

Dra. Maria Cristina de Oliveira Izar

Assistente Doutora da Disciplina de Cardiologia da Universidade Federal de São Paulo – UNIFESP

Introdução

Quando se acreditava que os participantes do metabolismo do LDL-colesterol em nível molecular tivessem sido identificados, surgiu um novo componente. Em 2003, quatro grupos caracterizaram um novo membro da família do gene da pró-proteína convertase, cujo produto é a serina protease denominada pró-proteína convertase subtilisina/kexina tipo 9).

Essa proteína está envolvida no controle dos níveis de LDL-colesterol. Seu papel foi descoberto a partir da observação de que indivíduos que apresentam mutações acompanhadas de aumento da função da PCSK9 têm hipercolesterolemia e doença arterial coronariana (DAC), enquanto as mutações que inativam essa proteína levam a diminuição dos níveis de colesterolemia e do risco de DAC. Os trabalhos apresentados a seguir resumem aspectos relativos à estrutura e à função da PCSK9, evidências de que polimorfismos genéticos que inativam essa proteína reduzem a colesterolemia, com diminuição acentuada da incidência de eventos cardiovasculares, por exposição a esse fator protetor ao longo da vida. E mostram ainda que mutações que inativam a PCSK9 não parecem ser maléficas à saúde, e que estratégias direcionadas à sua inativação poderão ser boas opções terapêuticas na redução da colesterolemia e do risco cardiovascular associado.



1 – Estrutura e papel fisiológico da PCSK9 no metabolismo do LDL-colesterol. Mutações na PCSK9, hiper e hipocolesterolemias

A estrutura da PCSK9 compreende uma seqüência sinal um pró-domínio, um domínio catalítico e uma porção carboxiterminal contendo resíduos de cisteína. É sintetizada como um precursor inativo, que sofre clivagem por autocatálise entre o pró-domínio e o domínio catalítico, sendo que o pró-domínio permanece ligado à proteína em sua forma madura, e trafega na célula entre seus compartimentos acoplado à proteína, provavelmente regulando sua atividade enzimática. Nesse trânsito, a PCSK9 interfere no ciclo biológico do receptor de LDL (LDL-R), favorecendo a sua degradação. Evidências sugerem que a PCSK9 atua em dois sítios celulares: 1) no Complexo de Golgi, direcionando os LDL-R à lise pelos lisossomos; 2) secretada em um complexo associada ao LDL-R, na membrana celular e, assim, sendo internalizada junto com ele, o que pode interferir na reciclagem do receptor, favorecendo sua degradação. Foram identificadas mutações missense acompanhadas de ganho de função da PCSK9 em famílias que apresentam o fenótipo de hipercolesterolemia familiar (HF) com a presença de xantomas e aterosclerose coronariana, cujo modo de transmissão é autossômico dominante, e outros polimorfismos, acompanhados de hipercolesterolemia de menor magnitude. O ganho de função foi evidenciado em experimentos com camundongos mutantes para a PCSK9, com expressão hepática de altos níveis da proteína e níveis muito reduzidos do receptor de LDL. No entanto, não se evidenciou diminuição da síntese do receptor, já que os níveis de mRNA são normais, sendo o provável mecanismo de inativação pós-transcricional. Por outro lado, também foram identificadas outras mutações que levam à perda de função da PCSK9 e conseqüente aumento dos receptores de LDL, acelerando o seu catabolismo. A expressão do LDL-R e da PCSK9 é regulada pelo *sterol regulatory element binding protein-2 (SREBP-2)*. Aumentos do LDL-R são acompanhados de aumentos da PCSK9, atuando como um “freio” para impedir a captação excessiva de LDL por impedir a reciclagem do receptor. Horton JD, et al. Molecular biology of PCSK9: its role in LDL metabolism. Trends in Biochem Science 2006;32(2):71-7.

2 – Variações na seqüência gênica da PCSK9, baixos níveis de LDL-colesterol e proteção contra a doença coronariana

Baixos níveis de LDL-C são associados a risco reduzido de eventos coronarianos, mas os efeitos da redução dos níveis de LDL-C ao longo da vida não são conhecidos. As mutações da PCSK9 acompanhadas de menor atividade da proteína e redução do LDL-C em um grande estudo populacional permitem responder a essa questão. A incidência de DAC (infarto do miocárdio, DAC fatal e necessidade de revascularização do miocárdio) foi comparada num seguimento de 15 anos no estudo *Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC)*, de acordo com a presença ou ausência de variantes genéticas na PCSK9 associadas à redução dos níveis de LDL-colesterol.

