

FATTORI DI RISCHIO

IPERCOLESTEROLEMIA FAMILIARE E RISCHIO CARDIOVASCOLARE: C'È SOLO IL COLESTEROLO LDL? Familial hypercholesterolemia and cardiovascular risk: is there only LDL cholesterol?

**ELENA COSENTINI, MASSIMO R. MANNARINO, MATTEO PIRRO,
VANESSA BIANCONI**

Dipartimento di Medicina, Università degli Studi di Perugia

SUMMARY

Familial hypercholesterolemia (FH) is a common cause of primary hypercholesterolemia and is characterized by a significant increase in LDL-cholesterol (LDL-C) levels due to a defective plasma low-density lipoprotein particles (LDL) clearance. FH patients are exposed to high LDL-C levels, from birth and throughout their life, with an early onset of atherosclerosis and an increased risk of cardiovascular (CV) events. Although FH is a monogenic disease, its phenotype is quite heterogeneous. In particular, striking differences in the incidence of CV events exist among FH patients with the same causative genetic mutation and with similar LDL-C levels. Beyond LDL-C, other factors may contribute to the increased CV risk in FH patients. This review discusses the role of various traditional CV risk factors and the potential impact of some emerging factors in the early onset of atherosclerotic disease in the FH population.

Keywords: *familial hypercholesterolemia, LDL cholesterol, cardiovascular risk, genetics.*

Introduzione

L'ipercolesterolemia familiare (FH) è una malattia genetica caratterizzata da un'alterata *clearance* delle particelle lipoproteiche a bassa densità (LDL) circolanti e dal conseguente incremento significativo dei livelli plasmatici di colesterolo

LDL (C-LDL). Questa condizione è associata ad un aumentato rischio di eventi cardiovascolari (CV) (1, 2). Ad oggi l'FH è stata associata a mutazioni a trasmissione autosomica dominante a livello di tre geni: mutazioni con perdita di funzione del gene che codifica per il recettore delle LDL (*LDLR*) e per l'apolipoproteina B-100 (*APOB*) e mutazioni con guadagno di funzione del gene *proprotein convertase subtilisin/kexin type 9* (*PCSK9*) (3). Il fenotipo eterozigote (HeFH) è causato dalla mutazione di un singolo allele di uno di questi

Indirizzo per la corrispondenza

Matteo Pirro

E-mail: matteo.pirro@unipg.it

geni, mentre il fenotipo più grave, l'omozigote (HoFH), è causato dalla mutazione dei due alleli di uno di questi geni. Quando è mutato un allele di due geni differenti si verifica la condizione di doppia eterozigosi, che determina un fenotipo intermedio tra l'HeFH e l'HoFH. Al contrario, la condizione di eterozigosi composta si verifica in presenza di due diverse mutazioni nei due alleli dello stesso gene; quest'ultima condizione determina un fenotipo sovrapponibile all'HoFH. Una forma più rara di ipercolesterolemia è causata da una mutazione recessiva che interessa una proteina adattatore, coinvolta nel processo di internalizzazione del complesso recettore-LDL.

Qualunque sia l'alterazione caratteristica dell'FH, questa condizione porta all'esposizione sin dalla nascita ad elevati livelli plasmatici di C-LDL e predispone alla comparsa precoce di danno vascolare su base aterosclerotica. Tuttavia, è stata descritta una variabilità significativa nell'incidenza degli eventi CV nella popolazione FH, anche tra pazienti con la stessa mutazione genica (4, 5). Inoltre, è stato osservato che alcuni pazienti possono presentare eventi CV precoci nonostante la terapia ipolipemizzante massimale, mentre altri possono non andare incontro ad eventi CV nonostante livelli di C-LDL persistentemente elevati (6). Questo suggerisce che altri fattori, oltre al C-LDL, possono contribuire alla patogenesi della malattia aterosclerotica nella popolazione FH. Alcuni tra i comuni fattori di rischio CV sono altamente prevalenti nella popolazione FH e potrebbero spiegare, almeno parzialmente, l'aumentato rischio CV che si osserva in questa popolazione. Al di là dei livelli di C-LDL e di alcuni fattori di rischio CV tradizionali, ulteriori fattori potrebbero contribuire a modificare il fenotipo di malattia impattando in maniera significativa sul rischio CV della popolazione FH (7) (*Figura*

Elenco degli argomenti trattati

- Nella popolazione FH livelli di colesterolo LDL (C-LDL) estremamente elevati determinano un aumentato rischio CV rispetto alla popolazione generale.
- Pazienti FH con la stessa mutazione genetica causale possono presentare un'incidenza estremamente variabile di eventi CV.
- Mutazioni genetiche non causali, SNPs ed altre varianti genetiche, alcuni biomarcatori e vari parametri strumentali di danno vascolare, possono contribuire a migliorare la predizione del rischio CV nella popolazione FH.

1). Tra questi si annoverano fattori genetici, parametri bioumorali ed indicatori preclinici di danno vascolare.

In questa rassegna vengono trattate le attuali evidenze sul valore predittivo di vari fattori, tradizionali ed emergenti, nei confronti del rischio CV nella popolazione FH. Inoltre vengono discussi gli strumenti attualmente disponibili per la stratificazione del rischio CV in questa popolazione.

I fattori di rischio CV tradizionali nella popolazione FH

Dagli studi osservazionali emerge un'elevata prevalenza di vari fattori di rischio CV tradizionali nella popolazione FH: familiarità per eventi CV, storia personale di pregressi eventi CV, età, sesso, fumo, ipertensione, diabete di tipo 2, livelli circolanti di colesterolo HDL (C-HDL) e lipoproteina(a) (6, 8) (*Figura 1*).

Nei pazienti FH, la familiarità per eventi CV (in familiari di primo o secondo grado) e la storia personale di pregressi eventi CV configurano una condizione di alto rischio CV. Da uno studio sui predittori di rischio CV nell'HeFH, è emerso un tasso di mortalità significativamente maggiore nei pazienti con anamnesi familiare positiva per malattia coronarica precoce rispetto ai pazienti con anamnesi familiare

negativa (9). In un recente studio prospettico condotto in una coorte di 821 pazienti HeFH in terapia ipolipemizzante, è emersa una maggiore prevalenza di storia personale o familiarità per eventi CV precoci nel sottogruppo di pazienti che hanno presentato eventi CV nel periodo di follow-up (6). In un registro di 781 pazienti con diagnosi clinica o genetica di HeFH, una storia personale di eventi CV è risultata associata ad un aumentato rischio CV (10).

L'età rappresenta uno dei principali predittori indipendenti di rischio CV nella popolazione FH. I pazienti FH presentano ad ogni età un rischio CV maggiore rispetto alla popolazione generale; tuttavia, una recente revisione sistematica di 17 studi osservazionali, ha riportato un maggior tasso di mortalità standardizzata nei pazienti HeFH di età compresa tra i 20 e i 39

anni (11). Ad ulteriore conferma di questo risultato, uno studio di coorte norvegese ha registrato un'incidenza di eventi CV maggiore nei pazienti FH di età compresa tra i 25 e i 39 anni, rispetto alla popolazione generale (12). Tale significativo incremento del rischio CV in questa fascia d'età potrebbe essere attribuito sia all'incremento progressivo del rischio CV in funzione dell'età negli individui sani, sia all'elevato tasso di mortalità precoce nei pazienti FH.

È ancora dibattuto il possibile ruolo del sesso come predittore indipendente di malattia CV nella popolazione HeFH (13). Attualmente i dati in letteratura sulla popolazione FH di sesso femminile di ogni età sono relativamente pochi rispetto a quelli sulla popolazione FH di sesso maschile (14, 15). Tuttavia, in alcuni studi il rischio CV è stato stimato separatamente o negli

