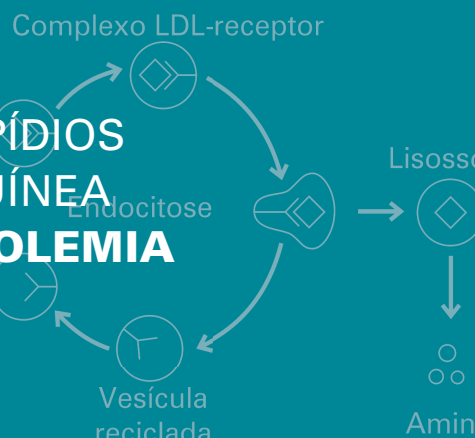


O TRANSPORTE DE LIPÍDIOS DA CORRENTE SANGUÍNEA NA HIPERCOLESTEROLEMIA FAMILIAR



Caso clínico

Um indivíduo de 40 anos de idade procurou seu médico por causa de dores fortes no peito. A primeira vez em que elas apareceram foi após uma lauta refeição e a última quando realizava trabalhos de jardinagem em sua casa. Essa dor começava com um aperto no peito que durava cerca de 10 minutos e depois desaparecia com o repouso. Decidiu consultar um médico depois de conversar com seu irmão, de 35 anos, que tinha tido recentemente infarto do miocárdio.

Há três anos o paciente havia sido informado que seu colesterol plasmático era $> 400\text{mg/dL}$. Nessa oportunidade foi aconselhado a evitar alimentos gordurosos e ricos em colesterol, mas não seguiu as recomendações. Não tinha história de hipertensão, diabetes ou doença cardíaca nem nunca fumara. Sua profissão não era do tipo estressante. Seu pai tinha níveis altos de colesterol e teve um ataque cardíaco fatal aos 45 anos de idade. Sua mãe é viva e goza de boa saúde. Tem um filho de 4 anos e uma filha de 2 anos, também saudáveis.

Ao exame físico não apresentava nenhum sinal anormal, exceto pela presença de algumas massas nodulares, não dolorosas, sobre o tendão de Aquiles. O médico solicitou um eletrocardiograma (ECG) após teste de esforço físico e alguns exames laboratoriais para avaliar o nível de lipídios no sangue. Os exames indicaram: LDL-colesterol = 370mg/dL (valores normais = $100\text{-}160\text{mg/dL}$); HDL-colesterol = 10mg/dL (valores normais = $30\text{-}65\text{mg/dL}$); triglicerídeos = 130mg/dL (valores normais = $45\text{-}205\text{mg/dL}$).

Fundamentação bioquímica

A **hipercolesterolemia familiar** é uma doença genética que leva ao aumento do colesterol no sangue e em alguns tecidos devido a um defeito no receptor celular da LDL (*low density lipoprotein*, proteína de baixa densidade) que normalmente capta e remove a LDL da circulação (Cuchel e Rader 2007; Goldstein et al., 2001; MedlinePlus). Na sua forma heterozigota, ela atinge 1 em cada 500 indivíduos e apresenta valores de colesterol total entre 250 e 500mg/dL (valores normais < 200mg/dL). Em sua forma homozigota, a doença é muito mais séria e afeta 1 em cada 1.000.000 de pessoas, apresentando duas vezes mais colesterol que os heterozigotos. Para entendermos as consequências desse defeito e seu tratamento é necessário primeiro analisar o metabolismo normal da LDL (e de outras lipoproteínas), bem como o do colesterol.

Estrutura e composição das lipoproteínas

Os lipídios encontrados nas lipoproteínas do plasma são: **triglicerídios** (TG), **colesterol e seus ésteres** (CO, ECO) e **fosfolipídios** (FL) (Fig. 12.1).

