UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
Faculdade de Ciências Farmacêuticas
Programa de Pós-Graduação em Farmácia
Área de Análises Clínicas

Ultrassequenciamento exômico dos principais genes relacionados com a hipercolesterolemia familial

Jéssica Bassani Borges

Tese para obtenção do título de DOUTOR
Orientador: Prof. Titular Mario Hiroyuki Hirata

São Paulo
2019

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
Faculdade de Ciências Farmacêuticas
Programa de Pós-Graduação em Farmácia
Área de Análises Clínicas

Ultrassequenciamento exômico dos principais genes relacionados com a hipercolesterolemia familial

Jéssica Bassani Borges

Versão Original

Tese para obtenção do título de DOUTOR
Orientador**:** Prof. Titular Mario Hiroyuki Hirata

São Paulo
2019

Autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial deste trabalho, por qualquer meio convencional ou eletronico, para fins de estudo e pesquisa, desde que citada a fonte.

Ficha Catalográfica elaborada eletronicamente pelo autor, utilizando o programa desenvolvido pela Seção Técnica de Informática do ICMC/USP e adaptado para a Divisão de Biblioteca e Documentação do Conjunto das Químicas da USP

Bibliotecária responsável pela orientação de catalogação da publicação:
Marlene Aparecida Vieira - CRB - 8/5562

Borges, Jéssica Bassani
Bu Ultrassequenciamento exômico dos principais genes relacionados com a hipercolesterolemia familial. / Jéssica Bassani Borges. - São Paulo, 2019.
193 p.

Tese (doutorado) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo. Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas.
Orientador: Hirata, Mario Hiroyuki

1. Hipercolesterolemia Familial. 2. APOB. 3. LDLR. 4. PCSK9. 5. Ultrassequenciamento. I. T. II. Hirata, Mario Hiroyuki, orientador.

Jéssica Bassani Borges

Ultrassequenciamento exômico dos principais genes relacionados com a hipercolesterolemia familial

Comissão Julgadora da Tese para obtenção do Título de DOUTOR

Prof. Dr. Mario Hiroyuki Hirata
Orientador/ Presidente

_____
1° examinador

_____
2° examinador

_____
3° examinador

_____
4° examinador

São Paulo, ___de _____de 2019.

EPÍGAFRE

“A tarefa não é tanto ver aquilo que ninguém viu, mas pensar o que ninguém ainda pensou sobre aquilo que todo mundo vê.”
Arthur Schopenhauer

DEDICATÓRIA

Dedico esse trabalho primeiramente a Deus por me dar a vida e a chance de realizar sonhos como este.

Aos meus pais, Elisabeth e Ubiratan, por me darem a vida, e dedicarem a sua para me criar e educar. Por me darem apoio, incentivo incondicional e colo sempre que precisei, e principalmente por me tornarem a pessoa que sou hoje. Serei eternamente grata por tudo que são em minha vida e por me ajudarem a me tornar uma pessoa melhor todos os dias. Todas as minhas conquistas sempre serão por vocês e para vocês. Amo vocês incondicionalmente!

Aos meus avós (*in memorian*), Ana, Moacyr e Margarida, que infelizmente não puderam estar aqui para ver mais essa conquista, mas, que antes de qualquer outra pessoa sempre se orgulharam e acreditaram que eu seria tudo que quisesse. Obrigada por acreditarem e me amarem tanto, prometo não decepciona-los e trazerem vocês comigo em cada vitória de minha vida! Amo vocês eternamente!

Aos, meus tios Tânia, Gerson, Nádia e Rudacira que sempre estão ao meu lado e me auxiliam em todos os momentos. Obrigada por cuidarem de mim como uma filha. Amo vocês!

Aos meus primos Vinicius, Ester e Marco, que em todos os momentos, mesmo que a distância, me incentivam e me apoiam. Que são os irmãos que eu não tive e que nunca me fizeram falta graças a vocês. Ao meu também primo/irmão Rafael (*in memorian),* que faz uma falta enorme em minha vida, mas que sempre se faz presente em meu coração e em cada conquista de minha vida. Eu amo vocês!

Aos pequenos príncipes e princesas de minha vida Nathalia, Juliana, Gabriel, Giovana, Ana Emilia, Julia Ananda e Antonio, que trazem alegria e leveza aos meus dias e para os quais, mesmo que às vezes longe, estarei disponível para tudo que precisarem. Eu amo vocês!

Ao meu noivo e futuro marido João Henrique que esteve comigo desde o início dessa jornada, me apoiando, incentivando e me aturando nos melhores e piores momentos! Obrigada pela paciência e companheirismo! Obrigada por acreditar e nunca desistir de mim! Você foi essencial nessa jornada, sem você tudo seria mais difícil! Eu amo você de mais!

A todos os meus amigos que sempre acreditaram e torceram por mim, não vou citar nomes porque vocês sabem quem são, seriam muitos nomes e também porque não quero me esquecer de ninguém (risos). Obrigada por tudo!

AGRADECIMENTOS

Ao meu eterno orientador Professor Mario Hiroyuki Hirata, pela disponibilidade e confiança em aceitar me orientar. Obrigada por todas a palavras de incentivo, os desafios e até mesmo pelas broncas, guardarei cada aprendizado que tive com o senhor e levarei pelo resto da minha vida. Gostaria que soubesse que o senhor me tornou não só uma profissional, mas também uma pessoa melhor. Aprendi muita coisa nesses 6 anos e meio trabalhando ao seu lado (2 anos e meio de IC e 4 de Doutorado), mas a principal delas foi a lutar e nunca desistir pois por mais que o desafio pareça impossível ele só será se você permitir. Obrigada por tudo, sempre o terei com carinho e admiração.

À professora Rosário Dominguez Crespo Hirata, pela disponibilidade em auxiliar durante muitos momentos em minha orientação nessa trajetória e por todos os conhecimentos compartilhados. À técnica do nosso laboratório Cristina Farjado, pela disponibilidade em ajudar sempre que necessário.

À equipe do Laboratório de Investigação Molecular em Cardiologia (LIMC) do Instituto Dante Pazzanese de Cardiologia (IDPC), Gisele Medeiros Bastos (Gi), Hui-Tzu Lin Wang (Lin), Adriana Regina Garófalo (Dri) e Ana Cristina Fernandes Lopes (Ana), por toda paciência, dedicação e companheirismo durante essa jornada. Teria sido impossível sem vocês.

À equipe da Seção Médica de Dislipidemia, Dr. André Arpad Faludi, Dr. Rodrigo Marques Gonçalves, Dra. Adriana Bertolami, Dr. Henri Zatz, Dr. Daniel Branco de Araujo e todos que me acolheram de braços abertos e me ajudaram não somente no recrutamento dos pacientes, mas também em tudo que precisei. Vocês foram essenciais nessa trajetória. Muito obrigada pela parceria e paciência comigo. Serei eternamente grata e espero que essa parceria continue por muito tempo!

Aos meus companheiros de loucura (risos) em especial a Thais, Elisangela e Helena, pela parceria de vida, e a Bruna, Aécio, Carolina, Renata e Raul e todos os outros que passaram durante esse tempo por aqui. Cada um teve sua importância e significado nessa trajetória. Me ensinaram e compartilharam momentos que jamais esquecerei! Muito obrigada por tudo!

Ao João Ítalo do IDPC pelas análises estatísticas e ao Gláucio pelas análises de docking molecular.

Aos voluntários que aceitaram participar desta pesquisa e os quais foram essências para que este trabalho acontecesse.

A todos que participaram direta ou indiretamente da minha formação e da minha vida! Todos tem importância e responsabilidade pelo que sou hoje!

RESUMO

BORGES, J. B. **Ultrassequenciamento exômico dos principais genes relacionados com a hipercolesterolemia familial.** 2019. 193f. Tese (Doutorado) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2019.

A frequência de Hipercolesterolemia Familial (HF) ainda é desconhecida no Brasil, principalmente pela ausência de estudos com caracterização genotípica associada à fenotípica. Os dados epidemiológicos existentes se baseiam apenas no fenótipos e carecem do diagnóstico molecular confirmatório. O objetivo do presente estudo foi identificar as principais causas genéticas da HF em pacientes diagnosticados fenotipicamente através de um painel exômico com 61 genes a fim de contribuir para um sistema de confirmação do diagnostico molecular em uma amostra da população brasileira. Para isso foram incluídos 141 pacientes, não aparentados, portadores de HF atendidos pelo setor de dislipidemias do Instituto Dante Pazzanese de Cardiologia, Laboratório de Analises Clinicas da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal do Rio Grande do Norte e do Programa Hipercol Brasil do Instituto do Coração. As amostras de sangue periférico foram obtidas para determinações fenotípicas laboratoriais e extração de DNA genômico. A biblioteca de DNA foi construída utilizando o kit Nextera® Rapid Capture Enrichment Custom enriquecendo os éxons de 61 genes que direta ou indiretamente estão relacionados com metabolismo do colesterol. O ultrassequenciamento foi realizado utilizando kit MiSeq Reagent (300 a 500 ciclos) na plataforma MiSeq (Illumina). Os resultados de sequenciamento foram inicialmente alinhados a uma sequência referência e analisados para eliminação de falsos positivos, segundo os parâmetros de qualidade, tais como: cobertura mínima de 30x, frequência do alelo alterado maior que 20% e diferença da distribuição das leituras entre as sequências nucleotídicas menor que 15%. Foram identificadas 472 diferentes variantes em 56 dos genes presentes no painel, sendo 45 consideradas como não descritas. Nos genes *APOA1*, *APOA2*, *LIPC*, *RBP4* e *TIMP1* não foram observadas variantes dentro dos critérios estabelecidos. Das variantes observadas 25 identificadas em 30 (21,2%) pacientes já tinha sido publicadas em relação à HF nos três principais genes (*LDLR*, *APOB* e *PCSK9*), confirmando o diagnóstico. Foi caracterizado genotipicamente outras dislipidemias primárias em 7 pacientes, sem diagnóstico molecular de HF, através de variantes identificadas no ultrassequenciamento em outros genes. Dos 104 pacientes que não possuíam nenhuma variante já previamente caracterizada, 69 possuíam variantes relacionados com o metabolismo do colesterol. As variantes sem patogenicidade conhecida foram avaliadas através de ferramentas de predição *in silico* e 22 delas possuíam características sugestivas de patogenicidade em pelo menos 4 das ferramentas utilizadas, duas delas também mostraram alterar a estrutura da proteína segundo análises de *docking* molecular. Foram identificadas também 223 variantes em região não transcritas (UTR). Quando realizada as análises estatística de todas as variantes identificadas, observamos associação de 13 variantes com concentrações mais elevadas de colesterol da LDL, 5 com concentrações mais elevadas de apolipoproteina B-100, 5 com concentrações mais elevadas de colesterol total, 6 com presença de arco córneo, 2 com manifestação de xantelasmas, 2 com ausência de xantomas e 3 com a presença de doença arterial coronariana. Dessas 6 variantes já haviam sido previamente descritas com HF ou algum outro fenótipo associado e 2 não tinham citação na literatura pesquisada, mas possuíam característica patogênica para a proteína segundo as ferramentas de predição *in silico*. Este estudo permitiu a identificação das causas genéticas da HF em pacientes brasileiros diagnosticados fenotipicamente, mostrando que a técnica escolhida permitiu caracterizar 21,2% dos pacientes. Além disso, foi possível identificar outras dislipidemias primárias e caracterizar algumas variantes que, apesar de necessitarem serem validadas, indicam uma possível associação com a HF, aumentando o esclarecimento do fenótipo com o genótipo para 74,5%. Este estudo também possibilitou a identificação de novas variantes que devem ser avaliadas para confirmar associação com a doença e utilizar para o diagnóstico propondo um novo painel poligênico.

Palavras-chave: Hipercolesterolemia Familial, APOB, LDLR, PCSK9, Ultrassequenciamento.

ABSTRACT

BORGES, J. B. **Ultrasequensing exomic of the main genes related to familial hypercholesterolemia.** 2019. 193f. Thesis (PhD) - Faculty of Pharmaceutical Sciences, University of São Paulo, São Paulo, 2019.

The frequency of Familial Hypercholesterolemia (FH) is still unknown in Brazil, mainly due to the absence of studies with genotypic characterization associated with phenotype. Existing epidemiological data are based only on the phenotypes and lack the confirmatory molecular diagnosis. The aim of the present study was to identify main genetic causes of FH in patients diagnosed phenotypically through an exomic panel with 61 genes in order to contribute to a system of confirmation molecular diagnosis in a sample of the Brazilian population. To this end, 141 non-related patients with FH treated by the dyslipidemia sector of the Institute Dante Pazzanese of Cardiology, Clinical Analysis Laboratory of the Faculty of Pharmaceutical Sciences of the University Federal of Rio Grande do Norte and the Hipercol Brazil Program of the Heart Institute. Peripheral blood samples were obtained for laboratory phenotypic determinations and extraction of genomic DNA. The DNA library was constructed using the Nextera® Rapid Capture Enrichment Custom kit, enriching with éxons of 61 genes that are directly or indirectly related to cholesterol metabolism. Ultrasequencing was performed using MiSeq Reagent kit (300 to 500 cycles) on the MiSeq platform (Illumina). The sequencing results were initially aligned to a reference sequence and analyzed for false positive elimination according to quality parameters such as: minimum coverage of 30x, altered allele frequency greater than 20%, and difference in the distribution of reads between sequences nucleotides less than 15%. 472 different variants were identified in 56 of the genes present in the panel, of which 45 were considered not described. In the *APOA1*, *APOA2*, *LIPC*, *RBP4* and *TIMP1* genes no variants were observed within the established criteria. In 25 of the variants observed presents in 30 (21.2%) patients had already been published in relation to FH in the three main genes (*LDLR*, *APOB* and *PCSK9*), confirming the diagnosis. Other primary dyslipidemias were caracterized genotypically in 7 patients, without molecular diagnosis of HF, through variants identified in ultrasequencing in other genes. Of the 104 patients who did not have any previously characterized variant, 69 had variants related to cholesterol metabolism. The variants without known pathogenicity were evaluated using in silico prediction tools and 22 of them had characteristics suggestive of pathogenicity at least 4 of the tools used, two of them also showed to alter the structure of the protein according to molecular docking analyzes. Were also identified 223 non-transcribed region (UTR) variants. Statistical analysis of all the variants identified showed association of 13 variants with higher concentrations of LDL cholesterol, 5 with higher concentrations of apolipoprotein B-100, 5 with higher concentrations of total cholesterol, 6 with presence of an arc corneal, 2 with manifestation of xanthelasms, 2 with absence of xanthomas and 3 with the presence of coronary artery disease. Of these 6 variants had previously been described with HF or some other associated phenotype and 2 had no citation in the researched literature, but had a pathogenic characteristic for the protein according to in silico prediction tools. This study allowed the identification of the genetic causes of FH in Brazilian patients diagnosed phenotypically, showing that the technique chosen allowed to characterize 21.2% of the patients. In addition, it was possible to identify other primary dyslipidemias and to characterize some variants that, although they need to be validated, indicate a possible association with HF, increasing the clarification of the phenotype with the genotype to 74.5%. This study also allowed the identification of new variants that should be evaluated to confirm association with the disease and to use for the diagnosis proposing a new polygenic panel.

Key words: Familial Hypercholesterolemia, APOB, LDLR, PCSK9 and ultrasequencing.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Fluxograma do sistema de filtros para seleção das variantes 52
Figura 2: Exemplo de controle de qualidade da biblioteca por eletroforese capilar realizada pelo equipamento automatizado 2200 TapeStation® (amostras HF69, HF 70, HF 93, HF 94, HF 97, HF 99, HF 100, HF 101, HF 108, HF 109, HF 127 e HFI210). A. Controle do DNA genômico; B. Controle de qualidade após a tagmentação, com a maioria dos fragmentos entre 200 e 300pb; C. Controle de qualidade após a indexação, com a maioria dos fragmentos entre 200 e 300pb; D. Controle de qualidade da biblioteca finalizada, com a maioria dos fragmentos entre 200 e 300pb. 60
Figura 3: Representacao geral dos resultados ilustrando o número de variantes identificadas apos aplicação de todas as ferramentas de analise bioinformática. 62
Figura 4: Docking molecular da variante não descrita identificada no gene da *APOB* p.Ala984Thr. À esquerda temos a interação do LDLR (em vermelho) com a apoB-100 selvagem (em azul). À direita a interação do LDLR (em vermelho) com a apoB-100 mutada (em rosa). 79
Figura 5: Docking molecular da variante sem descrição na literatura e com característica patogênica para a proteína identificada no gene da *APOB* p.Pro145Thr. À esquerda temos a interação do LDLR (em vermelho) com a apoB-100 selvagem (em azul). À direita a interação do LDLR (em vermelho) com a apoB-100 mutada (em rosa). 79
Figura 6: Docking molecular da variante sem descrição na literatura e com característica patogênica para a proteína identificada no gene da *APOB* p.Pro877Leu. À esquerda temos a interação do LDLR (em vermelho) com a apoB-100 selvagem (em verde). À direita a interação do LDLR (em vermelho) com a apoB-100 mutada (em rosa). 79
Figura 7: Representaçao gráfica da análise de associação entre a presença das variantes e sua associação com concentrações mais elevadas de LDL-c (p<0,05).....82
Figura 8: Representaçao gráfica da análise de associação entre a presença das variantes e sua associação com concentrações mais elevadas de apoB-100 (p<0,05).....83
Figura 9: Representaçao gráfica da análise de associação entre a presença das variantes e sua associação com concentrações mais elevadas de CT (p<0,05). 83
Figura 10: Representaçao gráfica da análise de associação entre a presença das variantes e sua associação com a presença de arco córneo (p<0,05).....84
Figura 11: Representaçao gráfica da análise de associação entre a presença das variantes e sua associação com a presença de xantelasmas (p<0,05).....84
Figura 12: Representaçao gráfica da análise de associação entre a presença das variantes e sua associação com a ausência de xantomas (p<0,05). 85
Figura 13: Representaçao gráfica da análise de associação entre a presença das variantes e sua associação com a presença de DAC (p<0,05).....85

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Critérios de diagnóstico clínicos de HF, baseados nos critérios da Dutch MEDPED e adaptado da atualização da diretriz brasileira de dislipidemias e prevenção da aterosclerose. 43
Tabela 2: Genes selecionados para o painel de análise exômica, suas localizações cromossomicas e os números de bases estabelecidos. 47
Tabela 3: Banco de dados utilizados para pesquisa de literatura sobre as variantes identificadas.....53
Tabela 4: Dados biodemográficos dos 141 pacientes selecionados para o estudo. 58
Tabela 5: Resultados dos dados laboratoriais, geralmente solicitados para pacientes com suspeita clinica de dislipidemia, dos 141 individuos que participaram do estudo.....59
Tabela 6: Parâmetros de qualidade das corridas de sequenciamento. 61
Tabela 7: Resultados das variantes encontradas com previa descrição na literatura com HF.....63
Tabela 8: Resultados das variantes identificadas que haviam sido publicadas e associadas com outras dislipidemias primárias 65
Tabela 9: Resultados de variantes encontradas nos pacientes do presente estudo, ja descritas na literatura associadas às doenças ou características clínicas semelhantes à HF.....66
Tabela 10: Resultados das variantes mais frequentes encontrada na população de estudo comparado as frequências dos projetos de sequenciamento ESP, EXAC, 1000 genomas, BipMed e AbraON. 69
Tabela 11: Resultados das variantes descritas pelo presente estudo com predição *in silico* sugerindo características patogênicas devido a troca de aminoacido em 4 ou mais das ferramentas utilizadas.....73
Tabela 12: Resultados das variantes novas identificadas nos exons dos 61 genes analisados. 76
Tabela 13: Resultados da análise de associação entre o diagnóstico fenotípico e a contribuição da análise genotípica para utilização clinica. 86

LISTA DE QUADROS

Quadro 1: Lista de genes e o motivo da escolha para a composição do painel de sequenciamento. 144
Quadro 2: Dados bioquímicos e hematológicos dos pacientes do estudo 149
Quadro 3: Quantificação inicial de DNA e avaliação da pureza das amostras utilizadas no sequenciamento. 150
Quadro 4: Parâmetros de qualidade das amostras sequenciadas. 151
Quadro 5: Lista das 472 variantes identificadas no estudo. 156
Quadro 6: Dados das análises estatísticas com resultado significativo ($p<0.05$) das variáveis numéricas contínuas. 175
Quadro 7: Dados das análises estatísticas com resultado significativo ($p<0.05$) das variáveis categóricas. 182

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

3’UTR –Região 3’ Não Traduzida

5’UTR - Região 5’ Não Traduzida

µL - Microlitro

ABC - Cassete ligante de ATP

ABCA1 - Transportador de Cassete Ligante de ATP Subfamília A Membro 1

ABCB1 - Transportador de Cassete Ligante de ATP Subfamília B Membro 1

ABCG5 – Transportador de Cassete Ligante de ATP Subfamília G Membro 5

ABCG8 - Transportador de Cassete Ligante de ATP Subfamília G Membro 8

ACMG - *American College Medical and Genetics*

ADD1 – Adducina 1

ADIPOQ- Adiponectina

AFIP - Associação Fundo de Incentivo à Pesquisa

AGT – Angiotensinogênio

Ala – Alanina

ALOX5AP - Proteína de Ativação de 5-lipoxigenase de Araquidonato

ALT -Alanina Aminotransferase

ANGPTL3 – Angiopoietina Tipo 3

APOA1 - Apolipoproteína A1 (gene)

APOA2 - Apolipoproteína A2

APOA4 –Apolipoproteína A4

APOA5 - Apolipoproteína A5

apoA1 – Apolipoproteína A1 (forma proteica)

APOB - Apolipoproteína B (gene)

apoB-100 - Apolipoproteina B-100 (forma proteica)

APOC1 - Apolipoproteína C1

APOC2 - Apolipoproteína C2

APOC4 - Apolipoproteína C4

APOE - Apolipoproteína E

Arg - Arginina

Asn - Asparagina

Asp - Aspartato (Ácido aspártico)

AST - Aspartato Aminotransferase

AVC - Acidente Vascular Cerebral

AVCI - Acidente Vascular Cerebral Isquêmico

BWA - *Burrows-Wheeler Aligner*

CEP - Comitê de Ética em Pesquisa

CETP – Proteína de Transferência de Ester de Colesterol

CK – Creatinoquinase

ClinVar – *Clinical Variants database*

CLMN – Calmina

CNV - *Copy Number Variants*

Condel - *CONsensus DELeteriousness Score*

COQ10A - Coenzima Q10A

CRABP2 - Proteína de ligação ao ácido retinóico celular 2

CT - Colesterol Sérico Total

CYP2C9 - Citocromo P450 Família 2 Subfamília C Membro 9

CYP3A4 - Citocromo P450 Família 3 Subfamília A Membro 4

CYP3A5 - Citocromo P450 Família 3 Subfamília A Membro 5

CYP7A1 - Citocromo P450 Família 7 Subfamília A Membro 1

Cys – Cisteína

DAC - Doença Arterial Coronariana

DAP - Doença Arterial Periférica

dbSNP - *The Single Nucleotide Polymorphism Database*

DCV - Doenças Cardiovasculares

DM - Diabetes Melito

DNA – Ácido Desoxirribonucleico

Dutch MEDPED - *Dutch Lipid Clinic Network - Make Early Diagnosis to Prevent Early Deaths*

EDTA - Ácido Etilenodiamino Tetra-Acético

EGF - Fator de Crescimento Epidérmico

EGFR – Receptor do Fator de Crescimento Epidérmico

EPHX2 – Epóxidohidrolase 2

ESP - *Exome Sequencing Project*

ExAC– *Exome Agregration Consortium*

F7 – Fator de coagulação 7

FCF - Faculdade de Ciências Farmacêuticas

FDB - Deficiência Familial de apoB-100

FIS - Valores de impacto funcional (*functional impact score*)

GATK- *Genome Analysis Toolkit*

GERP *website* - *Genomic Evolutionary Rate Profiling website*

GHR – Receptor do Hormônio de Crescimento

Gln - Glutamina

Glu - Glutamato (Ácido glutâmico)

Gly - Glicina

GPD1 - Glicerol-3-Fosfato Desidrogenase

GPIHBP1 - Glicosilfosfatidilinositol Ancorada a Proteína de Ligação da Lipoproteína de Alta Densidade 1

GWAS - Estudos de Associação do Genoma Completo (*Genome Wide Association Studies)*

HAS - Hipertensão Arterial Sistêmica

HbA1c- Hemoglobina Glicada

HDL - Lipoproteína de Alta Densidade

HDL-c - Colesterol da Lipoproteína de Alta Densidade

HF - Hipercolesterolemia Familial

His - Histidina

HIV - Vírus da Imunodeficiência Humana

HMGCR - 3-hidroxi-3-methilglutaril-CoA Redutase

HT1 - Tampão de hibridização

IAM - Infarto Agudo do Miocárdio

IDL - Lipoproteína de Densidade Intermediária

IDPC - Instituto Dante Pazzanese de Cardiologia

IGV - Visor Genômico Integrado (*Integrative Genomic Viewer)*

IL10 - Interleucina 10

IL6 - Interleucina 6

Ile - Isoleucina

INCOR – Instituto do Coração

INDELS - Inserção/ Deleção

Kb – kilobases

kDa - kilodalton

KIF6 – Membro 6 da Família Cinesina

LCAT - Lecitina Colesterol Aciltransferase

LDL - Lipoproteína de Baixa Densidade

LDL-c - Colesterol da Lipoproteína de Baixa Densidade

LDLR - Receptor de LDL

LDLRAP1 - Proteína Adaptadora do Receptor de LDL 1

LIPA - Lipase A

LIPC - Lipase C Tipo Hepática

LMF1 - Fator 1 de Maturação da Lipase

lncRNAs - RNAs longos não codificadores

LPL - Lipoproteína Lipase

LRP1 - Proteína relacionada ao receptor de LDL 1

Leu - Leucina

Lys - Lisina

Mass - *Mutation Assessor*

Met - Metionina

mg/dL – miligrama por decilitro

miRNAs – microRNAs

mM - Milimolar

MPO – Mieloperoxidase

mRNA - RNA Mensageiro

MTHFR – Metilenotetrahidrofolato redutase

MTTP– Proteína Microssomal de Transferência de Triacilglicerol

MYLIP - Proteína de Interação da Cadeia Leve Reguladora da Miosina

N - Normal

NaOH - Hidróxido de Sódio

NCBI - *The National Center for Biotechnology Information*

NGS - *Next Generation Sequencing*

NICE - *National Institute for Health and Clinical Excellence*

nM – Nanomolar

NOS3 - Oxido Nítrico Sintase 3

NPC1L1 - Niemann-Pick C1 como Transportador de Colesterol Intracelular 1

NPPA – Peptídeo Natriurético A

OMS - Organização Mundial da Saúde

p – Valor de p

pb – Pares de Bases

PCR - Reação em Cadeia da Polimerase

PCR-us -Proteína C Reativa Ultrassensível

PCSK9 - Proteína Convertase Subtilisina/Kexina Tipo 9

PDB - *RCSB Protein Data Bank*

pH - Potencial Hidrogeniônico

Phe – Fenilalanina

pM - Picomolar

PON1 - Paraoxonase 1

PPP1R17 - Proteína Reguladora da Fosfatase 1 Subunidade 17

Pro – Prolina

PROVEAN - *Protein Variation Effect Analyzer*

qPCR – PCR em Tempo Real

RBP4 – Proteína Ligante de Retinol 4

RM - Revascularização do Miocárdio

RNA - Ácidos Ribonucleicos

RTA - *Real-Time Analysis*

SAR1B - Secreção Associada à Ras relacionada à GTPase 1B

SCAP - SREBF chaperona

SCARB1 - Receptor *scavenger* classe B membro 1

Ser - Serina

SIFT - *Sorts Intolerant From Tolerant Substitutions*

SLCO1B1 - Transportador Carregador de Soluto Aniônico Membro da Família 1B1

SNP – Polimorfismo de nucleotídeo único (*Single Nucleotide Polymorphis)*

SORT1 - Sortilina 1

SPB - *Sample Purification Beads*

SREBF1 - Fator de Transcrição do Elemento Regulador do Esterol 1

SREBF2 - Fator de Transcrição do Elemento Regulador do Esterol 2

SSCP - Polimorfismo Conformacional de Fita Simples (*Single-Strand Conformational Polymorphism)*

STAP1 - Membro 1 da Família do Adaptador de Transdução de Sinal

SUS - Sistema Único de Saúde

T4 livre - Tiroxina Livre

Ter - Terminal

TG – Triacilgliceróis

Thr - Treonina

TIMP1 - Inibidor Metalopeptidase 1

TNF – Fator de Necrose Tumoral

TRIB1 - Tribbles Pseudocinase 1

Tris-HCl - Trisaminometano com Ácido Clorídrico

Trp - Triptofano

TSH -Hormônio Estimulador da Tireoide

Tyr – Tirosina

UFRN - Universidade Federal do Rio Grande do Norte

USP - Universidade de São Paulo

UV – Ultravioleta

Val - Valina

VLDL - Lipoproteína de Muita Baixa Densidade

ÍNDICE

1. INTRODUÇÃO 21
1.1 DISLIPIDEMIAS 21
1.2 CLASSIFICAÇÕES DAS DISLIPIDEMIAS 21
1.2.1 Dislipidemias secundárias 22
1.2.2 Dislipidemias primárias 22
1.2.1.1 Hipercolesterolemia Familial 23
1.2.1.1.1 Gene do receptor de LDL (LDLR) 27
1.2.1.1.2 Gene da Apolipoproteína B (APOB) 30
1.2.1.1.3 Gene da Proteína Convertase Subtilisina/Kexina tipo 9 (PCSK9) 32
1.2.3 Hipercolesterolemia Poligênica 33
1.3 DIAGNÓSTICO MOLECULAR DA HIPERCOLESTEROLEMIA FAMILIAL 34
2. JUSTIFICATIVA 39
3. OBJETIVOS 41
3.1 OBJETIVO GERAL 41
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS 41
4. CASUÍSTICA, MATERIAIS E MÉTODOS 43
4.1 CASUÍSTICA E PROTOCOLO DE INVESTIGAÇÃO 43
4.2 AVALIAÇÃO CLÍNICA E AMOSTRAS BIOLÓGICAS 44
4.3 DETERMINAÇÕES LABORATORIAIS 45
4.4 EXTRAÇÃO DO DNA GENÔMICO 46
4.5 DETERMINAÇÃO DE VARIANTES POR SEQUENCIAMENTO EXÔMICO 46
4.5.1 Painel de genes 46
4.5.2 Preparo de biblioteca 48
4.5.3 Sequenciamento pelo Sistema MiSeq 50
4.5.4 Bioinformática: identificação de variantes e caracterização genética 51
4.5.5 Análise das variantes conhecidas 53
4.5.6 Análise de variantes sem literatura disponível 53
4.5.7 Análise das variantes não descritas 55
4.5.7.1 Análise de Docking Molecular 55
4.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA 55

5. RESULTADOS 58
5.1 CARACTERISTÍCAS BIODEMOGRÁFICA 58
5.2 CONTROLE DE QUALIDADE DO PREPARO DE BIBLIOTECA 59
5.3 CONTROLE DE QUALIDADE DO SEQUENCIAMENTO 61
5.4 CARACTERÍSTICAS GENÉTICAS 61
5.5 VARIANTES NÃO DESCRITAS 76
5.6 ANALISE DAS VARIANTES POR DOCKING MOLECULAR 78
5.7 ANÁLISE DE RELAÇÃO FENÓTIPO VERSOS GENÓTIPOS 80
5.8 DIAGNÓSTICO FENOTÍPICO E GENOTÍPICO 86
6. DISCUSSÃO 92
7. CONCLUSÕES 108
8. REFERÊNCIAS 110
9. ANEXOS 128

INTRODUÇÃO

1. INTRODUÇÃO

1.1 DISLIPIDEMIAS

Segundo o último relatório da Organização Mundial da Saúde (OMS) cerca de 17,7 milhões de pessoas morreram decorrente das doenças não transmissíveis, incluindo as doenças cardiovasculares (DCV), sendo que 37% ocorreram prematuramente em pessoas antes dos 70 anos (OMS, 2017).

Um risco aumentado de doença cardiovascular tem sido associado às condições dislipidêmicas. Estudos epidemiológicos demonstraram que elevadas concentrações de colesterol plasmático, principalmente o transportado pelas lipoproteínas de baixa densidade (LDL), estão associadas ao aumento das DCVs. Sua detecção precoce e o tratamento adequado são fundamentais para a correta prevenção e controle da progressão destas doenças (CASTRO CABEZAS; BURGGRAAF; KLOP, 2018; NELSON, 2013).

A dislipidemia é um conjunto de alterações decorrentes de perturbações funcionais em qualquer fase do metabolismo lipídico. Estas se manifestam pelo aumento da concentração do colesterol sérico total (CT), do colesterol da lipoproteína de baixa densidade (LDL-c) e dos triacilgliceróis (TG), ou pela diminuição do colesterol da lipoproteína de alta densidade (HDL-c) (MESH, 2006). Os lipídeos plasmáticos variam em indivíduos normais de diferentes comunidades, devido às diferenças genéticas e estilo de vida, incluindo variações nos hábitos alimentares e de atividade física (BEGUM et al., 2016; MUSUNURU; KATHIRESAN, 2016).

1.2 CLASSIFICAÇÕES DAS DISLIPIDEMIAS

A classificação das dislipidemias baseava-se nos padrões de aumento dos lipídios plasmáticos (fenótipo de Fredrickson) (FREDRICKSON, 1971). Atualmente são categorizadas como primárias ou secundárias.

1.2.1 Dislipidemias secundárias

As dislipidemias secundárias são decorrentes de outras doenças como a diabetes melito (DM), hipotireoidismo, doenças renais e/ou hepáticas, além de fatores como a obesidade, menopausa, dieta rica em ácidos graxos, sedentarismo, tabagismo e alcoolismo. O tratamento das dislipidemias secundárias consiste em controlar primeiramente a doença de base e eventualmente associar ao tratamento farmacológico com hipolipemiantes (FREITAS, 2010).

1.2.2 Dislipidemias primárias

As dislipidemias primárias, que serão abordadas neste estudo, decorrem de mutações genéticas únicas ou múltiplas que afetam a síntese e o metabolismo de lipoproteína com superprodução ou remoção plasmática defeituosa de LDL, baixa produção de lipoproteína de alta densidade (HDL) ou diminuição da hidrólise de TG. (XAVIER et al., 2013). Podem ser classificadas fenotipicamente ou genotipicamente.

A classificação fenotípica ou bioquímica considera os valores do CT, LDL-c, TG e HDL-c. Assim como os valores de apolipoproteína B-100 (apoB-100) e apolipoproteína A1 (apoA1). Compreende quatro tipos principais bem definidos de interesse clínico e com algumas características genéticas já determinadas, que se segue. (HEGELE et al., 2015; XAVIER et al., 2013):

Hipercolesterolemia isolada: Aumento isolado do LDL-c (> 160 mg/dL). É uma dislipidemia monogênica determinada principalmente pelos genes: receptor de LDL (*LDLR*), apolipoproteína B (*APOB*), proteína convertase subtilisina/kexina tipo 9 (*PCSK9*), membro 1 da família do adaptador de transdução de sinal (*STAP1*), apolipoproteína E (*APOE*), proteína adaptadora do receptor de LDL 1 (*LDLRAP1*), lipase A (*LIPA*), transportador de cassete ligante de ATP subfamília G membro 5 (*ABCG5*) e transportador de cassete ligante de ATP subfamília G membro 8 (*ABCG8*).

Hipertrigliceridemia isolada: Aumento isolado dos TG séricos (>150 mg/dL), transportados principalmente pela lipoproteína de muita baixa densidade (VLDL), lipoproteína de densidade intermediária (IDL) e quilomícrons (colesterol não-HDL). Esta dislipidemia monogênica é causada por mutações no gene da lipoproteína lipase (*LPL*),

apolipoproteína C2 (*APOC2*), apolipoproteína A5 (*APOA5*), fator 1 de maturação da lipase (*LMF1*), glicosilfosfatidilinositol ancorada a proteína de ligação da lipoproteína de alta densidade 1 (*GPIHBP1*), glicerol-3-fosfato desidrogenase (*GPD1*) e *APOE*.

Hiperlipidemia mista ou combinada: Essa dislipidemia poligênica apresenta valores de LDL-c (> 160 mg/dL) e TG (>150 mg/dL) aumentados. Atualmente se utiliza o valor do colesterol não-HDL como indicador e meta terapêutica.

Hipoalfalipoproteinemia ou HDL-c baixo: Redução do HDL-c (homens <40 mg/dL e mulheres <50 mg/dL). Na forma isolada é considerada uma dislipidemia monogênica causada por mutações nos genes do transportador de cassete ligante de ATP subfamília A membro 1 (*ABCA1*), apolipoproteína A1 (*APOA1*) e lecitina colesterol aciltransferase (*LCAT*). Pode também ser encontrada em associação com aumento de LDL-c ou de TG, sendo então poligênica.

Dentre as diversas dislipidemias a de maior importância epidemiológica e clinica é a Hipercolesterolemia Familial (HF).

1.2.1.1 Hipercolesterolemia Familial

A HF é uma dislipidemia primária considerada como problema de saúde mundial reconhecido pela OMS desde 1997 e destaca-se entre as dislipidemias que exigem tratamento na infância e adolescência, por ser uma das doenças de herança monogênica mais frequente. (SANTOS et al., 2012; WHO HUMAN GENETICS PROGRAMME, 1997).

A prevalência global de HF, atualmente considerada, é de até 1: 200 na forma heterozigota e 1: 160.000 na homozigota, o que implica em mais de 30 milhões de indivíduos afetados. Mas esta frequência pode ser diferente entre as populações, por exemplo, a prevalência da forma heterozigota em Sul Africanos é de 1:67 e em Libaneses 1: 85. (BRAUTBAR et al., 2015; NORDESTGAARD; BENN, 2017; VALLEJO-VAZ et al., 2015).

É importante considerar que, com algumas exceções, o diagnóstico de HF está bem abaixo do estimado pela literatura. Na maioria dos países, menos de 1% da população foram diagnosticados (STOCK, 2013). Este fato deve-se a múltiplas razões, tais como: falta de validação dos registros médicos, falhas nas estratégias de triagem de novos casos, falta de

investimentos no custeio dos testes genéticos, ou até mesmo a falta de conhecimento da fisiopatologia. Pode-se observar, portanto, a evidente necessidade de investimento financeiro, estrutural e da educação continuada na organização de propostas para melhorar o diagnóstico e terapêutica individualizada para a HF.

A expectativa de vida de portadores de HF é reduzida devido à alta incidência, cerca de 13%, de doença arterial coronariana (DAC) prematura (em homens abaixo de 55 anos e em mulheres abaixo de 65 anos). Indivíduos heterozigotos sem tratamento possuem um risco alto de DAC prematura, em relação a indivíduos não afetados. No caso dos homozigotos, quando não tratados, geralmente a sobrevivência não ultrapassa 30 anos de idade (PÉREZ DE ISLA et al., 2016; VALLEJO-VAZ et al., 2015). Assim, é importante identificar, precocemente, os indivíduos com HF para melhorar seu prognóstico através de intervenções terapêuticas adequadas. Além disso, é crucial para a realização da triagem seguindo um protocolo validado para detectar outros membros da família afetados pela doença, especialmente as crianças, antes da manifestação dos sintomas clínicos (HOPKINS, 2010; MARTIN; WATTS, 2017).

A HF é usualmente diagnosticada por caracterização fenotípica com base na presença de sinais clínicos típicos, como xantomas e arco córneo, DAC precoce e concentrações elevadas de LDL-c, assim como a história familiar de HF. Os sinais clínicos são específicos, mas pouco sensíveis, pois nem sempre estão presentes na forma heterozigótica da doença. Isso dificulta o diagnóstico que é confirmado tardiamente e está associado com um pior prognóstico (SANTOS et al., 2012).

A forma de herança clássica da HF é autossômica dominante que é causada por mutações funcionais nos genes do *LDLR*, da *APOB* e da *PCSK9*, proteínas que regulam a homeostase do colesterol (NAJAM; RAY, 2015; SANTOS; MARANHAO, 2014).

Mutações no gene que codifica o *LDLR* são as alterações moleculares encontrados na maioria dos pacientes com HF (FUTEMA et al., 2014). Mudanças na sequência aminoacídica do LDLR resultam em formação de estrutura proteica inadequada e menor ligação a apoB-100, o que determina o processamento inadequado do LDL-c e consequentemente determinam o seu aumento no plasma, que é uma das causas mais importantes do aumento do risco de DCV, particularmente a DAC prematura (DE CASTRO-ORÓS; POCOVÍ; CIVEIRA, 2010; MARKS et al., 2003).

Formas menos frequentes de HF são associadas com mutações em outros genes envolvidos no metabolismo do colesterol, como é o caso de mutações no gene que codifica a *APOB* (ALVES et al., 2014). Mutações funcionais nesse gene resultam em interação defeituosa da apoB-100 das partículas de LDL circulantes com o LDLR nas células e são responsáveis por cerca de 5 – 10% dos casos de HF (HOOPER et al., 2018). Mutações no gene que codifica a PCSK9, responsável pelo catabolismo do LDLR (OMIM # 603776), também tem sido associada com HF em cerca de 2% dos casos (AL-MASHHADI et al., 2013; HOOPER et al., 2018).

Há também as formas autossômicas recessivas de HF que são mais raras (frequência estimada em 1: 5.000.000). Uma delas decorre de mutações no gene que codifica a LDLRAP1. Esta proteína é responsável pela associação do LDLR com as clatrinas, nas fendas revestidas da membrana de superfície celular. Mutações neste gene levam a perda de função da proteína acarretando no aumento de LDL-c. Somente os indivíduos homozigotos ou heterozigotos compostos apresentam o fenótipo de HF. Os indivíduos heterozigotos simples não manifestam a doença (BRAUTBAR et al., 2015; SANTOS; MARANHAO, 2014).

Outro tipo de HF recessiva é denominado sitosterolemia e ocorre por mutações nos genes *ABCG5* e *ABCG8* que codificam proteínas transportadoras da família cassete ligante de ATP (ABC). Os pacientes com sitosterolemia, diferentemente dos HF clássica, apresentam concentrações elevadas de esteróis de plantas, como sitosterol e campesterol, adquiridos pela dieta (LI et al., 2016; NAJAM; RAY, 2015; SANTOS et al., 2012).

O diagnóstico molecular da HF é baseado na pesquisa de mutações funcionais, nos genes causadores da HF autossômica dominante. No entanto, apesar de várias mutações funcionais associadas à HF já terem sido descritas nos genes *LDLR*, *APOB* e *PCSK9*, na última década, outros genes envolvidos em vias metabólicas do colesterol também vêm sendo associados (DEFESCHE et al., 2017; HOOPER et al., 2018).

O guia do *National Institute for Health and Clinical Excellence* (NICE) do Reino Unido, publicado em 2008, indica o diagnóstico de HF por testes genéticos e a confirmação da mutação encontrada em parentes de até terceiro grau (WIERZBICKI; HUMPHRIES; MINHAS, 2008). De forma similar o critério do *Dutch Lipid Clinic Network - Make Early Diagnosis to Prevent Early Deaths* (Dutch MEDPED) recomenda a inclusão de testes genéticos para o diagnóstico da HF. A Dutch MEDPED foi utilizada como base pela I Diretriz

Brasileira de Hipercolesterolemia Familiar para estabelecer o diagnóstico de HF no Brasil, que recomenda a triagem de crianças a partir dos dois anos de idade (SANTOS et al., 2012). Entretanto os testes genéticos ainda são pouco utilizados na prática clínica.

Um fator limitante para o uso de testes genéticos é que as tecnologias disponíveis permitem avaliar apenas algumas regiões dos genes candidatos, abrangendo no máximo 4-5% das mutações associadas com HF (TAYLOR et al., 2010). Tecnologias de triagem de mutações e confirmação por sequenciamento ou métodos de detecção direta de mutação podem ser utilizadas no diagnostico da HF, como as utilizadas por nosso grupo para investigação de mutações nos genes *LDLR* e *APOB* (CAVALLI; HIRATA; HIRATA, 2001; SALAZAR et al., 2002; SALAZAR; HIRATA; HIRATA, 2002). No entanto rotineiramente, no caso do *APOB*, apenas um fragmento do éxon 26 e do éxon 29 são analisados, o que diminui a eficiência do diagnóstico molecular (ALVES et al., 2014). Com isso o diagnóstico molecular apresenta alta taxa de resultados falso-negativos e menor probabilidade de encontrar a alteração causal, dificultando o diagnóstico.

Outro aspecto é que mutações já identificadas nos genes *LDLR*, *APOB* e *PCSK9* relacionadas à HF têm distribuição e frequências diferentes entre as populações (BRAUTBAR et al., 2015; LIYANAGE et al., 2011). Os testes genéticos disponibilizados por serviços de laboratório clínico incluem a pesquisa de mutações mais prevalentes nas populações europeias e americanas, o que limita o diagnóstico molecular da HF no nosso país, que não dispõe de um banco de dados próprio. Assim, os resultados obtidos na maioria das vezes precisam ser comparados e validados com sequências de outras populações, disponíveis em banco de dados públicos, o que pode gerar muitas interpretações inadequadas.

Nos últimos anos, têm sido utilizadas tecnologias mais abrangentes para a pesquisa genotípica da HF no mundo, o que aumenta a sensibilidade diagnóstica e a variedade dos bancos de dados já existentes e dos em desenvolvimento, acelerando a sua formulação e ampliação. As novas tecnologias de sequenciamento de ácido desoxirribonucleico (DNA), denominadas de sequenciamento de alto rendimento ou *Next Generation Sequencing* (NGS), possibilitam reduzir o tempo de validação genotípica da HF, confirmar os casos suspeitos e avaliar com maior eficiência os familiares afetados que ainda não apresentam evidências clínicas da doença (FUTEMA et al., 2012; MAGLIO et al., 2014; NORSWORTHY et al., 2014; VANDROVCOVA et al., 2013).

O NGS é aplicável a estudos populacionais que contribuem para o conhecimento das bases moleculares e da epidemiologia de doenças genéticas e com custo acessível. Outro estudo do nosso grupo utilizou a NGS para o diagnóstico molecular da hipertrofia cardíaca e mostrou a presença de mutações em genes relacionados com a hipertrofia em 85% dos casos, resultado similar ao de outras populações (CASTRO, 2015). Os 15% restantes não explicados pela genômica estrutural, podem estar relacionados com variantes intrônicas ou mecanismos epigenômicos, tais como os sistemas de regulação gênica por metilação de DNA, acetilação de histonas, e inibição/degradação de ácidos ribonucleicos (RNA), sendo o RNA mensageiro (mRNA) inibido por microRNAs (miRNAs) ou RNAs longos não codificadores (lncRNAs).

Desta forma a aplicação de NGS para o estudo genômico da HF na população brasileira se torna uma grande possibilidade de avanço no conhecimento da epidemiologia molecular desta doença e na estruturação de um banco de dados genômicos.

1.2.1.1.1 Gene do receptor de LDL (LDLR)

O gene *LDLR* está localizado no braço curto do cromossomo 19 (19p13.1-13-3) e compreende 45 kb, com 18 éxons que codificam 839 aminoácidos na sua forma madura. Esse gene é majoritariamente expresso no fígado, embora também seja expresso em células do tecido periférico. A proteína é inicialmente sintetizada sob a forma de um precursor com um peso molecular próximo de 120 kDa, que posteriormente migra para o aparelho de Golgi onde sofre glicosilação extensa, atingindo a forma madura com 160 kDa (LINDGREN et al., 1985; MOLLAKI; PROGIAS; DROGARI, 2013; YAMAMOTO et al., 1984).

Mutações nesse gene são responsáveis por cerca de 80% dos casos de HF. As primeiras mutações relacionadas foram identificadas pelos pesquisadores Goldstein e Brown. Eles detectaram que a ausência total ou parcial de LDLR era responsável pela fisiopatologia dessa doença. Desde essa data, esse gene tem sido alvo de vários estudos (BROWN; GOLDSTEIN, 1974; DE CASTRO-ORÓS; POCOVÍ; CIVEIRA, 2010; GOLDSTEIN; BROWN, 1974; WIEGMAN et al., 2015).

Portadores de mutações no gene *LDLR* em homozigose apresentam concentrações de LDL-c no plasma extremamente elevada, atingindo valores entre 600-1.200 mg/dL. Enquanto

os heterozigotos, apresentam valores de LDL-c entre 300 e 440 mg/dL (SANTOS et al., 2012). Esse aumento da LDL plasmática resulta em infiltração acelerada de colesterol para alguns tecidos, levando a manifestações clínicas como arco córneo, xantelasmas, xantomas tuberosos e tendinosos (BRAUTBAR et al., 2015). A mais importante manifestação é a deposição de colesterol na íntima das artérias com aumento importante no risco de desenvolver aterosclerose prematura ainda na infância (LIBBY; BORNFELDT; TALL, 2016).

Mais de 2000 mutações já foram descritas neste gene, segundo o banco de dados do *Clinical Variants database (ClinVar)* do *The National Center for Biotechnology Information* (NCBI), 2300 variantes humanas possuem significado clínico com HF, podendo ser patogênico, benigno, incerto ou outro (BENITO-VICENTE et al., 2018; USIFO et al., 2012). As mutações neste gene são classificadas em cinco categorias: (i) Classe I: são as mais comuns, tais como grandes deleções, mutações nas regiões promotora, região 5' não traduzida (5'UTR) e codificadora do gene, que resultam em uma proteína de LDLR não detectável; (ii) Classe II: causa um bloqueio parcial ou completo do transporte do LDLR do retículo endoplasmático para o aparelho de Golgi; (iii) Classe III: afetam o domínio de ligação do receptor às partículas de LDL, os receptores atingem a membrana citoplasmática, mas não se ligam ou ligam-se parcialmente; (iv) Classe IV: causa uma deficiência na interiorização do LDL; (v) Classe V: impedem a dissociação do complexo LDL-LDLR sendo degradado junto com a molécula de LDL no endossomo (CHOUMERIANOU; DEDOUSSIS, 2005; SCHAEFER et al., 2012).

A concentração plasmática do LDL-c, apesar de ser um fator independente para o desenvolvimento de DCV é de especial importância naqueles pacientes com as mutações de classe I causadoras de fenótipos mais severos clinicamente (ALONSO et al., 2014).

A associação entre as diferentes mutações com DCV e resposta a estatina também foi observada em uma população brasileira com HF heterozigótica (SANTOS et al., 2014).

As principais alterações no *LDLR* são as mutações na extremidade 5'UTR (0,8%), pequenas deleções (1,6%), grandes rearranjos cromossômicos (9,0%), mutações sem sentindo (*nonsense*, 9,0%), mutações por deslocamento (*frameshift*, 18,0%), mutações na região de processamento de RNA (*splicing*, 9,0%) e mutação de sentido trocado (*missense*, 46,0%) (CHORA et al., 2018; MARDUEL et al., 2010).

Aproximadamente, 36 variantes já descritas e associadas com HF encontram-se nas regiões 3’ não traduzidas (3’UTR) e 5’UTR do gene *LDLR*, muitas das quais têm demonstrado alterar a ligação de fatores de transcrição importantes envolvidos no controle da expressão de LDLR e podem estar influenciando o fenótipo de HF (DE CASTRO-ORÓS et al., 2011; LIU et al., 2000; NATESAMPILLAI et al., 2006). Dessas, três, estão descritas na literatura em pacientes com diagnóstico de HF (*c.-101T>C, c.-121T>C e c.-215A>G*) (USIFO et al., 2012). Porém estudos com ensaios de luciferase encontraram associação apenas para as variantes *c.-101T>C, c.-121T>C* como provável causa de HF (KHAMIS et al., 2015).

Estudos iniciais do nosso grupo relataram a influência de polimorfismos comuns no *LDLR* com maior risco de DCV, hipercolesterolemia e xantelasma em indivíduos brasileiros (NAKAZONE et al., 2009; SALAZAR et al., 1999, 2000a, 2000b).

Posteriormente utilizou-se o método de polimorfismo conformacional de fita simples (*Single-Strand Conformational Polymorphism* - SSCP) para triagem de mutações no *LDLR* e detectou-se 22 mutações em 35 pacientes com HF heterozigótica, sendo 8 mutações conhecidas *(p.Glu92Ter, p.Arg236Trp, p.Gli322Ser, p.Gli352Asp, p.Ala370Thr, p.Cys371Ter, p.Cys675Trp, p.Cys677Tyr)* e 7 mutações novas *(p.Gli(-20)Arg, p.Thr476Pro, p.Val503Gli, p.Asp580His, p.Ser652Arg, p.FsArg757, p.FsSer828)* (SALAZAR et al., 2002; SALAZAR; HIRATA; HIRATA, 2002).Outros estudos na população brasileira também reportaram mutações nos éxons 7 e 14 (DOS SANTOS; ZAGO, 2003) e uma deleção de 4-kb no gene do *LDLR* entre o íntron 12 e o 14, conhecida como mutação *LDLR* libanesa (ALBERTO et al., 1999).

Com o avanço das tecnologias de sequenciamento inúmeras variantes vem sendo identificada, um estudo recente de NGS por exemplo, caracterizou a variante *LDLR* c.1186+2T>G como nova e comum causa da doença em Taiwaneses (HSIUNG et al., 2018). Outro estudo identificou a variante *LDLR* c.1448G > A como mais frequente na população Chinesa (SUN et al., 2018).

No Brasil, trabalhos recentes vem mostrando a presença das variantes *LDLR p.Cys222Ter*, *p.Glu288Lys*, *p.Asp301Tyr*, *p.Asp307Asn*, *p.Asp178Tyr*, *p.Cys184Tyr*, *p.Ser326Cys*, *p.Cys681Ter*, *IVS7+10G>C*, *IVS11-10G>A* e uma variante nova identificada *IVS11-63C>A* (MOLFETTA et al., 2017; PAMPLONA-CUNHA et al., 2019).

Para auxiliar na caracterização da funcionalidade das variantes novas identificadas, um estudo recente utilizou um modelo para prever sistematicamente 13.167 potenciais variantes no *LDLR* com efeitos biológicos. O impacto funcional de 52 de 54 mutações específicas, com dados experimentais in vitro relatados, foi previsto corretamente. Outros testes funcionais em variantes do *LDLR* de pacientes também foram consistentes com a previsão do modelo (GUO et al., 2018).

Estudos mais recentes mostraram que portadores de variantes no *LDLR* possuem lesões mais severas que pacientes positivos para outras variantes. Quando apresentada em heterozigose as variantes deste gene também apresentam fenótipo mais grave, tendo valores de LDL-c mais elevados que os demais. Há também uma variação do fenótipo de acordo com o tipo de variante identificada (ABUL-HUSN et al., 2016; CUI et al., 2019; SANTOS et al., 2014).

1.2.1.1.2 Gene da Apolipoproteína B (APOB)

O gene *APOB* está localizado no cromossomo 2 (2p23-24) e tem 43 kb de extensão com 29 éxons que codificam 4536 aminoácidos (RADER; COHEN; HOBBS, 2003). A região do domínio da apoB-100 responsável pela ligação da LDL ao receptor está entre os aminoácidos 3386 e 3396 (MÄRZ et al., 1993). Mutações nesta região causam a deficiência familial de apoB-100 (FDB) (SORIA et al., 1989). Estas alterações diminuem a remoção plasmática de LDL circulante, pois a apoB-100 é responsável pelo reconhecimento do receptor, que remove 60 a 80% destas partículas do sangue (QUINTÃO; NAKANDAKARE; PASSARELLI, 2011).

As mutações causadoras de FDB são responsáveis por aproximadamente 5 - 10% dos casos de HF. Variantes como p.*Arg3500Gln* ou *p.Arg3527Gln, p.Arg3507Trp, p.Arg3558Cys, p.Trp4396Tyr*, foram associadas com a FDB em diferentes populações, sendo a primeira a geralmente investigada nos testes genéticos para HF (HOOPER et al., 2018; INNERARITY et al., 1990; LIYANAGE et al., 2008; PULLINGER et al., 1999; WIEGMAN et al., 2015).

Outras mutações, como *p.Arg3531Cys, p.Arg3527Tyr* e a *p.Arg3527Gln*, foram descritas no gene da *APOB* (ABIFADEL et al., 2014; MYANT, 1993). A mutação *p.Arg3527Tyr* é a menos frequente, todavia a mais comum na população Chinesa (TAI; PAN;

LEE-CHEN, 1998). A mutação missense *p.Arg3527Gln* é a mais comum na Europa (MISEREZ; MULLER, 2000). Um estudo realizado na Espanha descreveu a existência de mutações no gene *APOB* em 13 casos, 11 dos quais na zona da Galiza (CASTILLO et al., 2002). Em Portugal já foram descritos 3 casos de indivíduos com a mutação *p.Arg3527Gln* e 1 caso com a mutação p.*Tyr3560Cys* (MEDEIROS et al., 2010).

Mais recentemente um estudo com duas grandes coortes da Coréia do Sul (*Dong-gu Study* e *Namwon Study*) identificou a variante *APOB p. Arg3527Trp* como a variante mais frequente nessa população (KIM; KWEON; SHIN, 2018).

No Brasil, nosso grupo não detectou a mutação *p.Arg3500Gln* em um estudo com pacientes hipercolesterolêmicos (CAVALLI et al., 2000). Por outro lado, observamos que polimorfismos e haplótipos comuns no gene da *APOB* estão associados com variabilidade no perfil lipídico, dislipidemia, risco cardiovascular e presença de xantelasma na população brasileira (CAVALLI et al., 2000; MACHADO et al., 2001; NAKAZONE et al., 2009; RODRIGUES et al., 2013).

Rotineiramente apenas dois fragmentos, um do éxon 26 e um do éxon 29 são analisados (ALVES et al., 2014). Sequenciar os 29 éxons do gene da *APOB* utilizando plataformas de ultrassequenciamento pode ser requerido para determinar em quais regiões deste grande e altamente polimórfico gene pode haver mutações que causem HF (THOMAS et al., 2013). O espectro de variantes funcionais localizadas em outros éxons da *APOB* vem aumentando. Um estudo recente, por exemplo, identificou e caracterizou *in vitro* as variantes *p.Pro994Leu* e *p.Thr3826Met* nos éxons 19 e 26 (CATARINA ALVES et al., 2018). Outro estudo identificou a variante rs515135 em região 5’UTR com significante relação com HF (KARAMI; SALAHSHOURIFAR; HOUSHMAND, 2019).

