

UNIVERSIDADE DE LISBOA

FACULDADE DE FARMÁCIA



**HIPERCOLESTEROLEMIA FAMILIAR: DAS TÉCNICAS
DEPURATIVAS À TERAPÊUTICA BIOLÓGICA**

Eurídice Martins Coimbra

MESTRADO INTEGRADO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

2020

UNIVERSIDADE DE LISBOA

FACULDADE DE FARMÁCIA



HIPERCOLESTEROLEMIA FAMILIAR: DAS TÉCNICAS DEPURATIVAS À TERAPÊUTICA BIOLÓGICA

Eurídice Martins Coimbra

**Monografia de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas
apresentada à Universidade de Lisboa através da Faculdade de Farmácia**

**Orientador: Professora Auxiliar, Doutora Ana Cristina Ferreira da
Conceição Ribeiro**

2020

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar, gostaria de agradecer à Ex.^a Sra. Professora Doutora Ana Cristina Ferreira, pela sábia orientação, disponibilidade, prontidão e empatia. Depositando em mim confiança e acreditando nas minhas competências, espero corresponder às suas expectativas.

Atravessei tempos muito difíceis, mas também sei que foram estes momentos que fizeram com que acreditasse que seria capaz. Sempre que vos pareça que tudo ao redor se encontra com uma penumbra cinzenta, acreditem que no fundo do horizonte existirá uma réstia de luz brilhante que vos conduzirá, nunca digam que não são capazes, se eu consegui, todos conseguirão.

Não tenho palavras para descrever, o quanto foi gratificante frequentar esta faculdade, pelos docentes que tive privilégio de conhecer. Contribuíram para o meu enriquecimento a nível científico, sendo atualmente a minha prática profissional mais fundamentada.

Os colegas com idade de serem meus filhos, sempre me fizeram sentir com as mesmas capacidades, com um companheirismo nem sempre existente nos dias de hoje, fiz bons amigos que guardo na memória, muitos deles ficaram para sempre.

Queria desde já pedir desculpa à minha filha, pelos meus momentos de ausência, mas também sei que estando ausente estive de certo modo presente, pois fui um exemplo. Acredito contribuí de certa forma para o que é hoje. Uma excelente aluna com um perfeccionismo e nível de exigência extremo, gostaria de lhe poder expressar o imenso orgulho que tenho por ela. Como futura profissional de saúde espero que desempenhe a sua profissão, com vocação e responsabilidade que é exigida a qualquer profissional de saúde.

Não posso deixar de agradecer à Ex.^a Professora Doutora Carla Barros, pela humanidade e empatia, sem a qual também seria impossível ter alcançado esta etapa.

Aos meus colegas, Alexandra Martins e Andreia Filipe pela amizade, dedicação e espírito de equipa. O meu muito obrigado à minha amiga, Maria João Silva, Manuel Simões, Raquel Nobre Mónica Silva. Apesar dos tempos difíceis em que nos encontramos, estiveram sempre presentes. Enumero apenas alguns, pois seria demasiado exaustivo enumerar todos, bem como todos os docentes que estão na minha memória.

Agradeço a todos os autores, por me terem facultado toda a bibliografia solicitada.

A todos vós, o meu muito obrigado.

RESUMO

As doenças cardiovasculares continuam a ser uma das principais causas de morbilidade e mortalidade nos países desenvolvidos e Portugal não é exceção.

São conhecidos vários fatores de risco para o desenvolvimento da doença aterosclerótica, sendo um dos mais relevantes a dislipidemia. Existe de forma inequívoca e consistente que o aumento do colesterol plasmático ligado às proteínas de baixa densidade (c-LDL) é fator causal direto para o desenvolvimento da referida doença.

A Hipercolesterolemia Familiar (HF), trata-se de uma patologia genética de transmissão autossómica dominante, podendo raramente apresentar-se na forma recessiva, na qual ambos progenitores não possuem doença. É uma patologia que resulta de mutações nos genes que codificam as proteínas dos recetores da LDL (Lipoproteína de Baixa Densidade), ApoB (ApolipoproteínaB), PCSK9 (Pró-proteína Convertase Subtilisina do Tipo 9) e LDLRAP1 (Proteína 1 Adaptadora do Recetor da LDL). Manifesta-se por níveis elevados de c-LDL, consequentes de alterações no metabolismo lipídico, caracterizando-se pela progressão prematura da doença aterosclerótica, fazendo com que estes doentes tenham um risco acrescido de doenças cardiovasculares comparativamente à população em geral.

Em 2003, ao se estudarem famílias Francesas com hipercolesterolemia familiar severa sem mutações nos genes identificados anteriormente responsáveis pela doença, foi identificada uma alteração no gene codificador para a PCSK9, em que o ganho de função origina degradação dos recetores responsáveis pela depuração do c-LDL, a nível hepático.

Neste sentido e a fim de inibir o efeito da PCSK9, a indústria farmacêutica, desenvolveu três anticorpos monoclonais obtidos pela técnica de DNA recombinante.

Os anticorpos monoclonais inibidores da PCSK9 foram aprovados pela FDA (*Food Drug Administration*) em 2015 e pela EMA (*European Medicines Agency*) nesse mesmo ano, dado os resultados obtidos nos ensaios clínicos.

O anticorpo monoclonal **Evolocumab**, foi introduzido em Portugal pela primeira vez no Hospital de Santa Cruz, fora dos ensaios clínicos em fevereiro de 2016, numa doente com hipercolesterolemia heterozigótica severa com necessidade de realização de técnica depurativa LDL-Aférese.

Mesmo com administração dos anticorpos monoclonais associados a outra terapêutica hipolipemiante disponível, muitos destes doentes não conseguem atingir os valores recomendados, necessitando da técnica depurativa extracorporal LDL-Aférese, em associação com terapêutica biológica.

Deste modo a elaboração deste trabalho teve como objetivo, aprofundar e divulgar conhecimentos sobre posicionamento deste medicamento relativamente, à técnica de LDL-Aférese, bem refletir sobre as vantagens e desvantagens da sua introdução nestes doentes.

Palavras Chave: Hipercolesterolemia Familiar, Doença Aterosclerótica, PCSK9, LDL-Aférese.

ABSTRACT

Cardiovascular diseases are one of the leading causes of morbidity and mortality in developed countries including Portugal.

There are several known risk factors associated with atherosclerotic disease and dyslipidemia is one of the most important. The increase in plasma c-LDL levels is claimed to be undoubtedly associated with it.

Familial hypercholesterolaemia is an autosomal dominant genetic disease, rarely appearing as an autosomal recessive form in which both parents do not have the disease but it results from mutations in the genes that codify for LDL (Low Density Lipoprotein), ApoB (Apolipoprotein B), PCSK9 (Protein Convertase Subtilisin Kexin Type 9) and LDLRAP1 (LDL Receptor Adaptor Protein 1). Clinically there is a significant increase in plasma c-LDL levels because of changes in the lipidic metabolism and an early progression of atherosclerotic disease with an increased risk of cardiovascular disease.

In 2003, a French severe familial hypercholesterolaemia study identified a mutation with gain of function, in the gene for the PCSK9 protein that promotes destruction of one of the most important regulators of plasma c-LDL, the liver c-LDL receptor.

Three PCSK9 inhibitors were produced using recombinant DNA technology.

The therapeutic use of these PCSK9 inhibitor monoclonal antibodies were approved by FDA (Food Drug Administration) and EMA (European Medicines Agency) in 2015.

Evolocumab is a fully human monoclonal antibody targeting PCSK9, introduced for the first time in Portugal in February 2016 at the Hospital de Santa Cruz to treat a woman with severe heterozygous hypercholesterolaemia and undertaking LDL-Apheresis sessions.

Even with combined therapy using monoclonal antibodies and other cholesterol lowering drugs many patients still need LDL-Apheresis to achieve the recommended target levels.

The objective of this monography is to deepen knowledge about the therapeutic use of Evolocumab compared to LDL-Apheresis and also to make some considerations about the advantages and disadvantages of its therapeutic use.

Key Words: Familial Hypercholesterolaemia, Atherosclerotic Disease, PCSK9, LDL-Apheresis.

SIGLAS e ACRÓNIMOS

ABC – *ATP binding cassette*

ABCA1 – *ATP binding cassette* tipo A1

ACL – Adenosina Trifosfato Citrato Liase

ALT – Alanina Aminotransferase

Apo – Apolipoproteína

ASDVC – Doença Cardiovascular Aterosclerótica

AST – Aspartato Transaminase

AVC – Acidente Vascular Cerebral

CAES – Sinvastatina e Ezetimiba na Estenose Aórtica (do inglês *Sinvastatine and Ezetimibe in Aortic Stenosis*)

CETP – Proteína Transportadora de Ésteres de Colesterol

CI – Caso(s) Index

CK – Creatina Kinase

c-LDL – Colesterol das lipoproteínas de baixa densidade

CoA – Acetil-coenzima A

CODAP – Consenso Dislipidemia Aterogénica Portugal

CT – Colesterol Total

CV – Cardiovascular

CYP – Citocromo P450

CYS – Cisteína

DAC – Doença Arterial Cardíaca

DAP – Doença Arterial Periférica

DCV – Doença Cardiovascular

DCVA – Doença Cardiovascular Aterosclerótica

DHA – Ácido Docosahexapentanoico

DISYS – Estudo Internacional de Dislipidemia (do inglês *Dislipidemy International Study*)

DM – Diabetes Mellitus

EAM – Enfarte Agudo do Miocárdio

ECV – Evento Cardiovascular

EGF – Fator Crescimento Epidérmico (do inglês *Epidermal Grow Factor*)

EMA – Agência Europeia para o Medicamentos (do inglês *European Medicines Agency*)

EPA – Ácido Poliinsaturado Eucosapentanoico

EPHF – Estudo Português Hipercolesterolemia Familiar

E-selectina – Selectina de células endoteliais

ESO – Extensão Sem Ocultação

EVC – Evento Cardiovascular

FAV – Fermento do Arroz Vermelho

FDA – US *Food Drug Administration*

FOURIER – *Further Cardiovascular Outcomes Research with PCSK9 Inhibition in Subjects With Elevate Risk*

Gln – Glicina

GOF – Ganho de Função

HAR – Hipercolesterolemia Autossômica Recessiva

HDL – Lipoproteínas de Alta Densidade

HF – Hipercolesterolemia Familiar

HF – Sistema Diagnóstico Holandês de Hipercolesterolémia Familiar (*Ducth Familiar Hypercholesterolemia Diagnostic System*)

HFHe – Hipercolesterolemia Familiar Heterozigótica

HFHo – Hipercolesterolemia Familiar Homozigótica

HMG-CoA – 3-hidroxi-3-metilglutaril Coenzima-A

IC – Intervalo Confiança

ICAM-1 – Moléculas de Adesão Intercelular

IDL – Lipoproteínas de Densidade Intermédia

IL – Interleucina

IMPROVI-TE – *Improved Reducion Outcomes: Vyctrin Efficacy International*

INSA – Instituto Nacional de Saúde Dr. Ricardo Jorge

Kb – Kilobases

KDa – KiloDaltons

LACT – Lecitina-Colesterol-Acil-Transferase

LDL – Lipoproteína de baixa densidade

LDLRAP1 – Proteína 1 Adaptadora do Recetor das Lipoproteínas de baixa densidade

LDL-Aférese – Aférese de lipoproteínas de baixa densidade

LDLox – Lipoproteína de Baixa Densidade oxidada

RLDL – Recetor Lipoproteína de baixa densidade (do inglês *Low Density Lipoprotein Rceptor*)

LOF – Perda de função

LP(a) – Lipoproteína(a)

LPL – Lipoproteína Lípase

mAbs – Anticorpos Monoclonais

MED-PEP – *Make Early Diagnosis, Prevent Death on Medica Pedigrees*

miRNAs – Micro RNAs

MTP – Proteína de Transferência de Triglicéridos Microsossomais

NO – Óxido Nítrico

NPC1L1 – *Niemann Pick Tipo C1 Like 1*

O₂⁻ – Anião Superóxido

OCDE - Organização para a Cooperação e Desenvolvimento Económicos

ODISSEY OUTCOMES– *Avaliation of Cardiovascular Outcomes After na Acute Coronary Syndrome During Treatment With Alirocumab*

OMS – Organização Mundial de Saúde

PCR – Proteína C Reativa

PCSK9 – Pró-Proteína Convertase Subtilisina Quexina do tipo 9

PREDIMED – *Primary Prevention of Cardiovascular Disease with a Mediterranean diet*

PLs – Fosfolípidos

P-selectina – Selectina de plaquetas

PUFAs – Ácidos Gordos Poliinsaturados

RCT – Estudo Aleatório Controlado (do inglês *Randomized Controlled Trial*)

RE – Reticulo Endoplasmático

RNA – Ácido Ribonucleico (do inglês *RiboNucleic Acid*)

RNA_m – RNA mensageiro

RTC – Ensaio Clínico Randomizado (do inglês *randomized controlled trials*)

SER – Elementos Reguladores Esteróis (do inglês *Sterol Regulatory Element*)

SHARP – Estudo sobre a Proteção Renal e Cardíaca (do inglês *Study of Hearth and Renal Protection*)

SR-BI – Recetor *scavenger*, de classe B tipo 1

SRE – Elementos Reguladores Esteróis (do inglês *Element Regulatory Sterol*)

SREBPS-2 – Proteína de Ligação aos Elementos Reguladores Esteróis de tipo 2 (do inglês *Sterol Regulatory Element Binding Protein*)

SREBPS-1 – Proteína de Ligação aos Elementos Reguladores Esteróis do Tipo 1 (do inglês *Sterol Regulatory Element Binding Protein*)

TGs – Triglicéridos

TNF α – Fator Necrose Tumoral

US – *United States*

USA – *United States of America*

VCAM-1 – Moléculas de Adesão da Célula Vascular

VHA – Ácido Docosaexapentanóico

VLDL – Lipoproteínas de Muito Baixa Densidade

WOSCOPS – Estudo Prevenção coronária da Escócia ocidental (do inglês *West of Scotland Coronary Prevention Study*)

INDÍCE	F.
1. INTRODUÇÃO	16
2. HIPERCOLESTEROLEMIA FAMILIAR	18
2.1. Metabolismo Lipídico	18
2.2. Recetor da LDL	22
2.2.1. Resenha Histórica	22
2.3. Endocitose Mediada pelo Recetor da LDL	24
2.4. Mutações que Afetam a <i>Clearance</i> das LDL	28
2.5 Mutações mais Frequentes em Portugal	34
2.6. Mecanismo Fisiopatológico da Doença Cardiovascular	35
2.7. Lp(a) - Risco Cardiovascular	38
3. EPIDEMIOLOGIA	41
3.1. Estudo Português de Hipercolesterolemia Familiar	41
4. DIAGNÓSTICO	43
4.1. Clínico	43
4.1.1. Rastreio Universal e Rastreio Seletivo	45
4.2. Genético	46
4.2.1. <i>Screening</i> em Cascata	47
5. TRATAMENTO NÃO FARMACOLÓGICO	49
5.1. Estilos de Vida	49
5.2. Alimentos Funcionais e Nutracêuticos	51
6. TRATAMENTO FARMACOLÓGICO	54
6.1. Estatinas	54

6.3. Ezitimiba	57
6.4. Ácido Bempedoico	58
7. TERAPÊUTICA BIOLÓGICA	59
7.1. Anticorpos Monoclonais Inibidores da PCSK9	61
8. LDL-AFÉRESE	63
8.1. Técnica	63
8.2. Indicações	66
8.3. Complicações	66
8.4. Benefícios	67
9. ENSAIOS CLÍNICOS	68
9.1. Introdução de Terapêutica Biológica em Pacientes a Realizar LDL-Aférese	70
10. CONCLUSÃO	71
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	74
ANEXOS	88
ANEXO I – Diferentes critérios de diagnóstico clínico	89
ANEXO II – Revisão da acessibilidade dos cuidados de HF em sessenta países	93
ANEXO III – Vários ensaios clínicos realizados com anticorpos monoclonais inibidores da PCSK9	96
ANEXO IV – Ensaios clínicos na HF com anticorpo monoclonais inibidores da PCSK9	99
ANEXO V – Diferentes Tratamentos / Eficácia LDL-Aférese	101
ANEXO VI – Critérios de realização de LDL-Aférese segundo as <i>guidelines</i> adotadas em diferentes países	103

INDÍCE DE FIGURAS	F.
Figura 1- Gene codificador/ Recetor da LDL	27
Figura 2 – Classes Mutações frequentes de recetor de LDL	29
Figura 3 – Maturação PCSK9	31
Figura 4 – Mecanismo de ação do PCSK9	32
Figura 5 – Prevalência de mutações em Portugal	34
Figura 6 – Grupo trabalho Ibero-Americano HF - Mutações mais frequentes e 7 países	35
Figura 7 – Mecanismo fisiopatológico da aterosclerose	38
Figura 8 – Propriedades da Lp(a)	40
Figura 9 – Sinais clínicos de hipercolesterolemia	44
Figura 10 – Prótese/ Fistula Arteriovenosa	66
Figura 11 – Efeitos de benefício de LDL-Aférese através técnica imagiológica	68
Figura 12 – Alteração média de c-LDL às 24 semanas de acordo com as mutações genéticas.	69
Figura 13 – Alteração do c-LDL.entre o início do estudo TAUSSIG e 48 semanas	70
Figura 14 – Alteração do c-LDL durante todo o estudo TAUSSIG	70

INDÍCE DE TABELAS	F.
Tabela 1- Principais Características das lipoproteínas Tamanho/ Constituição	20
Tabela 2- Caracterização das Lipoproteínas quanto à sua origem e função	22
Tabela 3- Critérios diagnósticos da HFHo	47
Tabela 4- Fármacos que podem interagir com estatina e aumentar o risco de rabdomiólise	57

1. INTRODUÇÃO

As doenças cardiovasculares continuam a ser uma das principais causas de morbidade e mortalidade nos países desenvolvidos e Portugal não é exceção.

São conhecidos vários fatores de risco para o desenvolvimento da doença aterosclerótica, sendo um dos mais relevantes a dislipidemia. De forma inequívoca e consistente o aumento do colesterol de lipoproteína de baixa densidade (c-LDL) é fator causal direto para o desenvolvimento da referida doença. (Carvalho-Fontes *et al.*, 2019).

A Hipercolesterolemia Familiar (HF) é uma patologia genética de transmissão autossómica dominante, podendo raramente apresentar-se na forma recessiva, na qual ambos os progenitores não possuem a doença. É uma patologia que se manifesta por níveis elevados de c-LDL consequentes de alterações no metabolismo lipídico, resultantes de alterações nos genes codificadores para proteínas LDLR (Recetor das Lipoproteínas de Baixa Densidade), ApoB (ApolipoproteínaB), PCSK9 (Pró-proteína Convertase Subtilisina Quexina do Tipo 9) e LDLRAP1 (Proteína Adaptadora do recetor do tipo 1 das LDL) (Cuchel *et al.*, 2014; Raal *et al.*, 2018; D'Erasmus *et al.*, 2018).

Caracteriza-se pela progressão prematura da doença aterosclerótica, fazendo com que estes pacientes tenham um risco acrescido de doenças cardiovasculares, comparativamente à população em geral.

A forma homozigótica da HF é rara, mas a heterozigótica é frequente. O diagnóstico da HF é possível e existe tratamento eficaz. O diagnóstico precoce e o tratamento correto dos indivíduos afetados podem aumentar a qualidade e esperança de vida destes pacientes, em vários anos. O diagnóstico da HF, é geralmente baseado num conjunto de critérios clínicos, bioquímicos e na história familiar. Em Portugal têm sido utilizados os critérios adaptados do registo de HF Simon Broome, UK, que estabelecem o diagnóstico da patologia em “confirmado” ou “possível” (Bourbon and Rato, 2006).

O teste genético é considerado o mais eficaz, permitindo o diagnóstico correto da patologia e instituir a terapêutica adequada, o mais precocemente possível. O diagnóstico genético permite também a identificação precoce de familiares em risco, que de outra forma poderiam não ser identificados. A identificação de pacientes com HF em idade jovem que sejam devidamente

aconselhados e tratados de acordo com a sua condição, diminui substancialmente o risco cardiovascular destes indivíduos, risco este que pode tornar-se semelhante ao da população saudável (Bourbon, 2010).

Apesar da existência de metodologia para a identificação da doença, esta apresenta-se sub-diagnosticada, pelo que os dados de prevalência estão subestimados.

Estima-se que existam cerca de 14-34 milhões de indivíduos que apresentam a doença a nível mundial, pelo que a Organização Mundial de Saúde (OMS) a declarou um problema de saúde pública (Nordestgaard *et al.*, 2013).

Em Portugal foi iniciado o Estudo de HF no ano de 1999, pelo Instituto Dr.º Ricardo Jorge, tendo-se estudado até ao momento cerca de 1000 famílias. No entanto considera-se que a prevalência da HF em Portugal seja de 1/500 indivíduos e que cerca de 20.000 Portugueses sejam afetados pela doença, tendo sido identificados apenas 4,5% dos casos, 30% dos quais são crianças (Medeiros *et al.*, 2017).

As regiões onde existe maior prevalência, segundo o estudo, são o Alentejo e os Açores.

Em 2003, ao se estudarem famílias Francesas com HF severa, sem mutações nos genes anteriormente identificados como responsáveis pela doença, foi detetada uma alteração no gene codificador para a PCSK9, em que o ganho de função origina níveis circulantes elevados desta proteína, que ao ligar-se ao recetor da LDL origina, degradação dos recetores responsáveis pela depuração do c-LDL (Abifel *et al.*, 2003).

Neste sentido e a fim de inibir o efeito da PCSK9, a indústria farmacêutica desenvolveu três anticorpos monoclonais obtidos pela técnica de DNA recombinante. Um destes anticorpos não passou os estudos de fase 3, por apresentar 3% de vestígios de murino, originando o desenvolvimento de anticorpos anti medicamento, o que se traduziu em menor eficácia e aumento de efeitos adversos.

Os anticorpos monoclonais inibidores da PCSK9 foram aprovados pela FDA em 2015 e pela EMA nesse mesmo ano, dado que a diminuição dos valores de c-LDL obtidos com esta terapêutica em ensaios clínicos, se traduziu em reduções significativas de eventos cardiovasculares, em pacientes com dislipidemias (Warden *et al.*, 2019).

O anticorpo monoclonal **Evolocumab**, foi introduzido em Portugal pela primeira vez no Hospital de Santa Cruz, fora dos ensaios clínicos em fevereiro de 2016, numa paciente com HF heterozigótica severa com necessidade de realização de técnica depurativa LDL-Aférese.

O estudo Taussig analisa os efeitos adversos do **Evolocumab**, bem como os resultados noutras frações lipídicas, em pacientes homozigóticos a realizar LDL-Aférese, comparativamente a pacientes com hipercolesterolemia familiar controlados apenas com terapêutica, sem necessidade de técnica depurativa (Raal *et al.*, 2017).

Apesar da diversidade terapêutica hipolipemiante disponível, muitos destes pacientes não conseguem atingir os valores recomendados, necessitando da técnica depurativa extracorporal LDL-Aférese, mesmo em associação com terapêutica biológica. No entanto a sua associação acresce benefícios, na medida em que evita o efeito *rebound* pós tratamento, permitindo atingir valores de c-LDL mais reduzidos e diminuir a frequência de tratamentos (Stefanutti *et al.*, 2017).

As últimas *guidelines* sobre o controle terapêutico das dislipidemias, publicadas em 2019, continuam a enfatizar a importância da educação para a saúde, na adoção de estilos de vida saudáveis disponibilizando aos profissionais de saúde estratégias que podem ser utilizados, por forma a aumentar uma maior adesão aos mesmos (Mach *et al.*, 2019).

Os profissionais de saúde têm um papel preponderante na implementação e monitorização destas medidas, que continuam a ser primordiais na prevenção da doença cardiovascular, sobretudo nestes pacientes que possuem um risco acrescido da sua ocorrência relativamente à população em geral.

2. HIPERCOLESTEROLEMIA FAMILIAR

2.1. Metabolismo Lipídico

O colesterol, triglicéridos (TGs) e fosfolípidos (PLs) são componentes lipídicos essenciais ao organismo, sendo componentes estruturais das membranas celulares, precursores de inúmeras hormonas esteroides, da vitamina D, sais biliares (Russel, 2003; Wang, 2016) e responsáveis pelo armazenamento energético (Midzak and Papadopoulos, 2014). Cerca de 30% do colesterol é obtido através da dieta, sendo o restante sintetizado pelo próprio organismo, a nível hepático, desempenhando este órgão um papel primordial na sua homeostasia.

O metabolismo e o transporte do colesterol, estão sujeitos a um controlo complexo onde intervêm numerosas enzimas, transportadores e recetores proteicos, codificados pelos seus respetivos genes.

O catabolismo do c-LDL é um processo fulcral e qualquer alteração, num dos seus intervenientes pode originar HF.

Transporte dos Lípidos

Os lípidos quantitativamente mais importantes no nosso organismo, colesterol, TGs esterés de colesterol e PLs, são transportados na corrente sanguínea sob a forma de lipoproteínas devido ao seu carácter hidrofóbico. A sua estrutura é composta por um núcleo onde se localizam os lípidos neutros (TGs e colesterol esterificado com ácidos gordos) e uma superfície formada por lípidos mais polares (colesterol livre e PLs), possuindo ainda na sua constituição proteínas designadas de apolipoproteínas (Apo). Estas últimas, para além de conferirem estabilidade estrutural, tem funções muito relevantes no metabolismo lipídico, atuando como cofatores enzimáticos e elementos de reconhecimento por recetores de superfície celular, possibilitando o intercâmbio lipídico com as mesmas (Ramasani, 2014).

As lipoproteínas são partículas heterogéneas quanto à sua origem, função e composição. O seu tamanho é também variável sendo inversamente proporcional à sua densidade.

Esta última característica permite a sua classificação em cinco famílias (Tabela 1), que diferem na sua composição, como resultado do intercâmbio de apoproteínas e lípidos entre as mesmas e as células do organismo: QM (quilomicra), VLDL (lipoproteínas de muito baixa densidade), IDL (lipoproteínas de densidade intermédia), LDL (lipoproteínas de baixa densidade) e HDL (lipoproteínas de alta densidade) (Marques da Silva, 2015; Ramasani, 2018).

Tabela 1- Principais Características das lipoproteínas Tamanho/ Constituição.

	Densidade (g/mL)	TGs (%)	Ésteres de Colesterol (%)	PLs (%)	Colesterol (%)	Apolipoproteínas	
						Major	Outros
Quilomicra (QM)	<0,95	90 – 95	2 – 4	2 – 6	1	ApoB-48	ApoA-I, A-II, A-IV, A-V
VLDL	0,95 – 1,006	50 – 65	8 – 14	12 - 16	4 – 7	ApoB-100	ApoA-I, C-II, C-III, E, A-V
IDL	1,006 – 1,019	25 – 40	20 – 35	16 – 24	7 - 11	ApoB-100	ApoC-II, C-III, E
LDL	1,019 – 1,063	4 – 6	34 – 35	22 – 26	6 – 15	ApoB-100	
HDL	1,063 – 1,210	7	10 – 20	55	5	ApoA-I	ApoA-II, C-III, E, M
Lp(a)	1,006 – 1,125	4 - 8	35 - 46	17 - 24	6 - 9	Apo(a)	ApoB-100

Apo = apolipoproteína; HDL = lipoproteína de alta densidade; IDL = lipoproteína de densidade intermédia; LDL = lipoproteína de densidade baixa; Lp(a) = lipoproteína (a); PLs = fosfolípidos; TGs = triglicéridos; VLDL= lipoproteína de densidade muito baixa

Adaptado de Mach *et al.*, 2019.

No transporte dos lípidos no organismo, podem distinguir-se três vias:

- 1- Transporte dos lípidos exógenos, ou provenientes da dieta.
- 2- Transporte dos lípidos endógenos, sintetizados no organismo.
- 3- Transporte reverso, proveniente dos tecidos periféricos para o fígado.

Transporte dos lípidos exógenos

Os TGS da dieta, são hidrolisados pela lipase pancreática em ácidos gordos e monoglicéridos no lúmen intestinal e, são emulsionados pelos ácidos biliares em micelas (Hussain, 2014). O colesterol e os esteróis vegetais junto com o colesterol biliar, atravessam as células do intestino delgado através de transportador proteico específico da membrana, NPC1L1 (*Niemann-Pick C1 Like 1*) (Betters and Yu, 2010). Em condições normais, a maioria dos esteróis vegetais são excretados novamente no lúmen intestinal por outros transportadores ativos, *ATP binding cassette* (ABC) G5 e G8 (Yoo *et al.*, 2016). O colesterol e os TGs reconstituídos unem-se à ApoB-48, mediante a ação da proteína de transferência de triglicéridos microsossomias (MTP), para originar os quilomicra (QM) que são secretados no sistema linfático e deste na corrente sanguínea (Olivecrona, 2016). Os QM contendo maioritariamente triglicéridos, incorporam na corrente sanguínea ApoC-II e ApoE. A ApoC-II é cofactor da enzima lipoproteína lípase que se encontra ancorada ao endotélio dos capilares do tecido adiposo e muscular por meio da GPIHBP1 (proteína 1 de união à HDL associada ao glucosilfosfatidilinositol) (Yang *et al.*, 2011; Barchuc *et al.*, 2019).

