

FATTORI DI RISCHIO

L'IPERCOLESTEROLEMIA SEVERA: EPIDEMIOLOGIA, GENETICA E GESTIONE CLINICA

Severe hypercholesterolemia: epidemiology, genetics and clinical management

MAURIZIO AVERNA

Dipartimento di Promozione della Salute, Materno-Infantile, Medicina Interna e Specialistica di Eccellenza "G. D'Alessandro" – ProMISE - Università degli Studi di Palermo

SUMMARY

The definition of severe hypercholesterolemia can be different in relation to the clinical context to which it refers, for example, in a patient with myocardial infarction an LDL cholesterolemia far from the therapeutic target must be considered severe even in the presence of not particularly high plasma levels. On the other hand, the criteria of the Dutch Lipid Clinic Network (DLCN) of familial hypercholesterolemic (FH) patients do not exhaustively solve the problem of severe hypercholesterolemia, if it is true that subjects with LDL-C levels >190 mg/dl, carriers of other risk factors, must be considered at very high risk and deserve the same clinical attention as FH subjects. The new gene sequencing strategies have allowed us to identify new forms beyond the monogenic (polygenic, oligogenic) and in the future we will understand the genes-environment interactions and the epigenetic influences to explain that relevant part of severe hypercholesterolemia still negative to genetic analysis.

Keywords: *Severe hypercholesterolemia, FH, polygenic forms, epidemiology, genetics, clinical management.*

Introduzione

Il termine "Ipercolesterolemia severa" (IS) non ha un significato univoco; la definizione può essere diversa in relazione al contesto clinico. Un'ipercolesterolemia ad esempio viene considerata severa in un paziente infartuato in presenza di livelli di

low-density lipoprotein cholesterol (LDL-C) in valore assoluto non molto alti ma tuttavia distanti dal goal terapeutico. Di contro un'ipercolesterolemia è considerata severa quando presenti livelli quantitativamente elevati di LDL-C (>190 mg/dl) come avviene nella coda di destra della distribuzione di LDL-C in una data popolazione (*Figura 1*).

In questo articolo verranno discusse le varie forme di Ipercolesterolemia severa con un focus sulle forme genetiche.

Indirizzo per la corrispondenza

Maurizio Averna

E-mail: maurizio.averna@unipa.it

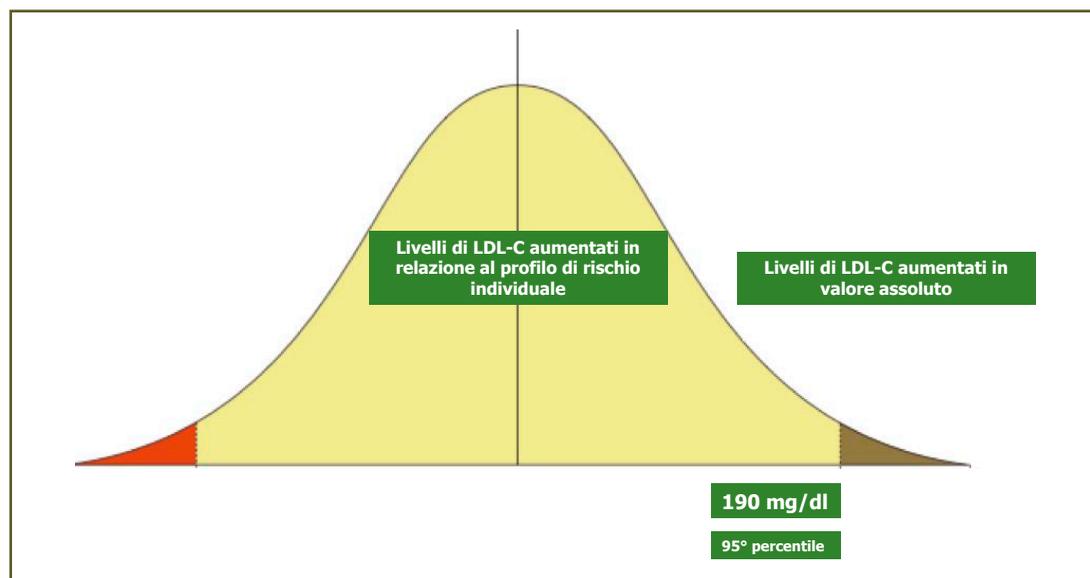


Figura 1 - Distribuzione plasmatica di LDL-C.