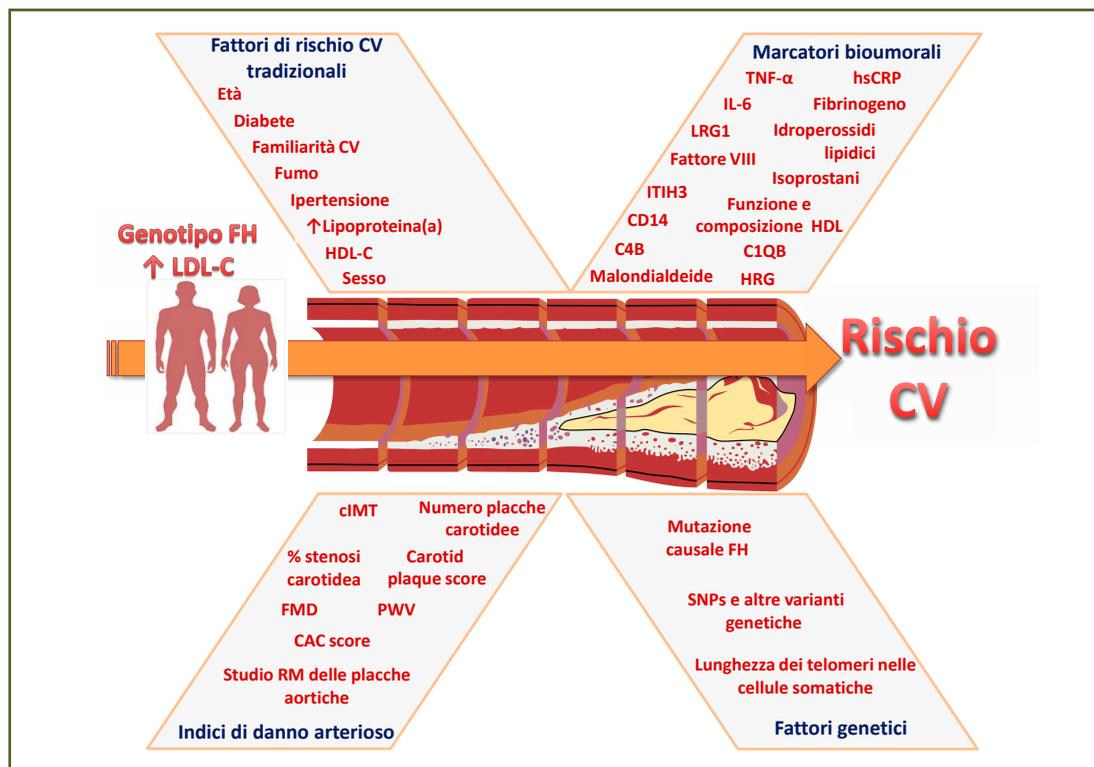


Figura 1 - Fattori di rischio e predittori di rischio CV emergenti nella popolazione FH.

uomini o nelle donne con FH; in altri, invece, è stato confrontato il rischio CV tra uomini e donne FH. Alcuni studi hanno dimostrato un rischio CV maggiore negli uomini FH, altri invece o non hanno evidenziato significative differenze tra i due sessi (16), o hanno mostrato un aumentato rischio CV nelle donne FH rispetto agli uomini (17).

In alcuni studi osservazionali il fumo è emerso come predittore indipendente di rischio CV nella popolazione HeFH (18,19). Inoltre in una coorte di 2400 pazienti FH, l'interruzione del fumo è risultata correlata ad una progressiva riduzione del rischio CV nel tempo (20). Numerosi studi hanno dimostrato che anche l'ipertensione si associa ad un aumentato rischio CV nella popolazione FH. A conferma di ciò è stata riportata una maggiore prevalenza di ipertensione nei pazienti FH con storia di aterosclerosi sintomatica rispetto a quelli senza evidenza di danno vascolare (8, 21-23). Inoltre, l'ipertensione è stata descritta come predittore indipendente di rischio CV nei pazienti HeFH (8, 21-23).

Non è ancora chiaro l'impatto del diabete mellito di tipo 2 sul rischio CV nella popolazione FH. Alcuni studi hanno riportato una bassa prevalenza di diabete di tipo 2 nei pazienti FH rispetto ai controlli sani ed una bassa prevalenza di diabete di tipo 2 nei pazienti con FH "grave" (definita in base al riscontro di mutazioni di tipo *null* del gene *LDLR*) rispetto ai pazienti con FH "non grave" (definita in base al riscontro di mutazioni del gene *APOB* o di mutazioni di tipo *defective* del gene *LDLR*) (24,25). Tuttavia, il diabete di tipo 2 è stato anche descritto come predittore indipendente di rischio CV nella popolazione FH di entrambi i sessi (18).

Sia bassi livelli plasmatici di C-HDL che un elevato rapporto colesterolo totale (TC)/C-HDL sono risultati associati ad un

aumentato rischio CV nella popolazione FH (26). Tuttavia, non vi sono sostanziali evidenze che indichino il C-HDL come predittore indipendente di rischio CV nella popolazione FH.

Elevati livelli circolanti di lipoproteina(a) sono risultati associati ad un aumentato rischio CV nella popolazione FH. In molti studi (27-31). Infatti, alti livelli di lipoproteina(a) sono stati associati ad un aumentato rischio di aterosclerosi coronarica in pazienti con diagnosi genetica di FH (23, 27-30). Inoltre, i livelli plasmatici di lipoproteina(a) sono risultati più elevati in pazienti FH con storia di eventi CV precoci rispetto a quelli con storia di eventi CV tardivi o con anamnesi cardiovascolare negativa (28).

Potenziali modificatori del rischio CV nell'FH

Recentemente sono stati descritti diversi potenziali modificatori del rischio di malattia CV nella popolazione FH, tra cui vari parametri bioumorali, indici di danno vascolare e fattori genetici (*Figura 1*).

Parametri bioumorali

Per la stratificazione del rischio CV nella popolazione FH si ritiene che possano risultare utili diversi parametri: la composizione lipidica e la funzionalità delle HDL, gli indicatori di infiammazione, i marcatori di stress ossidativo ed i fattori della coagulazione. È stato dimostrato che la composizione lipidica delle HDL circolanti differisce in maniera significativa tra pazienti FH e soggetti normolipidemic. In particolare, le HDL dei pazienti FH si caratterizzano per un maggior contenuto in trigliceridi e sfingomielina, risultato di un ridotto trasporto di colesterolo non esterificato ed un elevato trasporto di trigliceridi e fosfolipidi dalle particelle LDL alle HDL (32). Ciò è dovuto ad un'aumentata interazione

tra le HDL e le elevate concentrazioni di LDL circolanti (32). L'ingresso del colesterolo non esterificato nelle HDL ha un ruolo cruciale nel trasporto inverso del colesterolo (RCT); pertanto questi cambiamenti nella composizione delle HDL possono contribuire ad un difettoso RCT e ad un'accelerazione del processo di degenerazione ateromasica nei pazienti FH. Inoltre, diversi parametri della funzionalità delle HDL, tra cui la capacità di efflusso del colesterolo, l'attività antiossidante ed anti-infiammatoria risultano alterati nella popolazione FH e contribuiscono alla ridotta efficacia ateroprotettiva di queste lipoproteine (33). Ad oggi, nessuno studio ha valutato la correlazione tra le alterazioni qualitative e funzionali delle HDL ed il rischio CV nella popolazione FH. Per tale motivo sono necessari ulteriori studi per potere verificare se tali alterazioni possono rappresentare un elemento prognostico aggiuntivo per la stratificazione del rischio CV in questa popolazione (33, 34).

L'infiammazione ha un ruolo patogenetico cruciale nella progressione del processo aterosclerotico nella popolazione FH (35). Elevati livelli di diversi marcatori di infiammazione sistemica, tra cui la proteina C-reattiva ad elevata sensibilità (hsCRP), l'interleuchina-6 (IL-6) e il *tumor necrosis factor- α* (TNF- α), sono stati riscontrati in pazienti FH non trattati rispetto ai controlli sani (36,37). Inoltre, nella popolazione FH in trattamento ipocolesterolemizzante è stata descritta un'aumentata espressione di geni TNF-correlati; ciò suggerisce che l'infiammazione subclinica potrebbe persistere e contribuire rischio residuo di malattia CV nei pazienti FH, anche quando ricevono un trattamento ipocolesterolemizzante (38). Tuttavia, le prove a sostegno dell'impiego routinario del dosaggio dell'hsCRP ed altri biomarcatori di infiammazione sistemica per la stratifi-

cazione del rischio CV nella popolazione FH sono limitate. Nello specifico, soltanto studi osservazionali su piccoli campioni hanno analizzato la possibile correlazione tra infiammazione sistemica e rischio di malattia CV nei pazienti FH, offrendo risultati non attendibili (39, 40). Per chiarire questo aspetto sono quindi necessari ulteriori studi.

