estudo.

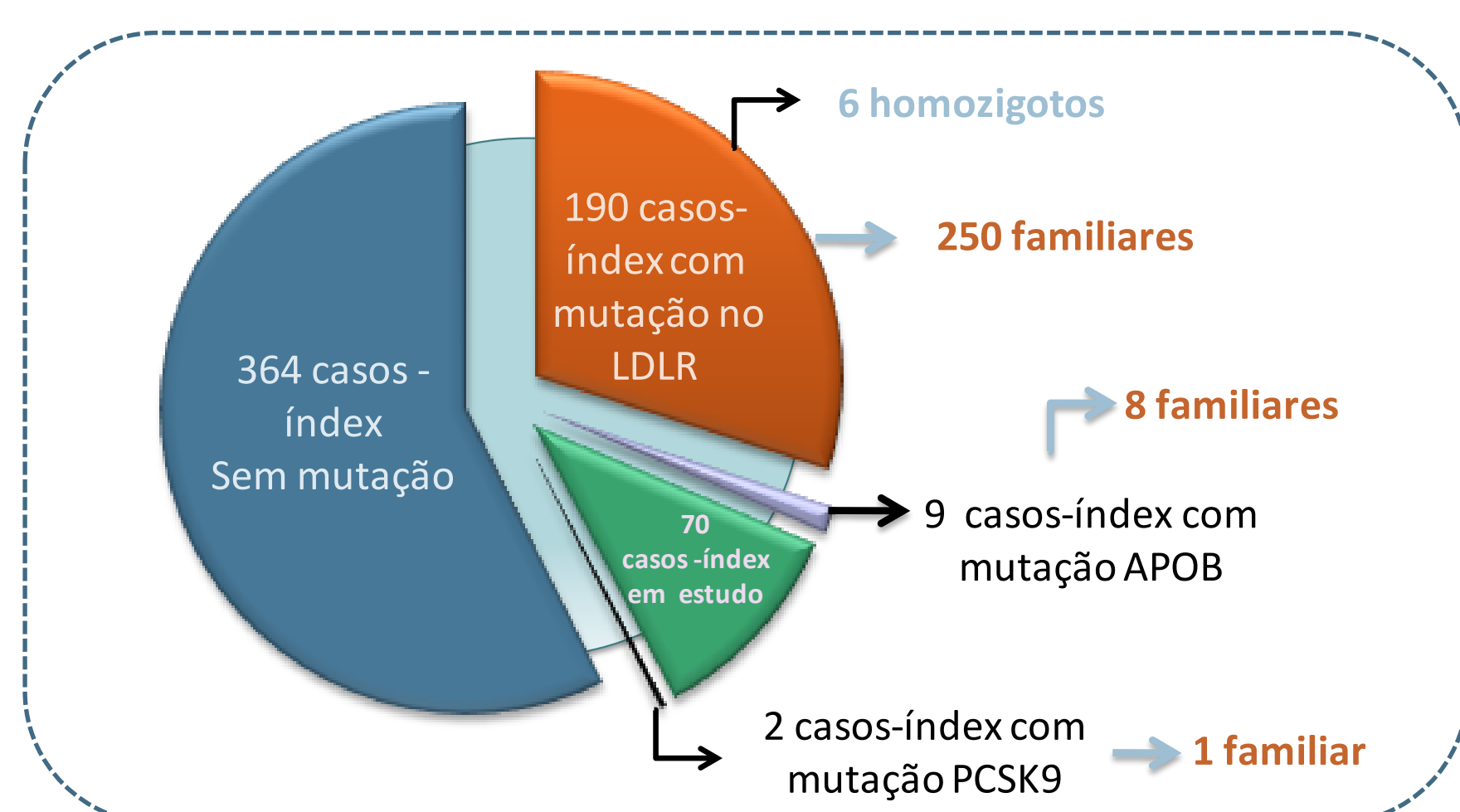


Figura 1 – Resultados gerais do EPFH

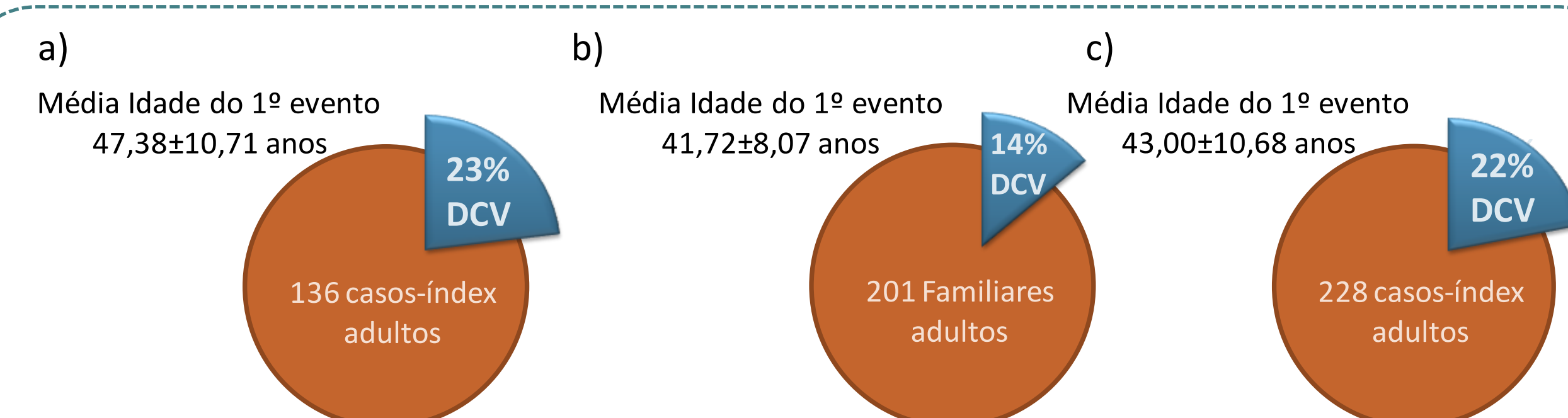


Figura 2 – DCV prematura nos casos-índice e familiares referenciados ao EPFH. a) DCV prematura nos casos-índice com FH; b) DCV prematura nos familiares com FH; c) DCV prematura nos casos-índice sem mutação