A ação combinada da LPL (Lipoproteína Lipase) e ApoC-II, produz a hidrólise dos triglicéridos em glicerol e ácidos gordos de forma, que estes atravessem o tecido muscular, possibilitando a sua utilização como substrato energético e seu armazenamento no tecido adiposo.

Os QM remanescentes são retirados da corrente sanguínea mediante a captação pelo fígado, através de recetores LDL, que reconhecem a ApoE (Juve *et al.*, 2016).

Transporte endógeno dos lípidos

Os hepatócitos são capazes de sintetizar colesterol e triglicéridos que se associam a ApoB-100, também mediante ação da MTP (Oude and Groen, 2000), para constituir lipoproteínas de densidade muito baixa (VLDL), em cuja constituição predominam os TGs. As VLDL são excretadas no sangue como VLDL maduras após terem adquirido ApoC-II e ApoE, seguindo um transporte análogo ao descrito para os QM e, por lipólise com perda progressiva de TGs, dão origem às IDL. As IDL podem ser diretamente eliminadas da circulação por ação da lipase hepática com perda progressiva do seu conteúdo em TGs (Tiwari and Siddigi, 2012), originando LDL, que contém exclusivamente colesterol e ApoB-100. A principal função da LDL é a distribuição de colesterol para os tecidos periféricos, cujas células possuem à superfície recetores específicos que reconhecem a ApoB-100 (Donnan *et al.*, 2018). Após interação com estes recetores, que se localizam em locais revestidos por clatrina na parte citosólica, ocorre a sua internalização (formando-se o endossoma) e, em pH ligeiramente ácido, dissociam-se das lipoproteínas e são reciclados para a membrana. Por sua vez, as lipoproteínas são direcionadas para os lisossomas onde, em pH ácido, sofrem hidrólise originando o colesterol, TGs e aminoácidos (Goldstein and Brown, 2009).

Transporte reverso do colesterol

O transporte reverso do colesterol é um mecanismo altamente controlado, através do qual o organismo é capaz de excretar o excesso de colesterol proveniente dos tecidos periféricos através do fígado e eliminação fecal.

O excesso de colesterol nos tecidos periféricos é removido e transportado até ao fígado para sua eliminação por lipoproteínas de HDL. Estas inicialmente têm uma forma discoide e são formadas pela adição de colesterol e ApoA-I (sintetizada no fígado e no intestino), mecanismo que é mediado pela ação de uma *ATP binding cassette* tipo A1 (ABCA1) (Wang and Smith, 2014). O colesterol livre das HDL é esterificado por ação da enzima LCAT (lectina-colesterol-acil-transferase), atravessa o núcleo da lipoproteína que vai adquirindo uma forma mais esférica, o que lhe permite continuar a captar mais colesterol tecidual transportado pela ABCA1. No entanto, as

HDL podem ceder o seu colesterol a outras lipoproteínas, em troca de triglicéridos, por ação da proteína transportadora de ésteres de colesterol (CETP) ou então aos tecidos esteroideogénicos e fígado mediante a interação com recetores SR-B1 (*scavenger receptor* tipo B1) (Zannis *et al.*, 2006; Ganesan *et al.*, 2016; Ramasani, 2018) (Tabela 2).

A combinação destas vias metabólicas e de transporte deve manter um equilíbrio homeostático dos lípidos no organismo, tanto a nível geral como celular.

Tabela 2- Caracterização das Lipoproteínas quanto à sua origem e função.

Lipoproteínas	Apolipoproteínas Ligadas	Origem	Funcionais
Quilomicra (QM)	B-48, C-II, C-III, E	Intestino	Transporte de Triglicéridos Exógenos
Quilomicra remanescentes	B-48, E	Intravascular e Hepático	Transporte de Colesterol Exógeno
Lipoproteína de Densidade muito baixa (VLDL)	B-100, C-II, C-III	Intravascular	Transporte de Triglicéridos Endógenos
Lipoproteína de Densidade Intermédia (IDL)	B-100, E	Intravascular	Transporte de Colesterol Endógeno
Lipoproteína de Baixa Densidade (LDL)	B-100	Intravascular e Hepático	Transporte de Colesterol até aos tecidos
Lipoproteína de Alta Densidade (HDL)	A-I, A-II, C-II, C-III, E	Intravascular	Transporte de Colesterol dos tecidos até ao Hepatócito

Adaptado de Ramasani, 2018.

2.2. Recetor da LDL

2.2.1. Resenha Histórica

Michael Brown e Joseph Goldstein, iniciaram os seus trabalhos sobre HF em 1972, em pacientes jovens com níveis séricos elevados de c-LDL e antecedentes de EAM (Enfarte Agudo do Miocárdio), partindo do pressuposto que tal era resultado de uma alteração no controle do mecanismo que medeia a biossíntese do colesterol. Consistente com esta hipótese, detetaram que a adição de LDL ao meio de cultura de fibroblastos humanos sem doença, inibia a atividade da enzima, 3-hidroxi-3-metilglutaril- Coenzima A redutase (HMG-CoA), cuja atividade limita a biossíntese do colesterol. Por outro lado, em pacientes com HF a atividade da HMG-CoA redutase não é afetada pela adição da LDL às células, resultando numa expressão excessiva de colesterol.

Surpreendentemente, experiências subsequentes indicaram que esta anomalia na regulação da HMG-CoA não era resultante de mutações no gene que codifica esta enzima, parecendo estar relacionada com uma incapacidade das células em extrair o colesterol das LDL.

Em 1974, Brown e Goldstein demonstraram que as células dos pacientes com HF, possuíam uma anomalia na ligação da LDL com os seus recetores expressos na superfície celular. Esta descoberta originou uma série de experiências nas quais Brown e Goldstein delinearam a via da endocitose mediada por recetores.

No artigo publicado em 1974, descreveram os resultados das suas investigações em que analisaram a ligação da LDL, marcado com isótopos radioativos, a fibroblastos obtidos de indivíduos saudáveis e de pacientes com HF. Pequenas quantidades de LDL radioativo foram adicionadas ao meio de cultura e a quantidade de material radioativo ligado às células foi determinada em diferentes intervalos. Quantidades crescentes de c-LDL radioativo ligado às células normais são detetadas em função do tempo de incubação. É importante salientar que a sua adição em excesso reduz a ligação, indicando que esta é devida a um número limitado de locais existentes na superfície celular. A especificidade da interação foi posteriormente demonstrada pela incapacidade de outras lipoproteínas em excesso, interferirem com o recetor da LDL (Brown and Goldstein, 1974).

Contrariamente a estes resultados, os fibroblastos de pacientes com HF não são capazes de interagir com o c-LDL radioativo, sugerindo que os fibroblastos de indivíduos normais possuem um recetor específico para a LDL que por sua vez, está ausente ou alterado nas células de pacientes com HF. Brown e Goldstein observaram que a anomalia de ligação da LDL poderia corresponder a uma alteração genética primária nesta doença, sendo responsável pela incapacidade da LDL de inibir, HMG-CoA redutase, resultando em hipersecreção de colesterol a nível dos hepatócitos.

Deste modo, demonstraram que a LDL ligada a fibroblastos de indivíduos normais estava associado com a membrana celular, sugerindo que o recetor da LDL era uma proteína de superfície celular.

Após a identificação do recetor da LDL, verificaram que o c-LDL quando está ligado à superfície da célula, é rapidamente internalizado e degradado nos lisossomas, originando colesterol e aminoácidos.

Em colaboração com Richard Anderson, no ano de 1977, através de técnica de microscopia eletrónica, descreveram que o recetor é internalizado por endocitose a partir de regiões recobertas por ligantes, mostrando igualmente nos estudos iniciais que o recetor da LDL é reciclado para a

membrana plasmática após dissociação do seu ligante no interior da célula (Nair, 2013). Estas experiências iniciadas com o objetivo de tentar compreender a regulação da biossíntese do colesterol, elucidaram a principal via através da qual as células eucarióticas internalizam macromoléculas específicas.

Michel S. Brown e Joseph L. Goldstein revolucionaram o conhecimento sobre a regulação do metabolismo do colesterol e tratamento das doenças causadas pelos seus níveis séricos elevados. Descobriram que as células humanas têm na sua superfície recetores que medeiam a captação de partículas contendo colesterol, designadas por LDL, e ao compararem os fibroblastos de indivíduos saudáveis com os de indivíduos portadores de HF, constataram que a sua forma mais severa não apresentava estes recetores LDL funcionantes.

A ausência de recetores LDL funcionantes, provoca níveis séricos elevados de c-LDL, que ao se acumular nas paredes das artérias, pode originar aterosclerose e eventualmente EAM.

No seguimento desta descoberta, estes autores introduziram novos princípios no tratamento da hipercolesterolemia hereditária. Em indivíduos com a forma heterozigótica moderada, o número de recetores de LDL, pode ser aumentado recorrendo a fármacos como a Colestiramina ou Mevilonina. Já em casos de homozigotia mais severos, em que os recetores da LDL estão ausentes, a medicação não está indicada.

Brown e Goldstein revelaram a influência genética e ambiental na diminuição do número de recetores da LDL, resultando no aumento dos níveis séricos de LDL e do risco acrescido de aterosclerose. Dada a sua natureza, o EAM permanece como a principal causa de morte nos países industrializados.

Os autores especulam sobre terapêuticas que poderão aumentar o número de recetores de LDL, de modo a prevenir as doenças cardiovasculares. Por tais descobertas foram galardoados com o prémio nobel da medicina em 1985. (Prémios Nobel em Fisiologia ou Medicina, 1901-2005).

2.3. Endocitose Mediada pelo Recetor da LDL

A endocitose mediada por recetores possibilita a captação seletiva de macromoléculas, que se ligam inicialmente aos recetores específicos da membrana celular. Estes recetores estão concentrados em regiões especializadas, que formam depressões na membrana, que após internalização originam vesículas recobertas com clatrina contendo os recetores ligados às respetivas macromoléculas, formando o endossoma primário. Os endossomas primários, não

são mais do que compartimentos onde ocorre a seleção dos componentes que são reciclados e direcionados de novo para a membrana, sendo os restantes direcionados para os lisossomas.

Uma característica importante dos endossomas primários, é a manutenção do pH-6.5 menos ácido, comparativamente ao que é originado quando ocorre a associação do endossoma com os lisossomas. O pH é fundamental para que ocorra dissociação dos recetores, após forma-se o endossoma maduro em que a LDL é direcionada para os lisossomas, sendo degradada por ação das hidrólases, em colesterol e aminoácidos (Cooper and Hausman, 2018).

A reciclagem do recetor resulta numa internalização permanente dos seus ligantes. Cada recetor da LDL, por exemplo, realiza um percurso da membrana plasmática para o endossoma e novamente para a membrana a cada 10 minutos aproximadamente.

Estas descobertas, surgiram sobretudo a partir estudos em pacientes com HF, tendo-se descoberto que a doença resulta de mutações em que ocorre uma ligação deficiente aos recetores ou em que após a ligação aos recetores não se verifica a sua internalização. Os recetores desses pacientes eram incapazes de se concentrarem em regiões recobertas por clatrina, fornecendo evidências da importância das zonas recobertas na endocitose mediada por recetores.

As mutações que fazem com que os recetores não fiquem concentrados nas regiões recobertas por clatrina são decorrentes, por exemplo, da substituição de uma tirosina por uma cisteína, que alteram o domínio citoplasmático desses recetores. Estudos subsequentes demonstraram que o sinal de internalização do recetor da LDL é definido por uma sequência de seis aminoácidos, que inclui a tirosina. Transduções de sinais similares, que frequentemente incluem resíduos de tirosina encontrados no domínio citoplasmático, que são recobertas por clatrina, são captados por proteínas adaptadoras, que por sua vez, se ligam à clatrina na porção citosólica da membrana. Estas regiões geralmente ocupam 1-2% da área de superfície da membrana plasmática e estima-se que tenham uma semi-vida de 2 minutos (Cooper and Hausman 2018).

O RLDL (recetor da LDL), é uma proteína transmembranar monomérica com 839 aminoácidos que regula a homeostasia do colesterol nas células de mamíferos. Este é codificado no braço curto na região 19p13.1-13.3 do cromossoma 19, contém 45Kb e possui 18 exões e 17 intrões que são traduzidos e transcritos em cinco domínios distintos que formam o recetor que se localiza na superfície celular (Vicente-Benito *et al.*, 2018) (Figura 1).

A proteína é codificada como um precursor de 860 aminoácidos compreendendo, um peptídeo de sinal de resíduos na região N-terminal (Ström *et al.*, 2011), ocorrendo excisão durante a translocação de proteínas para o retículo endoplasmático (RE). O RLDL é sintetizado nos

ribossomas, é glicosilado e adquire parcialmente a sua estrutura tridimensional no interior do RE, sendo esta concluída no complexo de Golgi. A proteína no seu estado final é constituída por um ectodomínio, codificado pelos exões 2-15, um domínio de ligação ao ligante, uma região que possui homologia com o precursor do fator de crescimento epidermal (EGF) e um domínio c-terminal enriquecido em oligossacáridos (Goldstein and Brown, 2009).

O domínio de ligação ao ligante contém 7 repetições ricas em cisteínas, de aproximadamente 40 aminoácidos com três pontes de dissulfureto cada (CysI-III, CysII-V, CysIV-VI). Possui ainda um conjunto de resíduos ácidos, que coordenam um íon cálcio que é necessário para a aquisição da estrutura tridimensional. Este domínio é fundamental pois a interação de ligação das lipoproteínas ocorre através dos resíduos básicos da ApoE e ApoB-100, com estes resíduos ácidos (Goldstein and Brown, 2009; Vicente-Benito *et al.*, 2018) (Figura 1).

A ligação ao ligante exige diferentes sub-conjuntos que são intercalados por uma sequência (*linker*) curta, formada principalmente por quatro resíduos, seguida a uma sequência com um motivo XXC_6XXXTC_1-XX . Alguns *linkers*, podem ser mais longos, tendo sido demonstrado que os O-glicosilados, na região de ligação ao ligante são determinantes para as interações de ligação e adsorção de lipoproteínas (Wang *et al.*, 2018). O domínio de homologia do precursor EGF, responsável pela libertação da lipoproteína ácido dependente no interior do endossoma, é constituído por dois domínios semelhantes ao EGF, seis repetições YWTD que formam uma hélice de seis lâminas, e uma terceira repetição semelhante ao EGF.

O domínio c-terminal é enriquecido em oligossacáridos ligado a *O-linkers*, contém 58 resíduos de treonina e serina. Pensa-se que este domínio desempenhe função de estabilização do recetor. Estudos funcionais em culturas de fibroblastos mostram conservação mínima entre seis espécies analisadas e, podem sofrer deleção, não se observando diminuição da atividade do recetor (Goldstein and Brown, 2009). Os exões 16-17 são responsáveis pela transcrição do domínio transmembranar, este é formado por 22 aminoácidos hidrofóbicos que são essenciais para posicionamento do recetor na bicamada fosfolipídica da membrana celular. O domínio citoplasmático é constituído por 50 aminoácidos, contém duas sequências responsáveis pela transdução de sinal e localização do recetor nas invaginações da membrana revestidos por clatrina, denominadas por *coat pits*, domínio necessário ao processo de internalização. A transcrição do recetor é rigidamente regulada pela proteína de ligação ao SREBP-2, (proteína de ligação aos elementos reguladores esteróis), que é controlado por mecanismo de feedback, ocorrendo estimulação por concentrações diminuídas de colesterol intracelular e, inibição com

concentrações elevadas. Além dos reguladores clássicos de transcrição, foram identificados uma classe de RNAs não codificantes, denominados microRNAs (miR) que regulam criticamente a expressão do gene agindo sobretudo a nível pós- transcrricional. Em particular miR-148^a, controla diretamente a atividade do RLDL e é ativado transcricionalmente pela SREBP-1c (Ambros, 2004; Goedeke *et al.*, 2015).

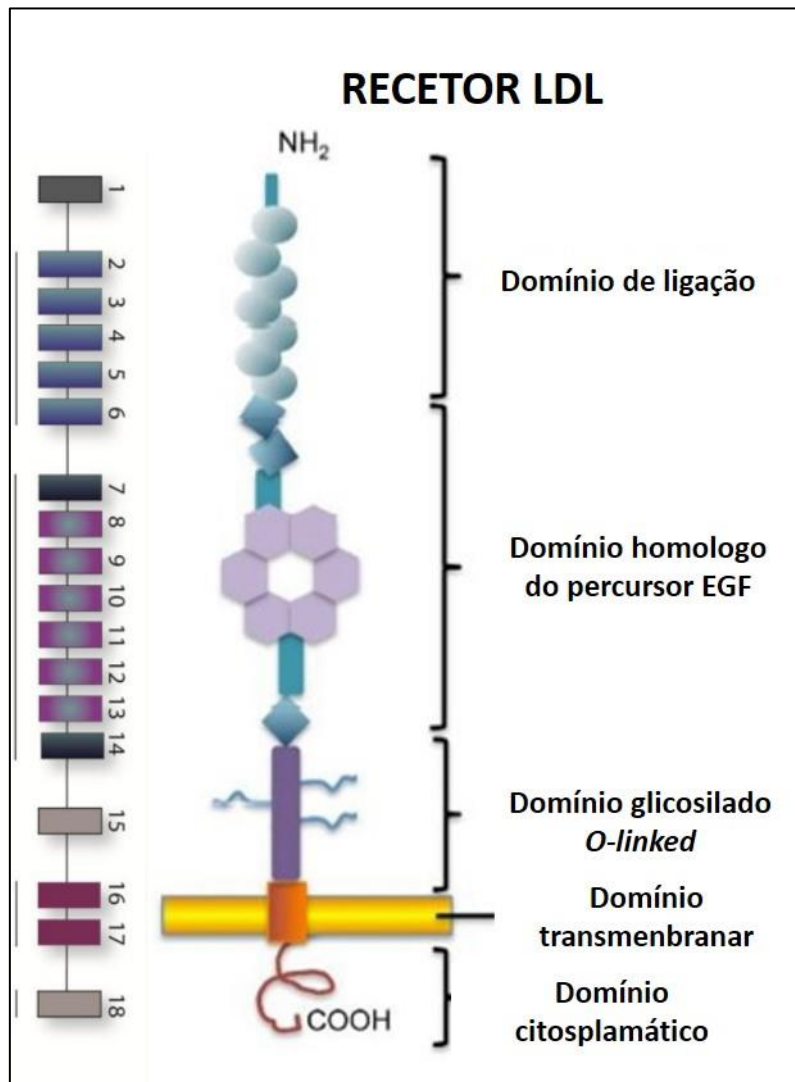


Figura 1- Gene codificador/ Recetor da LDL.

Adaptado de Vicente-Benito *et al.*, 2018.

2.4. Mutações que Afetam a Clearance das LDL

Gene do recetor LDL

As mutações mais frequentes ocorrem no gene que codifica para os recetores da LDL (Thalmut *et al.*, 2014), o qual é codificado por um gene com cerca de 45Kb, localizado no braço curto do cromossoma 19 (entre as regiões p.13.1-p13.3), que contém 18 exões e 17 intrões.

Foram identificadas até ao momento cerca de 2800 mutações (Banerjee *et al.*, 2019), embora nem todas tenham repercussões patológicas. Entre elas destacam-se deleções de distintos tamanhos, que afetam o promotor do gene originando algumas vezes uma proteína truncada, ou impedindo a sua transcrição não ocorrendo síntese da proteína correspondente. Outras incluem substituições que afetam o domínio citoplasmático do recetor, impedindo que o processo de internalização ocorra.

As mutações do gene do recetor da LDL podem ser divididas segundo alguns autores, em 6 classes, mas grande maioria divide-as em 5 classes:

Mutações do tipo 1: são as mais frequentes, em que **“os alelos são nulos”**, na região que codifica o recetor, não ocorrendo a síntese do recetor; os **“alelos nulos”** podem surgir por deleções na região promotora do gene (não ocorrendo transcrição, nem síntese de RNA mensageiro (RNAm), ou podem ainda surgir por mutações de inserções (ocorrendo transcrição de RNAm de tamanho anormal).

Mutações do tipo 2: **os alelos contêm mutações** e as proteínas codificadas não adquirem a sua estrutura tridimensional, não ocorrendo o seu transporte entre o retículo endoplasmático e o aparelho de Golgi, estas mutações podem ser subdivididas em 2A e 2B, consoante ficam retidas no reticulo endoplasmático, ou mesmo apresentando mutações conseguem ser lentamente transportadas para a membrana plasmática (Gidding *et al.*, 2015).

Mutações do tipo 3: **os alelos codificam proteínas com sequências alteradas**, em que os recetores são transportados até à superfície celular de forma normal, mas não possuem capacidade de interação com a ApoB-100 das partículas da LDL.

Mutações do tipo 4: os alelos apresentam mutações em que há codificação de proteínas que são transportadas até à superfície celular, mas não têm capacidade de localização nos locais recobertos por clatrina portanto, sem capacidade de internalização dos recetores ligados à LDL (Stöm *et al.*, 2015).

Mutações do tipo 5: **os alelos possuem mutações** em que existe codificação dos recetores, mas estes não conseguem ser reciclados, ocorrendo internalização dos recetores com o ligando em vesículas recobertas por clatrina, mas não se dissociam do ligando no interior do endossoma (Etxebarria *et al.*, 2014; Bourbon *et al.*, 2017).

Nestas situações a síntese do recetor da LDL, o seu transporte, a sua ligação e a sua reciclagem estão alteradas. Existe então uma alteração na sua atividade, que conduz a uma *clearance* deficiente do c-LDL sanguíneo, levando à formação de placas de ateroma, xantelasmas, xantomas tendinosos e arcos corneais (Gidding *et al.*, 2015) (Figura 2).

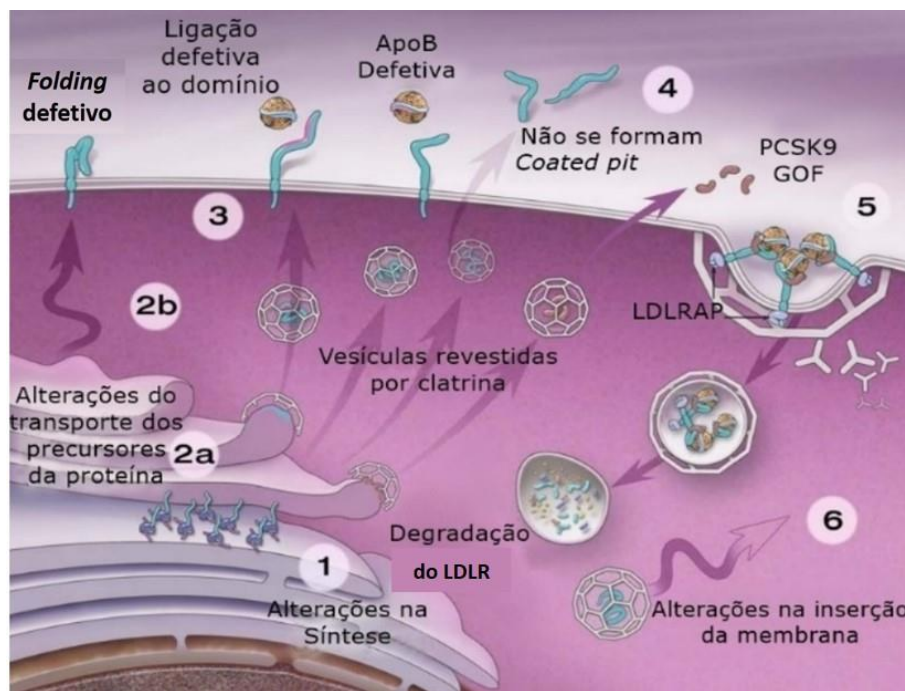


Figura 2 – Classes Mutações frequentes de recetor de LDL.
Adaptado de Gidding *et al.*, 2015.

Existem outros genes com mutações que comprometem a *clearance* do c-LDL, tais como as mutações nos genes que codificam as proteínas ApoB-100 (Myant, 1993; Tai *et al.*, 2010) e PCSK9, (Abifel *et al.*, 2003), esta última descoberta recentemente. Podem ocorrer ainda outras mutações menos frequentes e de transmissão recessiva no gene da proteína LDLRAP1, em que ambos os progenitores não apresentam patologia (D’Erasmus *et al.*, 2018).

Gene da ApoB-100

A ApolipoproteínaB-100 (ApoB-100) é um componente das LDL. O gene que codifica a proteína, encontra localizado no cromossoma 2 na região 2p24-p23, sendo constituído por 29

exões, que codificam duas isoformas principais de ApoB, a ApoB-48 e ApoB-100. Quando existem mutações na ApoB, ocorre aumento dos níveis séricos do c-LDL na medida que a ApoB é responsável pelas interações com o recetor da LDL (Myant, 1993).

Existe um número reduzido de mutações na ApoB-100, mas com um significado patológico que pode causar um fenótipo severo de HF. A mutação Arg3500Gln é a mais frequente e somente na Europa representa 2,5% da HF (Santos *et al.*, 2017). Na população chinesa a mutação Arg3500Trp é a mais comum (Tai *et al.*, 2010).

Gene PCSK9

Em 2003, ao se estudarem famílias Francesas com HF severa, sem mutações nos genes identificados anteriormente responsáveis pela doença, foi identificada uma alteração no gene codificador para a PCSK9 (Abifel *et al.*, 2003).

O gene da PCSK9 cujo, peso molecular é cerca de 3,6 Kb, encontra-se localizado no cromossoma 1p32. Este gene surgiu como terceiro *locus* relacionado com a HF.

O gene codificador para a PCSK9, contém 12 exões e 11 intrões, o gene codifica uma serina protéase de 692 aminoácidos.

Nos adultos o gene é altamente expresso nos hepatócitos sendo em menor quantidade no intestino delgado, rim e cérebro. Inicialmente quando foi identificada a PCSK9, pensou-se que esta estaria envolvida na regeneração celular hepática e diferenciação neuronal (Seidah *et al.*, 2017).

A PCSK9 é uma glicoproteína pertencente a uma classe de nove serinas protéases, que estão envolvidas na maturação proteolítica de diferentes proteínas, tais como hormonas e citocinas. A sua síntese é regulada a nível dos fatores de transcrição, através da proteína de ligação aos elementos reguladores esteróis-2 (SERBP-2). Sendo a transcrição da região conservadora do gene da RLDL e PCSK9, dependente dos elementos reguladores esteróis (SRE). A família SERBP, apresentam duas isoformas a SERBP-1 e SERBP-2, esta última regula os genes do RLDL, PCSK9 e também os genes transcritores de proteínas envolvidas na absorção do colesterol, enquanto a SERBP-1, participa na transcrição de genes reguladores da síntese de ácidos gordos. Níveis reduzidos de colesterol a nível intracelular originam, estimulação de SERBP-2 que se encontra a nível do aparelho de Golgi, levando à sua maturação proteolítica. Esta forma atravessa a membrana nuclear, ativando os SER, interagindo com a região

promotora da transcrição dos genes do LDL e simultaneamente com a região promotora dos genes da PCSK9 (Jeong *et al.*, 2008).

A PCSK9 é sintetizada na forma inativa, como zimogéneo solúvel de 72 KDA; Pré-Pró-PCSK9, originando na sua forma madura uma enzima com 63 KDA. Após a ativação da peptídase de sinal (resíduos de 1-30), a forma inativa é submetida no retículo endoplasmático a uma primeira clivagem, a qual é seguida de clivagem autocatalítica. Esta sequência de processamentos origina o Pró-domínio e a PCSK9, esta é constituída pelo domínio catalítico e domínio C-terminal. O domínio catalítico possui uma triada característica das serinas protéases, aspartato (D), histidina (H) e uma serina (S)), enquanto o domínio C terminal é predominantemente composto por resíduos de cisteína/histidina (Blanchard *et al.*, 2019).

Ao contrário de outras pró-proteínas convertases em que a clivagem ocorre, após aminoácidos básicos, como por exemplo as furinas ou após resíduos hidrofóbicos como as protéases do tipo 1, relacionadas com a pirolisina, a PCSK9 é a única protéase que se cliva após resíduos ácidos. Após clivagem o pró-domínio permanece associado à PCSK9 por pontes de hidrogénio, com aminoácidos essenciais do sistema catalítico. Deste modo a tríade catalítica é inativada, evitando assim o acesso a outros potenciais substratos a nível intracelular (Nishikido and Ray 2019) (Figura 3).