Lo stress ossidativo è un ulteriore meccanismo patogenetico coinvolto nell'evoluzione e nella progressione della malattia aterosclerotica nella popolazione FH. L'FH è caratterizzata da aumentati livelli circolanti di particelle LDL ossidate (oxLDL) particolarmente aterogene, specie reattive dell'ossigeno (ROS), malondialdeide ed isoprostani (41). Le oxLDL promuovono l'aterosclerosi attraverso un'azione immunogenica e pro-infiammatoria (42). Non è stato ancora verificato se la misurazione dei livelli circolanti di oxLDL possano avere un ruolo nell'identificazione di pazienti FH con malattia aterosclerotica e con maggiore rischio CV (43). I ROS provocano un danno ossidativo a livello della parete arteriosa e promuovono la progressione della malattia aterosclerotica riducendo i livelli di molecole antiossidanti ed aumentando la concentrazione di molecole pro-infiammatorie, l'espressione di molecole di adesione a livello delle cellule endoteliali e la formazione di cellule schiumose (44, 45). Alcuni studi hanno dimostrato che aumentati livelli di alcuni biomarcatori di stress ossidativo (es. idroperossidi lipidici, malondialdeide e F2-isoprostano urinario) sono in grado di predire un aumentato rischio CV nei pazienti ipercolesterolemici (46). Il dosaggio di questi biomarcatori potrebbe contribuire alla stratificazione del rischio CV nei pazienti HeFH.

È ancora controverso se esista una correlazione tra disturbi della coagulazione ed aumentato rischio CV nella popolazio-

ne FH. In questa popolazione è stato riscontrato un aumento del volume, dell'attivazione e dell'aggregazione piastrinica. Rispetto alla popolazione sana, nei pazienti FH è stato osservato anche un incremento dei livelli circolanti di fattore VIII e fibrinogeno (47).

Infine, nuovi parametri bioumorali potrebbero rivelarsi potenzialmente utili nella stratificazione del rischio CV nella popolazione FH. Sei biomarcatori proteici [es. *leucine-rich alpha-2-glycoprotein* (LRG1), *inter-alpha-trypsin inhibitor heavy chain H3* (ITIH3), *complement C4-B* (C4B), *complement C1q subcomponent subunit B* (C1QB), *monocyte differentiation antigen* (CD14) e *histidine-rich Q11 glycoprotein* (HRG)], identificati attraverso tecniche di proteomica, sono risultati inversamente associati alla gravità del danno aterosclerotico in pazienti FH in trattamento con statine (48). LGR1 è una proteina della famiglia delle leucine. Tale proteina riveste un ruolo cruciale nell'adesione cellulare e nella segnalazione inter-cellulare. HRG è una proteina della superfamiglia della cistatine, che ha una funzione regolatoria nell'emostasi (regolazione dei *pathways* anti-coagulativo ed anti-fibrinolitico) e nell'immunità innata. C4B e C1BQ sono proteine del sistema del complemento e hanno un ruolo centrale nell'immunità innata e nella neutralizzazione ed eliminazione delle oxLDL. CD14 è un antigene caratteristico della differenziazione monocitaria, la cui espressione è indotta dal 27-idrossicolesterolo. Seppure sia stata ipotizzata una funzione ateroprotettiva di queste sei proteine, ad oggi la loro funzione biologica ed il loro specifico ruolo nella patogenesi della malattia aterosclerotica nella popolazione FH risultano ancora non definiti. Ulteriori studi devono far luce sulla potenziale utilità di questi biomarcatori proteici nella stratificazione del rischio CV nella popolazione FH.

Indicatori pre-clinici di danno arterioso

Alcuni indici pre-clinici di danno arterioso, tra cui parametri morfologici e funzionali, potrebbero costituire degli strumenti clinici utili per l'identificazione dei pazienti FH asintomatici a maggiore rischio di eventi CV e potenzialmente meritevoli di un trattamento più aggressivo.

Per quanto riguarda i parametri morfologici di danno vascolare, vari studi hanno mostrato che la valutazione ecografica dello spessore medio-intimale (IMT) carotideo e alcune misure ecografiche per la caratterizzazione della placca carotidea, la misurazione del *coronary artery calcium* (CAC) *score* attraverso la tomografia computerizzata (TC) e lo studio dell'ateromasia aortica attraverso la risonanza magnetica (RM) sono in grado di predire il rischio CV nella popolazione FH e pertanto sono potenzialmente utili per stratificare il rischio di malattia CV della popolazione FH senza storia di eventi CV pregressi.

La valutazione ecografica dell'IMT carotideo, indice di danno aterosclerotico subclinico, è stata proposta come strumento per identificare pazienti con FH "grave" (pazienti portatori di mutazioni causali del gene *LDLR* di tipo *null*) con un rischio CV potenzialmente più elevato (49). Ci sono inoltre altri parametri morfologici di danno aterosclerotico subclinico, valutabili tramite l'uso dell'ecografia carotidea, che potrebbero fornire informazioni utili per la stratificazione del rischio CV nella popolazione FH, tra cui l'IMT carotideo tridimensionale, che descrive la morfologia dell'intima arteriosa, e la variabilità dell'IMT carotideo, che descrive il *pattern* di superficie delle carotidi (50, 51). Alcuni parametri ecografici che descrivono la placca aterosclerotica carotidea (es. il numero delle placche, il punteggio attribuito alle placche e l'area stenotica percentuale) sono predittori di rischio CV più sensibili

dell'IMT carotideo nella popolazione FH (52). Tra questi, il punteggio attribuito alle placche carotidee (definito dalla somma dello spessore massimo delle lesioni aterosclerotiche delle arterie carotide comune ed interna bilateralmente, sia a livello della parete prossimale che di quella distale) è risultato essere un buon predittore di malattia coronarica nella popolazione FH (53, 54).

La quantificazione del CAC *score* attraverso la TC è risultata in grado di predire il rischio di eventi CV nella popolazione generale. I dati in letteratura a sostegno dell'utilizzo del CAC *score* per la stratificazione del rischio CV nella popolazione FH sono invece insufficienti. Un recente studio prospettico, in cui sono stati arruolati 207 pazienti con diagnosi genetica di FH, ha mostrato che il CAC *score* era in grado di predire un aumentato rischio di eventi CV a 4,4 anni di *follow-up* (HR: 5.101, 95 CI % 2.087-12.465, $p < 0,05$) (55). Tuttavia, l'esiguità di dati rende necessari ulteriori studi per valutare se questo indice di danno vascolare può risultare utile nella stratificazione del rischio CV della popolazione FH.

La caratterizzazione della placca aterosclerotica aortica attraverso l'uso della RM è uno strumento potenzialmente utile ai fini della stratificazione del rischio CV nella popolazione FH. In uno studio condotto su 36 pazienti con diagnosi genetica di FH in trattamento ipolipemizzante, il riscontro attraverso la RM di placche aterosclerotiche a livello dell'aorta toracica discendente è risultato più frequente che nei controlli sani (56). La presenza di queste lesioni è risultata inoltre essere correlata con la familiarità per eventi CV precoci (56).

Per quanto riguarda i parametri funzionali di danno vascolare, pochi studi clinici, con un numero esiguo di pazienti arruolati, hanno analizzato la correlazione tra la disfunzione endoteliale o la *stiffness* ar-

teriosa ed il rischio di malattia CV nella popolazione FH. Ad oggi, i dati forniti da vari studi trasversali mostrano che la disfunzione endoteliale, valutata come *flow-mediated dilatation* (FMD), è un potenziale marcatore precoce di danno vascolare nella popolazione FH. In particolare, in una popolazione FH pediatrica con storia familiare di malattia CV precoce l'FMD è risultata inferiore rispetto alla popolazione sana di controllo (57, 58). Inoltre, in pazienti FH in età pediatrica con storia familiare di malattia CV precoce l'FMD è risultata inferiore rispetto a pazienti nella stessa fascia di età con anamnesi familiare negativa (58). Le evidenze a favore dell'utilità della *stiffness* arteriosa come parametro per la stratificazione del rischio CV nella popolazione FH sono al momento limitate. In due studi trasversali la *stiffness* arteriosa non è risultata differire in maniera significativa tra la popolazione FH ed i controlli sani (57, 59). Un recente studio condotto su 245 pazienti FH, al contrario, ha riportato un'associazione significativa indipendente tra la *stiffness* arteriosa, valutata come *pulse wave velocity* (PWV) braccio-caviglia, ed il rischio CV (60). Ulteriori studi prospettici sono necessari per definire il valore predittivo della disfunzione endoteliale e della *stiffness* arteriosa nei confronti del rischio CV nella popolazione FH.