Ipercolesterolemia severa nel paziente a rischio cardiovascolare alto o molto alto

Le più recenti linee guida (1) categorizzano il rischio cardiovascolare basso-moderato, alto e molto alto sulla base delle carte del rischio SCORE che predicono gli eventi fatali a 10 anni.

Nella *tabella 1* sono mostrati i goals terapeutici da raggiungere per LDL-C nella categoria di rischio basso-moderato (<115 mg/dl), alto (<100 mg/dl) e molto alto (<70 mg/dl). Nella *tabella 2* sono illustrate le strategie di intervento ed i livelli di LDL-C ai quali iniziare il trattamento farmacologico. Appare evidente come la definizione di severità dell'ipercolesterolemia in questo particolare setting non sia basata sull'aumento assoluto dei livelli di LDL-C, ma piuttosto sia relativa alla distanza dal goal terapeutico: in un soggetto ad altissimo rischio con un goal raccomandato di LDL-C <70 mg/dl, un valore di LDL-C di 170 mg/dl può essere interpretato come ipercolesterolemia severa.

Ipercolesterolemia severa per aumento assoluto (>190 mg/dl) di LDL-C

L'ipercolesterolemia caratterizzata da livelli di LDL-C >190 mg/dl viene spesso considerata una espressione fenotipica dell'Ipercolesterolemia familiare.

L'ipercolesterolemia familiare (familial hypercholesterolaemia, FH) è una frequente causa genetica di malattia coronarica precoce (coronary heart disease, CHD), cioè infarto del miocardio e angina pectoris, a causa dell'esposizione per tutta la durata della vita a elevati livelli di LDL-C (2, 3). La prevalenza teorica stimata della FH eterozigote nella popolazione è di 1/500. Recentemente, nel Copenhagen General Population Study (4), un campione non selezionato della popolazione generale europea che comprende 69.016 partecipanti, la condizione di FH eterozigote è stata diagnosticata in base ai criteri del Dutch Lipid Clinic Network (DLCN) (*Box 1*). La prevalenza di individui classificati con FH certa o FH probabile (criteri DLCN con punteg-

Treatment targets and goals for cardiovascular disease prevention

| | |
|--|---|
| Smoking | No exposure to tobacco in any form. |
| Diet | Healthy diet low in saturated fat with a focus on whole grain products, vegetables, fruit and fish. |
| Physical activity | 2.5–5 h moderately vigorous physical activity per week or 30–60 min most days. |
| Body weight | BMI 20–25 kg/m ² , waist circumference <94 cm (men) and <80 cm (women). |
| Blood pressure | <140/90 mmHg. |
| Lipid LDL-C is the primary target | Very high-risk: LDL-C <1.8 mmol/L (70 mg/dL) or a reduction of at least 50% if the baseline is between 1.8 and 3.5 mmol/L (70 and 135 mg/dL). |
| | High-risk: LDL-C <2.6 mmol/L (100 mg/dL) or a reduction of at least 50% if the baseline is between 2.6 and 5.2 mmol/L (100 and 200 mg/dL). |
| | Low to moderate risk: LDL-C <3 mmol/L (115 mg/dL). |
| | Non-HDL-C secondary targets are <2.6, 3.4 and 3.8 mmol/L (100, 130 and 145 mg/dL) for very high-, high- and moderate-risk subjects, respectively. |
| | HDL-C: no target, but >1.0 mmol/L (40 mg/dL) in men and >1.2 mmol/L (48 mg/dL) in women indicates lower risk. |
| | TG: no target but <1.7 mmol/L (150 mg/dL) indicates lower risk and higher levels indicate a need to look for other risk factors. |
| Diabetes | HbA1c: <7% (<8.6 mmol/L). |

www.escardio.org/guidelines

European Heart Journal 2016 - doi:10.1093/eurheartj/ehv272



Tabella I - Obiettivi terapeutici per la prevenzione delle malattie cardiovascolari.