A importância do *screening* em regiões adicionais do *APOB* também foi enfatizada por Motazacker e colaboradores que identificaram 2 pacientes com mutações fora do éxon 26 (MOTAZACKER et al., 2012).

*1.2.1.1.3 Gene da Proteína Convertase Subtilisina/Kexina tipo 9 (*PCSK9*)*

O gene *PCSK9* está localizado no braço curto do cromossomo 1 (1p32), possui 22kb, e é composto por 12 éxons que codificam uma proteína de 72 kDa (pro-PCSK9), posteriormente clivada, no retículo endoplasmático, em um pró domínio de 14 kDa e uma porção de 63 kDa. Esta enzima é responsável pela regulação pós-transcricional do LDLR, através da ligação ao domínio do fator de crescimento epidérmico (EGF) deste receptor, facilitando a interiorização no compartimento lisossomal, onde este é degradado (HORTON; COHEN; HOBBS, 2007; LAMBERT et al., 2009; MOUSAVI; BERGE; LEREN, 2009).

Mutações no gene da *PCSK9* do tipo ganho de função (*gain-of-function*), como *p.Ser127Arg, p.Phe216Leu* e outras, são causa de cerca de 2% da HF autossômica dominante, através do aumento da taxa de degradação de LDLR resultando em um aumento expressivo de LDL-c (ABIFADEL et al., 2003; HOOPER et al., 2018; LAMBERT et al., 2009; MOUSAVI; BERGE; LEREN, 2009; WIEGMAN et al., 2015). Outra mutação descrita foi a *p.Asp374Tyr* que aumenta a afinidade da PCSK9 pelo LDLR devido à diminuição significativa da constante de velocidade de dissociação, isso acarreta um déficit na endocitose de LDL, o que caracteriza um fenótipo acentuado de HF (GESCHWINDNER et al., 2015; TIMMS et al., 2004).

Recentemente nosso grupo, investigou três polimorfismos comuns no gene da *PCSK9* e observou relação da variante *p.Glu670Gly* com a hipercolesterolemia em pacientes dislipidêmicos brasileiros (ANDERSON et al., 2014). Também observamos que a variante *PCSK9 c.*614C>T* contribuiu na variabilidade do HDL no plasma, em indivíduos normolipidêmicos (ZAMBRANO et al., 2015).

Um estudo recente em duas coortes da Coréia do Sul identificou e associou através de NGS duas variantes raras *p.Glu85Lys* e *p.Arg499Cys* (KIM; KWEON; SHIN, 2018). Uma revisão na população Italiana mostrou as variantes *PCSK9 p.Arg496Trp* e *p.Asn425Ser* como causa de HF nesta população (BERTOLINI et al., 2017).

Algumas mutações no *PCSK9* também podem causar a perda de função (*loss-of-function*), como as *p.Arg46Leu e p.Cys679Ter*, reduzindo a degradação de LDLR, o que resulta em valores diminuídos de LDL-c e menor risco de doença cardiovascular (COHEN et al., 2006). As mutações de perda de função foram objeto de estudos para o desenvolvimento de anti-PCSK9, uma nova classe de medicamentos utilizados no tratamento da

hipercolesterolemia (ABIFADEL et al., 2014; LAMBERT et al., 2014; PIPER et al., 2007; SHEN et al., 2013).

1.2.3 Hipercolesterolemia Poligênica

Mutações nos genes do *LDLR, APOB* ou *PCSK9* são identificadas como a principal causa de HF monogênica, no entanto, apenas 20 – 60% dos indivíduos com HF são positivos nos testes genéticos. Assim, outros genes envolvidos na homeostase do colesterol e que causam pequenas alterações na colesterolemia, podem estar associados com a HF poligênica (NIKKOLA et al., 2017; STURM et al., 2018).

Com o avanço dos estudos de associação do genoma completo (*Genome Wide Association Studies – GWAS*), aumentou drasticamente o número de *loci* identificados que estão relacionados com as alterações lipídicas. Essas variantes juntas podem explicar aproximadamente 12-15% da variação total dos valores de LDL-c o que corresponde a 25-30% da contribuição genética. Isso sugere que muitos genes e variantes genéticas associadas com a concentração de colesterol plasmática ainda precisam ser identificados (CHRISTOFFERSEN; TYBJÆRG-HANSEN, 2015).

Estudos de polimorfismos genéticos têm contribuído de forma ainda modesta para identificação de alterações responsáveis pela HF poligênica, com o advento dos estudos exômico a identificação de variantes causais tende a aumentar.

Um estudo onde foi realizado o exoma total de pacientes com HF diagnosticada por critérios clínicos, encontrou 31 pacientes, de 125 testados, com dislipidemia de etiologia poligênica, sendo identificados pelo menos 18 genes potencialmente associados (FUTEMA et al., 2014). Escores de risco genético estão sendo utilizados para caracterizar o aumento de LDL-c por hipercolesterolemia poligênica, no entanto este ainda é um desafio devidos aos inúmeros polimorfismos de nucleotídeo único (*Single Nucleotide Polymorphis* –SNP) que podem estar associados (SJOUKE et al., 2016; WANG et al., 2016).

Pelo discorrido, pode-se sugerir que uma grande porcentagem de indivíduos diagnosticados clinicamente como HF serem portadores de dislipidemia poligênica, que são portadores de alelos múltiplos com diminuição de atividade para captação de LDL-c (cada um

causando efeitos leves), levando a um aumento no LDL-c acima do valor considerado recomendável (TALMUD et al., 2013).

1.3 DIAGNÓSTICO MOLECULAR DA HIPERCOLESTEROLEMIA FAMILIAL

O diagnóstico da HF na pratica diária, é realizado por critérios fenotípicos, sem utilização de teste genético, de acordo com a I Diretriz Brasileira de Hipercolesterolemia Familiar. Considera-se portanto, que um dos motivos da baixa frequência desta doença esteja relacionada com a baixa sensibilidade do procedimento, que sugere a falha diagnóstica da hipercolesterolemia. O estabelecimento de um processo metodológico mais eficiente ao clinico, e que seja acessível, permitirá um melhor conhecimento das causas genética, que consequentemente dará condições de uma interpretação clinico laboratorial mais adequada para a definição do fenótipo com o genótipo, permitindo assim a identificação prévia de pacientes que apresentam o risco mais elevado de desenvolver DCV, tornando mais eficiente o acompanhamento clínico e terapêutico, além de contribuir para o desenvolvimento da farmacoterapia individualizada. Seria desejável que pelo menos fosse introduzida na prática diária à avaliação das variantes genéticas presentes nos genes *LDLR, APOB* e *PCSK9* (CIVEIRA; POCOVÍ, 2002; STURM et al., 2018).

O guia do NICE, publicado em 2008, indica a confirmação do HF por testes genéticos e a confirmação da mutação encontrada em parentes de até terceiro grau, sendo que a detecção de variantes patogênicas também vem sendo descrita como “padrão ouro” para o diagnóstico de HF (WATTS et al., 2014; WIERZBICKI; HUMPHRIES; MINHAS, 2008). No entanto, além de ainda não ser habitualmente aplicável, a maioria dos laboratórios utiliza kits desenhados para as mutações mais comuns, abrangendo apenas cerca de 4%-5% de todas as mutações (TAYLOR et al., 2010).

As diversas mutações identificadas nos genes *LDLR, APOB* e *PCSK9* relacionadas à HF são distribuídas de diferentes maneiras de acordo com a região de origem, o que tem tornado os testes genéticos custosos e aumentado o investimento em novas técnicas como o NGS (FUTEMA et al., 2012; LIYANAGE et al., 2011).

Apesar da utilização de varias tecnologias modernas para a detecção de novas mutações, o diagnóstico clínico laboratorial rastreando mutações no gene *LDLR* em pacientes

com HF pode falhar devido à possibilidade de nenhuma mutação ser encontrada. Com isso a associação com outros genes candidatos tem sido investigada, mas elas ainda são raras. Um exemplo são as mutações recessivas no gene da citocromo P450 família 7 subfamília A membro 1 (*CYP7A1)* encontrada em algumas famílias (PULLINGER et al., 2002) e outro exemplo são as variantes do gene fator de transcrição do elemento regulador do esterol 2 (*SREBF2)* e SREBF chaperona (*SCAP)* que têm sido encontradas em pacientes com HF associado a um fenótipo mais leve (MULLER; MISEREZ, 2002).

As novas tecnologias de NGS sequenciam o DNA em plataformas capazes de gerar informação sobre milhões de pares de bases em uma única corrida, sendo uma alternativa poderosa para estudos de genômica estrutural e funcional. Dependendo da finalidade pode se utilizar de diferentes técnicas de NGS, a análise do genoma total, análise de exoma total ou a análise exômica direcionada aos genes de interesse (CARVALHO; SILVA, 2010; MARDIS, 2013). Essa tecnologia tem permitido a descoberta de novas alterações genéticas, além da detecção de diversas regiões em um único procedimento, o que facilita a caracterização das doenças ocasionadas por alterações em vários genes, como é o caso da HF que pode ser causada por mutação nos genes do *LDLR, APOB* e *PCSK9* ou até mesmo ser poligênica.

Mais de 2000 variantes já foram previamente reportadas em associação com HF, sendo que aproximadamente 1000 delas foram consideradas como patogênicas segundo os critérios da *Amercian College Medical and Genetics* (ACMG) (CHORA et al., 2018).

Futema e colaboradores (2012) encontraram, em amostras de 48 pacientes caucasianos através de sequenciamento exômico direcionado, mutações já descritas como prováveis causas de HF nos genes *LDLR, APOB, LDLRAP1* e *PCSK9*, além de encontrar novas variantes nos genes do *LDLR* e *APOB* (FUTEMA et al., 2012).

Em outro estudo realizado na Suécia, que utilizou a metodologia de sequenciamento direcionado SEQPRO LIPO RS que é desenhado para os genes *LDLR, APOB, LDLRAP1* e *PCSK9*, verificaram que em 50 de 77 amostras analisadas foram encontradas mutações já relacionadas com HF, além de mutações de patogenicidade desconhecida e apenas uma variante nova no gene *LDLR* (MAGLIO et al., 2014). Adicionalmente percebe-se também uma eficácia desta tecnologia quando utilizada para a detecção da doença em familiares sem evidências clínicas (NORSWORTHY et al., 2014).

As NGS tem permitido identificar outros genes relacionados com a HF, como os de transportadores de membrana (Niemann-Pick C1 como Transportador de Colesterol Intracelular 1 - *NPC1L1* e *ABCG5/8*), o gene envolvido com a incorporação do colesterol da dieta através da proteína microssomal de transferência de triacilglicerol (*MTTP*), os da neossíntese lipídica (3-hidroxi-3-methilglutaril-CoA redutase - *HMGCR*, tribbles pseudocinase 1 - *TRIB1*), os relacionados com a liberação da apoB-100 para a circulação (angiopoietina tipo 3 - *ANGPTL3*), secreção associada à Ras relacionada à GTPase 1B (*SAR1B*), sortilina 1 (SORT1) e os relacionados com a captação de LDL (*LDLRAP1*) e as demais lipoproteínas hepáticas como a *APOE* (CALANDRA et al., 2011; DEFESCHE et al., 2017).

A identificação desses novos genes é decorrente do fato da NGS possibilitar a análise de um grande número de dados genômicos em um curto período, mas um dos desafios é comprovar a patogenicidade das novas mutações identificadas. Na maioria dos casos, os efeitos de novas mutações são baseados em resultados de ferramentas de predição *in silico*, de forma que há necessidade de sua caracterização por estudos funcionais, em culturas celulares, análises de co-segregação familiar e outros modelos experimentais.

Avaliar a relação das diferentes variantes encontradas por ultrassequenciamento em pacientes com HF é de grande importância para compreender os mecanismos pelos quais as variações genéticas influenciam na concentração de colesterol e consequentemente o processo patológico desta doença (FORTI et al., 2003; SILVA et al., 2012). Recentemente um grupo identificou que apenas cerca de 8% das variantes no *LDLR* identificadas no banco de dados *ClinVar* são completamente caracterizadas por estudos in vitro (CHORA et al., 2018).

Em virtude disso, pesquisas vêm sendo conduzidas para compreender os efeitos funcionais de variantes encontradas nos genes *LDLR*, *APOB* e *PCSK9*. Para isso são utilizadas várias estratégias, tais como: (i) estudos de mutagênese das variantes encontradas no sequenciamento; (ii) estudos de captação de LDL natural e oxidada, em cultura primária de monócitos; e (iii) estudos de ligação e interiorização de LDL, em cultura primária de linfócitos (ALVES et al., 2014; ETXEBARRIA et al., 2012; KHAMIS et al., 2015; SILVA, 2007).

Uma limitação dos métodos de NGS é a ineficiência na amplificação de regiões ricas em CG, o que leva a uma diminuição da cobertura destas regiões, como relatado por Futema e colegas (2012), onde se verificou que 58% do gene da *PCSK9* teve uma cobertura de apenas

16x, levando a identificação de variantes não confirmadas posteriormente (FUTEMA et al., 2012). Erros assim podem ser minimizados no momento da análise de variantes, considerando uma cobertura confiável mínima de 30x, que é a cobertura recomendada para cenários clínicos (CHOI et al., 2009; PRANCKEVIČIENE et al., 2015).

JUSTIFICATIVA

2. JUSTIFICATIVA

A clássica identificação clínica da HF é a caracterização fenotípica, sem a genotipagem. Isto foi adotado há muito tempo e tem satisfeito a maioria dos casos, pois o tratamento tem sido efetivo. Esta conduta é utilizada devido à detecção de mutações gênicas serem de baixa sensibilidade e pelo diagnóstico fenotípico ficar em torno de 30 a 50% dos casos, sendo reduzida em idades abaixo de 2 anos.

No entanto, com algumas exceções, o diagnóstico de HF está bem abaixo do estimado. Na maioria dos países, menos de 1% dos pacientes foram diagnosticados. Isso pode ser devido às múltiplas razões, como a falta de validação dos registros, falhas nas estratégias de triagem de novos casos, investimentos financeiros inadequados no custeio dos testes genéticos, ou até mesmo de falta de conhecimento da fisiopatologia. Portanto, observa-se a necessidade de aumentar a sensibilidade metodológica no diagnostico laboratorial com o incentivo a pesquisa e estabelecer uma politica adequada de educação continuada na área de genética molecular.

Como o advento de novas tecnologias de ultrassequenciamento e sua aplicação mais sistemática no auxilio diagnostico das doenças monogênicas e poligênicas estas estatísticas dos diagnósticos podem mudar significativamente. No presente estudo foi realizado o estudo exômico dos principais genes relacionados à HF, já citados anteriormente, e de outros genes relacionados com dislipidemias primárias e metabolismo do colesterol. Espera-se assim caracterizar genotipicamente uma fração da população brasileira e possibilitar a associação de novas variantes que possam melhor esclarecer esta doença, e a possibilidade da aplicabilidade em todo o país. Assim como contribuir para o melhor entendimento das bases genômicas da HF.

OBJETIVOS

3. OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Identificar as principais causas genéticas da HF em pacientes diagnosticados fenotipicamente.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Caracterizar genotipicamente uma pequena amostragem da população brasileira diagnosticada com HF;
- Descrever o perfil de variantes dos éxons em 61 genes selecionados que estão direta ou indiretamente ligadas às dislipidemias de origem genética, em pacientes com diagnóstico clinico e fenotípico de HF.
- Avaliar as correlações entre as variantes exômicas selecionadas e as alterações fenotípicas.

CASUÍSTICA, MATERIAIS E MÉTODOS

4. CASUÍSTICA, MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 CASUÍSTICA E PROTOCOLO DE INVESTIGAÇÃO

Foram selecionados, da Seção Médica de Dislipidemia do IDPC, 160 pacientes, sendo 129 casos índices com diagnóstico fenotípico de HF, sem utilização de teste genético, de acordo com a I Diretriz Brasileira de Hipercolesterolemia Familiar (Tabela 1), 25 familiares também com diagnóstico fenotípico e 6 familiares sem característica clínica aparente de HF. Todos foram informados sobre o protocolo do estudo e assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (Anexo A). Também foi incluído 1 paciente do centro de coleta da Universidade Federal do Rio Grande do Norte (UFRN) em Natal e 58 amostras foram fornecidas pelo programa Hipercol Brasil do Instituto do Coração (INCOR).

Tabela 1: Critérios de diagnóstico clínicos de HF, baseados nos critérios da Dutch MEDPED e adaptado da atualização da diretriz brasileira de dislipidemias e prevenção da aterosclerose.

Parâmetro	Pontos
História Familiar	
Parente de 1º grau portador de doença vascular/coronária prematura (homem < 55 anos,mulher < 60 anos) OU	1
Parente adulto de 1º ou 2º grau com CT > 290 mg/dL,	1
Parente de 1º grau portador de xantoma tendinoso e/ou arco corneano OU	2
Parente de 1º grau <16 anos com CT> 260 mg/dL	2
História clínica	
Paciente portador de doença arterial coronária prematura (homem < 55 anos, mulher < 60 anos)	2
Paciente portador de doença arterial cerebral ou periférica prematura (homem < 55 anos, mulher < 60 anos)	1
Exame físico	
Xantoma tendinoso	6
Arco corneano< 45 anos	4
Concentração de LDL-c	
≥ 330 mg/dl	8
250 - 329 mg/dL	5
190 - 249 mg/dL	3
155 - 189 mg/dL	1

Continua...

Continuação...

Parâmetro	Pontos
Diagnóstico de HF	
Certeza se	> 8 pontos
Provável se	6 - 8 pontos
Possível se	3 - 5 pontos

Fonte: Retirado e adaptado da atualização da diretriz brasileira de dislipidemias e prevenção da aterosclerose (FALUDI et al., 2017).

Indivíduos com insuficiência hepática, insuficiência renal (*clearance* de creatinina <30ml/min) e/ou síndrome nefrótica, neoplasias clinicamente não controladas, com sorologia positiva para o vírus da imunodeficiência humana (HIV), hipotireoidismo não controlado e doença de Cushing não foram incluídos no presente estudo.

O estudo foi aprovado pelos Comitês de Ética em Pesquisa (CEP) do IDPC sob número de parecer 2.587.235 (Anexo B1) e pelo CEP da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo (FCF-USP) sob número de parecer 2.708.638 (Anexo B2).

4.2 AVALIAÇÃO CLÍNICA E AMOSTRAS BIOLÓGICAS

No momento da entrevista com o paciente, após consentimento foi realizada a avaliação e questionário clínico (Anexo C) dos pacientes incluídos no estudo com a colaboração dos médicos da seção de dislipidemias do IDPC.

Neste momento, também foram coletadas as amostras de sangue periférico em tubos contento anticoagulante ácido etilenodiamino tetra-acético (EDTA) (1 mg/mL de K_3EDTA por mL de sangue) para análise de hemograma completo, hemoglobina glicada (HbA1c), e obtenção de DNA; contendo fluoreto de sódio para determinação da concentração plasmática de glicose; sem anticoagulante e com gel separador para as determinações das concentrações de CT, HDL, TG, apoA1, apo B-100, hormônio estimulador da tireoide (TSH), tiroxina livre (T4 livre), ureia, creatinina, creatinoquinase (CK), ácido úrico, aspartato aminotransferase (AST), alanina aminotransferase (ALT), insulina e proteína C reativa ultrassensível (PCR-us). Totalizando aproximadamente 40mL de sangue coletado.

As amostras de sangue periférico foram colhidas dos indivíduos em jejum de 12 horas e com tubos de coleta modelo *vacutainerTM* (Becton Dickinson Company, Plymouth, Reino

Unido), pelo Setor de Protocolo e Coleta do IDPC e encaminhado para a Associação Fundo de Incentivo a Pesquisa (AFIP) onde foram realizadas as análises bioquímicas e hematológicas, e para a biologia molecular onde as amostras foram centrifugadas, separadas do plasma e armazenadas a -20° para posterior extração do DNA genômico.

As amostras fornecidas pelo programa Hipercol Brasil e pela UFRN seguiram seu protocolo de coleta e armazenamento e nos foi enviado os dados clínicos e o DNA extraído por extração salina e congelados a -20ºC, tendo seus parâmetros de qualidade avaliados como todas as outras amostras antes do sequenciamento.

4.3 DETERMINAÇÕES LABORATORIAIS

As determinações dos parâmetros bioquímicos e hematológicos dos pacientes do IDPC, foram realizadas pelo Laboratório de Análises Clínicas da AFIP, entidade associada ao IDPC.

O hemograma completo com contagem de plaquetas foi realizado pelo método citoquímico/isovolumétrico no equipamento Cell Dym - Ruby (Abbott, Illinois, EUA).

Para obter o valor percentual da HbA1c, foi utilizado o método de Imunoturbidimetria no equipamento ARCHITECH2000 (Abbott, Illinois, EUA).

A quantificação da concentração de glicose, assim como CT, HDL-c, TG, ureia e ácido úrico foram realizadas através do método colorimétrico no equipamento Vitros5600 (Johnsons & Johnsons, Nova Jersey, EUA). Os valores de colesterol VLDL e LDL-c foram calculados segundo a fórmula de Friedewald e colaboradores (FRIEDEWALD; LEVY; FREDRICKSON, 1972). Nos casos com TG > 400 mg/dL, o cálculo do LDL-c pela fórmula de Friedewald (LDL-c = CT – (HDL-c + TG/5)) é inadequado e portanto o mesmo foi dosado.

Para as dosagens de apoA1 e apo B-100 foi utilizada nefelometria, e para as determinações dos valores de TSH, T4 livre e insulina, foi utilizado o método de quimiluminescência automatizada, ambos no ARCHITECH2000 (Abbott, Illinois, EUA).

Para a determinação da creatinina sérica, CK, AST e ALT foi utilizado o método cinético no ultravioleta (UV), sendo o de dois pontos para o a primeira determinação e de pontos múltiplos para as demais, no equipamento ARCHITECH2000 (Abbott, Illinois, EUA).

Já para a dosagem de PCR-us foi utilizado o método imuno-cinético de ponto fixo, no equipamento Vitros5600 (Johnsons & Johnsons, Nova Jersey, EUA).

4.4 EXTRAÇÃO DO DNA GENÔMICO

Foi realizada a extração do DNA genômico, em uniplicata, de 6-8mL de sangue total periférico obtido em tubos com EDTA de todos os pacientes coletados no IDPC utilizando *Kit QIAamp® DNA Blood Maxi* (QIAGEN, GmbH, Alemanha) conforme as orientações do fabricante.

A quantificação dos DNA extraídos e dos fornecidos pelo programa Hipercol Brasil e pela UFRN foi realizada pelo método fluorimétrico utilizando o equipamento *QUBIT®* (Life Technologies, Forest City, EUA) com os reagentes *QUBIT® dsDNA Broad-Range Assay* (Life Technologies, Forest City, EUA) cuja capacidade de detecção está entre 0.01 pg/mL a 10µg/mL.

A análise do grau de pureza (relação A260/A280) de todas as amostras de DNA foi realizada no espectrofotômetro NanoDrop® ND-1000 (Thermo Fisher Scientific Inc., Wilmington, EUA). Apenas as amostras de DNA que obtiverem relação A260/A280 entre 1,8 e 2,0 foram utilizadas.

A fim de verificar a integridade das amostras, foi realizado eletroforese pelo equipamento automatizado *2200 TapeStation®* (Agilent Technologies, Califórnia, EUA) utilizando o *D1K ScreenTape* e *Agilent D1K Reagents* conforme as recomendações do fabricante. As amostras de DNA extraídas foram armazenadas em congelador a temperatura de -20°C até o seu processamento.

4.5 DETERMINAÇÃO DE VARIANTES POR SEQUENCIAMENTO EXÔMICO

4.5.1 Painel de genes

O painel de gene para o sequenciamento foi selecionado utilizando o software disponível "*Design Studio* da *Illumina* "(https://accounts.illumina.com/). Os genes foram escolhidos baseado na literatura, que estão envolvidos com as vias metabólicas do colesterol

(Tabela 2 e quadro 1 anexo D). A escolha da região a ser sequenciado incluíram os éxons e regiões flanqueadoras dos genes.

Para atingir este objetivo foi utilizado o sequenciador MiSeq (Illumina, SanDiego, EUA.) que possui uma plataforma simples, eficaz e mais escalável do que outros sistemas de sequenciamento. É um sistema desktop cuja tecnologia permite o sequenciamento rápido e prático, com uma química simples.

Tabela 2: Genes selecionados para o painel de análise exômica, suas localizações cromossômicas e os números de bases estabelecidos.

Gene	Chr	Números de bases (pb)	Gene	Chr	Números de bases (pb)
ABCA1	9	147243	***IL10***	1	4891
ABCB1	7	209460	***IL6***	7	4855
ABCG5	2	26347	***ITIH4***	3	17711
ABCG8	2	39502	***KIF6***	6	390305
ADD1	4	86218	***LCAT***	16	4228
ADIPOQ	3	15789	***LDLR***	19	44467
AGT	1	12064	***LDLRAP1***	1	25301
ALOX5AP	13	50950	***LIPA***	10	38334
ANGPTL3	1	7993	***LIPC***	15	136898
APOA1	11	1869	***LPA***	6	134892
APOA2	1	1335	***LPL***	8	28188
APOA4	11	2593	***LRP1***	12	84843
APOA5	11	3050	***MPO***	17	11079
APOB	2	42644	***MTHFR***	1	20373
APOC1	19	4685	***MTTP***	4	59914
APOC2	19	3583	***MYLIP***	6	19161
APOC3	11	3163	***NOS3***	7	23543
APOC4	19	3258	***NPPA***	1	2073
APOE	19	3611	***PCSK9***	1	25377
CETP	16	21921	***PON1***	7	26215
CLMN	14	137969	***PPP1R17***	7	21438
COQ10A	12	4108	***RBP4***	10	9400
CRABP2	1	6208	***SCAP***	3	62261
CYP2C9	10	50733	***SCARB1***	12	86345
CYP3A4	7	27228	***SLCO1B1***	12	108602
CYP3A5	7	31808	***SREBF1***	17	25662
EGFR	7	188306	***SREBF2***	22	73269
EPHX2	8	53920	***TIMP1***	X	4500

Continua...

Continuação...

Gene	Chr	Números de bases (pb)	Gene	Chr	Números de bases (pb)
F7	13	14893	***TNF***	6	2768
GHR	5	298103	***TRIB1***	8	8081
HMGCR	5	24933			

Legenda: Chr – cromossomo; pb – Pares de Base; *ABCA1 - Transportador de Cassete Ligante de ATP Subfamília A Membro 1; ABCB1 - Transportador de Cassete Ligante de ATP Subfamília B Membro 1; ABCG5 – Transportador de Cassete Ligante de ATP Subfamília G Membro 5; ABCG8 - Transportador de Cassete Ligante de ATP Subfamília G Membro 8; ADD1 - Adducina 1; ADIPOQ – Adiponectina; AGT – Angiotensinogênio; ALOX5AP - Proteína de ativação de 5-lipoxigenase de araquidonato;ANGPTL3 – Angiopoietina Tipo 3; APOA1 - Apolipoproteína A1; APOA2 - Apolipoproteína A2; APOA4 - Apolipoproteína A4; APOA5 - Apolipoproteína A5; APOB - Apolipoproteína B; APOC1 - Apolipoproteína C1; APOC2 - Apolipoproteína C2; APOC3 - Apolipoproteína C3; APOC4 - Apolipoproteína C4; APOE - Apolipoproteína E; CETP – Proteína de Transferência de Ester Colesterol; CLMN – Calmina; COQ10A - Coenzima Q10A; CRABP2 - Proteína de ligação ao ácido retinóico celular 2; CYP2C9 - Citocromo P450 Família 2 Subfamília C Membro 9; CYP3A4 - Citocromo P450 Família 3 Subfamília A Membro 4; CYP3A5 - Citocromo P450 Família 3 Subfamília A Membro 5; EGFR – Receptor do Fator de Crescimento Epidérmico; EPHX2 - Epóxidohidrolase 2; F7 – Fator de coagulação 7; GHR – Receptor do Hormônio de Crescimento; HMGCR - 3-hidroxi-3-metilglutaril-CoA redutase; IL6 – Interleucina 6; IL10 – Interleucina 10; KIF6 – Membro 6 da Família Cinesina; LCAT - Lecitina Colesterol Aciltransferase; LDLR - Receptor de LDL; LDLRAP1 - Proteína Adaptadora do Receptor de LDL 1; LIPA - Lipase A; LIPC - Lipase C tipo hepática; LPA – lipoproteína (a); LPL - Lipoproteína Lipase; LRP1 - Proteína relacionada ao receptor de LDL 1; MPO – Mieloperoxidase; MTHFR - Metilenotetrahidrofolato redutase; MYLIP - Proteína de interação da cadeia leve reguladora da miosina; NOS3 - Oxido Nítrico Sintase 3; NPPA – Peptídeo Natriurético A; PCSK9 - Proteína Convertase Subtilisina/Kexina Tipo 9; PON1 - Paraoxonase 1; PPP1R17 - Proteína Reguladora da Fosfatase 1 Subunidade 17; RBP4 - Proteína Ligante de Retinol 4; SCAP - SREBF chaperona; SCARB1 - Receptor scavenger classe B membro 1; SLCO1B1 - Transportador carregador de soluto aniônico membro da família 1B1; SREBF1 - Fator de Transcrição do Elemento Regulador do Esterol 1; SREBF2 - Fator de Transcrição do Elemento Regulador do Esterol 2; TIMP1 - Inibidor Metalopeptidase 1; TNF – Fator de Necrose Tumoral; TRIB1 - Tribbles Pseudocinase 1*

4.5.2 Preparo de biblioteca

O estudo exômico dos genes referenciados foi realizado após enriquecimento da região de interesse utilizando um sistema customizado *Nextera® Rapid Capture Enrichment Custom* (Illumina, SanDiego, EUA) seguindo as orientações do fabricante.

Foram preparadas 141 bibliotecas dividas em 16 grupos, onde foram realizados a mistura de 12 bibliotecas em cada grupo para posterior sequenciamento. Para o protocolo de preparo de biblioteca e enriquecimento, foi utilizado inicialmente 10 µL de cada amostra de DNA diluída e normalizada para 5ng/µL em trisaminometano com ácido clorídrico (Tris-HCl) 10mM, pH 8,5.

A primeira etapa do preparo de biblioteca consiste na tagmentação do DNA genômico, nesse procedimento o DNA genômico é fragmentado pelos transpossomos do *Nextera*

simultaneamente, seguido por um processo de amplificação pela reação em cadeia da polimerase (PCR).

O DNA tagmentado é então purificado com esferas magnéticas (*Sample Purification Beads*, SPB) para retirada do transpossoma *Nextera*. Esta etapa é critica, pois o transpossoma *Nextera* consegue ligar fortemente as extremidades do DNA e irá interferir nas próximas etapas caso não seja removido. Após esta etapa é realizado um controle de qualidade para confirmar os produtos de tagmentação em eletroforese utilizando o sistema *2200 TapeStation®* (Agilent Technologies, Califórnia, EUA) com o gel de alta resolução *High Sensitivity D1000 ScreenTape* e *High Sensitivity D1000 Reagents* conforme as recomendações do fabricante. A qualidade deste processo é constatada pelas presença de fragmentos variando de aproximadamente 150 pb a < 1 Kb.

Após a validação dos indexes no programa *Illumina Experiment Manager* (Illumina, San Diego, EUA), o DNA tagmentado purificado é amplificado pela PCR de ciclo limitado. A PCR adiciona o index 1 e 2 (i5 e i7), que permitem a identificação das amostras no sequenciamento, assim como os adaptadores comuns (P5 e P7) necessários para a geração de clusters e consequentemente o sequenciamento. Posteriormente é utilizado novamente as SPB para purificar a biblioteca de DNA e remover interferentes. Com a inserção dos index e adaptadores a biblioteca de DNA fica completa. As etapas subsequentes consistem no processo de purificação e enriquecimento das regiões alvos.

Devido à utilização de diferentes índices foi possível combinar múltiplas bibliotecas para então dar continuidade ao enriquecimento. Para isso, após a purificação foi realizada uma quantificação para se calcular o volume necessário para que cada amostra tivesse 500ng de DNA, também nessa etapa se fez um controle de qualidade para avaliar os produtos de tagmentação em sistema de eletroforese capilar *2200 TapeStation®* (Agilent Technologies, Califórnia, EUA) utilizando o *D1K ScreenTape* e *Agilent D1K Reagents* conforme as recomendações do fabricante. Os fragmentos devem variar de 150 pb a < 1 Kb para serem considerados de qualidade para seguimento do processo. A obtenção das bibliotecas de boa qualidade permite então a mistura das mesmas.

Após a mistura das bibliotecas, devido ao alto volume obtido, se utilizou o concentrador a vácuo *Concentrator plus* (Eppendorf, Hamburgo, Alemanha), para que o volume ficasse em 40µL e assim dar prosseguimento à próxima etapa.

Nesta etapa ocorre à primeira hibridização, este processo mistura as bibliotecas de DNA com sondas que capturam as regiões alvos. O tempo de hibridização recomendado, de 1 hora e 30 minutos a 24 horas, faz com que as regiões de interesse se liguem fortemente nas sondas de captura. A seguir utilizou-se esferas de estreptavidina para capturá-las. Duas etapas de lavagem subsequentes removem as ligações não específicas das esferas. As bibliotecas enriquecidas foram então eluídas das esferas e preparadas para uma segunda hibridização.

Na segunda hibridização, repetiu-se o processamento para que as regiões de interesse fossem enriquecidas e então novamente capturadas, eluídas das esferas e preparadas para outra amplificação pela PCR para maior enriquecimento. A biblioteca foi novamente purificada com SPB e pronta para o sequenciamento.

Antes de realizar o sequenciamento foi necessário avaliar novamente a distribuição dos produtos da biblioteca enriquecida, através da eletroforese capilar no sistema *2200 TapeStation®* (Agilent Technologies, Califórnia, EUA) utilizando o *D1K ScreenTape* e *Agilent D1K Reagents* conforme as recomendações do fabricante, e quantificar a biblioteca para que se realize a diluição necessária para iniciar o sequenciamento.

A quantificação da biblioteca foi primeiramente realizada através do método fluorimétrico utilizando o equipamento *QUBIT®* (Life Technologies, Forest City, EUA) com o *kit QUBIT® dsDNA High-Sensitivity Assay* (Life Technologies, Forest City, EUA), essa quantificação preliminar permite uma avaliação semi quantitativa, que a seguir será confirmada pela PCR em tempo real (qPCR).

Para melhor sensibilidade e confiabilidade dos resultados da qPCR, o valor no *QUBIT®* serve de base para diluir a biblioteca para aproximadamente 4nM e a partir dessa diluição foram realizadas quatro diluições seriadas (1:1000, 1:2000, 1:4000 e 1:8000) e estas foram utilizadas para determinar a concentração da biblioteca pela PCR em tempo real utilizando o *kit Quantification KAPA Library* para plataformas Illumina (Applied Biosystems, Califórnia, EUA) conforme orientação do fabricante.

4.5.3 Sequenciamento pelo Sistema MiSeq

A reação de sequenciamento foi realizada no equipamento *MiSeq* (Illumina, SanDiego, E.U.A.), que tem como princípio o sequenciamento por síntese. Para que a reação ocorra foi

utilizado *kit MiSeq Reagent (*500 e 300 ciclos*)* (Illumina, SanDiego, E.U.A.). Por segurança, devido o tamanho dos fragmentos das bibliotecas ser em torno de 150 pb, o sequenciamento foi programado para fazer a leitura em ambos os sentidos ("*Pair end*"), sendo de 131 a 151 ciclos cada um, dependendo da mistura de bibliotecas. O controle do processo químico foi realizado com o produto comercial *kit PhiX Control* v3 (Illumina, SanDiego, E.U.A.) a 1% do material sequenciado, que é o DNA controle para as etapas de geração de cluster e sequenciamento.

Para iniciar o sequenciamento, 5µL da biblioteca a 4nM foram incubados com igual volume de hidróxido de sódio (NaOH) 0,2N para desnaturação da fita dupla de DNA. Em seguida, a biblioteca, agora a 2nM, foi diluída para 20pM em tampão de hibridização (*HT1)* pré-refrigerado, fornecido no *kit MiSeq® v2 Reagent* 500 e 300 ciclos (Illumina Inc., San Diego, EUA), e novamente diluída com tampão *HT1* para 12pM, concentração inicial utilizada no sequenciamento.

O estoque da biblioteca *Phix* (10nM) foi inicialmente diluído para 4nM em tampão Tris-Tween (Tris-HCl 10mM, pH 8.5 com 0,1% de Tween 20), seguido de desnaturação em fita simples com NaOH 0,2N, obtendo-se uma solução a 2nM. Após a desnaturação, a biblioteca foi diluída com o tampão *HT1*, para a concentração de 20pM. E diluída novamente para se obter a concentração final de 12,5pM para o sequenciamento.

Para a reação de sequenciamento, foi feita uma combinação da biblioteca das amostras com o controle *Phix*, com esse último na proporção de 1%. Sendo recomendado para o sequenciamento o volume inicial de 600µL, foi utilizado 594 µL das bibliotecas de DNA à 12pM e 6µL da biblioteca de PhiX a 12,5pM.

4.5.4 Bioinformática: identificação de variantes e caracterização genética

A análise primária dos dados gerados durante o sequenciamento na plataforma MiSeq foi realizada utilizando a ferramenta *Real-Time Analysis* (RTA) e *MiSeq Reporter*, instalado no próprio computador que controla o equipamento. Essa análise realiza a demultiplexação e gera os dados de chamada de base (*base calling)* e controle de qualidade da reação.

Os dados em formato fastq. foram para a análise secundária que foi realizada utilizando os aplicativos disponíveis no *BaseSpace Sequence Hub* (Illumina, SanDiego, EUA).

O aplicativo *BWA Enrichment* faz o alinhamento e mapeamento utilizando o genoma de referência *(Homo sapiens UCSC hg19*) e a eliminação das leituras duplicadas através do algoritmo *Burrows-Wheeler Aligner* (BWA), já a identificação das variantes realizou-se no mesmo aplicativo através do algoritmo *Genome Analysis Toolkit* (GATK). Processou-se as anotações das variantes através do aplicativo *Variant Studio*.

O resultado dessas análises gerou dados sob forma de planilhas em Excel, a partir das quais se procedeu a análise terciária onde as variantes passaram por filtros para eliminar erros sistemáticos do equipamento e resultados falso-positivo e/ou falso-negativo e priorizar variantes com maior probabilidade de serem patogênica (Figura 1).

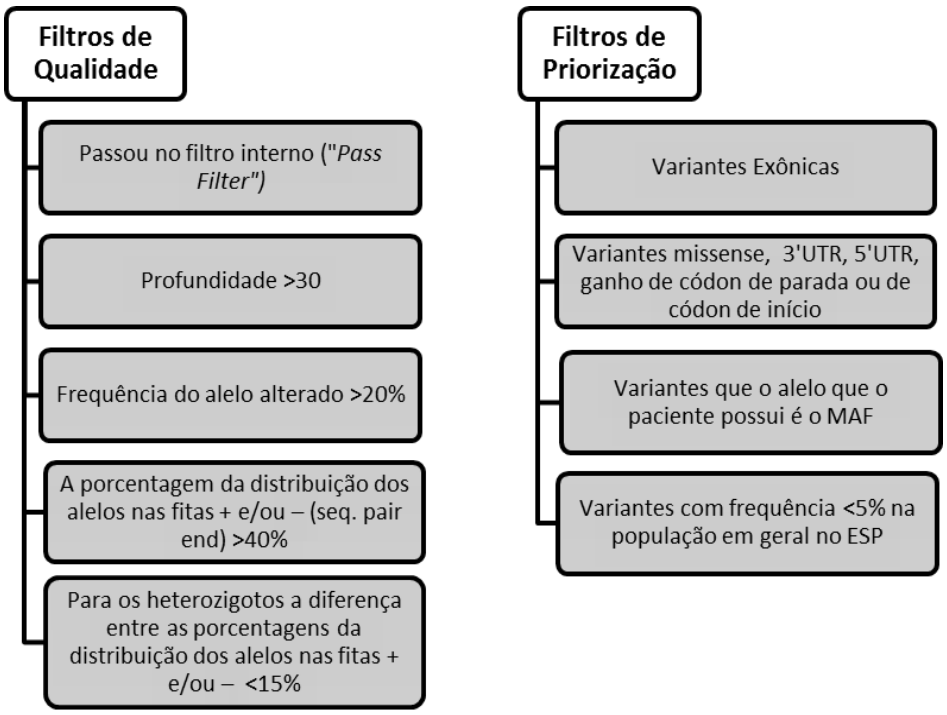

Figura 1: Fluxograma do sistema de filtros para seleção das variantes

Legenda: > - maior; + - positiva; - - negativa; 3'UTR - Região 3' Não Traduzida ; 5'UTR - Região 3' Não Traduzida; MAF - Frequência do Menor Alelo; ESP - Exome Sequencing Project

As variantes priorizadas foram analisadas utilizando o sistema visor genômico integrado (*Integrative Genomic Viewer (IGV)- http://www.broadinstitute.org/igv/).* Todas aquelas que tiveram os requisitos de qualidade adequados foram utilizadas para as análises de significância clínica.

4.5.5 Análise das variantes conhecidas

As variantes selecionadas após a priorização e que já foram descritas em algum dos bancos de dados *Exome Sequencing Project* (ESP), *Exome Agregration Consortium* (ExAC), 1000 genomas, *The Single Nucleotide Polymorphism Database* (dbSNP) e *ClinVar* foram classificadas como variantes já descrita, e em seguida, submetidas a uma análise adicional nos bancos de dados online (Tabela 3), na busca de informações complementares sobre dados já publicados das variantes associadas à HF, dislipidemia primária ou a outra característica clínica relacionada ao fenótipo.

Avaliou-se também a existência de publicações na literatura sobre as variantes com o objetivo de verificar o tipo de ferramenta de análise utilizada pelos autores, bem como conhecer as características clínicas dos indivíduos portadores da alteração genética para posterior comparação com o perfil dos pacientes, portadores da mesma variante, sequenciados no nosso estudo.

Tabela 3: Banco de dados utilizados para pesquisa de literatura sobre as variantes identificadas.

Genes	Nome	WEB
Todos	NCBI / Pubmed	http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed
Todos	NCBI / dbSNP	https://www.ncbi.nlm.nih.gov/SNP/
Todos	NCBI / ClinVar	https://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/
Todos	ESP	http://evs.gs.washington.edu/EVS/
Todos	ExAC	http://exac.broadinstitute.org/
Todos	1000 genomas	http://www.internationalgenome.org/
Todos	BipMed	http://bipmed.iqm.unicamp.br/variants
Todos	ABraOM	http://abraom.ib.usp.br/
LDLR	LOVD	http://www.ucl.ac.uk/ldlr/LOVDv.1.1.0/

Legenda: NCBI - *The National Center for Biotechnology Information*; dbSNP - *The Single Nucleotide Polymorphism Database;* ClinVar – *Clinical Variants database*; ESP - *Exome Sequencing Project*; ExAC - *Exome Aggregation Consortium*; BIPMed – *Brazilian Initiative on Precision Medicine*; ABraOM - Arquivo Brasileiro Online de Mutações; LOVD - *Leiden Open Variation Database*

4.5.6 Análise de variantes sem literatura disponível

As variantes ainda não descritas na literatura foram avaliadas por ferramentas de predição *in silico*, com o objetivo de avaliar o efeito da troca aminoacídica na estrutura e/ou

função da proteína, estas ferramentas avaliam as diferenças entre os aminoácidos e predizem a possível ou não alteração estrutural e/ou funcional da proteína.

Alterações benignas, neutras, de baixo impacto ou toleradas, são aquelas em que os aminoácidos são semelhantes e possivelmente não alteraram a estrutura e/ou função da proteína, isso não implica na possível benignidade da variante na doença, mas pode ser um indicativo.

Alterações possivelmente danosas, de médio ou alto impacto e deletérias são as que os aminoácidos podem alterar a estrutura e/ou função da proteína, no entanto, isso também não implica na patogenicidade da variante, mas também pode ser um indicativo.

As ferramentas de predição utilizadas foram:

- *Polyphen-2* - Valores altos indicam maior probabilidade de a mutação ter característica deletéria;

- *Mutation Assessor* (Mass) - Valores de impacto funcional (*functional impact score* FIS) <0,8 correspondem a alterações neutras (N), 0,8 < FIS ≤ 1,9 a alterações de baixo impacto (L), 1,9 < FIS ≤ 3 a alterações de médio impacto (M) e FIS > 3,5 a alterações de alto impacto (H);

- *Sorts Intolerant From Tolerant Substitutions* (SIFT) - Valores < 0,05 representam variantes deletérias e > 0,05 toleradas;

- *CONsensus DELeteriousness Score* (Condel) - Valores próximos de 0 são preditores de variantes neutras e próximos de 1 de variantes deletérias.

- Mutation Taster - Caracteriza a variante como causadora de doença (*disease cause)* ou polimorfismo.

- *Protein Variation Effect Analyzer* (PROVEAN) – Caracteriza a variante como Deletéria ou Neutra

A análise de conservação do resíduo aminoacídico também foi realizada no Genomic Evolutionary Rate Profiling website (GERP website) para indicar se a região onde ocorre a mutação é conservada ou não. Quanto mais conservada a região da alteração, maior a probabilidade de ocorrer alteração estrutural e/ou funcional na proteína.

4.5.7 Análise das variantes não descritas

As variantes ainda não descrita na literatura foram avaliadas de acordo com o seu tipo, localização na proteína e relação do gene no metabolismo lipídico.

As variantes missense não descritas identificadas nos 3 principais genes e as que não tiveram literatura associada e com características patogênicas para a proteína segundo as ferramentas descritas no item 4.5.6 foram avaliadas por docking molecular.

4.5.7.1 Análise de Docking Molecular

Para esta análise, primeiramente foi realizado o alinhamento 1D das variantes genéticas em relação à sequência mutada. Posteriormente foi construída a estrutura 3D das proteínas com as variantes genéticas por modelagem homóloga. As estruturas cristalinas do complexo foram derivadas do RCSB Protein Data Bank (PDB) (http://www.rcsb.org/pdb/home/home.do). O docking proteína - proteína foi realizado utilizando a plataforma ClusPro 2.0 (https://cluspro.bu.edu) e a inspeção visual utilizando o programa PyMol 2.2.3. Essas análises foram realizadas com o auxílio do doutorando Gláucio Monteiro Ferreira.

4.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Para análise da associação entre as variantes genéticas identificadas nos 61 genes do painel e os fenótipos clínicos identificados nos pacientes do estudo foram utilizados o programas SPSS, versão 20.0 (IBM® Corporation, Somers, EUA) e RStudio, versão 3.3.2 (Rstudio, Boston, MA). As variáveis categóricas foram apresentadas como números absolutos e relativos, e as variáveis contínuas apresentadas como média, desvio padrão, mediana e Percentil 25 – Percentil 75, conforme a normalidade da distribuição da amostra avaliada pelo teste de aderência Kolmogorov-Smirnov.

As variáveis categóricas foram comparadas utilizando-se o teste de qui-quadrado, razão de verossimilhança (likelihood ratio) ou teste exato de Fisher, e as variáveis contínuas

foram comparadas através do teste de Kruskal-Wallis, para comparação de médias entre três ou mais grupos. Foram considerados estatisticamente significativos os resultados cujos níveis descritivos tinham valor de p (p) inferiores a 0,05 ($p < 0,05$).

#RESULTADOS

5. RESULTADOS

5.1 CARACTERISTÍCAS BIODEMOGRÁFICA

Na amostra de 188 casos índices não familiares incluídos no estudo, 141 foram sequenciados, a maioria era do sexo feminino, com idades entre 4 e 89 anos e as concentrações de LDL-c variaram de 130mg/dL até 480mg/dL. As características clínicas, demográficas e de exames complementares dos 141 pacientes sequenciados estão resumidas nas tabela 4, 5 e quadro 2 anexo E.

Tabela 4: Dados biodemográficos dos 141 pacientes selecionados para o estudo.

Dados biodemográficos	Valores
Idade	55,0 (38,3-62,6)[a]
Mulheres	65,2%
Caucasianos	62,9%
Obesos	19,1%
Presença de: Xantomas	14,3%
Xantelasmas	15,8%
Arco Córneo	15,1%
Critério HF[b]: Certeza	22,7%
Provável	19,1%
Possível	58,2%
DAC	32,6%
IAM	30,5%
RM	22,9%
DAP	17,0%
DM	21,3%
HAS	48,9%
Uso de hipolipemiantes	60,0%

Legenda: HF – Hipercolesterolemia Familial; DAC - Doença Arterial Coronariana; IAM - Infarto Agudo do Miocárdio; RM - Revascularização do Miocárdio; DAP - Doença Arterial Periférica; DM - Diabetes Melito; HAS - Hipertensão Arterial Sistêmica

[a]Mediana e quartis (25-75); [b]Baseado nos critérios demonstrados na tabela 1.

Selecionou-se 141 indivíduos para este estudo inicial dos quais 48 (34,0%) não tinham história pessoal de HF conhecida, dentre esses, 31 não possuíam histórico conhecido de dislipidemia ou infarto agudo do miocárdio (IAM), ou não sabiam sobre seu histórico familiar.

Tabela 5: Resultados dos dados laboratoriais, geralmente solicitados para pacientes com suspeita clinica de dislipidemia, dos 141 indivíduos que participaram do estudo.

Parâmetros laboratoriais	**Valores[a](mg/dL)**
Glicemia	84,0 (72,0-98,5)
CT	260,0 (205,0-310,0)
HDL-c	45,0 (38,0-57,5)
LDL-c	206,0 (145,5-230,5)
VLDL-c	21,0 (15,0-31,5)
TG	120,0 (85,0-176,5)
apoA1	135,0 (114,0-151,5)
apoB-100	119,0 (101,0-148,0)

Legenda: CT - Colesterol Sérico Total; HDL-c - Colesterol da lipoproteína de alta densidade; LDL-c - Colesterol da lipoproteína de baixa densidade; VLDL-c - Colesterol da lipoproteína de muito baixa densidade; TG - Triacilgliceróis; apoA1 - apolipoproteína A1; apoB-100 = apolipoproteína B 100.
[a]Mediana e quartis (25-75)

5.2 CONTROLE DE QUALIDADE DO PREPARO DE BIBLIOTECA

Para garantir a qualidade do sequenciamento foi importante que o preparo da biblioteca estivesse com qualidade e com quantidade suficiente desde a amostra extraída até o final do processo.

Os parâmetros iniciais avaliados das amostras foram a quantificação, integridade e pureza, através das razões 260/280 e 260/230. Durante o processo de preparo de biblioteca e enriquecimento também foram realizados controles de qualidade para avaliação dos tamanhos de fragmentos obtidos. Todas as amostras se mostraram adequadas, como podemos observar no quadro 3 anexo F e na figura 2.

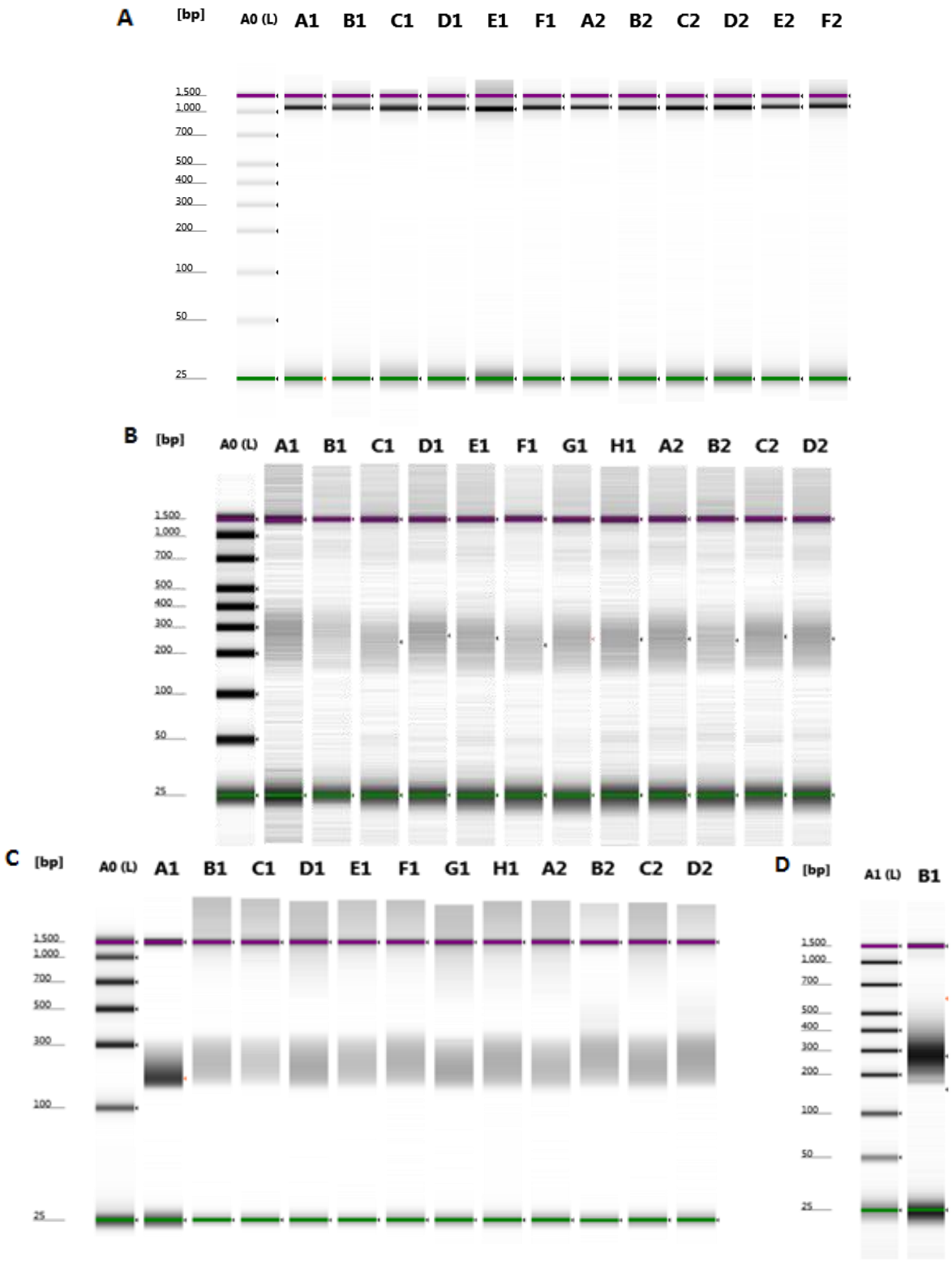

Figura 2: Exemplo de controle de qualidade da biblioteca por eletroforese capilar realizada pelo equipamento automatizado 2200 TapeStation® (amostras HF69, HF 70, HF 93, HF 94, HF 97, HF 99, HF 100, HF 101, HF 108, HF 109, HF 127 e HFI210). A. Controle do DNA genômico; B. Controle de qualidade após a tagmentação, com a maioria dos fragmentos entre 200 e 300pb; C. Controle de qualidade após a indexação, com a maioria dos fragmentos entre 200 e 300pb; D.

5.3 CONTROLE DE QUALIDADE DO SEQUENCIAMENTO

Após realizadas as corridas de sequenciamento alguns parâmetros também foram avaliados para verificar a qualidade dos dados obtidos e dar prosseguimento as demais análises. A tabela 6 e o quadro 4 anexo F, apresentam os dados de qualidade das corridas de sequenciamento realizadas.

Tabela 6: Parâmetros de qualidade das corridas de sequenciamento.

Biblioteca	Q30 (%)	Densidade (K/mm^2)	Clusters PF (%)	Leituras (M)	Leituras PF (M)
1	90,1	649,0	90,6	12,5	11,4
2	77,9	641,0	69,2	12,4	8,6
3	83,0	622,0	85,1	12,5	10,6
4	78,8	965,0	88,4	18,2	16,1
5	82,9	840,0	85,8	31,0	26,6
6	86,8	955,0	84,4	34,8	29,3
7	89,6	1193,0	83,2	42,2	35,2
8	89,8	565,0	87,1	21,6	18,8
9	90,0	919,0	91,7	32,7	26,7
10	89,5	655,0	81,6	24,6	20,1
11	90,6	669,0	84,2	25,0	21,1
12	91,9	577,0	85,5	21,5	18,3

Legenda: Q30 - chance de erro de 1 em 1000 (Valores de qualidade phred) de uma base ter sido inserida errada; M – Milhões; PF - *Pass Filter*.

5.4 CARACTERÍSTICAS GENÉTICAS

Obtido a qualidade desejada dos dados de sequenciamento realizou-se o processo de filtragem através dos critérios metodológicos anteriormente estabelecidos. Após as filtragens e priorizações das variantes, foram identificadas 472 diferentes variantes distribuídas nos éxons de 56 dos genes incluídos no painel (quadro 5 anexo G). Dessas, 427 já estavam descritas em bancos de dados públicos e 45 variantes foram consideradas como não descritas. O número de variantes nas diferentes etapas está descrito na figura 3. Nos éxons dos genes *APOA1*, Apolipoproteína A2 *(APOA2)*, Lipase C Tipo Hepática *(LIPC)*, Proteína Ligante de Retinol 4 *(RBP4)* e Inibidor Metalopeptidase 1 (*TIMP1)* não se observou variantes pelos critérios

estabelecidos no presente estudo, apesar da boa cobertura de sequenciamento observada nesses genes (profundidade média de 250x).