Parametri genetici

Numerose evidenze suggeriscono che vari parametri genetici possono influenzare il fenotipo di malattia e il rischio CV nella popolazione FH, tra cui vari tipi di mutazioni causali di FH, numerosi polimorfismi a singolo nucleotide (SNPs), altre varianti genetiche e la lunghezza dei telomeri delle cellule somatiche. L'impatto delle varie mutazioni causali di FH sulla gravità del fenotipo di malattia e sul rischio CV

non è stato ancora definito con chiarezza. Nei pazienti FH portatori di mutazioni del gene *LDLR* sono stati riscontrati maggiori livelli di C-LDL rispetto ai pazienti FH portatori di altre mutazioni causali; ciò potrebbe suggerire un aumentato rischio CV nei primi rispetto ai secondi (61). Per quanto riguarda le mutazioni del gene *LDLR*, è stato osservato un maggior rischio di malattia aterosclerotica precoce nei pazienti portatori di mutazioni *null* rispetto ai portatori di mutazioni *defective* (62). Tuttavia, nei pazienti FH portatori di mutazioni dei geni *APOB* e *PCSK9* è stato descritto un maggiore rischio di eventi coronarici rispetto a quelli portatori di mutazioni del gene *LDLR* (63). Quindi sono necessari ulteriori studi per definire se i test genetici per l'identificazione delle mutazioni causali possono fornire informazioni prognostiche utili per una stratificazione più accurata del rischio CV nella popolazione FH.

Diversi SNPs ed altre varianti di geni implicati nel metabolismo delle lipoproteine, nello stress ossidativo, nella risposta infiammatoria, nella regolazione del sistema renina-angiotensina-aldosterone (RAAS), nell'emostasi, nell'espressione di antigeni eritrocitari AB0 ed in altre funzioni biologiche, sono stati associati ad un aumentato rischio di malattia CV nella popolazione FH.

In un recente studio condotto in una popolazione HeFH giapponese, nei pazienti portatori di mutazioni del gene *LDLR*, una variante genetica di *PCSK9* con guadagno di funzione (rs186669805) è stata associata ad un aumento significativo della prevalenza di malattia aterosclerotica coronarica (64). Il polimorfismo Taq1B del gene *cholesteryl ester transfer protein (CETP)* è stato identificato come predittore di eventi CV in pazienti HeFH in trattamento con statine (65). In una popolazione di 221

pazienti HeFH e 349 familiari portatori di mutazioni del gene *LDLR*, è stata riportata una maggior prevalenza del genotipo 54TT del gene *fatty acid-binding protein 2 (FABP-2)* nei pazienti con malattia aterosclerotica coronarica (66). Due varianti del gene *ATP-binding cassette sub-family G member 8 (ABCG8)*, sono state associate ad un aumentato rischio CV nella popolazione FH (67). Anche il genotipo E4 del gene *apolipoprotein E (APOE)* è stato associato ad un aumentato rischio di malattia CV nella popolazione FH (68). Inoltre, la variante genetica N291S del gene *lipoprotein lipase (LPL)* è stata associata ad un elevato rischio di malattia CV nella popolazione FH (69). È stato descritto un aumentato rischio di eventi coronarici in pazienti HeFH portatori della variante genetica rs11053646 (o K167N) del gene *ox-LDL receptor 1 (OLR1)* (70). In una popolazione di 197 pazienti FH di etnia caucasica, la frequenza del polimorfismo Ser311 nel gene *paraoxonase 2 (PON2)* è risultata significativamente più elevata nel sottogruppo di pazienti con manifestazioni cliniche di malattia CV (71). Una variante del gene *ALOX5AP*, che codifica per una proteina coinvolta nella biosintesi dei leucotrieni, è stata associata ad un incremento significativo del rischio di malattia CV in una coorte di 1817 pazienti FH (72). In pazienti FH portatori di cinque o sei SNPs di alcuni geni coinvolti nella regolazione del sistema RAAS è stato descritto un rischio aumentato di circa 2.3 volte di malattia aterosclerotica coronarica rispetto ai pazienti portatori di una sola o nessuna variante genetica (73). Il genotipo DD del gene *angiotensin converting enzyme (ACE)* è stato associato ad un incremento significativo del rischio CV in pazienti HeFH (74). Recentemente, in una popolazione di 668 pazienti FH di età adulta portatori di mutazioni del gene

LDLR, la variante genetica rs579459, associata all'espressione dell'antigene eritrocitario A1, è stata associata ad un rischio CV due volte più elevato rispetto alla variante rs514659 associata all'espressione dell'antigene eritrocitario 0 (75). Il polimorfismo G20210A nel gene codificante per la protrombina è stato associato con un aumentato rischio CV in una coorte numerosa di pazienti FH (76). Inoltre, la variante genetica rs1333047 del *locus* 9p21.3 è risultata in grado di predire in maniera indipendente la malattia aterosclerotica nella popolazione FH (77, 78).

Al contrario, altri SNPs e varianti genetiche di diversi geni coinvolti nel metabolismo delle lipoproteine (es. *ABCA1*), nell'immunità innata (es. *CFH*) e nella motilità cellulare (es. *PHACTR1*) sono stati associati con un minore rischio CV nella popolazione FH. Ad esempio, in pazienti FH portatori del genotipo CC della variante genetica rs1061170 del gene *CFH* è stato descritto un minor rischio di eventi CV rispetto a pazienti portatori dei genotipi TC o TT dello stesso gene (79). La variante rs12526453 del gene *PHACTR1*, che codifica per una proteina che lega l'actina e regola l'organizzazione del citoscheletro, è stata associata con una riduzione del 50% del rischio di eventi CV nella popolazione FH (80). L'allele K della variante R219K del gene *ABCA1* è stato associato con un basso rischio di malattia coronarica precoce nella popolazione HeFH (81).

Complessivamente le attuali evidenze suggeriscono che queste varianti genetiche possono predire il rischio CV nella popolazione FH. Ulteriori studi dovranno valutare l'utilità della loro identificazione nella stratificazione del rischio CV in questa popolazione.

Infine, la lunghezza dei telomeri delle cellule somatiche sta emergendo come parametro potenzialmente utile nell'iden-

tificazione di pazienti FH con un fenotipo di malattia più grave e un rischio CV più elevato. In un recente studio di popolazione condotto negli Stati Uniti, le sequenze telomeriche delle cellule somatiche sono risultate più corte nei pazienti HeFH rispetto ai pazienti ipercolesterolemici non FH (82). Questo risultato suggerisce che l'accorciamento delle sequenze telomeriche delle cellule somatiche potrebbe essere una potenziale caratteristica fenotipica dell'HeFH. Tuttavia, non vi sono ancora dati sull'eventuale esistenza di una correlazione tra la lunghezza delle sequenze telomeriche, indice biologico di senescenza cellulare precoce, e la gravità del fenotipo di malattia, così come il rischio CV, l'aspettativa di vita e la mortalità nella popolazione HeFH.

La stratificazione del rischio cardiovascolare nel paziente FH

Uno strumento accurato per la stratificazione del rischio CV specifico per una popolazione dovrebbe tener conto della combinazione di diversi predittori indipendenti di rischio CV in quella popolazione. Inoltre, dovrebbe essere validato in quella specifica popolazione. Esistono diversi algoritmi per la stima del rischio CV (es. il *Framingham Risk Score*, le carte del rischio SCORE, il *Reynolds risk score*, etc.) validati nella popolazione generale, ma non adeguati per la stima del rischio CV della popolazione FH. È verosimile infatti, considerati gli elevati livelli di C-LDL cui sono esposti i pazienti FH durante il corso della loro vita, che questi strumenti sotto-stimino di gran lunga il loro rischio CV.

L'*International Atherosclerosis Society* (IAS) ha proposto una definizione di FH (sia HeFH che HoFH) "grave", potenzialmente in grado di identificare pazienti ad aumentato rischio di eventi CV. Tale defi-

nizione tiene in considerazione tre criteri (Tabella 1):

1) livelli di C-LDL (in pazienti non in trattamento ipolipemizzante) singolarmente o in combinazione con altre condizioni ad elevato rischio;

2) evidenza di malattia aterosclerotica asintomatica;

3) evidenza di malattia aterosclerotica sintomatica (Tabella 1) (83).

Secondo questa definizione, l'FH "grave" è diagnosticata quando è soddisfatta

Tabella 1 - Algoritmi per la stratificazione del rischio CV nella popolazione FH.