Devido à sua grande insolubilidade em solução aquosa, todos esses lipídios são transportados no sangue combinados com as lipoproteínas plasmáticas. Essas partículas contêm na sua região central os lipídios mais insolúveis em água (triacilgliceróis, TG e ésteres de colesterol, ECO). Na superfície da partícula, estão os lipídios mais polares (colesterol, CO e fosfolipídios, FL) e as proteínas chamadas de **apoproteínas** (quando separadas dos seus lipídios). A apoproteína integral mais importante é a apoB. Ela existe na sua forma completa, chamada de **apoB-100**, na maioria das lipoproteínas (VLDL, IDL e LDL). É uma proteína enorme com 4.536 aminoácidos que cobre grande parte da partícula, existindo na proporção de uma molécula da proteína/partícula. Nas células intestinais, a desaminação da citosina 6666 do mRNA do gene da apoB-100 forma um mRNA com edição diferente (Teng et al., 1993), apresentando uma trinca de terminação UAA que interrompe a tradução desse mRNA formando uma outra proteína de 2.152 aminoácidos (os mesmos aminoácidos da extremidade aminoterminal da proteína apoB-100).

A proteína **apoB-48** é a principal apoproteína dos quilomícrons (Fig. 12.2). Outras proteínas (apoA, C e E) também participam da constituição de outras partículas transportadoras de lipídios.

O tamanho e a densidade de cada lipoproteína são determinados pela quantidade de lipídios no centro da partícula. Os tipos e as características gerais das lipoproteínas do plasma junto com as apoproteínas associadas estão resumidos no **Quadro 12.1**.

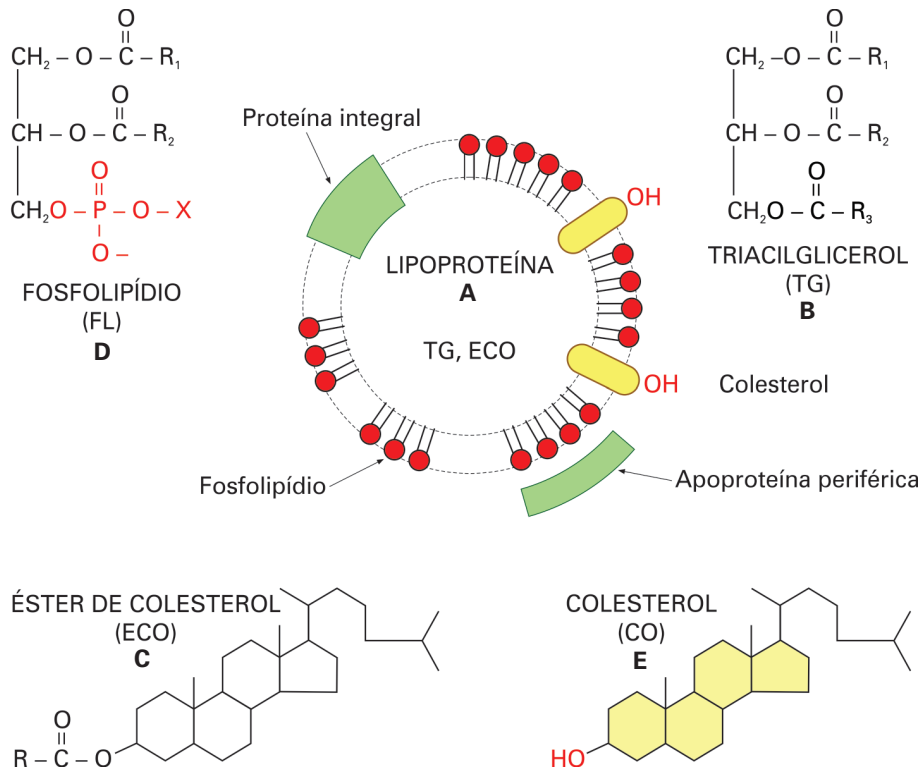


Figura 12.1. Estrutura geral das lipoproteínas do plasma (A) e seus constituintes: TG (B); ECO (C); FL (D) e CO (E).

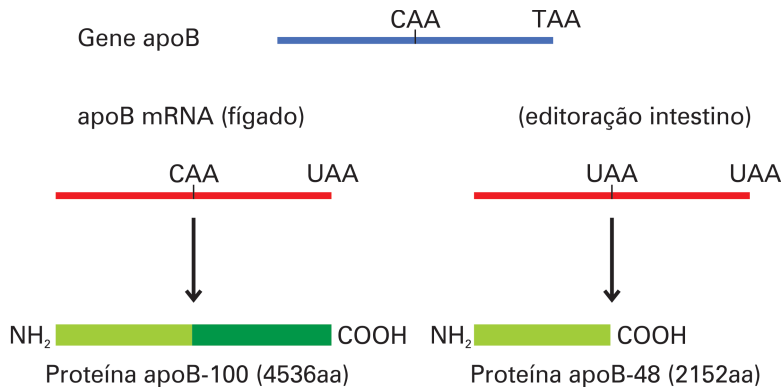


Figura 12.2. Estrutura das apolipoproteínas B.