Intervention strategies

| Total CV risk (SCORE) % | LDL-C levels | | | | |
|----------------------------|--|---|---|---|---|
| | <70 mg/dL <1.8 mmol/L | 70 to <100 mg/dL 1.8 to <2.6 mmol/L | 100 to <155 mg/dL 2.6 to <4.0 mmol/L | 155 to <190 mg/dL 4.0 to <4.9 mmol/L | ≥190 mg/dL ≥4.9 mmol/L |
| <1 | Lifestyle advice | Lifestyle advice | Lifestyle advice | Lifestyle advice | Lifestyle advice, consider drug if uncontrolled |
| Class/Level | I/C | I/C | I/C | I/C | IIa/A |
| ≥1 to <5 | Lifestyle advice | Lifestyle advice | Lifestyle advice, consider drug if uncontrolled | Lifestyle advice, consider drug if uncontrolled | Lifestyle advice, consider drug if uncontrolled |
| Class/Level | I/C | I/C | IIa/A | IIa/A | I/A |
| ≥5 to <10, or high-risk | Lifestyle advice | Lifestyle advice, consider drug if uncontrolled | Lifestyle advice and drug treatment for most | Lifestyle advice and drug treatment | Lifestyle advice and drug treatment |
| Class/Level | IIa/A | IIa/A | IIa/A | I/A | I/A |
| ≥10 or very high-risk | Lifestyle advice, consider drug ^a | Lifestyle advice and concomitant drug treatment |
| Class/Level | IIa/A | IIa/A | I/A | IA | IIa/A |

^aIn patients with myocardial infarction, statin therapy should be considered irrespective of total cholesterol levels.

www.escardio.org/guidelines

European Heart Journal 2016 - doi:10.1093/eurheartj/ehv272



Tabella I - Strategie di intervento e livelli di LDL-C ai quali iniziare il trattamento farmacologico.

Box I - Criteri clinici per la diagnosi di FH

| | | Punti |
|--|--------------------------------|-------|
| Storia familiare | | |
| a) Parenti di primo grado con coronaropatia (CHD) prematura (<55 anni negli uomini; <60 anni nelle donne) | | 1 |
| b) Parenti di primo grado con colesterolo >8 mmol/L (≥310 mg/dl) (o >95° percentile del Paese) | | 1 |
| c) Parenti di primo grado con xantomi tendinei e/o arco corneale | | 2 |
| d) Bambini <18 anni con colesterolo >6 mmol/L (≥230 mg/dl) (o >95° percentile del Paese) | | 2 |
| Storia clinica | | |
| a) Soggetto con CHD prematura (<55 anni negli uomini; <60 anni nelle donne) | | 2 |
| b) Soggetto con malattia vascolare cerebrale o periferica prematura (<55 anni negli uomini; <60 anni nelle donne) | | 1 |
| Esame fisico | | |
| a) Xantoma tendineo | | 6 |
| b) Arco corneale in un soggetto con <45 anni | | 4 |
| Risultati biochimici (colesterolo LDL) | >8,5 mmol/L (>325 mg/dl) | 8 |
| | 6,5-8,4 mmol/L (251-325 mg/dl) | 5 |
| | 5,0-6,4 mmol/L (191-250 mg/dl) | 3 |
| | 4,0-4,9 mmol/L (155-190 mg/dl) | 1 |
| Analisi del DNA | | |
| a) Mutazione causativa nota nei geni | | 8 |
| Diagnosi "certa" con un punteggio >8 punti. Diagnosi "probabile" con un punteggio tra 6 e 8 punti. Diagnosi "possibile" con un punteggio tra 3 e 5 punti. Diagnosi "improbabile" con un punteggio tra 0 e 2 punti. | | |