Algoritmo	Criteri/Variabili	Popolazione di riferimento	Misura del rischio CV	Ref.
Criteri IAS (FH grave vs FH non grave)	<p>Criteri di FH grave:</p> <ul style="list-style-type: none"> • LDL-C non trattato >400 mg/dL (10 mmol/L) <ul style="list-style-type: none"> o LDL-C non trattato >310 mg/dL (8 mmol/L) più una condizione di alto rischio* o LDL-C non trattato >190 mg/dL (5 mmol/L) più due condizioni di alto rischio* • Aterosclerosi subclinica avanzata <ul style="list-style-type: none"> - CAC score >100 Unità Agatston oppure >75° percentile per età e sesso - evidenza CTA di placche aterosclerotiche inducenti stenosi >50% o presenza di placche aterosclerotiche non stenosanti in più di un'arteria • Malattia aterosclerotica clinicamente manifesta 	Nessuno	Nessuno	[84]
Punteggio MFHS (alto rischio - MFHS >20 vs basso rischio - MFHS <20)	<p>Variabili:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Età (anni) • Sesso (maschile vs femminile) • Fumo attivo (si vs no) • Ipertensione (si vs no) • HDL-C non trattati (mmol/L) 	670 pazienti HeFH in età adulta portatori di una mutazione del gene <i>LDLR</i>	Prevalenza della malattia CV (eventi coronarici, cerebrovascolari, periferici)	[85]
Equazione SAFEHEART	<p>Variabili:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Età • Sesso maschile • Pregressi eventi CV • Ipertensione • Indice di massa corporea • Fumo attivo • LDL-C non trattato • Lp(a) non trattata 	2404 pazienti in età adulta diagnosi genetica di HeFH	Rischio % di eventi CV a 5 anni	[86]
GRS _{CAD} (basso rischio vs alto rischio)	<p>Score items:</p> <ul style="list-style-type: none"> • tra 192 SNPs con un'associazione significativa alla malattia coronarica, il numero degli alleli di rischio (0, 1 o 2) portati da ogni individuo misurata dalla dimensione dell'effetto (β) per ciascun SNP 	725 pazienti portatori della mutazione FH causale	Prevalenza di malattia CV	[87]

*Condizioni di alto rischio: età >40 anni senza trattamento, fumo, sesso maschile, lipoproteina(a) >50 mg/dL (75 nmol/L), HDL-C <40 mg/dL (1 mmol/L), ipertensione, diabete mellito, storia familiare di malattia CV precoce tra i familiari di primo grado (<55 anni nei maschi e <60 anni nelle donne), insufficienza renale cronica, indice di massa corporea >30 kg/m².

to almeno uno di questi tre criteri (83). Tuttavia, l'utilità e l'attendibilità di questa definizione per l'identificazione di pazienti FH con grave fenotipo di malattia ed aumentato rischio CV, è stata messa in discussione. Infatti, considerando le caratteristiche cliniche di 1732 pazienti inclusi nel *Dyslipidemia Registry of Spanish Atherosclerosis Society*, Pérez-Calahorra et al. hanno dimostrato che, non la definizione IAS di FH grave, bensì un valore di C-LDL >400 mg/dL, era significativamente associato alla prevalenza di malattia CV dopo aggiustamento per i fattori di rischio CV tradizionali (84).

Recentemente sono stati proposti due algoritmi per la stima del rischio CV specifici per la popolazione HeFH. Il primo, il *Montreal-FH-SCORE* (MFHS), è emerso nel 2017 da uno studio osservazionale condotto in una popolazione di 270 pazienti FH portatori di mutazioni causali del gene *LDLR* (*Tabella 1*) (85). L'MFHS, ottenuto dalla somma dei punteggi attribuiti ai 5 principali predittori indipendenti di malattia CV in questa popolazione, è risultato uno strumento accurato per la predizione del rischio CV. I pazienti con un punteggio MFHS elevato (>20) avevano una probabilità aumentata di 10,3 volte di eventi CV rispetto ai pazienti con un punteggio MFHS basso (<20). In ogni caso l'MFHS è stato sviluppato per predire in maniera retrospettiva la prevalenza, ma non l'incidenza, degli eventi CV. Inoltre, è stato validato in una piccola popolazione HeFH composta esclusivamente da pazienti con mutazioni del gene *LDLR*. Perciò l'accuratezza predittiva di questo algoritmo necessita di essere analizzata in un ampio studio prospettico su pazienti HeFH portatori anche di altre mutazioni causali. Il secondo algoritmo per la predizione del rischio CV specifico per la popolazione HeFH, la *SAFEHEART Risk*

Equation, è stato sviluppato in un ampio studio prospettico (*Tabella 1*) (86). In questo studio 2404 pazienti con diagnosi genetica di HeFH sono stati osservati per una media di 5,5 anni. La *SAFEHEART Risk Equation* integra le informazioni relative a 8 parametri [età, sesso maschile, storia di eventi CV pregressi, elevata pressione arteriosa sistemica, aumentato indice di massa corporea, fumo, livelli non trattati di C-LDL e di lipoprotein(a)], identificati tra i predittori indipendenti di aumentata incidenza di eventi CV in questa popolazione.

Questa equazione ha mostrato una migliore accuratezza nella stima dell'incidenza di eventi CV nella popolazione FH rispetto agli altri algoritmi validati nella popolazione generale, in particolare la *Framingham's risk equation* e la *ACC/AHA ASCVD Pooled Cohort Risk Equation* (86). Tuttavia, vi sono due importati ostacoli nei confronti della possibilità di generalizzare i suoi risultati. In primo luogo, il breve periodo di osservazione dello studio in cui questa equazione è stata validata rende il suo impiego non affidabile per predire il rischio CV a lungo termine (oltre i 10 anni). In secondo luogo, questa equazione dovrebbe essere validata anche in altre popolazioni HeFH, considerando che è stata sviluppata in una selezionata e ristretta popolazione HeFH Europea. Un recente studio condotto in 725 pazienti con diagnosi genetica di HeFH ha validato un calcolatore di rischio genetico per la predizione del rischio CV (*GR-SCAD*) specifico per la popolazione HeFH (*Tabella 1*). Questo calcolatore, basato sull'identificazione di 192 SNPs che negli studi di *genome-wide association* hanno mostrato un'associazione significativa con la malattia coronarica, è risultato in grado di predire in maniera indipendente la prevalenza di eventi CV nella popola-

zione HeFH (*odds ratio* 1,80; 95% CI 1,14-2,85; $P=0,01$). Tuttavia, va considerato che il suo valore predittivo è stato valutato in maniera retrospettiva in una piccola popolazione HeFH Canadese. Perciò, la sua attendibilità prognostica necessita di essere confermata da ulteriori studi prospettici in popolazioni HeFH multietniche. Inoltre, è importante verificare se l'impiego di questo calcolatore genetico in associazione ad altri calcolatori clinici del rischio CV possa ulteriormente migliorare la stratificazione del rischio CV nella popolazione HeFH. In sintesi, indipendentemente dalle loro caratteristiche individuali, tutti gli algoritmi per la stratificazione del rischio CV specifici per la popolazione HeFH ad oggi disponibili (ad es., MFHS, SAFEHEART Risk Equation e GRS_{CAD}) hanno un limite comune riguardo la loro applicabilità clinica. Nello specifico, sono stati validati solo in popolazioni HeFH adulte (età media tra 35 e 50 anni) (85-87). Perciò è necessario che la loro potenziale utilità ed accuratezza nella stima del rischio CV vengano analizzate anche in pazienti HeFH più giovani e più anziani.

Conclusioni

Il rischio CV nella popolazione FH è estremamente variabile. Oltre al C-LDL, il cui valore prognostico negativo è indiscutibile, diversi fattori di rischio CV tradizionali hanno mostrato un impatto significativo sulla progressione della malattia aterosclerotica nella popolazione FH. Tuttavia, anche i fattori di rischio CV tradizionali non spiegano completamente l'enorme variabilità delle manifestazioni cliniche di aterosclerosi in questa popolazione. Ulteriori fattori sono emersi come possibili modificatori del fenotipo di malattia e come predittori di rischio CV nel-

Glossario

CD14: antigene caratteristico della differenziazione monocitaria, la cui espressione è indotta in particolare dal 27-idrossicolesterolo.

Complement C4-B (C4B) e Complement C1q subcomponent subunit B (C1QB): proteine del sistema del complemento, le quali svolgono un ruolo centrale nell'immunità innata e nella neutralizzazione ed eliminazione delle oxLDL.

Coronary artery calcium (CAC) score: caratterizzazione e quantificazione della calcificazione delle arterie coronariche mediante tomografia computerizzata, correlato con il rischio di eventi cardiovascolari.

Flow-mediated dilatation (FMD): dilatazione indotta dall'iperemia in genere misurata a livello dell'arteria brachiale, potenziale marcatore precoce di danno vascolare.

Histidine-rich Q11 glycoprotein (HRG): è una proteina del siero appartenente alla superfamiglia della cistatina, che svolge un ruolo regolatore nell'emostasi e nell'immunità innata.

Inter-alpha-trypsin inhibitor heavy chain H3 (ITIH3): proteina che potrebbe agire da trasportatore di acido ialuronico nel siero o favorire il legame tra acido ialuronico e altre proteine della matrice.

Spessore medio-intimale (IMT): misura ecografica dello spessore della tonaca intima e della tonaca media di un'arteria, indicatore precoce di aterosclerosi.