Esse estudo birracial mostrou que de 3.363 indivíduos de raça negra que participaram do estudo 2,6% eram portadores de mutações *nonsense* na PCSK9, com redução de 28% no LDL-C. Nesses, comparados aos indivíduos que não apresentavam essas variantes, houve uma redução de 88% no risco de DAC. Entre os 9.524 indivíduos de raça branca, 3,2% apresentavam variações na seqüência da PCSK9 associadas a redução de LDL-C de 15% e a redução de 47% no risco de DAC. Esses dados foram indicativos de que reduções moderadas de LDL-C ao longo da vida associam-se a reduções substanciais na incidência de eventos coronarianos, mesmo em populações com alta prevalência de fatores de risco não-lipídicos. Cohen JC, et al. Sequence variations in PCSK9, low LDL and protection against coronary artery disease. *N Engl J Med* 2006; 354:1264-72.

3 – Mutações que levam a perda de função da PCSK9: caracterização de um duplo heterozigoto saudável e fértil com LDL-C = 14 mg/dL

Mutações *nonsense* na PCSK9 são relativamente comuns entre indivíduos de descendência africana. Nos Estados Unidos, 1 em cada 40-50 afro-americanos possui pelo menos um alelo da PCSK9 com mutação *nonsense*. Em uma família de portadores de mutações com perda de função da PCSK9 foi identificada uma mulher jovem, de 32 anos, fértil, que é um duplo heterozigoto para essas mutações *nonsense* e apresenta níveis de LDL-C de 14 mg/dL e ausência de PCSK9.

Ao contrário de outras formas mendelianas de hipocolesterolemia severa – abetalipoproteinemia e hipobetalipoproteinemia familiar, as quais se associam a desnutrição, esteatorréia, esteatose hepática, cegueira noturna e defeitos proprioceptivos, a hipocolesterolemia por deficiência de PCSK9 parece ser benigna. Na hipocolesterolemia por deficiência de apo B, a síntese de VLDL está comprometida, enquanto na deficiência de PCSK9 há um aumento do *clearance* de LDL, sem afetar a produção de lipoproteínas. O fato de a deficiência de PCSK9 ser encontrada em indivíduo jovem, fértil e saudável transforma a PCSK9 num alvo terapêutico atrativo, podendo a inibição da atividade da PCSK9 ser uma opção segura e eficaz na prevenção primária da DAC. Zhao Z, et al. Molecular characterization of loss-function mutations in PCSK9 and identification of a compound heterozygote. *Am J Hum Genet* 2006;79:514-23.

4 – Inibição da PCSK9 por oligonucleotídeos anti-senso: uma nova possibilidade terapêutica na redução do LDL-C e do risco cardiovascular

A PCSK9 é um membro da família das proteases que promove a degradação do LDL-R por um mecanismo ainda pouco elucidado. Foram desenvolvidos oligonucleotídeos anti-senso (ASO) de segunda geração para inibir a PCSK9 murina e avaliar seus efeitos hipolipemiantes.

A administração de ASO anti-PCSK9 por seis semanas a camundongos que recebiam dieta rica em gorduras reduziu o colesterol total em 53% e o LDL-C em 38%. Além disso, a inibição da PCSK9 resultou em aumento da expressão hepática dos receptores de LDL (LDL-R) em duas vezes. Os ASO de segunda geração são estáveis, hidrossolúveis e podem ser administrados em solução salina sem uma formulação especial, por via subcutânea e por outras vias de administração. Sua farmacocinética é bem conhecida e, após a infusão subcutânea de uma dose, cerca de 12% da droga se distribui no fígado, o principal local de expressão da PCSK9. Devido à sua longa meia-vida de eliminação e a seu perfil de segurança, esses fármacos poderão ser administrados semanalmente, ou até com menor frequência.

A inibição da PCSK9 utilizando-se oligonucleotídeos anti-senso parece ser uma opção terapêutica atraente para o tratamento hipolipemiante em humanos, podendo trazer benefícios terapêuticos em pacientes sob risco de doenças cardiovasculares. Graham MJ, et al. Antisense inhibition of proprotein convertase subtilisin kexin 9 reduces serum LDL in hyperlipidemic mice. *J Lipid Res* 2007;[Epub ahead of print].