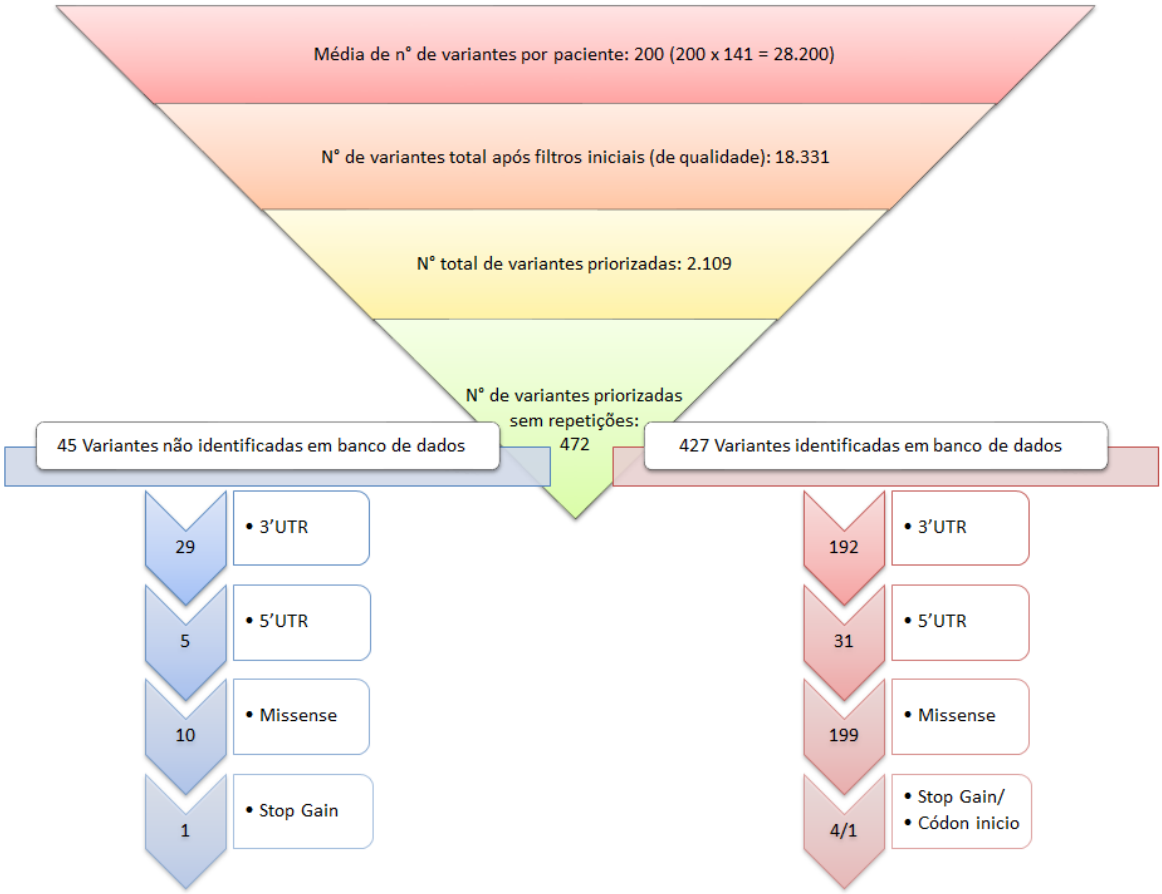

Figura 3: Representação geral dos resultados ilustrando o número de variantes identificadas apos aplicação de todas as ferramentas de analise bioinformática.

Legenda: Nº : Número; INDEL: Inserção/ Deleção; UTR: região não transcritas; Stop Gain: Ganho de códon de parada

Após avaliação das variantes nos bancos de dados específicos citados anteriormente encontrou-se referência de 25 variantes em publicações relacionadas com HF, e estas estavam presentes em 30 (21,2%) pacientes, confirmando seu diagnóstico. Destes 12 (40,0%) possuíam diagnóstico de certeza segundo o critério clínico, 10 (33,3%) eram prováveis e 8 (26,6%) eram possíveis. Quatro dos pacientes apresentavam mais de uma mutação patogênica simultaneamente (Tabela 7).

Tabela 7: Resultados das variantes encontradas com previa descrição na literatura com HF.

Amostras	Gene*	Variante	Consequência Funcional/ Localização na proteína	Referência**
2, 57	*APOB*	rs12720854 (c.9835A>G; p.Ser3279Gly)	Missense/ Região do core lipídico	(ALVES et al., 2014)
3	*APOB*	rs12714214 (c.1661C>T; p.Pro554Leu)	Missense/ Região da superfície	(CHIOU; CHARNG, 2012)
5, 63	*APOB*	rs61743502 (c.12794T>C ; p.Val4265Ala)	Missense/ Domínio C-terminal	(RADOVICA-SPALVINA et al., 2015)
17, 113, 131	*APOB*	rs1800480 (c.-115C>G)	5'UTR/ Região não codificadora	(HUIJGEN et al., 2012)
40	*APOB*	rs72654423 (c.12940A>G; p.Ile4314Val)	Missense/ Domínio C-terminal	(BESSELING et al., 2016)
40	*APOB*	rs41288783 (c.2981C>T; p.Pro994Leu)	Missense/ Região da superfície	(MEDEIROS; ALVES; BOURBON, 2016)
1, 6, 23	*LDLR*	rs121908031 (c.2043C>A; p.Cys681Ter)	Gera códon de parada/ Extracelular	(JANNES et al., 2015)
2, 43	*LDLR*	rs879254797 (c.1118G>A; p.Gly373Asp)	Missense/ Extracelular	(JANNES et al., 2015)
10	*LDLR*	rs752596535 (c.501C>A; p.Cys167Ter)	Gera códon de parada/ Extracelular	(WANG et al., 2016)
11	*LDLR*	rs753707206 (c.1801G>C; p.Asp601His)	Missense/ Extracelular	(SALAZAR et al., 2002)
15	*LDLR*	rs121908039 (c.551G>A; p.Cys184Tyr)	Missense/ Extracelular	(JANNES et al., 2015)
19	*LDLR*	rs750518671 (c.2389G>C; Val797Leu)	Missense/ Transmembrana	(BAMIMORE et al., 2015)
20, 63	*LDLR*	rs879254913 (c.1463T>C; p.Ile488Thr)	Missense/ Extracelular	(TAYLOR et al., 2010)
24, 40	*LDLR*	rs137929307 (c.1775G>A; p.Gly592Glu)	Missense/ Extracelular	(JANNES et al., 2015)
27	*LDLR*	rs28942078 (c.1285G>A; p.Val429Met)	Missense/ Extracelular	(SANTOS et al., 2014)
55	*LDLR*	rs28942079 (c.1291G>A; p.Ala431Thr)	Missense/ Extracelular	(TICHÝ et al., 2012)
58	*LDLR*	rs28941776 (c.1646G>A; p.Gly549Asp)	Missense/ Extracelular	(MOLLAKI; DROGARI, 2016)
61	*LDLR*	rs5928 (c.2441G>A; p.Arg814Gln)	Missense/ Intracelular	(HUMPHRIES et al., 2006)

Continua…

Continuação…

Amostras	Gene*	Variante	Consequência Funcional/ Localização na proteína	Referência**
131	*LDLR*	rs879254747 (c.977C>G; p.Ser326Cys)	Missense/ Extracelular	(MOLLAKI; PROGIAS; DROGARI, 2013)
144	*LDLR*	rs121908026 (c.530C>T; p.Ser177Leu)	Missense/ Extracelular	(THORMAEHLEN et al., 2015)
I35	*LDLR*	rs879254754 (c.1013G>A; p.Cys338Tyr)	Missense/ Extracelular	(TICHÝ et al., 2012)
I71	*LDLR*	rs875989887 (c.-140C>A)	5' UTR/ Região não codificadora	(DE CASTRO-ORÓS et al., 2011)
12	*PCSK9*	rs564427867 (c.94G>A; p.Glu32Lys)	Missense/ Pró-domínio N-terminal	(OHTA et al., 2016)
137, I55	*PCSK9*	rs141502002 (c.1405C>T; p.Arg469Trp)	Missense/ Domínio C-terminal	(ALLARD et al., 2005)
I63	*PCSK9*	rs148195424 (c.709C>T; p.Arg237Trp)	Missense/ Domínio catalítico	(MEDEIROS; ALVES; BOURBON, 2016)

Legenda: *LDLR* - receptor de lipoproteína de baixa densidade; *APOB* - apolipoproteína B; *PCSK9* - Gene que codifica a proteína convertase subtilisina/kexina tipo 9; 5' UTR - Região 5' Não Traduzida
* Genes relacionados com absorção de LDL-c e classicamente associados à HF
**Referência mais recente identificada ou referência identificada na população brasileira

As variantes consideradas patogênicas para HF mais frequentes encontradas nos pacientes não aparentados foram rs121908031, Cys681Ter no gene do *LDLR* e rs1800480, 115C>G no gene do *APOB* em três pacientes; rs12720854, Ser3279Gly e rs61743502, Val4265Ala no gene da *APOB*, rs879254797 Gly373Asp, rs879254913 Ile488Thr e rs137929307 Gly592Glu no gene do *LDLR* e rs141502002 Arg469Trp no gene da *PCSK9* em dois pacientes.

Além dessas, 5 variantes encontradas neste estudo estavam já descritas na literatura relacionadas com outras dislipidemias primárias (Tabela 8), permitindo um diagnóstico genético diferencial para 11 pacientes. Sendo que 4 desses pacientes possuem também variantes associada à HF.

Tabela 8: Resultados das variantes identificadas que haviam sido publicadas e associadas com outras dislipidemias primárias

Amostras	Gene	Relação com a via metabólica do colesterol	Variante	Consequência Funcional/ Localização na proteína	Dislipidemia primária associada	Referência*
16	*APOB*	Via de absorção de LDL-c	rs12713681 (c.6895G>C; p.Asp2299His)	Missense/ Região do core lipídico	Hipobetalipo-proteinemia	(WANG; MCINTYRE; HEGELE, 2018)
17, 113, 131, I2685	*APOB*	Via de absorção de LDL-c	rs12714225 (c.1223T>C; p.Ile408Thr)	Missense/ Região da superfície	Hipobetalipo-proteinemia e Apobetalipo-proteinemia	(WANG; MCINTYRE; HEGELE, 2018; ZEISSIG et al., 2010)
21	*APOE*	Apolipo-proteínas	rs769455 (c.487C>T; p.Arg163Cys)	Missense/ Região de ligação com receptores de lipoproteína	Hiperlipidemia Familial Combinada	(RALL et al., 1983)
65	*APOE*	Apolipo-proteínas	rs121918396 (c.683G>A; p.Trp228Ter)	Gera códon de parada/ Região de ligação com lipídeos e associação com lipoproteínas	Hiperlipidemia Familial Combinada	(LOHSE et al., 1992)
24, 33, 124, I3742	*LPL*	Lipoproteínas	rs1801177 (c.106G>A; p.Asp36Asn)	Missense/ Domínio N-terminal	Hiperlipidemia Familial Combinada	(RIPATTI et al., 2016)

Legenda: *APOB - Apolipoproteína B; APOE - Apolipoproteína E; LPL - Lipoproteína Lipase;*
*Referência mais recente identificada ou referência identificada na população brasileira

Dos 104 pacientes que não possuíam nenhuma variante já previamente associada à HF ou outra dislipidemia primária, 69 possuíam variantes com frequência menor que 5.0% na população geral e que estavam relacionados com o metabolismo do colesterol, com aumento do LDL-c e CT, suscetibilidade e gravidade da DAC e a acidente vascular cerebral isquêmico (AVCI), diminuição da HDL-c, hipertrigliceridemia e aumento de apolipoproteínas, que podem sugerir as características fenotípica encontradas nesses pacientes. Essas variantes também foram identificadas em alguns pacientes já diagnosticados genotipicamente pela literatura, o que pode sugerir um agravo em seus quadro clínico (tabela 9).

Tabela 9: Resultados de variantes encontradas nos pacientes do presente estudo, já descritas na literatura associadas às doenças ou características clínicas semelhantes à HF.

Amostra	Gene	Relação com a via metabólica do colesterol	Variante	Consequência Funcional/ Localização na Proteína	Patologia ou característica clínica relacionada	Referência*
6, 10, 16, 24, 33, 44, 51, 66, 68, 69, 83, 93, 106, 131, 135, 140, 142, I1676, I1730, I1786, I210, I2396, I2543, I3105, I3968, I3989, I4311, I467, I4693, I35, N176	*APOB*	Absorção de LDL-c	rs1801701 (c.10913G>A; p.Arg3638Gln)	Missense/ Região do core lipídico	8	(CALANDRA et al., 2011)
11, 21, 29	*APOB*	Absorção de LDL-c	rs1042023 (c.10294C>G; p.Gln3432Glu)	Missense/ Região do core lipídico	6	(MAURER et al., 2016)
3, 12, 20, 21, 23, 27, 68, 96, 140, I1710, I3367, I3395	*PCSK9*	Absorção de LDL-c	rs17111557 (c.-614C>T)	3'UTR	9	(ZAMBRANO et al., 2015)
9, 29, 33, 44, 55, 68, 99, 109, 142, I1794, I3192, I3968, I990	*APOA4*	Apolipo-proteínas	rs5110 (c.1140G>T; p.Gln380His)	Missense/ Domínio C-terminal	2; 3	(LOHSE et al., 1990; VON ECKARDSTEIN et al., 1992)
140	*APOA5*	Apolipo-proteínas	rs2075291 (c.553G>A; p.Gly185Ser)	Missense/ Domínio N-terminal	1; 7; 8; 9	(KIM et al., 2017, 2018; YOU et al., 2018)

Continua...

Continuação...

Amostra	Gene	Relação com a via metabólica do colesterol	Variante	Consequência Funcional/ Localização na Proteína	Patologia ou característica clínica relacionada	Referência*
7, 16, 17, 22, 23, 24, 28, 33, 35, 39, 61, 65, 87, 96, 144, I1359, I1794, I2308, I2334, I2367, I3192, I4311, I4369, I467, I4693, I55, I99	*APOA5*	Apolipo-proteínas	rs3135506 (c.56C>G; p.Ser19Trp)	Missense/ Domínio N-terminal	1	(XIAO et al., 2017)
137	*APOA5*	Apolipo-proteínas	rs34282181 (c.111C>A; p.Asp37Glu)	Missense/ Domínio N-terminal	1	(VAN LEEUWEN et al., 2016)
122, 140, I1794, I2730	*APOC1*	Apolipo-proteínas	rs12721054 (c.-100A>G)	3'UTR	1	(ELBERS et al., 2012)
126, I4311, I4693	*LPL*	Lipo-proteínas	rs268 (c.953A>G; p.Asn318Ser)	Missense/ Sítio de clivagem da pro proteína convertase	1; 7	(PIRIM et al., 2015)
5, 24, 29, 33, 40, 55, 98, 114, 122, 124, 144, I3742,	*LPL*	Lipo-proteínas	rs3289 (c.*371T>C)	3'UTR	7	(SMITH et al., 2010)
17, I1399	*LPL*	Lipo-proteínas	rs5934 (c.1279G>A; p.Ala427Thr)	Missense/ Domínio – ligação com heparina	1	(RABACCHI et al., 2015)
137, N176	*ABCA1*	Transporta-dores	rs9282541 (c.688C>T; p.Arg230Cys)	Missense/ Extracelular	9	(ACUÑA-ALONZO et al., 2010)
1, 10, 108, 109, I1192, I1787, I1967, I638, I990	*ABCB1*	Transporta-dores	rs2214102 (c.-1A>G)	5'UTR	2; 3; 8	(JEANNESSON et al., 2009)
17, 20, 30, 35, 43, 44, 63, I1710, I2404, I990	*CETP*	Transferên-cia de colesterol	rs1800777 (c.1403G>A; p.Arg468Gln)	Missense/ Domínio N-terminal	7; 9	(DE LUIS et al., 2018; GANESAN et al., 2016)

Continua...

Continuação...

Amostra	Gene	Relação com a via metabólica do colesterol	Variante	Consequência Funcional/ Localização na Proteína	Patologia ou característica clínica relacionada	Referência*
17, 20, 30, 35, 43, 44, 63, 65 I1710, I2367, I2404, I990	*CETP*	Transferên-cia de colesterol	rs5880 (c.1168G>C; p.Ala390Pro)	Missense/ Domínio N-terminal	9	(HEIDARI-BENI et al., 2015)
16, 28, 30, 34, 37, 39, 40, 44, 55, 113, 122, 142, I1967, I2308, I2730, I2957, I467	*MTTP*	Transferên-cia de triacil-gliceróis	rs17029215 (c.1151A>C; p.Asp384Ala)	Missense/ Domínio Vitelogenina	4; 5	(CHEN et al., 2009)
23, 33, 35, 43, 57, 65, 66, 68, 70, 84, 92, 94, 147, I210, I2334, I2860, I3968, I63	*CYP2C9*	Metabolismo de fármacos	rs1057910 (c.1075A>C; p.Ile359Leu)	Missense/ α hélice K	7	(HASCHKE-BECHER et al., 2010)
66, 106, 126, I1967	*MTHFR*	Relação indireta	rs2274976 (c.1781G>A; p.Arg594Gln)	Missense/ Domínio C-terminal	10	(ZHOU et al., 2014)
123, I1730, I1967, I2404, N176	*MPO*	Relação indireta	rs2759 (c.2149A>G; p.Ile717Val)	Missense/ Cadeia pesada	7	(SCHARNAGL et al., 2014)

Legenda: *ABCA1 - Transportador de Cassete Ligante de ATP Subfamília A Membro 1; ABCB1 - Transportador de Cassete Ligante de ATP Subfamília B Membro; APOA4 - Apolipoproteína A4; APOA5 - Apolipoproteína A5; APOB - Apolipoproteína B; APOC1 - Apolipoproteína C1; CETP - Proteína de Transferência de Ester Colesterol; CYP2C9 - Citocromo P450 Família 2 Subfamília C Membro 9; LPL - Lipoproteína Lipase; MPO - Mieloperoxidase; MTHFR - Metilenotetrahidrofolato redutase; MTTP - Proteína Microssomal de Transferência de Triglicerídeos; PCSK9 - Proteína Convertase Subtilisina/Kexina Tipo 9;* 5' UTR - Região 5' Não Traduzida; 3' UTR - Região 3' Não Traduzida; 1 = Aumento das concentrações de triacilgliceróis; 2 = Aumento das concentrações de colesterol total; 3 = Aumento das concentrações de apolipoproteína B; 4 = Aumento das concentrações de apolipoproteína A; 5 = Maior gravidade de doença aterosclerótica coronariana; 6 = Associado com hiperlipidemia; 7 = Maior suscetibilidade a doença aterosclerótica coronariana; 8 = Aumento das concentrações de colesterol da lipoproteína de baixa densidade; 9 = Menores concentrações de colesterol da lipoproteína de alta densidade; 10 = Maior suscetibilidade a acidente vascular cerebral isquêmico.
*Referência mais recente identificada ou referência identificada na população brasileira

A tabela 10 apresenta os resultados das variantes mais prevalentes obtidas no presente estudo (frequência maior que 5%) e a sua frequência nos projetos de sequenciamento ESP, EXAC, 1000 genomas, BipMed e AbraON. Dessas, 18 também tiveram frequência maior que

5% em pelo menos um dos outros bancos de dados consultados, sendo que 14 delas tinham frequência maior que 5% nos bancos de dados disponíveis da população brasileira (BipMed e AbraOn). Em relação ao número de variantes por gene, os genes que mais apresentaram variantes identificadas foram: *APOB* (37), Calmina *(CLMN)* (41) e *LDLR* (32).

Tabela 10: Resultados das variantes mais frequentes encontrada na população de estudo comparado as frequências dos projetos de sequenciamento ESP, EXAC, 1000 genomas, BipMed e AbraON.

Gene	Variante	Frequência em nosso estudo (%)	MAF ESP (%)	MAF EXAC (%)	MAF 1000 Genomas (%)	MAF BipMed (%)	MAF AbraON (%)
APOB	rs1801701 (c.10913G>A; p.Arg3638Gl)	21,98	4,85*	6,89*	3,85*	9,00*	9,03*
APOA5	rs3135506 (c.56C>G; p.Ser19Trp)	19,15	NC	NC	5,60*	6,60*	8,46*
ALOX5AP	rs9508825 (c.-52T>C)	18,43	4,26*	NC	5,87*	5,70*	5,74*
LDLRAP1	rs4537542 (c.*1794G>A)	14,18	2,11*	NC	1,94*	NC	4,09*
CLMN	rs8020060 (c.-6283G>A)	13,47	NC	NC	2,40*	NC	5,52*
CYP2C9	rs1057910 (c.1075A>C; p.Ile359Leu)	12,77	4,26*	6,37*	4,85*	6,10*	6,07*
LDLR	rs72658879 (c.-100G>T)	12,76	NC	NC	5,30*	NC	NC
GHR	rs144561552 (c.-1770G>C)	12,06	NC	NC	2,10*	NC	4,51*
MTTP	rs17029215 (c.1151A>C; p.Asp384Ala)	12,05	4,99*	4,59*	7,07*	6,60*	4,84*
AGT	rs11568020 (c.2149A>G; p.Ile717Val)	11,34	4,67*	NC	4,65*	NC	6,40*
CLMN	rs7155470 (c.-2956T>C)	10,63	NC	NC	5,50*	NC	6,07
CLMN	rs7156866 (c.-2992A>G)	10,63	NC	NC	5,10*	NC	3,43*
ABCB1	rs9282564 (c.61A>G; p.Asn21Asp)	9,92	3,80*	8,00	2,60*	5,20	6,24

Continua...

Continuação...

Gene	Variante	Frequência em nosso estudo (%)	MAF ESP (%)	MAF EXAC (%)	MAF 1000 Genomas (%)	MAF BipMed (%)	MAF AbraON (%)
APOA4	rs5110 (c.1140G>T; p.Gln380His)	9,22	NC	5,24*	2,40*	8,50	5,99
COQ10A	rs1274498 (c.-210A>G)	9,22	NC	NC	1,00*	NC	3,10*
KIF6	rs11758639 (c.-468A>G)	9,22	NC	NC	2,00*	NC	4,09*
KIF6	rs72858468 (c.-1432G>A)	9,22	NC	NC	2,00*	NC	4,49*
KIF6	rs72858469 (c.-1142T>A)	9,22	NC	NC	2,00*	NC	3,78*
KIF6	rs72858477 (c.-205A>G)	9,22	NC	NC	2,00*	NC	3,69*
SLCO1B1	rs34671512 (c.1929A>C; p.Leu643Phe)	9,22	5,84	4,63*	4,40*	7,10	6,07
ABCB1	rs2229109 (c.1199G>A; p.Ser400Asn)	8,51	2,82*	2,90*	1,30*	4,20	3,28*
CETP	rs5880 (c.1168G>C; p.Ala390Pro)	8,51	3,39*	5,08*	4,19*	5,70	3,36*
F7	rs3093255 (c.-1146A>G)	8,51	NC	NC	4,50*	NC	3,68*
LPL	rs3289 (c.*371T>C)	8,51	3,34*	NC	3,93*	NC	2,27*
PCSK9	rs17111557 (c.*614C>T)	8,51	3,30*	NC	3,65*	NC	4,18*
SCARB1	rs701103 (c.-94G>A)	8,51	5,35	6,70	6,10	4,70	3,56*
COQ10A	rs77131854 (c.-130C>T)	7,80	NC	NC	3,20*	NC	2,97*
EPHX2	rs17057255 (c.307C>T; p.Arg103Cys)	7,80	3,61*	1,42*	3,10*	1,40*	3,28*
LPA	rs41272112 (c.4262G>A; p.Arg1421Gln)	7,80	1,83*	0,95*	2,20*	3,80	3,36*
MTTP	rs61733139 (c.285G>C; p.Gln95His)	7,80	5,35	4,06*	3,70*	3,30*	4,19*
ADD1	rs35640772 (c.-993T>C)	7,09	NC	NC	2,30*	NC	1,44*

Continua...

Continuação...

Gene	Variante	Frequência em nosso estudo (%)	MAF ESP (%)	MAF EXAC (%)	MAF 1000 Genomas (%)	MAF BipMed (%)	MAF AbraON (%)
CETP	rs1800777 (c.1403G>A; p.Arg468Gln)	7,09	2,61*	3,53*	2,64*	4,20*	2,54*
EPHX2	rs72473929 (c.-100G>T)	7,09	NC	NC	3,50*	NC	3,49*
F7	rs3093251 (c.-673A>G)	7,09	NC	NC	3,90*	NC	2,22*
GHR	rs62372049 (c.-1934T>C)	7,09	NC	NC	1,50*	NC	3,24
LPA	rs41267809 (c.5882T>C; p.Leu1961Pro)	7,09	1,53*	2,06*	1,20*	3,80	2,05*
SCARB1	rs58032386 (c.-624C>T)	7,09	NC	NC	3,90*	NC	1,22*
ABCB1	rs2214102 (c.-1A>G)	6,38	5,94	5,55	2,50*	94,80*	95,98*
ADD1	rs36038921 (c.-930T>C)	6,38	NC	NC	2,20*	NC	4,35
ADD1	rs4741 (c.-947A>G)	6,38	NC	NC	2,10*	NC	3,15
ADD1	rs4969 (c.-1097A>G)	6,38	NC	NC	1,80	NC	2,64*
CLMN	rs112366105 (c.-5194C>A)	6,38	NC	NC	3,00*	NC	1,74*
CLMN	rs28707051 (c.-1405A>G)	6,38	NC	NC	5,10	NC	NC
CLMN	rs7155222 (c.-3121T>C)	6,38	NC	NC	3,30*	NC	2,25*
CYP3A5	rs28371764 (c.-74C>T)	6,38	NC	NC	1,80*	4,70	3,03*
F7	rs3093256 (c.-1240C>G)	6,38	NC	NC	1,30*	NC	2,33*
F7	rs3093257 (c.-1275A>G)	6,38	NC	NC	3,30*	NC	1,96*
KIF6	rs61748649 (c.1652G>A; p.Arg551Lys)	6,38	2,12*	2,48*	1,10*	1,40*	2,21*
MTTP	rs113337987 (c.1981G>A; p.Gly661Ser)	6,38	2,54*	2,45*	1,00*	5,20	3,94
PON1	rs3917576 (c.-391G>A)	6,38	NC	NC	4,50	NC	3,48
PPP1R17	rs74499062 (c.-494G>C)	6,38	NC	NC	2,50*	NC	4,79

Continua...

Continuação...

Gene	Variante	Frequência em nosso estudo (%)	MAF ESP (%)	MAF EXAC (%)	MAF 1000 Genomas (%)	MAF BipMed (%)	MAF AbraON (%)
ABCG5	rs78070897 (c.785A>G; p.Lys262Arg)	5,67	1,92*	0,52*	2,10*	0,47*	1,15*
APOB	rs12714192 (c.2222C>A; p.Thr741Asn)	5,67	2,59*	0,71*	2,20*	2,40	2,05*
APOB	rs1801695 (c.13441G>A; p.Ala4481Thr)	5,67	2,85*	2,41*	1,40*	2,40	2,96
APOB	rs6752026 (c.433C>T; p.Pro145Ser)	5,67	3,88	NC	3,50	2,80	2,71*
CLMN	rs13379182 (c.-3160T>C)	5,67	NC	NC	3,70	NC	3,85
LDLRAP1	rs41291058 (c.712C>T; p.Arg238Trp)	5,67	3,63	3,56	1,60*	3,30	3,53
LRP1	rs1800127 (c.650C>T; p.Ala217Val)	5,67	1,61*	1,76*	0,70*	0,47*	0,74*
PPP1R17	rs17160458 (c.-856A>G)	5,67	NC	NC	2,70*	NC	0,90*

Legenda: *ABCB1 - Transportador de Cassete Ligante de ATP Subfamília B Membro 1; ABCG5 - Transportador de Cassete Ligante de ATP Subfamília G Membro 5; ADD1 - Adducina 1; AGT – Angiotensinogênio; ALOX5AP - Proteína de ativação de 5-lipoxigenase de araquidonato; APOA4 - Apolipoproteína A4; APOA5 - Apolipoproteína A5; APOB - Apolipoproteína B; CETP – Proteína de Transferência de Ester Colesterol; CLMN - Calmina; COQ10A - Coenzima Q10A; CYP2C9 - Citocromo P450 Família 2 Subfamília C Membro 9; CYP3A5 - Citocromo P450 Família 3 Subfamília A Membro 5; EPHX2 - Epóxidohidrolase 2; F7 - Fator de coagulação 7; GHR - Receptor do Hormônio de Crescimento; KIF6 - Membro 6 da Família Cinesina; LDLR - Receptor de LDL; LDLRAP1 - Proteína Adaptadora do Receptor de LDL 1; LPA - lipoproteína (a); LPL - Lipoproteína Lipase; LRP1 - Proteína relacionada ao receptor de LDL 1; MTTP – proteína microssomal de transferência de triglicerídeos; PCSK9 - Proteína Convertase Subtilisina/Kexina Tipo 9; PON1 - Paraoxonase 1; PPP1R17- Proteína Reguladora da Fosfatase 1 Subunidade 17 ; SCARB1- Receptor scavenger classe B membro 1 ; SLCO1B1- Transportador carregador de soluto aniônico membro da família 1B1 ;* MAF – Frequência do Menor Alelo; ESP - *Exome Sequencing Project*; ExAC - *Exome Aggregation Consortium*; BipMed - *Brazilian Initiative on Precision Medicine* ; AbraON - Arquivo Brasileiro Online de Mutações; NC - Não consta;
*p<0,05 teste qui-quadrado (Frequência do nosso estudo versos Frequência do estudo citado)

As variantes descritas com frequência menor que 5.0%, mas sem nenhum relato na literatura foram avaliadas através de ferramentas de predição *in silico*. As 22 variantes descritas na tabela 11, possuíam características patogênicas para a proteína em pelo menos 4

das ferramentas de predição *in silico*, essas variantes podem ser consideradas prioritária para validação funcional.

Tabela 11: Resultados das variantes descritas pelo presente estudo com predição *in silico* sugerindo características patogênicas devido à troca de aminoácido em 4 ou mais das ferramentas utilizadas.

Relação com a via metabólica do colesterol	Gene	Variante	Tipo de mutação	Polyphen-2	MAas	SIFT	Condel	Mutation Taster	PROVEAN	Número de pacientes
Absorção de LDL-c	***APOB***	rs12713675 (c.7367C>A; p.Ala2456Asp)	Missense	PBD	MI	D	NA	P	D	3
	APOB	rs12714097 (c.2630C>T; p.Pro877Leu)	Missense	PD	MI	D	N	DC	D	1
	APOB	rs12720855 (c.9880T>C; p.Ser3294Pro)	Missense	PD	MI	D	D	P	D	3
	APOB	rs61744288 (c.10780T>C; p.Trp3594Arg)	Missense	PD	MI	D	D	NA	D	2
	APOB	rs6752026 (c.433C>T; p.Pro145Ser)	Missense	PD	MI	D	N	NA	D	8
Apolipoproteínas	***APOA4***	rs2238008 (c.791G>T; p.Arg264Leu)	Missense	PBD	MI	D	D	DC	D	1
	APOA4	rs142050734 (c.598C>T; p.Arg200Cys)	Missense	PBD	MI	D	D	NA	D	1
	APOA4	rs146353487 (c.1057T>G; p.Ser353Ala)	Missense	PBD	MI	D	D	NA	N	1
	APOA4	rs12721043 (c.481G>T; p.Ala161Ser)	Missense	PBD	MI	D	D	NA	N	1
Lipo-proteína	***LPA***	rs41267807 (c.6068A>G; p.Tyr2023Cys)	Missense	PBD	NA	D	D	NA	D	1
Transpor-tadores	***SLCO1B1***	rs59502379 (c.1463G>C; p.Gly488Ala)	Missense	D	HI	D	D	DC	NA	2

Continua...

Continuação...

Relação com a via metabólica do colesterol	Gene	Variante	Tipo de mutação	Polyphen-2	MAas	SIFT	Condel	Mutation Taster	PROVEAN	Número de pacientes
Controle hormonal	***ADIPOQ***	rs62625753 (c.268G>A; p.Gly90Ser)	Missense	D	HI	D	D	DC	NA	1
Metabolismo de fármacos	***CYP2C9***	rs28371685 (c.1003C>T; p.Arg335Trp)	Missense	PD	NA	D	D	P	D	4
	CYP2C9	rs57505750 (c.980T>C; p.Ile327Thr)	Missense	PD	NA	D	D	NA	D	1
	CYP3A5	rs41279857 (c.299C>A; p.Ser100Tyr)	Missense	PD	NA	D	D	NA	D	1
Fatores de transcrição	***SREBF1***	rs36215896 (c.1828G>A; p.Val610Met)	Missense	D	MI	D	N	DC	NA	1
Relação indireta	***AGT***	rs1805090 (c.1174C>A; p.Leu392Met)	Missense	PD	NA	D	D	DC	N	1
	AGT	rs56073403 (c.842A>G; p.Tyr281Cys)	Missense	PD	NA	D	D	NA	D	1
	CLMN	rs35010297 (c.1069G>A; p.Glu357Lys)	Missense	PBD	MI	D	D	NA	N	1
	GHR	rs75028043 (c.227C>T; p.Thr76Ile)	Missense	PD	N	D	D	DC	N	1
	GHR	rs143814221 (c.739T>C; p.Tyr247His)	Missense	PD	NA	D	D	DC	N	1
	KIF6	rs142944273 (c.1087C>T; p.Arg363Cys)	Missense	PD	MI	D	D	NA	D	1

Legenda: *ADIPOQ – Adiponectina; AGT – Angiotensinogênio; APOA4 - Apolipoproteína A4; APOB - Apolipoproteína B; CLMN – Calmina; CYP2C9 - Citocromo P450 Família 2 Subfamília C Membro 9; CYP3A5 - Citocromo P450 Família 3 Subfamília A Membro 5; GHR – Receptor do Hormônio de Crescimento; KIF6 – Membro 6 da Família Cinesina; LPA – lipoproteína (a); SLCO1B1- Transportador carregador de soluto aniônico membro da família 1B1; SREBF1 - Fator de Transcrição do Elemento Regulador do Esterol 1; MAas – Mutation Assessor; SIFT - Sorts Intolerant From Tolerant Substitutions; Condel - CONsensus DELeteriousness Score; PROVEAN - Protein Variation Effect Analyzer;* D – Danosa/ Deletéria; PD – Possivelmente Danosa; PBD – Provavelmente Danosa; HI – Alto Impacto (*High Impact*); NA – Não Avaliável; MI – Impacto médio (*Medium impact)*; N – Neutra; DC – Causa de doença (*Disease Cause)*; P – Polimorfismo.

Foram identificadas também, no presente estudo, 223 variantes na região UTR dos genes analisados, com frequência menor que 5,0% na população geral: *ABCA1 (5),* Transportador de Cassete Ligante de ATP Subfamília B Membro 1 *(ABCB1) (4), ABCG5 (1), ABCG8 (1),* Adducina 1 *(ADD1) (9),* Adiponectina *(ADIPOQ) (6),* Angiotensinogênio *(AGT) (8),* Proteína de Ativação de 5-lipoxigenase de Araquidonato *(ALOX5AP) (3),* Apolipoproteína A4 *(APOA4) (1), APOA5 (3), APOB (4),* Apolipoproteína C1 *(APOC1) (2), APOC2 (1),* Apolipoproteína C4 *(APOC4) (4),* Proteína de Transferência de Ester de Colesterol *(CETP) (1), CLMN (29),* Coenzima Q10A *(COQ10A) (3),* Proteína de ligação ao ácido retinóico celular 2 *(CRABP2) (4),* Citocromo P450 Família 2 Subfamília C Membro 9 *(CYP2C9) (1),* Citocromo P450 Família 3 Subfamília A Membro 4 *(CYP3A4) (3),* Citocromo P450 Família 3 Subfamília A Membro 5 *(CYP3A5) (1),* Receptor do Fator de Crescimento Epidérmico *(EGFR) (6),* Epóxidohidrolase 2 *(EPHX2) (4),* Fator de coagulação 7 *(F7) (10),* Receptor do Hormônio de Crescimento *(GHR) (9), HMGCR (5),* Interleucina 10 (*IL10) (4),* Interleucina 6 *(IL6) (1),* Membro 6 da Família Cinesina *(KIF6) (10), LDLR (15), LDLRAP1 (4), LIPA (3), LPL (6),* Proteína relacionada ao receptor de LDL 1 (*LRP1) (1),* Metilenotetrahidrofolato redutase *(MTHFR) (4),* Proteína de Interação da Cadeia Leve Reguladora da Miosina *(MYLIP) (4),* Oxido Nítrico Sintase 3 (*NOS3) (1),* Peptídeo Natriurético A *(NPPA) (3), PCSK9 (10),* Paraoxonase 1 *(PON1) (2),* Proteína Reguladora da Fosfatase 1 Subunidade 17 (*PPP1R17) (9), SCAP (3),* Receptor *scavenger* classe B membro 1 (*SCARB1) (4),* Transportador Carregador de Soluto Aniônico Membro da Família 1B1 (*SLCO1B1) (1),* Fator de Transcrição do Elemento Regulador do Esterol 1 (*SREBF1) (4), SREBF2 (2),* Fator de Necrose Tumoral *(TNF) (1)* e *TRIB1 (3)* (quadro 5 anexo G).

Na literatura encontrou-se duas dessas variantes associadas à HF (tabela 7) e quatro associadas com fenótipos ou características clínicas similares a HF (tabela 9). As demais variantes não possuem descrição na literatura ou foram associadas a outros fatores.

Estes resultados obtidos não puderam ser avaliados pelas ferramentas de predição *in silico* utilizadas para verificar a possibilidade de patogenicidade, portanto, devem ser explorados por ferramentas *in vitro*.

5.5 VARIANTES NÃO DESCRITAS

Foram identificadas 45 variantes ainda não descritas nos bancos de dados disponíveis, portanto passiveis de serem posteriormente depositadas a fim de tornar acessíveis os dados identificados nesse trabalho (tabela 12).

Tabela 12: Resultados das variantes novas identificadas nos éxons dos 61 genes analisados.

Gene	Sequência Referência: troca nucleotídica	Sequência Referência: troca proteica	Chr	Posição Chr	Tipo de mutação	Localização na proteína	Relação com a via metabólica do colesterol
APOB	NM_000384.2: c.5743G>A	NP_000375.2: p.Gly1915Arg	2	21233997	Missense	Região do core lipídico	Absorção de LDL-c
APOB	NM_000384.2: c.2950G>A	NP_000375.2: p.Ala984Thr	2	21242644	Missense	Região de superfície	Absorção de LDL-c
LDLR	NM_000527.4: c.*1477G>A	-	19	11243469	3'UTR	Região não transcrita	Absorção de LDL-c
LDLR	NM_000527.4: c.*1912C>T	-	19	11243904	3'UTR	Região não transcrita	Absorção de LDL-c
LRP1	NM_002332.2: c.7843G>A	NP_002323.2: p.Gly2615Arg	12	57587720	Missense	Extracelular	Absorção de LDL-c
LRP1	NM_002332.2: c.-80G>A	-	12	57522668	5'UTR	Região não transcrita	Absorção de LDL-c
PCSK9	NM_174936.3: c.*331T>C	-	1	55529588	3'UTR	Região não transcrita	Absorção de LDL-c
SCARB1	NM_005505.4: c.*455C>T	-	12	125262678	3'UTR	Região não transcrita	Absorção de LDL-c
SCARB1	NM_005505.4: c.*354C>A	-	12	125262779	3'UTR	Região não transcrita	Absorção de LDL-c
APOA4	NM_000482.3: c.*11G>C	-	11	116691572	3'UTR	Região não transcrita	Apolipo-proteínas
APOA4	NM_000482.3: c.533C>T	NP_000473.2: p.Ser178Leu	11	116692241	Missense	Hélice B	Apolipo-proteínas
APOA5	NM_052968.4: c.*17G>A	-	11	116660827	3'UTR	Região não transcrita	Apolipo-proteínas
APOC2	NM_000483.4: c.*204C>A	-	19	45452710	3'UTR	Região não transcrita	Apolipo-proteínas
APOC3	NM_000040.1: c.-30A>T	-	11	116700640	5'UTR	Região não transcrita	Apolipo-proteínas
LPA	NM_005577.2: c.*78T>C	-	6	160952683	3'UTR	Região não transcrita	Lipoproteínas
LPL	NM_000237.2: c.*1643C>G	-	8	19824464	3'UTR	Região não transcrita	Lipoproteínas
ABCA1	NM_005502.3: c.3881A>G	NP_005493.2: p.Asn1294Ser	9	107576419	Missense	Transmem-brana	Transpor-tadores
ABCG5	NM_022436.2: c.*176G>A	-	2	44040079	3'UTR	Região não transcrita	Transpor-tadores
LIPA	NM_001127605.1: c.254A>G	NP_001121077.1: p.Gln85Arg	10	90988131	Missense	Domínio AB hidrolase	Hidrólise de ácidos graxos

Continua...

Continuação...

Gene	Sequência Referência: troca nucleotídica	Sequência Referência: troca proteica	Chr	Posição Chr	Tipo de mutação	Localização na proteína	Relação com a via metabólica do colesterol
PON1	NM_000446.5: c.*392G>A	-	7	94927864	3'UTR	Região não transcrita	Hidrólise de hidroperóxidos de fosfolípides
ADD1	NM_014189.3: c.-81A>C	-	4	2845691	5'UTR	Região não transcrita	Biossíntese do colesterol
HMGCR	NM_000859.2: c.*1106A>G	-	5	74657273	3'UTR	Região não transcrita	Biossíntese do colesterol
CYP2C9	NM_000771.3: c.13G>T	NP_000762.2: p.Val5Leu	10	96698452	Missense	Domínio N-terminal	Metabolismo de fármacos
ANGPTL3	NM_014495.2: c.*116T>C	-	1	63070604	3'UTR	Região não transcrita	Inibidor de lipases
ANGPTL3	NM_014495.2: c.*620C>T	-	1	63071108	3'UTR	Região não transcrita	Inibidor de lipases
ANGPTL3	NM_014495.2: c.*293C>T	-	1	63070781	3'UTR	Região não transcrita	Inibidor de lipases
SCAP	NM_012235.2: c.551G>A	NP_036367.2: p.Arg184His	3	47469017	Missense	Domínio topológico lumenal	Fatores de transcrição
SREBF1	NM_001005291.2: c.-147G>C	-	17	17740278	5'UTR	Região não transcrita	Fatores de transcrição
AGT	NM_000029.3: c.*514G>A	-	1	230838373	3'UTR	Região não transcrita	Relação indireta
CLMN	NM_024734.3: c.*6514C>A	-	14	95651387	3'UTR	Região não transcrita	Relação indireta
CLMN	NM_024734.3: c.*6460A>T	-	14	95651441	3'UTR	Região não transcrita	Relação indireta
CLMN	NM_024734.3: c.*5109G>A	-	14	95652792	3'UTR	Região não transcrita	Relação indireta
CLMN	NM_024734.3: c.*2795G>T	-	14	95655106	3'UTR	Região não transcrita	Relação indireta
CLMN	NM_024734.3: c.*1075G>T	-	14	95656826	3'UTR	Região não transcrita	Relação indireta
CLMN	NM_024734.3: c.*5033G>A	-	14	95652868	3'UTR	Região não transcrita	Relação indireta
CLMN	NM_024734.3: c.*4716T>C	-	14	95653185	3'UTR	Região não transcrita	Relação indireta
COQ10A	NM_144576.3: c.-44C>T	-	12	56660859	5'UTR	Região não transcrita	Relação indireta
GHR	NM_001242399.2: c.*1611G>A	-	5	42721137	3'UTR	Região não transcrita	Relação indireta
KIF6	NM_145027.4: c.*940G>A	-	6	39303368	3'UTR	Região não transcrita	Relação indireta
KIF6	NM_145027.4: c.1181A>C	NP_659464.3: p.Gln394Pro	6	39545832	Missense		Relação indireta
MYLIP	NM_013262.3: c.*1260A>C	-	6	16148242	3'UTR	Região não transcrita	Relação indireta
PPP1R17	NM_006658.4: c.*866A>G	-	7	31747763	3'UTR	Região não transcrita	Relação indireta
PPP1R17	NM_006658.4: c.247G>T	NP_006649.2: p.Glu83Ter	7	31736590	Ganho de códon de parada	Região alvo	Relação indireta
TRIB1	NM_025195.2: c.*1521C>T	-	8	126450234	3'UTR	Região não transcrita	Relação indireta

Legenda: *ABCA1 - Transportador de Cassete Ligante de ATP Subfamília A Membro 1; ABCG5 – Transportador de Cassete Ligante de ATP Subfamília G Membro 5; ADD1 - Adducina 1; AGT – Angiotensinogênio; ANGPTL3 – Angiopoietina Tipo 3; APOA4 - Apolipoproteína A4; APOB - Apolipoproteína B; APOC2 - Apolipoproteína C2; APOC3 - Apolipoproteína C3; CLMN – Calmina; COQ10A - Coenzima Q10A; CYP2C9 - Citocromo P450 Família 2 Subfamília C Membro 9; GHR – Receptor do Hormônio de Crescimento; HMGCR - 3-hidroxi-3-metilglutaril-CoA redutase; KIF6 – Membro 6 da Família Cinesina; LDLR - Receptor de LDL; LIPA - Lipase A; LPA – lipoproteína (a); LPL - Lipoproteína Lipase; LRP1 - Proteína relacionada ao receptor de LDL 1; MYLIP - Proteína de interação da cadeia leve reguladora da miosina; PCSK9 - Proteína Convertase Subtilisina/Kexina Tipo 9; PON1 - Paraoxonase 1; PPP1R17 - Proteína Reguladora da Fosfatase 1 Subunidade 17; SCAP - SREBF chaperona; SCARB1 - Receptor scavenger classe B membro 1; SREBF1 - Fator de Transcrição do Elemento Regulador do Esterol 1; TRIB1 - Tribbles Pseudocinase 1*

5.6 ANALISE DAS VARIANTES POR DOCKING MOLECULAR

As variantes no gene *APOB* encontradas no presente estudo e não descritas na literatura e ou descritas mas não associadas à HF e com característica patogênica para a proteína, foram analisadas por docking molecular, a fim de identificar os pontos de interação da apoB-100 com o LDLR e verificar se a alteração da sequencia do DNA e consequentemente do aminoácido, pode levar a um prejuízo nessa interação. Para o *LDLR* e *PCSK9* não foi possível realizar esta análise, pois as variantes não descritas identificadas se encontram em região não transcrita.

O docking molecular foi realizado utilizando a estrutura do cristal da apoB-100 interagindo com o LDLR e as proteínas mutadas foram construídas a partir da troca do aminoácido das variantes missense não descritas: p.Gly1915Arg e p.Ala984Thr; e para as variantes sem descrição na literatura e com característica patogênica para a proteína: p.Ala2456Asp, p.Pro877Leu. p.Ser3294Pro, p.Trp3594Arg e p.Pro145Ser.

Por esta análise, as variantes p.Ala984Thr e p.Pro145Ser mostraram alteração significativa na estrutura proteica da apoB-100, no entanto sem alteraração na afinidade com o LDLR (figura 4 e 5). Já a variante p.Pro877Leu também mostrou alteração significativa na estrutura proteica da apoB-100, levando a uma maior afinidade com o LDLR (figura 6). As demais variantes não mostraram alterações significativas para a proteína.

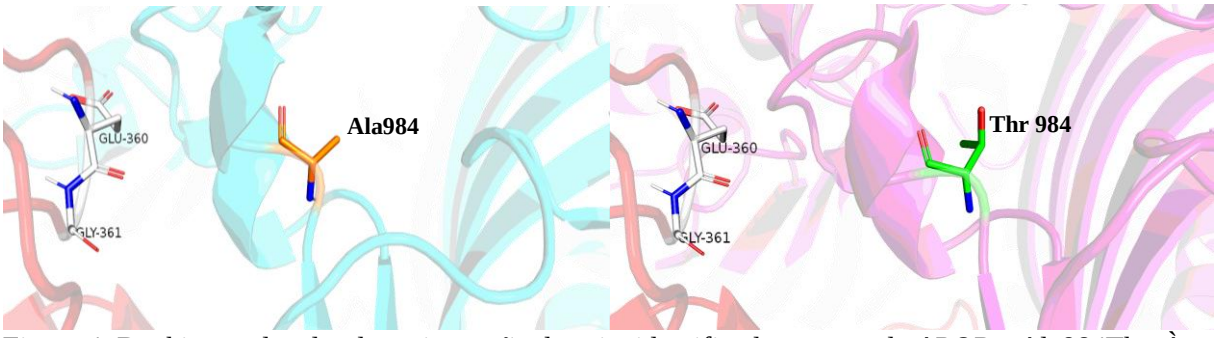

Figura 4: Docking molecular da variante não descrita identificada no gene da *APOB* p.Ala984Thr. À esquerda temos a interação do LDLR (em vermelho) com a apoB-100 selvagem (em azul). À direita a interação do LDLR (em vermelho) com a apoB-100 mutada (em rosa).

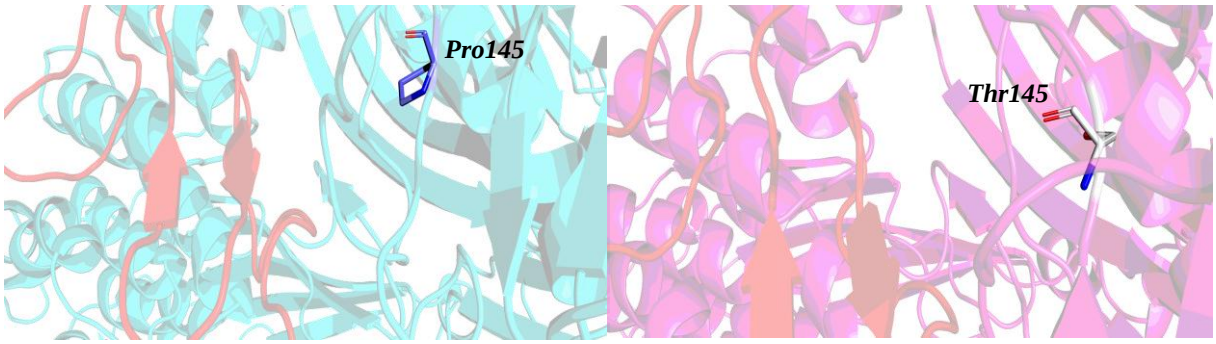

Figura 5: Docking molecular da variante sem descrição na literatura e com característica patogênica para a proteína identificada no gene da *APOB* p.Pro145Thr. À esquerda temos a interação do LDLR (em vermelho) com a apoB-100 selvagem (em azul). À direita a interação do LDLR (em vermelho) com a apoB-100 mutada (em rosa).

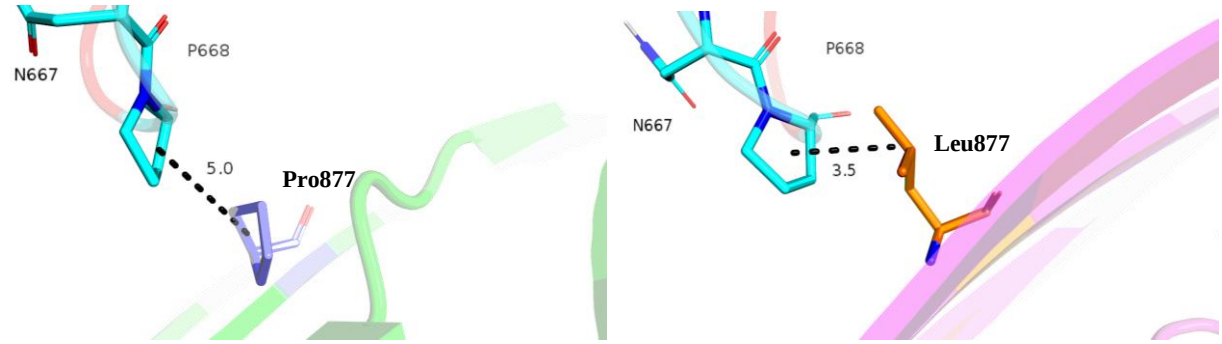

Figura 6: Docking molecular da variante sem descrição na literatura e com característica patogênica para a proteína identificada no gene da *APOB* p.Pro877Leu. À esquerda temos a interação do LDLR (em vermelho) com a apoB-100 selvagem (em verde). À direita a interação do LDLR (em vermelho) com a apoB-100 mutada (em rosa).

5.7 ANÁLISE DE RELAÇÃO FENÓTIPO VERSOS GENÓTIPOS

Quando realizada as análises estatística comparando as características clínicas dos 141 pacientes do estudo, observamos associação de 22 variantes com as concentrações de LDL-c, sendo que as variantes *APOB* rs12713675 c.7367C>A, rs12720855 c.9880T>C e rs61743299 c.12697T>A; *LDLR* rs72658879 c.-2016G>A; *CLMN* rs112366105 c.-5194C>A, rs56119341 c.-985A>G, rs7155222 c.-3121T>C, rs7155470 c.-2956T>C e rs7156866 c.-2992A>G; *EGFR* rs35918369 c.3629C>T; *IL6* rs13306435 c.486T>A; *MPO* rs2759 c.2149A>G; e CRABP2 rs150325179 c.-46T>C, mostraram associação com concentrações mais elevadas de LDL-c (figura 7 e quadro 6 anexo G). Enquanto as variantes *ABCB1* rs9282564 c.61A>G; *APOA5* rs192708363 c.-59C>A; *APOB* rs12691202 c.2188G>A e rs12713450 c.13451C>T; *COQ10A* rs1274498 c.-210A>G; *HMGCR* rs17244932 c.-497T>C; *LDLRAP1* rs76969561 c.-1222T>C; *SREBF1* rs73981075 c.-1771A>C; e *GHR* Chr5: 42721137 c.*1611G>A, mostraram associação com concentrações mais baixas de LDL-c (quadro 6 anexo G).

Em relação às concentrações de apoB-100, 11 variantes mostraram associação significativa, sendo as *CRABP2* rs150325179 c.-46T>; CYP3A4 rs28988604 c.-683C>T; *KIF6* rs61748649 c.1652G>A; *PPP1R17* rs36047130 c.29T>G; e *LDLRAP1* rs10062 c.-1793C>T associadas com maiores concentrações de apoB-100 (figura 8 e quadro 6 anexo G), e as *APOA5* rs192708363 c.-59C>A; *HMGCR* rs17244932 c.-497T>C; *MTTP* rs17599091 c.730C>G; *PCSK9* rs28362201 c.-245G>T e rs28362292 c.-849T>C; e *SREBF1* rs73981075 c.-1771A>C, com menores concentrações de apoB-100 (quadro 6 anexo G).

As variantes *CLMN* rs7155470 c.-2956T>C, rs7156866 c.-2992A>G e rs75063901 c.-5035G>A; *LDLR* rs72658879 c.-2016G>A; *SCARB1* rs701103 c.-94G>A mostraram associação com concentrações mais elevadas de CT (figura 9 e quadro 6 anexo G). Já as variantes associadas com concentrações mais baixas de CT foram *APOB* rs12713450 c.13451C>T; *CRABP2* rs116587898 c.-162G>A; *EGFR* rs17290225 c.-16G>A; *HMGCR* rs17244932 c.-497T>C; *SREBF1* rs73981075 c.-1771A>C e *GHR* Chr5:42721137 c.*1611G>A.

Outras 3 variantes mostraram-se associada com valores mais elevados de VLDL e 5 com valores mais baixo. Para valores de TG, 3 variantes foram associadas com concentrações

mais elevadas e 9 com concentrações mais baixas. Em relação à apoA1, 2 variantes foram associadas significativamente com valores mais elevados e 7 com valores mais baixos. Com os valores mais elevados de HDL-c apenas 1 variante mostrou-se associada, já para valores mais baixos identificou associação de 6 variantes (quadro 6 anexo H).

Além disso, as variantes *AGT* rs61757164 c.-506C>T; *APOC4* rs10425530 c.-149G>A; e *PCSK9* rs28362263 c.1327G>A mostraram associação com a presença de arco córneo (figura 10 e quadro 7 anexo H). Enquanto as variantes *APOB* rs12713450 c.13451C>T; *PON1* rs3917575 c.-260T>C; e *SCARB1* rs701103 c.-94G>A mostraram associação com a ausência do mesmo fenótipo (quadro 7 anexo H).

Com a presença de xantelasmas as variantes *AGT* rs61757164 c.-506C>T e *NOS3* rs143125350 c.1837C>G se mostraram associadas (figura 11 e quadro 7 anexo H). Enquanto que com a ausência de xantomas foram associadas significativamente as variantes *ADIPOQ* rs1501298 c.-149G>A e *ALOX5AP* rs9508825 c.-52T>C (figura 12 e quadro 7 anexo H).

As variantes *COQ10A* rs1274498 c.-210A>G e *LPL* rs3289 c.-371T>C mostraram-se associadas com a presença de DAC (figura 13 e quadro 7 anexo H), já a variante *COQ10A* rs77131854 c.-130C>T foi associada com a ausência deste fenótipo (quadro 7 anexo H).

Outras 5 variantes foram associadas com a ocorrência de acidente vascular cerebral (AVC), 1 com a ausência de AVC, 3 com a realização de revascularização do miocárdio (RM), 1 com ausência de doença arterial periférica (DAP), 1 com a ocorrência de IAM e 2 com a presença de angina (quadro 7 anexo H).

Dessas variantes estatisticamente associadas em nosso estudo, apenas a variante *LDLR* rs875989887 (c.-140C>A), associada com a ocorrência de AVC, já havia sido previamente descrita com HF (tabela 7). As variantes *APOB* rs12714225 c.1223T>C e rs1042023 c.10294C>G; *APOA5* rs3135506 c.56C>G; *LPL* rs3289 c.-371T>C; e *MPO* rs2759 c.2149A>G possuíam descrição na literatura associando-as com alguma outra dislipidemia ou característica clínica relacionada (tabela 8 e 9). As demais variantes não tiveram descrição na literatura, no entanto as variantes *APOB* rs12713675 c.7367C>A e rs12720855 c.9880T>C possuíam característica patogênica para a proteína segundo mais de 4 ferramentas de predição "*in silico"* (tabela 11).