Leucine-rich alpha-2-glycoprotein (LRG1): è una proteina della famiglia delle leucine, implicata nell'interazione proteina-proteina, nella segnalazione inter-cellulare e nell'adesione cellulare.

Pulse wave velocity (PWV): velocità di conduzione dell'onda sfigmica, indicatore di rigidità della parete arteriosa e predittore di morbilità e mortalità cardiovascolare.

SNP (plurale SNPs): polimorfismo a singolo nucleotide, cioè una variazione del materiale genico a carico di un unico nucleotide, presente in una proporzione maggiore dell'1% nella popolazione generale.

la popolazione FH. Attualmente non c'è consenso sul loro utilizzo per la stratificazione del rischio CV nei pazienti FH. Recentemente sono stati proposti diversi algoritmi per la stratificazione del rischio CV nella popolazione FH, che combinano fattori di rischio CV tradizionali ed

emergenti. Tuttavia è ancora necessaria la loro validazione prima che possa essere raccomandato l'impiego nella pratica clinica. Ad oggi risulta pertanto ancora difficile nella popolazione FH modulare l'intensità dell'intervento terapeutico finalizzato a prevenire la progressione del

Questionario di auto-apprendimento

A. L'ipercolesterolemia familiare (FH):

1. Generalmente si associa ad un rischio cardiovascolare intermedio.
2. È sempre determinata da una mutazione a carico del gene che codifica per il recettore LDL.
3. È caratterizzata da un'alterata clearance delle LDL circolanti e dal conseguente incremento significativo dei livelli plasmatici di colesterolo LDL.
4. Nelle donne si associa ad un rischio cardiovascolare più elevato.

B. La variabilità osservata nell'incidenza di eventi cardiovascolari tra i pazienti con FH:

1. Dipende solo dalla variabilità dei livelli di colesterolo LDL.
2. È influenzata dalla coesistenza di altri fattori di rischio tradizionali ed emergenti.
3. È indipendente dalla familiarità per eventi cardiovascolari.
4. Non dipende dalla mutazione causale dall'ipercolesterolemia.

C. La funzionalità e la composizione lipidica delle HDL:

1. Non variano tra i soggetti con la medesima mutazione causale della FH.
2. Non si ritiene possano influenzare il rischio cardiovascolare.
3. Nei soggetti FH potrebbe essere alterata a causa dell'esaltata interazione tra le HDL e le elevate concentrazioni di LDL circolanti.
4. Non influenzano il trasporto inverso del colesterolo.

D. Quale delle seguenti affermazioni riguardo agli indicatori pre-clinici di danno arterioso è VERA:

1. comprendono sia parametri morfologici che funzionali.
2. Potrebbero essere utili per l'identificazione dei pazienti FH asintomatici ad elevato rischio di eventi.
3. La determinazione del valore del coronary artery calcium (CAC) mediante la TC è risultata in grado di predire la malattia aterosclerotica e il rischio di eventi CV nella popolazione generale.
4. Tutte le precedenti.

E. Quale delle seguenti affermazioni è FALSA?

1. Nei pazienti portatori di mutazioni del gene LDLR, con una variante genetica di PCSK9 con guadagno di funzione (rs186669805) è stato osservato un aumento della prevalenza di aterosclerosi coronarica.
2. Non si conoscono varianti genetiche associate ad una riduzione del rischio cardiovascolare nei pazienti FH.
3. In pazienti HeFH portatori della variante genetica rs11053646 (o K167N) del gene ox-LDL receptor 1 (OLR1) si è osservato un aumentato rischio di eventi coronarici.
4. In pazienti FH portatori di alcune varianti di geni coinvolti nella regolazione del sistema RAA è stato descritto un rischio aumentato di malattia aterosclerotica.

*Risposte corrette:
A3, B2, C3, D4, E2*

processo aterosclerotico in funzione della stratificazione del rischio CV individuale. Fintanto che non si sia raggiunta una sufficiente capacità di discriminazione dei diversi gradi di rischio nella popolazione FH, è quanto mai prudente ed opportuno continuare a considerare l'intera popola-

zione FH come una categoria esposta almeno ad un rischio CV alto o, in presenza di eventi CV personali, ad un rischio CV molto elevato. Su questa modalità di stratificazione, sia pure grossolana, conviene ancora basare l'intensità dell'intervento ipocolesterolemizzante.

RIASSUNTO

L'ipercolesterolemia familiare (FH) rappresenta una causa relativamente comune di ipercolesterolemia primitiva ed è caratterizzata da un significativo incremento dei livelli di colesterolo LDL (C-LDL) per una difettosa *clearance* plasmatica delle particelle lipoproteiche a bassa densità (LDL). L'esposizione dei pazienti FH fin dalla nascita ad elevati livelli di C-LDL comporta la comparsa precoce di danno vascolare su base aterosclerotica ed un aumentato rischio di eventi cardiovascolari (CV) rispetto alla popolazione generale. Nonostante l'FH sia una malattia monogenica, il suo fenotipo è piuttosto eterogeneo. In particolare, in pazienti FH con la stessa mutazione genica le manifestazioni cliniche di danno vascolare e l'incidenza di eventi CV possono essere estremamente variabili. Oltre ai livelli di C-LDL, altri fattori possono contribuire a spiegare l'elevato rischio CV che si osserva nella popolazione FH. In questa rassegna viene discusso il ruolo di vari fattori di rischio CV tradizionali ed il potenziale impatto di alcuni fattori emergenti nell'insorgenza precoce della malattia aterosclerotica nella popolazione FH.

Parole chiave: *ipercolesterolemia familiare, colesterolo LDL, rischio cardiovascolare, genetica.*

Bibliografia

1. Yuan G, Wang J, Hegele RA. Heterozygous familial hypercholesterolemia: an underrecognized cause of early cardiovascular disease. *CMAJ*. 2006; 174: 1124-1129.
2. Robinson JG, Goldberg AC. National Lipid Association Expert Panel on Familial Hypercholesterolemia. Treatment of adults with familial hypercholesterolemia and evidence for treatment: recommendations from the National Lipid Association Expert Panel on Familial Hypercholesterolemia. *J Clin Lipidol*. 2011; 5: S18-29.
3. Goldberg AC, Hopkins PN, Toth PP, et al. Familial hypercholesterolemia: screening, diagnosis and management of pediatric and adult patients: clinical guidance from the National Lipid Association Expert Panel on Familial Hypercholesterolemia. *J Clin Lipidol*. 2011; 5: 133-140.
4. Sijbrands EJ, Westendorp RG, Defesche JC, et al. Mortality over two centuries in large pedigree with familial hypercholesterolaemia: family tree mortality study. *BMJ*. 2001; 322: 1019-1023.
5. Santos RD. Phenotype vs genotype in severe familial hypercholesterolemia: what matters most for the clinician? *Curr Opin Lipidol*. 2017; 28: 130-135.
6. Galema-Boers AM, Lenzen MJ, Engelkes SR, et al. Cardiovascular risk in patients with familial hypercholesterolemia using optimal lipid-lowering therapy. *J Clin Lipidol*. 2018; 12: 409-416.
7. Paquette M, Baass A. Predicting cardiovascular disease in familial hypercholesterolemia. *Curr Opin Lipidol*. 2018; 29: 299-306.
8. Jansen AC, van Aalst-Cohen ES, Tanck MW, et al. The contribution of classical risk factors to cardiovascular disease in familial hypercholesterolaemia: data in 2400 patients. *J Intern Med*. 2004; 256: 482-490.
9. Sijbrands EJ, Westendorp RG, Paola Lombardi M, et al. Additional risk factors influence excess mortality in heterozygous familial hypercholesterolaemia. *Atherosclerosis*. 2000; 149: 421-425.
10. Béliard S, Boccara F, Cariou B, et al. High burden of recurrent cardiovascular events in heterozygous familial hypercholesterolemia: The French Familial Hypercholesterolemia Registry. *Atherosclerosis*. 2018; 277: 334-340.
11. Kruse G, Kutikova L, Wong B, et al. Cardiovascular Disease Risk And Risk Factors Associated