gio >5 punti) era pari a 0,73% (1/200). Sulla base di estrapolazioni di queste prevalenze stimate fra 1/500-1/200, nel mondo tra 14 e 34 milioni di persone sarebbero affetti da FH. Se non trattati, gli uomini e le donne con FH eterozigote con livelli di colesterolo totale di 8-15 mmol/L (310-580 mg/dl) sviluppano CHD rispettivamente prima dei 55 e dei 60 anni, mentre gli omozigoti con livelli di colesterolo totale di 12-30 mmol/L (460-1160 mg/dl) sviluppano CHD in età giovanile e, se non vengono sottoposti a terapia, muoiono prima dei 20 anni. Tuttavia, una volta diagnosticati, gli eterozigoti possono essere efficacemente trattati con farmaci ipocolesterolemizzanti per attenuare lo sviluppo di aterosclerosi e prevenire la CHD. Infatti, se gli individui con FH eterozigote sono diagnosticati relativamente presto nella vita e sono efficacemente trattati con statine, il loro rischio di infarto miocardico si avvicina a quello della popolazione generale (5).

Cause monogeniche di FH

La FH è causata da mutazioni nei geni che codificano per proteine chiave coinvolte nelle vie metaboliche che riguardano il recettore delle LDL e il suo ciclo metabolico (LDL-R recycling), con conseguente diminuzione dell'uptake cellulare delle LDL e conseguente aumento delle concentrazioni plasmatiche del colesterolo LDL (2). All'interno degli epatociti, il colesterolo viene sintetizzato ex novo, attraverso una serie di reazioni enzimatiche; la reazione limitante, perché regolata da un feedback inibitorio, è catalizzata dall'enzima 3-idrossi-3-metilglutaril coenzima A reduttasi che viene bloccato dalle statine. Il colesterolo all'interno dell'epatocita è incorporato in lipoproteine a densità molto bassa (Very Low Density Lipoproteins, VLDL) contenenti apolipoproteina B; il catabolismo in circolo delle VLDL dà origine alle LDL, che veicolano la maggior parte del coleste-

rolo dal fegato ai tessuti periferici. L'endocitosi delle LDL via apolipoproteina B da parte delle cellule periferiche e degli epatociti rappresenta la via principale di eliminazione dal circolo delle LDL e avviene attraverso il recettore LDL (LDLR) e una proteina adattatore (LDLRAP). La maggior parte dei recettori LDL viene riutilizzata attraverso un processo che permette il ricircolo del recettore dal citoplasma alle membrane cellulari (recycling). La proteina convertasi subtilisin/kexin tipo 9 (PCSK9) si lega al dominio extracellulare EGFA del recettore, ne impedisce il riciclo intracellulare favorendone la degradazione e regola così il numero di recettori presenti sulle membrane cellulari.

Mutazioni (in eterozigosi) con perdita di funzione nel gene LDLR, mutazioni (in eterozigosi) nel gene APOB che alterano il dominio di legame dell'apolipoproteina B con il recettore LDL, o mutazioni, (in eterozigosi) con guadagno di funzione nel gene PCSK9 sono le cause principali della FH autosomica dominante (ADH). Mutazioni in omozigosi del gene LDLRAP sono responsabili della forma recessiva: la Autosomal Recessive Hypercholesterolemia (ARH) (6-7). Le complicanze cliniche (cardiopatía ischemica prematura) della FH eterozigote (HeFH) ed omozigote (HoFH) sono legate al conseguente aumento del colesterolo LDL plasmatico che causa aterosclerosi.

I tre geni candidati responsabili di ADH contribuiscono alla etiologia della malattia con frequenze differenti: mutazioni nei geni LDLR, APOB e PCSK9 vengono trovate rispettivamente nel >90%, ~5% e ~1% dei soggetti FH eterozigote portatori di mutazioni causative. La HoFH è causata da mutazioni in omozigosi o più spesso da mutazioni in eterozigosi composta nei geni LDLR o ARH. Alcuni rari soggetti sono "doppi eterozigoti", cioè hanno muta-

zioni in eterozigosi in due dei quattro geni di cui sopra, determinando di solito un fenotipo che è intermedio tra quello degli HeFH e HoFH.