Quadro 12.1. Principais lipoproteínas do plasma.

Lipoproteínas	Densidade (g/mL)	Tamanho (nm)	Composição (%)					Apoproteínas
			FL	CO	ECO	TG	P	
Quilomícrons	< 1,006	75-1.200	9	1	3	85	2	B-48, A, C, E
VLDL	< 1,006	30-80	18	1	12	50	10	B-100, C, E
IDL	1,006-19	25-35	–	–	89	–	11	B-100 e E
LDL	1,019-63	18-25	20	8	37	10	23	B-100
HDL	1,063	5-12	24	2	15	4	55	A, C e E

VLDL = lipoproteína de densidade muito baixa; IDL = lipoproteína de densidade intermediária; LDL = lipoproteína de baixa densidade; HDL = lipoproteína de alta densidade.

Metabolismo das lipoproteínas

O metabolismo das lipoproteínas ocorre através de duas vias principais, a exógena e a endógena, esquematizadas na **Fig. 12.3**.

Resumidamente, na **via exógena**, os lipídios da dieta são incorporados aos **quilomícrons** produzidos nos enterócitos e lançados primeiramente nos canaliculos e dutos linfáticos e, posteriormente, transportados pela corrente sanguínea. A enzima *lipoproteína lipase*, ligada à superfície endotelial dos capilares em vários tecidos extra-hepáticos, libera a maioria dos triglicerídios dos quilomícrons, como também quantidades significativas existentes nas apolipoproteínas A e C. Os quilomícrons remanescentes, contendo essencialmente as apolipoproteínas B-48 e a E, são reconhecidos pelos receptores hepáticos e rapidamente removidos da circulação para o fígado.

Na **via endógena**, os triglicerídios sintetizados nos hepatócitos são secretados para a circulação juntamente com os demais lipídios na forma de VLDL, contendo as apoproteínas B-100, C e E. Os triglicerídios são hidrolisados nos capilares extra-hepáticos, convertendo a VLDL em IDL e depois em LDL, graças à perda da maioria dos triglicerídios e de todas as apolipoproteínas, exceto a B-100. Através da apoB-100 a LDL é captada pelas células dos tecidos extra-hepáticos e do fígado.

Finalmente, uma quinta lipoproteína existente no plasma, a HDL, leva o colesterol dos tecidos extra-hepáticos para o fígado e esta movimentação é chamada de **transporte reverso do colesterol**.

Estrutura do receptor da LDL

O receptor da LDL é uma proteína existente nos tecidos extra-hepáticos e no fígado que interage com a apoB-100 da LDL formando um complexo que será internalizado pelas células.

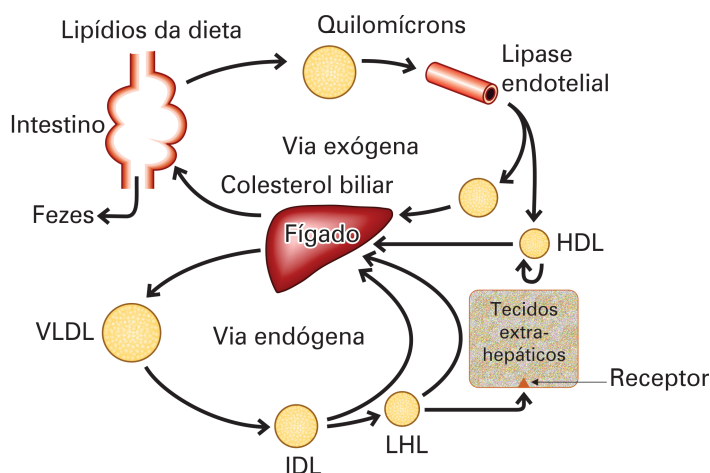


Figura 12.3. Vias exógenas e endógenas das lipoproteínas (modificado de Gaw et al., 2008).