- With Familial Hypercholesterolemia: A Systematic Review. *Value in Health Journal*. 2017; 20: a606.
12. Mundal LJ, Igland J, Veierød MB, et al. Impact of age on excess risk of coronary heart disease in patients with familial hypercholesterolaemia. *Heart*. 2018; 104: 1600-1607.
 13. van der Graaf A, Hutten BA, Kastelein JJ, Vissers MN. Premature cardiovascular disease in young women with heterozygous familial hypercholesterolemia. *Expert Rev Cardiovasc Ther*. 2006; 4: 345-351.
 14. Holven KB, Narverud I, van Lennep JR, et al. Sex differences in cholesterol levels from birth to 19 years of age may lead to increased cholesterol burden in females with FH. *J Clin Lipidol*. 2018; 12: 748-755.
 15. Schmidt N, Schmidt B, Dressel A, et al. Familial hypercholesterolemia in primary care in Germany. Diabetes and cardiovascular risk evaluation: Targets and Essential Data for Commitment of Treatment (DETECT) study. *Atherosclerosis*. 2017; 266: 24-30.
 16. Benn M, Watts GF, Tybjaerg-Hansen A, Nordestgaard BG. Familial hypercholesterolemia in the danish general population: prevalence, coronary artery disease, and cholesterol-lowering medication. *J Clin Endocrinol Metab*. 2012; 97: 3956-3964.
 17. Mundal L, Sarancic M, Ose L, et al. Mortality among patients with familial hypercholesterolemia: a registry-based study in Norway, 1992-2010. *J Am Heart Assoc* 3: e001236, 2014.
 18. Allard MD, Saeedi R, Yousefi M, Frohlich J. Risk stratification of patients with familial hypercholesterolemia in a multi-ethnic cohort. *Lipids Health Dis*. 2014; 13: 65.
 19. Besseling J, Kindt I, Hof M, et al. Severe heterozygous familial hypercholesterolemia and risk for cardiovascular disease: a study of a cohort of 14,000 mutation carriers. *Atherosclerosis*. 2014; 233: 219-223.
 20. Kramer A, Jansen AC, van Aalst-Cohen ES, et al. Relative risk for cardiovascular atherosclerotic events after smoking cessation: 6-9 years excess risk in individuals with familial hypercholesterolemia. *BMC Public Health*. 2006; 6: 262.
 21. de Sauvage Nolting PR, Defesche JC, Buirma RJ, et al. Prevalence and significance of cardiovascular risk factors in a large cohort of patients with familial hypercholesterolaemia. *J Intern Med*. 2003; 253: 161-168.
 22. Alonso R, Mata N, Castillo S, et al. Cardiovascular disease in familial hypercholesterolaemia: influence of low-density lipoprotein receptor mutation type and classic risk factors. *Atherosclerosis*. 2008; 200: 315-321.
 23. Chan DC, Pang J, Hooper AJ, et al. Elevated lipoprotein(a), hypertension and renal insufficiency as predictors of coronary artery disease in patients with genetically confirmed heterozygous familial hypercholesterolemia. *Int J Cardiol*. 2015; 201: 633-638.
 24. Besseling J, Kastelein JJ, Defesche JC, et al. Association between familial hypercholesterolemia and prevalence of type 2 diabetes mellitus. *JAMA*. 2015; 313: 1029-1036.
 25. Vohl MC, Gaudet D, Moorjani S, et al. Comparison of the effect of two low-density lipoprotein receptor class mutations on coronary heart disease among French Canadian patients heterozygous for familial hypercholesterolaemia. *Eur J Clin Invest*. 1997; 27: 366-373.
 26. Real JT, Chaves FJ, Martínez-Usó I, et al. Importance of HDL cholesterol levels and the total/HDL cholesterol ratio as a risk factor for coronary heart disease in molecularly defined heterozygous familial hypercholesterolaemia. *Eur Heart J*. 2001; 22: 465-471.
 27. Nenseter MS, Lindvig HW, Ueland T, et al. Lipoprotein(a) levels in coronary heart disease-susceptible and -resistant patients with familial hypercholesterolemia. *Atherosclerosis*. 2011; 216: 426-432.
 28. Zawacki AW, Dodge A, Woo KM, et al. In pediatric familial hypercholesterolemia, lipoprotein(a) is more predictive than LDL-C for early onset of cardiovascular disease in family members. *J Clin Lipidol*. 2018; 12: 1445-1451.
 29. Li S, Wu NQ, Zhu CG, et al. Significance of lipoprotein(a) levels in familial hypercholesterolemia and coronary artery disease. *Atherosclerosis*. 2017; 260: 67-74.
 30. Nordestgaard BG, Chapman MJ, Ray K, et al. Lipoprotein(a) as a cardiovascular risk factor: current status. *Eur Heart J*. 2010; 31: 2844-2853.
 31. Pirro M, Bianconi V, Paciuolo F, et al. Lipoprotein(a) and inflammation: A dangerous duet leading to endothelial loss of integrity. *Pharmacol Res*. 2017; 119: 178-187.
 32. Martinez LR, Santos RD, Miname MH, et al. Transfer of lipids to high-density lipoprotein (HDL) is altered in patients with familial hypercholesterolemia. *Metabolism*. 2013; 62: 1061-1064.
 33. Ganjali S, Momtazi AA, Banach M, et al. HDL abnormalities in familial hypercholesterolemia: Focus on biological functions. *Prog Lipid Res*. 2017; 67: 16-26.
 34. Ganjali S, Momtazi-Borojeni AA, Banach M, et al. HDL functionality in familial hypercholesterolemia: effects of treatment modalities and pharmacological interventions. *Drug Discov Today*. 2018; 23: 171-180.

35. Escate R, Mata P, Cepeda JM, et al. miR-505-3p controls chemokine receptor up regulation in macrophages: role in familial hypercholesterolemia. *FASEB J.* 2018; 32: 601-612.
36. Narverud I, Ueland T, Nenseter MS, et al. Children with familial hypercholesterolemia are characterized by an inflammatory imbalance between the tumor necrosis factor α system and interleukin-10. *Atherosclerosis.* 2011; 214: 163-168.
37. Gokalp D, Tuzcu A, Bahceci M, et al. Levels of proinflammatory cytokines and hs CRP in patients with homozygous familial hypercholesterolemia. *Acta Cardiol.* 2009; 64: 603-609.
38. Holven KB, Narverud I, Lindvig HW, et al. Subjects with familial hypercholesterolemia are characterized by an inflammatory phenotype despite long-term intensive cholesterol lowering treatment. *Atherosclerosis.* 2014; 233: 561-567.
39. Guardamagna O, Abello F, Saracco P, et al. Endothelial activation, inflammation and premature atherosclerosis in children with familial dyslipidemia. *Atherosclerosis.* 2009; 207: 471-475.
40. Martinez LR, Miname MH, Bortolotto LA, et al. No correlation and low agreement of imaging and inflammatory atherosclerosis' markers in familial hypercholesterolemia. *Atherosclerosis.* 2008; 200: 83-88.
41. Mollazadeh H, Carbone F, Montecucco F, et al. Oxidative burden in familial hypercholesterolemia. *J Cell Physiol.* 2018; 233: 5716-5725.
42. Narverud I, Retterstøl K, Iversen PO, et al. Markers of atherosclerotic development in children with familial hypercholesterolemia: a literature review. *Atherosclerosis.* 2014; 235: 299-309.
43. Van Tits L, De Graaf J, Hak-Lemmers H, et al. Increased levels of low-density lipoprotein oxidation in patients with familial hypercholesterolemia and in end-stage renal disease patients on hemodialysis. *Lab Invest.* 2003; 83: 13-21.
44. Hulthe J, Fagerberg B. Circulating oxidized LDL is associated with subclinical atherosclerosis development and inflammatory cytokines (AIR Study). *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2002; 22: 1162-1167.
45. Pasqualini L, Cortese C, Marchesi S, et al. Paraoxonase-1 activity modulates endothelial function in patients with peripheral arterial disease. *Atherosclerosis.* 2005; 183: 349-354.
46. Lee R, Margaritis M, Channon KM, Antoniadou C. Evaluating oxidative stress in human cardiovascular disease: methodological aspects and considerations. *Curr Med Chem.* 2012; 19: 2504-2520.
47. Ravnskov U, de Lorgeril M, Kendrick M, Diamond DM. Inborn coagulation factors are more important cardiovascular risk factors than high LDL-cholesterol in familial hypercholesterolemia. *Med Hypotheses.* 2018; 121: 60-63.
48. Bos S, Phillips M, Watts GF, et al. Novel protein biomarkers associated with coronary artery disease in statin-treated patients with familial hypercholesterolemia. *J Clin Lipidol.* 2017; 11: 682-693.
49. Junyent M, Gilabert R, Jarauta E, et al. Impact of low-density lipoprotein receptor mutational class on carotid atherosclerosis in patients with familial hypercholesterolemia. *Atherosclerosis.* 2010; 208: 437-441.
50. Egger M, Spence JD, Fenster A, Parraga G. Validation of 3D ultrasound vessel wall volume: an imaging phenotype of carotid atherosclerosis. *Ultrasound Med Biol.* 2007; 33: 905-914.
51. Saba L, Mallarini G, Sanfilippo R, et al. Intima Media Thickness Variability (IMTV) and its association with cerebrovascular events: a novel marker of carotid atherosclerosis? *Cardiovasc Diagn Ther.* 2012; 2: 10-18.
52. Ershova AI, Balakhonova TV, Meshkov AN, et al. Ultrasound markers that describe plaques are more sensitive than mean intima-media thickness in patients with familial hypercholesterolemia. *Ultrasound Med Biol.* 2012; 38: 417-422.
53. Tada H, Kawashiri MA, Okada H, et al. Assessments of Carotid Artery Plaque Burden in Patients With Familial Hypercholesterolemia. *Am J Cardiol.* 2017; 120: 1955-1960.
54. Smilde TJ, van Wissen S, Wollersheim H, et al. Effect of aggressive versus conventional lipid lowering on atherosclerosis progression in familial hypercholesterolemia (ASAP): a prospective, randomised, double-blind trial. *Lancet.* 2001; 357: 577-581.
55. Miname M, Alves R, Moraes S, et al. Coronary artery calcification is superior to classical risk factors as predictor of cardiovascular disease in familial hypercholesterolemia. *J Am Coll Cardiol.* 2018; 71: A1679.
56. Caballero P, Alonso R, Rosado P, et al. Detection of subclinical atherosclerosis in familial hypercholesterolemia using non-invasive imaging modalities. *Atherosclerosis.* 2012; 222: 468-472.
57. Vlahos AP, Naka KK, Bechlioulis A, et al. Endothelial dysfunction, but not structural atherosclerosis, is evident early in children with heterozygous familial hypercholesterolemia. *Pediatr Cardiol.* 2014; 35: 63-70.
58. de Jongh S, Lilien MR, Bakker HD, et al. Family history of cardiovascular events and endothelial dysfunction in children with familial hypercho-