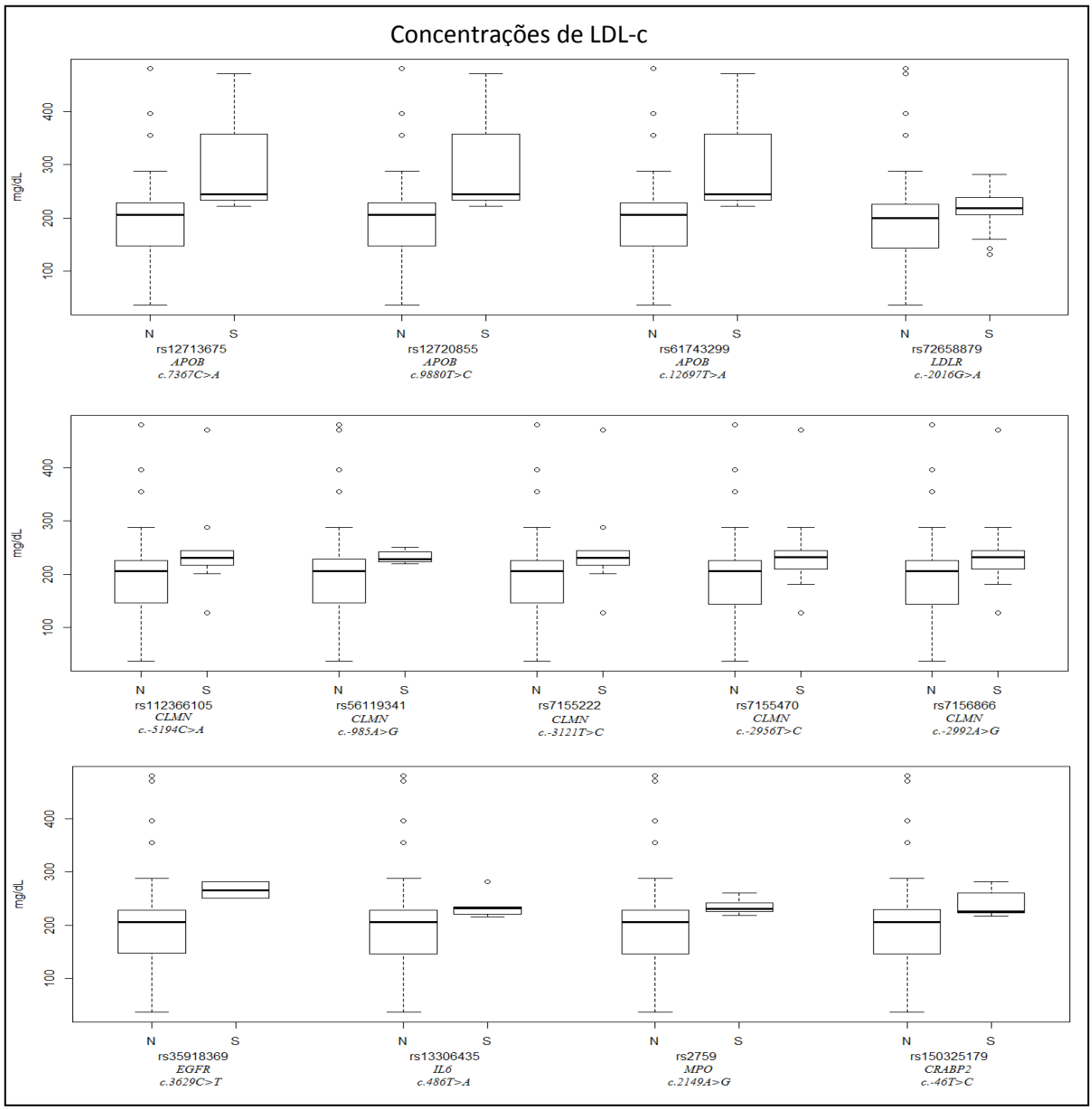

Figura 7: Representação gráfica da análise de associação entre a presença das variantes e sua associação com concentrações mais elevadas de LDL-c ($p<0,05$).

Legenda: N= Ausência da variante; S = Presença da variantes; LDL-c – colesterol da lipoproteína de baixa densidade; *APOB - Apolipoproteína B; LDLR - Receptor de LDL; CLMN – Calmina; EGFR – Receptor do Fator de Crescimento Epidérmico; IL6 – Interleucina 6; MPO – Mieloperoxidase; CRABP2 - Proteína de ligação ao ácido retinóico celular 2*

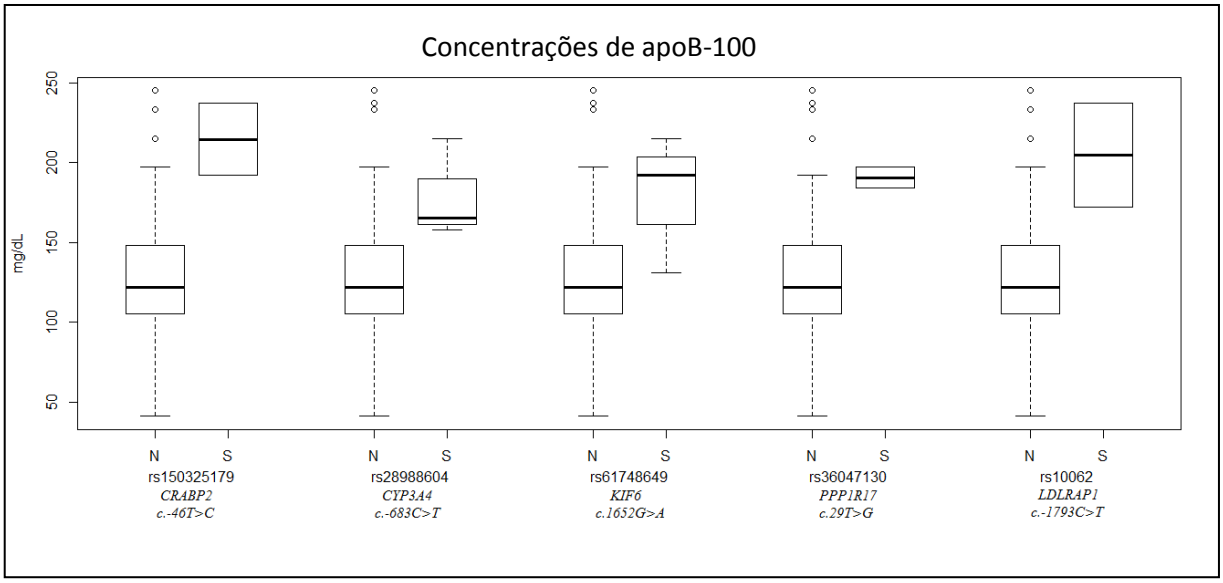

Figura 8: Representação gráfica da análise de associação entre a presença das variantes e sua associação com concentrações mais elevadas de apoB-100 (p<0,05).
Legenda: N= Ausência da variante; S = Presença da variantes; apoB-100= Apolipoproteína B 100; *CRABP2 - Proteína de ligação ao ácido retinóico celular 2; CYP3A4 - Citocromo P450 Família 3 Subfamília A Membro 4; KIF6 – Membro 6 da Família Cinesina; PPP1R17 - Proteína Reguladora da Fosfatase 1 Subunidade 17; LDLRAP1 - Proteína Adaptadora do Receptor de LDL 1*

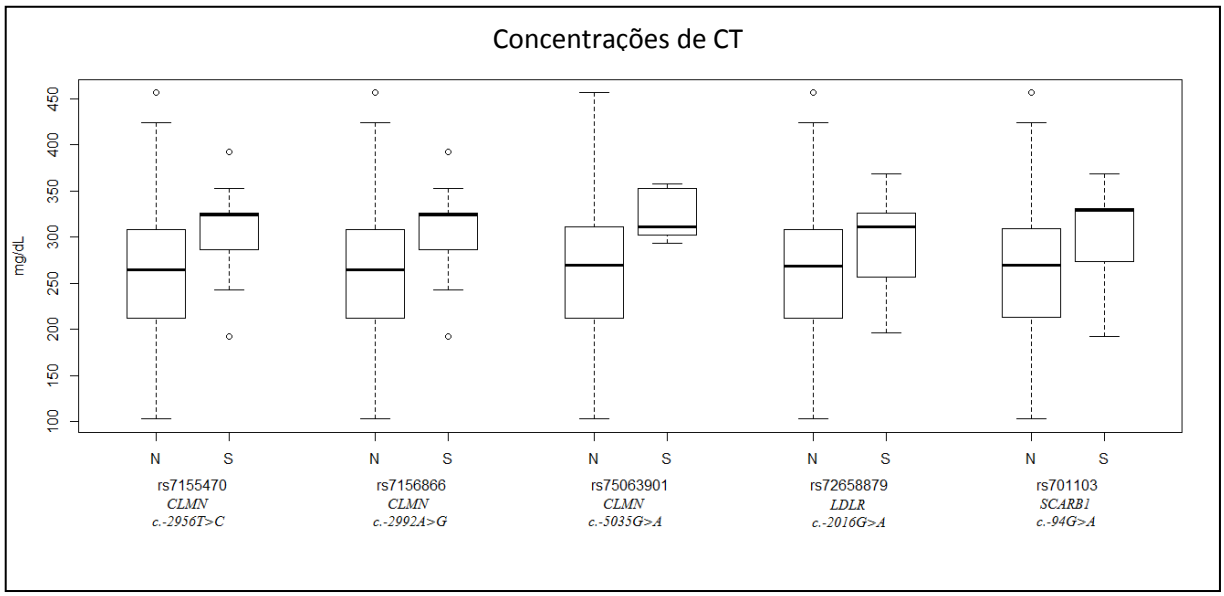

Figura 9: Representação gráfica da análise de associação entre a presença das variantes e sua associação com concentrações mais elevadas de CT (p<0,05).
Legenda: N= Ausência da variante; S = Presença da variantes; CT – colesterol sérico total; *CLMN – Calmina; LDLR - Receptor de LDL; SCARB1 - Receptor scavenger classe B membro 1*

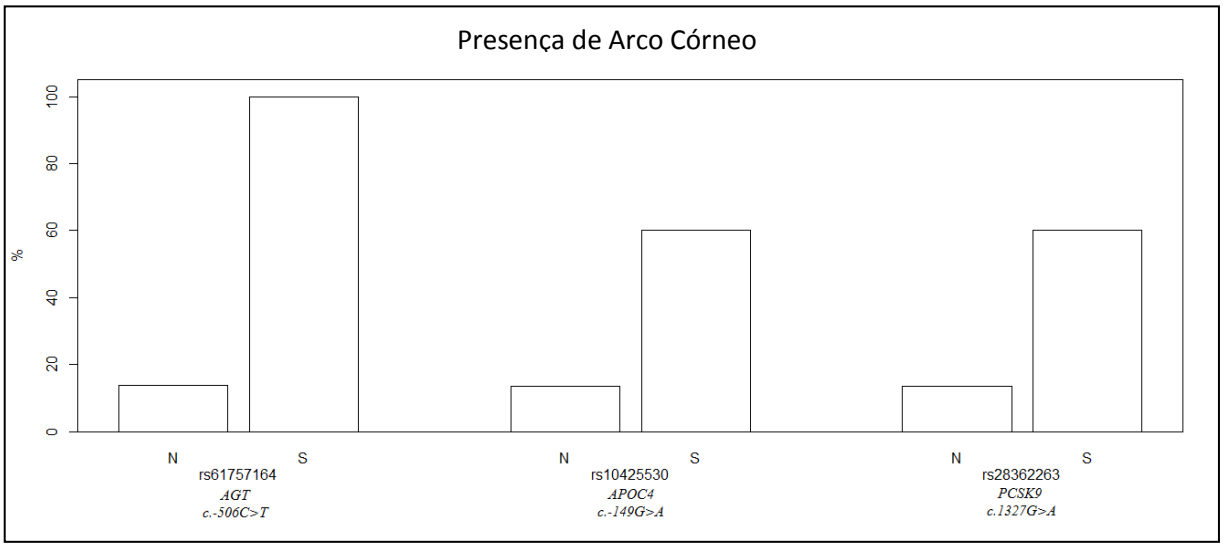

Figura 10: Representação gráfica da análise de associação entre a presença das variantes e sua associação com a presença de arco córneo (p<0,05).
Legenda: N= Ausência da variante; S = Presença da variantes; *AGT – Angiotensinogênio; APOC4 - Apolipoproteína C4; PCSK9 - Proteína Convertase Subtilisina/Kexina Tipo 9; PON1 - Paraoxonase 1*

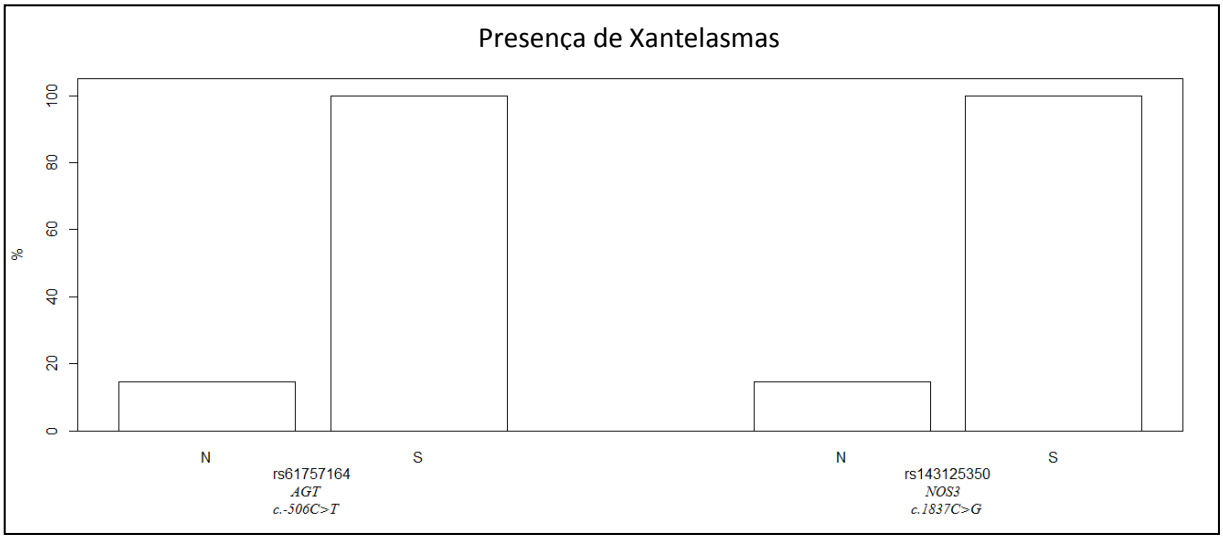

Figura 11: Representação gráfica da análise de associação entre a presença das variantes e sua associação com a presença de xantelasmas (p<0,05).
Legenda: N= Ausência da variante; S = Presença da variantes; *AGT – Angiotensinogênio; NOS3 - Oxido Nítrico Sintase 3*

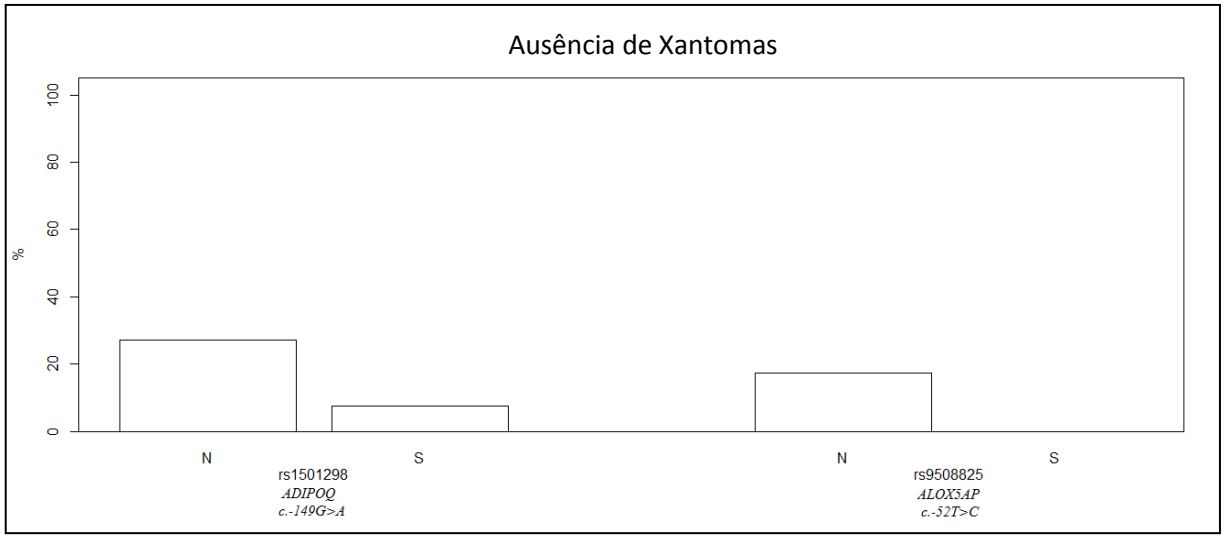

Figura 12: Representação gráfica da análise de associação entre a presença das variantes e sua associação com a ausência de xantomas (p<0,05).
Legenda: N= Ausência da variante; S = Presença da variantes; *ADIPOQ – Adiponectina ALOX5AP - Proteína de ativação de 5-lipoxigenase de araquidonato.*

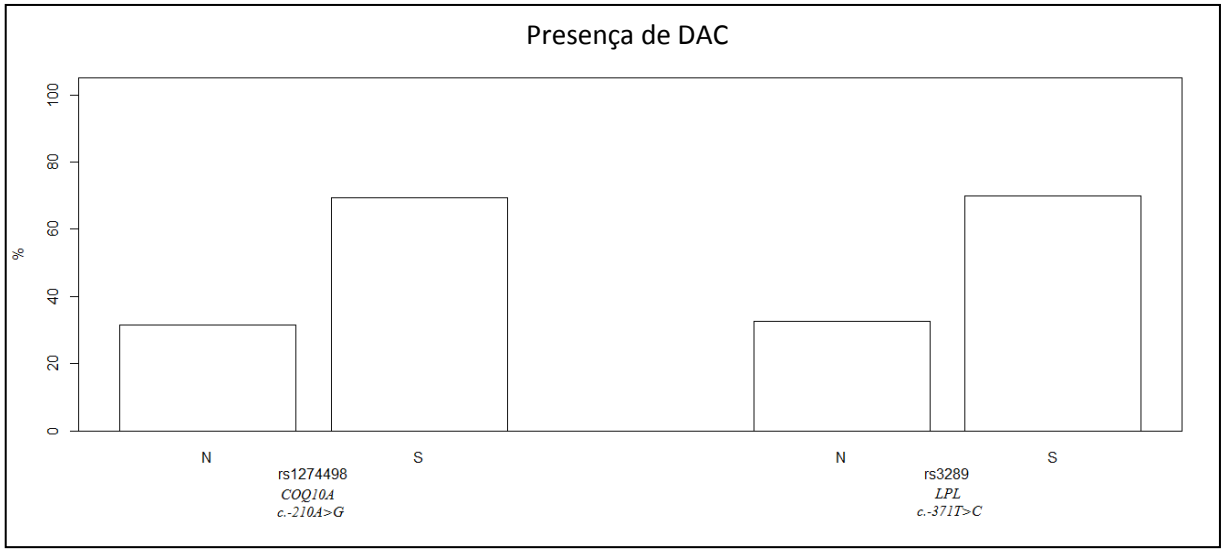

Figura 13: Representação gráfica da análise de associação entre a presença das variantes e sua associação com a presença de DAC (p<0,05).
Legenda: N= Ausência da variante; S = Presença da variantes; DAC = Doença Arterial Coronariana; *COQ10A - Coenzima Q10A; LPL - Lipoproteína Lipase.*

5.8 DIAGNÓSTICO FENOTÍPICO E GENOTÍPICO

Na tabela 13 estão relacionados os resultados fenotípicos com seus respectivos resultados genotípicos obtidos com a analise de sequenciamento pelo painel dos genes escolhidos para este estudo. Dos 141 paciente incluídos neste estudo com diagnóstico fenotípico de HF, 106 apresentaram alguma variante que pode explicar o seu quadro clínico, sendo confirmando o seu diagnóstico (30 casos), realizando um diagnóstico diferencial (11 casos) ou associando a alguma de suas características fenotípicas (69 casos).

Observa-se também que muitos pacientes apresentaram mais de uma variante simultaneamente, o que deve ser cuidadosamente avaliado para ser detalhadamente acompanhado, tanto na resposta terapêutica como a evolução clinica que eventualmente pode variar dependendo do perfil genotípico obtido.

Tabela 13: Resultados da análise de associação entre o diagnóstico fenotípico e a contribuição da análise genotípica para utilização clinica.

Número do paciente	**Critério clínico***	**Diagnóstico molecular de HF**	**Diagnóstico molecular de outras dislipidemias primárias**	**Literatura associada com alteração lipídica e/ou suas consequências**
001	Provável	*LDLR*	-	Sim
002	Provável	*APOB/LDLR*	-	Sim
003	Certeza	*APOB*	-	Sim
005	Possível	*APOB*	-	Sim
006	Provável	*LDLR*	-	Sim
007	Possível	-	-	Sim
009	Certeza	-	-	Sim
010	Certeza	*LDLR*	-	Sim
011	Provável	*LDLR*	-	Sim
012	Provável	*PCSK9*	-	Sim
015	Certeza	*LDLR*	-	-
016	Possível	-	Hipobetalipoproteinemia	Sim
017	Provável	*APOB*	Hipobetalipoproteinemia	Sim
019	Possível	*LDLR*	-	-
020	Possível	*LDLR*	-	Sim
021	Possível	-	Hiperlipoproteinemia Familial tipo 3	Sim

Continua...

Continuação...

Número do paciente	Critério clínico*	Diagnóstico molecular de HF	Diagnóstico molecular de outras dislipidemias primárias	Literatura associada com alteração lipídica e/ou suas consequências
022	Certeza	-	-	Sim
023	Certeza	*LDLR*	-	Sim
024	Provável	*LDLR*	Hiperlipidemia Familial Combinada	Sim
027	Certeza	*LDLR*	-	Sim
028	Possível	-	-	Sim
029	Certeza	-	-	Sim
030	Possível	-	-	Sim
032	Certeza	-	-	-
033	Certeza	-	Hiperlipidemia Familial Combinada	Sim
034	Possível	-	-	Sim
035	Possível	-	-	Sim
037	Possível	-	-	Sim
039	Certeza	-	-	Sim
040	Certeza	*APOB/ LDLR*	-	Sim
043	Certeza	*LDLR*	-	Sim
044	Possível	-	-	Sim
051	Possível	-	-	Sim
055	Certeza	*LDLR*	-	Sim
057	Certeza	*APOB*	-	Sim
058	Certeza	*LDLR*	-	Sim
061	Possível	*LDLR*	-	Sim
062	Possível	-	-	-
063	Possível	*APOB/ LDLR*	-	Sim
065	Certeza	-	Hiperlipoproteinemia Familial tipo 3	Sim
066	Possível	-	-	Sim
067	Possível	-	-	-
068	Certeza	-	-	Sim
069	Possível	-	-	Sim
070	Possível	-	-	Sim
072	Provável	-	-	-
079	Provável	-	-	-
083	Provável	-	-	Sim

Continua...

Continuação...

Número do paciente	Critério clínico*	Diagnóstico molecular de HF	Diagnóstico molecular de outras dislipidemias primárias	Literatura associada com alteração lipídica e/ou suas consequências
084	Provável	-	-	Sim
085	Certeza	-	-	-
087	Certeza	-	-	Sim
089	Possível	-	-	-
092	Provável	-	-	Sim
093	Possível	-	-	Sim
094	Possível	-	-	Sim
096	Certeza	-	-	Sim
098	Possível	-	-	Sim
099	Possível	-	-	Sim
100	Certeza	-	-	-
101	Possível	-	-	-
103	Possível	-	-	-
106	Provável	-	-	Sim
107	Possível	-	-	-
108	Possível	-	-	Sim
109	Possível	-	-	Sim
111	Possível	-	-	-
113	Possível	*APOB*	Hipobetalipoproteinemia	Sim
114	Possível	-	-	Sim
120	Possível	-	-	-
121	Provável	-	-	-
122	Provável	-	-	Sim
123	Certeza	-	-	Sim
124	Possível	-	Hiperlipidemia Familial Combinada	Sim
126	Possível	-	-	Sim
127	Possível	-	-	-
131	Possível	*APOB/ LDLR*	Hipobetalipoproteinemia	Sim
135	Possível	-	-	Sim
137	Certeza	*PCSK9*	-	Sim
140	Certeza	-	-	Sim
142	Possível	-	-	Sim
144	Possível	*LDLR*	-	Sim
147	Possível	-	-	Sim

Continua...

Continuação...

Número do paciente	Critério clínico*	Diagnóstico molecular de HF	Diagnóstico molecular de outras dislipidemias primárias	Literatura associada com alteração lipídica e/ou suas consequências
I0035	Certeza	*LDLR*	-	Sim
I0055	Provável	*PCSK9*	-	Sim
I0063	Provável	*PCSK9*	-	Sim
I0071	Provável	*LDLR*	-	-
I0076	Provável	-	-	-
I0082	Provável	-	-	-
I0099	Provável	-	-	Sim
I0210	Provável	-	-	Sim
I0467	Provável	-	-	Sim
I0548	Possível	-	-	-
I0579	Possível	-	-	-
I0638	Possível	-	-	Sim
I0990	Provável	-	-	Sim
I1048	Certeza	-	-	-
I1172	Provável	-	-	-
I1192	Possível	-	-	Sim
I1287	Provável	-	-	-
I1359	Provável	-	-	Sim
I1375	Possível	-	-	-
I1676	Provável	-	-	Sim
I1704	Provável	-	-	-
I1710	Provável	-	-	Sim
I1730	Possível	-	-	Sim
I1786	Provável	-	-	Sim
I1787	Provável	-	-	Sim
I1794	Provável	-	-	Sim
I1879	Possível	-	-	-
I1967	Provável	-	-	Sim
I2308	Possível	-	-	Sim
I2334	Possível	-	-	Sim
I2367	Possível	-	-	Sim
I2396	Provável	-	-	Sim
I2404	Possível	-	-	Sim
I2419	Possível	-	-	-
I2477	Possível	-	-	-

Continua...

Continuação...

Número do paciente	Critério clínico*	Diagnóstico molecular de HF	Diagnóstico molecular de outras dislipidemias primárias	Literatura associada com alteração lipídica e/ou suas consequências
I2543	Possível	-	-	Sim
I2685	Provável	-	Hipobetalipoproteinemia	-
I2730	Provável	-	-	Sim
I2860	Provável	-	-	Sim
I2873	Provável	-	-	-
I2957	Provável	-	-	Sim
I3105	Provável	-	-	Sim
I3192	Provável	-	-	Sim
I3367	Possível	-	-	Sim
I3395	Provável	-	-	Sim
I3409	Provável	-	-	-
I3485	Possível	-	-	-
I3512	Provável	-	-	-
I3541	Possível	-	-	-
I3549	Provável	-	-	-
I3742	Possível	-	Hiperlipidemia Familial Combinada	Sim
I3968	Provável	-	-	Sim
I3989	Possível	-	-	Sim
I4031	Possível	-	-	-
I4311	Provável	-	-	Sim
I4551	Possível	-	-	-
I4693	Provável	-	-	Sim
I5019	Provável	-	-	-
N176	Possível	-	-	Sim

Legenda: HF – Hipercolesterolemia Familial; *LDLR* - receptor de lipoproteína de baixa densidade; *APOB* - apolipoproteína B; *PCSK9* - Gene que codifica a proteína convertase subtilisina/kexina tipo 9.

* Baseado nos critérios demonstrados na tabela 1.

DISCUSSÃO

6. DISCUSSÃO

A revolução científica na área das ciências biológicas e médicas foi desencadeada quando se iniciou o projeto de sequenciamento do genoma humano: a concepção, seu curso, e as centenas de publicações derivadas. Resultou também no desenvolvimento tecnológico associado ao projeto de forma vertical, para suprir as necessidades geradas pela demanda cientifica. Os métodos de sequenciamento e a análise dos dados foram indiscutivelmente as áreas que tiveram o avanço mais significativo, gerando uma inovação que descrevemos hoje como a ciência da bioinformática.

A análise dos dados gerados pelas NGS, que produzem grande quantidade de dados, ainda hoje, é uma limitação pela riqueza de conhecimento científico gerado e que necessitam de muitas ferramentas computacionais para sua interpretação. Consequentemente as várias áreas de conhecimento como as engenharias de computação, elétrica e eletrônica; a biologia, a física, a matemática e a robótica que trouxeram benefícios incalculáveis a genética; a medicina, e a área das ciências farmacêuticas vem trabalhando em um esforço conjunto para otimizar a utilização desses dados, aplicando-os tanto para o diagnóstico quanto para o desenvolvimento de novos fármacos (biofarmacos) e o estabelecimento de novas áreas como a farmacogenômica, farmacoepigenômica, entre outras.

Assim observa-se que a genética sofreu transformações gigantescas, aprimorando as descrições das diversas doenças, até então pouco conhecidas. Atualmente o sequenciamento genômico tornou-se comum para diagnostico de doenças genéticas. Sem exagero, poucas doenças monogênicas ficaram sem diagnóstico. No entanto, devido à complexidade dos mecanismos fisiopatológicos das doenças poligênicas, estas ainda necessitam de mais estudos completos e integrados de varias áreas de conhecimento para alcançar a sensibilidade e reprodutibilidade necessária para a utilização clinica definitiva.

A hipercolesterolemia familial é uma doença com alta frequência, cosmopolita, considerada como doença monogênica, relacionado com 3 principais genes (*LDLR*, *PCSK9* e *APOB*) (NAJAM; RAY, 2015; SANTOS; MARANHAO, 2014). Fenotipicamente é caracterizada pelo aumento do CT, principalmente representado pelo da LDL-c (SANTOS et al., 2012). Na pratica diária raramente se solicita o perfil genético para o diagnostico definitivo, como preconizado pela diretriz brasileira de dislipidemia e aterosclerose e outros

consensos (FALUDI et al., 2017). Sem dúvida, isso nos leva a crer que o diagnóstico realizado desta doença não esta cumprindo as normas estabelecidas, gerando dados epidemiológicos questionáveis, em termo de diagnostico definitivo.

Baseado neste conhecimento prévio ousou-se neste estudo avaliar através de amostras de 3 centros de pesquisa, o perfil de variantes no éxon de 61 genes envolvidos no metabolismo direto ou indireto do colesterol, com a finalidade de estabelecer o diagnostico definitivo da HF, acrescentando-o em um serviço público e buscando estabelecer um perfil sistematizado para aplicação nacional.

No presente estudo foram incluídos 141 pacientes com diagnóstico fenotípico de HF obtendo-se, após análise dos dados, um total de 472 variantes distribuídas em 56 genes (figura 3). Apesar da boa cobertura obtida nas regiões sequenciadas, em cinco dos genes presentes no painel não foram identificadas variantes. Os genes *APOA1*, *APOA2*, *LIPC*, *RBP4* e *TIMP1* apesar de possuírem relações com as vias metabólicas do colesterol, não se mostraram efetivos para a analise de pacientes com HF (BALLESTER et al., 2016; CODOÑER-FRANCH et al., 2016; FENG et al., 2016; MA et al., 2016b; PLENGPANICH et al., 2013; SHAJARIAN et al., 2015; TODUR; ASHAVAID, 2013; WANG et al., 2017). Sendo assim para o diagnóstico genético de HF e outras hipercolesterolemias estes genes não auxiliaram no diagnóstico da à amostragem avaliada, no entanto para os casos de hipertrigliceridemia e redução da HDL, eles são de grande valia.

Com o painel proposto, 21,2% dos pacientes tiveram seu diagnóstico molecular confirmado com variantes já descritas para HF pela literatura. Este resultado, ainda que de uma amostra pequena, indica estar entre os valores estimados de 20 – 60% de indivíduos HF com variante causal para os 3 principais genes (CIVEIRA et al., 2008; CLARKE et al., 2013; FUTEMA et al., 2014). Entretanto é inferior ao de populações em que nenhum efeito fundador ocorreu como no Reino Unido, onde uma mutação pode ser identificada em cerca de 40% dos casos (STEIN; RAAL, 2013).

Um outro estudo brasileiro realizado com amostras do programa Hipercol Brasil, identificou uma variante causal em 50,4% dos casos índices incluídos, valor este superior ao identificado neste trabalho (JANNES et al., 2015). No entanto deve-se considerar as diferenças do critério de inclusão de cada estudo. Este trabalho utilizou o critério MEDPED para inclusão dos pacientes, o mesmo considera um valor mínimo de LDL-c para pontuação

de 155mg/dl, associado a outras características para o diagnóstico. Enquanto o outro estudo incluiu casos com LDL-c maior do que 210mg/dL, sem a utilização do critério MEDPED, o que pode interferir no perfil dos pacientes selecionados e contribuir para a diferença de diagnóstico obtida.

Entre os pacientes com variante causal identificada, 40,0% já eram considerados com diagnóstico definido apenas pelo seu fenótipo e estes representam 37,5% dos indivíduos com diagnóstico considerado como definido pelo critério MEDPED incluídos neste estudo (tabela 13). Estes valores são condizentes com o observado em outro estudo onde 35% dos pacientes com diagnóstico definido pelo fenótipo tiveram confirmação molecular (HOOPER et al., 2018).

Entre as variantes associadas com HF, 6 já haviam sido previamente identificadas na população brasileira, sendo elas as identificadas no gene *LDLR:* rs121908031 (c.2043C>A; p.Cys681Ter), rs879254797 (c.1118G>A; p.Gly373Asp), rs753707206 (c.1801G>C; p.Asp601His), rs121908039 (c.551G>A; p.Cys184Tyr), rs137929307 (c.1775G>A; p.Gly592Glu) e rs28942078 (c.1285G>A; p.Val429Met) (JANNES et al., 2015; SALAZAR et al., 2002; SANTOS et al., 2014). Enquanto que das demais variantes não foram encontradas publicações nesta população sendo portanto consideradas inéditas. Cinco destas variantes estavam presentes em mais de um paciente do estudo, mostrando sua importância nesta população (tabela 7).

Um aspecto importante a se considerar neste sentido é que mutações já identificadas nos genes *LDLR, APOB* e *PCSK9* relacionadas à HF têm distribuição e frequências diferentes entre as populações (BRAUTBAR et al., 2015; LIYANAGE et al., 2011). Isso é perceptível neste estudo de uma população altamente miscigenada, que é a brasileira, e que em uma amostra de 141 pacientes, apenas 30 obtiveram diagnóstico genético confirmado e esta confirmação se deu por 25 diferentes variantes (tabela 7).

Esses dados também mostram os benefícios desta técnica de sequenciamento para o diagnóstico molecular da HF, pois o NGS pode rastrear os éxons de diversos genes simultaneamente de forma rápida, sensível e eficaz, possibilitando a identificação de diversas variantes em um só procedimento. Assim, torna-se mais acessíveis os testes genéticos a população que necessita do diagnostico confirmatório (CARVALHO; SILVA, 2010; FUTEMA et al., 2012; RADOVICA-SPALVINA et al., 2015; REHM et al., 2013).

A confirmação do diagnóstico de alguns dos pacientes com critérios clínicos de provável e possível HF pode indicar um fenótipo de manifestação leve associado a algumas variantes ou estar relacionada a uma limitação do diagnóstico clínico, que se baseia também no histórico familiar fornecido pelo paciente. Essas informações muitas vezes não são precisas por falta de conhecimento do paciente, como também, podem ser afetadas pela penetrância da variante causal (KHERA et al., 2016; NEAL; KNOWLES; WILEMON, 2014).

Em sete pacientes sem diagnóstico molecular confirmado e quatro com diagnóstico molecular confirmado de HF, foram identificadas variantes préviamente descritas com outras dislipidemias primárias. Cinco destes possuiam as variantes rs12713681 (c.6895G>C; p.Asp2299His) e rs12714225 (c.1223T>C; p.Ile408Thr), no gene *APOB*, associadas com hipobetalipoproteinemia e apobetalipoproteinemia (tabela 8), essas dislipidemias primárias possuem como principais característica menores ou indetectáveis valores de LDL-c e apoB-100 (WANG; MCINTYRE; HEGELE, 2018; ZEISSIG et al., 2010). Os perfil de pacientes do presente estudo não apresentam tais caracteristicas. No entanto, entre os cinco pacientes portadores dessas variantes, três (pacientes 17, 113 e 131) possuiam também variantes relacionadas à HF (tabela 7) e um (paciente 16) possuía a variante rs1801701 c.10913G>A; p.Arg3638Gln no gene *APOB* previamente associadas com aumento de LDL-c (tabela 9) (CALANDRA et al., 2011).

Estes achados podem indicar um possível efeito epistático, que é quando o efeito de uma variante genética particular é alterado por uma variante em outro locus. Existem três diferentes tipos de epistasia: i. quando duas ou mais variantes interagem criando um novo fenótipo; ii. quando uma ou mais variantes máscaram o efeito de outra; iii. quando uma ou mais variantes modificam o efeito da outra (BATESON, 1909; MIKO, 2008). Neste caso pode estar ocorrendo um efeito epstático do tipo ii ou iii, fazendo com que não occorra a expressão do fenótipo de hipobetalipoproteinemia e apobetalipoproteinemia.

O que mostra outra vantagem de se realizar testes genéticos mais amplos com um desenho experimental direcionado para a doença. Um estudo mostrou que os painéis genéticos utilizando NGS mostram-se mais custo-efetivo para os centros que realizam diagnóstico genético, permitindo a identificação de diversas variantes simultaneamente sem o acúmulo de dados gerados pelos sequenciamentos de genoma completo (AHN; OGILVIE, 2016). Apenas o paciente I2685 não possuía outra que possa explicar a não expressão deste fenótipo.

A variante *APOB* rs12714225 (c.1223T>C; p.Ile408Thr) também possuiu associação significativa com baixas concentrações de TG neste estudo (quadro 6 anexo H). Apesar deste achado não estar diretamente associado com a hipobetalipoproteinemia e apobetalipoproteinemia, eles podem ter alguma relação, devido à diminuição de proteínas transportadoras de lipídeos identificada nesta doença.

Outra dislipidemia primária identificada foi a hiperlipidemia familial combinada, esta é caracterizada principalmente pelo aumento do CT e dos TG, devido a um acumulo de quilomicrons e VLDL remanescentes, isso pode resultar na aparição de xantomas, DAC e/ou doença vascular periférica prematuras (OMIM #617347) (LOHSE et al., 1992; RALL et al., 1983). Os pacientes 21 e 65 que apresentaram as variantes no gene da *APOE* rs769455 (c.487C>T; p.Arg163Cys) e rs121918396 (c.683G>A; p.Trp228Ter) (tabela 8) associadas com esse fenótipo possuem características que se enquadram, pois as características fenotípicas são semelhantes a da HF, e estes possuem em associação elevação de TG (150mg/dL em e 298md/dL respectivamente) e a paciente 61 possui também VLDL elevado (60mg/dL).

Quatro pacientes apresentaram a variante rs1801177 (c.106G>A; p.Asp36Asn) no gene da *LPL*, um deles (paciente 24) em associação com uma variante previamente associada com HF (tabelas 7 e 8). Essa variante também foi associada com a hiperlipidemia familial combinada. Em 2016, um GWAS em pacientes com este fenótipo identificou a variante rs1801177 como preditor de risco para o aumento das concentrações de LDL-c e TG, tendo uma frequência mais elevada na coorte de estudo do que na população em geral (RIPATTI et al., 2016).

Corroborando com esses dados, nossos achados mostram um amento de LDL-c nesses pacientes (fenótipo de HF) no entanto a elevação de TG foi observada apenas no paciente 124 (200mg/dL). Dois dos indivíduos com fenótipo sem elevação das concentrações de TG (pacientes 24, TG = 97mg/dL, e 33, TG = 126mg/dL), possui em associação a presença da variante rs1801701 (c.10913G>A, p.Arg3638Gln) no gene *APOB*, que pode justificar a não expressão deste fenótipo (tabela 9), já que esta mostrou em outros estudos um papel protetor em relação às concentrações de TG e uma associação com o aumento das concentrações de LDL-c, corroborando com o perfil identificado nestes pacientes (AL-BUSTAN et al., 2014;

CALANDRA et al., 2011). O paciente I3742 não possui nenhuma variante, com literatura disponível, que possa justificar a não expressão deste fenótipo.

Ainda sobre essa variante observa-se uma associação com o aumento do risco cardiovascular, esse fato está muito provavelmente relacionado com a elevação plasmática dos lipídeos (CORSETTI et al., 2011; WITTRUP et al., 1999).

A LPL é classicamente conhecida por sua ação no metabolismo das lipoproteínas ricas em TG. As variantes que determinam alteração na estrutura proteica interferindo no sitio ativo desta enzima podem causar uma aumento de sua atividade. Esse mecanismo pode justificar o aumento do LDL-c devido a maior formação de IDL, acumulando as no plasma, e consequentemente levando a formação das LDL menores e mais densas. Essas partículas de LDL tem menor afinidade com o LDLR causando aumento do LDL-c (LARSON et al., 1999).

Outro mecanismo proposto é a captação de LDL mediada pela LPL, mostrada *in vivo* e *in vitro* em células endoteliais. É provável que este mecanismo ocorra pelo fato da LPL ligada aos proteoglicanos com heparam-sulfato concentrar o LDL na vizinhança do LDLR, fazendo com que o mesmo realize uma maior captação das partículas de LDL (LOEFFLER et al., 2007). Partindo desses pressupostos variantes neste gene podem alterar ligação com heparam-sulfato diminuindo a concentração de LDL ao redor do LDLR e consequentemente aumentando as concentrações de LDL-c, como é o caso dos pacientes analisados.

Outras 20 variantes identificadas estão associadas com características clínicas presentes no fenótipo da HF, no entanto, ainda sem estudos em pacientes com esta doença (tabela 9).

As variantes *APOA5* rs2075291 (c.553G>A; p.Gly185Ser), rs3135506 (c.56C>G; p.Ser19Trp) e rs34282181 (c.111C>A; p.Asp37Glu); *APOC1* rs12721054 (c.-100A>G); *LPL* rs268 (c.953A>G; p.Asn318Ser) e rs5934 (c.1279G>A; p.Ala427Thr) foram previamente associadas com aumento de TG (tabela 9) (ELBERS et al., 2012; PIRIM et al., 2015; RABACCHI et al., 2015; VAN LEEUWEN et al., 2016; XIAO et al., 2017). Mas apenas a variante *APOA5* rs3135506 (c.56C>G; p.Ser19Trp) também foi associada com altas concentrações de TG nas análises estatísticas deste estudo (quadro 6 anexo H).

Apesar dessa característica não ser predominante nos pacientes do estudo ela pode estar diretamente associada a um aumento de LDL-c já que os TG são principalmente transportados pelos quilomícrons e VLDL, que por sua vez na circulação sofrem hidrólises

resultando na formação de LDL (FALUDI et al., 2017). A presença destas variantes que levam a um aumento de TG, em associação com outras variantes, podem estar acelerando o processo de hidrólise. Isso levaria a uma maior formação de partículas de LDL circulante, resultando no fenótipo de HF. Esta hipótese de associação de variantes deve ser mais bem avaliada caso a caso.

Um bom exemplo dessa associação de variantes pode ser encontrada no paciente 17 que possui a variante rs3135506 (c.56C>G; p.Ser19Trp) no gene *APOA5* e a variante rs5934 (c.1279G>A; p.Ala427Thr) no gene *LPL* (tabela 9). Apesar da variante em *APOA5* indicar um aumento de TG, esse paciente não possui TG elevado (90mg/dL), logo o aumento de TG caracterizado pela variante em *APOA5* pode estar sendo mascarado por uma maior atividade da *LPL* causada pela presença da variante rs5934 (c.1279G>A; p.Ala427Thr) aumentando a hidrólise de VLDL e levando a uma maior formação de LDL. Corroborando com esta hipótese, um estudo mostrou que a presença dessa variante no gene *LPL* esta associada a uma atividade enzimática maior que 100% desta proteína (SURENDRAN et al., 2012).

A variante *APOA5* rs2075291 (c.553G>A; p.Gly185Ser), identificada no paciente 140, também mostrou associação prévia com maior suscetibilidade a DAC, bem como com menores concentrações de HDL-c e aumento das concentrações de LDL-c (tabela 9) (KIM et al., 2017, 2018; YOU et al., 2018).

O gene da *APOA5* codifica uma apolipoproteína associada às partículas de HDL e VLDL e por isso alterações neste gene podem levar a uma alteração nas concentrações dessas partículas (O'BRIEN et al., 2005). Apesar do mecanismos pelo qual a variante rs2075291 (c.553G>A; p.Gly185Ser) leva a essas alterações permanecer incerto, a paciente identificada neste estudo possui concentrações baixas de HDL-c (28mg/dL). A associação com LDL-c é controversa entre os estudos, no entanto, como previamente discutido os mecanismos relacionados a este aumento são plausíveis (QIAN et al., 2018; YOU et al., 2018).

Outras variantes também mostraram associação na literatura com menores concentrações de HDL-c e suscetibilidade à DAC, sendo elas a *PCSK9* rs17111557 (c.-614C>T); *CETP* rs1800777 (c.1403G>A; p.Arg468Gln) e rs5880 (c.1168G>C; p.Ala390Pro); *ABCA1* rs9282541 (c.688C>T; p.Arg230Cys); *CYP2C9* rs1057910 (c.1075A>C; p.Ile359Leu); *LPL* rs268 (c.953A>G; p.Asn318Ser) e rs3289 (c.*371T>C); e mieloperoxidase *(MPO)* rs2759 (c.2149A>G; p.Ile717Val) (tabela 9) (ACUÑA-ALONZO et al., 2010; DE

LUIS et al., 2018; HASCHKE-BECHER et al., 2010; HEIDARI-BENI et al., 2015; PIRIM et al., 2015; SCHARNAGL et al., 2014; SMITH et al., 2010; ZAMBRANO et al., 2015).

Dos 24 pacientes que apresentaram variantes associadas a menores concentrações de HDL-c (tabela 9), apenas os pacientes 3, 23, 44, 63, 96 e 140 apresentaram o fenótipo, com concentrações de HDL-c de 35 mg/dL, 32 mg/dL, 39 mg/dL, 32 mg/dL, 35 mg/dL e 28 mg/dL respectivamente.

Menores concentrações de HDL-c e maior suscetibilidade DAC estão diretamente relacionadas, e podem indicar um maior risco aos pacientes HF, pois estes já possuem um alto riso de desenvolver DAC precoce. Sendo assim a identificação destas variantes pode auxiliar na indicação adequada da periodicidade do acompanhamento clínico e um tratamento mais direcionado a estes pacientes.

A variante rs2759 (c.2149A>G; p.Ile717Val) no gene *MPO* mostrou-se estatisticamente associada neste estudo com concentrações mais elevadas LDL-c e a presença de angina (figura 4, quadro 6 e 7 anexo H), o que é condizente com a previa associação identificada na literatura com maior suscetibilidade a DAC (SCHARNAGL et al., 2014). Esta variante pode ter um papel importante na HF e deve ser mais estudada nestes pacientes.

A variante rs2214102 (c.-1A>G) no gene *ABCB1* foi previamente associada com concentrações elevadas de CT, apoB-100 e LDL-c (tabela 9) (JEANNESSON et al., 2009). Os valores de CT são resultantes da soma dos valores de LDL-c, HDL-c e TG dividido por 5 (FRIEDEWALD et al., 1972), sendo assim a associação com maiores concentrações de CT pode ser uma consequência da elevação do LDL-c, que tem como única apolipoproteína a apoB-100.

O gene *ABCB1*, além de estar relacionado com o transporte de glicolipídeos, está envolvido com o efluxo de alguns fármacos, como a sinvastatina e a atorvastatina, e alterações neste gene já foram previamente associadas com alterações na resposta ao tratamento destes fármacos (HOCHMAN et al., 2004; JIANG et al., 2017). Assim o aumento do CT por consequência de um aumento de LDL-c nos pacientes com essa variante pode indicar uma baixa resposta ao tratamento, o que agrava o prognóstico de pacientes com HF, o que seria o caso de 9 pacientes deste estudo (tabela 9).

Outra variante previamente associada com aumento das concentrações de apoB-100 e CT foi a *APOA4* rs5110 (c.1140G>T; p.Gln380His) (tabela 9). A priori esta associação é inexplicável já que a APOA4 não é um componente estrutural das lipoproteínas que contém a apoB-100, no entanto um mecanismo indireto relacionado com a hidrólise de VLDL pode explicar este resultado (LOHSE et al., 1990; VON ECKARDSTEIN et al., 1992).

A variante *APOB* rs1801701 (c.10913G>A; p.Arg3638Gln) foi previamente associada com aumento das concentrações de LDL-c e pode ter papel importante no diagnóstico de HF, no entanto esta associação ainda não foi totalmente esclarecida (CALANDRA et al., 2011). Neste estudo esta foi a variante mais frequente, identificada em 31 pacientes (21,98%), sendo esta frequência significativamente mais elevada do que na população geral, inclusive a identificada na população brasileira que foi em torno 9,00% (tabela 9 e 10).

No gene *MTTP* foi identificado a variante rs17029215 (c.1151A>C; p.Asp384Ala) previamente associada ao aumento das concentrações de apoA1 e maior gravidade da DAC (tabela 9) (CHEN et al., 2009). Os mecanismos pelo qual ocorre essa associação não são claros. No entanto o papel da MTTP na biossíntese da apoB-100 pode ter relação com alterações nas concentrações de LDL-c e consequente agravo da DAC (HUSSAIN et al., 2012). Neste estudo nenhum paciente mostrou valores elevados de apoA1 e os dados de gravidade da DAC não foram avaliados.

A variante no gene da *APOB* rs1042023 (c.10294C>G; p.Gln3432Glu) foi identificada em 3 pacientes deste estudo e previamente havia sido associada com hiperlipidemia (tabela 9), no entanto foi classificada como de baixo interesse para à HF devido à falta de co-segregação familiar (GAFFNEY et al., 1998; MAURER et al., 2016).

A variante no gene *MTHFR* rs2274976 (c.1781G>A; p.Arg594Gln) foi identificada em 4 pacientes e mostrou associação em estudos prévios com maior suscetibilidade a AVCI (tabela 9) (ZHOU et al., 2014). Essa associação pode estar relacionada com o aumento das concentrações de homocisteína que por sua vez foi considerada como preditor independente de AVCI (HOMOCYSTEINE STUDIES COLLABORATION, 2002). Neste estudo os pacientes que apresentaram essa variante nenhum possuía histórico de AVCI e não foi dosado a concentração de homocisteína.

Por fim, outras 12 variantes foram associadas estatisticamente com concentrações mais elevadas de LDL-c neste estudo, no entanto sem estudos prévio relacionados. As variantes *APOB* rs12713675 c.7367C>A e rs12720855 c.9880T>C, apesar de não terem literatura associada, possuem característica danosa para a proteína em mais de 4 ferramentas de predição *in silico* (tabela 11). Esses dados podem indicar uma contribuição importante do nosso estudo, considerando que esses pacientes possuem concentrações de LDL-c mais elevadas e/ou respondem menos ao tratamento, em relação aos outros indivíduos com o mesmo fenótipo.

Das variantes estatisticamente associadas com aumento das concentração CT e com as características fenotípicas da HF (arco córneo, xantelasmas e xantomas) nenhuma estava previamente associada na literatura. (figura 9, 10, 11 e 12), o que pode indicar mais uma importante contribuição deste estudo.

Os resultados apresentados indicam a importância da realização da caracterização genotípica que permitem a associação de variantes com o fenótipo, melhor caracterizando a doença (VANDROVCOVA et al., 2013). Permitindo assim um diagnóstico diferencial e um tratamento direcionado.

Além disso, como diversos pacientes apresentaram mais de uma variante simultaneamente, deve-se também considerar a possibilidade de algumas dessas variantes estarem agindo em conjunto para levar ao fenótipo de HF, o que seria condizente com os relatos de hipercolesterolemia poligênica. No entanto, apesar deste conceito ser valido, ainda não se possui critérios suficientes para se precisar a hipercolesterolemia poligênica. Diversos escores de risco vem sendo elaborados, mas a sua funcionalidade é dependente da população em que é aplicado (FUTEMA et al., 2015; HOOPER et al., 2018; NIKKOLA et al., 2017; TALMUD et al., 2013; WANG et al., 2016).

Considerando os dados obtidos das variantes associadas com outras dislipidemias primárias e com características clínicas relacionadas às dislipidemias, o percentual diagnóstico pode ser claramente aumentado, atingindo o número de 75,2%. O que mostra a importância deste estudo, que incluiu outros genes relacionados com a via metabólica do colesterol, contribuindo para o melhor esclarecimento da HF. Este estudo pode servir de modelo para escolha de novos painéis para testes genéticos em diversas doenças metabólicas poligênicas,

que podem ser utilizados na rotina clínica a fim de auxiliar para um diagnóstico e uma terapêutica mais assertiva para os pacientes, garantindo a medicina personalizada.

Outro dado analisado foi a comparação da frequência das variantes presentes em mais de 5% dos pacientes do estudo com as frequências encontradas nos 3 principais projetos de sequenciamento mundial (ESP, EXAC e 1000 genomas) e encontrou-se a maioria das variantes com frequência significativamente maior que a de pelo menos um dos respectivos estudos. Quando comparadas com os bancos de dados nacionais disponíveis (BipMed e AbraOn) o número de variantes com diferença significativa diminui e uma delas , a variante *ABCB1* rs2214102 (c.-1A>G), tem uma frequência significativamente maior que a identificada neste estudo (tabela 10).

Essa diferença, principalmente com os bancos de dados internacionais, pode ser influência de quatro importantes fatores: i. a característica específica dos critérios de inclusão do estudo, o que indica uma possível associação dessas variantes com a doença; ii. a diferença do número amostral do nosso estudo para os demais; iii. a metodologia utilizada; iv. a heterogeneidade de nossa população, devido ao conhecimento prévio de que as variantes são mais ou menos frequentes em determinadas populações (CAO et al., 2018; LIYANAGE et al., 2011).

As variantes sem características descritas na literatura, com frequência menor que 5% na população geral, foram avaliadas por 6 diferentes ferramentas de predição *in silico* e 22 delas mostraram ter características deletérias para a proteína em pelo menos 4 das ferramentas utilizadas (tabela 11), o que de acordo com os critérios elaborados pelo ACMG indica uma evidencia de suporte para a associação desta variante com a patogenicidade da doença, isso porque vários algoritmos de evidências computacionais diferentes suportam um efeito deletério no gene ou produto gênico (RICHARDS et al., 2015).

Essas ferramentas ajudam a selecionar as variantes que possuem maior probabilidade de serem associadas à doença, pois indicam se a troca de aminoácido ocorrida tem chance de alterar a estrutura da proteína ou encontra-se em algum sítio de ligação. Elas não podem ser utilizadas como evidências definitivas, mas são um pequeno componente de suporte para classificar a patogenicidade destas variantes (HOOPER et al., 2018). Além disso, a maioria dessas variantes também se encontrava em regiões evolutivamente conservadas ou muito

conservadas, o que implica que a alternância de aminoácidos nesta posição é susceptível a danificar a função da proteína (MA et al., 2016a).

Quase metade das variantes identificadas estava em regiões não traduzidas e regulatórias, sendo a maioria delas identificadas nos genes do *ADD1, ADIPOQ, AGT, CLMN, EGFR, F7, GHR, KIF6, LDLR, LPL, PCSK9* e *PPP1R17* (quadro 5 anexo G). Alguns estudos já relacionaram as variantes nessas regiões e o fenótipo de HF, a maioria deles no *LDLR* e *PCSK9* (DE CASTRO-ORÓS et al., 2011, 2014, 2016; FAIROOZY et al., 2016; KHAMIS et al., 2015).

Das 15 variantes identificadas na região não traduzida do gene *LDLR,* apenas a rs875989887 (c.-140C>A) já havia sido previamente associada à HF (tabela 7) (DE CASTRO-ORÓS et al., 2011). No caso do gene da *APOB* foram identificadas 4 variantes em regiões não traduzidas, e apenas a rs1800480 c.-115C>G já havia sido identificada em pacientes com HF (tabela 7) (HUIJGEN et al., 2012). No gene da *PCSK9* foram identificadas 10 variantes nestas regiões, nenhuma delas com associação prévia à HF, e apenas a rs17111557 (c.-614C>T) possuía algum relato na literatura associando-a com diminuição do HDL-c (tabela 9) (ZAMBRANO et al., 2015).

Nos demais genes, as únicas com descrição prévia na literatura com relação às dislipidemias e/ou DCV foram: a *ABCB1* rs2214102 *c.-1A>G* (tabela 9) associada com maiores concentrações de CT, LDL-c e apoB-100 em mulheres (JEANNESSON et al., 2009); *AGT* rs11568020 c.-190G>A (quadro 5 anexo G) associada com hipertensão arterial sistêmica (HAS) em pacientes indianos e chineses (LI et al., 2015; PURKAIT et al., 2017); *APOC1* rs12721054 c.-100A>G (tabela 9) associada a síndrome metabólica (SM) e maiores concentrações de TG (BROWN; WALKER, 2016; CARTY et al., 2014; ELBERS et al., 2012); e a *LPL* rs3289 c.*371T>C (tabela 9) associada com suscetibilidade a DAC (SMITH et al., 2010). Esta última associação confirmada neste estudo.

Esses dados mostram que o estudo das variantes em regiões regulatórias, apesar de novo, é de fundamental importância e pode ajudar a preencher algumas lacunas ainda não esclarecidas das doenças genéticas.

Outra importante contribuição deste estudo foi a identificação de 45 novas variantes, sendo 2 delas no gene da *APOB,* 2 no *LDLR* e 1 no *PCSK9,* estas variantes juntamente com as variantes que ainda não possuem literatura associada e as análises deste estudo *in silico*

indicam-nas com possíveis associação fisiopatologicas patogênica podem aumentar o número de novas variantes associadas com HF.

Com as variantes presentes no gene da *APOB* do tipo missense, não descritas ou descritas, mas sem relatos na literatura, foi realizada uma análise por docking molecular. O docking molecular realiza a busca conformacional através do posicionamento de duas estruturas individuais mediante a diversas simulações possíveis de ligação de uma estrutura relacionada com a outra, até convergir para uma solução de energia mínima. Durante estas simulações, observou-se pequenas modificações na translação do centro de gravidade, orientação, e rotação ao redor de cada um dos ângulos internos flexíveis, resultando em uma nova configuração, onde a energia despendida no processo é avaliada sendo comparada ao valor obtido no passo anterior. Comparando esses dados, é possível estabelecer se os compostos possuem maior e ou menor afinidade a um determinado receptor. Dado o alto custo e as dificuldades de métodos experimentais, o docking molecular, tem auxiliado no processo de caracterização de variantes identificadas, com um grau substancial de precisão (ALENCAR, 2010).

A troca de um aminoácido presente em uma interface, ou em um sítio de ligação, pode afetar a ligação entre moléculas, podendo resultar no bloqueio de sítio ativo, ou no aumento/ diminuição de afinidade (ALENCAR, 2010). No presente estudo observou-se alteração significativa da estrutura da apoB-100 para as variantes p.Ala984Thr, p.Pro145Ser e p.Pro877Leu. No entanto apenas a p.Pro877Leu mostrou alterar a interação com o LDLR, aumentando a afinidade dessas moléculas.

O aumento de afinidade observado nesta análise inicialmente não indicaria uma relação com um fenótipo de HF, pois levaria a uma maior ligação das partículas de LDL. Por outro lado, podemos supor que esse aumento de afinidade leve a uma não dissociação intracelular do LDLR com a LDL, levando a uma maior degradação do mesmo, o que resultaria no aumento extracelular de LDL-c. Essas hipóteses deverão ser mais bem avaliadas por ensaios *in vitro* por projetos associados a este.