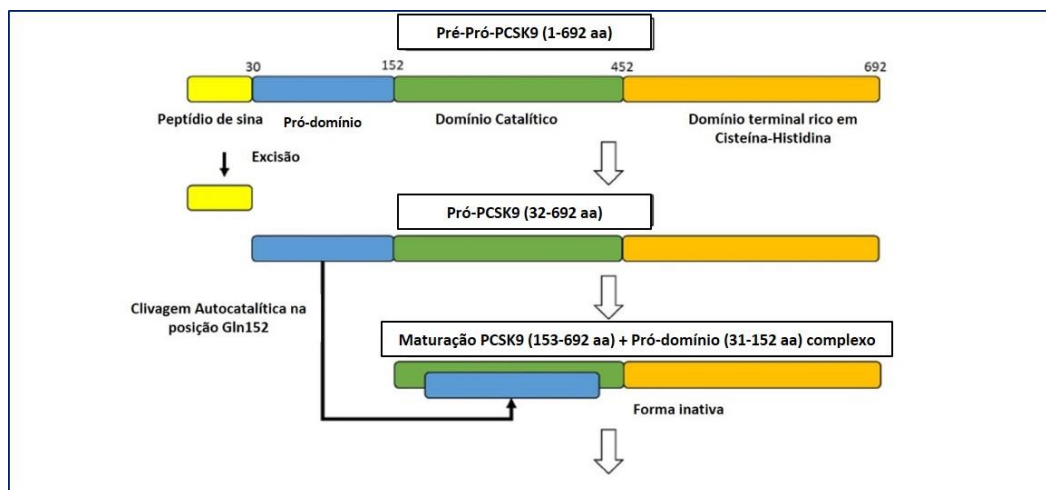


Figura 3 – Maturação PCSK9.

Adaptado de Nishikido and Ray, 2019.

Após ser secretada, a PCSK9 vai interagir com o domínio de homologia EGF, domínio extracelular do recetor da LDL. Posteriormente ocorre endocitose formando-se o endossoma e, em pH ligeiramente ácido, formam-se interações por pontes de hidrogénio adicionais, entre a

PCSK9 e o recetor da LDL, originando alterações conformacionais do recetor. Estas alterações impedem a sua saída do endossoma para o citosol, sendo o complexo PCSK9-LDLR-LDL, direcionados para os lisossomas, onde ocorre degradação dos recetores. A variação genética que codifica esta proteína, tem um grande impacto na concentração plasmática da LDL. As mutações de ganho de função (GOF), afetam a PCSK9 de diversas formas, uma das quais é a diminuição dos recetores da LDL, na superfície do hepatócito que produzem um fenótipo grave de HF (Kasichayanula *et al.*, 2018; Blanchard *et al.*, 2019).

Após as descobertas de GOF, Hoobs *and* Cohen em 2005 (Cohen *et al.*, 2005), através do estudo de grande *coorth*, *Dallas Study*, verificam que indivíduos com mutações de perda de função (LOF) no gene da PCSK9, apresentam níveis reduzidos de c-LDL (15-20mg/dL), ausência de níveis circulantes de PCSK9 e reduzida prevalência de DCV (Kitovski *et al.*, 2006; Warden *et al.*, 2019).

Durante os últimos anos a PCSK9 tem sido estudada em muitas populações com HF e, atualmente conhecem-se aproximadamente 161 variantes genéticas presentes nos 12 exões que constituem este gene (Kasichayanula *et al.*, 2018).

No entanto estas mutações são raras, comparativamente com mutações que afetam o recetor da LDL e da ApoB-100. Um grande número de polimorfismos deste gene associa-se a níveis elevados de colesterol de acordo com descrições de estudos populacionais (Abifel *et al.*, 2009).

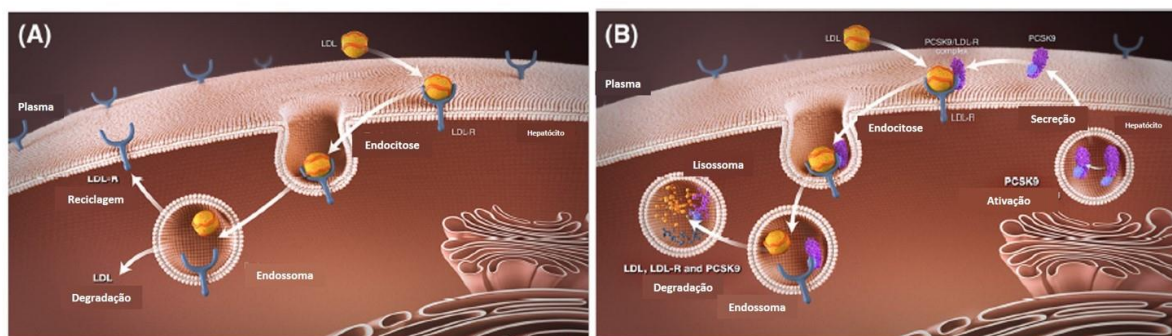


Figura 4 – Mecanismo de ação do PCSK9. (A: Endocitose; B: Interação do PCSK9 com os recetores da LDL.

Adaptado de Kasichayanula *et al.*, 2018.

Gene LDLRAP1

O gene codificador da LDLRAP1, é responsável pela HF do tipo autossômica recessiva (HAR), tendo como siglas LDLRAP1/HAR (Garcia *et al.*, 2001). Este gene encontra-se localizado no

cromossoma 1p36-35 (Raal *et al.*, 2018), tendo um peso de cerca de 25 Kb. É constituído por 9 exões que codificam uma proteína com 308 aminoácidos. Na HF autossómica, não ocorre internalização do complexo ligando recetor por inserção deficiente do recetor da LDL na bicamada fosfolipídica da membrana celular. Não ocorre então interação entre a proteína adaptadora e as moléculas de clatrina, nem transdução de sinal para que se inicie a internalização e formação do endossoma (Sniderman *et al.*, 2014).

Os recetores acumulam-se na membrana da célula e conseqüentemente, a *clearance* da LDL fica comprometida com o aumento dos níveis séricos do c-LDL. A forma recessiva é muito menos prevalente do que a forma de transmissão dominante, em que os números reportados não chegam aos 100 (D'Erasmus *et al.*, 2018). Estes casos foram identificados em populações libanesas, mexicanas, japonesas, indianas, turcas, americanas e sírias (Harada *et al.*, 2010).

As mutações no gene que codifica a proteína do recetor da LDL, representam 95% das mutações responsáveis pela doença, no gene da ApoB, 2-5%, no gene PCSK9 são inferiores a 1%, tal como mutações no gene que codifica a proteína LDLRAP1 responsável pela apresentação da forma recessiva, é igualmente inferior a 1% (Cuchel *et al.*, 2014).

A gravidade de apresentação da doença depende do seu caráter genético, menos grave para os indivíduos heterozigóticos que apresentam apenas um alelo mutado, sendo que a forma homozigótica tem repercussões mais graves. Estes podem ser classificados verdadeiros homozigóticos quando ambos os alelos têm a mesma mutação, se possuem uma mutação diferente em cada um dos alelos, são considerados heterozigóticos compostos, ou podem ainda ser classificados em duplos heterozigóticos quando têm mutações diferentes em dois genes.

Independentemente do defeito genético subjacente à gravidade do fenótipo, a HFHo (Hipercolesterolemia Familiar Homozigótica) depende da atividade residual dos recetores. Segundo os ensaios realizados *in vitro* com cultivo de fibroblastos destes pacientes, foram considerados como recetores nulos, quando (atividade residual dos recetores é inferior a 2%) apresentando níveis mais elevados de c-LDL, recetor defetivo (atividade residual de 2-5%) (Raal *et al.*, 2012). Quanto aos portadores de mutações no gene da LDLRAP1, forma recessiva apresentam um fenótipo menos grave que os homozigóticos nulos (D'Erasmus *et al.*, 2018).

De uma forma geral os níveis médios de c-LDL aumentam segundo o genótipo e seguem habitualmente a seguinte ordem: HFHe (Hipercolesterolemia Familiar Heterozigótica) <duplo heterozigótico (p. ex. LDLR+ mutação de ganho de função para a PCSK9 ou mutação no gene ApoB) <homozigótico para mutação de ganho de função da PCSK9 ou APOB <homozigótico para mutações de defeito do gene do LDLR ou LDLRAP1 <heterozigótico composto par

mutações de defeito de LDLR + mutações nulas de LDLR <homozigótico para mutações LDLR (Cuchel *et al.*, 2014).

A gravidade das mutações é diretamente proporcional aos níveis séricos da LDL, e consequentemente, ao aumento de incidência DCA (Sturm *et al.*, 2018).

2.5 Mutações Mais Frequentes em Portugal

Em Portugal em 2015, foi identificada a primeira criança com 11 anos, homozigótica para a mutação de ganho de função na PCSK9, estando a patologia controlada com medicação (Alves *et al.*, 2015). Até 2017 foram identificadas várias mutações nos genes da ApoB, para além das já identificadas no gene do recetor da LDL (Mariano *et al.*, 2020) (Figura 5), sendo que o tipo de mutações encontradas no gene da PCSK9, foram unicamente identificadas em Portugal e Espanha. Verifica-se algumas semelhanças de mutações existentes em Portugal, com Países Ibero-Americanos, nomeadamente o Brasil, devido ao fluxo migratório (Santos *et al.*, 2017) (Figura 6).

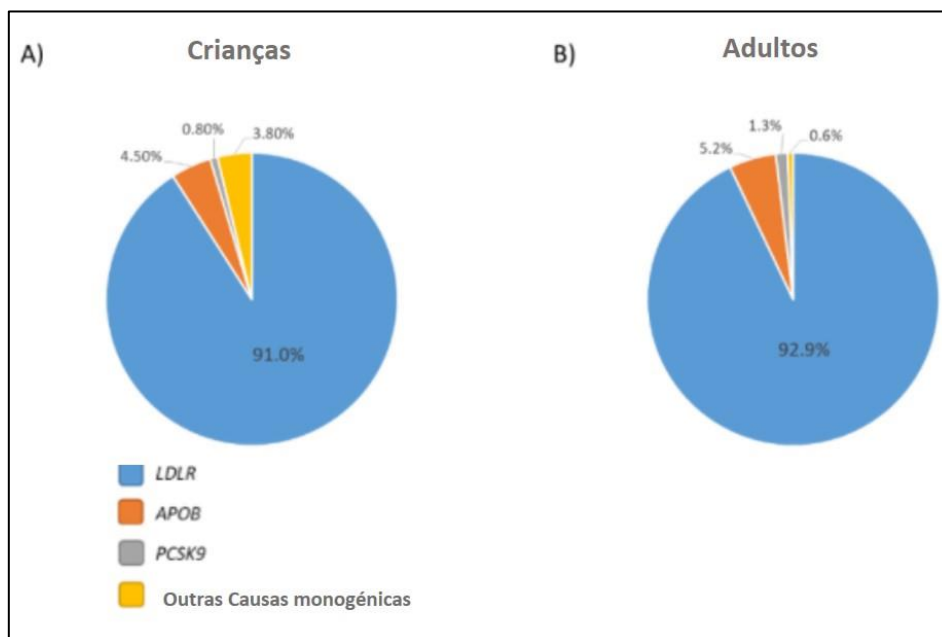


Figura 5 – Prevalência de mutações em Portugal (A- Crianças; B – Adultos).

Adaptado de Mariano *et al.*, 2020.

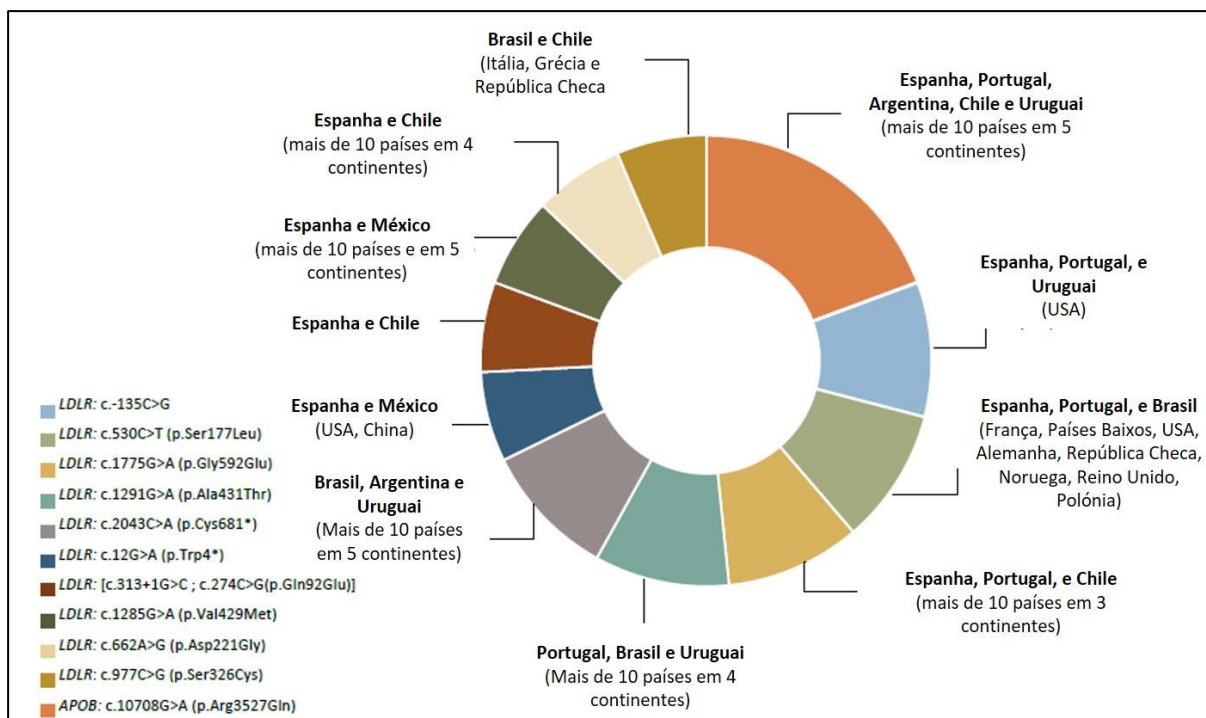


Figura 6 – Grupo trabalho Ibero-Americano HF - Mutações mais frequentes em 7 países.
Adaptado de Santos *et al.*, 2017.

2.6. Mecanismo Fisiopatológico da Doença Cardiovascular

A HF como foi anteriormente referido, é uma patologia caracterizada por níveis extremamente elevados de c-LDL, o que promove o desenvolvimento precoce de aterosclerose.

A aterosclerose é causa subjacente das doenças cardiovasculares, aumentando o risco de EAM, AVC (Acidente Vascular Cerebral) e doença arterial periférica (Vaz-Vallejo *et al.*, 2018).

Várias teorias foram propostas para explicar o início do processo inflamatório na aterosclerose. A mais aceite é a associação, entre a hipótese de “resposta à lesão endotelial” com a da “hipótese oxidativa” (Remmeriea and Scotta, 2018). O endotélio lesado pela acumulação de lipoproteínas de baixa densidade oxidada (LDL_{ox}), partículas com tamanho inferior a 70nm, torna-se ativado, expressando moléculas de adesão, o que promove a libertação de mediadores de resposta inflamatória e imunológica (FERENCE *et al.*, 2017). O evento crítico, inicial na génese da aterosclerose é a lesão endotelial, caracterizada pela diminuição da produção de óxido nítrico (NO), ocorrendo concomitantemente a libertação de vários mediadores inflamatórios e moléculas quimiotáticas em resposta à lesão tecidual, desencadeada pela acumulação de LDL na parede das artérias. Desse modo, a lesão causada no endotélio, aumenta a adesão de

leucócitos e plaquetas para o local, originando ainda um aumento da sua permeabilidade, promovendo a infiltração de células no espaço sub-endotelial. Todas estas alterações fazem com que o endotélio exerça propriedades pró-coagulantes e não de anticoagulantes.

As LDL possuem características aterogénicas e, quando estão em elevadas concentrações no plasma, por terem menor tamanho, penetram com maior facilidade na parede dos vasos, aumentando a produção do anião superóxido (O_2^-) pelo endotélio, o que promove modificações na estrutura da LDL. A LDL modificada, infiltra-se na camada íntima, podendo sofrer oxidação ou outras modificações causadas por enzimas presentes no sub-endotélio (mieloperoxidases, óxido nítrico sintase induzida), originando a lipoproteína de baixa densidade oxidada (LDLox).

Esta acumulação de LDLox, ocorre em locais onde a barreira endoplasmática e junções entre células endoteliais, se encontram fragilizadas e em menor número, principalmente em zonas de bifurcação das artérias onde o fluxo sanguíneo passa de fluxo laminar, a fluxo turbulento, originando zonas de *shear stress* (stress de cisalhamento) (Libby *et al.*, 2011).

Uma vez no espaço sub-endotelial, a LDLox induz a ativação das células endoteliais que, por sua vez, produzem citocinas e quimiocinas responsáveis pela expressão de moléculas de adesão (moléculas de adesão intercelular [ICAM-1], moléculas de adesão de célula vascular [VCAM-1], selectina de plaquetas [P-selectina] e selectina de células endoteliais [E-selectina]) e, pela quimiotaxia, adesão e migração dos leucócitos e monócitos (Manzoffarian *et al.*, 2015). No espaço sub-endotelial, os monócitos transformam-se em macrófagos pró-inflamatórios, internalizando as partículas de lípidos oxidados, através de recetores *scavenger* (Remmeriea and Scotta, 2018; Libby, 2008) (Figura 7).

O excesso de colesterol no interior dos macrófagos, induz a formação de células espumosas, aumentando a sua capacidade pró-inflamatória, promovendo a migração de células do tecido muscular liso para a íntima endotelial. Este estado inflamatório, atrai ainda mais monócitos para o local, estimulando assim a proliferação de células espumosas. Finalmente as células musculares lisas são ativadas, iniciando a produção de uma capa fibrótica e uma matriz extracelular composta principalmente por fibras de colagénio, elastina e proteoglicanos. À medida que a aterosclerose progride, forma-se um núcleo necrótico recoberto pela capa de fibrótica, a qual aumenta de tamanho em consequência de apoptose dos macrófagos e diminuição da esferocitose. Este processo reduz o diâmetro das artérias, originando a oclusão do seu lúmen sendo que nesta fase, as células pró-inflamatórias começam a secretar metaloproteinases, responsáveis pela degradação da matriz extracelular da capa fibrosa, o que desencadeia instabilidade da placa, promovendo a rutura e agregação plaquetária levando à

formação de trombos e consequentemente dando origem a ECV (Moore and Freeman, 2006; Galkina and Ley, 2007; van der Valk *et al.*, 2016).

Foi demonstrado que a proteína C reativa (C Reactive Protein), sintetizada pelos hepatócitos após estimulação por citocinas pró-inflamatórias como a IL-1 (Interleucina-1) e a IL-6, é considerada um marcador significativo da resposta inflamatória, representando um fator de risco para ocorrência de eventos cardiovasculares (Ridker *et al.*, 2017).

Estudos realizados em animais submetidos a uma dieta indutora de aterosclerose, permitiram concluir que, nestes animais, os leucocitos aderiam fortemente e em grande número à parede das artérias, o que não se verificava em animais controlo (submetidos a uma dieta normal). Estudos conduzidos nesta linha permitiram concluir, que os monócitos que aderem à parede vascular migram através do endotélio e diferenciam-se em macrófagos, ligam-se às lipoproteínas oxidadas e internalizam-nas transformando-se em células espumosas (foam cells), capazes de segregar proteases, citocinas e espécies reativas de oxigênio (Libby *et al.*, 2011).

A PCR (Proteína C Reativa), está presente nas lesões ateroscleróticas, participando na formação deste tipo de células. De facto, a PCR, pode interatuar com os resíduos 3 β -OH do colesterol, através do seu sítio de ligação para a fosfatidilcolina, a qual pode estimular a proliferação de células espumosas. A PCR estimula, ainda, a produção de superóxido em células musculares lisas da parede vascular que se liga às LDL, originando LDLox, constituindo outro fator contributivo, para a migração de monócitos para o local aterosclerótico. As proteases produzidas por estas células degradam a matriz extracelular, as citocinas e espécies reativas do oxigênio intensificam o processo inflamatório local, e posteriormente ocorre uma maior migração de células e lipídios para a placa aterosclerótica em formação ou previamente existente. O desenvolvimento da placa aterosclerótica origina estreitamento do lumen vascular e maior suscetibilidade por processos trombóticos. A PCR, pode também promover a libertação de metaloproteínases e factor tecidual que ativam processos pró-trombóticos (Ridker *et al.*, 2017).

A relevância da prevalência de acidentes cardiovasculares de alto risco, leva os investigadores a estudar, marcadores de inflamação mais significativos na génese do processo aterosclerótico. Verificaram que a inflamação na aterosclerose pode ser acompanhada pela elevação de marcadores pró-inflamatórios circulantes, como a IL-6, recetores para TNF- α , amiloide A sérica, PCR e por várias moléculas de adesão solúveis secretadas pelos leucócitos, para além do factor de risco conhecido c-LDL e HDL. De todos os marcadores de inflamação estudados,

somente a elevação da PCR estava associada com um risco mais elevado de ECV (Evento Cardio Vascular), particularmente nos indivíduos com valores plasmáticos mais elevados de colesterol (Gistera and Hasson, 2017; Ruscica *et al.*, 2019).

Um dos efeitos da medicação hipolipemiante, para além da redução da síntese endógena do colesterol por inibição da HMG-CoA, são os seus efeitos pleiotrópicos. Verifica-se uma diminuição expressiva dos níveis plasmáticos da PCR, o que contribui para uma redução significativa dos ECV, evidenciando o papel importante da PCR como mediador da inflamação e do processo inflamatório no estabelecimento e progressão das lesões ateroscleróticas (Oesterle *et al.*, 2017).

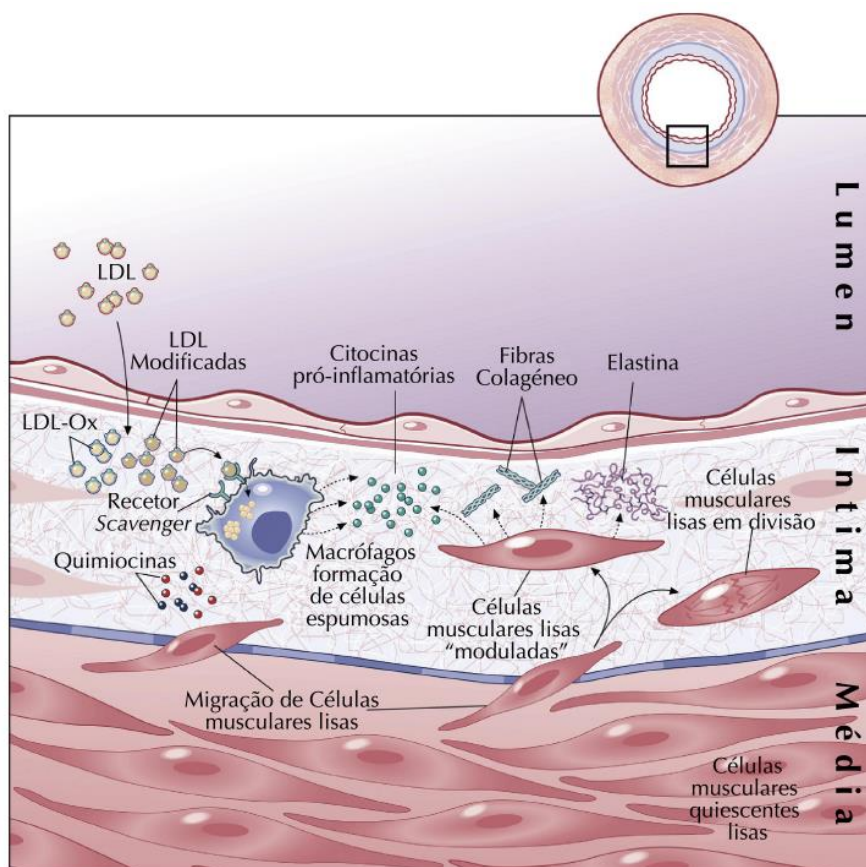


Figura 7– Mecanismo Fisiopatológico da Aterosclerose.

Adaptado de Libby, 2008.

2.7. Lp(a) - Risco Cardiovascular

A Lipoproteína(a), é considerada fator de risco independente de DCV, associada a aterosclerose, é constituída por uma molécula de ApoB-100, (apolipoproteína que também está presente na constituição da LDL) e apo(a). Esta lipoproteína encontra-se presente no plasma,

sendo segregada a nível hepático. Nesta lipoproteína a apo(a) encontra-se ligada à ApoB-100 por uma ponte de dissulfureto (S-S), numa proporção equimolar (Cesaro *et al.*, 2020).

A apo(a) é codificada por um único gene, com múltiplos alelos no cromossoma 6 (6q26-q27). É uma proteína constituída por uma região serina protéase e múltiplos domínios Kringle com alguma semelhança com os presentes no plasminogénio. Dos domínios do plasminogénio apenas o Kringle 5 (que surge como uma única cópia) e o Kringle 4 (com inúmeras cópias), estão presentes na apo(a). As cópias do Kringle 4 não são iguais, tendo sido identificados cerca de 10 tipos diferentes. Cada tipo aparece uma única vez, com exceção do Kringle 4 do tipo 2, sendo a variação do número de cópias que leva à formação de várias isoformas de apo(a) (com pesos moleculares que variam entre 280 e 800 KDa) e consequentemente a uma heterogeneidade da Lp(a) (Nordestgaard *et al.*, 2016).

Os diversos alelos do gene da apo(a) codificam as diferentes isoformas da apoproteína com um número variável de repetições Kringle 4 transcritas. Deste modo, cada alelo afeta de modo diferente a concentração de Lp(a), sabe-se que a presença das isoformas mais pequenas de apo(a) (com menor número de domínios Kringle 4 Tipo 2), se encontra relacionada com maiores concentrações de Lp(a). Sendo a apo(a) homóloga ao plasminogénio, esta irá atuar como inibidor fisiológico deste impedindo a sua conversão em plasmina. A plasmina responsável pela degradação da fibrina plasmática, responsável pela fibrinólise, a sua deficiência provoca alteração da viscosidade sanguínea, acompanhado de um estado de hipercoaguabilidade, por deficiente degradação de coágulos (Khan *et al.*, 2019; Klingel *et al.*, 2019) (Figura 8).

Fatores que têm impacto na concentração de outras lipoproteínas, como dieta exercício físico, idade sexo e terapêutica hipolipemiante disponíveis, não alteram as concentrações de Lp(a). No entanto estados inflamatórios persistentes, podem originar fragmentação da apo(a) pela elastase de neutrófilos originando, maiores concentrações de apo(a), com pesos moleculares menores e consequentemente aumento da concentração plasmática de Lp(a) (Rawther and Tabet, 2019; Cesaro *et al.*, 2020).

Para além da sua interferência no sistema fibrinolítico, por maior afinidade para a fibrina e inibição competitiva da sua ligação ao fibrinogénio, originando um défice fibrinolítico, as partículas de Lp(a), contendo isoformas de apo(a) de menor tamanho, são mais patogénicas. Estas possuem maior capacidade de ligação aos fosfolípidos oxidados e maior propensão para se depositarem nas paredes dos vasos sanguíneos. Tem igualmente sido sugerido que a Lp(a), potencia o transporte de colesterol para os vasos sanguíneos de c-LDLox, com facilidade de

penetração do espaço sub-endotelial, atuando sinergeticamente no desenvolvimento e perpetuação do processo aterosclerótico (Khan *et al.*, 2019; Cesaro *et al.*, 2020).

Desconhece-se o mecanismo de *clearance* da Lp(a), na medida que terapêutica que aumenta o número de recetores da LDL, não interfere nos parâmetros aumentados desta fração lipídica, depreendendo-se que não é depurada via recetor da LDL (Nestel, 2019).

A hiperliproteína(a) pode encontrar-se aumentada isoladamente, sendo que este aumento, duplica risco de ocorrência de DCV, relativamente à população em geral. Os pacientes com HF, para além dos outros parâmetros lipídicos alterados, possuem Lp(a) aumentada (Alonso *et al.*, 2014; Khan *et al.*, 2019).

