

## Portador Heterozigoto Composto de Hipercolesterolemia Familiar Causada por Variantes no LDLR

*Compound Heterozygous Familial Hypercholesterolemia Caused by LDLR Variants*

*Heloisa Pamplona-Cunha,<sup>1</sup> Marcela Freitas Medeiros,<sup>1</sup> Thaís Cristine Marques Sincero,<sup>1</sup> Isabela de Carlos Back,<sup>1</sup> Edson Luiz da Silva<sup>1</sup>*

*Universidade Federal de Santa Catarina,<sup>1</sup> Florianópolis, SC - Brasil*

### Resumo

A hipercolesterolemia familiar (HF) é uma doença genética causada por um defeito primário no gene que codifica o receptor da LDL. Mutações diferentes no mesmo gene caracterizam um heterozigoto composto, mas pouco se sabe sobre o fenótipo dos portadores. Portanto, neste estudo, descrevemos o rastreamento em cascata de uma família brasileira com essa característica. O caso-índice é um homem de 36 anos, com colesterol total (CT) de 360 mg/dL (9,3 mmol/L) e concentração de LDL-c de 259 mg/dL (6,7 mmol/L), além de xantomas de tendão de Aquiles, obesidade e pré-hipertensão. A genotipagem identificou as mutações 661G>A, 670G>A e 682G>A, no exon 4, e 919G>A, no exon 6. A mesma mutação no exon 4 foi observada no filho do caso-índice (7 anos), que também tem hipercolesterolemia e xantomas tendinosos, ao passo que a filha do caso-índice (9 anos) apresenta mutação no exon 6 e hiperlipidemia, sem xantomas. Em suma, este relato permite uma melhor compreensão acerca da base molecular da HF no Brasil, um país multirracial, onde é esperada uma população heterogênea.

### Introdução

O aumento dos níveis plasmáticos de colesterol total (CT) e da lipoproteína-colesterol de baixa densidade (LDL-c) ocorre em pacientes com formas graves e precoces de hipercolesterolemia familiar (HF), uma doença genética geralmente resultante de mutações no gene LDLR, que codifica o receptor LDL.<sup>1</sup> A detecção da mutação patogênica é o padrão ouro para o diagnóstico de HF, e a forma mais eficiente de triagem é o rastreamento dos parentes de um paciente já diagnosticado (caso-índice).<sup>1</sup>

A presença de mutações distintas no mesmo gene caracteriza o indivíduo como heterozigoto composto.<sup>2-4</sup> Embora as consequências clínicas das mutações heterozigotas

e homozigotas sejam descritas frequentemente, pouco se sabe sobre os fenótipos de portadores heterozigotos compostos.<sup>2-4</sup> A grande sobreposição de fenótipos dentro do espectro de portadores de mutação relacionadas à HF pode explicar a subnotificação dos heterozigotos compostos e sugere que este diagnóstico é facilmente perdido.<sup>2</sup>

Levando-se em consideração que encontramos apenas um relato de heterozigoto composto para HF no Brasil,<sup>5</sup> descrevemos neste estudo o rastreamento de uma família brasileira com essa característica. Os métodos aplicados estão descritos no Arquivo Suplementar 1.

### Resultados

Todos os participantes assinaram um termo de consentimento livre e esclarecido do protocolo de pesquisa, incluindo os testes genéticos, e o Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da Universidade Federal de Santa Catarina aprovou o estudo (CAAE: 54585416.1.0000.0121).

O Arquivo Suplementar 2 mostra a árvore genealógica do caso-índice (indivíduo I) e seus familiares. O indivíduo I é um homem de 36 anos de idade. Apesar de fazer uso diário de 20 mg de Sinvastatina, o caso-índice apresentou CT de 360 mg/dL (9,3 mmol/L), um valor de LDL-C de 260 mg/dL (6,7 mmol/L), correspondente a 80,4% da fração pequena e densa da LDL (sd-LDL), medida após a precipitação das demais lipoproteínas apoB<sup>6</sup> (Arquivo Suplementar 1). Também apresentou concentrações plasmáticas elevadas de não-HDL-c, triglicérides e ApoB, além de níveis baixos de HDL-c. O paciente é fumante, sedentário (Arquivo Suplementar 3), obeso com obesidade abdominal e pré-hipertenso. O ultrassom Doppler carotídeo não mostrou aumento da espessura íntima-média, o que não exclui aterosclerose subclínica. Infelizmente, neste estudo, a aterosclerose coronária subclínica não foi avaliada através de angiografia por tomografia computadorizada (TC). Foram identificados xantomas de tendão de Aquiles, e o diagnóstico clínico de HF foi definitivo.