- lesterolemia. *Atherosclerosis*. 2002; 163: 193-197.
59. Ershova AI, Meshkov AN, Rozhkova TA, et al. Carotid and Aortic Stiffness in Patients with Heterozygous Familial Hypercholesterolemia. *PLoS One*. 2016; 11: e0158964.
 60. Tada H, Kawashiri MA, Nohara A, et al. Assessment of arterial stiffness in patients with familial hypercholesterolemia. *J Clin Lipidol*. 2018; 12: 397-402.
 61. Graham CA, McClean E, Ward AJ, et al. Mutation screening and genotype:phenotype correlation in familial hypercholesterolaemia. *Atherosclerosis*. 1999; 147: 309-316.
 62. Guardamagna O, Restagno G, Rolfo E, et al. The type of LDLR gene mutation predicts cardiovascular risk in children with familial hypercholesterolemia. *J Pediatr*. 2009; 155: 199-204.
 63. Humphries SE, Whittall RA, Hubbart CS, et al. Genetic causes of familial hypercholesterolaemia in patients in the UK: relation to plasma lipid levels and coronary heart disease risk. *J Med Genet*. 2006; 43: 943-949.
 64. Ohta N, Hori M, Takahashi A, et al. Proprotein convertase subtilisin/kexin 9 V4I variant with LDLR mutations modifies the phenotype of familial hypercholesterolemia. *J Clin Lipidol*. 2016; 10: 547-555.
 65. Mohrschladt MF, van der Sman-de Beer F, Hofman MK, et al. TaqIB polymorphism in CETP gene: the influence on incidence of cardiovascular disease in statin-treated patients with familial hypercholesterolemia. *Eur J Hum Genet*. 2005; 13: 877-882.
 66. Bertolini S, Pisciotto L, Di Scala L, et al. Genetic polymorphisms affecting the phenotypic expression of familial hypercholesterolemia. *Atherosclerosis*. 2004; 174: 57-65.
 67. Koeijvoets KC, van der Net JB, Dallinga-Thie GM, et al. ABCG8 gene polymorphisms, plasma cholesterol concentrations, and risk of cardiovascular disease in familial hypercholesterolemia. *Atherosclerosis*. 2009; 204: 453-458.
 68. Eto M, Watanabe K, Chonan N, Ishii K. Familial hypercholesterolemia and apolipoprotein E4. *Atherosclerosis*. 1988; 72: 123-128.
 69. Wittekoek ME, Pimstone SN, Reymer PW, et al. A common mutation in the lipoprotein lipase gene (N291S) alters the lipoprotein phenotype and risk for cardiovascular disease in patients with familial hypercholesterolemia. *Circulation*. 1998; 97: 729-735.
 70. Paquette M, Dufour R, Baass A. Scavenger Receptor LOX1 Genotype Predicts Coronary Artery Disease in Patients With Familial Hypercholesterolemia. *Can J Cardiol*. 2017; 33: 1312-1318.
 71. Leus FR, Zwart M, Kastelein JJ, Voorbij HA. PON2 gene variants are associated with clinical manifestations of cardiovascular disease in familial hypercholesterolemia patients. *Atherosclerosis*. 2001; 154: 641-649.
 72. van der Net JB, Versmissen J, Oosterveer DM, et al. Arachidonate 5-lipoxygenase activating protein (ALOX5AP) gene and coronary heart disease risk in familial hypercholesterolemia. *Atherosclerosis*. 2009; 203: 472-478.
 73. van der Net JB, van Etten J, Yazdanpanah M, et al. Gene-load score of the renin angiotensin-aldosterone system is associated with coronary heart disease in familial hypercholesterolaemia. *Eur Heart J*. 2008; 29: 1370-1376.
 74. O'Malley JP, Maslen CL, Illingworth DR. Angiotensin-converting enzyme DD genotype and cardiovascular disease in heterozygous familial hypercholesterolemia. *Circulation*. 1998; 97: 1780-1783.
 75. Paquette M, Dufour R, Baass A. ABO blood group is a cardiovascular risk factor in patients with familial hypercholesterolemia. *J Clin Lipidol*. 2018; 12: 383-389.
 76. Jansen AC, van Aalst-Cohen ES, Tanck MW, et al. Genetic determinants of cardiovascular disease risk in familial hypercholesterolemia. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2005; 25: 1475-1481.
 77. Paquette M, Chong M, Saavedra YGL, et al. The 9p21.3 locus and cardiovascular risk in familial hypercholesterolemia. *J Clin Lipidol*. 2017; 11: 406-412.
 78. Patel RS, Asselbergs FW, Quyyumi AA, et al. Genetic variants at chromosome 9p21 and risk of first versus subsequent coronary heart disease events: a systematic review and meta-analysis. *J Am Coll Cardiol*. 2014; 63: 2234-2245.
 79. Koeijvoets KC, Mooijaart SP, Dallinga-Thie GM, et al. Complement factor H Y402H decreases cardiovascular disease risk in patients with familial hypercholesterolaemia. *Eur Heart J*. 2009; 30: 618-623.
 80. Paquette M, Dufour R, Baass A. PHACTR1 genotype predicts coronary artery disease in patients with familial hypercholesterolemia. *J Clin Lipidol*. 2018; 12: 966-971.
 81. Cenarro A, Artieda M, Castillo S, et al. A common variant in the ABCA1 gene is associated with a lower risk for premature coronary heart disease in familial hypercholesterolaemia. *J Med Genet*. 2003; 40: 163-168.
 82. Banach M, Mazidi M, Mikhailidis DP, et al. Association between phenotypic familial hypercholesterolaemia and telomere length in US adults: results from a multi-ethnic survey. *Eur Heart J*. 2018; 39: 3635-3640.

83. Santos RD, Gidding SS, Hegele RA, et al. Defining severe familial hypercholesterolaemia and the implications for clinical management: a consensus statement from the International Atherosclerosis Society Severe Familial Hypercholesterolemia Panel. *Lancet Diabetes Endocrinol.* 2016; 4: 850-861.
84. Pérez-Calahorra S, Sánchez-Hernández RM, Plana N, et al. Value of the Definition of Severe Familial Hypercholesterolemia for Stratification of Heterozygous Patients. *Am J Cardiol.* 2017; 119: 742-748.
85. Paquette M, Dufour R, Baass A. The Montreal-FH-SCORE: A new score to predict cardiovascular events in familial hypercholesterolemia. *J Clin Lipidol.* 2017; 11: 80-86.
86. Pérez de Isla L, Alonso R, Mata N, et al. Predicting Cardiovascular Events in Familial Hypercholesterolemia: The SAFEHEART Registry (Spanish Familial Hypercholesterolemia Cohort Study). *Circulation.* 2017; 135: 2133-2144.
87. Paquette M, Chong M, Thériault S, et al. Polygenic risk score predicts prevalence of cardiovascular disease in patients with familial hypercholesterolemia. *J Clin Lipidol.* 2017; 11: 725-732.