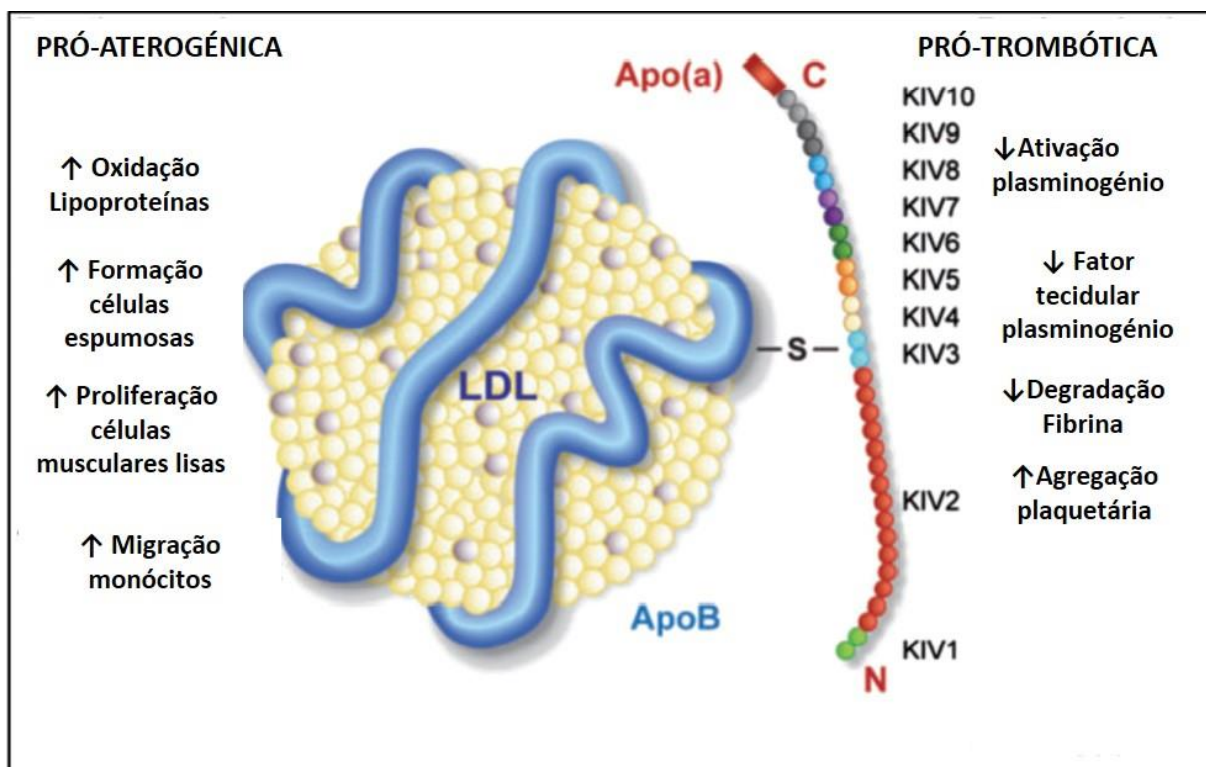


Figura 8 – Propriedades da Lp(a).

Adaptado de Khan *et al.*, 2019.

3. EPIDEMIOLOGIA

A forma homozigótica da HF é rara, mas a heterozigótica é comum se bem que sub-diagnosticada, apesar de preencher os critérios da Organização Mundial de Saúde para programas de rastreio em larga escala.

A prevalência da forma heterozigótica tem sido considerada de 1:500, podendo variar entre 1:200 a 1:300, de acordo com os critérios utilizados no estudo das populações para definir a HF, unicamente valores séricos de c-LDL, sinais clínicos, teste genético com mutações patogénicas identificadas ou, de acordo com combinação de vários critérios utilizados para diagnosticar a doença. A forma homozigótica da doença tradicionalmente tem sido estimada na ordem de 1:1.000.000, no entanto estudos recentes, tem revelado uma prevalência de 1 em 160.000 (Nordestgaard *et al.*, 2013).

Em países Africanos, Sul-africanos, Canadenses-franceses, Libaneses e habitantes Japoneses pertencentes ao distrito de Hokoriku, registaram-se prevalências de 1/100 para a forma heterozigótica e 1/130.000 para a homozigótica (Civeira, 2004).

Estima-se, que em todo mundo existam cerca de 14.000 a 34.000 indivíduos com hipercolesterolemia, se bem que esta patologia se encontre sub-diagnosticada pelo que estes dados se encontrem sub-estimados (Nordestgaard *et al.*, 2013; Benn *et al.*, 2016). Perante estes números e consequentemente aumento de eventos cardiovasculares, a organização mundial considera a patologia como um problema de saúde pública (Wilemon *et al.*, 2020).

3.1. Estudo Português de Hipercolesterolemia Familiar

O Estudo Português de Hipercolesterolemia Familiar (EPHF), é um estudo de investigação, desenvolvido e promovido pelo Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge (INSA), financiado por várias entidades públicas e privadas, que teve início em 1999. O EPHF tem como principal objetivo identificar a causa genética da dislipidemia na família, tendo para tal implementado o diagnóstico genético da HF em Portugal. Até à data foram avaliados (sem custos para os utentes e para o Serviço Nacional de Saúde), no âmbito deste estudo, 821 casos índice com diagnóstico clínico de HF e mais de 1700 familiares. Os 821 pacientes estudados no âmbito do EPHF foram referenciados por mais de 80 médicos de várias especialidades

(pediatria, medicina cardiologia, genética médica, medicina interna, endocrinologia, medicina geral e familiar), de várias regiões de Portugal Continental e Ilhas.

O estudo molecular identificou até à data 757 pacientes (300 casos index, mais 457 familiares) crianças e adultos, com uma alteração potencialmente causadora desta patologia, apresentando mutações num dos genes associados à HF, ou seja: LDLR, ApoB ou PCSK9. Estes pacientes encontram-se de momento a receber aconselhamento e tratamento de acordo com sua situação clínica (Vallejo-Vaz *et al.*, 2018).

O valor de colesterol total médio, encontrado nos portugueses com HF referenciados ao EPHF é cerca de 300mg/dL e de LDL cerca de 220mg/dL, semelhante ao encontrado em outros países, em que cerca de 25% dos mesmos (36% dos homens, 16% das mulheres), já têm doença cardiovascular.

Estima-se que em Portugal, a prevalência de HF seja de 1/500, calculando-se que cerca de 20000 Portugueses sejam portadores da doença, significando que apenas se diagnosticaram até ao momento 4,5% dos casos, sendo que 30% destes correspondem a crianças (Ramaswamia *et al.*, 2020).

Em cerca de 60% dos indivíduos estudados, não foi possível encontrar a causa genética da hipercolesterolemia, sendo que a maioria terá outra doença do metabolismo lipídico, e não HF; uma pequena percentagem poderá ter HF devido a uma mutação num gene não identificado.

Além de se realizar o teste genético, no âmbito do EPHF, também foram efetuados estudos funcionais *in vitro*, de modo a confirmar se as mutações encontradas, são a causa da HF.

Estes estudos são importantes pois indicam de que forma a alteração encontrada influencia o metabolismo lipídico, permitindo opções terapêuticas individualizadas.

Foram encontradas na população portuguesa um total de 189 alterações, 80 patogénicas e 109 potencialmente patogénicas, com necessidade de avaliação de estudos funcionais.

As mutações encontradas em Portugal, referem -se a mutações na sua grande maioria, no gene LDLR, responsável por 11%, em pacientes do litoral Alentejano.

A mutação de deleção de grande parte do gene LDLR (Pr_ex2+ex_8_ex12), sendo considerada uma mutação grave pois não há produção da proteína do recetor das LDL, é mais comum no norte do País. Esta e outras três mutações no gene da LDLR, p. (Asp224Asn), p. (Arg406Trp), são responsáveis por 23% dos casos identificados (Medeiros *et al.*, 2017).

Em 2015, foi diagnosticada a primeira criança Homozigótica com mutação GOF no gene codificador para a PCSK9, controlada até ao momento com terapêutica e controlo de hábitos de vida (Alves *et al.*, 2015).

4. DIAGNÓSTICO

4.1. Clínico

O diagnóstico da HF é possível e existe tratamento eficaz. A deteção precoce e o tratamento correto dos indivíduos afetados, podem aumentar a qualidade e esperança média de vida destes pacientes, em vários anos.

O diagnóstico da HF é geralmente baseado num conjunto de critérios clínicos, bioquímicos e na história familiar (Bourbon, 2010). Relativamente aos critérios clínicos não existe consenso a nível internacional, em que cada País adota critérios distintos, talvez por serem também usados critérios diferentes na seleção e recrutamento de indivíduos submetidos ao rastreio. Clínicos e investigadores, baseiam-se usualmente em três sistemas distintos (um Americano e dois Europeus), para efetuar o diagnóstico clínico da HF. Nos Estados Unidos da América, por exemplo, utilizam o sistema MED-PEP (*make early diagnosis, prevent death on medica pedigrees*). Na Holanda e em alguns países da Europa, por sua vez, utiliza-se o sistema Holandês para diagnóstico da HF (*Dutch familial hypercholesterolaemia diagnostic system*), sistema este baseado em scores, em que o paciente é classificado como “confirmado”, “provável” ou “possível” (score inferior a 6, entre 6-8 e superior a 8, respectivamente) (Stein *et al.*, 2019). No Reino Unido são utilizados os critérios baseados no registo de Simon Broome (Simon Broome Heart Research Trust), em que apenas existem dois resultados: “confirmado” e “possível” (Shah *et al.*, 2020) (Anexo I).

Em Portugal, têm sido utilizados critérios adaptados do registo de HF Simon Broome (Bourbon and Rato, 2006). O diagnóstico clínico baseia-se em 5 critérios principais: história familiar DAC (Doença Arterial Cardíaca) prematura (antes dos 55 anos em homens e 65 anos nas mulheres); presença precoce de DAC no CI (Caso Índice) c-LDL elevado (valores superiores a 160 mg/dL nas crianças, superiores a 190mg/dL nos adultos, e superiores a 400mg/dL nos homozigóticos); presença de xantomas tendinosos (tendão de aquiles e tendões extensores das mãos) e arco corneano (Bjelakovic *et al.*, 2019) (Figura 9). Estes sinais de depósitos lipídicos podem surgir em qualquer idade e manifestam-se em 30 a 40% dos indivíduos com HF. A presença de arcus corneano antes dos 45 anos é pouco frequente (Sniderman *et al.*, 2014).

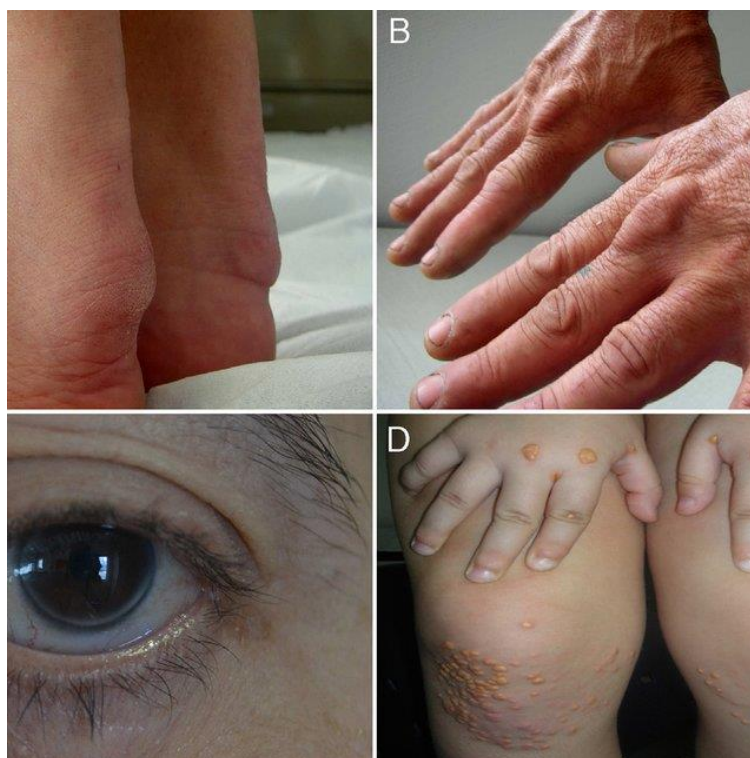


Figura 9 – Sinais clínicos de Hipercolesterolemia.

Adaptado de Bjelakovic *et al.*, 2019.

Em termos laboratoriais, os pacientes com HF apresentam valores elevados de c-LDL, valores normais de triglicéridos e valores diminuídos de lipoproteína de alta densidade (HDL-c) (Sniderman *et al.*, 2014).

A proporção de médicos generalistas e cardiologistas que procuram ativamente a presença de dislipidemias hereditárias, não excede os 30%. Contudo, devido à importância de um diagnóstico precoce, foi realizado um estudo CODAP (*Consenso Dislipidemia Aterogénica Portugal*), com a colaboração da Sociedade Portuguesa de Cardiologia e da Sociedade Portuguesa de Aterosclerose. Este estudo, consistiu na realização de um questionário segundo a metodologia Delphi e, incluiu 50 médicos de várias especialidades (cardiologia, medicina interna, medicina geral e familiar e endocrinologia). Os principais objetivos foram: analisar a opinião dos peritos portugueses, gerar um consenso relativamente à definição, ao diagnóstico e à melhor abordagem terapêutica em pacientes com dislipidemia aterogénica e ainda contribuir para uma prática clínica mais uniforme (Mello *et al.*, 2019).

A suspeita inicial de HF, baseia-se na determinação dos valores de colesterol. Se os valores, se encontram fora dos de referência para determinado indivíduo, deverá procedesse-se de acordo com os critérios enumerados anteriormente, de forma a estabelecer um diagnóstico correto.

Caso seja o primeiro membro da família com diagnóstico de HF, CI, desenvolve-se um plano de rastreio familiar, de forma a otimizar a prevenção de ECV. Esta estratégia de diagnóstico baseado na identificação do CI portador de HF e posterior rastreio familiar, torna mais célere e eficaz a identificação, o tratamento e o seguimento de indivíduos com HF (Mata *et al.*, 2014).

A abordagem integral da HF engloba determinados critérios propostos pela OMS, que incluem: criar de um registo de pacientes com HF; educar pacientes e médicos; conexão entre médicos especialistas em dislipidemias, médicos de cuidados de saúde, familiares e pacientes; promover um melhor controlo e adesão terapêutica; organizar associações de pacientes; envolvimento e apoio por parte das unidades de cuidados de saúde familiares não só ao paciente bem como aos cuidadores; coordenar e promover a pesquisa sobre questões relacionadas com os transtornos lipídicos (Mata *et al.*, 2014; Wilemon *et al.*; 2020).

4.1.1. Rastreio Universal e Rastreio Seletivo

A investigação da HF deve ser realizada de forma sistemática, e o rastreio universal constitui a estratégia diagnóstica preferencial. No entanto, o rastreio não é custo-efetivo e a sua especificidade depende de uma série de fatores interferentes. O rastreio universal consiste na medição do colesterol em todas as pessoas com mais de 10 anos de idade (Watts *et al.*, 2014). Na prática, recomenda-se que a primeira avaliação dos níveis lipídicos se realize em todas as crianças entre os 9 e 11 anos, visto que a partir dessa idade ocorrem alterações hormonais que interferem com os seus valores (Raal *et al.*, 2012). Contudo, esta avaliação deve ser efetuada a partir dos dois anos de idade, se a criança apresentar sinais clínicos característicos, tais como, xantomas, xantelasmas, arco senil ou se existirem familiares com historial de doença aterosclerótica prematura, dislipidemias e/ou doença arterial prematura.

Existe uma suspeita clínica de HF se, determinado indivíduo apresentar valores de c-LDL \geq 200mg/dL em conjunto com a existência de pelo menos um dos seguintes critérios:

- a) Familiar com idade inferior a 18 anos com valores de c-LDL \geq 150mg/dL
- b) Familiar com idade superior a 18 anos com valores de c-LDL \geq 190mg/dL
- c) Presença de doença coronária no caso Index ou em familiar em primeiro grau
- d) Presença de xantomas no caso Index ou familiar em primeiro grau

Caso não se disponha de dados familiares deve-se suspeitar da presença de HF em pessoas com c-LDL \geq 300mg/dL (Watts *et al.*, 2020).

Apesar de ser pouco frequente, alguns indivíduos com HF podem ter elevação concomitante de triglicéridos (TGs). A presença de hipertrigliceridemia moderada, não é critério de exclusão do diagnóstico (Goldberg *et al.*, 2014).

Alguns casos de HF são de diagnóstico difícil devido à variação fenotípica e genotípica da doença. Esta situação explica a ocorrência de subdiagnósticos na maioria dos países, e a falta de implementação de medidas terapêuticas apropriadas, por forma evitar DCV prematura.

4.2. Genético

O teste genético é considerado o mais eficaz, permitindo o diagnóstico correto da patologia e a instituição de uma terapêutica adequada o mais precocemente possível. Muitas vezes, os sinais clínicos não são evidentes ou permanecem ainda inexistentes, sobretudo em crianças e jovens, e nestes casos o teste genético desempenha um papel relevante. O diagnóstico genético permite também a identificação precoce de familiares em risco, que de outra forma poderiam não ser identificados. A identificação de pacientes com HF em idade jovem, o seu aconselhamento e tratamento adequados, diminui substancialmente o risco cardiovascular nestes indivíduos, podendo inclusive tornar-se igual ao da população saudável (Sturm *et al.*, 2018).

De acordo com o tipo de mutação existente em termos de herança genética e de acordo com as manifestações clínicas, os níveis séricos de c-LDL são variáveis nas DCV (Doença Cardiovascular). Para os homozigóticos os valores de c-LDL são habitualmente superiores a 600 mg/dL, para os heterozigóticos os valores estão entre os 250 a 450 mg/dL. O valor determinado é diretamente proporcional ao risco de DCV (Santos *et al.*, 2016).

O indivíduo que apresenta a mesma mutação em ambos os alelos, denomina-se homozigoto verdadeiro. A existência de homozigóticos verdadeiros é pouco frequente, dada a elevada quantidade possível de ocorrência de mutações. Observa-se geralmente em famílias cujos descendentes apresentam consanguinidade (Bhatnagar *et al.*, 2000).

Encontram-se com maior frequência, mutações diferentes em cada alelo do *locus* do LDLR (heterozigotos compostos) ou, mutações herdadas de ambos os progenitores e que afetam diferentes *loci* (heterozigotos duplos). Este tipo de mutações, origina habitualmente formas graves de hipercolesterolemia, clinicamente indistinguíveis dos verdadeiros homozigotos (Raal *et al.*, 2012) (Tabela 3).

Tabela 3 - Critérios diagnósticos da HFHo.

Critérios diagnósticos da HFHo
<ul style="list-style-type: none">• Confirmação genética de dois genes mutantes alelos LDLR, ApoB, PCSK9, ou no locus do gene LDLRAP1 <p>OU</p> <ul style="list-style-type: none">• LDL-c sem tratamento > 500 mg/dL ou LDL-c com tratamento > 300 mg/dL, mais alguns dos seguintes critérios: Xantomas cutâneos ou tendinosos antes dos 10 anos de idade. <p>OU</p> <ul style="list-style-type: none">• Pais com LDL-c elevados consistente com HF heterozigótica em ambos os pais*. Os valores de LDL-c citados são apenas indicativos de HFHo, mas deve-se considerar valores menores para o diagnóstico de homozigóticos na presença de outros critérios. <p>* Exceto no caso de ARH.</p>

Adaptado de Raal *et al.*, 2012.

4.2.1. Screening em Cascata

Do ponto de vista de saúde pública, a melhor estratégia para preencher as lacunas do diagnóstico e tratamento de HF, consiste na implementação de um programa de detecção precoce baseado no *screening* em cascata familiar. Este processo consiste no diagnóstico de familiares a partir do CI (Watts *et al.*, 2020).

A detecção da HF cumpre os critérios de rastreio sistemático de uma doença. A forma mais custo-efetiva para identificar novos casos de HF, é através do *screening* em cascata familiar, dos familiares do CI, utilizando uma estratégia baseada nas concentrações de colesterol sérico e/ou genótipo (Lázaro *et al.*, 2017). Deve ser realizada uma pesquisa “oportunista” em todo o adulto com valores de colesterol total > 300mg/dL, ou presença de xantomas tendinosos no CI e seus familiares. A detecção baseada no estudo genético estabelece o diagnóstico definitivo de HF, facilitando o *screening* em cascata, no entanto este não diagnostica cerca de 30% de familiares (Benn *et al.*, 2016), que apresentam com c-LDL percentil inferior a 90%, mas com mutações no LDLR (Damgaard *et al.*, 2005). Por sua vez a presença de xantomas é patognômica de HF, os quais só existem em 30% dos casos com diagnóstico genético. Numa pequena percentagem de indivíduos pode existir relação entre o genótipo e a gravidade do fenótipo, mas tal só ocorre na forma de apresentação da doença mais grave, como é o caso de indivíduos com mutações nulas do recetor da LDL (Desfeche, 2010). Portanto, a melhor estratégia para a detecção dos familiares é uma combinação de valores de c-LDL e análise genética quando existe mutação genética identificada e sempre que se disponha dos recursos necessários (Lázaro *et al.*,

2017). A elaboração de uma árvore genológica familiar pode ser muito útil na planificação do processo de *screening* (Bourbon, 2010). O diagnóstico deve ser realizado antes do desenvolvimento de DCV (Doença Cardiovascular), no entanto, na prática clínica habitual, raramente se verifica.

Deste modo, aconselha-se o diagnóstico em crianças a partir dos 2 anos de idade ou se possível antes dos 8 anos, sempre que um dos progenitores é portador de doença (Watts *et al.*, 2014; Ramaswamia *et al.*, 2020).

Apesar do crescente interesse na investigação da HF, os cuidados com os pacientes e seus familiares continuam inadequados, havendo necessidade da melhoria de prestação de cuidados de saúde primários. Para que um programa de diagnóstico, de *screening* em cascata familiar tenha êxito, é fundamental o papel do primeiro nível assistencial, mediante o envolvimento do médico de cuidados de saúde primária, na deteção dos CI e, posterior implementação de *screening* em cascata familiar. A informação sobre dados clínicos e analíticos no sistema de saúde proporciona um método eficiente na procura “oportunista” dos pacientes sem diagnóstico. Os pacientes cujo tratamento é de menor complexidade devido ao grau de gravidade da doença, podem ser seguidos a nível de cuidados de saúde primária, neste sentido é necessário formação e sensibilização dos médicos de saúde familiar, para a realização de diagnóstico precoce. Deste modo não é necessário um lipidologista, na medida que muitas vezes estes especialistas são insuficientes, e a sua distribuição geográfica não é uniforme. No entanto a nível hospitalar o cardiologista tem um papel importante no diagnóstico de HF, nos pacientes com menos de 60 anos e com DCV e hipercolesterolemia. Assim sendo o cardiologista pode ter um papel preponderante no diagnóstico, permitindo-lhe melhorar a monitorização da evolução da aterosclerose subclínica dos pacientes assintomáticos com HF, através de provas imagiológicas não invasivas, as quais têm um valor acrescentado na avaliação destes pacientes (Lázaro *et al.*, 2017; Watts *et al.*, 2020).

Uma consequência do *screening* em cascata será o aumento de crianças e adolescentes identificados, tal requer igualmente uma sensibilidade por parte dos pediatras para o diagnóstico da doença. Este tem competências para o seguimento destas crianças até à idade adulta, caso não se trate de uma hipercolesterolemia grave. Nos países da Europa verifica-se diferentes critérios de diagnóstico relativamente às crianças o que se reflete em situações sub-diagnóstico e consequentemente ausência de implementação de medidas tratamento (Ramaswamia *et al.*, 2020).

Os estudos económicos apoiam claramente o de *screening* em cascata de forma sistemática para o diagnóstico de HF. A realização do diagnóstico genético em familiares de pacientes com mutações identificadas, combinada com uma análise bioquímica lipídica é muito custo-efetiva, na medida que os gastos em saúde com as DCV, são muito avultados, pelo que cada vez mais deve existir um investimento acentuado, por forma a prevenir e contribuir para a diminuição da sua incidência (Lázaro *et al.*, 2017; Wats *et al.*, 2020).

5. TRATAMENTO NÃO FARMACOLÓGICO

5.1. Estilos de Vida

Com os avanços sobre o conhecimento de fisiologia humana, a complexidade da patologia das doenças crónicas está mais elucidada, no entanto, sabemos que a saúde não depende somente dos avanços científicos e tecnológicos, sendo cada mais evidente o peso que existe sobre a tomada de decisões adequadas sobre o estilo de vida.

Neste âmbito torna-se imperativo que os profissionais de saúde disponibilizem à população aconselhamento de forma clara e objetivos alcançáveis, por forma a melhorar a qualidade de vida através de adoção de medidas de promoção para a saúde.

O estilo de vida é um conceito complexo, na medida que está dependente do comportamento individual, mas depende igualmente de fatores externos; nos quais se inclui o nível educativo e socio-económico, em que se vive. Nos hábitos comportamentais incluem-se a dieta, a atividade física, o consumo de bebidas alcoólicas e o tabagismo, entre outros.

Relativamente ao conhecimento sobre a relação entre os estilos de vida e o risco cardiovascular, este está muito aquém de proporcionar níveis de evidência comparativamente aos obtidos em ensaios clínicos, com fármacos. Em geral, os estudos de intervenção a nível da prevenção primária são escassos, no entanto estes são de grande utilidade como foi demonstrado com o estudo PREDIMED (*Primary prevention of cardiovascular disease with a Mediterranean diet*) (Estruch *et al.*, 2013), um dos ensaios clínicos mais relevantes da relação entre a nutrição e risco cardiovascular. As evidências têm sido demonstradas principalmente, através de estudos de grande *coorth* do tipo observacional. Por outro lado, relacionar os benefícios de determinada dieta relativamente à prevenção cardiovascular tem pouca robustez, na medida que não se dispõem de métodos seguros, que permitam conhecer com precisão os hábitos alimentares de uma pessoa no seu dia-a-dia ao longo dos anos, pela dificuldade de recolha de dados, pela diferença da composição dos alimentos em distintas épocas, pela conduta adotada

individualmente ser constantemente alterada ao longo dos anos, por falta de meios para avaliar e garantir a adesão a uma dieta recomendada.

Porém, as *guidelines* sobre o controle das dislipidemias continuam a enfatizar, como medida terapêutica primordial a adoção de estilos de vida saudáveis, disponibilizando aos profissionais de saúde estratégias a adotar, para promover uma maior adesão a estas medidas.

Aconselha-se:

- A prática de exercício físico regular de cerca 3,5-7h/semana ou 30-60 min/dia.
- Redução dos ácidos gordos *trans*, presentes sobretudo em alimentos processados, tais como os existentes em enchidos e produtos de salsicharia.
- Diminuição de ácidos gordos saturados (sem duplas ligações entre os átomos de carbono), os mais frequentes na alimentação são: laurico, mirístico, palmítico e estereático (que variam entre 12 a 18 átomos de carbono), na medida que contribuem para o aumento do colesterol total e c-LDL.
- Aumento de ingestão de alimentos contendo ácidos gordos mono ou poliinsaturados, os monoinsaturados o ácido oleico; os poliinsaturados compreendem os ómega-3, (n-3) (PUFAs) (eucosapentanoico EPA, C20:5n-3; docosahexapentanoico DHA, C22:6n-3) (Mach *et al.*, 2019), existentes em certos peixes como sardinha, salmão cavala, anchova atum, truta, etc; sendo que estes também são fonte de outros nutrientes tais como: aminoácidos, selénio, iodo, vitamina D, sendo que estes constituintes contribuem para a prevenção de doença cardiovascular.

Vários estudos têm demonstrado que os ácidos gordos polinsaturados podem ser processados por diferentes enzimas (por exemplo, cicloxigenase, lipoxigenase, enzimas do citocromo P450) e vias não enzimáticas, originando uma série de mediadores lipídicos, altamente ativos designados oxilipinas. Portanto para além da terapêutica hipolipemiante, os n-3 (PUFAs), como o ácido o docosahexapentanoico (DHA, C22:6n-3) e particularmente o ácido eucosapentanoico (EPA, C20:5n-3), têm mostrado reduções do risco cardiovascular, e seus derivados lipídicos podem ter um efeito cardioprotetor.

Tem-se gerado alguma controvérsia relativamente ao consumo de peixe, contendo ácidos gordos poliinsaturados, devido à presença de contaminantes nos oceanos como o metil-mercúrio, dioxinas e bifenóis policlorados, no entanto a evidência do seu benefício contrasta com o prejuízo da sua presença, na medida que a concentração mais elevada dos derivados do mercúrio, tem sido detetada em peixes de grande porte (Leung *et al.*, 2014).

5.2. Alimentos Funcionais e Nutraceuticos

A implementação de hábito de alimentação saudáveis na prevenção da doença cardiovascular é fundamental na população em geral, no entanto nos pacientes com HF, estes são fulcrais na medida que possuem um risco acrescido de ocorrência de ECV (Sacks *et al.*, 2017).

Numa dieta alimentar, é importante considerar a introdução de alimentos funcionais e de nutraceuticos com efeitos hipolipemiantes.

Relativamente aos alimentos funcionais, estes compreendem alimentos que contêm na sua composição substâncias nutrientes ou não nutrientes, com efeito seletivo sobre uma ou várias funções biológicas, que é mensurável e proporciona um efeito benéfico na saúde para além do seu valor nutricional. Com frequência são, alimentos processados, cuja composição é alterada por extração (leite desnatado) ou, adição (leite com fitoesteróis) de ou mesmo substituição (leite em que a gordura láctea é substituída por gordura vegetal). No entanto, também se podem designar de alimentos funcionais, os alimentos que pelas suas propriedades naturais hipocolesterolemiantes, como os frutos secos, as leguminosas, os cereais integrais e o chocolate negro. Entre os nutraceuticos comercializados como hipolipemiantes, existem alguns com evidência científica significativa sobre a sua eficácia e segurança, no entanto outros necessitam de uma maior evidência fundamentada, quanto aos seus efeitos (Hunter and Hegele, 2017).