O gene que expressa o receptor da LDL apresenta um tamanho de 45.000 pares de bases contendo 18 éxons e 17 íntrons e está localizado na extremidade do braço curto do cromossomo 19. A proteína madura do receptor da LDL possui 839 aminoácidos divididos em cinco regiões (Fig. 12.4). A mais externa delas é a que contém os domínios que reconhecem e interagem com os aminoácidos da apoB-100. Nas outras lipoproteínas (VLDL e IDL), esses domínios da apoB-100 estão mascarados e o receptor da LDL não os reconhece. Mais de 1.000 tipos de mutações diversas do gene do receptor são conhecidos e todos podem levar a **hipercolesterolemia familiar**, doença que se caracteriza pela não formação do complexo entre a apoB-100 e o receptor da LDL.

Após a ligação do receptor com a apoproteína B-100 da LDL, o complexo é internalizado por um mecanismo de **endocitose** descoberto por Goldstein e Brown (1982) que lhes deu o Prêmio Nobel de Medicina em 1985 (Fig. 12.5). O complexo invagina-se formando uma vesícula endocítica (o endossomo) que adentra o citoplasma. Dentro do endossomo, o receptor LDL dissocia-se e volta para a superfície celular para uma nova captação de LDL. Posteriormente, o endossomo funde-se com o **lisossomo**, a enzima *colesteril hidrolase*, cliva os ésteres de colesterol, produzindo colesterol livre e as proteases lisossômicas hidrolisam a apoproteína B-100 até seus aminoácidos constituintes.

As LDL (depois de serem formadas) demoram cerca de dois dias para serem captadas e 70% delas o são pelo mecanismo acima descrito. Os restantes 30% utilizam outros mecanismos que não reconhecem a LDL normal, mas sim uma forma de LDL acetilada ou oxidada.

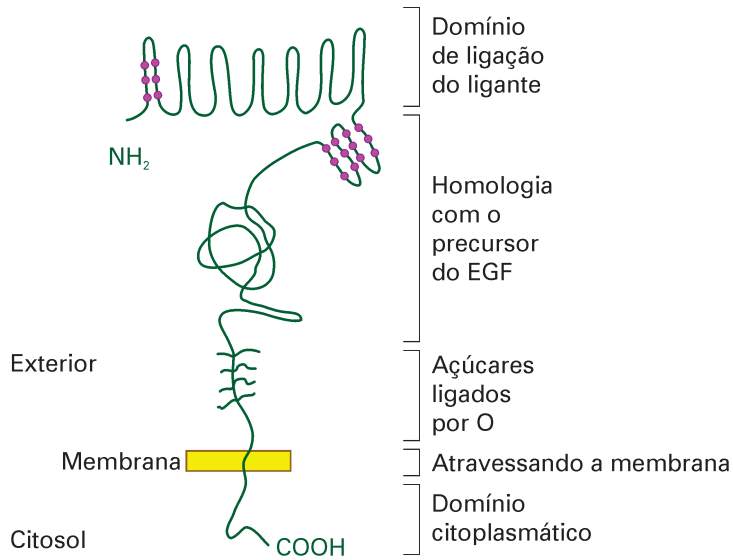


Figura 12.4 Estrutura do receptor da LDL (modificado de Yamamoto et al., 1984).

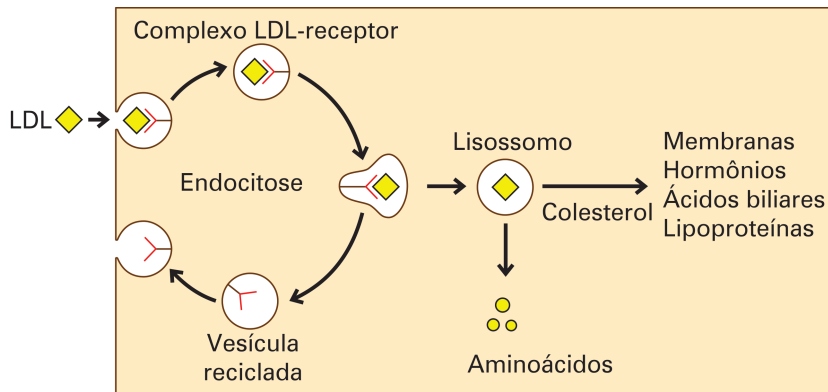


Figura 12.5. Internalização do complexo LDL e seu receptor.