Apesar da evolução no entendimento da HF, a caracterização de um grande número de variantes, o aparecimento de novos agentes anti-hipolipemiantes e a publicação de inúmeras diretrizes e consensus, a HF permanece negligenciada comparada a outras doenças (NORDESTGAARD et al., 2013).

O papel do teste genético na HF ainda é muito discutido, alguns especialistas recomendam que o teste seja realizado em pacientes com elevação de LDL-c e histórico familiar positivo para HF, enquanto outros mais ortodoxos não acreditam que ele seja mandatório e que o diagnóstico e tratamento devem ser realizados pelo grau de elevação do LDL-c. Assim hoje, apesar de ser considerado padrão ouro para o diagnóstico e de se saber que os seus resultados podem auxiliar a determinar terapias mais específicas, o teste genético só é utilizado quando disponível e acessível (NORDESTGAARD et al., 2013; RADER; KASTELEIN, 2014; SANTOS et al., 2016).

Neste estudo 106 pacientes apresentaram alguma variante que confirmou seu diagnóstico, realizou um diagnóstico diferencial ou foi associada a alguma de suas características fenotípicas, permitindo assim sugerir mecanismos moleculares fisiopatológicos. Portanto os testes genéticos podem eliminar as incertezas do diagnóstico, estababelecendo o aconselhamento genético para a família afetada (DEFESCHE et al., 2017; IACOCCA; HEGELE, 2017; STURM et al., 2018).

Assim, a identificação dessas variantes podem contribuir para a adequação da terapia, melhorando o prognóstico através da adequada estratificação de risco e reduzindo às doenças cardiovasculares (IACOCCA; HEGELE, 2017; STURM et al., 2018; VAN DER GRAAF et al., 2008). Todas essas informações trazem o potencial deste estudo em contribuir para o desenvolvimento de um painel de teste genético que possa ser viabilizado para uso na rotina clínica, inclusive no sistema único de saúde (SUS).

Apesar dos resultados serem bastante promissoras deve-se levar em consideração algumas limitações: i. a não avaliação das variantes do tipo inserção/ deleção (INDELS), duplicações e *Copy Number Variants* (CNV), todas estas em adição as variantes estudadas neste trabalho iriam compor um teste molecular ideal para HF, bem como para a hipercolesterolemia poligênica e outras dislipidemias primárias (IACOCCA; HEGELE, 2017); ii. nem todos os pacientes incluídos possuíam registros adequados dos valores de LDL-c basal, o que pode interferir nos resultados das análises estatísticas já que não se pode realizar uma correção por este fator; iii. não foi possível a realização de um estudo em cascata dos familiares incluídos por limitação de tempo.

O processo de utilizar o sequenciamento para o diagnostico ainda é considerado complexo, pois as variantes identificadas como patogênicas ou não, necessitam de validação

in vitro. No entanto o clinico pode estabelecer maior atenção em relação a ocorrência de doença cardiovascular (HOOPER et al., 2018; KHERA et al., 2016).

Por fim, um ponto importante a ser considerado quando tratamos de testes genéticos é a educação e o treinamento dos profissionais da área da saúde que irão interpretar, realizar o aconselhamento genético, e a conduta terapêutica. A comunicação ao paciente deve ser realizada de forma bem clara, sem duvida, considerando os princípios éticos, principalmente nos casos em que as características fenotípicas estão ausentes ou são mais brandas, visando a melhor aderência do paciente ao tratamento (CHAN et al., 2018; CIRINO et al., 2017).

Neste contexto os testes genéticos precisam de alguns requerimentos para serem satisfatórios: efetividade da evidência científica, educação e treinamento do pessoal envolvido, garantia de qualidade rigorosa e mecanismos para compensar os riscos do teste, aplicação dos princípios éticos, promoção da equidade e acesso universal (ANDERMANN et al., 2008).

CONCLUSÕES

7. CONCLUSÕES

É de fundamental importancia a caracterização genotípica para o diagnostico correto da hipercolesterolemia. O perfil de variantes exomicas identificadas nos 61 genes selecionados mostra significante contribuição no diagnóstico genético mesmo em uma amostragem pequena de 141 pacientes.

REFERÊNCIAS

8. REFERÊNCIAS

ABIFADEL, M. et al. Mutations in PCSK9 cause autosomal dominant hypercholesterolemia. **Nature genetics**, [s. l.], v. 34, n. 2, p. 154–6, 2003.

ABIFADEL, M. et al. Living the PCSK9 Adventure: from the Identification of a New Gene in Familial Hypercholesterolemia Towards a Potential New Class of Anticholesterol Drugs. **Current Atherosclerosis Reports**, [s. l.], v. 16, n. 9, p. 439, 2014.

ABUL-HUSN, N. S. et al. Genetic identification of familial hypercholesterolemia within a single U.S. health care system. **Science**, [s. l.], v. 354, n. 6319, p. aaf7000-1-aaf7000-7, 2016.

ACUÑA-ALONZO, V. et al. A functional ABCA1 gene variant is associated with low HDL-cholesterol levels and shows evidence of positive selection in Native Americans. **Human Molecular Genetics**, [s. l.], v. 19, n. 14, p. 2877–2885, 2010.

AHN, J. W.; OGILVIE, C. Context and Applications of Targeted Genetic Testing, with Emphasis on Copy Number Variants. **Advances in Clinical Chemistry**, [s. l.], v. 75, p. 33–51, 2016.

AL-BUSTAN, S. A. et al. Genetic association of APOB polymorphisms with variation in serum lipid profile among the Kuwait population. **Lipids in Health and Disease**, [s. l.], v. 13, n. 57, p. 1–13, 2014.

AL-MASHHADI, R. H. et al. Familial Hypercholesterolemia and Atherosclerosis in Cloned Minipigs Created by DNA Transposition of a Human PCSK9 Gain-of-Function Mutant. **Science Translational Medicine**, [s. l.], v. 5, n. 166, p. 166ra1-166ra1, 2013.

ALBERTO, F. et al. The Lebanese mutation as an important cause of familial hypercholesterolemia in Brazil. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, [s. l.], v. 32, n. 32, p. 739–745, 1999.

ALENCAR, S. A. **Utilização de ferramentas computacionais para o estudo do impacto funcional e estrutural de nsSNPs em genes codificadores de proteínas**. 2010. 113f. Tese (Doutorado) Instituto de Ciências Biológicas Universidade Federal de Minas Gerais, 2010.

ALLARD, D. et al. Novel mutations of the PCSK9 gene cause variable phenotype of autosomal dominant hypercholesterolemia. **Human mutation**, [s. l.], v. 26, n. 5, p. 497, 2005.

ALONSO, R. et al. Lipoprotein(a) levels in familial hypercholesterolemia: an important predictor of cardiovascular disease independent of the type of LDL receptor mutation. **Journal of the American College of Cardiology**, [s. l.], v. 63, n. 19, p. 1982–9, 2014.

ALVES, A. C. et al. Novel functional APOB mutations outside LDL-binding region causing familial hypercholesterolaemia. **Human Molecular Genetics**, [s. l.], v. 23, n. 7, p. 1817–1828, 2014.

ANDERMANN, A. et al. Revisiting Wilson and Jungner in the genomic age: a review of

screening criteria over the past 40 years. **Bulletin of the World Health Organization**, [s. l.], v. 86, n. 4, p. 317–9, 2008.

ANDERSON, J. M. et al. Influence of PCSK9 polymorphisms on plasma lipids and response to atorvastatin treatment in Brazilian subjects. **Journal of Clinical Lipidology**, [s. l.], v. 8, n. 3, p. 256–264, 2014.

BALLESTER, M. et al. Analysis of the porcine APOA2 gene expression in liver, polymorphism identification and association with fatty acid composition traits. **Animal Genetics**, [s. l.], v. 47, n. 5, p. 552–559, 2016.

BAMIMORE, M. A. et al. Familial hypercholesterolemia mutations in the Middle Eastern and North African region: A need for a national registry. **Journal of Clinical Lipidology**, [s. l.], v. 9, n. 2, p. 187–194, 2015.

BATESON, W. Mendel's Principles of Heredity. **Cambridge University Press**; Cambridge: 1909.

BEGUM, H. et al. Discovering and validating between-subject variations in plasma lipids in healthy subjects. **Scientific Reports**, [s. l.], v. 6, n. 19139, p. 1–9, 2016.

BENITO-VICENTE, A. et al. p.(Asp47Asn) and p.(Thr62Met): non deleterious LDL receptor missense variants functionally characterized in vitro. **Scientific Reports**, [s. l.], v. 8, n. 1, p. 16614, 2018.

BERTOLINI, S. et al. The study of familial hypercholesterolemia in Italy: A narrative review. **Atherosclerosis Supplements**, [s. l.], v. 29, p. 1–10, 2017.

BESSELING, J. et al. Clinical phenotype in relation to the distance-to-index-patient in familial hypercholesterolemia. **Atherosclerosis**, [s. l.], v. 246, p. 1–6, 2016.

BRAUTBAR, A. et al. Genetics of Familial Hypercholesterolemia. **Current Atherosclerosis Reports**, [s. l.], v. 17, n. 4, p. 20, 2015.

BROWN, A. E.; WALKER, M. Genetics of Insulin Resistance and the Metabolic Syndrome. **Current Cardiology Reports**, [s. l.], v. 18, n. 8, p. 75, 2016.

BROWN, M. S.; GOLDSTEIN, J. L. Expression of the familial hypercholesterolemia gene in heterozygotes: mechanism for a dominant disorder in man. **Science**, [s. l.], v. 185, n. 4145, p. 61–3, 1974.

CALANDRA, S. et al. Mechanisms and genetic determinants regulating sterol absorption, circulating LDL levels, and sterol elimination: implications for classification and disease risk. **Journal of lipid research**, [s. l.], v. 52, n. 11, p. 1885–926, 2011.

CAO, Y.-X. et al. Application of expanded genetic analysis in the diagnosis of familial hypercholesterolemia in patients with very early-onset coronary artery disease. **Journal of Translational Medicine**, [s. l.], v. 16, n. 345, p. 1–9, 2018.

CARTY, C. L. et al. Analysis of Metabolic Syndrome Components in >15 000 African Americans Identifies Pleiotropic Variants: Results From the Population Architecture Using Genomics and Epidemiology Study. **Circulation: Cardiovascular Genetics**, [s. l.], v. 7, n. 4, p. 505–513, 2014.

CARVALHO, M. C. C. G.; SILVA, D. C. G. Sequenciamento de DNA de nova geração e suas aplicações na genômica de plantas. **Ciência Rural**, [s. l.], v. 40, n. 3, p. 735–744, 2010.

CASTILLO, S. et al. The apolipoprotein B R3500Q gene mutation in Spanish subjects with a clinical diagnosis of familial hypercholesterolemia. **Atherosclerosis**, [s. l.], v. 165, n. 1, p. 127–35, 2002.

CASTRO CABEZAS, M.; BURGGRAAF, B.; KLOP, B. Dyslipidemias in clinical practice. **Clinica Chimica Acta**, [s. l.], v. 487, p. 117–125, 2018.

CASTRO, L. R. **Análise exômica em pacientes portadores de Cardiomiopatia Hipertrófica.** 2015. 143f. Tese (Doutorado). Instituto Dante Pazzanese de Cardiologia Universidade de São Paulo, 2015.

CATARINA ALVES, A. et al. Further evidence of novel APOB mutations as a cause of familial hypercholesterolaemia. **Atherosclerosis** [s. l.], v. 277, p. 448–456, 2018.

CAVALLI, S. A. et al. Apolipoprotein B gene polymorphisms: prevalence and impact on serum lipid concentrations in hypercholesterolemic individuals from Brazil. **Clinica chimica acta**, [s. l.], v. 302, n. 1–2, p. 189–203, 2000.

CAVALLI, S. A.; HIRATA, M. H.; HIRATA, R. D. C. Rapid detection of 3500Q and 3531 mutations andMspI polymorphism in exon 26 at the apolipoprotein B gene. **Journal of Clinical Laboratory Analysis**, [s. l.], v. 15, n. 1, p. 35–39, 2001.

CHAN, D. C. et al. A Comparative Analysis of Phenotypic Predictors of Mutations in Familial Hypercholesterolemia. **Journal of Clinical and Endocrinology & Metabolism**, [s. l.], v. 103, n. 4, p. 1704–1714, 2018.

CHEN, S. N. et al. Candidate genetic analysis of plasma high-density lipoprotein-cholesterol and severity of coronary atherosclerosis. **BMC medical genetics**, [s. l.], v. 10, n. 111, p. 1–8, 2009.

CHIOU, K.-R.; CHARNG, M.-J. Common mutations of familial hypercholesterolemia patients in Taiwan: Characteristics and implications of migrations from southeast China. **Gene**, [s. l.], v. 498, n. 1, p. 100–106, 2012.

CHOI, M. et al. Genetic diagnosis by whole exome capture and massively parallel DNA sequencing. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, [s. l.], v. 106, n. 45, p. 19096–101, 2009.

CHORA, J. R. et al. Analysis of publicly available LDLR, APOB, and PCSK9 variants associated with familial hypercholesterolemia: application of ACMG guidelines and implications for familial hypercholesterolemia diagnosis. **Genetics in Medicine**, [s. l.], v. 20,

n. 6, p. 591–598, 2018.

CHOUMERIANOU, D. M.; DEDOUSSIS, G. V. Z. Familial hypercholesterolemia and response to statin therapy according to LDLR genetic background. **Clinical Chemical Laboratory Medicine**, [s. l.], v. 43, n. 8, p. 793–801, 2005.

CHRISTOFFERSEN, M.; TYBJÆRG-HANSEN, A. Novel genes in LDL metabolism – a comprehensive overview. **Current Opinion in Lipidology**, [s. l.], v. 26, n. 3, p. 179–187, 2015.

CIRINO, A. L. et al. Role of Genetic Testing in Inherited Cardiovascular Disease. **JAMA Cardiology**, [s. l.], v. 2, n. 10, p. 1153–1160, 2017.

CIVEIRA, F. et al. Frequency of Low-Density Lipoprotein Receptor Gene Mutations in Patients With a Clinical Diagnosis of Familial Combined Hyperlipidemia in a Clinical Setting. **Journal of the American College of Cardiology**, [s. l.], v. 52, n. 19, p. 1546–1553, 2008.

CIVEIRA, F.; POCOVÍ, M. Diagnóstico de la hipercolesterolemia familiar. Un paso adelante. **Clínica e Investigación en Arteriosclerosis**, [s. l.], v. 14, n. 3, p. 140–141, 2002.

CLARKE, R. E. J. et al. Effectiveness of alternative strategies to define index case phenotypes to aid genetic diagnosis of familial hypercholesterolaemia. **Heart**, [s. l.], v. 99, n. 3, p. 175–180, 2013.

CODOÑER-FRANCH, P. et al. Association of RBP4 genetic variants with childhood obesity and cardiovascular risk factors. **Pediatric Diabetes**, [s. l.], v. 17, n. 8, p. 576–583, 2016.

COHEN, J. C. et al. Sequence Variations in *PCSK9*, Low LDL, and Protection against Coronary Heart Disease. **New England Journal of Medicine**, [s. l.], v. 354, n. 12, p. 1264–1272, 2006.

CORSETTI, J. P. et al. LPL polymorphism (D9N) predicts cardiovascular disease risk directly and through interaction with CETP polymorphism (TaqIB) in women with high HDL cholesterol and CRP. **Atherosclerosis**, [s. l.], v. 214, n. 2, p. 373–376, 2011.

CUI, Y. et al. Prevalence of familial hypercholesterolemia in patients with premature myocardial infarction. **Clinical Cardiology**, [s. l.], p. 1–22, 2019.

DE CASTRO-ORÓS, I. et al. Functional analysis of LDLR promoter and 5′ UTR mutations in subjects with clinical diagnosis of familial hypercholesterolemia. **Human Mutation**, [s. l.], v. 32, n. 8, p. 868–872, 2011.

DE CASTRO-ORÓS, I. et al. A genetic variant in the LDLR promoter is responsible for part of the LDL-cholesterol variability in primary hypercholesterolemia. **BMC medical genomics**, [s. l.], v. 7, n. 17, p. 1–8, 2014.

DE CASTRO-ORÓS, I. et al. Genetic Variants of LDLR and PCSK9 Associated with Variations in Response to Antihypercholesterolemic Effects of Armolipid Plus with Berberine. **PloS one**, [s. l.], v. 11, n. e0150785, p. 1–9, 2016.

DE CASTRO-ORÓS, I.; POCOVÍ, M.; CIVEIRA, F. The genetic basis of familial hypercholesterolemia: inheritance, linkage, and mutations. **The application of clinical genetics**, [s. l.], v. 3, p. 53–64, 2010.

DE LUIS, D. et al. Association of a cholesteryl ester transfer protein variant (rs1800777) with fat mass, HDL cholesterol levels, and metabolic syndrome. **Endocrinología, Diabetes y Nutrición**, [s. l.], v. 65, n. 7, p. 387–393, 2018.

DEFESCHE, J. C. et al. Familial hypercholesterolaemia. **Nature Publishing Group**, [s. l.], v. 3, n. 17093, p. 1–20, 2017.

DOS SANTOS, J. E.; ZAGO, M. A. Familial hypercholesterolemia in Brazil. **Atherosclerosis. Supplements**, [s. l.], v. 4, n. 3, p. 1–2, 2003..

ELBERS, C. C. et al. Gene-centric meta-analysis of lipid traits in African, East Asian and Hispanic populations. **PloS one**, [s. l.], v. 7, n. 12, p. e50198, 2012.

ETXEBARRIA, A. et al. Functional characterization of splicing and ligand-binding domain variants in the LDL receptor. **Human Mutation**, [s. l.], v. 33, n. 1, p. 232–243, 2012.

FAIROOZY, R. H. et al. Identification of the Functional Variant(s) that Explain the Low-Density Lipoprotein Receptor (LDLR) GWAS SNP rs6511720 Association with Lower LDL-C and Risk of CHD. **PloS one**, [s. l.], v. 11, n. 12, p. e0167676, 2016.

FALUDI, A. et al. ATUALIZAÇÃO DA DIRETRIZ BRASILEIRA DE DISLIPIDEMIAS E PREVENÇÃO DA ATEROSCLEROSE - 2017. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, [s. l.], v. 109, n. 1, p. 1–76, 2017.

FENG, D. W. et al. Association of APOA1 gene polymorphisms (rs670, rs5069, and rs2070665) with dyslipidemia in the Kazakhs of Xinjiang. **Genetics and Molecular Research**, [s. l.], v. 15, n. gmr.15028094, p. 1–8, 2016.

FORTI, N. et al. Alterações Genéticas e Colesterolemia: Recentes Estudos Brasileiros. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, [s. l.], v. 80, n. 5, p. 565–71, 2003.

FREDRICKSON, D. S. Mutants, Hyperlipoproteinaemia, and Coronary Artery Disease. **British Medical Journal**, [s. l.], v. 2, p. 187–192, 1971.

FREITAS, A. **Caracterização Bioquímica e Molecular da Hipercolesterolemia Familiar na Região Norte e Centro de Portugal.** 2010. 101f. Tese (Mestrado). Universidade do Minho - Portugal, 2010.

FRIEDEWALD, W. T. et al. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. **Clinical chemistry**, [s. l.], v. 18, n. 6, p. 499–502, 1972.

FUTEMA, M. et al. Use of targeted exome sequencing as a diagnostic tool for Familial Hypercholesterolaemia. **Journal of medical genetics**, [s. l.], v. 49, n. 10, p. 644–9, 2012.

FUTEMA, M. et al. Whole exome sequencing of familial hypercholesterolaemia patients negative for *LDLR* / *APOB* / *PCSK9* mutations. **Journal of Medical Genetics**, [s. l.], v. 51, n. 8, p. 537–544, 2014.

FUTEMA, M. et al. Refinement of Variant Selection for the LDL Cholesterol Genetic Risk Score in the Diagnosis of the Polygenic Form of Clinical Familial Hypercholesterolemia and Replication in Samples from 6 Countries. **Clinical Chemistry**, [s. l.], v. 61, n. 1, p. 231–238, 2015.

GAFFNEY, D. et al. Influence of polymorphism Q3405E and mutation A3371V in the apolipoprotein B gene on LDL receptor binding. **Atherosclerosis**, [s. l.], v. 137, n. 1, p. 167–74, 1998.

GANESAN, M. et al. c.*84G>A Mutation in CETP Is Associated with Coronary Artery Disease in South Indians. **PloS one**, [s. l.], v. 11, n. e0164151, p. 1–13, 2016.

GESCHWINDNER, S. et al. Characterisation of de novo mutations in the C-terminal domain of proprotein convertase subtilisin/kexin type 9. **Protein Engineering Design and Selection**, [s. l.], v. 28, n. 5, p. 117–125, 2015.

GOLDSTEIN, J. L.; BROWN, M. S. Binding and degradation of low density lipoproteins by cultured human fibroblasts. Comparison of cells from a normal subject and from a patient with homozygous familial hypercholesterolemia. **The Journal of biological chemistry**, [s. l.], v. 249, n. 16, p. 5153–62, 1974.

GUO, J. et al. Systematic prediction of familial hypercholesterolemia caused by low-density lipoprotein receptor missense mutations. **Atherosclerosis**, [s. l.], v. 281, p. 1–8, 2018.

HASCHKE-BECHER, E. et al. Impact of *CYP2C8* and *2C9* polymorphisms on coronary artery disease and myocardial infarction in the LURIC cohort. **Pharmacogenomics**, [s. l.], v. 11, n. 10, p. 1359–1365, 2010.

HEGELE, R. A. et al. Targeted next-generation sequencing in monogenic dyslipidemias. **Current Opinion in Lipidology**, [s. l.], v. 26, n. 2, p. 103–113, 2015.

HEIDARI-BENI, M. et al. Interaction of cholesterol ester transfer protein polymorphisms, body mass index, and birth weight with the risk of dyslipidemia in children and adolescents: the CASPIAN-III study. **Iranian journal of basic medical sciences**, [s. l.], v. 18, n. 11, p. 1079–85, 2015.

HOCHMAN, J. H. et al. Interactions of human P-glycoprotein with simvastatin, simvastatin acid, and atorvastatin. **Pharmaceutical research**, [s. l.], v. 21, n. 9, p. 1686–91, 2004.

HOMOCYSTEINE STUDIES COLLABORATION, H. S. Homocysteine and Risk of Ischemic Heart Disease and Stroke. **Journal of the American Medical Association**, [s. l.], v. 288, n. 16, p. 2015–22, 2002.

HOOPER, A. J. et al. The Present and the Future of Genetic Testing in Familial Hypercholesterolemia: Opportunities and Caveats. **Current Atherosclerosis Reports**, [s. l.],

v. 20, n. 31, p. 1–7, 2018.

HOPKINS, P. N. Defining the challenges of familial hypercholesterolemia screening: Introduction. **Journal of Clinical Lipidology**, [s. l.], v. 4, n. 5, p. 342–345, 2010.

HORTON, J.; COHEN, J.; HOBBS, H. Molecular biology of PCSK9: its role in LDL metabolism. **Trends in Biochemical Sciences**, [s. l.], v. 32, n. 2, p. 71–77, 2007.

HSIUNG, Y.-C. et al. Identification of a novel LDLR disease-causing variant using capture-based next-generation sequencing screening of familial hypercholesterolemia patients in Taiwan. **Atherosclerosis**, [s. l.], v. 277, p. 440–447, 2018.

HUIJGEN, R. et al. Genetic variation in *APOB* , *PCSK9* , and *ANGPTL3* in carriers of pathogenic autosomal dominant hypercholesterolemic mutations with unexpected low LDL-Cl Levels. **Human Mutation**, [s. l.], v. 33, n. 2, p. 448–455, 2012.

HUMPHRIES, S. E. et al. Mutational analysis in UK patients with a clinical diagnosis of familial hypercholesterolaemia: relationship with plasma lipid traits, heart disease risk and utility in relative tracing. **Journal of Molecular Medicine**, [s. l.], v. 84, n. 3, p. 203–214, 2006.

HUSSAIN, M. M. et al. Multiple functions of microsomal triglyceride transfer protein. **Nutrition & Metabolism**, [s. l.], v. 9, n. 14, p. 1–16, 2012.

IACOCCA, M. A.; HEGELE, R. A. Recent advances in genetic testing for familial hypercholesterolemia. **Expert Review of Molecular Diagnostics**, [s. l.], v. 17, n. 7, p. 641–651, 2017.

INNERARITY, T. L. et al. Familial defective apolipoprotein B-100: a mutation of apolipoprotein B that causes hypercholesterolemia. **Journal of lipid research**, [s. l.], v. 31, n. 8, p. 1337–49, 1990.

JANNES, C. E. et al. Familial hypercholesterolemia in Brazil: Cascade screening program, clinical and genetic aspects. **Atherosclerosis**, [s. l.], v. 238, n. 1, p. 101–107, 2015.

JEANNESSON, E. et al. Association of ABCB1 gene polymorphisms with plasma lipid and apolipoprotein concentrations in the STANISLAS cohort. **Clinica Chimica Acta**, [s. l.], v. 403, n. 1–2, p. 198–202, 2009.

JIANG, F. et al. The influences of SLCO1B1 and ABCB1 genotypes on the pharmacokinetics of simvastatin, in relation to CYP3A4 inhibition. **Pharmacogenomics**, [s. l.], v. 18, n. 5, p. 459–469, 2017.

KARAMI, F.; SALAHSHOURIFAR, I.; HOUSHMAND, M. The Study of rs693 and rs515135 in APOB in People with Familial Hypercholestrolemia. **Cell journal**, [s. l.], v. 21, n. 1, p. 86–91, 2019.

KHAMIS, A. et al. Functional analysis of four LDLR 5’UTR and promoter variants in patients with familial hypercholesterolaemia. **European journal of human genetics : EJHG**,

[s. l.], v. 23, n. 6, p. 790–5, 2015.

KHERA, A. V. et al. Diagnostic Yield and Clinical Utility of Sequencing Familial Hypercholesterolemia Genes in Patients With Severe Hypercholesterolemia. **Journal of the American College of Cardiology**, [s. l.], v. 67, n. 22, p. 2578–2589, 2016.

KIM, H. N.; KWEON, S.-S.; SHIN, M.-H. Detection of Familial Hypercholesterolemia Using Next Generation Sequencing in Two Population-Based Cohorts. **Chonnam medical journal**, [s. l.], v. 54, n. 1, p. 31–35, 2018.

KIM, M. et al. A promoter variant of the APOA5 gene increases atherogenic LDL levels and arterial stiffness in hypertriglyceridemic patients. **PloS one**, [s. l.], v. 12, n. e0186693, p. 1–12, 2017.

KIM, M. et al. Apolipoprotein A5 gene variants are associated with decreased adiponectin levels and increased arterial stiffness in subjects with low high-density lipoprotein-cholesterol levels. **Clinical Genetics**, [s. l.], v. 94, n. 5, p. 438–444, 2018.

LAMBERT, G. et al. Molecular basis of PCSK9 function. **Atherosclerosis**, [s. l.], v. 203, n. 1, p. 1–7, 2009.

LAMBERT, G. et al. Elevated plasma PCSK9 level is equally detrimental for patients with nonfamilial hypercholesterolemia and heterozygous familial hypercholesterolemia, irrespective of low-density lipoprotein receptor defects. **Journal of the American College of Cardiology**, [s. l.], v. 63, n. 22, p. 2365–73, 2014.

LARSON, I. et al. The Lipoprotein Lipase HindIII Polymorphism: Association with Total Cholesterol and LDL- Cholesterol, but not with HDL and Triglycerides in 342 Females. **Clinical Chemistry**, [s. l.], v. 45, n. 7, p. 963–968, 1999.

LI, Q. et al. Risk given by *AGT* polymorphisms in inducing susceptibility to essential hypertension among isolated populations from a remote region of China: A case-control study among the isolated populations. **Journal of the Renin-Angiotensin-Aldosterone System**, [s. l.], v. 16, n. 4, p. 1202–1217, 2015.

LI, Y. et al. Against all odds: blended phenotypes of three single-gene defects. **European Journal of Human Genetics**, [s. l.], v. 24, n. 9, p. 1274–1279, 2016.

LIBBY, P.; BORNFELDT, K. E.; TALL, A. R. Atherosclerosis: Successes, Surprises, and Future Challenges. **Circulation Research**, [s. l.], v. 118, n. 4, p. 531–534, 2016.

LINDGREN, V. et al. Human genes involved in cholesterol metabolism: chromosomal mapping of the loci for the low density lipoprotein receptor and 3-hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A reductase with cDNA probes. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, [s. l.], v. 82, n. 24, p. 8567–71, 1985.

LIU, J. et al. Identification of a novel sterol-independent regulatory element in the human low density lipoprotein receptor promoter. **The Journal of biological chemistry**, [s. l.], v. 275, n. 7, p. 5214–21, 2000.

LIYANAGE, K. E. et al. High-resolution melting analysis for detection of familial ligand-defective apolipoprotein B-100 mutations. **Annals of Clinical Biochemistry**, [s. l.], v. 45, n. 2, p. 170–176, 2008.

LIYANAGE, K. E. et al. Familial hypercholesterolemia: epidemiology, Neolithic origins and modern geographic distribution. **Critical Reviews in Clinical Laboratory Sciences**, [s. l.], v. 48, n. 1, p. 1–18, 2011.

LOEFFLER, B. et al. Lipoprotein lipase-facilitated uptake of LDL is mediated by the LDL receptor. **Journal of Lipid Research**, [s. l.], v. 48, n. 2, p. 288–298, 2007.

LOHSE, P. et al. Genetic polymorphism of human plasma apolipoprotein A-IV is due to nucleotide substitutions in the apolipoprotein A-IV gene. **The Journal of biological chemistry**, [s. l.], v. 265, n. 17, p. 10061–4, 1990.

LOHSE, P. et al. Familial apolipoprotein E deficiency and type III hyperlipoproteinemia due to a premature stop codon in the apolipoprotein E gene. **Journal of lipid research**, [s. l.], v. 33, n. 11, p. 1583–90, 1992.

MA, M. et al. Next-generation sequencing identifies novel mutations in the FBN1 gene for two Chinese families with Marfan syndrome. **Molecular medicine reports**, [s. l.], v. 14, n. 1, p. 151–8, 2016. a.

MA, S.-C. et al. Integration of gene expression and DNA methylation profiles provides a molecular subtype for risk assessment in atherosclerosis. **Molecular Medicine Reports**, [s. l.], v. 13, n. 6, p. 4791–4799, 2016. b.

MACHADO, M. O. et al. Apo B gene haplotype is associated with lipid profile of higher risk for coronary heart disease in Caucasian Brazilian men. **Journal of clinical laboratory analysis**, [s. l.], v. 15, n. 1, p. 19–24, 2001.

MAGLIO, C. et al. Genetic diagnosis of familial hypercholesterolaemia by targeted next-generation sequencing. **Journal of Internal Medicine**, [s. l.], v. 276, n. 4, p. 396–403, 2014.

MARDIS, E. R. Next-Generation Sequencing Platforms. **Annual Review of Analytical Chemistry**, [s. l.], v. 6, n. 1, p. 287–303, 2013.

MARDUEL, M. et al. Molecular Spectrum of Autosomal Dominant Hypercholesterolemia in France. **Human Mutation**, [s. l.], v. 31, n. 11, p. E1811–E1824, 2010.

MARKS, D. et al. A review on the diagnosis, natural history, and treatment of familial hypercholesterolaemia. **Atherosclerosis**, [s. l.], v. 168, n. 1, p. 1–14, 2003.

MARTIN, A. C.; WATTS, G. F. Child–Parent Familial Hypercholesterolemia Screening in Primary Care. **New England Journal of Medicine**, [s. l.], v. 376, n. 5, p. 498–500, 2017.

MÄRZ, W. et al. Accumulation of "small dense" low density lipoproteins (LDL) in a homozygous patients with familial defective apolipoprotein B-100 results from heterogenous interaction of LDL subfractions with the LDL receptor. **Journal of Clinical**

Investigation, [s. l.], v. 92, n. 6, p. 2922–2933, 1993.

MAURER, F. et al. Identification and molecular characterisation of Lausanne Institutional Biobank participants with familial hypercholesterolaemia – a proof-of-concept study. **Swiss Medical Weekly**, [s. l.], v. 146, n. w14326, p. 1–15, 2016.

MEDEIROS, A. M. et al. Update of the Portuguese Familial Hypercholesterolaemia Study. **Atherosclerosis**, [s. l.], v. 212, n. 2, p. 553–558, 2010.

MEDEIROS, A. M.; ALVES, A. C.; BOURBON, M. Mutational analysis of a cohort with clinical diagnosis of familial hypercholesterolemia: considerations for genetic diagnosis improvement. **Genetics in Medicine**, [s. l.], v. 18, n. 4, p. 316–324, 2016.

MESH. **Dyslipidemia**. 2006. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/mesh/?term=dyslipidemia>.

MIKO, I. Epistasis: Gene interaction and phenotype effects. Nature Education 1(1):197, 2018.

MISEREZ, A. R.; MULLER, P. Y. Familial defective apolipoprotein B-100: a mutation emerged in the mesolithic ancestors of Celtic peoples? **Atherosclerosis**, [s. l.], v. 148, n. 2, p. 433–6, 2000.

MOLFETTA, G. A. et al. Mutational screening in the LDLR gene among patients presenting familial hypercholesterolemia in the Southeast of Brazil. **Genetics and Molecular Research**, [s. l.], v. 16, n. 3, p. 1–8, 2017.

MOLLAKI, V.; DROGARI, E. Genetic causes of monogenic familial hypercholesterolemia in the Greek population: Lessons, mistakes, and the way forward. **Journal of Clinical Lipidology**, [s. l.], v. 10, n. 4, p. 748–756, 2016.

MOLLAKI, V.; PROGIAS, P.; DROGARI, E. Novel LDLR Variants in Patients with Familial Hypercholesterolemia: In Silico Analysis as a Tool to Predict Pathogenic Variants in Children and Their Families. **Annals of Human Genetics**, [s. l.], v. 77, p. 426–434, 2013.

MOTAZACKER, M. M. et al. Advances in genetics show the need for extending screening strategies for autosomal dominant hypercholesterolaemia. **European Heart Journal**, [s. l.], v. 33, n. 11, p. 1360–1366, 2012.

MOUSAVI, S. A.; BERGE, K. E.; LEREN, T. P. The unique role of proprotein convertase subtilisin/kexin 9 in cholesterol homeostasis. **Journal of Internal Medicine**, [s. l.], v. 266, n. 6, p. 507–519, 2009.

MULLER, P. Y.; MISEREZ, A. R. Identification of mutations in the gene encoding sterol regulatory element binding protein (SREBP)-2 in hypercholesterolaemic subjects. **Journal of medical genetics**, [s. l.], v. 39, n. 4, p. 271–5, 2002.

MUSUNURU, K.; KATHIRESAN, S. Surprises From Genetic Analyses of Lipid Risk Factors for Atherosclerosis. **Circulation Research**, [s. l.], v. 118, n. 579–85, p. 1–20, 2016.

MYANT, N. B. Familial defective apolipoprotein B-100: a review, including some comparisons with familial hypercholesterolaemia. **Atherosclerosis**, [s. l.], v. 104, n. 1–2, p. 1–18, 1993.

NAJAM, O.; RAY, K. K. Familial Hypercholesterolemia: a Review of the Natural History, Diagnosis, and Management. **Cardiology and Therapy**, [s. l.], v. 4, n. 1, p. 25–38, 2015. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25769531>. Acesso em: 20 fev. 2017.

NAKAZONE, M. A. et al. Effects of APOE, APOB and LDLR variants on serum lipids and lack of association with xanthelasma in individuals from Southeastern Brazil. **Genetics and Molecular Biology**, [s. l.], v. 32, p. 227–233, 2009.

NATESAMPILLAI, S. et al. A Novel Functional Interaction between the Sp1-like Protein KLF13 and SREBP-Sp1 Activation Complex Underlies Regulation of Low Density Lipoprotein Receptor Promoter Function. **Journal of Biological Chemistry**, [s. l.], v. 281, n. 6, p. 3040–3047, 2006.

NEAL, W. A.; KNOWLES, J.; WILEMON, K. Underutilization of cascade screening for familial hypercholesterolemia. **Clinical Lipidology**, [s. l.], v. 9, n. 3, p. 291–293, 2014.

NELSON, R. H. Hyperlipidemia as a risk factor for cardiovascular disease. **Primary care**, [s. l.], v. 40, n. 1, p. 195–211, 2013.

NIKKOLA, E. et al. Family-specific aggregation of lipid GWAS variants confers the susceptibility to familial hypercholesterolemia in a large Austrian family. **Atherosclerosis**, [s. l.], v. 264, p. 58–66, 2017.

NORDESTGAARD, B. G. et al. Familial hypercholesterolaemia is underdiagnosed and undertreated in the general population: guidance for clinicians to prevent coronary heart disease: Consensus Statement of the European Atherosclerosis Society. **European Heart Journal**, [s. l.], v. 34, n. 45, p. 3478–3490, 2013.

NORDESTGAARD, B. G.; BENN, M. Genetic testing for familial hypercholesterolaemia is essential in individuals with high LDL cholesterol: who does it in the world? **European Heart Journal**, [s. l.], v. 38, n. 20, p. 1580–1583, 2017.

NORSWORTHY, P. J. et al. Targeted genetic testing for familial hypercholesterolaemia using next generation sequencing: a population-based study. **BMC Medical Genetics**, [s. l.], v. 15, n. 1, p. 70, 2014.

OHTA, N. et al. Proprotein convertase subtilisin/kexin 9 V4I variant with LDLR mutations modifies the phenotype of familial hypercholesterolemia. **Journal of clinical lipidology**, [s. l.], v. 10, n. 3, p. 547–555.e5, 2016.

OMS. **OPAS/OMS Brasil - Doenças cardiovasculares**. 2017. Disponível em: <https://www.paho.org/bra/index.php?option=com_content&view=article&id=5253:doencas-cardiovasculares&Itemid=839>.

PAMPLONA-CUNHA, H. et al. Genetic polymorphisms and variants in the LDL receptor

associated with familial hypercholesterolemia: cascade screening and identification of the variants 666C>A, 862G>A, 901G>A, and 919G>A of a Brazilian family. **Clinical Chemical Laboratory Medicine**, [s. l.], v. 57, n. 2, p. e23–e26, 2019.

PÉREZ DE ISLA, L. et al. Coronary Heart Disease, Peripheral Arterial Disease, and Stroke in Familial Hypercholesterolaemia Insights From the SAFEHEART Registry (Spanish Familial Hypercholesterolaemia Cohort Study) Clinical and Population Studies Downloaded from. **Arterioscler Thromb Vasc Biol**, [s. l.], v. 36, p. 2004–2010, 2016.

PIPER, D. E. et al. The Crystal Structure of PCSK9: A Regulator of Plasma LDL-Cholesterol. **Structure**, [s. l.], v. 15, n. 5, p. 545–552, 2007.

PIRIM, D. et al. Resequencing of LPL in African Blacks and associations with lipoprotein-lipid levels. **European journal of human genetics : EJHG**, [s. l.], v. 23, n. 9, p. 1244–53, 2015.

PLENGPANICH, W. et al. Functional characterization of novel variants in the CETP promoter and the LIPC gene in subjects with hyperalphalipoproteinemia. **Clinica Chimica Acta**, [s. l.], v. 416, p. 92–95, 2013.

PRANCKEVIČIENE, E. et al. Challenges in exome analysis by LifeScope and its alternative computational pipelines. **BMC research notes**, [s. l.], v. 8, n. 421, p. 1–15, 2015.

PULLINGER, C. R. et al. The apolipoprotein B R3531C mutation. Characteristics of 24 subjects from 9 kindreds. **Journal of lipid research**, [s. l.], v. 40, n. 2, p. 318–27, 1999.

PULLINGER, C. R. et al. Human cholesterol 7α-hydroxylase (CYP7A1) deficiency has a hypercholesterolemic phenotype. **Journal of Clinical Investigation**, [s. l.], v. 110, n. 1, p. 109–117, 2002.

PURKAIT, P. et al. Association of angiotensinogen gene SNPs and haplotypes with risk of hypertension in eastern Indian population. **Clinical Hypertension**, [s. l.], v. 23, n. 1, p. 12, 2017.

QIAN, X. et al. The “T” allele of apolipoprotein A5 rs2075291 is significantly associated with higher total cholesterol and triglyceride and lower high-density lipoprotein cholesterol levels in Asians: a meta-analysis. **Nutrition Research**, [s. l.], v. 56, p. 11–22, 2018.

QUINTÃO, E.; NAKANDAKARE, E.; PASSARELLI, M. **LÍPIDES: do metabolismo à aterosclerose. 1ª ed. Sarvier.** São Paulo, 2011.

RABACCHI, C. et al. Spectrum of mutations of the LPL gene identified in Italy in patients with severe hypertriglyceridemia. **Atherosclerosis**, [s. l.], v. 241, n. 1, p. 79–86, 2015.

RADER, D. J.; COHEN, J.; HOBBS, H. H. Monogenic hypercholesterolemia: new insights in pathogenesis and treatment. **The Journal of clinical investigation**, [s. l.], v. 111, n. 12, p. 1795–803, 2003.

RADER, D. J.; KASTELEIN, J. J. P. Lomitapide and mipomersen: two first-in-class drugs for

reducing low-density lipoprotein cholesterol in patients with homozygous familial hypercholesterolemia. **Circulation**, [s. l.], v. 129, n. 9, p. 1022–1032, 2014.

RADOVICA-SPALVINA, I. et al. Next-generation-sequencing-based identification of familial hypercholesterolemia-related mutations in subjects with increased LDL-C levels in a latvian population. **BMC medical genetics**, [s. l.], v. 16, n. 86, p. 1–9, 2015.

RALL, S. C. et al. Identical structural and receptor binding defects in apolipoprotein E2 in hypo-, normo-, and hypercholesterolemic dysbetalipoproteinemia. **The Journal of clinical investigation**, [s. l.], v. 71, n. 4, p. 1023–31, 1983.

REHM, H. L. et al. ACMG clinical laboratory standards for next-generation sequencing. **Genetics in medicine**, [s. l.], v. 15, p. 733–47, 2013.

RICHARDS, S. et al. Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology. **Genetics in medicine**, [s. l.], v. 17, n. 405–24, p. 1–20, 2015.

RIPATTI, P. et al. The Contribution of GWAS Loci in Familial Dyslipidemias. **PLoS genetics**, [s. l.], v. 12, n. e1006078, p. 1–14, 2016.

RODRIGUES, A. C. et al. Genetic variants in genes related to lipid metabolism and atherosclerosis, dyslipidemia and atorvastatin response. **Clinica Chimica Acta**, [s. l.], v. 417, p. 8–11, 2013.

SALAZAR, L. A. et al. Effects of Ava II and Hinc II polymorphisms at the LDL receptor gene on serum lipid levels of Brazilian individuals with high risk for coronary heart disease. **Journal of clinical laboratory analysis**, [s. l.], v. 13, n. 6, p. 251–8, 1999.

SALAZAR, L. A. et al. Lipid-lowering response of the HMG-CoA reductase inhibitor fluvastatin is influenced by polymorphisms in the low-density lipoprotein receptor gene in Brazilian patients with primary hypercholesterolemia. **Journal of clinical laboratory analysis**, [s. l.], v. 14, n. 3, p. 125–31, 2000. a.

SALAZAR, L. A. et al. Pvu II intron 15 polymorphism at the LDL receptor gene is associated with differences in serum lipid concentrations in subjects with low and high risk for coronary artery disease from Brazil. **Clinica chimica acta; international journal of clinical chemistry**, [s. l.], v. 293, n. 1–2, p. 75–88, 2000. b.

SALAZAR, L. A. et al. Molecular basis of familial hypercholesterolemia in Brazil: Identification of seven novel LDLR gene mutations. **Human Mutation**, [s. l.], v. 19, n. 4, p. 462–463, 2002.

SALAZAR, L. A.; HIRATA, M. H.; HIRATA, R. D. C. Increasing the Sensitivity of Single-Strand Conformation Polymorphism Analysis of the LDLR Gene Mutations in Brazilian Patients with Familial Hypercholesterolemia. **Clinical Chemistry and Laboratory Medicine**, [s. l.], v. 40, n. 5, p. 441–5, 2002.

SANTOS, P. C. J. L. et al. Presence and type of low density lipoprotein receptor (LDLR) mutation influences the lipid profile and response to lipid-lowering therapy in Brazilian patients with heterozygous familial hypercholesterolemia. **Atherosclerosis**, [s. l.], v. 233, n. 1, p. 206–210, 2014.

SANTOS, R. et al. Sociedade Brasileira de Cardiologia. I Diretriz Brasileira de Hipercolesterolemia Familiar (HF). **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, [s. l.], v. 99, n. 2 Supl. 2, p. 1–28, 2012.

SANTOS, R. D. et al. Defining severe familial hypercholesterolaemia and the implications for clinical management: a consensus statement from the International Atherosclerosis Society Severe Familial Hypercholesterolemia Panel. **The Lancet Diabetes & Endocrinology**, [s. l.], v. 4, n. 10, p. 850–861, 2016.

SANTOS, R. D.; MARANHAO, R. C. What is new in familial hypercholesterolemia? **Current Opinion in Lipidology**, [s. l.], v. 25, n. 3, p. 183–188, 2014.

SCHAEFER, J. R. et al. Pharmacogenetic aspects in familial hypercholesterolemia with the special focus on FHMarburg (FH p.W556R). **Clinical Research in Cardiology Supplements**, [s. l.], v. 7, n. S1, p. 2–6, 2012.

SCHARNAGL, H. et al. Association of myeloperoxidase with total and cardiovascular mortality in individuals undergoing coronary angiography--the LURIC study. **International journal of cardiology**, [s. l.], v. 174, n. 1, p. 96–105, 2014.

SHAJARIAN, M. et al. Association of RBP4 gene variants with adverse lipid profile and obesity. **Gene**, [s. l.], v. 561, n. 1, p. 1–5, 2015.

SHEN, L. et al. The next generation of novel low-density lipoprotein cholesterol-lowering agents: Proprotein convertase subtilisin/kexin 9 inhibitors. **Pharmacological Research**, [s. l.], v. 73, p. 27–34, 2013.

SILVA, S. C. P. Da. **Estudos funcionais para determinação da patogenicidade de novas mutações no gene LDLR:diagnóstico e caracterização molecular da hipercolesterolemia familiar**, 2007. 44f. Dissertação (Mestrado). Universidade de Lisboa, 2207.

SILVA, S. et al. In vitro functional characterization of missense mutations in the LDLR gene. **Atherosclerosis**, [s. l.], v. 225, n. 1, p. 128–134, 2012.

SJOUKE, B. et al. Children with hypercholesterolemia of unknown cause: Value of genetic risk scores. **Journal of Clinical Lipidology**, [s. l.], v. 10, n. 4, p. 851–859, 2016.

SMITH, A. J. P. et al. Application of statistical and functional methodologies for the investigation of genetic determinants of coronary heart disease biomarkers: lipoprotein lipase genotype and plasma triglycerides as an exemplar. **Human Molecular Genetics**, [s. l.], v. 19, n. 20, p. 3936–3947, 2010.

SORIA, L. F. et al. Association between a specific apolipoprotein B mutation and familial defective apolipoprotein B-100. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the**

United States of America, [s. l.], v. 86, n. 2, p. 587–91, 1989.

STEIN, E. A.; RAAL, F. J. Polygenic familial hypercholesterolaemia: does it matter? **The Lancet**, [s. l.], v. 381, n. 9874, p. 1255–1257, 2013.

STOCK, J. New EAS Consensus Statement on FH: Improving the care of FH patients. **Atherosclerosis**, [s. l.], v. 231, n. 1, p. 69–71, 2013.

STURM, A. C. et al. Clinical Genetic Testing for Familial Hypercholesterolemia. **Journal of the American College of Cardiology**, [s. l.], v. 72, n. 6, p. 662–80, 2018.

SUN, D. et al. Genetic basis of index patients with familial hypercholesterolemia in Chinese population: mutation spectrum and genotype-phenotype correlation. **Lipids in Health and Disease**, [s. l.], v. 17, n. 252, p. 1–8, 2018.

SURENDRAN, R. P. et al. Mutations in LPL, APOC2, APOA5, GPIHBP1 and LMF1 in patients with severe hypertriglyceridaemia. **Journal of Internal Medicine**, [s. l.], v. 272, n. 2, p. 185-96, 2012.

TAI, D.-Y.; PAN, J.-P.; LEE-CHEN, G.-J. Identification and haplotype analysis of apolipoprotein B-100 Arg 3500 3 Trp mutation in hyperlipidemic Chinese. **Clin Chem**, [s. l.], v. 44, n. 8, p. 1659–1665, 1998.

TALMUD, P. J. et al. Use of low-density lipoprotein cholesterol gene score to distinguish patients with polygenic and monogenic familial hypercholesterolaemia: a case-control study. **The Lancet**, [s. l.], v. 381, n. 9874, p. 1293–1301, 2013.

TAYLOR, A. et al. Mutation screening in patients for familial hypercholesterolaemia (ADH). **Clinical Genetics**, [s. l.], v. 77, n. 1, p. 97–99, 2010.

THOMAS, E. R. A. et al. Identification and biochemical analysis of a novel *APOB* mutation that causes autosomal dominant hypercholesterolemia. **Molecular Genetics & Genomic Medicine**, [s. l.], v. 1, n. 3, p. 155–161, 2013..

THORMAEHLEN, A. S. et al. Systematic cell-based phenotyping of missense alleles empowers rare variant association studies: a case for LDLR and myocardial infarction. **PLoS genetics**, [s. l.], v. 11, n. e1004855, p. 1–23, 2015.

TICHÝ, L. et al. The molecular basis of familial hypercholesterolemia in the Czech Republic: Spectrum of LDLR mutations and genotype–phenotype correlations. **Atherosclerosis**, [s. l.], v. 223, n. 2, p. 401–408, 2012.

TIMMS, K. M. et al. A mutation in PCSK9 causing autosomal-dominant hypercholesterolemia in a Utah pedigree. **Human Genetics**, [s. l.], v. 114, n. 4, p. 349–353, 2004.

TODUR, S. P.; ASHAVAID, T. F. Association of CETP and LIPC Gene Polymorphisms with HDL and LDL Sub-fraction Levels in a Group of Indian Subjects: A Cross-Sectional Study. **Indian Journal of Clinical Biochemistry**, [s. l.], v. 28, n. 2, p. 116–123, 2013.

USIFO, E. et al. Low-Density Lipoprotein Receptor Gene Familial Hypercholesterolemia Variant Database: Update and Pathological Assessment. **Annals of Human Genetics**, [s. l.], v. 76, n. 5, p. 387–401, 2012.

VALLEJO-VAZ, A. J. et al. Familial hypercholesterolaemia: A global call to arms. **Atherosclerosis**, [s. l.], v. 243, n. 1, p. 257–259, 2015.

VAN DER GRAAF, A. et al. Familial defective apolipoprotein B and familial hypobetalipoproteinemia in one family: two neutralizing mutations. **Annals of internal medicine**, [s. l.], v. 148, n. 9, p. 712–4, 2008.

VAN LEEUWEN, E. M. et al. Meta-analysis of 49 549 individuals imputed with the 1000 Genomes Project reveals an exonic damaging variant in ANGPTL4 determining fasting TG levels. **Journal of medical genetics**, [s. l.], v. 53, n. 7, p. 441–9, 2016.

VANDROVCOVA, J. et al. The use of next-generation sequencing in clinical diagnosis of familial hypercholesterolemia. **Genetics in medicine**, [s. l.], v. 15, n. 12, p. 948–57, 2013.

VON ECKARDSTEIN, A. et al. Nonsynonymous polymorphic sites in the apolipoprotein (apo) A-IV gene are associated with changes in the concentration of apo B- and apo A-I-containing lipoproteins in a normal population. **American journal of human genetics**, [s. l.], v. 50, n. 5, p. 1115–28, 1992.

WANG, J. et al. Polygenic Versus Monogenic Causes of Hypercholesterolemia Ascertained ClinicallyHighlights. **Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology**, [s. l.], v. 36, n. 12, p. 2439–2445, 2016.

WANG, L. R.; MCINTYRE, A. D.; HEGELE, R. A. Complex genetic architecture in severe hypobetalipoproteinemia. **Lipids in health and disease**, [s. l.], v. 17, n. 1, p. 48, 2018.

WANG, X. et al. Interactions of six SNPs in APOA1 gene and types of obesity on low HDL-C disease in Xinjiang pastoral area of China. **Lipids in Health and Disease**, [s. l.], v. 16, n. 187, p. 1–7, 2017.

WATTS, G. F. et al. Integrated guidance on the care of familial hypercholesterolaemia from the International FH Foundation. **International Journal of Cardiology**, [s. l.], v. 171, n. 3, p. 309–325, 2014.

WHO HUMAN GENETICS PROGRAMME. Familial hypercholesterolemia (FH). Report of a WHO consultation. **World Health Organization**, [s. l.], v. Paris, 1997.

WIEGMAN, A. et al. Familial hypercholesterolaemia in children and adolescents: gaining decades of life by optimizing detection and treatment. **European Heart Journal**, [s. l.], v. 36, n. 36, p. 2425–2437, 2015.

WIERZBICKI, A. S.; HUMPHRIES, S. E.; MINHAS, R. Familial hypercholesterolaemia: summary of NICE guidance. **British Medical Journal**, [s. l.], v. 337, n. a1095, 2008.

WITTRUP, H. H. et al. Mutations in the lipoprotein lipase gene associated with ischemic

heart disease in men. The Copenhagen city heart study. **Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology**, [s. l.], v. 19, n. 6, p. 1535–40, 1999.

XAVIER, H. T. et al. Sociedade Brasileira de Cardiologia. V Diretriz Brasileira de Dislipidemias e Prevenção da Aterosclerose. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, [s. l.], v. 101, n. 4, p. 1–22, 2013.

XIAO, R. et al. Association analysis of <i>APO</i> gene polymorphisms with ischemic stroke risk: a case-control study in a Chinese Han population. **Oncotarget**, [s. l.], v. 8, n. 36, p. 60496–60503, 2017.

YAMAMOTO, T. et al. The human LDL receptor: a cysteine-rich protein with multiple Alu sequences in its mRNA. **Cell**, [s. l.], v. 39, n. 1, p. 27–38, 1984.

YOU, Y. et al. Effects of polymorphisms in APOA5 on the plasma levels of triglycerides and risk of coronary heart disease in Jilin, northeast China: a case-control study. **BMJ open**, [s. l.], v. 8, n. e020016, p. 1–7, 2018.

ZAMBRANO, T. et al. Impact of 3’UTR genetic variants in PCSK9 and LDLR genes on plasma lipid traits and response to atorvastatin in Brazilian subjects: a pilot study. **International journal of clinical and experimental medicine**, [s. l.], v. 8, n. 4, p. 5978–88, 2015.

ZEISSIG, S. et al. Primary deficiency of microsomal triglyceride transfer protein in human abetalipoproteinemia is associated with loss of CD1 function. **Journal of Clinical Investigation**, [s. l.], v. 120, n. 8, p. 2889–2899, 2010.

ZHOU, B.-S. et al. Tagging SNPs in the MTHFR gene and risk of ischemic stroke in a Chinese population. **International journal of molecular sciences**, [s. l.], v. 15, n. 5, p. 8931–40, 2014.

ANEXOS

9. ANEXOS

A. Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

SECRETARIA DE ESTADO DA SAÚDE
Coordenadoria de Serviços de Saúde
INSTITUTO DANTE PAZZANESE DE CARDIOLOGIA

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

TÍTULO DO ESTUDO: " ULTRASSEQUENCIAMENTO EXÔMICO DOS PRINCIPAIS GENES RELACIONADOS COM A HIPERCOLESTEROLEMIA FAMILIAR"

CENTRO: INSTITUTO DANTE PAZZANESE DE CARDIOLOGIA

INVESTIGADOR: JÉSSICA BASSANI BORGES

NÚMERO DO PACIENTE: _____

INICIAIS DO PACIENTE: _____

OBJETIVO DESTE ESTUDO

Você está sendo convidado para participar deste estudo que irá avaliar as alterações genéticas que podem ser causadoras de dislipidemia primária ou afetar o seu tratamento. As informações obtidas deste estudo serão importantes para melhorar o diagnóstico, prognóstico e a prevenção dos eventos cardiovasculares em pacientes com dislipidemias primárias (gorduras no sangue alteradas de origem genética).

PROCEDIMENTOS DO ESTUDO

Caso você concorde em participar deste estudo, você receberá o mesmo cuidado que hoje é aplicado nesta instituição a todos os pacientes que passam no Departamento de Dislipidemias. Será necessário que você responda algumas perguntas sobre hábitos de vida, histórico de doenças, uso de medicamentos e doenças existentes nas pessoas de sua família.

A seguir serão coletadas amostras sanguíneas (total de 20 ml) para os exames laboratoriais e os testes genéticos. Pode ser necessário uma nova coleta de sangue para testes adicionais, caso isto aconteça o senhor (a) será convidado a uma nova visita onde

Rubricas	
Paciente	
Investigador	

serão coletados mais 16ml de sangue. Se o (a) senhor (a) concordar, seu material será conservado e guardado no Laboratório de Investigação Molecular de Cardiologia (LIMC), por, no máximo, 5 anos.

O(a) senhor(a) concorda que seu sangue seja armazenado?

Sim, eu concordo ( ) Não, eu não concordo ( )

Mesmo que o(a) senhor(a) não concorde que parte do seu sangue seja armazenado, o(a) senhor(a) poderá participar do estudo.

Abaixo está a lista de exames de análises clínicas que serão realizados:

a. Hemograma completo
b. Ácido úrico
c. Apo A
d. Apo B
e. Colesterol Total e frações
f. Triglicérides
g. Glicemia
h. Hemoglobina glicada
i. Insulina
j. Proteína C reativa ultra sensível
k. TGO (AST), TGP (ALT)
l. CPK
m. TSH, T4
n. Uréia
o. Creatinina

RISCOS E DESCONFORTOS

Os participantes deste estudo não terão riscos além das intercorrências inerente à punção venosa periférica (coleta de amostra de sangue) como formação de hematomas, flebite, breve dor, que são raras e sem maiores complicações clínicas. Algumas pessoas têm vertigens quando coletam sangue, mas os sintomas desaparecem quando a pessoa se deita.

BENEFÍCIOS POTENCIAIS

Você não receberá qualquer benefício direto ou pagamento por sua participação, pois se trata de um estudo desenhado para determinação dos processos fisiopatológicos visando ao incremento do conhecimento sobre o tema.