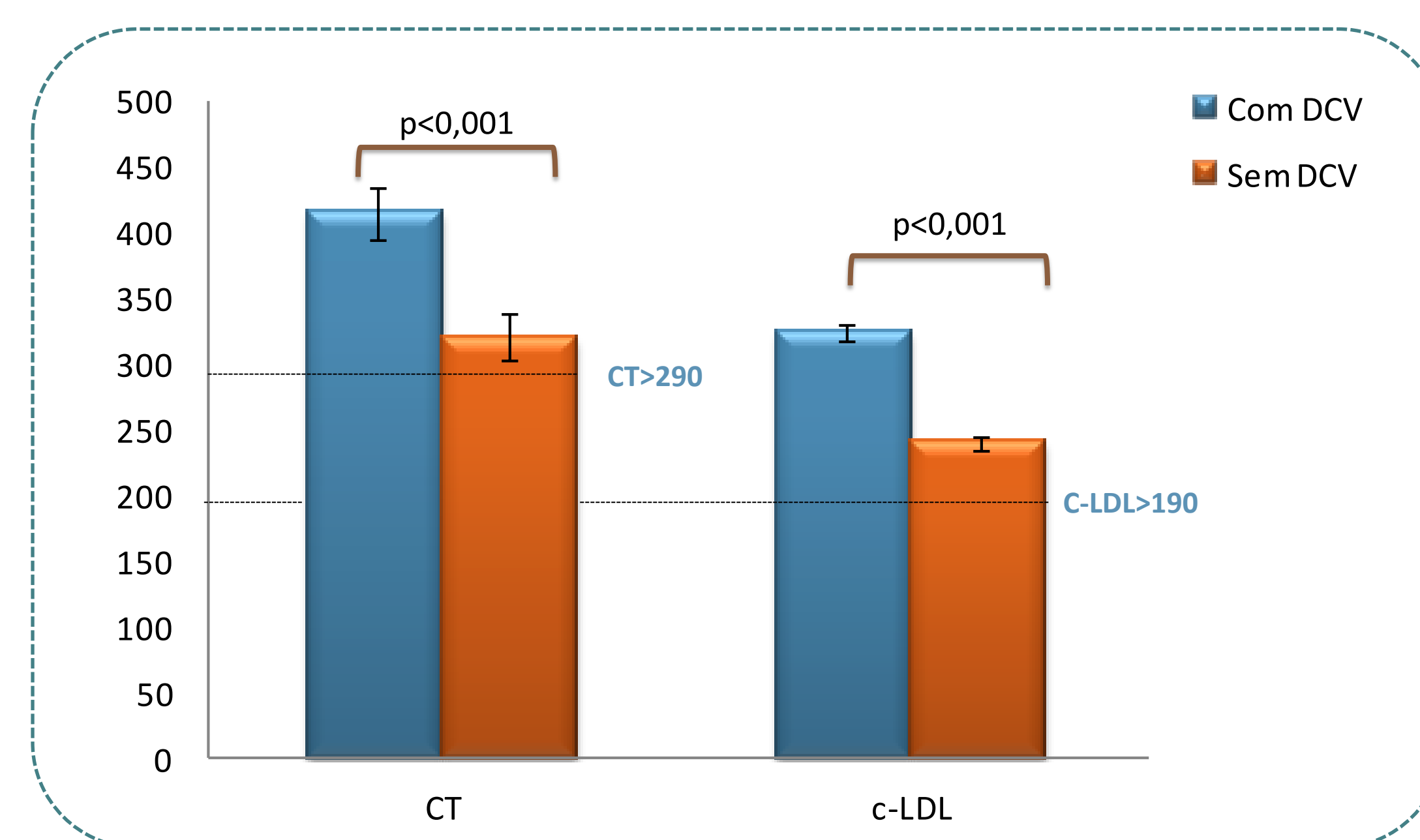


Figura 3 – Médias de colesterol total (CT) e colesterol LDL (c-LDL), com respectivo desvio padrão, nos indivíduos com FH (caso-índice e familiares) e valores de critérios de admissão ao estudo CT > 290mg/dL e c-LDL > 190mg/dL.

• Doentes com mutação no gene PCSK9 têm valores de CT=463,96 ± 94,45mg/dL e c-LDL=406,95 ± 134,32mg/dL significativamente mais elevados do que doentes com mutações nos restantes 2 genes. Doentes com mutações *nonsense* no gene LDLR apresentam valores de CT=369,35 ± 89,25mg/dL e c-LDLc=369,35 ± 89,25mg/dL estatisticamente mais elevados ($p = 0,03$) do que doentes com mutações *missense* CT=329,55 ± 80,70mg/dL e c-LDLc=240,79 ± 73,10mg/dL.

Conclusões

Em 364 doentes índice não foi encontrada uma alteração num dos 3 genes estudados no EPFH. Nestes indivíduos a causa da hipercolesterolemia pode estar associada a uma alteração não detectada pelas metodologias correntes nos 3 genes associados à FH, mas o mais provável é dever-se a defeitos noutros genes ainda não descritos ou a factores ambientais. Apesar de já terem sido identificados alguns genes associados a patologias no metabolismo lipídico continua ainda por encontrar a causa de algumas hiperlipidemias.

O estudo molecular fundamenta a instituição de terapêutica farmacológica adequada e a adopção de um estilo de vida saudável reduzindo substancialmente o risco cardiovascular. Nas crianças e adolescentes o diagnóstico genético é ainda mais importante, uma vez que se sabe que o risco cardiovascular é elevado, mas evitável, se medidas preventivas forem colocadas em prática. O futuro passa pela prevenção em vez da resolução tardia das complicações cardiovasculares inerentes a esta patologia.