Biossíntese do colesterol

Metade do colesterol que se incorpora diariamente em nosso organismo é adquirido por meio da dieta (cerca de 500mg nas dietas ocidentais mais comuns) e o restante é sintetizado por via endógena (**Fig. 12.6**) em praticamente todas as células do organismo, principalmente as do fígado, enterócitos e células produtoras de esteroides (existentes nas adrenais, testículos e ovários).

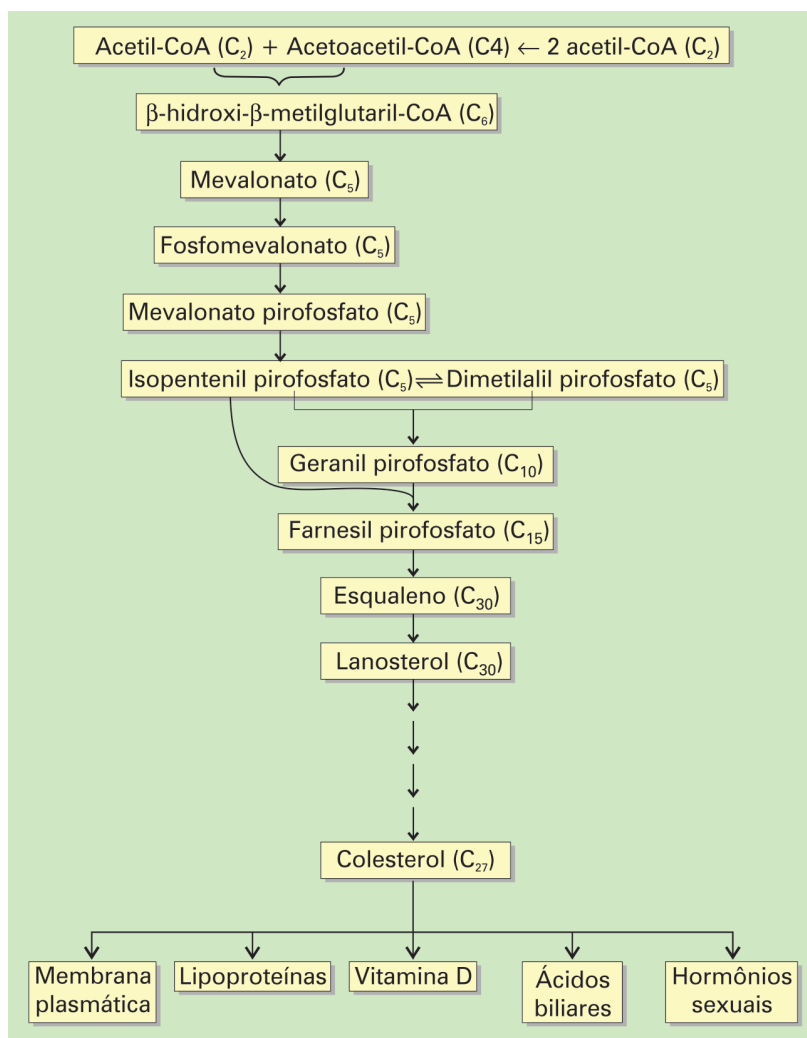


Figura 12.6. Via da síntese do colesterol. O número em parênteses após cada intermediário indica a quantidade de átomos de carbono que possui.

Essa via de biossíntese do colesterol foi descoberta por Konrad Bloch na década de 1960, tendo seu autor recebido o Prêmio Nobel de Medicina em 1965.

A via começa e tem todos os seus 27 átomos de carbono provenientes da molécula do acetil-CoA. Três moléculas de acetil-CoA formam o βOHβMetilglutaril-CoA (de C₆) que dará origem ao mevalonato. Um de seus derivados (o isopentenil, de C₅) condensa-se seis vezes para formar o esqualeno (C₃₀) que sofre ciclização, formando o lanosterol e depois perde três carbonos dando origem, finalmente, ao colesterol.