Rubricas	
Paciente	
Investigador	

Caso seja de seu interesse, serão disponibilizados os resultados dos exames laboratoriais e dos testes genéticos no final da pesquisa.

ALTERNATIVAS À PARTICIPAÇÃO

Caso você não queira participar deste estudo, e esteja sendo tratado na instituição você continuará recebendo o tratamento já utilizado de rotina.

CONFIDENCIALIDADE

Assinando o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido você está aceitando participar deste estudo e permitindo que todos os seus registros médicos sejam verificados pela equipe de pesquisa em busca de dados para o estudo.

Sua identidade será mantida em segredo quando os resultados do estudo forem publicados, pois, você está autorizando que os seus dados a serem publicados como artigos em revistas, artigos e serem tema de debates e aulas. As informações coletadas durante o estudo serão armazenadas em um computador, mas seu nome não. A coleta e análise de dados de estudos médicos são consideradas pessoais protegidas por leis nacionais e internacionais. Seu médico será informado de sua participação neste estudo.

NOVOS ACHADOS

Você será informado sobre quaisquer novos achados importantes que se tornarem disponíveis durante o estudo que possam influenciar seu desejo de continuar ou não a participar do estudo.

PARTICIPAÇÃO VOLUNTÁRIA E CONSENTIMENTO

Sua participação neste estudo é voluntária. Você pode se recusar a participar ou pode desistir, a qualquer momento durante o estudo, sem ter que dar explicações. Isso

não mudará a qualidade de atendimento que você estará recebendo muito menos em qualquer tipo de penalidade.

Por qualquer motivo, independente do seu consentimento, os membros da equipe de pesquisa poderão encerrar sua participação no estudo, sendo explicado imediatamente a você os motivos para tal acontecimento. Caso isso venha a acontecer seu tratamento continuará sendo feito pelo seu médico.

SOLICITAÇÃO DE INFORMAÇÕES ADICIONAIS

O pesquisador Mario Hiroyuki Hirata, Jéssica Bassani Borges e/ou Thais Kristini Almendros Afonso, tel. (011) 5085-6086 ou (011) 5085-6574 irá responder todas as dúvidas que você possa ter sobre sua participação neste estudo. Em caso de dúvidas ou preocupações quanto aos seus direitos como participante deste estudo, você pode entrar em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa do Instituto Dante Pazzanese de Cardiologia no telefone (011) 5085-6040. Uma cópia deste termo será entregue para você.

Li e compreendi este termo de consentimento e todas as minhas dúvidas foram resolvidas. Recebi explicações sobre o objetivo da pesquisa, os procedimentos de estudo a que serei submetido e os possíveis riscos, desconfortos e benefícios que posso apresentar. As alternativas à minha participação neste estudo também foram discutidas. Portanto, concordo voluntariamente em fornecer meu consentimento para participar deste estudo clínico.

_____ _____ ____ : ____ h
Assinatura do Paciente Data Hora

_____ _____ ____ : ____ h
Testemunha (se necessário) Data Hora

_____ _____ ____ : ____ h
Assinatura do Investigador Data Hora

Rubricas	
Paciente	
Investigador	

B1. Parecer do Comitê de Ética do IDPC

INSTITUTO DANTE
PAZZANESE DE CARDIOLOGIA

Plataforma Brasil

PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DA EMENDA

Título da Pesquisa: Ultrassequenciamento exômico dos principais genes relacionados com a hipercolesterolemia familiar

Pesquisador: Jéssica Bassani Borges

Área Temática: Genética Humana:
(Trata-se de pesquisa envolvendo Genética Humana que não necessita de análise ética por parte da CONEP;);

Versão: 8

CAAE: 24618713.0.1001.5462

Instituição Proponente: Instituto Dante Pazzanese de Cardiologia - SP

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio
CNPQ
FUNDACAO DE AMPARO A PESQUISA DO ESTADO DE SAO PAULO

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 2.587.235

Apresentação do Projeto:

Nº DO PROTOCOLO DO CEP:4398/ 2013

A hipercolesterolemia familial (HF) é uma doença autossômica dominante com bases genéticas ainda não totalmente esclarecidas. O presente
estudo propõe a análise genômica, epigenômica e farmacogenômica de portadores de HF monogênica e poligênica. Serão recrutados pacientes
com HF diagnosticada fenotipicamente, em seis centros de pesquisa de diferentes regiões do Brasil. Os métodos utilizados incluem: (i)
ultrassequenciamento dos principais genes relacionados à HF e outras dislipidemias primárias utilizando o equipamento MiSeq (Illumina); (ii) análise
funcional de novas variantes nos genes LDLR, APOB e PCSK9 por citometria de fluxo, com estudo de interação com receptores de LDL em
linfócitos primários e com estudo de mutagênese dirigida utilizando CRISPR/Cas9 em células HepG2 e HUVEC; (iii) perfil de expressão diferencial
de miRNAs circulantes em amostras de plasma por PCR array; (iv) perfil de metilação dos genes LDLR, APOB e PCSK9 em leucócitos por

Endereço: Av. Dr. Dante Pazzanese N.º 500, Torre 6º andar
Bairro: Ibirapuera **CEP:** 04.012-909
UF: SP **Município:** SAO PAULO
Telefone: (11)5085-6040 **Fax:** (11)5085-6040 **E-mail:** cep@dantepazzanese.org.br

pirossequenciamento; (v) análise farmacogenômica incluindo genes envolvidos no metabolismo e na resposta a hipolipemiantes. As análises de
bioinformática serão realizadas utilizando-se os programas MiSeq Reporter e CLC Genomic Workbench. Este estudo é pioneiro no país e a sua
realização na população brasileira, altamente miscigenada, é inovadora e desafiadora. Os resultados deste estudo visam contribuir para o
conhecimento das bases moleculares da HF, fornecer elementos para direcionamento no diagnóstico genético e na terapia personalizada de
pacientes afetados, e possibilitar a criação de um banco nacional de dados genômicos que auxilie na orientação da conduta diagnóstica molecular
para pacientes com fenótipo HF e seus familiares. Contribuirá para a formação de recursos humanos, consolidação da pesquisa e integração das
instituições envolvidas.

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Primário:

Identificar as causas genéticas das dislipidemias primárias dos pacientes diagnosticados fenotipicamente no Instituto Dante Pazzanese de
Cardiologia.

Objetivo Secundário:

• Sequenciar os exomas dos genes relacionados a dislipidemias de origem genética e verificar o perfil das novas variantes polimórficas em pacientes
com diagnóstico de hipercolesterolemia familiar.

• Identificar novas variantes nos genes relacionados com alteração do metabolismo do colesterol.

• Avaliar as correlações entre as mutações e as alterações fenotípicas.

• Caracterizar a funcionalidade de variantes do gene LDLR in vitro pelo perfil de captação de LDL, em cultura primária de linfócitos oriundos de
portadores de HF;

• Caracterizar a funcionalidade de variantes do gene APOB in vitro pelo perfil de captação de LDL oriunda de portadores de HF, em células HepG2 e
HUVEC;

• Realizar a mutagênese de variantes dos genes LDLR e PCSK9, encontradas no sequenciamento, em células HepG2 e HUVEC para avaliar sua
funcionalidade independente da presença de outras variantes.

• Avaliar o perfil de expressão diferencial de miRNAs circulantes entre os diferentes padrões fenotípicos de HF encontrados em nossa população;
• Avaliar o perfil de metilação das ilhas CpG dos genes LDLR, APOB e PCSK9 de portadores de HF com diferentes padrões fenotípicos;
• Avaliar a associação de variantes em genes envolvidos no metabolismo e na resposta a medicamentos hipolipemiantes, em pacientes HF.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos:

Os participantes deste estudo não se submeterão a procedimentos adicionais, exceto a coleta de material biológico para dosagem dos
biomarcadores, que em alguns serviços fazem parte da rotina do atendimento desses pacientes. Os riscos físicos referentes à coleta de amostra de
sangue para o estudo são: hematoma, flebite, breve dor. Algumas pessoas têm vertigens quando coletam sangue, mas os sintomas desaparecem
quando a pessoa se deita.

Benefícios:

Os participantes deste estudo não poderão receber nenhum benefício direto por fazer parte do Estudo. As informações obtidas deste estudo serão
importantes para melhorar o diagnóstico, prognóstico e a prevenção dos eventos cardiovasculares em pacientes com dislipidemias primárias.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Sem restrições do ponto de vista de ética em pesquisa

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

1_Inclusão de 4 centros participantes;
USP
HC de porto alegre
UNICAMP
Cruzeiro do sul educacional s.a

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Sem restrições do ponto de vista de ética em pesquisa

INSTITUTO DANTE
PAZZANESE DE CARDIOLOGIA

Continuação do Parecer: 2.587.235

Considerações Finais a critério do CEP:

Diante do exposto, O Comitê de Ética em Pesquisa do Instituto Dante Pazzanese de Cardiologia, de acordo com as atribuições definidas na Resolução CNS nº 466 de 2012, resolução 510/96 e da Norma Operacional nº 001 de 2013 do CNS, em reunião ordinária de 27/03/2018 manifesta-se pela aprovação da emenda.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Outros	emenda_inclusaocentors.pdf	20/03/2018 09:50:50	Pedro Silvio Farsky	Aceito
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_1072404_E6.pdf	16/03/2018 14:26:04		Aceito
Outros	Carta_Emenda.pdf	30/06/2016 16:01:00	Jéssica Bassani Borges	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	HF_CEP_ultima_versao.pdf	30/06/2016 16:00:32	Jéssica Bassani Borges	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	HF_TCLE2.pdf	30/06/2016 15:59:44	Jéssica Bassani Borges	Aceito
Declaração de Pesquisadores	Justificativa_CEPIDPC_vinculo_Institucional.pdf	11/12/2015 16:40:04	Jéssica Bassani Borges	Aceito
Folha de Rosto	PLATAFORMA BRASIL - JESSICA.pdf	06/03/2015 11:01:08		Aceito
Outros	Troca de Pesquisador.pdf	08/12/2014 10:17:29		Aceito
Outros	Troca pesquisador.pdf	08/12/2014 10:17:29		Aceito
Outros	Carta de mudança de pesquisador.pdf	14/11/2014 12:20:49		Aceito
Outros	DECLARAÇÕES CEP Thiago D C Hirata.pdf	12/11/2013 14:32:38		Aceito

Situação do Parecer:
Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:
Não

Endereço: Av. Dr. Dante Pazzanese N.º 500, Torre 6º andar
Bairro: Ibirapuera **CEP:** 04.012-909
UF: SP **Município:** SAO PAULO
Telefone: (11)5085-6040 **Fax:** (11)5085-6040 **E-mail:** cep@dantepazzanese.org.br

SAO PAULO, 09 de Abril de 2018

Assinado por:
Pedro Silvio Farsky
(Coordenador)

Endereço: Av. Dr. Dante Pazzanese N.º 500, Torre 6º andar
Bairro: Ibirapuera **CEP:** 04.012-909
UF: SP **Município:** SAO PAULO
Telefone: (11)5085-6040 **Fax:** (11)5085-6040 **E-mail:** cep@dantepazzanese.org.br

B2. Parecer do Comitê de Ética da FCF-USP

USP - FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS DA UNIVERSIDADE DE SÃO

Plataforma Brasil

PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

Elaborado pela Instituição Coparticipante

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Ultrassequenciamento exômico dos principais genes relacionados com a hipercolesterolemia familiar

Pesquisador: Jéssica Bassani Borges

Área Temática: Genética Humana:
(Trata-se de pesquisa envolvendo Genética Humana que não necessita de análise ética por parte da CONEP;);

Versão: 2

CAAE: 24618713.0.3001.0067

Instituição Proponente: Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio
CNPQ
FUNDACAO DE AMPARO A PESQUISA DO ESTADO DE SAO PAULO

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 2.708.638

Apresentação do Projeto:

Trata-se de um projeto destinado à avaliação de genes relacionados à hipercolesterolemia familiar. Serão recrutados 150 indivíduos adultos acompanhados no Instituto Dante Pazzanese de Cardiologia, em São Paulo, sendo 100 indivíduos com dosagem elevada de colesterol e 50 indivíduos controle. Serão coletados 20 ml de sangue dos participantes e amostra de sangue poderá ser armazenada por um período de 5 anos.

Objetivo da Pesquisa:

O objetivo principal é avaliar a presença de genes relacionados com a hipercolesterolemia familiar em pacientes que já receberam o diagnóstico clínico da doença e determinar o perfil genético nesta população.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Não há benefícios diretos aos participantes e os riscos são os inerentes à coleta de sangue e à punção venosa. Como os pacientes são indivíduos adultos, o volume de sangue a ser coletado é considerado adequado.

Endereço: Av. Prof. Lineu Prestes, 580, Bloco 13A, sala 112
Bairro: Butantã **CEP:** 05.508-000
UF: SP **Município:** SAO PAULO
Telefone: (11)3091-3622 **Fax:** (11)3031-8986 **E-mail:** cepfcf@usp.br

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

A pesquisa é importante, pois busca trazer mais conhecimentos sobre as causas da hipercolesterolemia.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Trata-se de emenda de projeto de pesquisa já aprovado pelo CEP da Instituição Proponente (Instituto Dante Pazzanese de Cardiologia-SP) e do Centro Colaborador (Faculdade de Ciências Farmacêuticas da USP). A pesquisadora principal solicita a inclusão de 4 outros centros colaboradores:

-Instituto do Coração do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da USP,

-Hospital de Clínicas de Porto Alegre,

-Faculdade de Ciências Médicas da UNICAMP,

-Cruzeiro do Sul Educacional SA.

Recomendações:

As cartas de anuência das Instituições co-participadoras foram anexadas.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Nenhuma

Considerações Finais a critério do CEP:

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1109917.pdf	04/06/2018 15:03:35		Aceito
Outros	Carta_de_Anuencia_UNICSUL.pdf	04/06/2018 14:59:34	Jéssica Bassani Borges	Aceito
Outros	Carta_de_Anuencia_UNICAMP.pdf	04/06/2018 14:58:59	Jéssica Bassani Borges	Aceito
Outros	Carta_de_Anuencia_UFRGS.pdf	04/06/2018 14:58:28	Jéssica Bassani Borges	Aceito
Outros	Carta_de_anuencia_INCOR.pdf	04/06/2018 14:58:01	Jéssica Bassani Borges	Aceito
Outros	Carta_resposta_Pendencia_CEP_FCF_USP.pdf	04/06/2018 14:57:23	Jéssica Bassani Borges	Aceito
Outros	emenda_inclusaocentors.pdf	20/03/2018 09:50:50	Pedro Silvio Farsky	Aceito

Outros	Carta_Emenda.pdf	30/06/2016 16:01:00	Jéssica Bassani Borges	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	HF_CEP_ultima_versao.pdf	30/06/2016 16:00:32	Jéssica Bassani Borges	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	HF_TCLE2.pdf	30/06/2016 15:59:44	Jéssica Bassani Borges	Aceito
Outros	Troca de Pesquisador.pdf	08/12/2014 10:17:29		Aceito
Outros	Troca pesquisador.pdf	08/12/2014 10:17:29		Aceito
Outros	Carta de mudança de pesquisador.pdf	14/11/2014 12:20:49		Aceito
Outros	DECLARAÇÕES CEP Thiago D C Hirata.pdf	12/11/2013 14:32:38		Aceito

Situação do Parecer:
Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:
Não

SAO PAULO, 12 de Junho de 2018

Assinado por:
Elvira Maria Guerra Shinohara
(Coordenador)

Endereço: Av. Prof. Lineu Prestes, 580, Bloco 13A, sala 112
Bairro: Butantã **CEP:** 05.508-000
UF: SP **Município:** SAO PAULO
Telefone: (11)3091-3622 **Fax:** (11)3031-8986 **E-mail:** cepfcf@usp.br

C. Questionário clínico utilizado no estudo

SECRETARIA DE ESTADO DA SAÚDE
Coordenadoria de Serviços de Saúde
INSTITUTO DANTE PAZZANESE DE CARDIOLOGIA
Laboratório de Biologia Molecular – Ambulatório de Farmacogenômica

Projeto de Pesquisa: "Avaliação exômica dos principais genes relacionados com a hipercolesterolemia familiar" (Nº CEP: 4398)

Nome do paciente: _____ Número no projeto: _____

Critérios de elegibilidade	
Critérios de inclusão: Hipercolesterolemia Familiar segundo MEDPED	
( )	Certeza MEDPED > 8 pontos
( )	Provável MEDPED 6 – 8 pontos
( )	Possível MEDPED 3 – 5 pontos

Critérios de exclusão (o paciente apresenta:)	**Sim**	**Não**
1. Insuficiência hepática	( )	( )
2. Hipotireoidismo não controlado	( )	( )
3. Síndrome de Cushing	( )	( )
4. Sorologia positiva para HIV	( )	( )
5. Insuficiência renal e/ou Síndrome nefrótica	( )	( )
6. Neoplasias clinicamente não controladas	( )	( )
7. Desistência de participação em qualquer momento do estudo	( )	( )

SECRETARIA DE ESTADO DA SAÚDE
Coordenadoria de Serviços de Saúde
INSTITUTO DANTE PAZZANESE DE CARDIOLOGIA
Laboratório de Biologia Molecular – Ambulatório de Farmacogenômica

Projeto de Pesquisa: "Avaliação exômica dos principais genes relacionados com a hipercolesterolemia familiar" (Nº CEP: 4398)

Questionário Clínico

Nome:		Núm. no projeto:
Data da Entrevista: / /	RG doc. :	Registro no IDPC:
Data de Nascimento: / /	Idade:	Naturalidade:
Gênero: Masculino ( ) Feminino ( )		Menopausa: Pré ( ) Pós ( )
Endereço Residencial:		
Telefone Residencial:	E-mail:	
Comercial:	Celular: ( )	
Escolaridade:	Ensino Fundamental: completo ( ) incompleto ( ) Ensino Médio: completo ( ) incompleto ( ) Ensino Superior: completo ( ) incompleto ( )	

Avaliação Clínica

Raça: Branca ( ) Parda ( ) Negra ( ) Asiática ( ) Outro ( ) _____			
Peso do (a) paciente Kg	IMC Kg/cm²		
Altura do (a) paciente m	Circunferência Abdominal: cm		
PA mmHg	FC: bpm		
Presença de Sinais:	**Sim**	**Não**	**Observação:**
Xantomas			
Xantelomas			
Arco Corneal			
Espessamento de Tendões			
Prega Lobular Diagonal			

SECRETARIA DE ESTADO DA SAÚDE
Coordenadoria de Serviços de Saúde
INSTITUTO DANTE PAZZANESE DE CARDIOLOGIA
Laboratório de Biologia Molecular – Ambulatório de Farmacogenômica

Dados Biodemográficos

Histórico do paciente	Sim	Não	Não sabe	Frequencia/ Há quanto tempo?
Tabagista				
Ex-tabagista				
Etilista				
Ex-etilista				
Usa drogas ilícitas				
Ex- usuário				
HAS				
DM				Tipo: 1 ( ) 2 ( )
IAM				
AVC				Tipo: Isquêmico ( ) Cardioembólico ( ) Aterotrombótico ( ) Hemorrágico ( )
Obesidade				
Síndrome metabólica				
Doença Aterosclerótica Coronariana				
Angina estável ou instável				
Doença arterial periférica				
Aterosclerose subclínica				
Ataque transitório isquêmico				
Aneurisma de Ao				
Estenose de Carótida				
Revascularização do Miocárdio				Tipo: Cirúrgica ( ) Percutânea ( ) Qual o número de coronárias abordadas por cirurgia ou por angioplastia?
Outras doenças:				

SECRETARIA DE ESTADO DA SAÚDE
Coordenadoria de Serviços de Saúde
INSTITUTO DANTE PAZZANESE DE CARDIOLOGIA
Laboratório de Biologia Molecular – Ambulatório de Farmacogenômica

Medicamentos utilizados

Paciente utiliza medicamentos? ( ) sim ( ) não

1. _____ Dose _____ ( ) mg ( ) mcg / Horário _____
2. _____ Dose _____ ( ) mg ( ) mcg / Horário _____
3. _____ Dose _____ ( ) mg ( ) mcg / Horário _____
4. _____ Dose _____ ( ) mg ( ) mcg / Horário _____
5. _____ Dose _____ ( ) mg ( ) mcg / Horário _____
6. _____ Dose _____ ( ) mg ( ) mcg / Horário _____
7. _____ Dose _____ ( ) mg ( ) mcg / Horário _____
8. _____ Dose _____ ( ) mg ( ) mcg / Horário _____
9. _____ Dose _____ ( ) mg ( ) mcg / Horário _____
10. _____ Dose _____ ( ) mg ( ) mcg / Horário _____

Antecedentes Familiares

Patologia	Sim	Não	Parentesco/ Idade
Hipercolesterolemia Familiar			
Dislipidemia			
Doença aterosclerótica coronária			
HAS			
IAM			
AVC			
DM			Tipo: 1 ( ) 2 ( )
Obesidade			
Morte Súbita			

D. Painel de genes

Quadro 1: Lista de genes e o motivo da escolha para a composição do painel de sequenciamento.

Gene	Nome	Relação com a via metabólica do colesterol	Motivo da escolha
APOB	apolipoprotein B	Absorção de LDL-c	Relação com HF e resposta a estatina
LDLR	Low density lipoprotein receptor	Absorção de LDL-c	Relação com HF e resposta a estatina
LDLRAP1	low density lipoprotein receptor adaptor protein 1	Absorção de LDL-c	Relação com HF recessiva
LRP1	LDL receptor relatedprotein1	Absorção de LDL-c	Relação com metabolismo lipídico
PCSK9	proprotein convertase subtilisin/kexin type 9	Absorção de LDL-c	Relação com HF e resposta a estatina
SCARB1	scavenger receptor class B member 1	Absorção de LDL-c	Relação com metabolismo lipídico e resposta a estatina
APOA1	apolipoprotein A-I	Apolipoproteínas	Relação com metabolismo lipídico e resposta a estatina
APOA2	apolipoprotein A-II	Apolipoproteínas	Relação com metabolismo lipídico e hipercolesterolemia
APOA4	apolipoprotein A-IV	Apolipoproteínas	Relação com metabolismo lipídico
APOA5	apolipoprotein A-V	Apolipoproteínas	Relação com metabolismo lipídico, hipertrigliceridemia e hiperlipoproteinemia tipo 5
APOC1	apolipoprotein C-I	Apolipoproteínas	Relação com metabolismo lipídico e hipertrigliceridemia
APOC2	apolipoprotein C-II	Apolipoproteínas	Relação com metabolismo lipídico e hiperlipoproteinemia tipo IB
APOC3	apolipoprotein C-III	Apolipoproteínas	Relação com metabolismo lipídico e hipertrigliceridemia
APOC4	apolipoprotein C-IV	Apolipoproteínas	Relação com metabolismo lipídico e doenças coronarianas

Continua...

Continuação...

Gene	Nome	Relação com a via metabólica do colesterol	Motivo da escolha
APOE	apolipoprotein E	Apolipoproteínas	Relação com metabolismo lipídico, resposta a estatina, disbetalipoproteinemiaeHF recessiva
LPA	lipoprotein, Lp(a)	Lipoproteínas	Relação com metabolismo lipídico e DAC
LPL	lipoprotein lipase	Lipoproteínas	Relação com metabolismo lipídico e resposta a estatina
ABCA1	ATP binding cassette subfamily A member 1	Transportadores	Relação com metabolismo lipídico e resposta a estatina
ABCB1	ATP binding cassette subfamily B member 1	Transportadores	Relação com metabolismo lipídico e resposta a estatina
ABCG5	ATP binding cassette subfamily G member 5	Transportadores	Relação com metabolismo lipídico e de ácido biliares, resposta a estatina, betasistosterolemia e HF recessiva
ABCG8	ATP binding cassette subfamily G member 8	Transportadores	Relação com metabolismo lipídico e de ácido biliares, resposta a estatina, betasistosterolemia e HF recessiva
CRABP2	cellular retinoic acid binding protein 2	Transportadores	Relação com metabolismo lipídico e de ácido biliares
SLCO1B1	solute carrier organic anion transporter family member 1B1	Transportadores	Relação com resposta à estatina
CETP	Cholesteryl ester transfer protein, plasma	Transferência de colesterol	Relação com metabolismo lipídico e resposta a estatina
LCAT	lecithin-cholesterolacyltransferase	Transferência de colesterol	Relação com diminuição de HDL
MTTP	Microsomal triglyceride transfer protein	Transferência de triacilgliceróis	Relação com diminuição de LDL e abetalipoproteinemia
LIPA	lipase A, lysosomalacidtype	Hidrólise de ácidos graxos	Relação com metabolismo lipídico e doença de Wolman
LIPC	lipase C, hepatictype	Hidrólise de ácidos graxos	Relação com metabolismo lipídico e resposta a estatina
PON1	paraoxonase 1	Hidrlise de hidroperóxidos de fosfolípides	Relação com DAC e resposta a estatina

Continua...

Continuação...

Gene	**Nome**	**Relação com a via metabólica do colesterol**	**Motivo da escolha**
ADD1	*adducin 1*	Biossíntese do colesterol	Isoforma de SREBP1 (Proteína ligante de elemento esterol regulatório - Sterolregulatoryelementbindingprotein)por outro gene
HMGCR	*3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA reductase*	Biossíntese do colesterol	Relação com metabolismo lipídico e resposta a estatina
ADIPOQ	*adiponectin, C1Q and collagen domain containing*	Controle hormonal	Gene relacionado com controle hormonal de lípides
CYP2C9	*cytochrome P450 family 2 subfamily C member 9*	Metabolismo de fármacos	Relação com resposta à estatina
CYP3A4	*cytochrome P450 family 3 subfamily A member 4*	Metabolismo de fármacos	Relação com resposta à estatina
CYP3A5	*cytochrome P450 family 3 subfamily A member 5*	Metabolismo de fármacos	Relação com resposta à estatina
ANGPTL3	*angiopoietin like 3*	Inibidor de lipases	Relação com FDB e HF
SCAP	*SREBF chaperone*	Fatores de transcrição	Relação com HF e resposta a estatina
SREBF1	*sterol regulatory element binding transcription factor 1*	Fatores de transcrição	Relação com a transcrição do LDLR
SREBF2	*sterol regulatory element binding transcription factor 2*	Fatores de transcrição	Relação com HF e resposta a estatina
TNF	*tumornecrosisfactor*	Adipogênese/ lipogênese	Relação com metabolismo lipídico e resposta a estatina
AGT	*angiotensinogen*	Relação indireta	Relação com HF e DAC
ALOX5AP	*arachidonate 5-lipoxygenase activatingprotein*	Relação indireta	Relação vias mediadas por lípides
CLMN	*calmin*	Relação indireta	Relação com metabolismo lipídico e resposta a estatina
COQ10A	*coenzyme Q10A*	Relação indireta	Relacionado com resposta a estatina
EGFR	*epidermalgrowthfactor receptor*	Relação indireta	Relacionado com alterações lipídicas

Continua...

Continuação...

Gene	Nome	Relação com a via metabólica do colesterol	Motivo da escolha
EPHX2	*epoxidehydrolase 2*	Relação indireta	Relação com HF
F7	*coagulationfactor VII*	Relação indireta	Relação com resposta à estatina e DAC
GHR	*growthhormone receptor*	Relação indireta	Relação com concentrações de HDL em pacientes com HF
IL10	*interleukin 10*	Relação indireta	Relação com hipercolesterolemia
IL6	*interleukin 6*	Relação indireta	Relação com metabolismo lipídico e resposta a estatina
ITIH4	*inter-alpha-trypsin inhibitor heavy chain family member 4*	Relação indireta	Relação com hipercolesterolemia
KIF6	*kinesinfamilymember 6*	Relação indireta	Relação com resposta à estatina e DAC
MPO	*myeloperoxidase*	Relação indireta	Relação com hipercolesterolemia
MTHFR	*methylenetetrahydrofolatereductase (NAD(P)H)*	Relação indireta	Possível relação com HF e DAC
MYLIP	*myosin regulatory light chain interacting protein*	Relação indireta	Relação com aumento LDL
NOS3	*nitric oxide synthase 3*	Relação indireta	Possível relação com HF
NPPA	*natriureticpeptide A*	Relação indireta	Relação com DAC em pacientes com HF
PPP1R17	*proteinphosphatase 1 regulatorysubunit 17*	Relação indireta	Relação com hipercolesterolemia
RBP4	*retinolbindingprotein 4*	Relação indireta	Relação com hipercolesterolemia
TIMP1	*TIMP metallopeptidaseinhibitor1*	Relação indireta	Relação com DAC e hipercolesterolemia
TRIB1	*tribblespseudokinase 1*	Relação indireta	Relação com hipercolesterolemia

Legenda: *ABCA1 - Transportador de Cassete Ligante de ATP Subfamília A Membro 1; ABCB1 - Transportador de Cassete Ligante de ATP Subfamília B Membro 1; ABCG5 – Transportador de Cassete Ligante de ATP Subfamília G Membro 5; ABCG8 - Transportador de Cassete Ligante de ATP Subfamília G Membro 8; ADD1 - Adducina 1; ADIPOQ – Adiponectina; AGT – Angiotensinogênio; ALOX5AP - Proteína de ativação de 5-lipoxigenase de*

araquidonato;ANGPTL3 – Angiopoietina Tipo 3; APOA1 - Apolipoproteína A1; APOA2 - Apolipoproteína A2; APOA4 - Apolipoproteína A4; APOA5 - Apolipoproteína A5; APOB - Apolipoproteína B; APOC1 - Apolipoproteína C1; APOC2 - Apolipoproteína C2; APOC3 - Apolipoproteína C3; APOC4 - Apolipoproteína C4; APOE - Apolipoproteína E; CETP – Proteína de Transferência de Ester Colesterol; CLMN – Calmina; COQ10A - Coenzima Q10A; CRABP2 - Proteína de ligação ao ácido retinóico celular 2; CYP2C9 - Citocromo P450 Família 2 Subfamília C Membro 9; CYP3A4 - Citocromo P450 Família 3 Subfamília A Membro 4; CYP3A5 - Citocromo P450 Família 3 Subfamília A Membro 5; EGFR – Receptor do Fator de Crescimento Epidérmico; EPHX2 - Epóxidohidrolase 2; F7 – Fator de coagulação 7; GHR – Receptor do Hormônio de Crescimento; HMGCR - 3-hidroxi-3-metilglutaril-CoA redutase; IL6 – Interleucina 6; IL10 – Interleucina 10; KIF6 – Membro 6 da Família Cinesina; LCAT - Lecitina Colesterol Aciltransferase; LDLR - Receptor de LDL; LDLRAP1 - Proteína Adaptadora do Receptor de LDL 1; LIPA - Lipase A; LIPC - Lipase C tipo hepática; LPA – lipoproteína (a); LPL - Lipoproteína Lipase; LRP1 - Proteína relacionada ao receptor de LDL 1; MPO – Mieloperoxidase; MTHFR - Metilenotetrahidrofolato redutase; MYLIP - Proteína de interação da cadeia leve reguladora da miosina; NOS3 - Oxido Nítrico Sintase 3; NPPA – Peptídeo Natriurético A; PCSK9 - Proteína Convertase Subtilisina/Kexina Tipo 9; PON1 - Paraoxonase 1; PPP1R17 - Proteína Reguladora da Fosfatase 1 Subunidade 17; RBP4 - Proteína Ligante de Retinol 4; SCAP - SREBF chaperona; SCARB1 - Receptor scavenger classe B membro 1; SLCO1B1 - Transportador carregador de soluto aniônico membro da família 1B1; SREBF1 - Fator de Transcrição do Elemento Regulador do Esterol 1; SREBF2 - Fator de Transcrição do Elemento Regulador do Esterol 2; TIMP1 - Inibidor Metalopeptidase 1; TNF – Fator de Necrose Tumoral; TRIB1 - Tribbles Pseudocinase 1

E. Características biodemográficas

Quadro 2: Dados bioquímicos e hematológicos dos pacientes do estudo

Parâmetros laboratoriais	Valores[a]
Eritrócitos (10^6/mm3)	4,9 (4,6 – 5,3)
Hb (g/dL)	13,8 (12,9 – 14,9)
Hematócrito (%)	42,1 (39,5 – 45,2)
VCM (fl)	86,2 (82,4 – 89,8)
HCM (pg)	28,2 (26,5 – 29,7)
CHCM (g/dL)	32,5 (31,4 – 33,6)
RDW (%)	12,8 (12,1 – 13,6)
Plaquetas (mil/mm^3)	248,0 (214,5 – 291,0)
Leucócitos totais (mil/ mm^3)	7,1 (6,1 -9,1)
Neutrófilos (mil/ mm^3)	4,2 (3,4 – 5,5)
Blastos (mil/ mm^3)	0,0
Promielócitos (mil/ mm^3)	0,0
Mielócitos (mil/ mm^3)	0,0
Metamielócitos (mil/ mm^3)	0,0
Bastonetes (mil/ mm^3)	0,0
Segmentados (mil/ mm^3)	4,1 (3,4 – 5,4)
Eosinófilos (mil/ mm^3)	0,13 (0,08 – 0,25)
Basófilos (mil/ mm^3)	0,05 (0,03 – 0,07)
Linfócitos típicos (mil/ mm^3)	2,3 (1,8 – 2,8)
Linfócitos atípicos (mil/ mm^3)	0,0
Linfócitos totais (mil/ mm^3)	2,3 (1,8 – 2,8)
Monócitos (mil/ mm^3)	0,5 (0,4 – 0,6)
Hb1AC (%)	5,9 (5,5 – 6,3)
Ureia (mg/dL)	32,0 (26,0 – 36,2)
Creatinina (mg/dL)	0,8 (0,6 – 0,9)
Ácido úrico (mg/dL)	4,6 (3,8 – 5,6)
TGO/AST (U/L)	27,0 (22,0 – 32,5)
TGP/ALT (U/L)	33,0 (28,0 – 45,0)
CK (U/L)	89,0 (61,0 – 135,5)
PCR (mg/dL)	0,6 (0,5 – 0,9)
TSH (uIU/mL)	1,9 (1,1 – 2,7)
T4 livre (ng/dL)	0,9 (0,8 – 1,1)
Insulina (uIU/mL)	7,3 (4,7 – 10,9)

Legenda: Hb – Hemoglobina; g – Gramas; dL – Decilitro; VCM - Volume Corpuscular Médio; fL – Fentolitros; HCM - Hemoglobina Corpuscular Média; pg – Picograma; CHCM - Concentração da Hemoglobina Corpuscular Média; RDW - *Red Cell Distribution Width;* mm^3 – Milímetros cúbicos; HbA1c – Hemoglobina glicada; mg – Miligrama; TGO - Transaminase Glutâmico-Oxalacética; AST - Aspartato Aminotransferase; U – Unidades; L – Litro; TGP - Transaminase Glutâmico Pirúvica; ALT - Alanina Transaminase; CK – Creatino Fosfoquinase; PCR – Proteína C Reativa; TSH - Hormônio Tireoestimulante; uIU – Micro Unidades Internacionais; mL – Mililitro; T4 livre - Tiroxina Fração Livre; ng – Nanograma.

[a]Mediana e quartis (25-75)

F. Controle de qualidade das amostras e sequenciamentos realizados

Quadro 3: Quantificação inicial de DNA e avaliação da pureza das amostras utilizadas no sequenciamento.

Amostra	Quantificação (ng/µL)	Razão 260/280	Amostra	Quantificação (ng/µL)	Razão 260/280
1	110,0	1,83	**72**	144,0	1,84
2	384,0	1,83	**73**	164,1	1,83
3	49,0	1,94	**74**	148,9	1,82
4	22,6	1,87	**75**	141,3	1,84
5	470,0	1,80	**76**	255,9	1,83
6	40,4	1,85	**77**	142,9	1,84
7	13,7	1,84	**78**	211,7	1,82
8	38,0	1,80	**79**	70,8	1,83
9	46,6	1,81	**80**	309,3	1,83
10	40,0	1,83	**81**	181,1	1,84
11	25,6	1,99	**82**	120,3	1,83
12	408,0	1,91	**83**	211,3	1,82
13	32,4	2,0	**84**	205,7	1,84
14	7,3	1,83	**85**	148,1	1,84
15	67,8	1,80	**86**	137,6	1,84
16	25,6	1,88	**87**	89,9	1,82
17	82,2	1,87	**88**	140,8	1,80
18	24,4	1,82	**89**	149,4	1,83
19	34,8	1,90	**90**	166,6	1,82
20	28,8	1,78	**91**	309,5	1,80
21	28,4	1,98	**92**	222,4	1,85
22	150,0	1,84	**93**	116,2	1,80
23	106,0	1,87	**94**	416,5	1,69
24	159,0	1,83	**95**	133,1	1,78
25	34,4	1,86	**96**	114,5	1,84
26	36,0	1,99	**97**	187,2	1,86
27	280,0	1,86	**98**	225,6	1,80
28	107,0	1,94	**99**	264,1	1,80
29	220,0	1,90	**100**	352,2	1,78
30	242,0	1,87	**101**	241,7	1,86
31	228,0	1,87	**102**	244,1	1,80
32	274,0	1,91	**103**	228,4	1,84
33	350,0	1,88	**104**	111,4	1,85
34	197,0	1,88	**105**	77,8	1,91
35	378,0	1,89	**106**	216,3	1,84
36	15,2	1,82	**107**	1067,9	1,84
37	34,6	1,83	**108**	192,9	1,86
38	15,4	1,84	**109**	126,9	1,87
39	29,4	1,80	**110**	214,0	1,84
40	200,0	1,83	**111**	394,3	1,84

Continua...

Continuação...

Amostra	Quantificação (ng/µL)	Razão 260/280	Amostra	Quantificação (ng/µL)	Razão 260/280
41	254,0	1,87	**112**	362,6	1,79
42	238,0	1,85	**113**	174,7	1,84
43	118,0	1,87	**114**	179,1	1,85
44	62,2	1,83	**115**	504,4	1,78
45	75,8	1,87	**116**	459,9	1,76
46	250,0	1,83	**117**	233,2	1,81
47	155,0	1,86	**118**	233,8	1,83
48	43,2	1,89	**119**	169,2	1,84
49	192	1,80	**120**	122,7	1,85
50	191	1,82	**121**	320,3	1,79
51	234	1,85	**122**	18,0	1,71
52	107	1,87	**123**	109,7	1,83
53	168	1,83	**124**	241,4	1,82
54	150	1,87	**125**	105,9	1,81
55	89,6	1,78	**126**	106,9	1,83
56	167	1,86	**127**	112,7	1,85
57	60,6	1,77	**128**	122,4	1,85
58	153	1,80	**129**	234,8	1,84
59	204	1,80	**130**	192,7	1,87
60	83,4	1,78	**131**	140,5	1,83
61	463,8	1,85	**132**	94,8	1,83
62	155,0	1,87	**133**	159,3	1,83
63	193,9	1,83	**134**	127,8	1,81
64	208,5	1,87	**135**	123,3	1,85
65	163,4	1,86	**136**	116,3	1,84
66	281	1,89	**137**	58,6	1,87
67	243,3	1,80	**138**	155,5	1,82
68	202,2	1,82	**139**	182,1	1,85
69	229,8	1,85	**140**	112,2	1,82
70	145	1,80	**141**	303,8	1,74
71	204,7	1,83			

Quadro 4: Parâmetros de qualidade das amostras sequenciadas.

Amostra	Q30 (%)	Média de profundidade (x)	Porcentagem de alvos com profundidade de pelo menos 20x (%)	Porcentagem de alvos com profundidade de pelo menos 50x (%)
1	90,8	1123,8	99,9	99,7
2	89,4	354,2	99,5	98,1
3	92,8	368,7	99,7	98,8
4	93,9	352,2	99,4	98,3

Continua...

Continuação...

Amostra	Q30 (%)	Média de profundidade (x)	Porcentagem de alvos com profundidade de pelo menos 20x (%)	Porcentagem de alvos com profundidade de pelo menos 50x (%)
5	94,2	568,0	99,8	99,1
6	93,4	531,5	99,6	98,9
7	95,0	371,1	99,5	98,1
8	93,2	506,5	99,7	98,9
9	94,2	453,3	99,6	98,9
10	93,1	503,1	99,7	99,0
11	92,9	686,1	99,6	98,6
12	92,3	629,2	99,2	97,9
13	79,0	511,4	99,4	98,1
14	80,7	782,4	99,7	99,0
15	78,1	583,2	99,5	98,4
16	78,7	361,8	99,1	96,8
17	84,1	304,1	87,7	79,1
18	80,9	563,3	99,5	98,3
19	80,8	531,3	99,5	98,1
20	82,7	441,1	99,3	97,4
21	83,8	751,3	99,9	99,3
22	81,4	765,0	99,8	99,1
23	82,1	424,5	99,2	97,2
24	77,4	369,6	99,1	96,9
25	88,0	246,6	97,2	92,6
26	86,3	613,0	99,3	98,1
27	85,1	586,3	99,4	98,3
28	82,7	375,6	98,6	96,3
29	87,3	625,3	99,5	98,3
30	88,2	672,4	99,5	98,5
31	88,8	498,3	99,0	97,3
32	87,5	783,3	99,6	98,7
33	89,4	497,6	99,2	97,4
34	86,0	1051,8	99,7	99,0
35	89,0	613,8	99,4	98,3
36	85,8	975,0	99,9	99,5
37	85,6	801,4	99,8	99,4
38	84,7	673,1	99,7	99,3
39	83,4	630,4	99,7	99,0
40	79,0	557,9	99,7	99,1
41	85,3	727,8	99,8	99,4
42	87,1	705,5	99,8	99,3
43	87,3	715,8	99,8	99,4
44	86,4	723,2	99,8	99,4
45	88,2	699,2	99,8	99,2
46	86,2	685,5	99,8	99,3

Continua...

Continuação...

Amostra	Q30 (%)	Média de profundidade (x)	Porcentagem de alvos com profundidade de pelo menos 20x (%)	Porcentagem de alvos com profundidade de pelo menos 50x (%)
47	87,6	672,1	99,8	99,2
48	85,7	975,9	99,9	99,5
49	93,2	426,2	99,1	97,8
50	93,1	373,8	99,0	97,6
51	91,8	335,4	98,8	97,1
52	93,7	348,5	99,0	97,3
53	92,7	234,9	98,8	96,2
54	93,6	376,9	99,0	97,5
55	93,4	369,5	99,0	97,2
56	93,2	441,8	99,1	97,9
57	93,6	317,3	98,8	97,0
58	93,0	325,4	98,8	96,9
59	93,4	366,2	98,9	97,5
60	93,0	409,9	99,1	97,8
61	91,9	416,6	98,5	96,7
62	92,2	356,6	98,5	96,7
63	90,8	422,3	98,8	97,2
64	92,9	418,6	98,5	96,9
65	92,8	387,8	98,7	96,9
66	92,9	400,6	98,8	97,2
67	92,0	408,4	98,7	97,0
68	92,8	258,4	98,1	95,3
69	92,0	382,7	98,4	96,5
70	92,7	392,3	99,4	98,2
71	94,3	369,4	98,9	97,4
72	93,6	422,4	99,1	97,9
73	93,7	286,5	98,6	96,7
74	93,9	245,2	98,5	96,0
75	93,6	367,6	99,1	97,6
76	94,2	238,6	98,3	95,8
77	93,5	376,7	98,9	97,4
78	92,9	274,2	98,7	96,3
79	94,4	402,5	98,4	96,3
80	94,2	275,0	97,6	94,1
81	92,8	291,8	97,8	94,6
82	95,0	288,8	97,7	94,2
83	95,3	435,1	98,7	96,6
84	94,7	270,2	97,6	93,9
85	94,9	329,1	98,1	95,1
86	94,2	388,2	98,4	96,0
87	95,2	279,4	97,7	94,3

Continua...

Continuação...

Amostra	Q30 (%)	Média de profundidade (x)	Porcentagem de alvos com profundidade de pelo menos 20x (%)	Porcentagem de alvos com profundidade de pelo menos 50x (%)
88	94,4	357,9	98,1	95,4
89	94,5	280,6	97,7	93,8
90	94,2	330,6	98,0	95,1
91	91,8	460,2	98,7	97,1
92	91,9	524,4	99,0	97,5
93	89,9	430,6	98,7	97,0
94	93,6	572,5	99,0	97,7
95	94,4	944,6	99,3	98,3
96	93,0	365,0	98,5	96,6
97	93,3	715,2	99,2	98,2
98	90,7	491,4	99,0	97,6
99	93,3	409,6	98,8	97,1
100	92,6	498,5	99,0	97,7
101	93,7	477,3	98,9	97,5
102	92,2	502,8	99,0	97,6
103	91,5	432,5	96,7	91,9
104	90,9	256,4	95,4	89,3
105	88,0	254,9	95,4	89,5
106	93,6	248,9	95,3	88,8
107	93,9	186,9	94,2	85,8
108	92,6	233,9	95,6	89,5
109	94,0	579,3	94,3	87,4
110	86,4	147,4	91,8	79,9
111	93,2	151,6	93,2	81,7
112	91,5	205,7	94,4	86,5
113	92,7	301,6	96,6	92,0
114	90,5	236,8	95,9	90,1
115	92,3	391,5	97,9	95,1
116	91,9	366,9	97,8	94,9
117	90,4	556,6	98,6	96,8
118	94,0	534,0	98,6	96,7
119	94,0	565,9	98,5	96,8
120	93,1	356,6	97,7	94,6
121	93,3	502,6	98,3	96,0
122	91,4	488,9	98,3	96,1
123	93,3	364,6	97,8	94,8
124	92,4	420,8	98,1	95,6
125	92,6	495,2	99,2	97,7
126	89,9	438,8	98,2	95,8
127	93,1	371,1	97,9	94,9
128	92,9	303,4	98,2	94,9
129	94,4	371,7	97,9	95,0

Continua...

Continuação...

Amostra	Q30 (%)	Média de profundidade (x)	Porcentagem de alvos com profundidade de pelo menos 20x (%)	Porcentagem de alvos com profundidade de pelo menos 50x (%)
130	94,4	377,4	97,8	95,0
131	94,0	363,2	98,3	95,6
132	94,5	447,5	99,1	97,3
133	91,9	326,2	98,7	95,9
134	94,2	263,3	97,1	92,6
135	93,4	356,6	97,9	95,2
136	93,2	357,4	98,2	95,2
137	90,4	328,6	98,5	95,6
138	91,0	396,8	98,1	95,5
139	93,1	393,2	99,2	97,9
140	91,2	209,4	97,9	94,6
141	94,2	399,2	99,5	98,7

Legenda: Q30 - chance de erro de 1 em 1000 (Valores de qualidade phred) de uma base ter sido inserida errada; x - vezes.

G. Variantes identificadas no estudo

Quadro 5: Lista das 472 variantes identificadas no estudo.

Gene	Sequência Referência: troca nucleotídica	Sequência Referência: troca proteica	Chr	Posição Chr	Tipo	rs
ABCA1	NM_005502.3: c.*96T>C	-	9	107546500	3'UTR	rs74316246
ABCA1	NM_005502.3: c.4022G>C	NP_005493.2: p.Arg1341Thr	9	107574883	Missense	rs147743782
ABCA1	NM_005502.3: c.*3220A>G	-	9	107543376	3'UTR	rs10991377
ABCA1	NM_005502.3: c.*2705G>A	-	9	107543891	3'UTR	rs75141626
ABCA1	NM_005502.3: c.688C>T	NP_005493.2: p.Arg230Cys	9	107620835	Missense	rs9282541
ABCA1	NM_005502.3: c.3763A>C	NP_005493.2: p.Ser1255Arg	9	107576732	Missense	rs41436749
ABCA1	NM_005502.3: c.-279C>G	-	9	107690402	5'UTR	rs111292742
ABCA1	NM_005502.3: c.3881A>G	NP_005493.2: p.Asn1294Ser	9	107576419	Missense	-
ABCA1	NM_005502.3: c.*342G>T	-	9	107546254	3'UTR	rs146987516
ABCB1	NM_000927.4: c.-1A>G	-	7	87229501	5'UTR	rs2214102
ABCB1	NM_000927.4: c.61A>G	NP_000918.2: p.Asn21Asp	7	87229440	Missense	rs9282564
ABCB1	NM_000927.4: c.*146G>A	-	7	87133413	3'UTR	rs28364277
ABCB1	NM_000927.4: c.1199G>A	NP_000918.2: p.Ser400Asn	7	87179809	Missense	rs2229109
ABCB1	NM_000927.4: c.2006G>A	NP_000918.2: p.Arg669His	7	87174197	Missense	rs146703713
ABCB1	NM_000927.4: c.3320A>C	NP_000918.2: p.Gln1107Pro	7	87138760	Missense	rs55852620
ABCB1	NM_000927.4: c.3421T>A	NP_000918.2: p.Ser1141Thr	7	87138659	Missense	rs2229107
ABCB1	NM_000927.4: c.781A>G	NP_000918.2: p.Ile261Val	7	87190625	Missense	rs36008564
ABCB1	NM_000927.4: c.2005C>A	NP_000918.2: p.Arg669Cys	7	87174198	Missense	rs35023033
ABCB1	NM_000927.4: c.-440T>C	-	7	87342586	5'UTR	rs3747802
ABCB1	NM_000927.4: c.*21T>C	-	7	87133538	3'UTR	rs28364275
ABCG5	NM_022436.2: c.*399C>T	-	2	44039856	3'UTR	rs79475203
ABCG5	NM_022436.2: c.785A>G	NP_071881.1: p.Lys262Arg	2	44052147	Missense	rs78070897
ABCG5	NM_022436.2: c.1864A>G	NP_071881.1: p.Met622Val	2	44040347	Missense	rs140374206
ABCG5	NM_022436.2: c.*176G>A	-	2	44040079	3'UTR	-
ABCG5	NM_022436.2: c.139G>T	NP_071881.1: p.Val47Phe	2	44065680	Missense	rs72542426

Continua...

Continuação...

Gene	Sequência Referência: troca nucleotídica	Sequência Referência: troca proteica	Chr	Posição Chr	Tipo	rs
ABCG8	NM_022437.2: c.1093A>G	NP_071882.1: p.Thr365Ala	2	44099243	Missense	rs114404835
ABCG8	NM_022437.2: c.239G>A	NP_071882.1: p.Cys80Tyr	2	44073367	Missense	rs80025980
ABCG8	NM_022437.2: c.628G>A	NP_071882.1: p.Val210Met	2	44079559	Missense	rs9282574
ABCG8	NM_022437.2: c.-15A>C	-	2	44066178	5'UTR	rs72647315
ADD1	NM_014189.3: c.1675G>A	NP_054908.2: p.Val559Met	4	2910308	Missense	rs146536048
ADD1	NM_014189.3: c.*993T>C	-	4	2931243	3'UTR	rs35640772
ADD1	NM_014189.3: c.*614C>T	-	4	2930864	3'UTR	rs4966
ADD1	NM_014189.3: c.*930T>C	-	4	2931180	3'UTR	rs36038921
ADD1	NM_014189.3: c.*947A>G	-	4	2931197	3'UTR	rs4741
ADD1	NM_014189.3: c.*1097A>G	-	4	2931347	3'UTR	rs4969
ADD1	NM_014189.3: c.-94G>A	-	4	2845678	5'UTR	rs4960
ADD1	NM_014189.3: c.*942A>T	-	4	2931192	3'UTR	rs34819539
ADD1	NM_014189.3: c.-81A>C	-	4	2845691	5'UTR	-
ADD1	NM_014189.3: c.*626G>A	-	4	2930876	3'UTR	rs138194142
ADD1	NM_014189.3: c.*940C>T	-	4	2931190	3'UTR	rs4968
ADIPOQ	NM_004797.3: c.*149G>A	-	3	186572642	3'UTR	rs1501298
ADIPOQ	NM_004797.3: c.*1789C>T	-	3	186574282	3'UTR	rs35469083
ADIPOQ	NM_004797.3: c.*2989A>T	-	3	186575482	3'UTR	rs9842733
ADIPOQ	NM_004797.3: c.*2163A>T	-	3	186574656	3'UTR	rs57536070
ADIPOQ	NM_004797.3: c.*2937G>A	-	3	186575430	3'UTR	rs73187705
ADIPOQ	NM_004797.3: c.*1596G>T	-	3	186574089	3'UTR	rs17846872
ADIPOQ	NM_004797.3: c.331T>C	NP_004788.1: p.Tyr111His	3	186572089	Missense	rs17366743
ADIPOQ	NM_004797.3: c.268G>A	NP_004788.1: p.Gly90Ser	3	186572026	Missense	rs62625753
AGT	NM_000029.3: c.1174C>A	NP_000020.1: p.Leu392Met	1	230840034	Missense	rs1805090
AGT	NM_000029.3: c.-423G>A	-	1	230850251	5'UTR	rs5047
AGT	NM_000029.3: c.842A>G	NP_000020.1: p.Tyr281Cys	1	230845755	Missense	rs56073403
AGT	NM_000029.3: c.*514G>A	-	1	230838373	3'UTR	-

Continua...

Continuação...

Gene	Sequência Referência: troca nucleotídica	Sequência Referência: troca proteica	Chr	Posição Chr	Tipo	rs
AGT	NM_000029.3: c.-190G>A	-	1	230850018	5'UTR	rs11568020
AGT	NM_000029.3: c.292G>A	NP_000020.1: p.Glu98Lys	1	230846305	Missense	rs11568032
AGT	NM_000029.3: c.*158C>G	-	1	230838729	3'UTR	rs4753
AGT	NM_000029.3: c.*415G>T	-	1	230838472	3'UTR	rs147825478
AGT	NM_000029.3: c.-506C>T	-	1	230850334	5'UTR	rs61757164
AGT	NM_000029.3: c.*167T>C	-	1	230838720	3'UTR	rs5043
AGT	NM_000029.3: c.*40C>T	-	1	230838847	3'UTR	rs5042
AGT	NM_000029.3: c.*423T>G	-	1	230838464	3'UTR	rs5044
AGT	NM_000029.3: c.1154T>C	NP_000020.1: p.Val385Ala	1	230840054	Missense	rs61731499
AGT	NM_000029.3: c.5G>A	NP_000020.1: p.Arg2Gln	1	230846592	Missense	rs61731498
ALOX5AP	NM_001204406.1: c.-52T>C	-	13	31287811	5'UTR	rs9508825
ALOX5AP	NM_001204406.1: c.-127C>A	-	13	31287736	5'UTR	rs59424095
ALOX5AP	NM_001204406.1: c.523A>G	NP_001191335.1: p.Ile175Val	13	31338109	Missense	rs141412081
ALOX5AP	NM_001204406.1: c.-82T>G	-	13	31287781	5'UTR	rs183339722
ALOX5AP	NM_001204406.1: c.148C>T	NP_001191335.1: p.Leu50Phe	13	31309719	Missense	rs17245407
APOA4	NM_000482.3: c.791G>T	NP_000473.2: p.Arg264Leu	11	116691983	Missense	rs2238008
APOA4	NM_000482.3: c.1140G>T	NP_000473.2: p.Gln380His	11	116691634	Missense	rs5110
APOA4	NM_000482.3: c.598C>T	NP_000473.2: p.Arg200Cys	11	116692176	Missense	rs142050734
APOA4	NM_000482.3: c.-98G>A	-	11	116694005	5'UTR	rs5091
APOA4	NM_000482.3: c.37G>A	NP_000473.2: p.Val13Met	11	116693871	Missense	rs12721041
APOA4	NM_000482.3: c.481G>T	NP_000473.2: p.Ala161Ser	11	116692293	Missense	rs12721043
APOA4	NM_000482.3: c.1057T>G	NP_000473.2: p.Ser353Ala	11	116691717	Missense	rs146353487
APOA4	NM_000482.3: c.*11G>C	-	11	116691572	3'UTR	-
APOA4	NM_000482.3: c.533C>T	NP_000473.2: p.Ser178Leu	11	116692241	Missense	-
APOA5	NM_052968.4: c.*17G>A	-	11	116660827	3'UTR	-
APOA5	NM_052968.4: c.56C>G	NP_443200.2: p.Ser19Trp	11	116662407	Missense	rs3135506
APOA5	NM_052968.4: c.*59C>A	-	11	116660785	3'UTR	rs192708363

Continua...

Continuação...

Gene	Sequência Referência: troca nucleotídica	Sequência Referência: troca proteica	Chr	Posição Chr	Tipo	rs
APOA5	NM_052968.4: c.*172C>T	-	11	116660672	3'UTR	rs114627122
APOA5	NM_052968.4: c.111C>A	NP_443200.2: p.Asp37	11	116662352	Missense	rs34282181
APOA5	NM_052968.4: c.553G>T	NP_443200.2: p.Gly185Ser	11	116661392	Missense	rs2075291
APOA5	NM_052968.4: c.-52C>T	-	11	116663115	5'UTR	rs186726407
APOB	NM_000384.2: c.13451C>T	NP_000375.2: p.Thr4484Met	2	21224843	Missense	rs12713450
APOB	NM_000384.2: c.9835A>G	NP_000375.2: p.Ser3279Gly	2	21229905	Missense	rs12720854
APOB	NM_000384.2: c.1661C>T	NP_000375.2: p.Pro554Leu	2	21251367	Missense	rs12714214
APOB	NM_000384.2: c.12794T>C	NP_000375.2: p.Val4265Ala	2	21225500	Missense	rs61743502
APOB	NM_000384.2: c.10913G>A	NP_000375.2: p.Arg3638Gln	2	21228827	Missense	rs1801701
APOB	NM_000384.2: c.6937A>G	NP_000375.2: p.Ile2313Val	2	21232803	Missense	rs584542
APOB	NM_000384.2: c.3634C>A	NP_000375.2: p.Leu1212Met	2	21238007	Missense	rs61736761
APOB	NM_000384.2: c.10294C>G	NP_000375.2: p.Gln3432Glu	2	21229446	Missense	rs1042023
APOB	NM_000384.2: c.8353A>C	NP_000375.2: p.Asn2785His	2	21231387	Missense	rs2163204
APOB	NM_000384.2: c.6895G>C	NP_000375.2: p.Asp2299His	2	21232845	Missense	rs12713681
APOB	NM_000384.2: c.*180G>T	-	2	21224422	3'UTR	rs12720763
APOB	NM_000384.2: c.607A>G	NP_000375.2: p.Ile203Val	2	21260058	Missense	rs72653059
APOB	NM_000384.2: c.*11G>T	-	2	21224591	3'UTR	rs72654428
APOB	NM_000384.2: c.1223T>C	NP_000375.2: p.Ile408Thr	2	21255355	Missense	rs12714225
APOB	NM_000384.2: c.-115C>G	-	2	21266932	5'UTR	rs1800480
APOB	NM_000384.2: c.2188G>A	NP_000375.2: p.Val730Ile	2	21249716	Missense	rs12691202
APOB	NM_000384.2: c.7367C>A	NP_000375.2: p.Ala2456Asp	2	21232373	Missense	rs12713675
APOB	NM_000384.2: c.2222C>A	NP_000375.2: p.Thr741Asn	2	21249682	Missense	rs12714192
APOB	NM_000384.2: c.9880T>C	NP_000375.2: p.Ser3294Pro	2	21229860	Missense	rs12720855
APOB	NM_000384.2: c.12697T>A	NP_000375.2: p.Ser4233Thr	2	21225597	Missense	rs61743299
APOB	NM_000384.2: c.433C>T	NP_000375.2: p.Pro145Ser	2	21260934	Missense	433C>T
APOB	NM_000384.2: c.5743G>A	NP_000375.2: p.Gly1915Arg	2	21233997	Missense	-
APOB	NM_000384.2: c.12382G>A	NP_000375.2: p.Val4128Met	2	21225912	Missense	rs1801703

Continua...