O caso-índice e sua esposa (indivíduo II) relataram histórico familiar de parente de primeiro grau com doença da artéria coronariana (DAC) precoce e concentrações elevadas de CT, mas nenhum caso de doença cardiovascular (DCV) precoce.

O genótipo LDLR do caso-índice revelou três mutações no exon 4 (661G>A, 670G>A, 682G>A) e uma no exon 6 (919G>A).

O indivíduo II não apresentava sinais ou sintomas de HF e não tinha diagnóstico clínico. O rastreamento genético em cascata permitiu a identificação da mutação 919G>A na filha

### Palavras-chave

Hipercolesterolemia familiar; Hiperlipoproteinemia Tipo II; Triagem genética em cascata; Genotipagem; Aterosclerose; Heterozigoto Composto.

**Correspondência:** Edson Luiz da Silva •

Universidade Federal de Santa Catarina - Campus Universitário Reitor João David Ferreira Lima. CEP 88040-900, Florianópolis, SC - Brasil  
E-mail: edson.silva@ufsc.br

Artigo recebido em 08/09/2019, revisado em 31/12/2019, aceito em 22/01/2020

**DOI:** <https://doi.org/10.36660/abc.20190582>

## Comunicação Breve

do caso-índice (indivíduo III; 9 anos), e as mutações 661G>A, 670G>A, e 682G>A no filho (indivíduo IV; 7 anos), tendo sido confirmado, assim, o diagnóstico de HF. Ambos os filhos apresentaram hipercolesterolemia (CT 394 and 332 mg/dL (10,2 e 8,6 mmol/L); LDL-c 329 e 286 mg/dL (8,5 e 7,4 mmol/L), e sd-LDL-c 63,5 e 90,5% para os indivíduos III e IV, respectivamente), com índices elevados de ApoB, indicando um padrão mais aterogênico. Além disso, o indivíduo IV apresentava xantomas na mão direita (interdigitais) e no cotovelo esquerdo (Arquivo Suplementar 3). Nenhum dos filhos estava sob tratamento hipolipemiante, e não havia sinais de DAC clínica. O ultrassom com Doppler não revelou nenhuma obstrução na artéria carótida nos indivíduos dessa família. Embora seja provável que eles não tivessem DAC, não é possível afirmar com 100% de certeza devido à falta da angiografia por TC.

Neste estudo, o diagnóstico de FH foi realizado com base nos critérios da Dutch Lipid Clinic Network (DLCN). Deve-se salientar que esse critério é útil apenas para adultos e o diagnóstico nas crianças pode ser subestimado. Levando-se em consideração o critério, mas não o teste genético, os indivíduos I e IV obtiveram 14 pontos e o diagnóstico foi de HF clínica. Por outro lado, o sujeito III obteve apenas oito pontos (diagnóstico provável). Após a identificação das variantes através do teste genético, todos os três sujeitos tiveram mais que oito pontos e foram considerados portadores de HF.

### Discussão

O caso-índice apresentou quatro mutações no gene LDLR, o que caracteriza um heterozigoto composto. O caso-índice provavelmente apresentou um fenótipo leve de HF devido à terapia hipolipemiante. Além disso, apresentava comorbidades, tais como obesidade e hipertensão, o que pode complicar o prognóstico. A aterosclerose coronária subclínica não foi avaliada neste estudo. O rastreamento em cascata permitiu a identificação de dislipidemia e o diagnóstico da HF nos filhos do caso-índice. Curiosamente, todos os indivíduos estudados apresentaram níveis elevados de sd-LDL, ao contrário de relatos anteriores, que mostraram uma prevalência de partículas grandes e flutuantes de LDL em pacientes com HF.<sup>7</sup> Estudos adicionais são necessários para esclarecer este achado.