Os nutraceuticos com eficácia comprovada no controlo da hipercolesterolemia, são os esteróis vegetais o fitoesteróis fibra solúvel e a levedura de arroz vermelho (menacolina). Por sua vez os PUFAS (Ácidos Gordos Poliinsaturados) n-3 marinhos, têm na sua composição em concentrações farmacológicas, efeitos hipotriglicemiantes. Há que ressaltar que estes quatro nutrientes funcionais dispõem de conformidades de benefício para saúde cardiovascular, encontram-se aprovados pela FDA. Os esteróis vegetais são compostos naturais, extraídos de matéria vegetal associados habitualmente a produtos lácteos ou manteigas de origem vegetal.

Fitoesteróis - Desempenham uma função estrutural nas membranas das células vegetais equivalentes à função do colesterol nas células animais, encontram-se naturalmente em grandes quantidades de óleos vegetais, em pequenas quantidades de frutas frescas, nozes, leguminosas e vegetais.

A sua estrutura química difere do colesterol pela presença de cadeias laterais. Os esteróis são mais raros na natureza, são esteróis saturados, ou seja, não possuem de dupla ligação no anel

esteroide. Estas modificações estruturais fazem com que estas moléculas sejam mais hidrofóbicas que o colesterol, pelo que a sua absorção intestinal é menor, interferindo concomitantemente na absorção do colesterol no lúmen intestinal. A redução da absorção tem como consequência, uma diminuição da quantidade de colesterol transportado até ao fígado, o que produz efeitos compensatórios origina: aumento da síntese e um aumento da expressão dos recetores da LDL, tendo como efeito diminuição dos níveis séricos de c-LDL (Gylling *et al.*, 2014).

A ingestão diária varia em média de 250mg/dia no norte da Europa, 500mg/ dia nos países mediterrâneos.

A eficácia deste efeito está relacionada com os níveis séricos basais do colesterol, de modo que se verifica uma redução superior quando os níveis iniciais são mais elevados.

Os fitosteróis competem com o colesterol pela absorção intestinal, modulando assim os níveis de colesterol total.

O consumo diário de 2g de fitosteróis pode reduzir efetivamente o colesterol total e níveis de c-LDL de 7-10%, verificando um certo grau de heterogeneidade individual, no entanto estes têm pouco ou nenhum efeito sobre outras frações lipídicas, tais como c-HDL e nos níveis de triglicéridos (Gylling *et al.*, 2014). No entanto, até ao momento, nenhum estudo foi realizado sobre o subsequente efeito na DCV. Com base na redução do c-LDL e a ausência de efeitos adversos, alimentos funcionais com esteróis vegetais/estanóis (> 2g/dia) devem ser considerados no tratamento de indivíduos:

- Com nível de Risco intermédio ou baixo de DCV que ainda não têm critérios para início de terapêutica farmacológica.
- Como complemento de terapêutica farmacológica para indivíduos de alto risco e muito alto risco, que não atingem os objetivos terapêuticos de valores de c-LDL com estatinas ou em indivíduos intolerantes às mesmas.
- Em adultos e crianças com idade superior a 6 anos com HF, segundo orientações atuais (Musa-Veloso *et al.*, 2011).

Melaconina e Fermento do arroz vermelho - O fermento do arroz vermelho (FAV) é um pigmento fermentado, que foi usado na China como corante alimentar e, como especiaria.

O seu modo da ação é semelhante ao mecanismo das estatinas – inibição da HMG-CoA.

No mercado, existem preparações diferentes, bem como várias apresentações com diferentes concentrações de melacôninas, com efeitos de redução no c-LDL e CT (Colesterol Total) muito variáveis, em que se o consumidor não for devidamente aconselhado é incapaz de selecionar a mais apropriada (De Backer *et al.*, 2017; Poli *et al.*, 2018).

Embora tenha sido demonstrado benefícios no seu consumo, não se encontra totalmente documentado a sua segurança e o efeito do seu consumo a longo prazo, na medida que algumas preparações não estão isentas da existência de contaminantes. Têm sido referenciados efeitos adversos como os observados com as Estatinas. No único RCT (estudo controlado randomizado) disponível em pacientes com ASDVC (Antecedentes de Doença Cardiovascular) um extrato parcialmente purificado de FAV obtiveram-se, reduções de cerca de 45% recorrência de episódios (Lu *et al.*, 2008). Clinicamente, foi comprovado um efeito hipolipemiante relevante, tendo-se verificado reduções na ordem dos 20%, com doses diárias de 5-10mg de melacônina K (Li *et al.*, 2014).

Os nutracêuticos contendo FAV purificando, podem ser considerados uma opção para pessoas que possuem concentrações séricas de colesterol no plasma, mas que não reúnem critérios para o início de terapêutica com estatinas dado ao seu risco cardiovascular global. Existe, no entanto, necessidade de implementação de uma regulamentação destes suplementos, nomeadamente no que diz respeito a informações relativamente à composição precisa; quantidades dos constituintes e quanto ao grau de pureza (De Backer *et al.*, 2017).

Fibra Dietética - A evidência disponível demonstra um efeito consistente do β -glucano, na redução do c-LDL e CT. Trata-se de uma fibra viscosa presente na aveia e cevada. Alimentos enriquecidos com estas fibras ou suplementos são bem tolerados, eficazes e recomendados na redução de c-LDL (Hartley *et al.*, 2016). No entanto para se obter reduções clinicamente significativas na ordem dos 3-5%, é necessária uma ingestão diária de 3-10g/dia, sendo esta redução variável, dado que esta é dependente do tipo de fibra (Pirro *et al.*, 2017).

Policonasol e Berberina de Policonasol - É uma mistura natural de álcoois alifáticos de cadeia longa, extraídos principalmente da cana-de-açúcar (Mas *et al.*, 1999).

Estudos demonstraram que o policonasol proveniente da cana-de-açúcar, arroz ou gérmen de trigo, não têm efeito significativo sobre os níveis de c-LDL, c-HDL, TGs, ApoB, Lp(a), homocisteína, PCR, fibrinogênio ou outros fatores de coagulação (Rainer *et al.*, 2005).

Quanto à berberina, uma meta-análise recente em que se avaliou a berberina e intervenção no estilo de vida ou placebo, indicou que no grupo da berberina, os níveis de c-LDL e TGs plasmáticos foram mais eficazes do que no grupo controle. No entanto, devido à falta de ensaios randomizados, a eficácia da berberina para o tratamento da dislipidemia precisa de uma maior validação. Existe algum debate quanto à biodisponibilidade das diferentes preparações da berberina (Pirro *et al.*, 2017).

Ácidos gordos Poliinsaturados n-3 - Evidências observacionais indicam que o consumo de peixe (pelo menos 2x/semana) e alimentos vegetais ricos em ácidos gordos n-3 (α -linoleico, ácido que está presente nas nozes e alguns óleos de sementes) está associado a um menor risco de morte cardiovascular e acidente vascular cerebral, mas sem estar associado a efeitos do metabolismo das lipoproteínas plasmáticas (Monzaffarian *et al.*, 2013; Sacks *et al.*, 2017). Farmacologicamente, a ingestão de ácido gordos n-3 de cadeia longa (2-3g/dia), reduzem os níveis de TGs em cerca de 30%, bem como os níveis séricos de lípidos pós-prandial, mas em doses mais elevadas podem contribuir para o aumento de c-LDL. O ácido α -linoleico é menos eficaz na redução de TGs (Rivellese *et al.*, 2003; Jacobson *et al.*, 2012).

Recentemente, verificou-se um risco significativamente menor de eventos isquêmicos incluindo morte CV, em pacientes com níveis elevados de TG, apesar de medicados com estatinas, tratados com 2g duas vezes ao dia com ácido isopentanoico (Jacobson *et al.*, 2012).

6. TRATAMENTO FARMACOLÓGICO

6.1. Estatinas

As estatinas reduzem a síntese do colesterol a nível hepático por mecanismo de inibição competitiva com enzima HMG-CoA redutase. A diminuição do colesterol intracelular induz estimulação dos fatores promotores da transcrição SERPS, com o conseqüente aumento de expressão de recetores da LDL. O aumento de recetores a nível da membrana dos hepatócitos, aumenta *clearance* sanguínea de c-LDL, originando diminuição concomitante da concentração de c-LDL e outras lipoproteínas contendo TGs.

A redução depende da dose, bem como da ação e tolerabilidade das diferentes estatinas. Uma dose de elevada intensidade corresponde à dose capaz de reduzir o c-LDL em 50%, intensidade moderada tem como objetivo reduções de 30-50%.

Em estudos clínicos, tem sido observada, uma grande variabilidade interindividual relativamente à redução do c-LDL, com a mesma dose e mesma estatina, o que se deve em certa medida, à não adesão ao tratamento devido aos efeitos adversos, mas também à existência de polimorfismos genéticos relativamente às vias de metabolização e excreção das diferentes estatinas (Boekoldt *et al.*, 2014). Deste modo quando se inicia tratamento com as mesmas há necessidade de um acompanhamento e monitorização inicial, com um intervalo mais frequente (Marques da Silva and Cardoso, 2011).

As estatinas com maior potência como Atorvastatina, Rosuvastatina e Pitavastatina, demonstraram uma maior eficácia na redução dos TGs, no entanto nestes pacientes os valores dos mesmos encontram-se dentro dos valores normais ou mesmo reduzidos, quando existe uma adesão a regime alimentar (Reiner, 2014).

Para pacientes que não toleram o regime terapêutico de dose máxima devido a efeitos adversos, ou para os que não alcançam os objetivos terapêuticos, aconselha-se a associação de outro fármaco hipolipemiante, com ação complementar à dose máxima tolerada de estatina.

Para além do efeito das estatinas na redução do c-LDL, num estudo de metanálise, verificou-se um aumento de c-HDL de cerca de 1 a 10% (Barter *et al.*, 2010). Em suma as estatinas têm um efeito muito pronunciado na redução da ApoB, altamente aterogénica, pelo se verificou aquando da sua introdução reduções significativas de ECA (Eventos Cardiovasculares).

Outros efeitos benéficos das estatinas são o seu efeito pleiotrópico como ação anti-inflamatório e antioxidantes, o que se traduz numa redução significativa de ECA. Estes efeitos foram demonstrados em modelos experimentais *in vitro*, no entanto, dado à sua relevância clínica têm gerado alguma controvérsia (Pedersen, 2010; Olesterle *et al.*, 2017).

Recentemente, reanalisou-se os resultados do estudo WOSCOPS (*West of Scotland Coronary Prevention Study*), que demonstrou que inclusive os pacientes sem DM (Diabetes Mellitus), com risco a 10 anos de ECV, obtém benefício com o tratamento com estatinas, havendo nomeadamente reduções de mortalidade na ordem dos 18% durante 20 anos (Ford *et al.*, 2016).

A evidência atual disponível, procedente de metanálises, indica que o benefício do tratamento clínico, não depende do tipo de estatina, mas sim do grau de redução absoluta de c-LDL, face ao risco individual de ECA. Neste sentido a seleção da estatina bem como a sua dose deve refletir o objetivo que se espera alcançar para um determinado paciente, deste modo deve-se:

- Avaliar o risco CV total do paciente
- Identificar o objetivo de redução de c-LDL para esse nível de risco
- Implicar o paciente nas tomadas de decisões sobre o controle do risco CV
- Selecionar a estatina e dose de acordo com o objetivo de redução de c-LDL, consoante o risco CV.

Outros fatores que devem ser tomados em linha de conta, aquando da seleção da estatina, são os fatores associados ao estado clínico do paciente, possíveis interações com medicação concomitante e tolerância farmacológica (Mach *et al.*, 2019).

Efeitos Adversos e interações das Estatinas

As diferentes classes de estatinas diferem entre si, na absorção, biodisponibilidade, capacidade de união as proteínas plasmáticas, eliminação e solubilidade. De uma forma geral consiste numa toma diária única, preferencialmente à noite, na medida que existe compensação noturna de síntese endógena, pelo aporte reduzido de colesterol exógeno.

A Lovastatina e Sinvastatina são pró-fármacos, no entanto as restantes administram-se na sua forma ativa. A sua biodisponibilidade é relativamente reduzida, devido à metabolização pelas isoenzimas do citocromo P450 (CYP), exceto a Pravastatina, a Rosavastatina e a Pivastatina.

Um dos efeitos adversos mais frequentes das estatinas é a miopatia, que se manifesta na sua forma mais grave por rbdomiólise, manifestando-se por dores musculares intensas, necrose muscular, mioglobínúria e numa fase mais avançada pode conduzir à insuficiência renal. Nestes casos a Creatina Kinase (CK), tem aumentos que variam entre 10 a 40 vezes relativamente ao valor normal, esta manifestação tem uma frequência de efeito adverso, podendo ocorrer de 1-3 casos/100.000 pacientes (Law and Rudnicka, 2006).

A mialgia sem aumento da CK, é um efeito adverso frequente e são observadas entre 10-15% em distintas populações, em estudos observacionais não se tendo encontrado justificação quer para a sua ocorrência, quer para a sua frequência (Keating *et al.*, 2013).

Outro efeito adverso comum é o aumento das enzimas hepáticas, observa-se um ligeiro aumento da Alanina Aminotransferase (ALT), na ordem de 0,5-2,0% e Aspartato Transaminase (AST), estes efeitos são mais frequentes quando se usam estatinas mais potentes e em doses elevadas, pelo que as enzimas de função hepática devem ser monitorizadas e vigiadas de forma regular (Chalasanani *et al.*, 2004).

Têm sido relatados aumento de incidência de Diabetes Tipo II, por aumento da resistência à insulina, bem como efeitos nas células β -pancreáticas, no entanto os estudos não são concisos,

sendo que o benefício acresce aos riscos, pelos resultados de redução de ECV (Watts *et al.*, 2014; Besseling *et al.*, 2015; Marques da Silva 2015; Mach *et al.*, 2018).

Têm-se descrito múltiplas interações com as que podem aumentar os efeitos adversos, através de fármacos inibidores e ativadores das vias metabólicas das estatinas, todas as com exceção da Pravastatina, Rosuvastatina e Pravastatina, que são metabolizados pelo CYP450, as outras são metabolizadas por outras vias como CYP3A4 (Tabela 4).

Tabela- 4 Fármacos que podem interagir com estatina e aumentar o risco de rabdomiólise.

Fármacos anti-infecciosos	Antagonistas dos canais	Outros
Itraconazol	Verapamilo	Ciclosporina
Cetoconazol	Diltiazem	Danazol
Pozaconazol	Amlodipina	Amiodarona
Eritrocina		Nefozodona
Claritromicina		Gemfibrozilo
Inibidores da Protease de HIV		Ronalazina

Adaptado de Mach *et al.*, 2019.

6.3. Ezitimiba

A Ezitimiba inibe a absorção do colesterol intestinal biliar ou proveniente da dieta, sem alteração na absorção nos nutrientes lipossolúveis. Ao inibir a absorção do colesterol no intestino delgado, por inibição da proteína transportadora NPC1L1, reduz o colesterol proveniente da via exógena (Phan *et al.*, 2012).

Demonstrou-se em estudos clínicos que a prescrição de Ezitimiba como tratamento em dose única de 10mg/dia, reduz o c-LDL em pacientes hipercolesterolemicos, na ordem de 15-22% (Pandor *et al.*, 2009).

O tratamento combinado do Ezitimiba com as estatinas é acompanhada por uma redução adicional no c-LDL de 21-27%, em pacientes com hipercolesterolemia sem ou com antecedentes de EC.

Também se demonstrou que a eficácia da terapêutica combinada tem um efeito hipolemiante (15-20%), quando se aumenta para o dobro a dose de estatina (Marrone *et al.*, 2012).

Foram realizados vários estudos, para avaliar o benefício da terapêutica combinada relativamente à redução da morbidade e mortalidade cardiovascular. Citam-se alguns estudos; no estudo SAES (*Sinvastatin and Ezetimibe in Aortic Stenosis*), onde se avaliou a terapêutica combinada em pacientes com estenose aórtica e, o estudo SHARP (*Study of Heart and Renal Protection*), em que ambos os estudos demonstraram redução dos eventos cardiovasculares relativamente ao placebo. (Rossebo *et al.*, 2008; SHARP Study 2010).

No estudo IMPROVI-TE (*Improved Reducion Outcomes: Vytorin Efficacy International*) estudo que envolveu 8.144 pacientes, os quais foram alietorizados em dois grupos um dos quais com 5.314 pacientes que tinham tido um episódio de EV há menos de 7 anos, que no grupo que recebeu terapêutica combinada, registaram-se menos 170, do que no grupo a receber apenas a estatina.

Associados a outros estudos, os resultados do IMPROVI-TE, demonstraram que a terapêutica combinada é tratamento de segunda linha, quando os objetivos terapêuticos não são alcançados com a dose máxima de estatina tolerada, ou como terapêutica para pacientes intolerantes às estatinas (Nissen *et al.*, 2016).

A ezitimiba é absorvida rapidamente e, metaboliza-se na maioria em glucuronato de ezitimiba sua forma ativa. A dose recomendada é de 10mg/ dia, podendo ser administrado tanto de manhã como à noite, sendo independente a ingestão de alimentos.

São desconhecidos eventos adversos significativos podendo raramente, ocorrer ligeiras alterações da função hepática com terapêutica combinada, não havendo repercussões no aumento de CK (Buys, 2008).

6.4. Ácido Bempedoico

O ácido bempedoico é uma pequena molécula oral, inibidor da Adenosina Trifosfato Citrato Liase (ACL), uma enzima chave envolvida na síntese do colesterol catalisando a síntese de acil-CoA. É um pró-fármaco que requer a conversão do ácido bempedoico a ácido bempedoico-CoA pela enzima sintase-1 acil-CoA de cadeia longa, altamente expressa no fígado, mas não no músculo-esquelético.

A inibição da ACL hepática, leva à redução do colesterol intracelular, estimulando a produção de recetores da LDL, aumentando deste modo a depuração do c-LDL (Saeed and Ballantyne, 2018).

Foi demonstrado em estudos de fase 3, que o ácido bempedoico reduziu significativamente c-LDL tanto em monoterapia (21,4%) (Laufs *et al.*, 2019)), bem como em combinação com a ezitimiba em pacientes intolerantes às estatinas (28,5%) (Ballantyne *et al.*, 2018).

Em pacientes com HF e medicados com estatinas com doses recomendadas segundo a sua doença e risco cardiovascular, o ácido bempedoico apresentou uma redução adicional dos níveis de c-LDL em cerca de 17%, demonstrado no estudo CLEAR HARMONY TRIAL, estudo onde se registou a redução da síntese do colesterol via ácido bempedoico, via ACL, (Ray *et al.*, 2019). O estudo CLEAR WISDON, confirmou semelhante eficácia em pacientes com risco elevado de doença cardiovascular, tendo reduzido o c-LDL em cerca de 36% (Golderg *et al.*, 2019).

Todos os estudos incluíram uma pequena amostra de pacientes com HFHe, não tendo havido diferença significativa entre os respetivos grupos. Os estudos revelaram ainda, que o ácido bempedoico é seguro e bem tolerado, com uma incidência de eventos adversos semelhante ao placebo, tendo-se verificado apenas um pequeno aumento de incidência de gota (Ballantyne *et al.*, 2018; Laufs *et al.*, 2019).

Enunciando-se um outro estudo CLEAR OUTCOMES (NCT02993406), onde participaram cerca de 12.600 pacientes está em desenvolvimento, com o objetivo de avaliação de eficácia do medicamento na redução de EC.

O ácido bempedoico recebeu aprovação regulamentar pela FDA e EMA para administração isolada ou, em combinação com o ezetimiba para o tratamento de adultos com HFHe e em pacientes com antecedentes ECV, em combinação com dieta e terapia com estatina na dose máxima tolerada (Golderg *et al.*, 2019; Laufs *et al.*, 2019).

7. TERAPÊUTICA BIOLÓGICA

Os medicamentos obtidos através da biotecnologia, são um marco de evolução da Medicina nas últimas décadas, permitindo tratar patologias, outrora consideradas incuráveis. Neste grupo

farmacoterapêutico, incluem-se fármacos de substituição tais como: citocinas, fatores de coagulação, terapia celular, hormonas, vacinas e os anticorpos monoclonais.

Deste modo a utilização de anticorpos tem evoluído através do tempo. Há mais de 100 anos, a farmacêutica Hoechst foi pioneira em 1894 ao introduzir o tratamento imunológico para a difteria. Posteriormente com a descoberta da tecnologia dos hibridomas, com Milstein e Kohler, observaram-se os maiores avanços no desenvolvimento de anticorpos monoclonais terapêuticos (mAbs), disponíveis na atualidade (Ziquiang, 2010).

Genenck e Eli Lilly desenvolveram o primeiro mAb terapêutico (Insulina humana: Humulin), aprovada em 1982, seguiram-se uma ampla e rápida diversidade de mAbs, utilizados em diferentes áreas terapêuticas incluindo a oncologia, hematologia, reumatologia e cardiologia.

O desenvolvimento da biologia molecular e da biotecnologia no início da década de 90, foi acompanhado pelo avanço da produção desde os primeiros mAbs quiméricos, passando pelos humanizados, até chegar aos completamente humanos, sendo estes que atualmente se encontram disponíveis. Desde a comercialização do primeiro mAb, esta classe de fármacos tem crescido exponencialmente, tendo uma aprovação para a sua utilização de cerca de 4 novos medicamentos por ano. Estima-se que estejam disponíveis até ao momento cerca de 70 mAbs.

Estes, são produtos de natureza proteica, obtidos através de tecnologia do DNA recombinante, ou através da técnica de hibridomas. O que os diferencia de outros grupos de fármacos, é que a proteína final a administrar, apresenta uma síntese demasiado complexa, em que para a sua produção se recorre a organismos vivos, (células humanas, animais ou vegetais, bactérias vírus ou fungos). Este processo pressupõe etapas complexas de manufaturação (seleção de linha celular e meios de cultura, incorporação do gene codificador num vetor, transfecção de célula com vetor, expansão celular em biorreatores, isolamento da proteína sintetizada por filtração ou centrifugação, purificação da proteína por cromatografia, caracterização da proteína e estabilização). Neste âmbito, para além do complexo mecanismo de síntese, temos que considerar também a complexidade de efeitos que podem surgir no organismo humano, para além do efeito terapêutico desejável, e que se relacionam com reações imunogénicas. As proteínas são os agentes imunogénicos mais potentes e, tratando-se de proteínas *not self*, mesmo uma pequena modificação na estrutura tridimensional, resultado da destruição de uma simples ligação química ou de alterações na glicosilação da proteína final, que escondam ou estimulem a expressão de epítomos com propriedades imunogénicas, pode ter consequências imprevisíveis (Sá Oliveira, 2009).

7.1. Anticorpos Monoclonais Inibidores da PCSK9

A descoberta da PCSK9 e sua interação com os LDL, constitui-o mais um marco histórico, na compreensão da fisiopatologia das dislipidemias.

As descobertas de Cohen, relativamente à existência de mutações LOF (Cohen *et.al.*2005) e sua relação com a diminuição de ECV, contribuíram para o desenvolvimento de terapêutica biológica, com finalidade de inibir a ação da PCSK9 (Shapiro and Fazio, 2017).

Foram desenvolvidos 3 anticorpos monoclonais através da tecnologia de DNA recombinante, **Evolocumab, Arilcumab e o Bococizumab.**

O **Alirocumab** e o **Evolocumab** são imunoglobulinas totalmente humanas, dos isotipos G1 e G2, respetivamente. Por outro lado, o **Bococizumab** é um anticorpo monoclonal humanizado do isotipo G2. Todos são administrados por via subcutânea (S.C.) e, como são anticorpos completos, apresentam uma semivida longa, compatível com uma administração em cada 2 a 4 semanas. O **Bococizumab** por se tratar de um anticorpo monoclonal, não totalmente humano, apresentando 3% de vestígios de murino, o que se traduziu por efeitos adversos e menor eficácia, resultante do desenvolvimento de anticorpos anti-medicação, pelo que não passou nos ensaios de fase 3 (Carvalho-Fontes *et al.*, 2019).

O modo de ação do **Evolocumab** e **Alirocumab**, baseia-se na sua ligação à PCSK9 sérica, impedindo a sua interação com o LDL, inibindo desta forma a degradação dos recetores. Tal traduz-se num aumento da clearance das LDL, diminuindo os seus níveis séricos e diminuição de ECV.

Estas evidências foram demonstradas por um desenvolvimento de inúmeros estudos, os quais tiveram como objetivo comprovar a sua eficácia e segurança, resultados de associação com outra terapêutica hipolipemiante (estatinas e Ezetimiba), bem como demonstrar o seu benefício de redução de ECV em pacientes com antecedentes de DAC (Anexo I).

FOURIER e ODYSSEY OUTCOMES, foram dois grandes ensaios (Ensaio Clínicos Randomizados) RTCs, desenhados para avaliar os efeitos do **Evolocumab** e **Arilcumab**, na redução de EVC e mortalidade CV, na medida em que estudos anteriores, demonstram reduções bastante significativas nos níveis séricos de LDL. Os resultados foram publicados em 2017 e 2018 respetivamente. O ensaio FOURIER envolveu 27.564 pacientes, entre os quais participaram 272 pacientes Portugueses (Ferreira, 2019), estes apresentavam diagnóstico de

ECV/AVC e ou doença arterial periférica, perfil lipídico \geq que 70mg/dL e/ou valores de não HDL \geq 100mg/dL, apesar de se apresentarem medicados, com estatinas na dose máxima tolerada em combinação com Ezitimiba. Estes doentes foram randomizados em 2 grupos, na proporção de 1:1, sendo administradas doses de **Evolocumab** 120mg por via S.C. quinzenalmente ou, 420mg mensalmente, no grupo placebo a administração foi realizada quinzenalmente ou mensalmente igualmente por via S.C, consoante preferência. O tempo médio de duração do estudo foi cerca de 168 semanas e os valores atingidos de c-LDL foram na ordem de 42% valores inferiores a 30mg/dL, uma média de 30mg/dL sendo que no grupo placebo os valores médios foram de 92mg/dL. Observaram-se cerca de 15% de diferenças significativas entre os dois grupos, relativamente aos *endpoints* primários, os quais incluíram ECV, EAM, AVC, número de hospitalizações por angina instável e, ou necessidade de intervenções por revascularização. Relativamente à incidência de mortalidade por ECV, não se observaram diferenças entre os 2 grupos, não tendo sido este o objetivo do estudo (Sabatine *et al.*, 2017; Pasta *et al.*, 2020).

No ensaio ODISSEY OUTCOMES consistiu em avaliar a eficácia de **Arilocumab** em pacientes com ECV há menos de um ano. Os resultados do ensaio foram publicados em 2018, envolveu 18942 pacientes, de entre os quais 174, foram Portugueses (Ferreira, 2019). Critérios de inclusão foram idade superior a 40 anos, ECV há menos de um ano, estatina na dose máxima tolerável, c-LDL \geq 70mg/dL ou não HDL \geq 100mg/dL ou ApoB \geq 80mg/dL.

Estes doentes foram randomizados em 2 grupos, na proporção de 1:1, tal como no Fourier Administrado inicialmente 75mg S.C. quinzenalmente, bem como o placebo. Como os valores de c-LDL se mantiveram em valores superiores a 50mg/dL, ao fim de dois meses, a dose de **Arilocumab** foi aumentada para 150mg/dl.

O **Alirocumab** reduziu a morte de causa coronária, EAM e AVC 15%. Os valores de c-LDL reduziram para 40mg/dL, enquanto no grupo placebo os valores se mantiveram na ordem dos 93mg/dL (Szarek *et al.*, 2019).

Os estudos realizados foram concisos relativamente à redução de ECV, sendo que se veio demonstrar não só o benefício dos anticorpos inibidores da PCSK9, bem como papel desta enzima no metabolismo lipídico, reforçando as evidências dos níveis séricos de c-LDL e a doença aterosclerótica (Mahmood and Shapiro, 2019).

Realizaram-se igualmente estudos demonstrando o benefício dos anticorpos monoclonais em doentes com HF (Raal *et al.*, 2018) (Anexo II).

8. LDL-AFÉRESE

8.1. Técnica

A LDL-Aférese, é uma técnica depurativa extracorporal, utilizada para remoção de c-LDL, Lp(a), removendo interleucinas, citocinas, produzidas durante processo inflamatório, associado ao processo aterosclerótico e, proteínas com propriedades pró-trombóticas como o fibrinogénio (Stefanutti *et al.*, 2017).

É um tratamento dispendioso, moroso e invasivo, necessitando de profissionais especializados, com competências na preparação do monitor necessário para a sua realização, vigilância do paciente para despiste atempado de complicações durante e pós-tratamento.