Continuação...

Gene	Sequência Referência: troca nucleotídica	Sequência Referência: troca proteica	Chr	Posição Chr	Tipo	rs
APOB	NM_000384.2: c.12766G>A	NP_000375.2: p.Glu4256Lys	2	21225528	Missense	rs61743313
APOB	NM_000384.2: c.5768A>G	NP_000375.2: p.His1923Arg	2	21233972	Missense	rs533617
APOB	NM_000384.2: c.2630C>T	NP_000375.2: p.Pro877Leu	2	21245889	Missense	rs12714097
APOB	NM_000384.2: c.13441G>A	NP_000375.2: p.Ala4481Thr	2	21224853	Missense	rs1801695
APOB	NM_000384.2: c.10061C>G	NP_000375.2: p.Ala3354Gly	2	21229679	Missense	rs61742331
APOB	NM_000384.2: c.10780T>C	NP_000375.2: p.Trp3594Arg	2	21228960	Missense	rs61744288
APOB	NM_000384.2: c.2950G>A	NP_000375.2: p.Ala984Thr	2	21242644	Missense	-
APOB	NM_000384.2: c.2981C>T	NP_000375.2: p.Pro994Leu	2	21242613	Missense	rs41288783
APOB	NM_000384.2: c.12940A>G	NP_000375.2: p.Ile4314Val	2	21225354	Missense	rs72654423
APOB	NM_000384.2: c.5741A>G	NP_000375.2: p.Asn1914Ser	2	21233999	Missense	rs1801699
APOB	NM_000384.2: c.11401T>A	NP_000375.2: p.Ser3801Thr	2	21228339	Missense	rs12713540
APOB	NM_000384.2: c.4187T>C	NP_000375.2: p.Val1396Ala	2	21236061	Missense	rs144034290
APOB	NM_000384.2: c.*229A>G	-	2	21224373	3’UTR	rs72654430
APOB	NM_000384.2: c.6125T>C	NP_000375.2: p.Met2042Thr	2	21233615	Missense	rs371224295
APOC1	NM_001645.3: c.*74T>G	-	19	45422561	3’UTR	rs1064725
APOC1	NM_001645.4: c.48C>G	NP_001636.1: p.Ile16Met	19	45418196	Missense	rs72654453
APOC1	NM_001645.4: c.*100A>G	-	19	45422587	3’UTR	rs12721054
APOC2	NM_000483.4: c.*204C>A	-	19	45452710	3’UTR	-
APOC2	NM_000483.4: c.*90C>T	-	19	45452596	3’UTR	rs7253690
APOC3	NM_000040.1: c.-30A>T	-	11	116700640	5’UTR	-
APOC4	NM_001646.2: c.-29A>G	-	19	45445506	5’UTR	rs76214972
APOC4	NM_001646.2: c.-18G>A	-	19	45445517	5’UTR	rs79429216
APOC4	NM_001646.2: c.*130G>A	-	19	45448692	3’UTR	rs12709884
APOC4	NM_001646.2: c.*133G>A	-	19	45448695	3’UTR	rs10425530
APOE	NM_000041.2: c.487C>T	NP_000032.1: p.Arg163Cys	19	45412040	Missense	rs769455
APOE	NM_000041.2: c.683G>A	NP_000032.1: p.Trp228Ter	19	45412236	Ccódon de parada	rs121918396
CETP	NM_000078.2: c.460C>T	NP_000069.2: p.Arg154Trp	16	57003846	Missense	rs34716057

Continua...

Continuação...

Gene	Sequência Referência: troca nucleotídica	Sequência Referência: troca proteica	Chr	Posição Chr	Tipo	rs
CETP	NM_000078.2: c.1403G>A	NP_000069.2: p.Arg468Gln	16	57017319	Missense	rs1800777
CETP	NM_000078.2: c.1168G>C	NP_000069.2: p.Ala390Pro	16	57015091	Missense	rs5880
CETP	NM_000078.2: c.44C>G	NP_000069.2: p.Ala15Gly	16	56995935	Missense	rs34065661
CLMN	NM_024734.3: c.2888C>T	NP_079010.2: p.Pro963Leu	14	95658022	Missense	rs10149705
CLMN	NM_024734.3: c.*3160T>C	-	14	95654741	3'UTR	rs13379182
CLMN	NM_024734.3: c.*1405A>G	-	14	95656496	3'UTR	rs28707051
CLMN	NM_024734.3: c.*1025C>G	-	14	95656876	3'UTR	rs73333229
CLMN	NM_024734.3: c.*5293C>T	-	14	95652608	3'UTR	rs74079240
CLMN	NM_024734.3: c.*5635T>C	-	14	95652266	3'UTR	rs114567749
CLMN	NM_024734.3: c.*1773G>A	-	14	95656128	3'UTR	rs116472671
CLMN	NM_024734.3: c.*3047A>G	-	14	95654854	3'UTR	rs116779805
CLMN	NM_024734.3: c.2698A>T	NP_079010.2: p.Ile900Phe	14	95662845	Missense	rs61750771
CLMN	NM_024734.3: c.*2956T>C	-	14	95654945	3'UTR	rs7155470
CLMN	NM_024734.3: c.*2992A>G	-	14	95654909	3'UTR	rs7156866
CLMN	NM_024734.3: c.*90C>T	-	14	95657811	3'UTR	rs114588605
CLMN	NM_024734.3: c.*3846C>T	-	14	95654055	3'UTR	rs149311951
CLMN	NM_024734.3: c.*6514C>A	-	14	95651387	3'UTR	-
CLMN	NM_024734.3: c.*6460A>T	-	14	95651441	3'UTR	-
CLMN	NM_024734.3: c.*4201A>C	-	14	95653700	3'UTR	rs116794212
CLMN	NM_024734.3: c.*5032C>T	-	14	95652869	3'UTR	rs137926224
CLMN	NM_024734.3: c.*5989G>A	-	14	95651912	3'UTR	rs142407833
CLMN	NM_024734.3: c.*6283G>A	-	14	95651618	3'UTR	rs8020060
CLMN	NM_024734.3: c.*5109G>A	-	14	95652792	3'UTR	-
CLMN	NM_024734.3: c.1465G>T	NP_079010.2: p.Val489Phe	14	95670221	Missense	rs116654567
CLMN	NM_024734.3: c.*5194C>A	-	14	95652707	3'UTR	rs112366105
CLMN	NM_024734.3: c.*505G>A	-	14	95657396	3'UTR	rs143029831
CLMN	NM_024734.3: c.*3226C>T	-	14	95654675	3'UTR	rs143612295

Continua...

Continuação...

Gene	Sequência Referência: troca nucleotídica	Sequência Referência: troca proteica	Chr	Posição Chr	Tipo	rs
CLMN	NM_024734.3: c.*3121T>C	-	14	95654780	3'UTR	rs7155222
CLMN	NM_024734.3: c.*5174C>G	-	14	95652727	3'UTR	rs61976556
CLMN	NM_024734.3: c.2783A>G	NP_079010.2: p.Tyr928Cys	14	95660243	Missense	rs148831726
CLMN	NM_024734.3: c.*1218C>T	-	14	95656683	3'UTR	rs74777248
CLMN	NM_024734.3: c.*5035G>A	-	14	95652866	3'UTR	rs75063901
CLMN	NM_024734.3: c.*2795G>T	-	14	95655106	3'UTR	-
CLMN	NM_024734.3: c.*1075G>T	-	14	95656826	3'UTR	-
CLMN	NM_024734.3: c.*5033G>A	-	14	95652868	3'UTR	-
CLMN	NM_024734.3: c.*8832C>T	-	14	95649069	3'UTR	rs55869249
CLMN	NM_024734.3: c.*9223G>C	-	14	95648678	3'UTR	rs56817762
CLMN	NM_024734.3: c.*8516A>C	-	14	95649385	3'UTR	rs7157746
CLMN	NM_024734.3: c.*9128T>C	-	14	95648773	3'UTR	rs111596735
CLMN	NM_024734.3: c.*3810C>G	-	14	95654091	3'UTR	rs75541050
CLMN	NM_024734.3: c.*985A>G	-	14	95656916	3'UTR	rs56119341
CLMN	NM_024734.3: c.1069G>A	NP_079010.2: p.Glu357Lys	14	95670617	Missense	rs35010297
CLMN	NM_024734.3: c.*143T>G	-	14	95657758	3'UTR	rs74079247
CLMN	NM_024734.3: c.*4716T>C	-	14	95653185	3'UTR	-
COQ10A	NM_144576.3: c.3G>T	NP_653177.3: p.Met1?	12	56660905	Códon de iniciação	rs60542959
COQ10A	NM_144576.3: c.*130C>T	-	12	56664231	3'UTR	rs77131854
COQ10A	NM_144576.3: c.*332T>C	-	12	56664433	3'UTR	rs74603322
COQ10A	NM_144576.3: c.-44C>T	-	12	56660859	5'UTR	-
COQ10A	NM_144576.3: c.-210A>G	-	12	56660693	5'UTR	rs1274498
CRABP2	NM_001878.3: c.*46T>C	-	1	156669772	3'UTR	rs150325179
CRABP2	NM_001878.3: c.*72C>T	-	1	156669746	3'UTR	rs140053989
CRABP2	NM_001878.3: c.*92G>C	-	1	156669726	3'UTR	rs114386049
CRABP2	NM_001878.3: c.-324G>T	-	1	156675562	5'UTR	rs116587898
CYP2C9	NM_000771.3: c.449G>A	NP_000762.2: p.Arg150His	10	96702066	Missense	rs7900194

Continua...

Continuação...

Gene	Sequência Referência: troca nucleotídica	Sequência Referência: troca proteica	Chr	Posição Chr	Tipo	rs
CYP2C9	NM_000771.3: c.*88C>T	-	10	96748873	3'UTR	rs9332241
CYP2C9	NM_000771.3: c.752A>G	NP_000762.2: p.His251Arg	10	96708974	Missense	rs2256871
CYP2C9	NM_000771.3: c.1075A>C	NP_000762.2: p.Ile359Leu	10	96741053	Missense	rs1057910
CYP2C9	NM_000771.3: c.1003C>T	NP_000762.2: p.Arg335Trp	10	96740981	Missense	rs28371685
CYP2C9	NM_000771.3: c.980T>C	NP_000762.2: p.Ile327Thr	10	96740958	Missense	rs57505750
CYP2C9	NM_000771.3: c.13G>T	NP_000762.2: p.Val5Leu	10	96698452	Missense	-
CYP3A4	NM_017460.5: c.*948A>T	-	7	99354808	3'UTR	rs28371763
CYP3A4	NM_017460.5: c.*683C>T	-	7	99355073	3'UTR	rs28988604
CYP3A4	NM_017460.5: c.*329C>T	-	7	99355427	3'UTR	rs12721631
CYP3A4	NM_017460.5: c.485G>A	NP_059488.2: p.Arg162Gln	7	99367427	Missense	rs4986907
CYP3A5	NM_000777.3: c.88C>T	NP_000768.1: p.His30Tyr	7	99273815	Missense	rs28383468
CYP3A5	NM_000777.3: c.299C>A	NP_000768.1: p.Ser100Tyr	7	99270222	Missense	rs41279857
CYP3A5	NM_000777.3: c.-74C>T	-	7	99277593	5'UTR	rs28371764
CYP3A5	NM_000777.4: c.318+802T>G	NP_001177413.1: p.Leu140Arg	7	99269401	Missense	rs6957030
ANGPTL3	NM_014495.2: c.*116T>C	-	1	63070604	3'UTR	-
ANGPTL3	NM_014495.2: c.776T>C	NP_055310.1: p.Met259Thr	1	63067494	Missense	rs77871363
ANGPTL3	NM_014495.2: c.*620C>T	-	1	63071108	3'UTR	-
ANGPTL3	NM_014495.2: c.*293C>T	-	1	63070781	3'UTR	-
EGFR	NM_005228.3: c.3485G>A	NP_005219.2: p.Ser1162Asn	7	55273162	Missense	rs41321844
EGFR	NM_005228.3: c.1936A>C	NP_005219.2: p.Ile646Leu	7	55240692	Missense	rs140516819
EGFR	NM_005228.3: c.*35C>T	-	7	55273345	3'UTR	rs17290755
EGFR	NM_005228.3: c.3629C>T	NP_005219.2: p.Ala1210Val	7	55273306	Missense	rs35918369
EGFR	NM_005228.3: c.1881-600G>A	-	7	55238268	3'UTR	rs10228436
EGFR	NM_005228.3: c.1881-488A>G	-	7	55238380	3'UTR	rs17336995
EGFR	NM_005228.3: c.1881-615G>T	-	7	55238253	3'UTR	rs17290225
EGFR	NM_005228.3: c.1788G>T	NP_005219.2: p.Pro596	7	48761397	Missense	rs17290162
EGFR	NM_005228.3: c.1881-641C>T	NP_958441.1: p.Ser703Phe	7	55238227	Missense	rs10258568

Continua...

Continuação...

Gene	Sequência Referência: troca nucleotídica	Sequência Referência: troca proteica	Chr	Posição Chr	Tipo	rs
EGFR	NM_005228.3: c.*1070T>C	-	7	55274380	3'UTR	rs41486949
EGFR	NM_005228.3: c.*137G>A	-	7	55273447	3'UTR	rs17337528
EGFR	NM_005228.3: c.2963A>C	NP_005219.2: p.His988Pro	7	55268897	Missense	rs17290699
EPHX2	NM_001979.5: c.1237G>A	NP_001970.2: p.Asp413Asn	8	27394367	Missense	rs145160595
EPHX2	NM_001979.5: c.1636G>C	NP_001970.2: p.Ala546Pro	8	27402007	Missense	rs147425478
EPHX2	NM_001979.5: c.-172C>T	-	8	27348554	5'UTR	rs115318000
EPHX2	NM_001979.5: c.*214G>A	-	8	27402253	3'UTR	rs56187906
EPHX2	NM_001979.5: c.-53C>T	-	8	27348673	5'UTR	rs75302548
EPHX2	NM_001979.5: c.307C>T	NP_001970.2: p.Arg103Cys	8	27361241	Missense	rs17057255
EPHX2	NM_001979.5: c.-100G>T	-	8	27348626	5'UTR	rs72473929
EPHX2	NM_001979.5: c.154C>T	-	8	27358495	Missense	rs139234214
F7	NM_000131.4: c.599T>G	NP_000122.1: p.Ile200Ser	13	113771107	Missense	rs141219108
F7	NM_000131.4: c.*1240C>G	-	13	113774562	3'UTR	rs3093256
F7	NM_000131.4: c.*1649G>A	-	13	113774971	3'UTR	rs3093259
F7	NM_000131.4: c.*533A>C	-	13	113773855	3'UTR	rs116688254
F7	NM_000131.4: c.*673A>G	-	13	113773995	3'UTR	rs3093251
F7	NM_000131.4: c.*1146A>G	-	13	113774468	3'UTR	rs3093255
F7	NM_000131.4: c.*620C>T	-	13	113773942	3'UTR	rs151109093
F7	NM_000131.4: c.*639G>A	-	13	113773961	3'UTR	rs3093250
F7	NM_000131.4: c.*1275A>G	-	13	113774597	3'UTR	rs3093257
F7	NM_000131.4: c.*658C>T	-	13	113773980	3'UTR	rs141116208
F7	NM_000131.4: c.*680G>C	-	13	113774002	3'UTR	rs145837821
F7	NM_000131.4: c.1333G>A	NP_000122.1: p.Glu445Lys	13	113773254	Missense	rs3093248
GHR	NM_001242399.2: c.*692C>A	-	5	42720218	3'UTR	rs17839373
GHR	NM_001242399.2: c.*781T>A	-	5	42720307	3'UTR	rs17839374
GHR	NM_001242399.2: c.*1790G>A	-	5	42721316	3'UTR	rs2973016
GHR	NM_001242399.2: c.1340G>T	NP_001229328.1: p.Cys447Phe	5	42718928	Missense	rs6182

Continua...

Continuação...

Gene	Sequência Referência: troca nucleotídica	Sequência Referência: troca proteica	Chr	Posição Chr	Tipo	rs
GHR	NM_001242399.2: c.1756C>A	NP_001229328.1: p.Pro586Thr	5	42719344	Missense	rs6184
GHR	NM_001242399.2: c.227C>T	NP_001229328.1: p.Thr76Ile	5	42689061	Missense	rs75028043
GHR	NM_001242399.2: c.*1770G>C	-	5	42721296	3'UTR	rs144561552
GHR	NM_001242399.2: c.739T>C	NP_001229328.1: p.Tyr247His	5	42711408	Missense	rs143814221
GHR	NM_001242399.2: c.*364C>T	-	5	42719890	3'UTR	rs34929920
GHR	NM_001242399.2: c.*1611G>A	-	5	42721137	3'UTR	
GHR	NM_001242399.2: c.*1934T>C	-	5	42721460	3'UTR	rs62372049
GHR	NM_001242399.2: c.707G>A	NP_001229328.1: p.Arg236His	5	42711376	Missense	rs6177
GHR	NM_001242399.2: c.*36A>T	-	5	42719562	3'UTR	rs376523421
GHR	NM_001242399.2: c.556C>T	NP_001229328.1: p.Arg186Cys	5	42700021	Missense	rs121909362
GHR	NM_001242399.2: c.*2292A>G	-	5	42721818	3'UTR	rs35415717
GHR	NM_001242399.2: c.989A>G	NP_001229328.1: p.Asn330Ser	5	42718577	Missense	rs61758977
GHR	NM_001242399.2: c.-98C>A	-	5	42424593	5'UTR	rs141219916
HMGCR	NM_000859.2: c.*1106A>G	-	5	74657273	3'UTR	-
HMGCR	NM_000859.2: c.*1485C>G	-	5	74657652	3'UTR	rs17238554
HMGCR	NM_000859.2: c.1912A>G	NP_000850.1: p.Ile638Val	5	74652199	Missense	rs5908
HMGCR	NM_000859.2: c.*34T>C	-	5	74656201	3'UTR	rs377093901
HMGCR	NM_000859.2: c.*497T>C	-	5	74656664	3'UTR	rs17244932
HMGCR	NM_000859.2: c.-68T>	-	5	74633081	5'UTR	rs17244722
HMGCR	NM_000859.2: c.*238A>G	-	5	74656405	3'UTR	rs113929238
IL10	NM_000572.2: c.*761C>T	-	1	206941220	3'UTR	rs6687786
IL10	NM_000572.2: c.*518G>A	-	1	206941463	3'UTR	rs6697497
IL10	NM_000572.2: c.43G>A	NP_000563.1: p.Gly15Arg	1	206945738	Missense	rs145922845
IL10	NM_000572.2: c.*952A>G	-	1	206941029	3'UTR	rs3024499
IL10	NM_000572.2: c.*15G>C	-	1	206941966	3'UTR	rs45588933
IL6	NM_000600.3: c.486T>A	NP_000591.1: p.Asp162Glu	7	22771039	Missense	rs13306435
IL6	NM_000600.3: c.94C>T	NP_000591.1: p.Pro32Ser	7	22767137	Missense	rs2069830

Continua...

Continuação...

Gene	Sequência Referência: troca nucleotídica	Sequência Referência: troca proteica	Chr	Posição Chr	Tipo	rs
IL6	NM_000600.3: c.-48C>A	-	7	22766834	5'UTR	rs2069857
ITIH4	NM_002218.4: c.352G>A	NP_002209.2: p.Val118Ile	3	52861113	Missense	rs148418409
KIF6	NM_145027.4: c.187A>G	NP_659464.3: p.Ile63Val	6	39682532	Missense	rs34059104
KIF6	NM_145027.4: c.103A>G	NP_659464.3: p.Ser35Gly	6	39688551	Missense	rs114269617
KIF6	NM_145027.4: c.*1001G>A	-	6	39303307	3'UTR	rs115025619
KIF6	NM_145027.4: c.*430C>T	-	6	39303878	3'UTR	rs116706958
KIF6	NM_145027.4: c.*296T>A	-	6	39304012	3'UTR	rs74659777
KIF6	NM_145027.4: c.*940G>A	-	6	39303368	3'UTR	-
KIF6	NM_145027.4: c.*1081T>G	-	6	39303227	3'UTR	rs190137715
KIF6	NM_145027.4: c.1181A>C	NP_659464.3: p.Gln394Pro	6	39545832	Missense	-
KIF6	NM_145027.4: c.*468A>G	-	6	39303840	3'UTR	rs11758639
KIF6	NM_145027.4: c.1652G>A	NP_659464.3: p.Arg551Lys	6	39398931	Missense	rs61748649
KIF6	NM_145027.4: c.*1432G>A	-	6	39302876	3'UTR	rs72858468
KIF6	NM_145027.4: c.*1142T>A	-	6	39303166	3'UTR	rs72858469
KIF6	NM_145027.4: c.*205A>G	-	6	39304103	3'UTR	rs72858477
KIF6	NM_145027.4: c.*1026T>C,	-	6	39303282	3'UTR	rs16891944
KIF6	NM_145027.4: c.1087C>T	NP_659464.3: p.Arg363Cys	6	39545926	Missense	rs142944273
KIF6	NM_145027.4: c.*1169C>T	-	6	39303139	3'UTR	rs144747535
LCAT	NM_000229.1: c.694T>A	NP_000220.1: p.Ser232Thr	16	67976320	Missense	rs4986970
LDLR	NM_000527.4: c.2043C>A	NP_000518.1: p.Cys681Ter	19	11231101	Códon de parada	rs121908031
LDLR	NM_000527.4: c.*223G>A	-	19	11242215	3'UTR	rs17243011
LDLR	NM_000527.4: c.*1419C>A	-	19	11243411	3'UTR	rs55971831
LDLR	NM_000527.4: c.1118G>A	NP_000518.1: p.Gly373Asp	19	11222247	Missense	rs879254797
LDLR	NM_000527.4: c.*1550A>T	-	19	11243542	3'UTR	rs143587805
LDLR	NM_000527.4: c.*1477G>A	-	19	11243469	3'UTR	-
LDLR	NM_000527.4: c.501C>A	NP_000518.1: p.Cys167Ter	19	11216083	Códon de parada	rs752596535

Continua...

Continuação...

Gene	Sequência Referência: troca nucleotídica	Sequência Referência: troca proteica	Chr	Posição Chr	Tipo	rs
LDLR	NM_000527.4: c.1801G>C	NP_000518.1: p.Asp601His	19	11227630	Missense	rs753707206
LDLR	NM_000527.4: c.*2016G>A	-	19	11244008	3'UTR	rs72658879
LDLR	NM_000527.4: c.*1140G>A	-	19	11243132	3'UTR	rs367606490
LDLR	NM_000527.4: c.551G>A	NP_000518.1: p.Cys184Tyr	19	11216133	Missense	rs121908039
LDLR	NM_000527.4: c.2389G>C	NP_000518.1: p.Val797Leu	19	11238761	Missense	rs750518671
LDLR	NM_000527.4: c.1463T>C	NP_000518.1: p.Ile488Thr	19	11224315	Missense	rs879254913
LDLR	NM_000527.4: c.1775G>A	NP_000518.1: p.Gly592Glu	19	11227604	Missense	rs137929307
LDLR	NM_000527.4: c.*2212C>T	-	19	11244204	3'UTR	rs200039283
LDLR	NM_000527.4: c.1285G>A	NP_000518.1: p.Val429Met	19	11224052	Missense	rs28942078
LDLR	NM_000527.4: c.*2126G>A	-	19	11244118	3'UTR	rs142697277
LDLR	NM_000527.4: c.*717G>A	-	19	11242709	3'UTR	rs17243018
LDLR	NM_000527.4: c.*965C>T	-	19	11242957	3'UTR	rs72658874
LDLR	NM_000527.4: c.1291G>A	NP_000518.1: p.Ala431Thr	19	11224058	Missense	rs28942079
LDLR	NM_000527.4: c.1646G>A	NP_000518.1: p.Gly549Asp	19	11226829	Missense	rs28941776
LDLR	NM_000527.4: c.2441G>A	NP_000518.1: p.Arg814Gln	19	11240240	Missense	rs5928
LDLR	NM_000527.4: c.*1912C>T	-	19	11243904	3'UTR	-
LDLR	NM_000527.4: c.*982G>C	-	19	11242974	3'UTR	rs10409044
LDLR	NM_000527.4: c.*2054G>A	-	19	11244046	3'UTR	rs28398082
LDLR	NM_000527.4: c.*803C>T	-	19	11242795	3'UTR	rs17242677
LDLR	NM_000527.4: c.977C>G	NP_000518.1: p.Ser326Cys	19	11221364	Missense	rs879254747
LDLR	NM_000527.4: c.530C>T	NP_000518.1: p.Ser177Leu	19	11216112	Missense	rs121908026
LDLR	NM_000527.4: c.*19G>A	-	19	11242011	3'UTR	rs56270417
LDLR	NM_000527.4: c.-140C>A	-	19	11200085	5'UTR	rs875989887
LDLR	NM_000527.4: c.*1332G>A	-	19	11243324	3'UTR	rs10415069
LDLR	NM_000527.4: c.1013G>A	NP_000518.1: p.Cys338Tyr	19	11221400	Missense	rs879254754
LDLRAP1	NM_015627.2: c.*1793C>T	-	1	25895276	3'UTR	rs10062
LDLRAP1	NM_015627.2: c.*1794G>A	-	1	25895277	3'UTR	rs4537542

Continua...

Continuação...

Gene	Sequência Referência: troca nucleotídica	Sequência Referência: troca proteica	Chr	Posição Chr	Tipo	rs
LDLRAP1	NM_015627.2: c.*1222T>C	-	1	25894705	3'UTR	rs76969561
LDLRAP1	NM_015627.2: c.*63G>A	-	1	25893546	3'UTR	rs62619761
LDLRAP1	NM_015627.2: c.653C>T	NP_056442.2: p.Thr218Ile	1	25890188	Missense	rs114583297
LDLRAP1	NM_015627.2: c.713G>A	NP_056442.2: p.Arg238Gln	1	25890248	Missense	rs148579379
LDLRAP1	NM_015627.2: c.712C>T	NP_056442.2: p.Arg238Trp	1	25890247	Missense	rs41291058
LIPA	NM_001127605.1: c.*330T>C	-	10	90974255	3'UTR	rs117967877
LIPA	NM_001127605.1: c.*608C>T	-	10	90973977	3'UTR	rs9664201
LIPA	NM_001127605.1: c.254A>G	NP_001121077.1: p.Gln85Arg	10	90988131	Missense	-
LIPA	NM_001127605.1: c.*1187C>A	-	10	90973398	3'UTR	rs78931290
LPA	NM_005577.2: c.*78T>C	-	6	160952683	3'UTR	-
LPA	NM_005577.2: c.5465G>C	NP_005568.2: p.Gly1822Ala	6	160963774	Missense	rs41265936
LPA	NM_005577.2: c.6068A>G	NP_005568.2: p.Tyr2023Cys	6	160952816	Missense	rs41267807
LPA	NM_005577.2: c.5882T>C	NP_005568.2: p.Leu1961Pro	6	160953642	Missense	rs41267809
LPA	NM_005577.2: c.4971T>G	NP_005568.2: p.Asn1657Lys	6	160977059	Missense	rs59566810
LPA	NM_005577.2: c.5236G>T	NP_005568.2: p.Ala1746Ser	6	160968889	Missense	rs144281871
LPA	NM_005577.2: c.4262G>A	NP_005568.2: p.Arg1421Gln	6	161006105	Missense	rs41272112
LPA	NM_005577.2: c.4523G>A	NP_005568.2: p.Arg1508Gln	6	160998276	Missense	rs147235826
LPA	NM_005577.2: c.3917A>G	NP_005568.2: p.His1306Arg	6	161010615	Missense	rs41267817
LPA	NM_005577.2: c.4793T>C	NP_005568.2: p.Met1598Thr	6	160978442	Missense	rs41264308
LPA	NM_005577.2: c.3296C>G	NP_005568.2: p.Thr1099Ser	6	161016559	Missense	rs62621433
LPA	NM_005577.2: c.5468G>T	NP_005568.2: p.Gly1823Val	6	160963771	Missense	rs76062330
LPA	NM_005577.2: c.3178C>T	NP_005568.2: p.Gln1060Ter	6	161020641	Códon de parada	rs113020022
LPA	NM_005577.2: c.4522C>T,	NP_005568.2: p.Arg1508Trp	6	160998277	Missense	rs140720828
LPA	NM_005577.2: c.5311C>T	NP_005568.2: p.Arg1771Cys	6	160966559	Missense	rs139145675
LPA	NM_005577.2:, c.2969G>A	NP_005568.2: p.Arg990Gln	6	161022107	Missense	rs41259144
LPA	NM_005577.2: c.2674A>G	NP_005568.2: p.Ser892Cys	6	161027620	Missense	rs41269892

Continua...

Continuação...

Gene	Sequência Referência: troca nucleotídica	Sequência Referência: troca proteica	Chr	Posição Chr	Tipo	rs
LPL	NM_000237.2: c.*371T>C	-	8	19823192	3'UTR	rs3289
LPL	NM_000237.2: c.*949G>A	-	8	19823770	3'UTR	rs11570893
LPL	NM_000237.2: c.1279G>A	NP_000228.1: p.Ala427Thr	8	19818551	Missense	rs5934
LPL	NM_000237.2: c.*1783A>T	-	8	19824604	3'UTR	rs17091815
LPL	NM_000237.2: c.*1416T>C	-	8	19824237	3'UTR	rs58998793
LPL	NM_000237.2: c.106G>A	NP_000228.1: p.Asp36Asn	8	19805708	Missense	rs1801177
LPL	NM_000237.2: c.213C>G	NP_000228.1: p.His71Gln	8	19805815	Missense	rs11542065
LPL	NM_000237.2: c.-264T>A	-	8	19796688	5'UTR	rs75890454
LPL	NM_000237.2: c.*1643C>G	-	8	19824464	3'UTR	-
LPL	NM_000237.2: c.1379C>T	NP_000228.1: p.Ala460Val	8	19819682	Missense	rs150319057
LPL	NM_000237.2: c.953A>G	NP_000228.1: p.Asn318Ser	8	19813529	Missense	rs268
LPL	NM_000237.2: c.*1291G>A	-	8	19824112	3'UTR	rs139240067
LRP1	NM_002332.2: c.650C>T	NP_002323.2: p.Ala217Val	12	57539082	Missense	rs1800127
LRP1	NM_002332.2: c.7843G>A	NP_002323.2: p.Gly2615Arg	12	57587720	Missense	-
LRP1	NM_002332.2: c.12332G>A	NP_002323.2: p.Arg4111His	12	57603544	Missense	rs150065523
LRP1	NM_002332.2: c.-80G>A	-	12	57522668	5'UTR	-
LRP1	NM_002332.2: c.13471G>C	NP_002323.2: p.Asp4491His	12	57606021	Missense	rs142605462
LRP1	NM_002332.2: c.*83C>T	-	12	57606421	3'UTR	rs35827450
LRP1	NM_002332.2: c.12161A>T	NP_002323.2: p.Tyr4054Phe	12	57602881	Missense	rs79435985
LRP1	NM_002332.2: c.6238G>A	NP_002323.2: p.Asp2080Asn	12	57578673	Missense	rs34577247
MPO	NM_000250.1: c.752T>C	NP_000241.1: p.Met251Thr	17	56356502	Missense	rs56378716
MPO	NM_000250.1: c.2149A>G	NP_000241.1: p.Ile717Val	17	56348106	Missense	rs2759
MTHFR	XM_003118849.2: c.1583G>A	XP_003118897.2: p.Arg528Lys	1	11847936	Missense	rs116013353
MTHFR	NM_001330358.1: c.1904G>A	NP_001317287.1: p.Arg635Gln	1	11850927	Missense	rs2274976
MTHFR	NM_001330358.1: c.*543G>A	-	1	11850194	3'UTR	rs45625835
MTHFR	NM_001330358.1: c.*3570G>A	-	1	11847167	3'UTR	rs182398073
MTHFR	XM_003118849.2: c.1727G>A	XP_003118897.2: p.Ser576Asn	1	11848080	Missense	rs371188005

Continua...

Continuação...

Gene	Sequência Referência: troca nucleotídica	Sequência Referência: troca proteica	Chr	Posição Chr	Tipo	rs
MTHFR	NM_001330358.1: c.2081C>T	NP_001317287.1: p.Thr694Met	1	11850750	Missense	rs35737219
MTHFR	NM_001330358.1: c.*1814G>A	-	1	11848923	3'UTR	rs114646114
MTHFR	NM_001330358.1: c.*4467A>G	-	1	11846270	3'UTR	rs1057624
MTTP	NM_000253.2: c.502G>A	NP_000244.2: p.Val168Ile	4	100512392	Missense	rs61750974
MTTP	NM_000253.2: c.285G>C	NP_000244.2: p.Gln95His	4	100504566	Missense	rs61733139
MTTP	NM_000253.2: c.1981G>A	NP_000244.2: p.Gly661Ser	4	100532602	Missense	rs113337987
MTTP	NM_000253.2: c.2433G>C	NP_000244.2: p.Leu811Phe	4	100542308	Missense	rs144590904
MTTP	NM_000253.2: c.1151A>C	NP_000244.2: p.Asp384Ala	4	100521805	Missense	rs17029215
MTTP	NM_000253.2: c.730C>G	NP_000244.2: p.Gln244Glu	4	100512919	Missense	rs17599091
MTTP	NM_000253.3: c.136C>G	NP_000244.2: p.Arg46Gly	4	100503136	Missense	rs141736123
MTTP	NM_000253.3: c.419A>G	NP_000244.2: p.Asn140Ser	4	100510825	Missense	rs61733140
MYLIP	NM_013262.3: c.*995G>C	-	6	16147977	3'UTR	rs185701087
MYLIP	NM_013262.3: c.604A>C	NP_037394.2: p.Ile202Leu	6	16143390	Missense	rs79992066
MYLIP	NM_013262.3: c.*858A>G	-	6	16147840	3'UTR	rs114004922
MYLIP	NM_013262.3: c.*1404C>G	-	6	16148386	3'UTR	rs112375157
MYLIP	NM_013262.3: c.*871A>G	-	6	16147853	3'UTR	rs73724995
MYLIP	NM_013262.3: c.*1260A>C	-	6	16148242	3'UTR	-
NOS3	NM_000603.4: c.335G>A	NP_000594.2: p.Arg112Gln	7	150693556	Missense	rs3918166
NOS3	NM_000603.4: c.2654G>T	NP_000594.2: p.Arg885Met	7	150707344	Missense	rs3918201
NOS3	NM_000603.4: c.*6G>A	-	7	150711263	3'UTR	rs151197128
NOS3	NM_000603.4: c.1752+1091C>G	NP_001153582.1: p.Arg613Gly	7	150700483	Missense	rs143125350
NPPA	NM_006172.3: c.*92T>C	-	1	11905974	3'UTR	rs5068
NPPA	NM_006172.3: c.*215T>C	-	1	11905851	3'UTR	rs61764044
NPPA	NM_006172.3: c.*71G>T	-	1	11905995	3'UTR	rs5066
PCSK9	NM_174936.3: c.*1052C>T	-	1	55530309	3'UTR	rs149837083
PCSK9	NM_174936.3: c.*614C>T	-	1	55529871	3'UTR	rs17111557
PCSK9	NM_174936.3: c.-245G>T	-	1	55505266	5'UTR	rs28362201

Continua...

Continuação...

Gene	Sequência Referência: troca nucleotídica	Sequência Referência: troca proteica	Chr	Posição Chr	Tipo	rs
PCSK9	NM_174936.3: c.*414C>T	-	1	55529671	3'UTR	rs13376071
PCSK9	NM_174936.3: c.*345C>T	-	1	55529602	3'UTR	rs17111555
PCSK9	NM_174936.3: c.*75C>T	-	1	55529332	3'UTR	rs28362287
PCSK9	NM_174936.3: c.94G>A	NP_777596.2: p.Glu32Lys	1	55505604	Missense	rs564427867
PCSK9	NM_174936.3: c.2039G>A	NP_777596.2: p.Arg680Gln	1	55529217	Missense	Sem rs mas já descrita na literatura
PCSK9	NM_174936.3: c.*171C>T	-	1	55529428	3'UTR	rs557622245
PCSK9	NM_174936.3: c.*849T>C	-	1	55530106	3'UTR	rs28362292
PCSK9	NM_174936.3: c.*444G>C	-	1	55529701	3'UTR	rs28362288
PCSK9	NM_174936.3: c.*331T>C	-	1	55529588	3'UTR	-
PCSK9	NM_174936.3: c.-287G>A	-	1	55505224	5'UTR	rs72658888
PCSK9	NM_174936.3: c.1327G>A	NP_777596.2: p.Ala443Thr	1	55523855	Missense	rs28362263
PCSK9	NM_174936.3: c.1405C>T	NP_777596.2: p.Arg469Trp	1	55524222	Missense	rs141502002
PCSK9	NM_174936.3: c.835C>A	NP_777596.2: p.Pro279Ala	1	55521701	Missense	rs72646509
PCSK9	NM_174936.3: c.1856A>C	NP_777596.2: p.Gln619Pro	1	55527222	Missense	rs28362277
PCSK9	NM_174936.3: c.709C>T	NP_777596.2: p.Arg237Trp	1	55518374	Missense	rs148195424
PON1	NM_000446.5: c.*391G>A	-	7	94927865	3'UTR	rs3917576
PON1	NM_000446.5: c.*392G>A	-	7	94927864	3'UTR	-
PON1	NM_000446.5: c.*260T>C	-	7	94927996	3'UTR	rs3917575
PON1	NM_000446.5: c.602C>T	NP_000437.3: p.Ala201Val	7	94937419	Missense	rs80019660
PPP1R17	NM_006658.4: c.*856A>G	-	7	31747753	3'UTR	rs17160458
PPP1R17	NM_006658.4: c.*959T>C	-	7	31747856	3'UTR	rs113797486
PPP1R17	NM_006658.4: c.*459G>A	-	7	31747356	3'UTR	rs145155723
PPP1R17	NM_006658.4: c.-155T>C	-	7	31726802	5'UTR	rs149187927
PPP1R17	NM_006658.4: c.*48G>C	-	7	31746945	3'UTR	rs34184
PPP1R17	NM_006658.4: c.*458C>T	-	7	31747355	3'UTR	rs77451384
PPP1R17	NM_006658.4: c.*508G>T	-	7	31747405	3'UTR	rs77858177

Continua...

Continuação...

Gene	Sequência Referência: troca nucleotídica	Sequência Referência: troca proteica	Chr	Posição Chr	Tipo	rs
PPP1R17	NM_006658.4: c.-264G>A	-	7	31726693	5'UTR	rs77831788
PPP1R17	NM_006658.4: c.*866A>G	-	7	31747763	3'UTR	-
PPP1R17	NM_006658.4: c.*494G>C	-	7	31747391	3'UTR	rs74499062
PPP1R17	NM_006658.4: c.29T>G	NP_006649.2: p.Leu10Arg	7	31732084	Missense	rs36047130
PPP1R17	NM_006658.4: c.247G>T	NP_006649.2: p.Glu83Ter	7	31736590	Códon de parada	-
SCAP	NM_012235.2: c.*84G>A	-	3	47455260	3'UTR	rs148831145
SCAP	NM_012235.2: c.*83C>T	-	3	47455261	3'UTR	rs45453398
SCAP	NM_012235.2: c.551G>A	NP_036367.2: p.Arg184His	3	47469017	Missense	-
SCAP	NM_012235.2: c.2392G>A	NP_036367.2: p.Val798Ile	8	126449835	3'UTR	rs80023284
SCARB1	NM_005505.4: c.403G>A	NP_005496.4: p.Val135Ile	12	125299542	Missense	rs5891
SCARB1	NM_005505.4: c.*808G>C	-	12	125262325	3'UTR	rs10396211
SCARB1	NM_005505.4: c.*624C>T	-	12	125262509	3'UTR	rs58032386
SCARB1	NM_005505.4: c.*617C>A	-	12	125262516	3'UTR	rs184715678
SCARB1	NM_005505.4: c.*94G>A	-	12	125263039	Missense	rs701103
SCARB1	NM_005505.4: c.386C>T	NP_005496.4: p.Ser129Leu	12	125299559	Missense	rs150222965
SCARB1	NM_005505.4: c.*455C>T	-	12	125262678	3'UTR	-
SCARB1	NM_005505.4: c.*879T>C	-	12	125262254	3'UTR	rs150512235
SCARB1	NM_005505.4: c.*354C>A	-	12	125262779	3'UTR	-
SLCO1B1	NM_006446.4: c.1200C>G	NP_006437.3: p.Phe400Leu	12	21355489	Missense	rs59113707
SLCO1B1	NM_006446.4: c.1929A>C	NP_006437.3: p.Leu643Phe	12	21391976	Missense	rs34671512
SLCO1B1	NM_006446.4: c.*82C>T	-	12	21392205	3'UTR	rs72655363
SLCO1B1	NM_006446.4: c.1463G>C	NP_006437.3: p.Gly488Ala	12	21358933	Missense	rs59502379
SLCO1B1	NM_006446.4: c.733A>G	NP_006437.3: p.Ile245Val	12	21349885	Missense	rs11045852
SREBF1	NM_001005291.2: c.422C>T	NP_001005291.1: p.Pro141Leu	17	17723595	Missense	rs115855236
SREBF1	NM_001005291.2: c.-147G>C	-	17	17740278	5'UTR	-
SREBF1	NM_001005291.2: c.680C>T	NP_001005291.1: p.Pro227Leu	17	17722973	Missense	rs114001633

Continua...

Continuação...

Gene	Sequência Referência: troca nucleotídica	Sequência Referência: troca proteica	Chr	Posição Chr	Tipo	rs
SREBF1	NM_001005291.2: c.1919G>A	NP_001005291.1: p.Arg640Gln	17	17719989	Missense	rs7214136
SREBF1	NM_001005291.2: c.193C>A	NP_001005291.1: p.Leu65Ile	17	17723824	Missense	rs147268500
SREBF1	NM_001005291.2: c.982G>A	NP_001005291.1: p.Val328Ile	17	17722503	Missense	rs74520623
SREBF1	NM_001005291.2: c.*267C>A	-	17	17715669	3'UTR	rs8064706
SREBF1	NM_001005291.2: c.*521G>T	-	17	17715415	3'UTR	rs73981076
SREBF1	NM_001005291.2: c.*870T>G	-	17	17715066	3'UTR	rs73981075
SREBF1	NM_001005291.2: c.*255C>T	-	17	17715681	3'UTR	rs73981078
SREBF1	NM_001005291.2: c.1828G>A	NP_001005291.1: p.Val610Met	17	17720319	Missense	rs36215896
SREBF1	NM_001005291.2: c.1339G>A	NP_001005291.1: p.Val447Leu	17	17721165	Missense	rs2229590
SREBF2	NM_004599.2: c.*511C>G	-	22	42302175	3'UTR	rs201578340
SREBF2	NM_004599.2: c.*669A>G	-	22	42302333	3'UTR	rs182758758
SREBF2	NM_004599.2: c.1867G>A	NP_004590.2: p.Val623Met	22	42276825	Missense	rs2229440
TNF	NM_000594.3: c.*77A>C	-	6	31545391	3'UTR	rs3093665
TRIB1	NM_025195.2: c.*6A>G	-	8	126448719	3'UTR	rs56395423
TRIB1	NM_025195.2: c.1080G>T	NP_079471.1: p.Glu360Asp	8	126448674	Missense	rs16900603
TRIB1	NM_025195.2: c.*1567T>C	-	8	126450280	3'UTR	rs73704997
TRIB1	NM_025195.2: c.*865A>G	-	8	126449578	3'UTR	rs74486799
TRIB1	NM_025195.2: c.*1521C>T	-	8	126450234	3'UTR	-

Legenda: *ABCA1 - Transportador de Cassete Ligante de ATP Subfamília A Membro 1; ABCB1 - Transportador de Cassete Ligante de ATP Subfamília B Membro 1; ABCG5 – Transportador de Cassete Ligante de ATP Subfamília G Membro 5; ABCG8 - Transportador de Cassete Ligante de ATP Subfamília G Membro 8; ADD1 - Adducina 1; ADIPOQ – Adiponectina; AGT – Angiotensinogênio; ALOX5AP - Proteína de ativação de 5-lipoxigenase de araquidonato;ANGPTL3 – Angiopoietina Tipo 3; APOA5 - Apolipoproteína A5; APOB - Apolipoproteína B; APOC1 - Apolipoproteína C1; APOC2 - Apolipoproteína C2; APOC3 - Apolipoproteína C3; APOC4 - Apolipoproteína C4; APOE - Apolipoproteína E; CETP – Proteína de Transferência de Ester Colesterol; CLMN – Calmina; COQ10A - Coenzima Q10A; CRABP2 - Proteína de ligação ao ácido retinóico celular 2; CYP2C9 - Citocromo P450 Família 2 Subfamília C Membro 9; CYP3A4 - Citocromo P450 Família 3 Subfamília A Membro 4; CYP3A5 - Citocromo P450 Família 3 Subfamília A Membro 5; EGFR – Receptor do Fator de Crescimento Epidérmico; EPHX2 - Epóxidohidrolase 2; F7 – Fator de coagulação 7; GHR – Receptor do Hormônio de Crescimento; HMGCR - 3-hidroxi-3-metilglutaril-CoA redutase; IL6 – Interleucina 6; IL10 – Interleucina 10; KIF6 – Membro 6 da Família Cinesina; LCAT - Lecitina Colesterol Aciltransferase; LDLR - Receptor de LDL; LDLRAP1 - Proteína Adaptadora do Receptor de LDL 1; LIPA - Lipase A; LPA – lipoproteína (a); LPL - Lipoproteína Lipase; LRP1 - Proteína relacionada ao receptor de LDL 1; MPO – Mieloperoxidase; MTHFR - Metilenotetrahidrofolato redutase; MYLIP - Proteína de interação da cadeia leve reguladora da miosina; NOS3 - Oxido Nítrico Sintase 3; NPPA – Peptídeo Natriurético A; PCSK9 - Proteína*

Convertase Subtilisina/Kexina Tipo 9; PON1 - Paraoxonase 1; PPP1R17 - Proteína Reguladora da Fosfatase 1 Subunidade 17; SCAP - SREBF chaperona; SCARB1 - Receptor scavenger classe B membro 1; SLCO1B1 - Transportador carregador de soluto aniônico membro da família 1B1; SREBF1 - Fator de Transcrição do Elemento Regulador do Esterol 1; SREBF2 - Fator de Transcrição do Elemento Regulador do Esterol 2; TNF – Fator de Necrose Tumoral; TRIB1 - Tribbles Pseudocinase 1

H. Análises estatísticas

Quadro 6: Dados das análises estatísticas com resultado significativo (p<0.05) das variáveis numéricas contínuas.

Variante	Variável clínica	N Ausência da variante / N Presença da variante	Média	Mediana	Desvio Padrão	Mínimo	Máximo	1º Quartil	3º Quartil	Valor de p*
ABCB1 rs2229107 c.3421T>A	VLDL	73	26,88	23,00	14,19	8,00	80,00	17,00	33,00	0,0305
		3	14,33	15,00	1,15	13,00	15,00	14,00	15,00	
	TG	125	154,24	132,00	103,59	41,00	930,00	93,00	184,00	0,0159
		3	72,33	73,00	5,03	67,00	77,00	70,00	75,00	
ABCB1 rs9282564 c.61A>G	LDL	123	198,39	210,00	64,96	82,00	480,00	150,00	231,00	0,0489
		13	157,08	144,00	61,35	36,00	243,00	115,00	206,00	
ABCG8 rs80025980 c.239G>A	TG	123	154,90	129,00	104,06	41,00	930,00	92,50	185,00	0,0449
		5	88,80	72,00	45,35	41,00	1380,00	57,00	136,00	
ADIPOQ rs1501298 c.-149G>A	Glicemia	42	92,12	85,00	17,09	69,00	161,00	81,25	98,00	0,0097
		55	104,53	95,00	36,14	70,00	268,00	86,00	110,00	
ADIPOQ rs9842733 c.-2989A>T	HDL	124	50,15	46,50	13,90	17,00	95,00	40,75	58,25	0,0075
		4	35,25	35,50	2,06	33,00	37,00	33,75	37,00	
ALOX5AP rs17245407 c.148C>T	Glicemia	95	99,65	90,00	30,06	69,00	268,00	84,00	108,00	0,0421
		2	75,50	75,50	7,78	70,00	81,00	72,75	78,25	
APOA5 rs192708363 c.-59C>A	LDL	134	199.48	173.00	87.03	98.00	480.00	147.00	243.00	0.0481
		2	101.00	101.00	26.87	82.00	120.00	91.50	110.50	
	apoB-100	75	137.69	128.50	38.48	78.50	237.00	110.50	162.00	0.0276
		2	78.20	78.20	10.32	70.90	85.50	74.55	81.85	
APOA5 rs3135506 c.56C>G	VLDL	64	24,67	21,50	12,78	8,00	80,00	16,75	30,50	0,0280
		12	35,50	29,00	17,79	17,00	63,00	21,25	47,25	
	TG	103	137,85	119,00	68,41	41,00	399,00	86,50	169,00	0,0081
		25	211,92	156,00	178,26	85,00	930.00	120,00	216,00	
APOB rs12691202 c.2188G>A	LDL	131	196,66	208,00	65,12	36,00	480.00	149,00	231,00	0,0267
		5	136,20	120,00	52,52	82.00	217,00	106,00	156,00	
APOB rs12713450 c.13451C>T	CT	122	270,99	279,00	62,03	103,00	456,00	216,00	313,75	0,0291
		6	217,00	220,50	38,83	158,00	265,00	196,25	242,50	
	LDL	130	197,01	209,50	65,62	36,00	480,00	149,25	231,00	0,0156
		6	138,83	138,00	31,97	88,00	182,00	128,25	156,00	

Continua...

Continuação...

Variante	Variável clínica	N Ausência da variante / N Presença da variante	Média	Mediana	Desvio Padrão	Mínimo	Máximo	1º Quartil	3º Quartil	Valor de p*
APOB rs12713675 c.7367C>A	LDL	133	191,78	206,00	61,50	36,00	480,00	147,00	228,00	0,0328
		3	312,33	244,00	137,85	222,00	471,00	233,00	357,50	
APOB rs12714225 c.1223T>C	TG	124	154,78	132,50	103,73	41,00	930,00	92,75	184,50	0,0225
		4	76,00	77,00	30,36	41,00	109,00	56,75	96,25	
APOB rs12720855 c.9880T>C	LDL	133	191,78	206,00	61,50	36,00	480,00	147,00	228,00	0,0328
		3	312,33	244,00	137,85	222,00	471,00	233,00	357,50	
APOB rs61743299 c.12697T>A	LDL	133	191,78	206,00	61,50	36,00	480,00	147,00	228,00	0,0328
		3	312,33	244,00	137,85	222,00	471,00	233,00	357,50	
CLMN rs111596735 c.-9128T>C	VLDL	74	26,74	22,50	14,13	8,00	80,00	17,00	32,75	0,0475
		2	13,00	13,00	2,83	11,00	15,00	12,00	14,00	
CLMN rs112366105 c.-5194C>A	LDL	127	190,61	205,00	61,81	82.00	480.00	145,50	226,00	0,0356
		9	248,44	231,00	93,85	127,00	471.00	217,00	244,00	
CLMN rs114567749 c.-5635T>C	HDL	123	50,14	47,00	13,99	17,00	95,00	40,00	58,50	0,0364
		5	38,60	37,00	5,68	32,00	45,00	35,00	44,00	
	apoA1	74	142,09	140.00	29,68	56,30	223.00	126,25	156,50	0,0252
		3	102,73	102,00	23,91	79,20	127,00	90,60	114,50	
CLMN rs116779805 c.-3047A>G	HDL	123	50,14	47,00	13,99	17.00	95,00	40,00	58,50	0,0364
		5	38,60	37,00	5,68	32.00	45,00	35,00	44,00	
	apoA1	74	142,09	140,00	29,68	56,30	223.00	126,25	156,50	0,0252
		3	102,73	102,00	23,91	79.20	127,00	90,60	114,50	
CLMN rs116794212 c.-4201A>C	apoA1	73	142,56	140.00	29,22	56,30	223.00	127,00	157,00	0,0174
		4	103,90	117,00	30,38	58.60	123,00	100,90	120,00	
CLMN rs56119341 c.-985A>G	LDL	131	192,99	205,00	66,32	36,00	480,00	145,50	228,50	0,0323
		5	232,40	228,00	13,13	219,00	250,00	223,00	242,00	
CLMN rs7155222 c.-3121T>C	LDL	127	190,61	205,00	61,81	36,00	480.00	145,50	226,00	0,0356
		9	248,44	231,00	93,85	127,00	471.00	217,00	244,00	

Continua...

Continuação...

Variante	Variável clínica	N Ausência da variante / N Presença da variante	Média	Mediana	Desvio Padrão	Mínimo	Máximo	1º Quartil	3º Quartil	Valor de p *
CLMN rs7155470 c.-2956T>C	CT	115	264,20	265,00	62,09	103,00	456.00	212,00	308,00	0,0151
		13	306,15	324,00	49,77	192,00	392.00	286,00	326,00	
	LDL	121	188,75	205,00	62,32	36,00	480.00	144,00	225,00	0,0041
		15	240,33	232,00	74,84	127,00	471.00	209,00	244,00	
CLMN rs7156866 c.-2992A>G	CT	115	264,20	265,00	62,09	103,00	456.00	212,00	308,00	0,0151
		13	306,15	324,00	49,77	192,00	392.00	286,00	326,00	
	LDL	121	188,75	205,00	62,32	36,00	480.00	144,00	225,00	0,0041
		15	240,33	232,00	74,84	127,00	471.00	209,00	244,00	
CLMN rs74777248 c.-1218C>T	apoA1	73	138,72	138,00	29,37	56,30	223.00	123,00	152,00	0,0410
		4	174,00	181,50	32,05	133,00	200,00	156,25	199,25	
CLMN rs75063901 c.-5035G>A	CT	123	266,23	270,00	62,10	103,00	456,00	212,50	311,00	0,0285
		5	323,40	311,00	30,04	293,00	358,00	302,00	353,00	
	TG	123	148,77	128,00	102,47	41,00	930,00	91,00	171,00	0,0143
		5	239,60	231,00	86,08	114,00	333,00	214,00	306,00	
COQ10A rs1274498 c.-210A>G	Glicemia	87	98,57	88,00	31.29	69,00	268,00	83,00	106,50	0,0340
		10	104,20	104,00	13,54	84,00	129,00	95,75	112,00	
	LDL	125	197,66	210,00	66,06	36,00	480,00	149,00	232,00	0,0238
		11	157,82	159,00	47,68	83,00	227,00	121,50	195,00	
CRABP2 rs150325179 c.-46T>C	LDL	131	192,65	205,00	65,95	36,00	480,00	145,50	229,00	0,0314
		5	241,36	225,00	28,24	217,00	282,00	223,00	259,80	
	apoB-100	75	129,33	122,00	36,43	41,00	245,00	105,00	148,00	0,0260
		2	214,50	214,50	31,82	192,00	237,00	203,25	225,75	
CRABP2 rs116587898 c.-162G>A	CT	122	271,18	277,00	61,72	103,00	456,00	221,00	313,75	0,0217
		6	213,17	202,50	43,92	177,00	297,00	186,00	215,25	
CYP3A4 rs28988604 c.-683C>T	apoB-100	74	129,61	122,00	37,79	41,00	245,00	105,00	147,75	0,0260
		3	179,33	165,00	31,09	158,00	215,00	161,50	190,00	
EGFR rs17290225 c.-16G>A	CT	124	270,39	277,00	61,81	103,00	456,00	216,00	313,25	0,0399
		4	208,75	198,50	41,12	173,00	265,00	181,25	226,00	

Continua...

Continuação...

Variante	Variável clínica	N Ausência da variante / N Presença da variante	Média	Mediana	Desvio Padrão	Mínimo	Máximo	1º Quartil	3º Quartil	Valor de p*
EGFR rs35918369 c.3629C>T	LDL	134	193,38	206,00	65,42	36,00	480,00	147,25	227,75	0,0351
		2	265,50	265,50	21,92	250,00	281,00	257,75	273,25	
EPHX2 rs115318000 c.-172C>T	VLDL	74	25,73	22,00	13,57	8,00	80,00	17,00	31,75	0,0493
		2	50,50	50,50	17,68	38,00	63,00	44,25	56,75	
F7 rs116688254 c.-533A>C	VLDL	74	25,73	22,00	13,57	8,00	80,00	17,00	31,75	0,0493
		2	50,50	50,50	17,68	38,00	63,00	44,25	56,75	
GHR rs6182 c.1340G>T	VLDL	74	26,81	22,50	14,06	11,00	80,00	17,00	32,75	0,0283
		2	10,50	10,50	3,54	8,00	13,00	9,25	11,75	
	TG	125	154,36	132,00	103,44	41,00	930,00	92,00	184,00	0,0228
		3	67,33	67,00	26,50	41,00	94,00	54,00	80,50	
	apoA1	75	141,93	140,00	29,46	56,30	223,00	126,50	156,00	0,0239
		2	88,95	88,95	13,79	79,20	98,70	84,08	93,83	
GHR rs17839373 c.-692C>A	VLDL	74	26,81	22,50	14,06	11,00	80,00	17,00	32,75	0,0283
		2	10,50	10,50	3,54	8,00	13,00	9,25	11,75	
	TG	125	154,36	132,00	103,44	41,00	930,00	92,00	184,00	0,0228
		3	67,33	67,00	26,50	41,00	94,00	54,00	80,50	
	apoA1	75	141,93	140,00	29,46	56,30	223,00	126,50	156,00	0,0239
		2	88,95	88,95	13,79	79,20	98,70	84,08	93,83	
GHR rs6184 c.1756C>A	VLDL	74	26,81	22,50	14,06	11,00	80,00	17,00	32,75	0,0283
		2	10,50	10,50	3,54	8,00	13,00	9,25	11,75	
GHR rs62372049 c.-1934T>C	HDL	118	50,36	47,00	14,10	17,00	95,00	40,50	58,75	0,0187
		10	41,80	40,00	8,79	34,00	65,00	37,25	43,00	
HMGCR rs17244932 c.-497T>C	CT	126	270,50	276,00	60,23	123,00	456,00	216,00	312,50	0,0195
		2	140,00	140,00	52,33	103,00	177,00	121,50	158,50	
	LDL	134	196,26	207,50	61,14	82,00	480,00	149,00	230,75	0,0232
		2	72,50	72,50	51,62	36,00	109,00	54,25	90,75	
	apoB-100	75	133,25	125,00	37,40	63,30	245,00	109,00	152,50	0,0318
		2	67,70	67,70	37,76	41,00	94,40	54,35	81,05	

Continua...