A mutação 661G>A substitui o códon GAC por AAC, modificando o aminoácido aspartato por asparagina, na posição 221 da cadeia proteica. Consequentemente, ocorre a substituição de um aminoácido carregado negativamente por um aminoácido fracamente bipolar, o que afeta a atividade de ligação proteína-ligante.<sup>8</sup>

A mutação 670G>A corresponde à troca do códon GAC pelo AAC na posição 224 da cadeia proteica, levando à substituição do aminoácido aspartato pela asparagina. A mutação gera um receptor r com menos de 2% de sua atividade normal.<sup>9</sup>

No caso da mutação heterozigota 682G>A, o códon GAG é substituído pelo AAG, levando à substituição do ácido glutâmico por lisina na posição 228. Essa mutação origina a troca de um aminoácido básico por um aminoácido ácido, o que prejudica o transporte do receptor da LDL do retículo

endoplasmático para a superfície celular.<sup>10</sup> resultando em um receptor LDL com menos de 2% de sua atividade normal.<sup>11</sup> As mutações na extremidade 3' do exon 4 do gene LDLR são uma causa muito comum de HF, e alterações de base única idênticas nessa região curta ocorrem em diferentes populações, especialmente em dinucleotídeos CG. Assim, é pouco provável que a mutação tenha sido herdada de um ancestral comum.<sup>11</sup>

A mutação 919G>A modifica o códon GAT, correspondente ao aspartato, para AAT, correspondente à asparagina, na posição 307 da cadeia proteica.<sup>12</sup> A análise *in silico* indicou que essa mutação é provavelmente patogênica. O exon 4 não foi genotipado na filha do caso-índice e ela pode ter mutações semelhantes às do pai. Apesar dos níveis similares de lipídios séricos, ao contrário do pai e do irmão, a filha (indivíduo IV) não apresentou xantomas.

As mutações 661G>A, 670G>A e 682G>A foram classificadas como patogênicas/provavelmente patogênicas de acordo com o ClinVar. Por outro lado, a mutação 919G>A possui interpretações conflitantes de patogenicidade (provavelmente patogênico/significado incerto). No entanto, deve-se observar que achados *in silico* não provam a patogenicidade.<sup>13</sup>

Há relatos de que mutações homozigotas ou heterozigotas compostas no LDLR, além de mutações duplas no LDLR, estão associadas a níveis mais elevados de LDL-c, xantomatose mais extensa e DAC prematura mais grave em relação às mutações heterozigotas simples.<sup>3,4</sup> Entretanto, todos os indivíduos que participaram deste estudo apresentaram fenótipos leves. Contudo, o caso-índice e seus filhos não foram submetidos à avaliação para a presença de aterosclerose coronária subclínica. Todos os indivíduos foram encaminhados a um cardiologista para receberem tratamento e acompanhamento apropriados.

Não podemos afirmar se um diagnóstico genético “duplo” teria relevância clínica quando os pacientes já foram diagnosticados e estão sendo tratados adequadamente com terapia hipolipemiante.<sup>2</sup> No entanto, é de importância clínica perceber que essa população deve ser informada sobre a importância da sua herança genética, uma vez que a herança de distúrbios monogênicos combinados é mais grave e está associada a um maior risco de desenvolvimento de DCV, requerendo, assim, maior cuidado.<sup>2</sup>

Os achados relatados neste estudo ajudam a elucidar as bases moleculares da HF no Brasil, uma vez que há apenas nove estudos disponíveis sobre o rastreamento molecular da HF<sup>5</sup> e, levando-se em consideração que este é um país multirracial, é esperada uma população heterogênea. O objetivo desta pesquisa é contribuir para o diagnóstico genético e o aconselhamento de pacientes com HF.

### Agradecimentos

Gostaríamos de agradecer ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e ao Programa de Pós-Graduação em Farmácia da Universidade Federal de Santa Catarina pelo apoio financeiro.

## Contribuição dos Autores

Concepção e desenho da pesquisa e Análise e interpretação dos dados: Cunha HP, Sincero TCM, Back IC, Silva EL; Obtenção de dados e Redação do manuscrito: Cunha HP, Medeiros MF, Sincero TCM, Back IC, Silva EL; Análise estatística: Cunha HP, Silva EL; Obtenção de financiamento: Sincero TCM, Back IC, Silva EL; Revisão crítica do manuscrito quanto ao conteúdo intelectual importante: Cunha HP, Sincero TCM, Back IC, Silva EL.