O homem não consegue metabolizar o colesterol a CO_2 e H_2O . Seus principais destinos são a membrana plasmática, as lipoproteínas séricas, a síntese da vitamina D, dos hormônios sexuais e dos ácidos biliares. Esses últimos são excretados pelo fígado através da vesícula biliar e intestino (Murray et al., 2009; Nelson e Cox, 2008).

Regulação da via de biossíntese do colesterol

A enzima-chave na regulação da via de biossíntese do colesterol é a $\beta\text{OH}\beta\text{Metilglutaril-CoA redutase}$, que é regulada negativamente pelos produtos da via. Essa inibição que era reconhecida há mais de 75 anos só recentemente teve seu mecanismo finalmente esclarecido (história contada por Brown e Goldstein, 2009). Essa inibição faz-se pelo bloqueio da ativação de um fator de transcrição (SREBP) envolvido na síntese do mRNA da enzima (Fig. 12.7) (Horton et al., 2002).

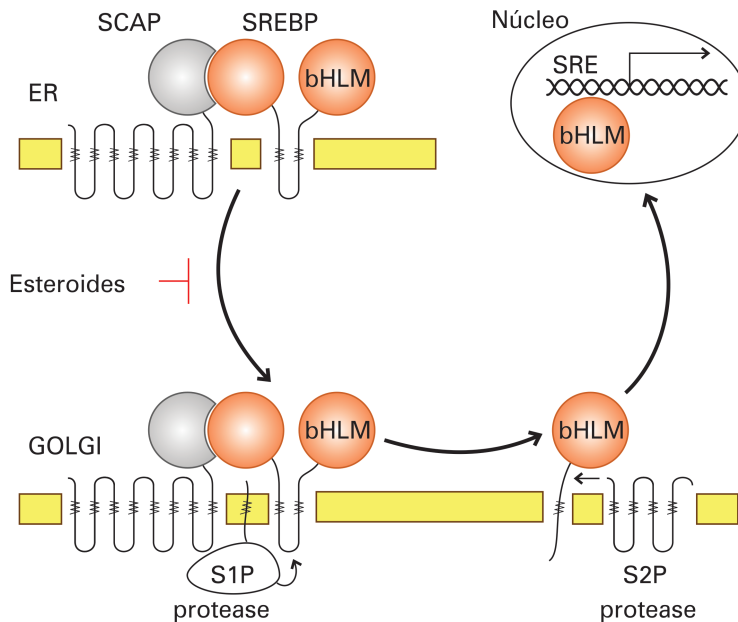


Figura 12.7. Regulação do fator de transcrição (SREBP) por esteróis (reproduzido de Brown e Goldstein, 2009).

O fator de transcrição está originalmente inativo, complexado com uma proteína chamada de **SCAP** no retículo endoplasmático. SCAP é um sensor capaz de estimar os níveis intracelulares de colesterol e outros esteróis. Quando os níveis desses compostos estão elevados, o complexo inativo persiste no retículo endoplasmático. Quando os níveis de colesterol diminuem, o complexo **SREBP-SCAP** migra para o Golgi, onde sofre a ação de duas proteases que liberam a porção N terminal do SREBP que entra no núcleo e participa da ativação da transcrição de vários genes, especialmente da β *OH* β *Metilglutaril-CoA redutase*. Essa porção N terminal do SREBP tem uma vida média curta, sendo destruída rapidamente pelos proteassomos. Assim que os níveis de colesterol são repostos e a transcrição da enzima não é mais necessária, a porção ativa do SREBP será degradada. Dessa forma, a concentração do colesterol (ingerido e/ou sintetizado pelo organismo) regula a síntese da principal enzima da via biossintetizadora.

A enzima β *OH* β *Metilglutaril-CoA redutase* possui outros mecanismos de regulação: (a) **um hormonal**, através da fosforilação (e inativação) da enzima por *glucagon* ou da sua defosforilação (e ativação, pela *insulina*); e (b) por **inibidores naturais e sintéticos** derivados de fungos, chamados de estatinas, que são inibidores competitivos da enzima.