La diagnosi di FH è una diagnosi clinica (*BOX.1*) che permette l'individuazione del soggetto affetto e attraverso il cosiddetto "screening a cascata" dei familiari. I membri della famiglia da sottoporre a valutazione sono principalmente parenti biologici di primo grado, cioè genitori, fratelli e figli. Dovrebbero anche essere considerati i parenti biologici di secondo grado, tra cui nonni, zii, zie, nipoti e fratellastri. L'evento "premature" si presenta prima dei 55 anni nei maschi e prima dei 60 anni nelle femmine tra i parenti di primo grado e nei parenti di secondo grado, le età corrispondenti sono 50 e 55 anni. D'altra parte, lo screening genetico a cascata a partire da soggetti con FH portatori di una mutazione causativa, ha mostrato che, in media, i familiari che portano la mutazione causativa hanno livelli di colesterolo LDL due volte più elevati rispetto ai familiari non-portatori. Le cause secondarie di ipercolesterolemia devono essere escluse mediante rilevazione di enzimi epatici, funzionalità renale e ormoni tiroidei nella norma e assenza di iperglicemia ed albuminuria. Oltre alla costruzione dell'albero genealogico devono essere eseguiti un esame clinico sistematico per rilevare la presenza di xantomi tendinei e tuberosi e di arco corneale. La valutazione ecografica del tendine di Achille, quando disponibile, aumenta il tasso di identificazione degli xantomi (8). Nonostante i livelli di colesterolo totale siano elevati (≥ 310 mg/dl) (≥ 230 mg/dl nei bambini), i livelli di trigliceridi e lipoproteine ad alta densità (HDL) sono generalmente non alterati. La presenza di ipertrigliceridemia non esclude la diagnosi di FH; tuttavia, devono essere considerate altre cause di ipertrigliceride-

mia e potrebbe essere necessario un trattamento specifico (9). Lo step successivo, quando possibile è rappresentato dal test genetico che permette di confermare lo score ottenuto con i criteri clinici, di identificare precocemente soggetti ancora clinicamente sani ma ad alto rischio CV ed infine di motivare alla aderenza ai farmaci.

Due modi di definire l'ipercolesterolemia severa

Una definizione di Ipercolesterolemia severa applicata alla FH è stata data dall'International Atherosclerosis Society (IAS) (10) in cui il fenotipo ipercolesterolemico familiare severo è quello caratterizzato dal più alto rischio CV, che è caratterizzato dai livelli di LDL-C e dalla risposta individuale al trattamento ipocolesterolemizzante. Una seconda definizione è invece basata sui livelli di LDL-C qualunque sia la causa:

“il fenotipo ipercolesterolemico severo include tutti i pazienti con marcato aumento dei livelli di LDL-C” (11).

Le due definizioni rispondono ad esigenze diverse: la prima si pone come obiettivo, all'interno della popolazione FH, la stratificazione del rischio cardiovascolare, mentre la seconda cerca di includere i cambiamenti interpretativi prodotti dalle nuove conoscenze di genetica e dalla introduzione delle nuove tecnologie diagnostiche di “next generation” (Figura 2).

I soggetti con Ipercolesterolemia severa non sono uguali in relazione al rischio CV

Il determinante principale nella FH del rischio CV è rappresentato dai livelli assoluti di LDL-C che assieme all'età condizionano il *lifetime burden* di esposizione al fattore causale di aterosclerosi. I dati del