## Potencial Conflito de Interesses

Declaro não haver conflito de interesses pertinentes.

## Fontes de Financiamento

O presente estudo foi parcialmente financiado pelo CNPq, CAPES. PROAP-CAPS da UFSC e Sanofi/Genzyme.

## Vinculação Acadêmica

Este artigo é parte de tese de Doutorado de Heloisa Pamplona Cunha pela Universidade Federal de Santa Catarina.

## Referências

1. Watts GF, Gidding S, Wierzbicki AS, Toth PP, Alonso R, Brown WV, et al. Integrated guidance on the care of familial hypercholesterolaemia from the International FH Foundation. *Int J Cardiol* 2014;171:309-25.
2. Sjouke B, Defesche JC, Hartgers ML, Wiegman A, Roeters van Lennep JE, Kastelein JJ, et al. Double-heterozygous autosomal dominant hypercholesterolemia: Clinical characterization of an underreported disease. *J Clin Lipidol* 2016; 10(6):1462-9.
3. Al-Allaf FA, Alashwal A, Abduljaleel Z, Taher MM, Bouazzaoui A, Abalkhail H, et al. Compound heterozygous LDLR variant in severely affected familial hypercholesterolemia patient. *Acta Biochim Pol.* 2017;64(1):75-9.
4. Hartgers ML, Defesche JC, Langslet G, Hopkins PN, Kastelein JJP, Baccara-Dinet MT, et al. Alirocumab efficacy in patients with double heterozygous, compound heterozygous, or homozygous familial hypercholesterolemia. *J Clin Lipidol.* 2018; 12(2):390-6.
5. Mehta R, Zubirán R, Martagón AJ, Vasquez-Cárdenas A, Segura-Kato Y, Tusié-Luna MT, et al. The panorama of familial hypercholesterolemia in Latin America: A systematic review. *J Lipid Res.* 2016; 57(12):2115-29.
6. Cavalcante LS, Silva EL. Application of a modified precipitation method for the measurement of small dense LDL-cholesterol (sd-LDL-C) in a population in southern Brazil. *Clin Chem Lab Med.* 2012; 50(9):1649-56.
7. Raal FJ, Pilcher GJ, Waisberg R, Buthelezi EP, Veller MG, Joffe BI. Low-density lipoprotein cholesterol bulk is the pivotal determinant of atherosclerosis in familial hypercholesterolemia. *Am J Cardiol.* 1999;83(9):1330-3.
8. Ebhardt M, Schmidt H, Doerk T, Tietge U, Haas R, Manns M-P, et al. Mutation analysis in 46 German families with familial hypercholesterolemia: Identification of 8 new mutations. *Hum Mutat.* 1999;13(3):257.
9. Hobbs HH, Brown MS, Goldstein JL. Molecular genetics of the LDL receptor gene in familial hypercholesterolemia. *Hum Mutat.* 1992;16(6):445-66.
10. Leitersdorf E, Tobin EJ, Davignon J, Hobbs HH. Common low-density lipoprotein receptor mutations in the French Canadian population. *J Clin Invest.* 1990;85(4):1014-23.
11. Pimstone SN, Sun XM, Souich C, Frohlich JJ, Hayden MR, Soutar AK. Phenotypic variation in heterozygous familial hypercholesterolemia: a comparison of Chinese patients with the same or similar mutations in the LDL receptor gene in China or Canada. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 1998;18(2):309-15.
12. Duskova L, Kopeckova L, Jansova E, Tichya L, Freiburger T, Zapletalova P, et al. An APEX-based genotyping microarray for the screening of 168 mutations associated with familial hypercholesterolemia. *Atherosclerosis.* 2011;216(1):139-45.
13. U.S. National Library of Medicine. National Center for Biotechnology Information. ClinVar [website]. (Access November 12 2019). Available from: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/variation> >

## \*Material suplementar

Para informação adicional, por favor, [clique aqui](#).



Este é um artigo de acesso aberto distribuído sob os termos da licença de atribuição pelo Creative Commons