No entanto, a acessibilidade a este tratamento é reduzida, devido ao escasso número de centros que o realizam e, não estar disponível ainda em muitos países (Vallejo-Vaz *et al.*,2018) (Anexo IV).

Deste modo, pacientes com HF severa, possuem uma esperança de vida reduzida, dada a elevada incidência de ocorrência de um evento fatal, antes de completarem as duas décadas (Santos *et al.*, 2017).

Os tratamentos de LDL-Aférese foram iniciados, com regularidade em Portugal, no Hospital de Santa Cruz, no serviço de Hemodiálise em 1996, sendo este até 2009, o único centro, a nível nacional, a assegurar este tipo de tratamento (Relatório, 2018). Em 2009, após integração dos profissionais de saúde, na prestação de cuidados a estes pacientes, o tratamento passou também a ser realizado no Hospital de Santo António no Porto.

Esta técnica, foi evoluindo em termos de seletividade de remoção das lipoproteínas, e equipamento com menor complexidade, tornando a técnica menos morosa.

Na década de 70, a única terapêutica disponível para o tratamento era a colistiramida e ácido nicotínico, sendo esta ineficaz no tratamento destes pacientes com HFHo pelo que Thompson *et.al.*, em 1975, utilizou a plasmaferése no tratamento de duas crianças Francesas Homozigóticas.

Posteriormente Soffel *et al.*, no início da década dos anos 80 em 1981, introduziram a técnica seletiva usando um separador de células para perfundir o plasma, sendo o c-LDL retirado através de uma coluna imunoabsorvente, utilizando anticorpos anti-ApoB-100. Este procedimento está ainda disponível nos dias de hoje, mas tem sido amplamente substituído por métodos que envolvem a perfusão de plasma, em que o sangue total passa através de colunas sulfato de dextrano, covalentemente ligado a grânulos de celulose, removendo apenas os componentes aterogênicos (Parhorfer and Thompson 2019).

Os tratamentos de LDL-Aférese foram iniciados, no Hospital de Santa Cruz no serviço de Hemodialise, utilizando o método seletivo, através da técnica separativa seguida da adsorção com o monitor Liposorbar K-15 de representação Japonesa, no tratamento de uma criança de 7 anos com HFHo.

No ano de 2004, esta técnica foi gradualmente substituída pela técnica seletiva DALI. Este é um método que se baseia exclusivamente no princípio adsorção, composto por um circuito extracorporeal ligado a uma coluna de adsorvente constituída por ácido poliacrílico que possui carga negativa, sendo que a remoção de c-LDL é realizada através de interação electrostática, do constituinte da coluna com a carga positiva da ApoB-100 do c-LDL, Lp (a) e VLDL. A eficácia do tratamento traduz-se por uma redução do c-LDL na ordem dos 70% e Lp (a) cerca de 65%, estas reduções dependem do método utilizado (**Adsorção, Filtração e Precipitação**), (Thompson *et al.*, 2010; Stefanutti, 2013; Julius, 2018), existindo estudos comparativos, onde são referenciados os diferentes valores de acordo com a seleção do tratamento (Greco *et al.*, 2020) (Anexo III).

Existem no mercado três tipos de colunas 500, 750 e 1000, as quais diferem entre si quantidade de poliacrilato e aumento de capacidade de depuração. A seleção é realizada de acordo com parâmetros laboratoriais de eficácia do tratamento e valores basais, os quais estão dependentes de adesão terapêutica, como hábitos alimentares e tipo de HF. A frequência dos tratamentos, pode ser semanal ou com intervalos de 10 dias dependendo níveis séricos iniciais de c-LDL, pré e pós LDL-Aférese, que segundo as *guidelines* e sendo estes pacientes considerados de elevado risco cardiovascular, deveriam ser para c-LDL <70mg/dL e Lp(a)< 50mg/dl.

O volume sanguíneo recomendado no tratamento é de 1,6 vezes o volume de sangue do paciente, a configuração da coluna depende do volume de sangue a tratar, o qual depende da situação clínica do paciente.

Embora venha referenciado na literatura, que esta técnica pode ser realizada por acesso veno-venoso (Stefanutti, 2015), estes pacientes necessitam de acesso vascular artério-venoso, não tendo as crianças património vascular desenvolvido para obter débito sanguíneo adequado. Nos adultos, muitas das vezes este apresenta-se comprometido pelo processo aterosclerótico já existente.

O acesso vascular consiste na construção de uma Fistula Artério-Venosa, o qual é realizado, através da anastemose entre artéria e uma veia, habitualmente selecionada a artéria Umeral e veia Cefálica ou artéria Radial e veia Cefálica. Na impossibilidade de construção da mesma, opta-se pela implantação de prótese vascular usualmente conhecida como prótese de PTFE (Politretetrafluoroetileno), que faz a interface entre a artéria e veia, a qual é utilizada para punção. O objetivo da construção do acesso consiste, obter um fluxo de sangue concordante com o débito necessário para o tratamento (Yang and Huphrey, 2000; Thomas, 2003).

A taxa de débito é iniciada com 40mL/min, sendo aumentada gradualmente até ao máximo de 100ml/min, a duração média do tratamento é cerca de 2h, estando esta dependente do volume de sangue a tratar.

O anticoagulante utilizado na preparação do circuito extracorporeal é heparina, durante o tratamento é citrato de sódio.



Figura 10 – Prótese/Fistula Artério-Venosa.

8.2. Indicações

A LDL-Aférese é a última opção terapêutica, iniciada somente após não se conseguir atingir os objetivos terapêuticos com outras terapias disponíveis, de modo a prevenir ECV:

- Pacientes com HFHo, em que a atividade dos recetores é praticamente nula, esta é a única opção terapêutica (Stefannuti *et al.*, 2017).
- Pacientes com HFHe, intolerantes às estatinas.
- Pacientes com HFHe severa, que não atingem valores recomendados, após instituição de medidas dietéticas e terapêutica combinada, com valores de c-LDL > 200mg/dL, com DCV prévia ou valores > 300mg/dL (Hemphil *and* Moriati; 2015).
- Lipoproteína(a) elevada, associada a HF, ou isolada, para valores > 60mg/dL com DCV, progressiva (critério apenas de alguns países como a Alemanha).

No entanto cada país tem diferentes critérios, segundo *guidelines* instituídas (Parhofer *and* Thompson, 2015) (Anexo IV).

8.3. Complicações

A LDL-Aférese é um tratamento na maioria das vezes bem tolerado, no entanto podem surgir complicações como anemia microcítica decorrente, de alguns eritrócitos poderem ficar retidos no adsorvente, o que muitas das vezes se deve a anticoagulação deficiente durante o tratamento. A hemoglobina é avaliada mensalmente, bem como ferritina, sendo necessário por vezes a administração de esporádica de Sulfato de Ferro (EV), dado que é uma complicação pouco frequente.

Poderão ainda surgir outras complicações tais como:

- Hipocalcemia, manifestada por tremores generalizados, na medida que o modo de ação do citrato de sódio como anticoagulante é, complexação com cálcio sérico, impedindo a sua disponibilidade para a cascata de coagulação, sendo necessário a suplementação de cálcio no início e a meio do tratamento.
- Reações anafiláticas com a administração de inibidores da enzima de conversão da angiotensina (IECAS), estando estes contraindicados devido à libertação de bradicinina

provocada pela ativação de contato, do sistema de pré-caliceína, induzida pela superfície de carga negativa do adsorvente, o que se aplica a outros fármacos interferentes na regulação da bradicinina, síntese ou inibição do seu metabolismo.

- Hipotensão, pelo volume de sangue que preenche o circuito extracorporeal e que se encontra fora do organismo durante o tratamento, ou devido a reação anafilática.
- Durante os tratamentos a avaliação da calcemia é realizada em todos os tratamentos a meio do mesmo. Mensalmente são avaliados parâmetros de eficácia do tratamento, alterações dos valores de perfil lipídico pré-pós LDL-Aférese coagulação e hemograma, semestralmente para além destes, avaliação de marcadores serológicos (Stefanutti and Julius, 2013; Julius, 2018).

8.4. Benefícios

- Redução imediata de colesterol até 76 %;
- Nos pacientes sob terapêutica farmacológica máxima, o nível médio de LDL é reduzido; adicionalmente em 40 a 50%, a longo prazo;
- Aumento do colesterol HDL;
- Melhoria do rácio LDL/HDL;
- Melhoria das propriedades reológicas (redução da agregação eritrocitária, diminuição da viscosidade sanguínea por redução do fibrinogénio e redução dos níveis de lipoproteína (a));
- Interrupção da progressão e mesmo regressão da aterosclerose, remove uma série de interleucinas, pentaxina 3, PCR, substâncias inflamatórias que favorecem e perpetuam o processo aterosclerótico (Bjelakovic *et al.*, 2019) (Figura 11);
- Neste sentido a técnica de LDL-Aférese para além da LDL tem efeitos pleiotrópicos acrescidos de forma a prevenir a ocorrência de ECV (Stefanutti and Julius, 2013; Julius, 2018).

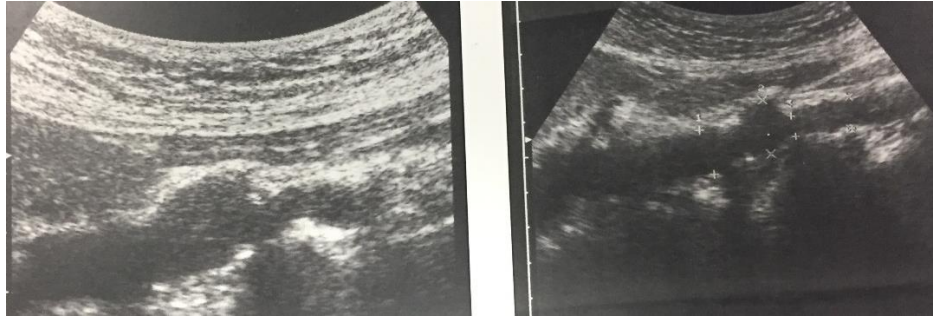


Figura 11 – Efeitos de benefício de LDL-Aférese através técnica imagiológica.
Adaptado de Bjelakovic *et al.*, 2019.

9. ENSAIOS CLÍNICOS

O TAUSSIG *study*, envolveu pacientes de 17 países com idades \geq a 12 anos com HF homozigótica, estabilizados com terapêutica pelo menos durante 4 semanas, antes do início do estudo.

Todos receberam **Evolocumab**, 420 mg/mês SC, sendo que parte da amostragem efetuou LDL-Aférese a cada duas semanas. Nos pacientes que não efetuaram a LDL-Aférese era permitido aumentar a dose de **Evolocumab** a cada 2 semanas, após 12 semanas de tratamento (Figuras 12 e 13).

Os *outcomes* foram primeiramente comparar os efeitos adversos nos pacientes a realizar tratamento depurativo, com pacientes com hipercolesterolemia controlada com medidas terapêuticas. Em segundo lugar verificar a eficácia do **Evolocumab** sobre o c-LDL e outras frações lipídicas em ambos os grupos.

Foram incluídos 106 pacientes, 34 dos quais realizavam LDL-Aférese, sendo que 14 eram menores (Raal *et al.*, 2017).

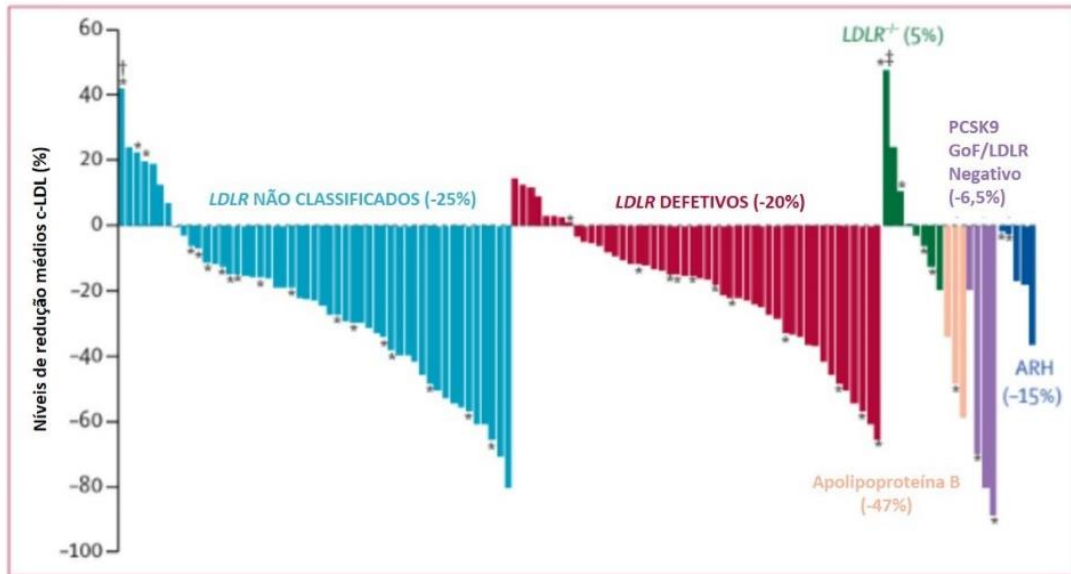


Figura 12 – Alteração média de c-LDL às 24 semanas de acordo com as mutações genéticas.

Pacientes em LDL-Aférese*

Pacientes sem LDL-Aférese

Às 24 semanas são imediatamente após as férias, com suspeita de incumprimento dietético⁺, ou não adesão a tratamentos de LDL-Aférese.

ARH=Hipercolesterolemia autossômica recessiva

Adaptado de Raal *et al.*, 2017.

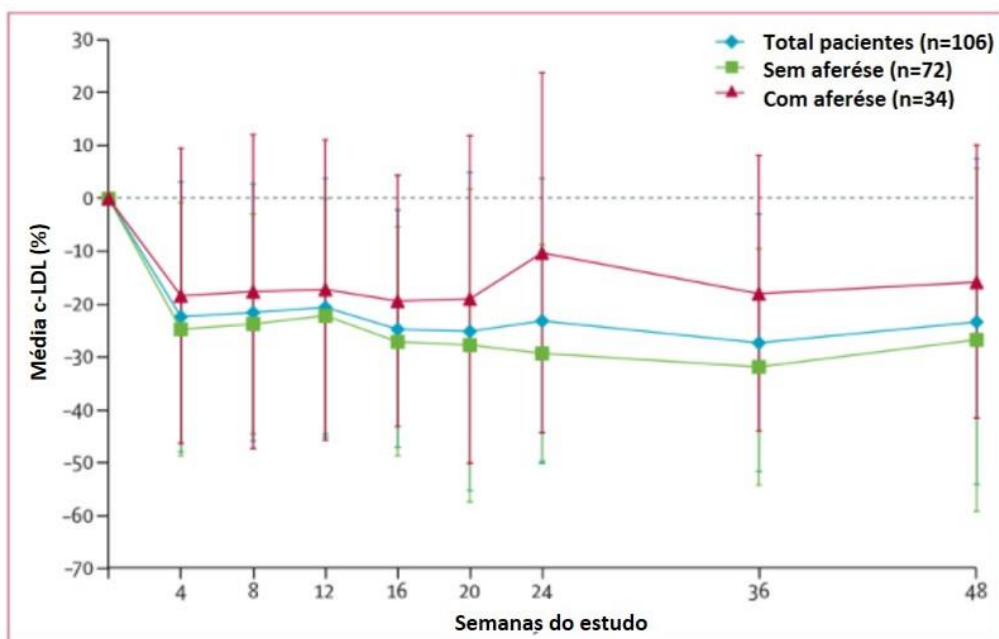


Figura 13 – Alteração de concentrações de c-LDL, entre o início do estudo TAUSSIG e 48 semanas.

Adaptado de Raal *et al.*, 2017.

A figura 13 mostra que os 106 pacientes com hipercolesterolemia familiar homozigótica medicados com **Evolocumab**, e LDL-Aférese conforme critérios iniciais do estudo, estáveis pelo menos quatro semanas antes do início do mesmo sob terapêutica hipolipemiante.

No TAUSSIG, a utilização de **Evolocumab** a longo prazo demonstrou um efeito terapêutico sustentado conforme Evidência do pela redução do LDL-C em cerca de 20% a 30% em pacientes com hipercolesterolemia familiar homozigótica não submetidos a Aférese e de cerca de 10% a 30% em pacientes com hipercolesterolemia familiar homozigótica em Aférese (Figura 14).

Alteração % média desde o valor basal até à 216ª semana da ESO								
População de doente	ESO semana 12	ESO semana 24	ESO semana 36	ESO semana 48	ESO semana 96	ESO semana 144	ESO semana 192	ESO semana 216
HFHo (N =106)	-21,2 (-26,0; -16,3) (n = 104)	-21,2 (-27,8; -15,0) (n = 99)	-21,2 (-32,1; -21,9) (n = 94)	-21,2 (-31,4; -18,3) (n = 93)	-21,2 (-31,2; -18,8) (n = 82)	-21,2 (-34,9; -20,5) (n = 79)	-21,2 (-36,9; -17,8) (n = 74)	-21,2 (-34,0; -14,0) (n = 68)
Sem aférese (N = 72)	-22,7 (-28,1; -17,2) (n = 70)	-21,2 (-33,1; -18,5) (n = 69)	-30,5 (-36,4; -24,7) (n = 65)	-27,6 (-35,8; -19,4) (n = 64)	-23,5 (-31,0; -16,0) (n = 62)	-27,1 (-35,9; -18,3) (n = 60)	-30,1 (-37,9; -22,2) (n = 55)	-21,2 (-32,5; -14,2) (n = 50)
Aférese (N =34)	-18,1 (-28,1; -8,1) (n = 34)	-11,2 (-24,0; 1,7) (n = 30)	-19,1 (-28,9; -9,3) (n = 29)	-18,7 (-29,5; -7,9) (n = 29)	-29,7 (-40,6; -18,8) (n = 20)	-29,6 (-42,1; -17,1) (n = 19)	-19,6 (51,2; 12,1) (n = 19)	-25,9 (-56,4; 4,6) (n = 18)

ESO = extensão sem ocultação; N (n) = nº de doentes avaliáveis (N) e doentes com valores LDL observados em visita programada específica (n) no grupo da análise final dp HFHo.

Figura 14 – Alteração das frações lipídicas ao longo do estudo TAUSSIG

Adaptado de Rephata, Amgen 2015.

Quanto aos efeitos adversos, verificou-se uma diferença significativa de reação no local de injeção cerca de 4 % no grupo que não se apresentava sob terapêutica depurativa e, 29 % no grupo de doentes a realizar LDL-Aférese (Raal *et al.*, 2017). Tal pode encontrar-se relacionado com a administração do **Evolocumab** nos doentes a realizar LDL-Aférese, ser realizada após tratamento, sendo que durante o mesmo é necessário anticoagulação do circuito extracorporeal. Tal pode originar a uma maior ocorrência de hematomas no local e injeção, e consequentemente reações no local de injeção.

9.1. Introdução de Terapêutica Biológica em Pacientes a Realizar LDL-Aférese

O anticorpo monoclonal, inibidor da PCSK9 **Evolocumab**, foi introduzido fora dos ensaios clínicos no Hospital de Santa Cruz, em fevereiro de 2016, numa paciente com HFHe severa. Apresenta mutação no recetor da LDL, no domínio semelhante ao fator de crescimento epidermal, com necessidade de realização de técnica depurativa LDL-Aférese. Após segunda administração, interrompeu-se a terapêutica, por paciente relatar efeitos secundários apesar de eficácia terapêutica. Estes não foram observados, devido à paciente residir, fora do concelho em que a terapêutica era administrada.

Em março de 2019, foi iniciado o **Evolucumab** numa segundo paciente intolerante às estatinas e, com mutação na ApoB. Por falência de acesso, foram interrompidos tratamentos de LDL-Aférese, e mantida terapêutica apenas com **Evolocumab**, apesar de não se ter observado efeitos adversos, não se atingiram valores recomendados, a fim de se evitar ECV.

Posteriormente reconstruído acesso para reiniciar técnica depurativa. Atualmente encontra-se a realizar concomitantemente a técnica depurativa com o **Evolocumab**, com benefícios terapêuticos, tendo-se diminuído frequência de tratamentos. Tal como é referenciado na literatura, nestes pacientes por vezes não se atingem os objetivos terapêuticos apenas com medicamento (Harangi *et al.*, 2017). No entanto qualquer associação terapêutica com a técnica depurativa resulta em benefícios, na medida que se evita o efeito *rebound* verificado após os tratamentos, não se atingindo valores de c-LDL tão elevados entre tratamentos, conseguindo-se diminuir a frequência dos mesmos (Stefanutti *et al.*, 2017).

10. CONCLUSÃO

Nos últimos anos a prevalência da hipercolesterolemia tem sido calculada através de estudos epidemiológicos nacionais e a nível regional.

Estes têm como objetivo intervir a nível de cuidados de saúde primários, com o objetivo de reduzir a incidência de doenças cardiovasculares, que continuam a ser a principal causa de morbilidade e mortalidade a nível dos países da OCDE (Ocidentais para a Cooperação e Desenvolvimento Económico) (Marques da Silva *et al.*, 2019).

A hipercolesterolemia em algumas situações resulta de fatores modificáveis, no entanto existe uma percentagem significativa em que a sua origem tem por base causa genética, como é o caso da HF.

A HF é uma doença genética caracterizada por níveis elevados de LDL desde o nascimento, tal tem como resultado o desenvolvimento de doença aterosclerótica prematura e, conseqüentemente ECV. Caso não seja diagnosticada precocemente, e instituídas medidas terapêuticas individualizadas, os indivíduos com esta patologia apresentam risco de ocorrência de ECV, entre os 20-30 anos de idade, cerca de 16 vezes superior à população em geral (Boubon, 2017).

A descoberta da endocitose mediada pelos recetores, as vias metabólicas lipídicas e, recentemente as mutações a nível da PCSK9, têm sido fulcrais para o surgimento de novos fármacos.

Os ensaios clínicos com os anticorpos monoclonais permitiram obter resultados surpreendentes a nível de redução da LDL e redução de ECV (Mhamood and Shapiro, 2019). Para uma percentagem de pacientes para os quais as técnicas depurativas eram a única opção terapêutica, estes surgem como uma alternativa promissora. Em determinadas situações podem não necessitar de iniciar tratamento depurativo, diminuir a sua frequência, caso este já tenha sido iniciado ou, podem mesmo atingir eficácia terapêutica que lhes permite suspender os tratamentos (Julius, 2018).

A terapêutica biológica relativamente à técnica depurativa apresenta uma série de vantagens, a nível económico, melhoria da qualidade de vida dos pacientes, maior adesão terapêutica. A falta de adesão aos tratamentos de LDL-Aférese pode culminar em EC, muitas das vezes fatais.

No entanto nem sempre se consegue só com o medicamento, atingir valores recomendados por forma a evitar os ECV, nem retardar a doença aterosclerótica instalada. A terapêutica biológica associada à terapêutica depurativa acresce de benefícios evitando efeito *rebound*, verificando-se diminuição dos níveis de c-LDL, entre tratamentos, conseguindo-se reduzir a frequência da técnica depurativa (Stefanutti *et al.*, 2018).

A eficácia terapêutica depende do tipo de mutação existente, não tendo qualquer eficácia nos doentes com HFHo, que possuem mutações, em que a atividade dos recetores é nula ou reduzida, pelo modo de ação dos anticorpos monoclonais. Nos doentes com hiperlipoproteína(a) com valores elevados (Yaroustovsky *et al.*, 2006), a técnica depurativa continua a ser a única opção terapêutica. Desconhece-se o mecanismo de depuração desta lipoproteína, dada a sua variabilidade de efeito com a administração de estatinas, existindo situações, em que tanto se pode verificar aumento como diminuição, desta lipoproteína. Neste sentido depreende-se que a sua depuração não se realize, via dos recetores da LDL (Nerdest,

2019). No entanto a terapêutica com os anticorpos monoclonais, conseguiram-se surpreendentemente, reduções de 20-30% da lipoproteína(a). Apesar destas reduções, em situações em que os valores são extremamente elevados, não se conseguem atingir os valores recomendados por forma a reduzir o risco de ECV (Stein and Raal, 2016). Nestas situações, como é o exemplo da Alemanha, valores na ordem de 60mg/dL, em pacientes com história de ECV, é critério para início de LDL-Aférese (Parhofer and Tompson, 2015) (Anexo VI).

Encontram-se em desenvolvimento outras formas terapêuticas, com o objetivo de inibir a síntese da PCSK9 através de oligonucleótidos antisenseo **Inclisiran** (Raal *et al.*, 2020) que já se encontram em ensaios de fase 3, com eficácia terapêutica, bem como estão em estudo oligonucleótidos antisenseo **IONIS-APO(a)-LRx** (Rawther and Tabet, 2019), direcionados para inibição da síntese de apo(a), inibindo a síntese de lipoproteína(a) (Cesaro *et al.*, 2020).

Esta terapêutica foi anteriormente desenvolvida com a finalidade de inibir a MTP, consequentemente reduzir a síntese de ApoB-100 e LDL, **Mipormensen** (Raal *et al.*, 2019) no entanto dado aos seus efeitos adversos, (reações graves a nível do local de injeção e efeitos a nível hepático), apenas foi aprovada pela FDA a sua administração nos USA, não chegando a ser aprovado pela EMA, tendo sido posteriormente totalmente suspensa a sua utilização.

Nestes últimos anos têm sido realizados inúmeros avanços, a nível do desenvolvimento de fármacos com o intuito de redução da LDL, tendo como objetivo redução da incidência de EVC. Estes poderão ser uma alternativa relativamente à realização de LDL-Aférese, sobretudo para pacientes com HF, em que a técnica depurativa é única opção terapêutica.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Abifadel, M.; Rabès, J.P.; Devillers, M.; Munnich, A.; Erlich, D.; *et al.* Mutations and Polymorphisms in the Proprotein Convertase Subtilin Kexin 9 (PCSK9) Gene in Cholesterol Metabolism and Disease. *Human Mutation*. 2009; (30): 520–529.

Abifadel, M.; Varret, M.; Rabes J.P.; Allard D.; Ouguerram K.; *et al.* Mutations in PCSK9 cause autosomal dominant hypercholesterolemia. *Nat Genet*. 2003; (2): 154–156.

Alonso, R.; Andres, E.; Mata, N.; Fuentes-Jiménez, F.; Badimón, L.; *et al.* Lipoprotein(a) levels in Familial Hypercholesterolaemia: an important predictor for cardiovascular disease independent of LDL-receptor gene mutation. *J Am Coll Cardiol*. 2014; (19): 1982– 9.

Alves, C.A.; Ectxebarria, A.; Medeiros, M. M.; Vicente, B.A.; Thredex, A. Letters. *J.Am.Coll. Cardiol*. 2015; (19): 2152–8.

Ambros, V. The functions of animal microRNAs. *Nature*. 2004; (431): 350–355.

Ballantyne, C.M.; Banach, M.; Mancini, G.B.J.; Lepor, N.E.; Hanselman, J.C.; *et al.* Efficacy and safety of bempedoic acid added to ezetimibe in statin-intolerant patients with hypercholesterolemia: A randomized, placebo-controlled study. *Atherosclerosis*. 2018; (277): 195– 203.

Banerjee, P.; Chan, K-C.; Tarabocchia, M.; Benito-Vicente, A.; Ana, C.; Alves, C.A.; *et al.* Functional Analysis of LDLR (Low-Density Lipoprotein Receptor) Variants in Patient With Lymphocytes to Assess the Effect of Evinacumab in Homozygous Familial Hypercholesterolemia Patients With a Spectrum of LDLR Activity *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2019; (39): 2248–2260.

Barchuk, M.; Schreier, L.; Lopez, G.; Cevey, A.; Baldi, J.; *et al.* Glycosylphosphatidylinositol-anchored high-density lipoprotein-binding protein 1 and angiopoietin-like protein 4 are associated with the increase of lipoprotein lipase activity in epicardial adipose tissue from diabetic patients. *Atherosclerosis*. 2019; (288): 51–59.

Bays, H. Ezetimiba. *Expert Opin Investing Drugs*. 2008; (11): 1587–1604.

Benn, M.; Watts, F.G.; Tybjærg-Hansen, A.; Nordestgaard, G.B. Mutations causative familial hypercholesterolaemia: Screening of 98 098 individuals from the Copenhagen General Population Study estimated a prevalence of 1 in 217 *European Heart Journal* 2016; (37): 1384–1394.

Benito-Vicente, A.; Uribe, B.K.; Jebari, S.; Galicia-Garcia, U.; Ostolasa, H. Validation of LDLr Activity as a Tool to Improve Genetic Diagnosis of familial Hypercholesterolemia: A Retrospective on Functional Characterization of LDRr Variants. *International Journal of Molecular Sciences*. 2018 (19): 1676–1694.