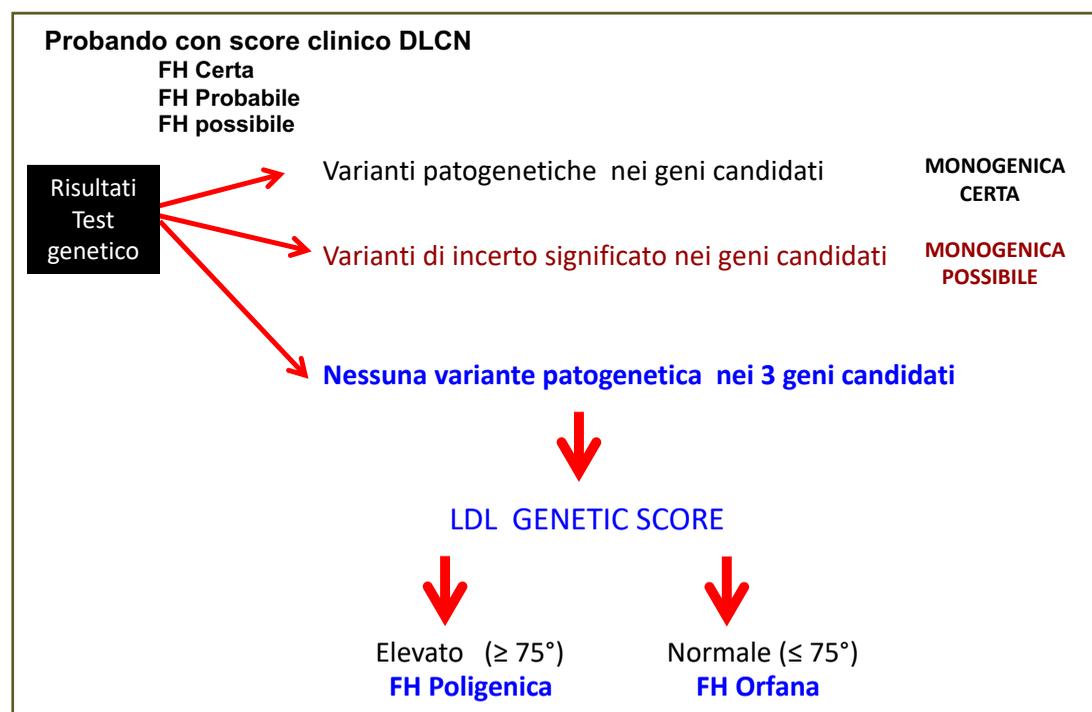


Figura 2 - Analisi genetica delle Ipercolesterolemie severe.

| Gene | SNP number | Location | LDL-C-raising allele | Effect on LDL-C level (mmol/l) | Comments |
|--------|------------|--------------|----------------------|--------------------------------|---|
| LDLR | rs6511720 | 19:11202306 | G | 0.26 | The principal causative locus for classical monogenic FH |
| CELSR2 | rs12740374 | 1:109817590 | G | 0.23 | Gene product has uncertain role in lipid metabolism; locus also includes <i>SORT1</i> , which encodes a protein involved in LDL-receptor processing |
| APOB | rs515135 | 2:21286057 | C | 0.16 | Gene product is a ligand for the LDL receptor; also a causative locus for monogenic FH |
| ABCG8 | rs6544713 | 2:44073881 | T | 0.15 | Gene product is sterolin 2, which governs sterol absorption; also causative for sitosterolaemia |
| PCSK9 | rs11206510 | 1:55496039 | T | 0.09 | Gene product is an LDL-receptor degrading enzyme; also a causative locus for monogenic FH |
| HMGR | rs3846663 | 5:74655726 | T | 0.07 | Gene product is the rate-limiting enzyme in cholesterol biosynthesis |
| TIMD4 | rs1501908 | 5:156398169 | C | 0.07 | Gene product has an uncertain role in lipid metabolism |
| HNF1A | rs2650000 | 12:121388962 | A | 0.07 | Gene product is a transcription factor; rare variants are causative for inherited diabetes mellitus |
| MAFB | rs6102059 | 20:39228784 | C | 0.06 | Gene product is a transcription factor with an uncertain role in lipid metabolism |
| NCAN | rs10401969 | 19:19407718 | T | 0.05 | Gene product is a proteoglycan with an uncertain role in lipid metabolism |

Nature Reviews | Cardiology 2018

Tabella 3 - Varianti polimorfiche utilizzate per calcolare lo score poligenico per FH.

registro spagnolo degli FH (12) dimostra come la storia di malattia cardiovascolare aterosclerotica prevalga maggiormente tra gli FH (9,4% vs 2,4% nei non FH).