Tratamento

O objetivo do tratamento da **hipercolesterolemia familiar** é diminuir os níveis do colesterol sanguíneo, porque há uma grande evidência apontando uma correlação direta entre altos níveis do colesterol presentes nas LDL (o mau colesterol) e o desenvolvimento de doenças ateroscleróticas vasculares (Ginsberg, 1994), especialmente o infarto do miocárdio. Além do colesterol e de ácidos graxos saturados, há outros fatores de risco nessas doenças: (a) cigarro, (b) hipertensão, (c) diabetes, (d) obesidade, (e) sedentarismo, que devem também ser considerados e controlados.

As recomendações dietéticas incluem a redução da porcentagem das gorduras saturadas (para não mais que 7% das calorias totais) e a quantidade de colesterol (até 200mg por dia). Isso pode ser conseguido com a diminuição da ingestão de carnes, ovos e substituição das gorduras animais por óleos de oliva e canola e fibras que diminuem a captação do colesterol no intestino. Uma medida terapêutica nesse sentido é a ingestão por via oral de resinas catiônicas (colestirami-

na e colestipol) que não são absorvidas e acabam interagindo com os ácidos biliares no intestino, sendo eliminadas juntamente com os ácidos biliares pelas fezes. Como os ácidos biliares deixam de ser reabsorvidos, haverá falta de ácidos biliares no organismo que será compensada por uma redistribuição dos destinos do colesterol visando repor os níveis dos ácidos biliares. Em consequência desse artifício, haverá superprodução de ácidos biliares (que serão afinal sequestrados no intestino pela resina), que acaba diminuindo significativamente os níveis de colesterol.

Recentemente, foi desenvolvido um inibidor para a captação do colesterol nos enterócitos, a **ezetimibe** (Clader, 2004), que se tem mostrado muito eficiente, firmando-se como um dos pilares atuais do tratamento da diminuição dos níveis de colesterol no sangue.

Mas não basta diminuir a captação intestinal do colesterol, pois a biossíntese endógena poderá facilmente compensar essa perda. Será necessário também o uso de medicamentos específicos para diminuir a via de biossíntese do colesterol. Essas drogas são as **estatinas** (lovastatina, pravastatina, fluvastatina e sinvastatina), que são inibidores competitivos da β OH β Metilglutaril-CoA redutase, enzima-chave na biossíntese do colesterol (Nelson e Cox, 2008) (**Fig. 12.8**).

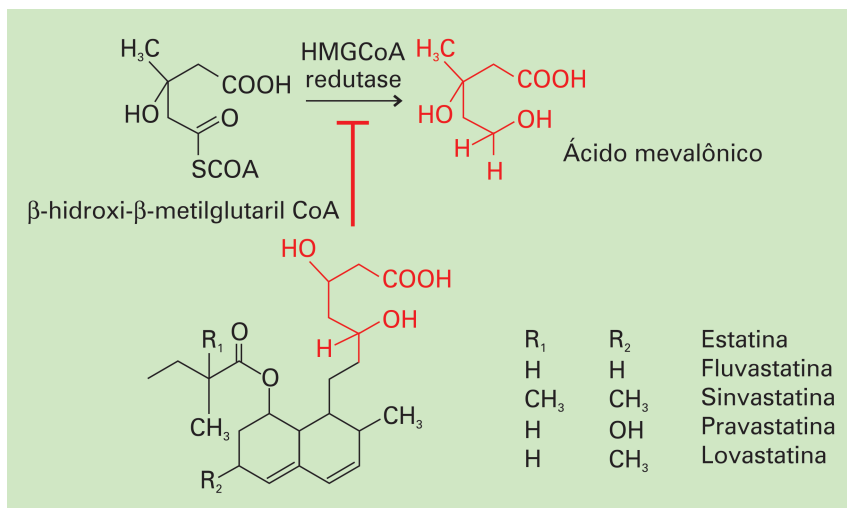


Figura 12.8. Estrutura das estatinas.

O uso combinado da ezetimibe com as estatinas tem-se mostrado mais eficiente que a terapêutica isolada das drogas (Katragada et al., 2010). Além disso, elas aumentam ligeiramente os níveis do HDL (o bom colesterol). Como há uma correlação inversa entre as doenças coronarianas e os níveis de HDL plasmáticos, recomendam-se também outras medidas que levam a aumento nas taxas de HDL, como o uso moderado de vinho tinto e os exercícios físicos.