Continuação...

Variante	Variável clínica	N Ausência da variante / N Presença da variante	Média	Mediana	Desvio Padrão	Mínimo	Máximo	1º Quartil	3º Quartil	Valor de p*
IL6 rs13306435 c.486T>A	LDL	131	192,82	205,00	66,09	36,00	480,00	145,50	227,50	0,0499
		5	236,80	232,00	26,45	215,00	282,00	221,00	234,00	
KIF6 rs61748649 c.1652G>A	apoB-100	74	129,61	122,00	37,46	41,00	245,00	105,00	148,00	0,0498
		3	179,33	192,00	43,41	131,00	215,00	161,50	203,50	
LDLR rs10409044 c.-982G>C	Glicemia	92	97,03	88,50	25,71	69,00	268,00	83,00	106,25	0,0208
		5	138,20	116,00	66,99	89,00	255,00	102,00	129,00	
LDLR rs137929307 c.1775G>A	Glicemia	95	99,58	90,00	30,13	69,00	268,00	84,00	108,00	0,0318
		2	79.00	79.00	0.00	79.00	79.00	79.00	79.00	
LDLR rs17242677 c.-803C>T	TG	126	153,68	130,50	103,35	41,00	930,00	92,25	184,00	0,0329
		2	66,50	66,50	7,78	61,00	72,00	63,75	69,25	
LDLR rs28398082 c.-2054G>A	Glicemia	92	97,03	88,50	25,71	69,00	268,00	83,00	106,25	0,0208
		5	138,20	116,00	66,99	89,00	255,00	102,00	129,00	
LDLR rs72658879 c.-2016G>A	CT	111	264,60	269,00	63,01	103,00	456,00	212,00	308,00	0,0360
		17	293,65	311,00	50,42	196,00	368,00	257,00	326,00	
	LDL	118	191,51	199,50	68,33	36,00	480,00	144,00	225,00	0,0351
		18	213,67	218,00	39,17	131,00	281,00	206,50	237,75	
LDLRAP1 rs10062 c.-1793C>T	apoB-100	75	129,60	122,00	36,81	41,00	245,00	105,00	148,00	0,0388
		2	204,50	204,50	45,96	172,00	237,00	188,25	220,75	
LDLRAP1 rs76969561 c.-1222T>C	LDL	133	196,09	208,00	65,28	36,00	480,00	149,00	231,00	0,0243
		3	121,33	109,00	23,12	107,00	148,00	108,00	128,50	
LPA rs139145675 c.5311C>T	TG	126	153,64	130,50	103,37	41,00	930,00	92,25	184,00	0,0456
		2	69,00	69,00	19,80	55,00	83,00	62,00	76,00	
LPA rs41265936 c.5465G>C	Glicemia	95	97,38	89,00	25,56	69,00	268,00	83,50	106,50	0,0475
		2	183,50	183,50	101,12	112,00	255,00	147,75	219,25	
LPA rs76062330 c.5468G>T	TG	121	155,83	136,00	104,78	41,00	930,00	93,00	186,00	0,0168
		7	91,57	85,00	30,32	57,00	129,00	67,00	118,00	
MPO rs2759 c.2149A>G	LDL	131	192,89	205,00	66,23	36,00	480,00	145,50	227,50	0,0292
		5	235,16	231,00	16,35	218,00	259,80	225,00	242,00	

Continua...

Continuação...

Variante	Variável clínica	N Ausência da variante / N Presença da variante	Média	Mediana	Desvio Padrão	Mínimo	Máximo	1º Quartil	3º Quartil	Valor de p*
MTTP rs17599091 c.730C>G	apoB-100	75	132,68	125,00	38,47	41,00	245,00	109,00	152,50	0,0436
		2	88,75	88,75	7,99	83,10	94,40	85,92	91,58	
MYLIP rs185701087 c.-995G>C	HDL	123	50,15	47,00	13,97	17,00	95,00	40,00	58,50	0,0381
		5	38,40	35,00	6,58	32,00	46,00	34,00	4500	
	apoA1	72	142,48	140,00	30,08	56,30	223.00	127,00	157,25	0,0138
		5	112,84	117,00	19,71	79.20	128.00	114,00	126,00	
PCSK9 rs28362201 c.-245G>T	apoB-100	73	133,52	126,00	38,33	41,00	245,00	108,0	155,00	0,0458
		4	95,45	99,75	26,02	63,30	119,00	79,95	115,25	
PCSK9 rs28362292 c.-849T>C	apoB-100	73	133,29	126,00	38,84	41,00	245,00	110,00	155,00	0,0300
		4	99,72	99,70	12,41	85,50	114,00	92,18	107,25	
PPP1R17 rs149187927 c.-155T>C	TG	126	144,87	128,50	75,49	41,00	515.00	91,25	178,75	0,0205
		2	622.00	622.00	435.58	314.00	930.00	468.00	776.00	
PPP1R17 rs17160458 c.-856A>G	HDL	121	50,35	47,00	13,98	17,00	95,00	40,00	59,00	0,0097
		7	38,29	37,00	6,07	30,00	46,00	34,00	43,50	
PPP1R17 rs36047130 c.29T>G	apoB-100	75	129,97	122,00	37,87	41,00	245,00	105,00	148,00	0,0388
		2	190,50	190,50	9,19	184,00	197,00	187,25	193,75	
SCARB1 rs701103 c.-94G>A	CT	117	265,53	270,00	61,66	103,00	456,00	213,00	309,00	0,0361
		11	299,64	329,00	60,85	192,00	368,00	273,50	330,50	
	apoA1	73	138,86	137,00	29,84	56,30	223,00	123,00	152,00	0,0291
		4	171,50	171,50	24,06	143,00	200,00	158,75	184,25	
SLCO1B1 rs34671512 c.1929A>C	apoA1	72	141,91	140,00	30,82	56,30	223,00	126,75	157,25	0,0427
		5	121,00	117,00	10,37	110,00	133,00	114,00	131,00	
SREBF1 rs73981075 c.-1771A>C	CT	126	270,29	276,00	60,73	103,00	456,00	216,00	312,50	0,0251
		2	153,50	153,50	43,13	123,00	184,00	138,25	168,75	
	LDL	134	195,92	207,50	64,87	36,00	480,00	149,00	230,75	0,0232
		2	95,00	95,00	16,97	83,00	107,00	89,00	101,00	
	apoB-100	75	132,95	125,00	38,05	41,00	245,00	109,00	152,50	0,0345
		2	78,85	78,85	21,99	63,30	94,40	71,07	86,63	

Continua...

Continuação...

Variante	Variável clínica	N Ausência da variante / N Presença da variante	Média	Mediana	Desvio Padrão	Mínimo	Máximo	1º Quartil	3º Quartil	Valor de p*
SREBF1 rs73981076 c.-521G>T	Glicemia	94	96,77	89,00	24,39	69,00	255,00	83,25	106,00	0,0083
		3	174,00	138,00	82,15	116,00	268,00	127,00	203,00	
TRIB1 rs16900603 c.1080G>T	TG	122	155,42	134,50	104,60	41,00	930.00	93,00	185,50	0,0176
		6	89,33	84,00	17,28	70.00	113,00	78,50	102,25	
TRIB1 rs56395423 c.-6A>G	HDL	121	48,59	46,00	12,95	17,00	87,00	39,00	57,00	0,0039
		7	68,71	67,00	17,50	43,00	95,00	59,00	79,00	
*GHR Chr5: 42721137 c.*1611G>A*	CT	126	270,35	276,00	60,45	123,00	456,00	216,00	312,50	0,0370
		2	149,50	149,50	65,76	103,00	196,00	126,25	172,75	
	LDL	134	196,10	207,50	64,33	82,00	480,00	149,00	230,75	0,0438
		2	83,50	83,50	67,18	36,00	131,00	59,75	107,25	
SREBF1 Chr17: 17740278 c.-147G>C	Glicemia	93	100,02	90,00	30,27	70,00	268,00	84,00	108,00	0,0173
		4	79,00	81,00	6,98	69,00	85,00	77,25	82,75	

*Teste Exato de Fisher

Legenda: *ADD1 - Adducina 1; APOA4 - Apolipoproteína A4; APOA5 - Apolipoproteína A5; APOB – Apolipoproteína B; APOC4 - Apolipoproteína C4; CLMN – Calmina; CYP2C9 - Citocromo P450 Família 2 Subfamília C Membro 9; GHR – Receptor do Hormônio de Crescimento; LDLR – Receptor de LDL; LPA – lipoproteína (a); MTTP - Proteína Microsomal de transferência de triglicerídeos; MYLIP - Proteína de interação da cadeia leve reguladora da miosina; NOS3 - Oxido Nítrico Sintase 3; PCSK9 - Proproteina Convertase Subtilisin/Kexin Tipo 9; PPP1R17 - Proteína Reguladora da Fosfatase 1 Subunidade 17; SLCO1B1 - Transportador carregador de soluto aniônico membro da família 1B1; SREBF1 - Fator de Transcrição do Elemento Regulador do Esterol 1; TRIB1 - Tribbles Pseudocinase 1.*

Quadro 7: Dados das análises estatísticas com resultado significativo (p<0.05) das variáveis categóricas.

Variante	Variável clínica	N Ausência da variante	% Ausência da variante	N Presença da variante	% Presença da variante	Valor de p*
*ADD1 rs4968 c.*940C>T*	Ausência de AVC	136	97,1	0	0,0	0,0355
	Presença de AVC	4	2,9	1	100,0	
ADIPOQ rs1501298 c.-149G>A	Ausência de Xantomas	35	72,9	85	92,4	0,0040
	Presença de Xantomas	13	27,1	7	7,6	
AGT rs61757164 c.-506C>T	Ausência de Xantelasmas	117	85,4	0	0.0	0,0241
	Presença de Xantelasmas	20	14,6	2	100.0	
	Ausência de Arco córneo	118	86,1	0	0,0	0,0219
	Presença de Arco córneo	19	13,9	2	100,0	
ALOX5AP rs9508825 c.-52T>C	Ausência de Xantomas	95	82,6	25	100,0	0,0242
	Presença de Xantomas	20	17,4	0	0,0	
APOB rs1042023 c.10294C>G	Ausência de Angina	92	68,70	0	0.0	0,0338
	Presença de Angina	42	31,30	3	100.0	
APOB rs12713450 c.13451C>T	Ausência de Arco córneo	115	86,50	3	50,00	0,0444
	Presença de Arco córneo	18	13,50	3	50,00	
APOB rs1800480 c.-115C>G	Feminino	92	66,7	0	0,0	0,0403
	Masculino	46	33,3	3	100,0	
APOB rs6752026 c.433C>T	Ausência de AVC	130	97,7	6	75,0	0,0260
	Presença de AVC	3	2,3	2	25,0	
APOC4 rs10425530 c.-149G>A,	Ausência de Arco córneo	116	86,60	2	40,00	0,0246
	Presença de Arco córneo	18	13,40	3	60,00	
*CLMN rs114567749 c.*5635T>C*	Ausência de Obesidade	111	82,2	2	40,0	0,0493
	Presença de Obesidade	24	17,8	3	60,0	
COQ10A rs1274498 c.-210A>G	Ausência de DAC	80	68.4	4	30.8	0,0122
	Presença de DAC	37	31,6	9	69,2	
	Ausência de RM	100	80,0	6	46,2	0,0118
	Presença de RM	25	20,0	7	53,8	
COQ10A rs77131854 c.-130C>T	Ausência de DAC	75	62,0	9	100,0	0,0262
	Presença de DAC	46	38,0	0	0,0	
*EGFR rs17337528 c.*137G>A*	Ausência de AVC	136	97,1	0	0,0	0,0355
	Presença de AVC	4	2,9	1	100,0	

Continua...

Continuação...

Variante	Variável clínica	N Ausência da variante	% Ausência da variante	N Presença da variante	% Presença da variante	Valor de p*
LDLR rs10409044 c.-982G>C	Ausência de RM	104	78,80	2	33,30	0,0259
	Presença de RM	28	21,20	4	66,70	
LDLR rs143587805 c.-1550A>T	Feminino	91	66,9	1	20,0	0,0495
	Masculino	45	33,1	4	80,0	
LDLR rs28398082 c.-2054G>A	Ausência de RM	104	78,8	2	33,3	0,0259
	Presença de RM	28	21,2	4	66,7	
LDLR rs55971831 c.-1419C>A	Ausência de DAP	95	87,2	19	65,5	0,0115
	Presença de DAP	14	12,8	10	34,5	
LDLR rs875989887 c.-140C>A	Ausência de AVC	136	97,1	0	0,0	0,0355
	Presença de AVC	4	2,9	1	100,0	
LPA rs59566810 c.4971T>G	Ausência de Obesidade	113	82,5	0	0,0	0,0065
	Presença de Obesidade	24	17,5	3	100,0	
LPL rs3289 c.-371T>C	Ausência de IAM	93	72,1	4	36,4	0,0347
	Presença de IAM	36	27,9	7	63,6	
	Ausência de DAC	81	67,5	3	30,0	0,0333
	Presença de DAC	39	32,5	7	70,00	
MPO rs2759 c.2149A>G	Ausência de Angina	91	68,9	1	20,0	0,0400
	Presença de Angina	41	31,1	4	80,0	
MTTP rs61733140 c.419A>G	Ausência de AVC	136	97,1	0	0,0	0,0355
	Presença de AVC	4	2,9	1	100,0	
MYLIP rs185701087 c.-995G>C	Feminino	91	66,9	1	20,0	0,0495
	Masculino	45	33,1	4	80,0	
NOS3 rs143125350 c.1837C>G	Ausência de Xantelasmas	117	85,4	0	0,0	0,0241
	Presença de Xantelasmas	20	14,6	2	100,0	
PCSK9 rs28362263 c.1327G>A	Ausência de Arco córneo	116	86,6	2	40,0	0,0246
	Presença de Arco córneo	18	13,4	3	60,0	
PON1 rs3917575 c.-260T>C	Ausência de Arco córneo	115	86,5	3	50,0	0,0444
	Presença de Arco córneo	18	13,5	3	50,0	
SCARB1 rs701103 c.-94G>A	Ausência de Arco córneo	113	87,6	5	50,0	0,0075
	Presença de Arco córneo	16	12,4	5	50,0	
APOA4 chr11: 116692241 c.533C>T	Ausência de AVC	136	97,1	0	0,0	0,0355
	Presença de AVC	4	2,9	1	100,0	

* Teste Wilcoxon-Mann-Whitney

Legenda*: ABCB1 - Transportador de Cassete Ligante de ATP Subfamília B Membro 1; AGT – Angiotensinogênio; APOA4 - Apolipoproteína A4; APOB – Apolipoproteína B; CLMN – Calmina; IL10 – Interleucina 10; LDLR – Receptor de LDL; LPA – lipoproteína (a); LPL - Lipoproteína Lipase; MTTP - Proteína Microsomal de transferência de triglicerídeos; PPP1R17 - Proteína Reguladora da Fosfatase 1 Subunidade 17.*

I. Currículo lattes

Jéssica Bassani Borges

Endereço para acessar este CV: http://lattes.cnpq.br/0578290348466026
Última atualização do currículo em 07/12/2018

Analista de Ciências Moleculares Jr no Instituto Dante Pazzanese de Cardiologia e Doutoranda em Biologia Molecular na Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo (FCF-USP) no Departamento de Análises Clínicas. Tem experiência na área de Farmácia, com ênfase em Biologia Molecular, atuando principalmente nos seguintes temas: polimorfismo, sequenciamento, anticoagulação, varfarina, monitoramento, hipercolesterolemia familal e aterosclerose. Experiência também na área de Microbiologia e Biologia Molecular e na área de Farmácia Clínica com extensão em Farmácia Clínica Oncológica **(Texto informado pelo autor)**

Identificação

Nome	Jéssica Bassani Borges
Nome em citações bibliográficas	BASSANI, J.;Borges, J.B.;Jéssica B. Borges;BORGES, JESSICA BASSANI

Endereço

Endereço Profissional	Instituto Dante Pazzanese de Cardiologia, Laboratório de Investigação Molecular em Cardiologia (LIMC). Av. Dr. Dante Pazzanese, 500 Vila Mariana 04012909 - São Paulo, SP - Brasil Telefone: (11) 50856000 Ramal: 6086

Formação acadêmica/titulação

2015	Doutorado em andamento em Farmácia (Fisiopatologia e Toxicologia) (Conceito CAPES 7). Universidade de São Paulo, USP, Brasil. Título: Ultrassequenciamento exômico dos principais genes relacionados com a hipercolesterolemia familiar, Orientador: Mario Hiroyuki Hirata. Palavras-chave: hipercolesterolemia familiar; APOB; receptor da LDL; PCSK9; Ultrassequenciamento. Grande área: Ciências Biológicas Grande Área: Ciências da Saúde / Área: Medicina / Subárea: Clínica Médica / Especialidade: Cardiologia. Setores de atividade: Pesquisa e desenvolvimento científico.
2010 - 2014	Graduação em Farmácia. Faculdades Oswaldo Cruz, FOC, Brasil. Título: AVALIAÇÃO DO CONTROLE DA DOR DE PACIENTES CIRÚRGICOS EM UM HOSPITAL ESCOLA DE NÍVEL SECUNDÁRIO. Orientador: Fabiana Albanese Trotta. Bolsista do(a): Programa Universidade para todos, PROUNI, Brasil.
2008 - 2009	Curso técnico/profissionalizante. ETEc Presidente Vargas, ETECPV, Brasil.
2007 - 2009	Ensino Médio (2º grau). ETEc Presidente Vargas, ETECPV, Brasil.
1999 - 2006	Ensino Fundamental (1º grau). E.E. Padre Simon Switzar, EEPSS, Brasil.

Formação Complementar

2017 - 2017

	II Escuela de Genómica Clínica 2017. (Carga horária: 88h). Universidad de Buenos Aires, UBA, Argentina.
2016 - 2016	Scientist 2 Scientist. (Carga horária: 8h). Thermo Fisher Scientific, TFS, Brasil.
2016 - 2016	Reviewing Enrichment and Small-RNA Data. (Carga horária: 24h). Illumina, ILLUMINA, Estados Unidos.
2014 - 2015	Extensão universitária em Extensão em Farmácia Clínica Oncológica. (Carga horária: 60h). Fundação Antônio Prudente, FAP, Brasil.
2014 - 2014	"Ultrassequenciamento:Técnicas,Aplicações e Dados. (Carga horária: 12h). Faculdade de Ciência Farmacêutica - USP, FCF - USP, Brasil.
2013 - 2013	Aperfeiçoamento: Crack. (Carga horária: 10h). Learncafe, LEARNCAFE, Brasil.
2013 - 2013	Intensivo de Cardiologia. (Carga horária: 36h). Instituto Dante Pazzanese de Cardiologia, IDPC, Brasil.
2013 - 2013	Alterações hematológicas e seus tratamentos. (Carga horária: 8h). Learncafe, LEARNCAFE, Brasil.
2013 - 2013	Curso introdutório à liga de Oncologia. (Carga horária: 12h). Faculdade de Medicina - USP, FMUSP, Brasil.
2011 - 2013	Inglês. (Carga horária: 288h). Reward Idiomas, RI, Brasil.
2012 - 2012	A química dos remédios, fármacos e medicamentos. (Carga horária: 25h). Learncafe, LEARNCAFE, Brasil.
2012 - 2012	Pesquisa Clínica: Oncologia. (Carga horária: 4h). Faculdade de Ciência Farmacêutica - USP, FCF - USP, Brasil.
2012 - 2012	Phonetics and Pronunciation cours. (Carga horária: 10h). Reward Idiomas, RI, Brasil.
2009 - 2009	Treinamento básico de Manipuladores de Alimentos. (Carga horária: 5h). Vigilância sanitária municipal, VISA, Brasil.
2008 - 2008	Mega múltiplo proficional (computação). (Carga horária: 100h). Mega Byte, MB, Brasil.
2007 - 2008	Espanhol. Centro Educacional de Línguas - EE. Prof. Raul Brasil, CEL, Brasil.

Atuação Profissional

Hospital Universitário - USP, HU - USP, Brasil.

Vínculo institucional	
2014 - 2015	Vínculo: Est, Enquadramento Funcional: Estágio, Carga horária: 10
Outras informações	Auxilio nas atividades de Farmácia Clínica da Clínica Cirurgica do Hospital. Execução do projeto: "Avalização do controle da dor em pacientes cirurgicos de um hospital escola de nível secundário."
Vínculo institucional	
2013 - 2014	Vínculo: Estágio Voluntário, Enquadramento Funcional: Estágio, Carga horária: 10
Outras informações	Apoio no projeto: Atenção farmacêutica: protocolo de monitoramento de pacientes em uso de anticoagulante oral. Professora: Eliane Ribeiro
Atividades	
05/2014 - 03/2015	Estágios , Departamento de Farmácia, . Estágio realizado Avalização do controle da dor em pacientes cirurgicos de um hospital escola de nível secundário.".
05/2014 - 03/2015	Estágios , Departamento de Farmácia, . Estágio realizado Avalização do controle da dor em pacientes cirurgicos de um hospital escola de nível secundário.".
05/2013 - 12/2014	Estágios , Departamento de Farmácia, . Estágio realizado Atenção farmacêutica: protocolo de monitoramento de pacientes em uso de anticoagulante oral..

Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo, FCF-USP, Brasil.

Vínculo institucional	
2013 - 2014	Vínculo: Bolsista, Enquadramento Funcional: Estagiário / Iniciação Científica, Carga horária: 20, Regime: Dedicação exclusiva.
Outras informações	Projeto: ""ANÁLISE DA ASSOCIAÇÃO DOSE/RESPOSTA E A PRESENÇA DE POLIMORFISMOS DE UM ÚNICO NUCLEOTÍDEO DO GENE VKORC1 VINCULADAS À FARMACOCINÉTICA E FARMACODINÂMICA DA VARFARINA" Projeto realizado em parceria com o Instituto Dante Pazzanese de Cardiologia. Professor: Mario Hiroyuki Hirata
Vínculo institucional	
2012 - 2013	Vínculo: Bolsista, Enquadramento Funcional: Estagiário / Iniciação Científica, Carga horária: 20, Regime: Dedicação exclusiva.
Outras informações	

Projeto: Associação do processo inflamatório da aterosclerose com os polimorfismos genéticos LIGHT, MMP9 e LTα em pacientes tratados com varfarina. Realizado em parceria com o Instituto Dante Pazzanese de Cardiologia. Professor: Mario Hiroyuki Hirata

Vínculo institucional

2010 - 2011
Vínculo: Aluno não bolsista, Enquadramento Funcional: Iniciação Científica, Carga horária: 20, Regime: Dedicação exclusiva.

Outras informações
Projeto: "Investigação da função biológica de YFR012W no processo de tradução protéica em Saccharomyces cerevisiae." Projeto não finalizado por motivo de afastamento da orientadora por gravidez. Professora: Gisele Monteiro de Souza

Atividades

08/2013 - 07/2014
Estágios , Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas, .
Estágio realizado
ANÁLISE DA ASSOCIAÇÃO DOSE/RESPOSTA E A PRESENÇA DE POLIMORFISMOS DE UM ÚNICO NUCLEOTÍDEO DO GENE VKORC1 VINCULADAS À FARMACOCINÉTICA E FARMACODINÂMICA DA VARFARINA.

08/2012 - 07/2013
Estágios , Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas, .
Estágio realizado
Associação do processo inflamatório da aterosclerose com os polimorfismos genéticos LIGHT, MMP9 e LTα em pacientes tratados com varfarina..

01/2010 - 07/2011
Estágios , Departamento de Tecnologia Bioquímico-Farmacêutica, .
Estágio realizado
Investigação da função biológica da YFR012W no processo de tradução protéica em Saccharomyces cerevisiae.

Instituto Dante Pazzanese de Cardiologia, IDPC, Brasil.

Vínculo institucional

2015 - Atual
Vínculo: Celetista, Enquadramento Funcional: Analista de Ciências Moleculares Jr., Carga horária: 40

Atividades

07/2017 - 07/2017
Ensino, Iniciação Científica e Aperfeiçoamento Profissional, Nível: Aperfeiçoamento
Disciplinas ministradas
Convidada para ministrar a aula: "Sequenciamento de Nova Geração e Pirosequenciamento"

04/2017 - 04/2017
Ensino, Iniciação Científica e Aperfeiçoamento Profissional, Nível: Aperfeiçoamento
Disciplinas ministradas
Convidada para ministrar a aula: "Noções de Biossegurança para o Laboratório"

Projetos de pesquisa

2018 - Atual
Caracterização genômica, epigenômica e farmacogenômica de portadores de Hipercolesterolemia Familial na população brasileira
Projeto certificado pelo(a) coordenador(a) Mario Hiroyuki Hirata em 17/07/2018.
Situação: Em andamento; Natureza: Pesquisa.
Alunos envolvidos: Graduação: (3) / Especialização: (2) / Mestrado acadêmico: (8) / Doutorado: (5) .
Integrantes: Jéssica Bassani Borges - Integrante / Mario Hiroyuki Hirata - Coordenador / Rosario Dominguez Crespo Hirata - Integrante / Hui-Tzu Lin Wang - Integrante / Lara Reinel Castro - Integrante / Thais Kristini Almendros Afonso - Integrante / Gisele Medeiros Bastos - Integrante / Elisangela da Silva Rodrigues - Integrante / Helena Strelow Thurow - Integrante / Marcelo Ferraz Sampaio - Integrante / André Arpaad Faludi - Integrante / Rodrigo Marques Gonçalves - Integrante / Thiago Dominguez Crespo Hirata - Integrante / Alvaro Danilo Cerda Maureira - Integrante / Cristina Moreno Fajardo - Integrante / Amanda Guerra de Moraes Rego Sousa - Integrante / Adriana Regina Garofalo - Integrante / Maria Brion - Integrante / Bruna Los - Integrante / Carolina Dagli Hernandez - Integrante / Renata Gorjao - Integrante / Adriana Cristina Levada-Pires - Integrante / Sandro Massao Hirabara - Integrante / Ana Cristina Fernandes Lopes - Integrante / Adriana Bertolami - Integrante / Eduardo Polizini Faludi - Integrante / Henri Paulo Zatz - Integrante / Daniel Branco de Araujo - Integrante / Marcelo Chiara Bertolami - Integrante / João Ítalo Dias França - Integrante / Maria Eduarda Fett Nisshida - Integrante / Ester Sung Yoon Ji - Integrante / Carlos Eduardo Alves Furtado de Mendonça - Integrante / Helder Nakaya - Integrante / Jaqueline Yu Ting Wang - Integrante / Mindy Stephania de los Angeles Munoz Miranda - Integrante / Andre Ducati Luchessi - Integrante / Vivian Silbiger - Integrante / Renata Caroline Costa de Freitas - Integrante / Raul Hernandes Bortolin - Integrante / Dorotéia Rossi Silva Souza - Integrante / Marcelo Arruda Nakazone - Integrante / Tayanne Silva do Carmo - Integrante / Sabrina Mayara Cezario - Integrante / Alexandre da Costa Pereira - Integrante / Cinthia Elim Jannes Lepski - Integrante / Patricia Moriel - Integrante / Andrei Carvalho Sposito - Integrante / Eder de Carvalho Pincinato - Integrante / Augusto Ducati Luchessi - Integrante / Emilio Hideyuki Moriguchi - Integrante / Neide Maria Bruscatto - Integrante / Lilian Vivian - Integrante / Tania Cristina Pithon-Curi - Integrante.Financiador(es): Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo - Auxílio financeiro.

2017 - Atual
Desenvolvimento e avaliação de um método molecular único para diagnóstico e teste de sensibilidade aos antimicrobianos na endocardite infecciosa
Situação: Em andamento; Natureza: Pesquisa.

2015 - Atual

	?Ultrassequenciamento exômico dos principais genes relacionados com a hipercolesterolemia familiar? Projeto certificado pelo(a) coordenador(a) Mario Hiroyuki Hirata em 31/03/2015. Situação: Em andamento; Natureza: Pesquisa. Alunos envolvidos: Graduação: (1) / Doutorado: (1) . Integrantes: Jéssica Bassani Borges - Coordenador / Mario Hiroyuki Hirata - Integrante.Financiador(es): Conselho Nacional de Desenvolvimento Cientifico e Técnico - Auxílio financeiro.
2014 - 2016	AVALIAÇÃO DO CONTROLE DA DOR DE PACIENTES CIRÚRGICOS EM UM HOSPITAL ESCOLA DE NÍVEL SECUNDÁRIO Situação: Concluído; Natureza: Pesquisa. Alunos envolvidos: Graduação: (4) . Integrantes: Jéssica Bassani Borges - Integrante / Karine Dal Paz - Coordenador / Camila Rodrigues Gomez - Integrante / Carina Brandão Diniz - Integrante / Viviane Cardoso Segura - Integrante / Fabiana Albanese Trotta - Integrante.
2014 - Atual	Predisposição genética de arritmias e morte súbita em pacientes em uso de antipsicóticos e antidepressivos. Projeto certificado pelo(a) coordenador(a) Mario Hiroyuki Hirata em 07/07/2018. Situação: Em andamento; Natureza: Pesquisa.
2013 - 2014	"ANÁLISE DA ASSOCIAÇÃO DOSE/RESPOSTA E A PRESENÇA DE POLIMORFISMOS DE UM ÚNICO NUCLEOTÍDEO DO GENE VKORC1 VINCULADAS À FARMACOCINÉTICA E FARMACODINÂMICA DA VARFARINA" Projeto certificado pelo(a) coordenador(a) Mario Hiroyuki Hirata em 04/11/2014. Situação: Concluído; Natureza: Pesquisa. Alunos envolvidos: Graduação: (1) . Integrantes: Jéssica Bassani Borges - Integrante / Thiago Domingues Crespo Hirata - Integrante / Rosario Domingues Crespo Hirata - Integrante / Mario Hiroyuki Hirata - Coordenador.
2013 - Atual	PESQUISA DE NOVOS BIOMARCADORES MOLECULARES NA SINDROME METABOLICA PELO miRNOMA SANGUÍNEO E SUA APLICAÇÃO COMO FATOR DE RISCO CARDIOVASCULAR Projeto certificado pelo(a) coordenador(a) Mario Hiroyuki Hirata em 07/07/2018. Situação: Em andamento; Natureza: Pesquisa.
2012 - 2014	Atenção farmacêutica: protocolo de monitoramento de pacientes em uso de anticoagulante oral Situação: Concluído; Natureza: Pesquisa. Alunos envolvidos: Graduação: (2) . Integrantes: Jéssica Bassani Borges - Coordenador / Eliane Ribeiro - Integrante / Ana Paula Curi - Integrante / Eunice Kazue Kano - Integrante / Érika Burim Scomparini - Integrante.
2012 - 2013	?ASSOCIAÇÃO DO PROCESSO INFLAMATÓRIO DA ATEROSCLEROSE COM OS POLIMORFISMOS GENÉTICOS LIGHT, MMP9 E LTα EM PACIENTES TRATADOS COM VARFARINA.? Projeto certificado pelo(a) coordenador(a) Mario Hiroyuki Hirata em 04/11/2014. Situação: Concluído; Natureza: Pesquisa. Alunos envolvidos: Graduação: (1) . Integrantes: Jéssica Bassani Borges - Integrante / Thiago Domingues Crespo Hirata - Integrante / Rosario Domingues Crespo Hirata - Integrante / Mario Hiroyuki Hirata - Coordenador.
2010 - 2011	Investigação da função biológica de YFR012W no processo de tradução protéica em Saccharomyces cerevisiae. Descrição: Biologia Molecular.. Situação: Desativado; Natureza: Pesquisa. Alunos envolvidos: Graduação: (1) . Integrantes: Jéssica Bassani Borges - Integrante / Gisele Monteiro de Souza - Coordenador.

Revisor de periódico

2015 - Atual	Periódico: Omics Group
2016 - 2016	Periódico: SCIENCEDOMAIN international

Áreas de atuação

1.	Grande área: Ciências da Saúde / Área: Farmácia / Subárea: Biologia Molecular.
2.	Grande área: Ciências da Saúde / Área: Farmácia / Subárea: Pesquisa clínica.
3.	Grande área: Ciências da Saúde / Área: Farmácia / Subárea: Anticoagulação - Varfarina.
4.	Grande área: Ciências da Saúde / Área: Farmácia / Subárea: Biologia Molecular e Celular.
5.	Grande área: Ciências da Saúde / Área: Farmácia / Subárea: Bioquímica.
6.	Grande área: Ciências da Saúde / Área: Medicina / Subárea: Cardiologia.

Idiomas

Espanhol	Compreende Bem, Fala Bem, Lê Bem, Escreve Bem.
Inglês	Compreende Razoavelmente, Fala Razoavelmente, Lê Bem, Escreve Razoavelmente.

Prêmios e títulos

2017	Best Paper Award, International Society for Computacional Biology - 2nd Brazilian Student Council Symposium.
2017	Segundo Lugar - Melhores Temas Livres pôsteres Residentes, Sociedade Brasileira de Cardiologia.
2016	Segundo Lugar - Categoria Poster, Sociedade Brasileira de Cardiologia.
2014	Mensão Honrosa no 5º Congresso do Uso Racional de Medicamentos, Departamento de Assistência Farmacêutica e Insumos Estratégicos.

Produções

Produção bibliográfica

Artigos completos publicados em periódicos

Ordenar por

Ordem Cronológica

1. KANO, EUNICE KAZUE ; **BORGES, JESSICA BASSANI** ; SCOMPARINI, ERIKA BURIM ; CURI, ANA PAULA ; RIBEIRO, ELIANE . Algorithms for monitoring warfarin use: Results from Delphi Method. REVISTA DA ASSOCIAÇÃO MÉDICA BRASILEIRA JCR , v. 63, p. 842-855, 2017.
2. **Borges, J.B.**; HIRATA, T. D. C. ; Cerda A ; Farjado, CM ; Cesar, RCC ; Franç, JID ; Santos, JC ; Wang, HL ; Liporace, IL ; Castro, LR ; Sampaio, MF ; Souza, AGMR ; Hirata, RDC ; HIRATA, M. H. . Polymorphisms in Genes Encoding Metalloproteinase 9 and Lymphotoxin- Alpha can Influence Warfarin Treatment. Journal of Pharmacogenomics & Pharmacoproteomics, v. 06, p. 1-6, 2014.

Capítulos de livros publicados

1. THUROW, H. S. ; **Borges, J.B.** . Biossegurança na era genômica. In: Mario Hiroyuki Hirata, Jorge Mancini Filho, Rosario Dominguez Crespo Hirata. (Org.). Manual de Biossegurança. 3ªed.Barueri: Manole Ltda, 2017, v. , p. 423-434.

Resumos publicados em anais de congressos

1. **Borges, J.B.**; THUROW, H. S. ; HERNANDEZ, C. D. ; FREITAS, R. C. C. ; BASTOS, G. M. ; GONCALVES, R. M. ; FALUDI, A. A. ; HIRATA, R. D. C. ; HIRATA, M. H. . Characterization of the Most Frequent Variants in a Brazilian Population with Familial Hypercholesterolemia. In: ACMG Annual Clinical Genetics Meeting, 2018, Chalotte. ACMG Annual Clinical Genetics Meeting, 2018.
2. HERNANDEZ, C. D. ; **Borges, J.B.** ; FALUDI, A. A. ; GONCALVES, R. M. ; HIRATA, M. H. ; HIRATA, R. D. C. . RESPONSE TO CHOLESTEROL-LOWERING THERAPY IS ASSOCIATED WITH ADVERSE MUSCULAR EVENTS IN PATIENTS WITH FAMILIAL HYPERCHOLESTEROLEMIA. In: IV CONGRESS BRAZILIAN ASSOCIATION OF PHARMACEUTICAL SCIENCES (ABCF), 2018, São Paulo. The Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences. São Paulo: Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences, 2018. v. 54. p. 188-188.
3. BASTOS, G. M. ; BRAGA, A. A. ; SALDARRIAGA, M. E. G. ; WANG, H. T. L. ; **Borges, J.B.** ; CASTRO, L. R. ; SAMPAIO, M. F. ; BORTOLIN, R. H. ; FRANCA, J. I. D. ; HIRATA, R. D. C. ; HIRATA, M. H. . MIR-183-5P E MIR-421 COMO BIOMARCADORES EPIGENÉTICOS PRECOCES DA SÍNDROME METABÓLICA. In: 73º Congresso Brasileiro de Cardiologia, 2018, Brasília. Arquivos Brasileiros de Cardiologia. São Paulo: Arquivos Brasileiros de Cardiologia, 2018. v. 111. p. 41-41.
4. HERNANDEZ, C. D. ; LOS, B. ; **Borges, J.B.** ; FREITAS, R. C. C. ; BASTOS, G. M. ; GONCALVES, R. M. ; FALUDI, A. A. ; HIRATA, R. D. C. ; HIRATA, M. H. . INFLUÊNCIA DA VARIANTE APOA5 C.56G>C NO PERFIL LIPÍDICO DE INDIVÍDUOS COM HIPERCOLESTEROLEMIA FAMILIAL.. In: 73º Congresso Brasileiro de Cardiologia, 2018, Brasília. Arquivos Brasileiros de Cardiologia. São Paulo: Sociedade Brasileira de Cardiologia, 2018. v. 111. p. 187-187.
5. HERNANDEZ, C. D. ; **BASSANI, J.** ; LOS, B. ; FALUDI, A. A. ; GONCALVES, R. M. ; HIRATA, M. H. ; HIRATA, R. D. C. . Rare variants in CYP2C9 and CYP3A5 detected in patients with familial hypercholesterolemia with statin-related adverse events. In: 9th Santorini Conference Systems Medicine and Personalised Health & Therapy, 2018, Santorini. 9th Santorini Conference Systems Medicine and Personalised Health & Therapy, 2018. p. eA52-eA52.
6. TARGINO, DECARTHON VITOR DANTAS ; GONCALVES, R. M. ; CASTRO, F. A. P. ; **Borges, J.B.** ; FALUDI, A. A. . PRESENÇA DE VARIANTES GENÉTICAS NÃO DESCRITAS, EM PACIENTES COM CRITÉRIOS DE DUTCH DIAGNÓSTICOS PARA HIPERCOLESTEROLEMIA FAMILIAR. In: 72º Congresso Brasileiro de Cardiologia, 2017, São Paulo. Arquivos Brasileiros de Cardiologia, 2017.
7. LOS, B. ; **Borges, J.B.** ; BASTOS, G. M. ; FALUDI, A. A. ; HIRATA, R. D. C. ; HIRATA, M. H. . : In-silico Structural Characterization of Variants Found in PCSK9 gene Identified in Familial Hypercholesterolemic Patients. In: X-Meeting 2017 - AB3C, 2017, São Paedro. Proceedings X-Meeting 2017, 2017. p. 136-136.
8. **Borges, J.B.**; BASTOS, G. M. ; AFONSO, T. K. A. ; RODRIGUES, E. S. ; THUROW, H. S. ; FALUDI, A. A. ; GONCALVES, R. M. ; SOUSA, A. G. M. R. ; Hirata, RDC ; HIRATA, M. H. . Next generation sequencing in the diagnosis of familial hypercholesterolemia. In: 85º European Atherosclerosis Society, 2017, Praga. Atherosclerosis, 2017. v. 263. p. e111-e282.
9. **Borges, J.B.**; AFONSO, T. K. A. ; BASTOS, G. M. ; RODRIGUES, E. S. ; THUROW, H. S. ; SAMPAIO, M. F. ; FALUDI, A. A. ; GONCALVES, R. M. ; HIRATA, R. D. C. ; HIRATA, M. H. . Ultrassequenciamento exômico dos genes LDLR, APOB. PCSK9 e APOE em pacientes com Hipercolesterolemia Familiar. In: XXXVII Congresso da Sociedade de Cardiologia do Estado de São Paulo, 2016, São Paulo. Suplemento da Revista da Sociedade de Cardiologia do Estado de São Paulo, 2016. v. 26. p. 165.. São Paulo: Maria Cristina de Oliveira Izar, 2016. v. 26. p. 165-165.

10. **Jéssica B. Borges**; AFONSO, T. K. A. ; BASTOS, G. M. ; RODRIGUES, E. S. ; THUROW, H. S. ; HIRATA, T.D.C. ; FALUDI, A. A. ; GONCALVES, R. M. ; SOUSA, A. G. M. R. ; HIRATA, R. D. C. ; HIRATA, M. H. . PCSK9 rs562556 e uma possível contribuiçãi para o fenótipo de hipercolesterolemia familiar em uma populaçã brasileira - Projeto Piloto. In: 71º Congresso Brasileiro de Cardiologia, 2016, Fortaleza. Arquivos Brasileiros de Cardiologia. Rio de Janeiro: SBC ? Tecnologia da Informação e Comunicação Núcleo Interno de Publicações, 2016. v. 107. p. 16-16.
11. BASTOS, G. M. ; CASTRO, L. R. ; SOUZA, D. D. ; **Jéssica B. Borges** ; SALDARRIAGA, M. E. G. ; FAJARDO, C. M. ; GERMANO, J. F. ; HIRATA, R. D. C. ; SOUSA, A. G. M. R. ; HIRATA, M. H. . Novas mutações nos genes MYH7, MYBPC3 e TNNT2 relacionados à cardiomiopatia hipertrófica. In: 71º Congresso Brasileiro de Cardiologia, 2016, Fortaleza. Arquivos Brasileiros de Cardiologia. Rio de Janeiro: SBC ? Tecnologia da Informação e Comunicação Núcleo Interno de Publicações, 2016. v. 107. p. 15-15.
12. Castro, LR ; HIRATA, M. H. ; SAMPAIO, M. F. ; HIRATA, T. D. C. ; HIRATA, R. D. C. ; GAROFALO, A. R. ; BASTOS, G. M. ; **Jéssica B. Borges** ; FAJARDO, C. M. ; BRION, M. ; ALVAREZ, A. M. C. ; SOUSA, A. G. M. R. . Utilidade diagnóstica do Ultrasequenciamento na identificação de mutações e caracterização genética da Cardiomiopatia Hipertrófica Familiar. In: 71º Congresso Brasileiro de Cardiologia, 2016, Fortaleza. Arquivos Brasileiros de Cardiologia. Rio de Janeiro: SBC ? Tecnologia da Informação e Comunicação Núcleo Interno de Publicações, 2016. v. 107. p. 21-21.
13. CASTRO, L. R. ; SAMPAIO, M. F. ; HIRATA, M. H. ; HIRATA, T. D. C. ; HIRATA, R. D. C. ; BASTOS, G. M. ; FAJARDO, C. M. ; **Jéssica B. Borges** ; CORREIA, E. B. ; SOUSA, A. G. M. R. ; ALVAREZ, A. M. C. ; BRION, M. . Diagnostico molecular da Cardiomiopatia Hipertrofica por ultrassequenciamento do exoma de genes específicos. In: 71º Congresso Brasileiro de Cardiologia, 2016, Fortaleza. Arquivos Brasileiros de Cardiologia. Rio de Janeiro: SBC ? Tecnologia da Informação e Comunicação Núcleo Interno de Publicações, 2016. v. 107. p. 20-20.
14. **Jéssica B. Borges**; BASTOS, G. M. ; AFONSO, T. K. A. ; RODRIGUES, E. S. ; THUROW, H. S. ; HIRATA, T.D.C. ; FALUDI, A. A. ; GONCALVES, R. M. ; HIRATA, R. D. C. ; HIRATA, M. H. . Study of APOB mutations and familial hypercholesterolemia phenotypes. In: 84th EAS Congress, 2016, Innsbruck. Atherosclerosis, 2016. v. 252. p. e43-e43.

Apresentações de Trabalho

1. LOS, B. ; HERNANDEZ, C. D. ; **Borges, J.B.** ; BASTOS, G. M. ; FALUDI, A. A. ; HIRATA, R. D. C. ; HIRATA, M. H. . Identification of the PCSK9 E32K gain-of-function mutation in a brazilian patient with familial hypercholesterolemia: a case report. 2018. (Apresentação de Trabalho/Simpósio).
2. HERNANDEZ, C. D. ; LOS, B. ; **Borges, J.B.** ; FREITAS, R. C. C. ; BASTOS, G. M. ; GONCALVES, R. M. ; FALUDI, A. A. ; HIRATA, R. D. C. ; HIRATA, M. H. . INFLUÊNCIA DA VARIANTE APOA5 C.56G>C NO PERFIL LIPÍDICO DE INDIVÍDUOS COM HIPERCOLESTEROLEMIA FAMILIAL. 2018. (Apresentação de Trabalho/Congresso).
3. BASTOS, G. M. ; BRAGA, A. A. ; SALDARRIAGA, M. E. G. ; WANG, H. T. L. ; **Borges, J.B.** ; CASTRO, L. R. ; SAMPAIO, M. F. ; BORTOLIN, R. H. ; FRANCA, J. I. D. ; HIRATA, R. D. C. ; HIRATA, M. H. . MIR-183-5P E MIR-421 COMO BIOMARCADORES EPIGENÉTICOS PRECOCES DA SÍNDROME METABÓLICA. 2018. (Apresentação de Trabalho/Congresso).
4. LOS, B. ; FREITAS, R. C. C. ; BORTOLIN, R. H. ; HERNANDEZ, C. D. ; **Borges, J.B.** ; BONEZI, V. ; HIRATA, R. D. C. ; HIRATA, M. H. . mRNA-microRNA integrated analysis in Familial Hypercholesterolemia using Watson platform and microarray datasets. 2018. (Apresentação de Trabalho/Conferência ou palestra).
5. HERNANDEZ, C. D. ; **Borges, J.B.** ; FALUDI, A. A. ; GONCALVES, R. M. ; HIRATA, M. H. ; HIRATA, R. D. C. . RESPONSE TO CHOLESTEROL-LOWERING THERAPY IS ASSOCIATED WITH ADVERSE MUSCULAR EVENTS IN PATIENTS WITH FAMILIAL HYPERCHOLESTEROLEMIA. 2018. (Apresentação de Trabalho/Congresso).
6. **Borges, J.B.**; BASTOS, G. M. ; AFONSO, T. K. A. ; THUROW, H. S. ; FALUDI, A. A. ; GONCALVES, R. M. ; SOUSA, A. G. M. R. ; Hirata, RDC ; HIRATA, M. H. . Associação entre o número de variantes e o desenvolvimento de DAC precoce em pacientes com HF. 2017. (Apresentação de Trabalho/Congresso).
7. LOS, B. ; **Borges, J.B.** ; BASTOS, G. M. ; FALUDI, A. A. ; HIRATA, R. D. C. ; HIRATA, M. H. . In-silico Structural Characterization of Variants Found in PCSK9 gene Identified in Familial Hypercholesterolemic Patients. 2017. (Apresentação de Trabalho/Conferência ou palestra).
8. LOS, B. ; **Borges, J.B.** ; BASTOS, G. M. ; FALUDI, A. A. ; Hirata, RDC ; HIRATA, M. H. . In-silico Structural Characterization of Variants Found in PCSK9 gene Identified in Familial Hypercholesterolemic Patients. 2017. (Apresentação de Trabalho/Simpósio).
9. TARGINO, DECARTHON VITOR DANTAS ; GONCALVES, R. M. ; CASTRO, F. A. P. ; **Borges, J.B.** ; FALUDI, A. A. . PRESENÇA DE VARIANTES GENÉTICAS NÃO DESCRITAS, EM PACIENTES COM CRITÉRIOS DE DUTCH DIAGNÓSTICOS PARA HIPERCOLESTEROLEMIA FAMILIAR. 2017. (Apresentação de Trabalho/Congresso).
10. **BASSANI, J.**; AFONSO, T. K. A. ; BASTOS, G. M. ; RODRIGUES, E. S. ; THUROW, H. S. ; HIRATA, T. D. C. ; FALUDI, A. A. ; GONCALVES, R. M. ; SOUSA, A. G. M. R. ; HIRATA, R. D. C. ; HIRATA, M. H. . PCSK9 rs562556 e uma possível contribuição para o fenótipo de Hipercolesterolemia familiar em uma população brasileira - Projeto Piloto. 2016. (Apresentação de Trabalho/Congresso).
11. **Borges, J.B.**; HIRATA, M. H. ; HIRATA, R. D. C. ; HIRATA, T. D. C. . 'ANÁLISE DA ASSOCIAÇÃO DOSE/RESPOSTA E A PRESENÇA DE POLIMORFISMOS DE UM ÚNICO NUCLEOTÍDEO DO GENE VKORC1 VINCULADAS À FARMACOCINÉTICA E FARMACODINÂMICA DA VARFARINA'. 2014. (Apresentação de Trabalho/Simpósio).
12. RIBEIRO, E. ; KANO, E. K. ; CURI, A. P. ; **Borges, J.B.** . Algoritmos de Monitoramento do Uso de Anticoagulante Oral. 2014. (Apresentação de Trabalho/Congresso).
13. **BASSANI, J.**; HIRATA, T. D. C. ; HIRATA, R. D. C. ; HIRATA, M. H. . ?Associação do processo inflamatório da aterosclerose com os polimorfismos genéticos LIGHT, MMP9 e LT□ em pacientes tratados com varfarina. 2013. (Apresentação de Trabalho/Simpósio).

Eventos

Participação em eventos, congressos, exposições e feiras

1. XVII Simpósio de Biossegurança e Segurança Química em Instituições de Ensino e Pesquisa. 2018. (Simpósio).
2. Lipids in 21 century: Where we are?. 2017. (Outra).
3.

XVI CONGRESSO BRASILEIRO DE ATEROSCLEROSE. Associação entre o número de variantes e o desenvolvimento de DAC precoce em pacientes com HF. 2017. (Congresso).

4. 71º Congresso Brasileiro de Cardiologia. PCSK9 rs562556 e uma possível contribuição para o fenótipo de Hipercolesterolemia familiar. 2016. (Congresso).
5. XV Simpósio de Biossegurança Química e Biológica em Instituição de ensino e pesquisa. 2016. (Simpósio).
6. Simpósio de biossegurança e descartes de produtos químicos p perigosos e organismos genéticamente modificados (OGMs)em instituilçao de ensino e pesquisa. I Simpósio de segurança química e biológica. 2015. (Simpósio).
7. VI Simpósio de pós-graduação em análises clínicas (SIMPAC) e I International Syposiu on pathophysiology and toxicology. 2015. (Simpósio).
8. 22ºSIICUSP - Simpósio Internacional de Iniciação Científica."ANÁLISE DA ASSOCIAÇÃO DOSE/RESPOSTA E A PRESENÇA DE POLIMORFISMOS DE UM ÚNICO NUCLEOTÍDEO DO GENE VKORC1 VINCULADAS À FARMACOCINÉTICA E FARMACODINÂMICA DA VARFARINA". 2014. (Simpósio).
9. 5º Congresso Brasileiro sobre o Uso Racional de Medicamentos. Atenção farmacêutica: protocolo de monitoramento de pacientes em uso de anticoagulante oral. 2014. (Congresso).
10. Demonstração de Workflow V3. 2014. (Outra).
11. Simpósio de Biossegurança e Descarte de Produtos Químicos Perigosos e OGMs em Instituições de Ensino e Pesquisa. 2014. (Simpósio).
12. 21ºSIICUSP - Simpósio Internacional de Iniciação Científica.Associação do processo inflamatório da aterosclerose com os polimorfismos genéticos LIGHT, MMP9 e LT□ em pacientes tratados com varfarina. 2013. (Simpósio).
13. 3º Simpósio de Outono - Arritmias Cardíacas. 2013. (Simpósio).
14. ESPT - Second Conference Pharmacogenomics: From to cell to clinic. Contribution of polymorphisms in vkorc1, cyp2c9 and other candidate genes on therapeutic management of warfarin. 2013. (Congresso).
15. ESPT - Second Conference Pharmacogenomics: From to cell to clinic. Association of LIGHT polymorphism with response to warfarin therapy in Brazilian individuals. 2013. (Congresso).
16. Simpósio de Biossegurança e Descartes de Produtos Químicos Perigosos em Instituições de Ensino e Pesquisa. 2013. (Simpósio).
17. Challenges in Doping Control. 2012. (Outra).
18. Dia D- Feira de Profissões. A carreira do Farmacêutico: da universidade ao mercado de trabalho. 2012. (Feira).
19. Merck Experience. 2012. (Outra).
20. Semana Farmacêutica - Faculdades Oswaldo Cruz. 2012. (Outra).
21. Simpósio de Biossegurança e Descartes de Produtos Químicos Perigosos em Instituições de Ensino e Pesquisa. 2012. (Simpósio).
22. Semana Farmacêutica - Faculdades Oswaldo Cruz. 2011. (Outra).
23. SUPFBAB - Semana Universitária Paulista de Farmácia e Bioquímica. 2010. (Outra).
24. Fórum Mundial da Educação Alto Tietê. 2007. (Outra).

Outras informações relevantes

Aprovada no teste de Proficiência em Inglês da Cultura Inglesa em 2014.

J. Ficha do aluno

Janus - Sistema Administrativo da Pós-Graduação

Universidade de São Paulo
Faculdade de Ciências Farmacêuticas
Documento sem validade oficial
FICHA DO ALUNO

9136 - 8227522/1 - Jéssica Bassani Borges

Email:	jessicabassani@usp.br
Data de Nascimento:	05/10/1992
Cédula de Identidade:	RG - 30.496.926-6 - SP
Local de Nascimento:	Estado de São Paulo
Nacionalidade:	Brasileira
Graduação:	Farmácia - Fundação Oswaldo Cruz - São Paulo - Brasil - 2015

Curso:	Doutorado Direto
Programa:	Farmácia (Fisiopatologia e Toxicologia)
Área:	Análises Clínicas
Data de Matrícula:	02/02/2015
Início da Contagem de Prazo:	02/02/2015
Data Limite para o Depósito:	04/02/2019
Orientador:	Prof(a). Dr(a). Mario Hiroyuki Hirata - 02/02/2015 até o presente. Email: mhhirata@usp.br
Proficiência em Línguas:	Inglês, Aprovado em 02/02/2015
Data de Aprovação no Exame de Qualificação:	Aprovado em 27/03/2017
Data do Depósito do Trabalho:	
Título do Trabalho:	
Data Máxima para Aprovação da Banca:	
Data de Aprovação da Banca:	
Data Máxima para Defesa:	
Data da Defesa:	
Resultado da Defesa:	
Histórico de Ocorrências:	Primeira Matrícula em 02/02/2015

Aluno matriculado no Regimento da Pós-Graduação USP (Resolução nº 6542 em vigor de 20/04/2013 até 28/03/2018).
Última ocorrência: Matrícula de Acompanhamento em 16/07/2018
Impresso em: 10/01/2019 16:59:46

Janus - Sistema Administrativo da Pós-Graduação

Universidade de São Paulo
Faculdade de Ciências Farmacêuticas
Documento sem validade oficial
FICHA DO ALUNO

9136 - 8227522/1 - Jéssica Bassani Borges

Sigla	Nome da Disciplina	Início	Término	Carga Horária	Cred.	Freq.	Conc.	Exc.	Situação
FBC5761-6/2	Tópicos Avançados em Bioquímica Clínica	02/02/2015	04/03/2015	60	4	100	A	N	Concluída
FBC5792-3/2	Tópicos em Análises Clínicas III	03/03/2015	16/06/2015	15	1	100	A	N	Concluída
FBC5708-5/3	Farmacogenômica Cardiovascular	06/03/2015	17/04/2015	90	0	-	-	N	Turma cancelada
QBQ5759-5/1	Tópicos Avançados de Bioquímica e Biologia Molecular I (Instituto de Química - Universidade de São Paulo)	19/03/2015	01/07/2015	30	2	100	A	N	Concluída
FBC5766-4/2	Tópicos em Análises Clínicas IV	04/08/2015	16/11/2015	15	1	75	B	N	Concluída
TIC5018-1/1	Metodologia Científica e Bioestatística (Instituto Dante Pazzanese de Cardiologia - Universidade de São Paulo)	11/08/2015	02/11/2015	120	0	-	-	N	Matrícula cancelada
FBC5708-5/4	Farmacogenômica Cardiovascular	19/10/2015	02/12/2015	90	6	100	A	N	Concluída
FBC5700-6/2	Aterosclerose: Fisiopatologia, Diagnóstico e Terapêutica	03/11/2015	30/11/2015	60	4	100	A	N	Concluída
MCP5845-3/1	Tópicos Avançados em Genética e Cardiologia Molecular (Faculdade de Medicina - Universidade de São Paulo)	01/03/2016	14/03/2016	30	2	100	B	N	Concluída
BTC5734-6/1	Organização e Fluxo da Informação Genética em Sistemas Complexos (Curso Interunidades: Biotecnologia - Universidade de São Paulo)	09/05/2016	12/06/2016	75	5	90	A	N	Concluída
TIC5016-2/1	Dislipidemia e Hipertensão - Novas Técnicas no Diagnóstico e Tratamento (Instituto Dante Pazzanese de Cardiologia - Universidade de São Paulo)	21/11/2016	11/12/2016	90	6	100	A	N	Concluída

	Créditos mínimos exigidos		Créditos obtidos
	Para exame de qualificação	Para depósito de tese	
Disciplinas:	0	25	31
Estágios:			
Total:	0	25	31

Créditos Atribuídos à Tese: 167

Conceito a partir de 02/01/1997:
A - Excelente, com direito a crédito; B - Bom, com direito a crédito; C - Regular, com direito a crédito; R - Reprovado; T - Transferência.

Um(1) crédito equivale a 15 horas de atividade programada.

Última ocorrência: Matrícula de Acompanhamento em 16/07/2018
Impresso em: 10/01/2019 16:59:46