- Besseling, J.; Kastelein, J.J.; Defesche, J.C.; Hutten, B.A.; Hovingh, G.K. Association between familial hypercholesterolemia and prevalence of type 2 diabetes mellitus. *JAMA*. 2015; (10): 1029–36.
- Bettors, J.L. and Yu, L. NPC1L1 and cholesterol transport. *FEBS Lett*. 2010; (584): 2740–2747.
- Bhatnagar, D.; Morgan, J.; Siddiq, S.; Mackness, M.I.; Miller, J.P.; Durrington, P.N. Outcome of case finding among relatives of patients with known heterozygous familial hypercholesterolaemia. *BMJ*. 2000; (7275): 1–5.
- Bjelakovic, B.; Stefanutti, C.; Pisciotta, L.; Watts, G. R.; Bejiqi, R. Homozygous familial hypercholesterolaemia in childhood. The first case report in Southeast Europe. *Atherosclerosis*. 2019; (40): 122–124.
- Blanchard, V.; Khantalín, I.; Ramin-Mangata; Chémello, K.; Nativel, B.; *et al.* PCSK9: from biology to clinical applications. *Pathology*. 2019; (51): 177– 183.
- Bourbon, M.; Alves, C.A.; Medeiros, M. Estudo Português de Hipercolesterolemia familiar, do caso índice ao screening em cascata. *Fatores de Risco Soc. Port. Cardio*. 2010; (28): 21–25.
- Bourbon, M.; Alves, C.A.; Sijbrandsc, J.E. Low-density lipoprotein receptor mutational analysis in diagnosis of familial hypercholesterolemia. *Curr.Opinio Lipidoly*. 2017; (28): 120–129.
- Bourbon, M.; Rato Q. Estudo Português Hipercolesterolemia Familiar: Apresentação do Estudo e de Resultados Preliminares. *Rev. Port. Cardiol*. 2006; (11): 999–1013.
- Brown, S.M. and Goldstein, L.J. Familial Hicholestrolemia: Defective Binding Lipoproteins to Cultured Fibroblasts associated with Impaired Regulation of 3-Hydroxy-3-Methylglutaryl Coenzyme A Redutase 1Activity. *Proceeding of the National Academy of Science USA*. 1974; (71): 788–792.
- Carvalho-Fontes, R; Silva, M.P. Rodrigues, E.; Araújo, R.; Gavina C.; Ferreira J. Practical guide for the use of PCSK9 inhibitors in Portugal. *Rev. Port. Cardiol*. 2019; (38): 391–405.
- Cesaro, A.; Schiavoia, A.; Moscarellaa, E.; Coletta, S.; Contea, M. *et al.* Lipoprotein(a): a genetic marker for cardiovascular and target for emerging therapies. *Italian Federation of Cardiology*. 2020; (11): 1558–2027.
- Chalasaní, N.; Aljadhey, H.; Kesterson, J.; Murray, M.D.; Hall, S.D. Patients with elevated liver enzymes are not at higher risk for statin hepatotoxicity. *Gastroenterology*. 2004; (126): 1287–1292.
- Civeira, F. International Panel on Management of Familial Hypercholesterolemia. Guidelines for the diagnosis and management of heterozygous familial hypercholesterolemia. *Atherosclerosis*. 2004; (173): 55–68.
- Cohen, J.; Pertsemídis, A.; Kotowski, I.K.; Graham, R.; Garcia, C.K.; Hobbs, H.H. Low LDL cholesterol in individuals of African descent resulting from frequent nonsense mutations in PCSK9. *Nat. Genet*. 2005; (2): 161–165.
- Compêndio de Prémios Nobel em Fisiologia e Medicina, 1901–2005.

Cooper, M. and Hausman, G. *The Cell. A Molecular Approach*. Chapter 15- The Plasma Membrane, 528-533. 8th Edition; 2018. Oxford New York Press USA.

Cuchel, M.; Bruckert, E.; Ginsberg, N.H.; Raal, J.F.; Santos D.R.; *et al.* Homozygous familial hypercholesterolaemia: new insights and guidance for clinicians to improve detection and clinical management. A position paper from the Consensus Panel on Familial Hypercholesterolaemia of the European Atherosclerosis Society. *European Heart Journal*. 2014; (35): 2146–2157.

D’Erasmus, L.; Minicocci I.; Nicolucci A.; Pintus P.; Roeter E.J. *et al.* Autosomal Recessive Hypercholesterolemia Long-Term Cardiovascular Outcomes. *J Am Coll Cardiol*. 2018; (3): 279-288.

Damgaard, D.; Larsen, M.L.; Nissen, P.H.; Jensen, J.M.; Jensen, H.K.; *et al.* The relationship of molecular genetic to clinical diagnosis of familial hypercholesterolemia in a Danish population. *Atherosclerosis*. 2005; (1): 155–60.

Davies, P.F. Flow-mediated endothelial mechanotransduction. *Physiol. Rev.* 1995; (75): 519–560.

De Backer, G.G. Food supplements with red yeast rice: more regulations are needed. *Eur J Prev Cardiol*. 2017; (24): 1429–1430.

Doonan, L.M.; Fisher, E.A.; Brodsky, J.L. Can modulators of apolipoproteinB biogenesis serve as an alternate target for cholesterol-lowering drugs? *BBA Mol. Cell Biol. Lipids*. 2018; (186): 762–771.

Eden, E.R.; Naoumova, R.P.; Burden J.J.; *et al.*: Use of homozygosity mapping to identify a region on chromosome 1 bearing a defective gene that causes autosomal recessive homozygous hypercholesterolemia in two unrelated families. *American Journal of Human Genetics*. 2001; (68): 653–60.

Estruch, R.; Ros E.; Salas-Salvado J.; Covas M.I.; Corella D.; Aros, F.; *et al.* Primary prevention of cardiovascular disease with a Mediterranean diet. *N. Engl. J. Med*. 2013; (368): 1279–90.

Ettxebarria, A.; Benito-Vicente, A.; Alves, A.C.; Ostolaza, H.; Bourbon, M.; Martin, C. Advantages and versatility of fluorescence-based methodology to characterize the functionality of LDLR and class mutation assignment *PLoS One*. 2014; (11): e112677.

Ference, B.A.; Cannon, C.P.; Landmesser, U.; Luscher, T.F.; Catapano, L.A.; Ray, K.K. Reduction of low density lipoprotein-cholesterol and cardiovascular events with proprotein convertase subtilisin-kexin type 9 (PCSK9) inhibitors and statins: an analysis of FOURIER SPIRE, and the Cholesterol Treatment Trialists Collaboration. *Eur Heart J*. 2018; (39): 2540–2545.

Ference, B.A.; Ginsberg, H.N.; Graham, I.; Ray, K.K.; Packard, C.J.; *et al.* Low-density lipoproteins cause atherosclerotic cardiovascular disease. Evidence from genetic, epidemiologic, and clinical studies. A consensus statement from the European Atherosclerosis Society Consensus Panel. *Eur. Heart J*. 2017; (38): 2459–2472.

- Ferreira, M.A. Curso de Atualização em Medicina Cardiovascular. Dislipidemia, 2019.
- Foltz, I.N.; Karow M; Wasserman, S.M. Evolution and emergence of therapeutic monoclonal antibodies: what cardiologists need to know. *Circulation* 2013; (22): 2222–2230.
- Ford, I.; Murray, H.; McCowan, C.; Packard, C.J. Long-term safety and efficacy of lowering low-density lipoprotein cholesterol with statin therapy: 20-year follow-up of West of Scotland Coronary Prevention Study. *Circulation*. 2016; (133): 1073–1080.
- Galkina, E. and Ley, K. Vascular adhesion molecules in atherosclerosis. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2007; (27): 2292–2301.
- Ganesan, L.P.; Mates, J.M.; Cheplowitz, A.M.; Avila, C.L.; Zimmerer, J.M.; *et al.* Scavenger receptor B1, the HDL receptor, is expressed abundantly in liver sinusoidal endothelial cells. *Sci. Rep.* 2016, (6), 20646.
- Garcia, C.K.; Wilund, K.; Arca, M.; Zuliani, G.; Fellin, R. *et al.*: Autosomal recessive hypercholesterolemia caused by mutations in a putative LDL receptor adaptor protein. *Science* 2001; (292): 1394–8.
- Gidding, S.S.; Champagne, A.M.; Ferranti D.S.; Defesche J.; Ito K.M.; *et al.*, The Agenda for Familial Hypercholesterolemia A Scientific Statement From the American Heart Association. *Circulation*. 2015; (132): 2167–2192.
- Wilemon, A. K.; Patel, J.; Aguilar-Salinas, A.C.; Ahmed, D.C.; Alkhneifawi, M. *et al.* Reducing the Clinical and Public Health Burden of Familial Hypercholesterolaemia. A Global Call to Action. *JAMA Cardiology/Special Communication*. 2020; 3–9.
- Gisterå, A. and Hansson K. G. The immunology of atherosclerosis. *Nature Reviews Nephrology* . 2017; (13): 368–380.
- Gylling, H.; Plat, J.; Turley, S.; Ginsberg, H.N.; Ellegard, L.; *et al.* European Atherosclerosis Society Consensus Panel on Phytosterols Plant. Sterols and plant stanols in the management of dyslipidaemia and prevention of cardiovascular disease. *Atherosclerosis*. 2014; (232): 346–360.
- Goedeke, L.; Rotllan, N.; Canfran-Duque, A.; Aranda, J.F.; Ramirez, C.M.; *et al.*, Micro RNA-148a regulates LDL receptor and ABCA1 expression to control circulating lipoprotein levels. *Nat. Med.* 2015; (21): 1280–1289.
- Goldberg, A.C.; Hopkins, P.N.; Toth, P.P.; Ballantyne, C.M.; Rader, D.J.; Robinson, J.G.; *et al.* Familial hypercholesterolemia: screening, diagnosis and management of pediatric and adult patients: clinical guidance from the National Lipid Association Expert Panel on Familial Hypercholesterolemia. *J Clin Lipidol.* 2011; (3): 1–8.
- Goldberg, A.C.; Leiter, L.A.; Stroes, E.S.G.; Baum, S.J.; Hanselman, J.C.; *et al.* Effect of Bempedoic Acid vs Placebo Added to Maximally Tolerated Statins on Low-Density Lipoprotein Cholesterol in Patients at High Risk for Cardiovascular Disease: The CLEAR Wisdom Randomized Clinical Trial. *JAMA*. 2019; (18):1780–1788.
- Saeed, A. and Ballantyne, C.M. Bempedoic Acid (ETC-1002): A Current Review. *Cardiol. Clin.* 2018; (2): 257–264.

- Goldstein, J.L. and Brown, M.S. The LDL Receptor. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2009; (29): 431–438.
- Greco, F.M.; Sirtori, R.C.; Corsini, A.; Ezhov, M.; Sanpietro, T. Lipoprotein(a): Lowering-From Lipoprotein Apheresis to Antisense Oligonucleotide Approach. *J. Clin. Med.* 2020 (9): 2103–2126.
- Harada, K.; Miyamoto, Y.; Morisaki, H.; *et al.*: A novel Thr56Met mutation of the autosomal recessive hypercholesterolemia gene associated with hypercholesterolemia. *Journal of atherosclerosis and thrombosis.* 2010; (17): 131–424.
- Hartley, L.; May M.D.; Loveman E.; Colquitt, J.L.; Rees, K. Dietary fibre for the primary prevention of cardiovascular disease. *Cochrane Database Syst. Rev.* 2016; (1): 11472.
- Hunter, P.M. and Hegele, R.A. Functional foods and dietary supplements for the management of dyslipidaemia. *Nat Rev Endocrinol.* 2017; (13): 278–288.
- Hussain, M.M. Intestinal lipid absorption and lipoprotein formation. *Curr. Opin. Lipidol.* 2014; (25): 200–206.
- Jacobson, T.A.; Glickstein, S.B.; Rowe, J.D.; Soni, P.N. Effects of eicosapentaenoic acid and docosahexaenoic acid on low-density lipoprotein cholesterol and other lipids: a review. *J Clin Lipidol.* 2012; (6): 5–18.
- Jeong, H.J.H. S.; Lee, K.S.; Kim, Y.K.; Kim, D. Yoon, S.W. Park Sterol-dependent regulation of proprotein convertase subtilisin. kexin type 9 expression by sterol-regulatory element binding protein-2. *Journal of Lipid Research.* 2008; (2): 399–409.
- Julius, U. Current Role of Lipoprotein Apheresis in the Treatment of High-Risk Patients. *J. Cardiovasc. Dev. Dis.* 2018; (5): 27.
- Julve, J; Martín-Campos, J.M.; Escolà-Gil, J.C.; Blanco-Vaca, F. Chylomicrons: Advances in biology, pathology, laboratory testing, and therapeutics. *Clin. Chim. Acta.* 2016; (455): 134–148.
- Kasichayanula, S.; Grover, A.; Emery, M.G.; Gibbs, M.A.; Somaratne, R.; *et al.* Clinical Pharmacokinetics and Pharmacodynamics of Evolocumab, a PCSK9 Inhibitor. *Clin. Pharmacokinet.* 2018; (5): 4–11.
- Keating, A.J.; Campbell K.B.; Guyton, J.R. Intermittent nondaily dosing strategies in patients with previous statin-induced myopathy. *Ann. Pharmacother.* 2013; (47): 398–404.
- Khan, Z.T.S.R.; Bornstein, R.S.; Barbir, M. Lipoprotein(a): the underutilized risk factor for cardiovascular disease. *Cardiology Science and Practice.* 2019; (19): 1–11.
- Klingel, R.; Heibges, A.; Fassbender, C. Lipoprotein(a) and mortality—a high risk relationship. *Clin Res Cardiol.* 2019; (14): 13–19.
- Kotowski, I.K.; Pertsemlidis, A.; Luke, A.; Cooper, R.S.; Veja, G.L.; Cohen, J.C.; *et al.* A spectrum of PCSK9 alleles contributes to plasma levels of low-density lipoprotein cholesterol. *Am J Hum Genet.* 2006; (3): 410–422.

- Laufs, U.; Banach, M.; Mancini, G.B.J.; Gaudet, D.; Bloedon, L.T.; *et al.* E.S.G. Efficacy and Safety of Bempedoic Acid in Patients with Hypercholesterolemia and Statin Intolerance. *J. Am. Heart Assoc.* 2019; (7): e011662.
- Law, M. and Rudnicka, A.R. Statin safety: a systematic review. *Am J Cardiol.* 2006; (97): 52–60.
- Lázaro, P.; Isla, P.L.; Watts, F.G.; Alonso, R.; Norman, R. Cost-effectiveness of a cascade screening program for the early detection of familial hypercholesterolemia. *Journal of Clinical Lipidology.* 2017; (11): 260–271.
- Leung, Y.S.S.; Stark, K.D.; Thanassoulis, G.; Pilote, L. Fish consumption and acute coronary syndrome: A meta-analysis. *Am. J. Med.* 2014; (127): 848–57.
- Li Y.; Jiang L.; Jia Z.; Xin W.; Yang S.; *et al.* A meta-analysis of red yeast rice: An effective and relatively safe alternative approach for dyslipidemia. *PLoS One.* 2014; (9): 98611.
- Libby P. Role of inflammation in atherosclerosis associated with rheumatoid arthritis. *Am J Med.* 2008;(10): 21-31.
- Libby, P.; Ridker, M.P.; Hasson, K.G. Progress and challenges in translating the biology of atherosclerosis. *Nature* 2011; (473): 317–325.
- Mach, F.; Ray, K.K.; Wiklund, O.; Corsini, A.; Catapano, L.A.; *et al.* Europe an Atherosclerosis Society Consensus Panel. Adverse effects of statin therapy: perception vs. the evidence - focus on glucose homeostasis, cognitive, renal and hepatic function, haemorrhagic stroke and cataract. *Eur. Heart Journal.* 2018; (39): 2526–2539.
- Mach, F.; Baigent, C.; Catapano, L.A.; Koskinas, C.K.; Casula, M.; *et al.* Guidelines for the management of dyslipidaemias: lipid modification to reduce cardiovascular risk, ESC/EAS. The Task Force for the management of dyslipidaemias of the European Society of Cardiology (ESC) and European Atherosclerosis Society (EAS). *Eur. Heart Journal* 2019; (00): 1–78.
- Mahmood, T. and Shapiro, D.M. Future Role of Proprotein Convertase Subtilisin/Kexin Type 9 Inhibitors in Preventive Cardiology. *Current Opinion Cardiology.* 2019; (34): 268–275.
- Marques da Silva, P. and Cardoso M.S. Persistent lipid abnormalities in patients treated with statins: Portuguese results of the Dyslipidemia International Study (DYSIS). *Rev Port Cardiol.* 2011; (1): 47-63.
- Marques da Silva, P. Metabolismo lipídico e diagnóstico das dislipidemias primárias. *Rev. Fatores de Risco.* 2015; (38): 10-25.
- Marques da Silva, P. Associação entre a hipercolesterolemia familiar e a prevalência de Diabetes Mellitus. *Rev. Port. Cardiol.* 2015; (3): 2-5.
- Marques da Silva, P.; Aguiar, C.; Morais, J. Suboptimal lipid levels in clinical practice among portuguese adults with dyslipidemia under lipid-lowering therapy: Data from the DISGEN-LIPID study. *Rev. Port. Cardiol.* 2019; (8): 559-569.

- Mariano, C.; Alves, A.C.; Medeiros, A.; Chora, J.R.; Futema, A. M H.; Bourbon M. The FH Phenotype: Monogenic Familial Hypercholesterolaemia, Polygenic Hypercholesterolaemia and other causes. Up to Date, in press.
- Mas, R.; Castano, G.; Inait, J.I.; Fernandez, L.; Fernandez, J.; *et al.*, Effects of policosanol in patients with type II hypercholesterolemia and additional coronary risk factors. *Clin Pharmacol Ther.* 1999; (65): 439–447.
- Mata, P.; Alonso, R.; Jimenez, P.F. Screening for Familial Hypercholesterolemia: Model for Preventive Medicine. *Rev. Esp. Cardiol.* 2014; (67): 685–688.
- Medeiros, A.M.; Alves, A.C.; Bourbon, M. Mutational analysis of a cohort with clinical diagnosis of familial hypercholesterolemia: considerations for genetic diagnosis improvement. *Genet Med.* 2016; (18): 316–24.
- Medeiros, M.A.; Alves, C.A.; Chora R.J.; Bourbon, M. Portuguese familial hypercholesterolaemia study. *Artigos Breves nº3. INSA Observações Boletim-Epidemiologico.* 2017; (3): 15–18.
- Mello, S.A.; Aguiar, C.; Duarte, S.J.; Couto, L.; Veríssimo, T.M.; Silva, M.P. CODAP: um consenso multidisciplinar sobre a definição, diagnóstico e tratamento da dislipidemia aterogénica em Portugal. *Rev Port Cardiol.* 2019; (8): 531–542.
- Midzak, A.; Papadopoulos, V.; Binding domain-driven intracellular trafficking of sterols for synthesis of steroid hormones, bile acids and oxysterols. *Traffic.* 2014; (15): 895–914.
- Moore, K.J.; Freeman, M.W. Scavenger receptors in atherosclerosis: Beyond lipid uptake. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2006; (26): 1702–1711.
- Moriarty, M.P. and Hemphill, L. Lipoprotein Apheresis. *Cardiol. Clin.* 2015; (33): 197-208.
- Morrone, D.; Weintraub, W.S.; Toth, P.P.; Hanson, M.E.; Lowe R.S.; *et al.* Lipid-altering efficacy of ezetimibe plus statin and statin monotherapy and identification of factors associated with treatment response: a pooled analysis of over 21,000 subjects from 27 clinical trials. *Atherosclerosis.* 2012; (223): 251–261.
- Mozaffarian, D.; Lemaitre, R.N.; King, I.B.; Song, X.; Huang, H.; *et al.* Plasma phospholipid long-chain omega-3 fatty acids and total and cause-specific mortality in older adults: a cohort study. *Ann Intern Med.* 2013; (158): 515–525.
- Myant, N.B. Familial defective apolipoprotein B-100. A review, including some comparisons with familial hypercholesterolaemia. *Atherosclerosis* 1993; (104): 1–18.
- Musa-Veloso, K.; Poon, T.H.; Elliot, J.A.; Chung, C. A comparison of the LDLcholesterol lowering efficacy of plant stanols and plant sterols over a continuous dose range: results of a meta-analysis-analysis of randomized, placebo-controlled trials. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids.* 2011; (85): 9–28.
- Nair, P. Brown and Goldstein: The Cholesterol Chronicles. *PNAS* 2013; (37): 14829–14832.
- Nestel P. Lipoprotein(a) Removal Still a Mystery. *J Am Heart Assoc.* 2019; (8): e 011903.

Nishikido, T. and Ray, K. Non-antibody Approaches to Proprotein Convertase Subtilisin Kexin 9 Inhibition: siRNA, Antisense Oligonucleotides, Adnectins, Vaccination, and New Attempts at Small-Molecule Inhibitors Based on *New Discoveries*. 2019; (5): 1–17.

Nissen, S.E.; Stroes, E.; Dent-Acosta, R.E.; Rosenson R.S.; Lehman S.J.; *et al.* Gauss-3 Investigators. Efficacy and tolerability of evolocumab vs ezetimibe in patients with musclerelated statin intolerance: the GAUSS-3 randomized clinical trial. *JAMA*. 2016; (315): 1580–1590.

Nordestgaard, G.B.; Chapman, J.M.; Humphries, E.S.; Ginsberg, N.H.; Masana, L.; *et al.* Familial hypercholesterolaemia is underdiagnosed and undertreated in the general population: heart disease guidance for clinicians to prevent coronary. *European Heart Journal* 2013; (34): 3478–3490.

Nordestgaard, B.G.; Langsted, A. Lipoprotein (a) as a cause of cardiovascular disease: insights from epidemiology, genetics, and biology. *J Lipid Research*. 2016; (57): 1953–1975.

Oesterle, A.; Laufs, U.; Liao, J.K. Pleiotropic effects of statins on the cardiovascular system. *Res. Circ* 2017; (120): 229–243.

Olivecrona, G. Role of lipoprotein lipase in lipid metabolism. *Curr. Opin. Lipidol*. 2016; (27): 233–241.

Oude, R.P E. and Groen, A. Mechanisms of biliary lipid secretion and their role in lipid homeostasis. *Semin. Liver Dis*. 2000; (20): 293–305.

Pandor, A.; Ara, R.M.; Tumur, I.; Wilkinson, A.J.; Paisley, S. *et al.* Ezetimibe monotherapy for cholesterol lowering in 2,722 people: systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *J Intern Med*. 2009; (265): 568–580.

Pasta, A.; Cremonini, L.A.; Pisciotta, L.; Buscaglia, A.; Porto, I.; Barra, F. *et al.*, PCSK9 inhibitors for treating hypercholesterolemia. *Expert Opinion on Pharmacotherapy* 2020; (3): 368–535.

Pedersen, T.R. Pleiotropic effects of statins: evidence against benefits beyond LDLcholesterol lowering. *Am J Cardiovasc Drugs*. 2010; (10): 10–17.

Phan, B.A.; Dayspring, T.D.; Toth, P.P. Ezetimibe therapy: mechanism of action and clinical update. *Vasc Health Risk Manag*. 2012; (8): 415–427.

Pirillo, A.; Catapano, L.A.; Norata, G.D. Niemann-Pick C1-Like 1 (NPC1L1) inhibition and cardiovascular diseases. *Curr Med Chem*. 2016; (23): 983–999.

Pirro, M.; Vetrani, C.; Bianchi, C.; Mannarino, M.R.; Bernini, F.; Rivellese, A.A. Joint position statement on, Nutraceuticals for the treatment of hypercholesterolemia. of the Italian Society of Diabetology (SID) and of the Italian Society for the Study of Arteriosclerosis (SISA). *Nutr Metab Cardiovasc Dis*. 2017; (27): 2–17.

Poli, A.; Marangoni, F.; Paoletti, R.; Mannarino, E.; Lupattelli, G.; *et al.* Nutrition Foundation of Italy. Non-pharmacological control of plasma cholesterol levels. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*. 2008; (18): 1–16.

- Raal, F.J.; Hovingh, K.G.; Blom, D.; Santos, D.R.; Harada-Shiba, M.; *et al.* Long term treatment with evolocumab added to conventional drug therapy, with or without apheresis, in patients with homozygous familial hypercholesterolaemia: an interim subset analysis of the open-label TAUSSIG study. *Lancet Diabetes endocrinology*. 2017; (4): 280–290.
- Raal, F.J.; Hovingh, K.G.; Catapano, L.A. Familial Hypercholesterolemia treatments: Guidelines and new therapies. *Atherosclerosis*. 2018; (277): 483–492.
- Raal, F.J.; Santos, R. Homozygous familial hypercholesterolemia: Current perspectives on diagnosis and treatment. *Atherosclerosis*. 2012; (223): 262–268.
- Raal, F.J.; Kallend, D.; Ray, K.K.; Turner, T.; Koenig, W.; *et al.* Inclisiran for the Treatment of Heterozygous Familial Hypercholesterolemia. *N. Engl. J. Med.* 2020; (16): 1520–1530.
- Ramasamy, I. Review Update on the laboratory investigation of dyslipidemias. *Clínica Chimica Acta*. 2018; (479): 103–125.
- Ramasamy, I. Recent advances in physiological lipoprotein metabolism. *Clin Chem Lab Med*. 2014; (12): 1695–1727.
- Ramaswamia, U.; Futema, B.M.; Bogsrudc, P.M.; Holvenc, B.K.; Lennepf, R.J.; *et al.* Comparison of the characteristics at diagnosis and treatment of children with heterozygous familial (FH) from eight European countries. *Atherosclerosis*. 2020; (292): 178–187.
- Ray, K.K.; Bays, H.E.; Catapano, L.A.; Lalwani, N.D.; Bloedon, L.T.; *et al.* Safety and Efficacy of Bempedoic Acid to Reduce LDL Cholesterol. *N. Engl. J. Med.* 2019; (11): 1022–1032.
- Rawther, T. and Tabet, F. Biology, pathophysiology and current therapies that affect lipoprotein (a) levels. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*. 2019; (131): 1–11.
- Remmeriea, A. and Scotta, L.C. Macrophages and lipid metabolism *Cellular Immunology*. 2018; (330): 27–4.
- Reiner, Z. Resistance and intolerance to statins. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*. 2014; (24): 1057–1066.
- Reiner, Z.; Tedeschi-Reiner, E.; Romic, Z. Effects of rice policosanol on sérum lipoproteins, homocysteine, fibrinogen and C-reactive protein in hypercholesterolaemic patients. *Clin Drug Investig*. 2005; (25): 701–707.
- Relatório de Atividades do Serviço de Nefrologia, 2018.
- Rephata – Product – Information. [Em linha] Lisboa. 2015. [Consul. 15 out. 2020]. Disponível em: https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/repatha-epar-product-information_pt.pdf.
- Ridker, P.M.; Everett, B.M.; Thuren, T.; MacFadyen, J.G.; Chang, W.H.; Ballantyne C. CANTOS Trial Group. Antiinflammatory therapy with canakinumab for atherosclerotic disease. Group. *N Engl J Med*. 2017; (377): 1119–1131.
- Rivellese, A.A.; Maffettone, A.; Vessby, B.; Uusitupa, M.; Hermansen, K.; *et al.*, Effects of dietary saturated, monounsaturated and n-3 fatty acids on fasting lipoproteins, LDL size and post-prandial lipid metabolism in healthy subjects. *Atherosclerosis*. 2003; (167): 149–158.

Rossebo, A.B.; Pedersen T.R.; Boman K.; Brudi P.; Chambers, J.B.*et al.* Intensive lipid lowering with simvastatin and ezetimibe in aortic stenosis. *N Engl J Med.* 2008; (359): 1343-1356.

Ruscica, M.; Lale Tokgözoğlub, L.; Corsinia, A.; Sortori, R.C. PCSK9 inhibition and inflammation: A narrative review *Atherosclerosis.* 2019; (288) 146-155.

Russell, D.W. The Enzymes, Regulation, and Genetics of Bile Acid Synthesis. *Annu. Rev. Biochem.* 2003; (72): 137-174.

Sá Oliveira, H. A Propósito da Expansão do Mercado Europeu de Produtos Biofarmacêuticos Similares Contendo Eritropoietina Recombinante. *Jornal de Encontro Renal.* 2009 pág.08.

Sacks, F.M.; Lichtenstein, A.H.; Wu, J.H.Y.; Appel L.J.; Creager, M.A.; *et al.*, Dietary fats and cardiovascular disease: a presidential advisory from the American Heart Association. *Circulation.* 2017; (136): 1-23.

Saeed, A. and Ballantyne, C.M. Bempedoic Acid (ETC-1002): A Current Review. *Cardiol. Clin.* 2018; (2): 257–268.

Santos, D.R.; Bourbon, M., Rodrigo Alonso R. Clinical and molecular aspects of familial hypercholesterolemia in Ibero-American countries *Journal of Clinical Lipidology.* 2017; (11): 160-166.

Santos, D.R. Phenotype vs. genotype in severe familial hypercholesterolemia. *Curr Opin Lipidol.* 2017; (28): 130-135.