O tratamento da forma homozigota da hipercolesterolemia familiar é muito mais difícil e envolve em geral a remoção da LDL, VLDL e IDL da corrente sanguínea, passando o plasma (extracorporalmente) por uma coluna contendo um anticorpo específico para a apoproteína B-100 ligado à resina. É um procedimento chamado de **aférese da LDL**. A resina retira essas lipoproteínas da circulação, mas não afeta os níveis da HDL. Sua desvantagem é estar disponível apenas em alguns centros muito especializados e também necessitar de aplicações frequentes (1-2 vezes por semana).

Questões

- 1 Qual é a causa da hipercolesterolemia familiar?
- 2 Uma pessoa sem alterações no receptor da LDL pode ter níveis sanguíneos elevados do colesterol tipo LDL? Explique.
- 3 O tratamento medicamentoso da hipercolesterolemia é baseado na inibição da síntese do colesterol. Identifique em qual passo metabólico da via sintética do colesterol ocorre a inibição. Por quê?
- 4 O tratamento deste paciente com resina catiônica não absorvível (colestiramina) que se liga aos ácidos biliares intestinais e os elimina pelas fezes levou, após 3 meses de tratamento, à queda nos níveis de colesterol para cerca de 280mg/dL. Quais alterações do metabolismo do colesterol e das lipoproteínas são responsáveis por este efeito?
- 5 O que são SREBP e SCAP? Que papéis desempenham na regulação da síntese do colesterol?
- 6 Quais os papéis da ezetimibe e das estatinas no tratamento da hipercolesterolemia familiar?

Bibliografia

- Bloch K. The biological synthesis of cholesterol. *Science* 1965;150:19-28.
- Brown MS, Goldstein JL. Cholesterol feedback: from Schoenheimer's bottle to Scap's MELADL. *J Lipid Res* 2009;50:S15-27.
- Clader JW. The discovery of ezetimibe: a view from outside the receptor. *J Med Chem* 2004;47:1-9.
- Cuchel M, Rader DJ. Low-density lipoprotein receptors and familial hypercholesterolemia. In Glew RH, Rosenthal MD (eds). *Clinical studies in medical biochemistry*. 3rd ed. Oxford: Oxford University Press; 2007. p. 152-158.
- Ginsberg HN. Lipoprotein metabolism and its relationship to atherosclerosis. *Med Clin North Am* 1994;78:1-20.
- Gaw A, Murphy MJ, Cowan RA, O'Reilly DSTJ, Stewart MJ, Shepherd J. *Clinical biochemistry*. 4th ed. Churchill-Livingstone-Elsevier; 2008.
- Goldstein JL, Brown MS. The LDL receptor defect in familial hypercholesterolemia. *Med Clin North Am* 1982;66:335-362.
- Goldstein JL, Hobbs HH, Brown MS. Familial hypercholesterolemia. In Scriver CR, Beauder AL, Sly WS, Valle D (eds). *The metabolic and molecular bases of inherited disease*. 8th ed. New York: McGraw-Hill. 2001. p. 2863-2913.
- Horton JD, Goldstein JL, Brown MS. SREBPs: activators of the complete program of cholesterol and fatty acid synthesis in the liver. *J Clin Invest* 2002;10:1125-1131.
- Katragada S, Rai F, Arora R. Dual inhibition, new paradigms for cholesterol lowering. *Am J Ther* 2010;17(4):e88-99.
- MedlinePlus: cholesterol. Disponível em <http://www.nlm.nih.gov/medlineplus/cholesterol.html>
- Murray RK, Bender DA, Botham KM, Kennelly PJ, Rodwell VW, Weil PA. *Harper's illustrated Biochemistry*. 28th ed. McGraw-Hill-Lange; 2009.
- Nelson DL, Cox MM. BOX 21-3: The lipid hypothesis and the development of statins. In *Lehninger principles of biochemistry*. 5th ed. New York: Freeman; 2008. p. 842-843.
- Teng B, Burant CF, Davidson NO. Molecular cloning of an apolipoprotein B messenger RNA editing protein. *Science* 1993;260(5115):1816-1819.
- Yamamoto T, Davis CG, Brown MS, Schneider WJ, Casay L, Goldstein JL, Russel DW. The human LDL receptor: a cysteine-rich protein with multiple Alu sequences in its mRNA. *Cell* 1984;39:27-38.