Santos, D.R.; Gidding, S.S.; Hegele, R.A.; Cuchel, A.M.; Barter, P. J. Defining severe familial hypercholesterolaemia and the implications for clinical management: a consensus statement from the International Atherosclerosis Society Severe Familial Hypercholesterolemia Panel. *Lancet Diabetes-Endocrinol.* 2016; (16): 30041-9.

Seidah, G.N. The PCSK9 revolution and the potential of PCSK9-based therapies to reduce LDL-cholesterol. *Glob Cardiol Sci Pract .* 2017; (1): e201702.

Shah, P.N.; Ahmed, M.H.; Tang, W.W.H. Familial hypercholesterolemia: Detect, treat, and ask about family. *Cleveland Clinic Journal of Medicine.* 2020; (87): 109-120.

Shapiro, D.M. and Fazio, S. PCSK9 and Atherosclerosis - Lipids and Beyond. *J Atheroscler Thromb,* 2017; (24): 462-472.

Sharp Collaborative Group. Study of Heart and Renal Protection (SHARP): randomized trial to assess the effects of lowering low-density lipoprotein cholesterol among 9,438 patients with chronic kidney disease. *Am Heart J.* 2010; (160): 785– 794e10.

Shimada, J.Y.; Christopher, P.; Cannon, P.C. PCSK9 (Proprotein convertase subtilisin/kexin type 9) inhibitors: past, present, and the future. *European Heart Journal* 2015; (36): 2415–2424

Sniderman, D.A.; Tsimikas, S.; Fazio, S. The Severe Hypercholesterolemia Phenotype Clinical Diagnosis, Management, and Emerging Therapies. *J.Am. Coll. Card. Journal.* 2014; (19): 1935-47.

- Stefanutti, C. and Julius U. Lipoprotein apheresis: State of the art and novelties. *Atheroscler.* 2013; (1): 19-27.
- Stefanutti, C. and Thompson, G. Lipoprotein Apheresis in the Management of Familial Hypercholesterolaemia: Historical Perspective and Recent Advances. *Curr. Atheroscler. Rep.* 2015; (1): 465.
- Stefanutti, C. and Zenti, G.M. Lipoprotein Apheresis and PCSK9-Inhibitors. Impact on Atherogenic Lipoproteins and Anti-Inflammatory Mediators in Familial Hypercholesterolaemia. *Current Pharmaceutical Design*, 2018; (24): 3634-3637.
- Stefanutti, C.; Julius, U.; Watts, F.G.; Harada-Shiba Cossu, M.; *et.al.* Toward an international consensus-Integrating lipoprotein apheresis and new lipid-lowering drugs. *Journal of Clinical Lipidology*. 2017; (11): 858–871.
- Stein, R.; Ferrari1, F.; Scolari1, F. Genetics Dyslipidemia, and Cardiovascular Disease: New Insights. *Current Cardiology Reports*.2019; (68): 1-13.
- Ström, T.B.; Laerdahl, J.K.; Leren, T.P. Mutation p.L799R in the LDLR, which affects of the mutant LDLR. *Hum Mol Genet.* 2015; (24); 5836–5844.
- Ström, T.B.; Tveten, K.; Holla, O.L.; Cameron, J.; Berge, K.E.; Leren, T.P. The cytoplasmic domain is not involved in directing Class 5 mutant LDL receptors to lysosomal degradation. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2011; (408): 642–646.
- Ström, T.B.; Tveten, K.; Laerdahl, J.K.; Leren, T.P. Mutation G805R in the transmembrane domain of the LDL receptor gene causes familial hypercholesterolemia by inducing ectodomain cleavage of the LDL receptor in the endoplasmic reticulum. *FEBS Open Bio.* 2014; (4): 321–327.
- Sturm C.A.; Knowles J. W.; Gidding S. S.; Ahmad S. Z.; Ahmed D. C., *et al.* Clinical Genetic Testing for Familial Hypercholesterolemia. *J.Am.Coll.Card. Journal* 2018; (6): 662-80.
- Szarek, M.; DiCenso, D.; Bhatt, D.; Budaj D. Alirocumab Reduces Total Hospitalizations and Increases Days Alive and Out of Hospital in the ODYSSEY OUTCOMES Trial. *Circulation Cardiovascular Quality and Outcomes*, 2019.
- Tai, D.Y.; Pan, J.P.; Lee-Chen, G.J. Identification and haplotype analysis of apolipoprotein B-100 Arg3500 → Trp mutation in hyperlipidemic Chinese. *Clinical chemistry* 1998; (44): 1659-65.
- Talmud, P.J.; Futema, M.; Humphries, S.E. The genetic architecture of the familial hyperlipidaemia syndromes: Rare mutations and common variants in multiple genes. *Curr. Opin. Lipidol.* 2014; (25): 274–281.
- Thompson, G. and Parhofer, K.G. Current Role of Lipoprotein Apheresis. *Current Atherosclerosis Reports*. 2019; 21-26.
- Thompson, R.G.; Catapano, L.A.; Saheb, S.; Atassi-Dumont, M.; Barbird, M.; *et al.* Severe hypercholesterolaemia: therapeutic goals and eligibility criteria for LDL apheresis in Europe. *Current Opinion in Lipidology* 2010; (6): 492-8.

Tiwari, S. and Siddiqi, S.A. Intracellular trafficking and secretion of VLDL. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2012; (32): 1079–1086.

Thomas, N. *Enfermagem em Nefrologia*. Editora Lusociência. 2003; 85–87.

Tsimikas, S. and Hall, L.J. Lipoprotein(a) as a Potential Causal Genetic Risk Factor of Cardiovascular Disease. *J Am Coll Cardiol* 2012; (60): 716–21.

Vallejo-Vaz; J.A., Marcoa, M.; Stevens, A.T.C.; Akramb A, Freibergerc T.; *et al.* Overview of the current status of familial hypercholesterolaemia care in over 60 countries. *Atherosclerosis* 2018; (277): 234–255.

van der Valk, F.M.; Bekkering, S.; Kroon, J.; Yeang, C.; Van den Bossche, J.; *et al.* Oxidized phospholipids on lipoprotein(a) elicit arterial wall inflammation and an inflammatory monocyte response in humans. *Circulation*. 2016; (134): 611–624.

Wang, S.; Mao, Y.; Narimatsu, Y.; Ye, Z.; Tian, W. *et al.* Site-specific O-glycosylation of members of the low-density lipoprotein receptor superfamily enhances ligand interactions. *J. Biol. Chem.* 2018; (293): 7408–7422.

Wang, S.; Smith, J.D. ABCA1 and nascent HDL biogenesis. *BioFactors* 2014; (40): 547–554.

Wang, T.J. Vitamin D and Cardiovascular Disease. *Annu. Rev. Med.* 2016; (67): 261–272.

Warden, A.B.; Fazio, S.; Shapiro, D.I.M.; Parhofer, G.K. The PCSK9 revolution: Current status, controversies, and future directions *Trends in Cardiovascular Medicine* 2019; (3): 179-185.

Waters, D.D.; Ho J.E.; Boekholdt, S.M.; DeMicco, D.A.; Kastelein J.J.; *et al.* Cardiovascular event reduction versus new-onset diabetes during atorvastatin therapy: effect of baseline risk factors for diabetes. *J Am Coll Cardiol.* 2013; (6): 148–152.

Watts, G.F.; Gidding, S.; Wierzbicki, A.S.; Toth, P.P.; Alonso, R. *et al.* Integrated guidance on the care of familial hypercholesterolaemia from the International FH Foundation: executive summary. *J. Atheroscler Thromb.* 2014; (4): 368-74.

Watts, G.F.; Gidding, S.S.; Mata P.; Pang J.; Sullivan R.D. *et al.* Familial hypercholesterolaemia: evolving knowledge for designing adaptive models of care. *Nature Reviews Cardiol.* 2020; (17): 360-377.

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. *J Am Coll Cardiol.* 1993; (72): 171-6.

Yang, R.; Humphrey S., Review of arteriovenous fistula care in *EDTNA-ERCA Journal*. 2000; (1): 11-14.

Yaroustovsky, M.; Abramyan, M.; Rogalskaya, E.; Komardina, E. The use of lipoprotein apheresis for the treatment of high-risk patients with elevated lipoprotein(a) and protection against coronary heart disease. *N Engl J Med* 2006; (354): 1264–72.

Yoo, E. Sitosterolemia: A review and update of pathophysiology, clinical spectrum, diagnosis, and management. *Ann. Pediatr. Endocrinol. Metab.* 2016; (21): 7–14.

Zannis, V.I.; Chroni, A.; Krieger, M. Role of apoA-I, ABCA1, LCAT, and SR-BI in the biogenesis of HDL. *J. Mol. Med.* 2006; (84): 276–294.

Zhang, D.W.; Lagace, T.A.; Garuti, R.; Zhao, Z.; McDonald, M.; *et al.* Binding of proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 to epidermal growth factor-like repeat A of low-density lipoprotein receptor decreases receptor recycling and increases degradation. *J. Biol. Chem.* 2019; (282): 18602–18612.

Zhiqiang, A. Therapeutic monoclonal antibodies. From Bench to clinic. Prime. edicion. Hoboken: *Editorial Wiley*. 2010.

ANEXOS

ANEXO I – Diferentes critérios de diagnóstico clínico

Critérios do Registro de Simon Broome para o diagnóstico de hipercolesterolemia familiar

A. Hipercolesterolemia > 290 mg/dL (> 260 mg/dL se o paciente tem menos de 16 anos de idade) ou LDL-c > 190 mg/dL, mais um dos seguintes itens:

B. Xantomas (no paciente ou em seus familiares de primeiro e de segundo grau).

C. Genética (evidência genética de mutação em algum gene relacionado com HF)

D. História familiar de infarto agudo de miocárdio em familiar de primeiro grau antes dos 60 anos ou em familiar de segundo grau antes dos 50 anos.

E. História familiar de colesterol maior do que 290 mg/dL em familiar de primeiro ou de segundo grau

Interpretação

Critério A + critério B ou C: **diagnóstico definitivo de hipercolesterolemia familiar heterozigótica.**

Critério A + critério D ou E: **diagnóstico provável de hipercolesterolemia familiar heterozigótica.**

Adaptado de Shah *et al.*, 2020.

Critérios da Rede Holandesa de Clínicas Lipídicas para o diagnóstico de hipercolesterolemia familiar

Instruções: some a pontuação mais alta dentro de cada grupo para obter o resultado final.

História familiar

Familiar de primeiro grau com doença coronariana prematura (homens < 55 anos de idade, mulheres < 65 anos) e/ou familiar de primeiro grau com hipercolesterolemia > percentil 95 para idade e gênero no país de origem	1
Familiar de primeiro grau com xantomas tendinosos ou arco senil antes dos 45 anos de idade e/ou familiar < 18 anos com níveis de LDL-c > percentil 95 para idade e gênero no país de origem.	2

Antecedentes pessoais

Paciente com doença coronariana prematura (homens < 55 anos, mulheres < 60 anos).	2
Paciente com doença arterial cerebral ou periférica prematura (homens < 55 anos e mulheres < 60 anos).	1

Exame Físico

Xantomas tendinosos	6
Arco senil antes dos 45 anos.	4

Exames bioquímicos

LDL-c > 330 mg/dL.	8
LDL-c 250-329 mg/dL.	5
LDL-c 190-249 mg/dL.	3
LDL-c 155-189 mg/dL.	1

Estudos Genéticos

Mutação casual nos genes LDL-R, ApoB ou PCSK9.	8
--	---

TOTAL:

Interpretação

> 8 pontos: diagnóstico definitivo.
6 a 8 pontos: diagnóstico provável.
3 a 5 pontos: diagnóstico possível.
Entre 0 e 2 pontos: diagnóstico improvável.

Adaptado de Shah *et al.*, 2020.

Pontos de corte de colesterol e de LDL-c em mg/dL para predizer com 80% de probabilidade a presença de hipercolesterolemia familiar em um indivíduo (MEDPED)

Idade	Familiar mais próximo com HF			Geral	100%
	Primeiro grau	Segundo grau	Terceiro Grau		
Menos de 20 anos	220 (155)	230 (165)	240 (170)	270 (200)	(240)
20-29 anos	240 (170)	250 (180)	260 (185)	290 (220)	(260)
30-39 anos	270 (190)	280 (200)	290 (210)	340 (240)	(280)
40 anos ou mais	290 (205)	300 (215)	310 (225)	360 (260)	(300)

Adaptado de Shah *et al.*, 2020.

ANEXO II – Revisão da acessibilidade dos cuidados de HF em sessenta países.

Table 1 FH diagnostic criteria and availability of therapies in the different countries involved in the EAS FHSC network and some reported data on prevalence of HeFH.						
FH diagnosis criteria commonly used in clinical practice		Availability of therapies for FH apart from statins (at the time of the present article submission) (statin therapy, including high-intensity statins, available in all countries listed)	PCSK9 inhibitors	Lipoprotein apheresis	Some reported specific data on prevalence of HeFH (see text for details and references)	
		Ezetimibe				
AFRICA						
Nigeria	SB	No	No	No	Africaner population: 1:83; South African Indian population: approx. 1:100	
South Africa	Clinical diagnosis, supported by genetic diagnosis for founder mutations in certain ethnic groups	Yes	No	No		
AMERICAS						
Argentina	DLCN	Yes	Yes	Limited (one private centre)	1:291 (FH Detection Program)	
Brazil	DLCN	Yes	Yes	No	1:263 (ELSA Study)	
Canada	Canadian FH definition; DLCN; SB	Yes	Yes	Yes	Up to 1:80 in some areas with founder effects	
Chile	DLCN	Yes	No	No	1:243 (National Health Survey, LDL-C \geq 230 mg/dL)	
Medico	DLCN; SB	Yes	Yes (only private healthcare)	No	1:260 (clinical setting)	
Uruguay	DLCN	Yes	Yes	No	1:314 (endocrinology unit)	
Venezuela	Clinical diagnosis	Limited	No	No		
EASTERN MEDITERRANEAN						
Egypt	DLCN	Yes	Yes	No		
Iran	DLCN	Yes	No	No		
Iraq	DLCN	Yes	No	No		
Kuwait	DLCN	Yes	Yes	No		
Lebanon	MEDPED	Yes	Yes	Yes		
Oman	DLCN	Yes	Yes	Yes		
Qatar	DLCN	Yes	Yes	Yes		
Saudi Arabia	SB	Yes	Yes	Yes		
EUROPE						
Austria	DLCN	Yes	Yes	Yes		
Belgium	DLCN	Yes	Yes	Yes		
Bosnia and Herzegovina	DLCN	No	No	No		
Bulgaria	DLCN	Yes	Yes	No		
Croatia	MEDPED	Yes	Yes	Yes		
Cyprus	TC > 290 mg/dl in adults; LDL-C > 190 mg/dl in adults and tendon xanthomas in patient or 1st/2nd degree relative	Yes	Yes	Yes		
Czech Republic	Modified MEDPED	Yes	Yes	Yes	1:223 clinically; 1:217 genetically (Copenhagen General Population Study)	
Denmark	DLCN; SB	Yes	Yes	Yes	1:440 (North Estonian Medical Centre database)	
Estonia	DLCN	Yes	Yes	Yes	1:500 founder LDLR mutations carriers	
Finland	DLCN	Yes	Yes	Yes	1:278-295 (DETECT Study)	
France	DLCN	Yes	Yes	Yes		
Germany	DLCN; SB	Yes	Yes	Yes		
Greece	DLCN	Yes	Yes	Yes		
Hungary	DLCN	Yes	Yes	Yes		
Ireland	DLCN	Yes	Yes (early access programme only)	No		
Israel	MEDPED	Yes	Yes	Yes	1:355 (regional healthcare database)	

(continued on next page)

Adaptado de Vallejo-Vaz *et al.*, 2018.

Table 1 (continued)

	FH diagnosis criteria commonly used in clinical practice	Availability of therapies for FH apart from statins (at the time of the present article submission) (statin therapy, including high-intensity statins, available in all countries listed)			Some reported specific data on prevalence of HeFH (see text for details and references)
		Ezetimibe	PCSK9 inhibitors	Lipoprotein apheresis	
Italy	DLCN	Yes	Yes	Yes	1:526 (Health Search IMS Health Longitudinal Patient Database)
Kyrgyzstan	DLCN	No	No	No	
Larvia	DLCN; LDL-C 95th percentile in cascade screening for relatives	Yes	Yes	No	
Lithuania	DLCN	Yes	Yes	Yes	
Malta	DLCN	Yes	Only exceptionally	No	1:200-250 (based on studies on HoFH prevalence and primary care)
Netherlands	DLCN	Yes	Yes	Yes	Estimated 1:300
Norway	Genetic testing: if negative, clinical diagnosis DLCN	Yes	Yes	Yes	1:250 (meta-analysis of observational studies in Poland)
Poland	Genetic testing: DLCN	Yes	Yes	Yes	1:147-417 in 2 Siberian regions (Epidemiology of Cardiovascular Risk Factors and Diseases Study)
Portugal	SB	Yes	No	Yes	
Russia	DLCN	Yes	Yes	Yes	
Serbia	DLCN	Yes	Yes	Yes	
Slovakia	DLCN; SB; MEDPED	Yes	Yes	No	
Slovenia	Children: genetic testing; Adults: DLCN	Yes	Yes	Yes	
Spain	DLCN	Yes	Yes	Yes	Genetically confirmed FH in 1:500 children born in 2008
Switzerland	Genetic testing (SAPPHIRE-FH Program); DLCN	Yes	Yes (limited)	No	Estimated 1:300
Turkey	DLCN	Yes	Yes	Yes	1:125-135 overall (APOB pathogenic variants: 1:209; LDLR variants: 1:317)
Ukraine	MEDPED; DLCN	No	Only in trials on HoFH	No	
United Kingdom	SB; DLCN	Yes	Yes	Yes	
Uzbekistan	DLCN	Yes	No	Yes (private clinics)	
SOUTH EAST ASIA AND WESTERN PACIFIC					
Australia	DLCN	Yes	Yes	Yes	1:250-350
China	DLCN; Chinese FH criteria	Yes	No	Yes (limited)	1:357
Hong Kong	DLCN	Yes	Yes	Yes (plasmapheresis)	
India	DLCN; SB	Yes	No	No	
Japan	JAS criteria	Yes	Yes	Yes	
Malaysia	DLCN; SB	Yes	Yes	Yes	
Singapore	SB	Yes	Yes	No	
Taiwan	DLCN; Taiwan FH criteria	Yes	Yes	Yes	Estimated 1:100
Vietnam	DLCN	Yes	No	No	

DETECT: Diabetes Cardiovascular Risk Evaluation: Targets and Essential Data for Commitment of Treatment Study; DLCN: Dutch Lipid Clinics Network criteria; ELISA: Longitudinal Study of Adult Health; FH: familial hypercholesterolaemia; HeFH: heterozygous familial hypercholesterolaemia; HoFH: homozygous familial hypercholesterolaemia; JAS: Japanese Atherosclerosis Society; LDL-C: low-density lipoprotein-cholesterol; MEDPED: "Make Early Diagnosis to Prevent Early Deaths" criteria; PCSK9: proprotein convertase subtilisin/kexin type 9; SAPPHIRE-FH (Swiss Awareness Program for Primary Hypercholesterolemia: Identification of Risk Elevation in Families with High cholesterol); SB: Simon-Broome criteria.

ANEXO III – Vários ensaios clínicos realizados com anticorpos monoclonais inibidores da PCSK9

Nome estudo	Tipo	Desenho	Número pacientes	Duração Semanas	Participação	Resultados
LAPLACE-2	Randomizado duplo cego controlado placebo/Ezitimiba	Evolucomab 2 xs /sem ou 1x /mês em combinação com Estatinas em pacientes com hipercolesterolémia primária e dislipidemia mista	2067	12	Multinacional	Evolucomab associado a estatinas em dose moderada a elevada intensidade origina redução de c-LDL
GAUSS-2	Randomizado duplo cego	Evolucomab 2 xs /sem ou 1x /mês vs Ezitimiba em pacientes adultos com hipercolesterolémia não tolerando doses efetivas com estatinas	307	12	Multicêntrico Multinacional	Evolucomab origina reduções significativas em pacientes hipercolesterolémicos, que não toleram qualquer dose efetiva de pelo menos duas estatinas diferentes
GAUSS-3	Randomizado duplo cego paralelamente ao grupo de estudo	Evolucomab 2 xs /sem ou 1x /mês vs Ezitimiba em pacientes adultos com intolerância às Estatinas devido a efeitos adversos musculares	511	24	Multicêntrico Multinacional	Evolucomab origina reduções significativas do c-LDL em pacientes medicados com ezitimiba intolerantes a Estatinas ao final de 24 semanas
RUTHERFORD-2	Randomizado duplo cego placebo controlado	Evolucomab 2xs/sem ou mensalmente vs placebo 2xs/sem em pacientes HFHe com Estatinas associadas ou não a Ezitimiba	331	12	Multicêntrico Multinacional	Evolucomab origina reduções do c-LDL administrado quinzenalmente ou mensalmente, sem diferenças notáveis no perfil de eventos adversos comparados com o placebo
Decartes	Randomizado duplo cego placebo controlado	Evolucomab vs placebo em pacientes com terapêutica redutora de lípidos	905	52	Multicêntrico Multinacional	Evolucomab associado a dieta, e dose elevada de atorvastatina com ou sem ezitimiba origina reduções de c-LDL em pacientes com risco cardiovascular

(Continua)

(Continuação)

Nome estudo	Tipo	Desenho	Número pacientes	Duração Semanas	Participação	Resultados
Odyssey Mono	Randomizado duplo cego controlado ativo, estudo de grupo paralelo	Alirocumab vs ezitimiba	103	24	Multicêntrico Multinacional	Alirocumab origina reduções de c-LDL em comparação com 15,6% com ezitimiba
Odyssey Combo I	Randomizado duplo cego controlado ativo, estudo de grupo paralelo	Alirucumab vs placebo em pacientes com DVC medicados com máximo de dose de estatina tolerada	316	24	Multicêntrico USA	Alirocumab origina reduções de 40,9% de c-LDL vs 2,3% com o placebo
Odyssey Combo II	Multicêntrico Multinacional	Alirucumab vs ezitimiba em pacientes com DVC medicados com máximo de dose de estatina tolerada	720	24	Multicêntrico Multinacional	Alirocumab origina reduções, reduções de 56,6% de c-LDL vs 20,7% com o ezitimiba, com o mesmo perfil de segurança
Odyssey FH I	Randomizado duplo cego, placebo controlado, grupo de estudo paralelo	Alirucumab vs placebo em pacientes com HFHE não controlados adequadamente com terapêutica hipolipidemiante	486	24	Multicêntrico Multinacional	Alirocumab origina reduções médias de 57,9% ($p < 0,0001$) de c-LDL comparado com placebo ao fim de 24 sem
Odyssey FH II	Randomizado duplo cego, placebo controlado grupo de estudo paralelo	Alirucumab vs placebo em pacientes com HFHE não controlados adequadamente com terapêutica hipolipidemiante	249	24	Multicêntrico Multinacional	Alirocumab origina reduções médias de 57,9% ($p < 0,0001$) de c-LDL comparado com placebo ao fim de 24 sem
Odyssey HIGH FH	Randomizado duplo cego, placebo controlado grupo de estudo paralelo	Alirucumab vs placebo em pacientes com c-LDL ≥ 160 mg/dl	107	24	Multicêntrico Multinacional	Alirocumab origina reduções médias de 57,9% ($p < 0,0001$) de c-LDL comparado com placebo ao fim de 24 sem

Adaptado de Pasta *et al.*, 2020.

ANEXO IV – Ensaios clínicos na HF com anticorpo monoclonais inibidores da PCSK9

Efeitos do PCSK9 inibidores evolucomab e alirocumab na HF

Ensaio Clínico	População	c-LDL (% diferentes tratamentos)	Lp(a) (% diferentes tratamentos)
EVOLUCUMAB RUTHERFORD-2	HeHF (12 semanas)	140 mg Q2W: - 59,2% (p<0.0001)	140 mg Q2W: - 31,6% (p<0.0001) 420 mg Q4W: -28,2% (p<0.0001)
TESLA parte A	HoHF (12 semanas)	Q4W: - 16,5%* Q2W: - 13,9%*	Q4W: - 11,7%* Q2W: - 18,6%*
TESLA part B TAUSSIG	HoHF (12 semanas) FORTE FH (5 anos)	- 30,9% (p<0.0001) ONGOING	-11,8% (p=0,09)
ALIROCUMAB ODYSSEY HFJ I e HF II	HeHF (78 semanas)	FH I: - 57,9% (p<0.0001) FH II: - 51,4% (p<0.0001)	HF I: - 17,7% (p<0.0001) HF II: - 20,3% (p<0.0001)
ODYSSEY HF ALTA	HeHF (78 semanas)	-39,1% às 24 semanas	- 14,8% (p=0,0164)
ODYSSEY LONGO PRAZO	HeHF (78 semanas)	(p<0.0001)	- 25,6% (p=0,001))
ODYSSEY	HeHF (176 semanas)	-61,9% às 24 semanas (p<0,001) ONGOING	

Q2W: todas as 2 semanas; Q4W: todas as 4 semanas; *, % mudança de *baseline*

Adaptado de Raal *et al.*, 2018.

ANEXO V – Diferentes Tratamentos / Eficácia LDL-Aférese

Impacto dos diferentes métodos de LDL-Aférese nos níveis de c-LDL e Lp(a)

LHL-Aférese	Descrição	Redução
Adsorção	DALI, (adsorção direta de lipoproteínas). Interações electrostáticas de carga negativa dos aniões de poliacrilato com a carga positiva da ApoB	c-LDL: 53-76% Lp(a): 28-74%
	DSA, (adsorção por dextrano sulfato celulose). Interações electrostáticas de carga negativa de dextrano sulfato com carga positiva da ApoB	c-LDL: 49-75% Lp(a): 19-70%
	IMA, (imunoadsorção). Plasma passa por colunas que contêm anticorpos policlonais anti ApoB 100	c-LDL: 62-69% Lp(a): 51-71%
	Lipopac (específico Lp(a)). Plasma passa por colunas que contêm anticorpos anti Lp(a)	c-LDL: 7% Lp(a): 59-88%
Filtração	MONET (novo tratamento extracorporal otimizado por membrana de filtração). vários filtros eliminam a LDL e a Lp(a) do plasma de acordo com propriedades de tamanho	LDL-C: 52-62% Lp(a): 53-59%
	Filtração de lípidos. Vários filtros eliminam a LDL e a Lp(a) do plasma de acordo com propriedades de tamanho	LDL-C: 61% Lp(a): 61%
Precipitação	HELP (precipitação de LDL, Lp(a) e fibrinogénio induzida por heparina no circuito extracorporal). Precipitação do complexo LDL, Lp(a) e fibrinogénio por heparina a pH=5.2	LDL-C: 55-61% Lp(a): 55-68%
Plasmaferese	A plasmaferese continua a ser utilizada em alguns centros em alternativa à LDL-Aférese em doentes com hipertregliceridemia severa	

Adaptado de Greco *et al.*, 2020.

**ANEXO VI – Critérios de realização de LDL-Aférese segundo as
guidelines adotadas em diferentes países**

Indicações de LDL-Aférese segundo as *guidelines* adotadas em diferentes países

País	Recomendações
USA	<ul style="list-style-type: none">• HF homocigótica: c-LDL \geq 500 mg/dl sob terapêutica máxima possível• HF heterocigótica: c-LDL \geq 300mg/dl, c-LDL \geq 300 mg/dl com fatores de risco adicionais ou elevada L(p), c-LDL \geq a 160 mg/dl se fatores de risco muito elevados
Alemanha	<ul style="list-style-type: none">• HF homocigótica• Hipercolesterolémia severa (não HF heterocigótica): sob terapêutica máxima tolerada• Lpa com DVC progressiva (cl clinicamente documentada com imagens) \geq a 60 mg/dl
Japão	<ul style="list-style-type: none">• HF homocigótica• HF heterocigótica: colesterol total \geq a 250 mg/dl sob terapêutica máxima tolerada
Inglaterra	<ul style="list-style-type: none">• HF homocigótica: c-LDL \geq a 350 mg/dl com necessidades de reduções inferiores a 50% sob terapêutica máxima tolerada• Outros tipos de hipercolesterolémia (incluído HF heterocigótica): DVC progressiva com c-LDL $>$ 190 mg/dl ou elevada Lpa ou necessidade de reduções de c.LDL de 40 %
Austrália	<ul style="list-style-type: none">• HF homocigótica: c-LDL \geq a 270 mg/dl sob terapêutica máxima tolerada• HF heterocigótica com c-LDL \geq 193 mg/dl com DVC• Critério alternativo: (FH homocigótico, FH heterocigótico): com necessidades de reduções inferiores a 50% sob terapêutica máxima tolerada
Espanha	<ul style="list-style-type: none">• HF homocigótica• HF heterocigótico: c-LDL \geq 200 mg/dl com DVC ou 300 mg/dl sem DVC

Adaptado de Parhofer and Thompson, 2015.