Inoltre i risultati dell'applicazione di uno score poligenico di rischio cardiovascolare (*Tabella 3*), costituito da migliaia di varianti genetiche trovate negli studi GWAS, ha dimostrato come il rischio (odds ratio) di infarto conferito ad un individuo è sia nella condizione monogenica, sia nella condizione poligenica 3.7 volte maggiore (13). Negli FH i livelli di LDL-C sono correlati al tipo di mutazione genetica e quindi al suo effetto sulla funzione recettoriale. È possibile categorizzare le numerose e differenti mutazioni del gene LDLR in mutazioni receptor-defective (RD) e mutazioni receptor-negative (RN). Le prime, meno gravi, sono caratterizzate dalla presenza di attività recettoriale residua mentre le seconde, più gravi, dalla completa perdita di funzione del recettore. I livelli di LDL-C sono quindi differenti nei due gruppi con valori medi maggiori nei RN (14).

I soggetti con FH-RN in confronto agli FH-RD, oltre a presentare livelli medi di LDL-C superiori, hanno una maggiore prevalenza di malattia aterosclerotica coronarica e carotidea, una incidenza di eventi CV più precoce ed una maggiore prevalenza di accumulo tendineo di colesterolo (xantomatosi). Questa osservazione si integra con il fatto che il rischio CV negli FH eterozigoti così come nella popolazione generale è influenzato dai livelli di LDL-C, ma anche dall'effetto singolo o combinato dei fattori di rischio CV (ipertensione, diabete, obesità viscerale, *lifestyle*, fumo di sigaretta, fattori di rischio lipidico diversi da LDL-C, etc.) e dai fattori di rischio genetici non lipidici. Nel 2017 Paquette M et al. (15) hanno creato e poi validato il Montreal-FH-SCORE, uno score che include dati anagrafici, antropometrici, i fattori di rischio classici, il profilo lipidico completo e l'uso di statine, al fine di stratificare e predire il rischio CV nella popolazione di soggetti con FH certa. Le classi di score vanno da <10 a >36; i soggetti FH con un

alto Montreal-FH-SCORE score (>20) hanno un rischio 10,3 volte più alto di eventi cardiovascolari se confrontati con i soggetti con lo *score* più basso.

I creatori del Montreal-FH-SCORE suggeriscono inoltre l'utilità di applicare nella popolazione FH, score di rischio cardiovascolare poligenici lipidici e non lipidici come quelli che nelle ultime due decadi sono stati e continuano ad essere sviluppati e validati. Un esempio di tale score è riportato nella *Tabella 3*. In questa figura è ipotizzato l'uso di un pannello di varianti polimorfiche che negli studi di associazione genome-wide (GWAS) sono stati trovati correlati con il rischio CV. Tali geni appartengono a diversi cluster che sono legati fisiopatologicamente alla malattia cardiovascolare di natura aterosclerotica: geni del metabolismo lipoproteico, della trombosi/coagulazione, stress ossidativo, sistema endocrino, pressione arteriosa/funzione endoteliale, infiammazione e geni la cui funzione è ancora sconosciuta ma fortemente associati al rischio CV.

La prevalenza di Ipercolesterolemia severa è maggiore della prevalenza stimata di FH

Nella popolazione generale la curva gaussiana di distribuzione dei livelli di LDL-C (*Figura 1*) ci permette di identificare tre aree: la coda di sinistra (<5° percentile) rappresentata dai soggetti con valori bassi di LDL-C, l'area centrale dove è rappresentata la maggior parte della popolazione con livelli di LDL-C la cui severità dipende dal profilo di rischio individuale e la coda di destra (>95° percentile) (>190 mg/dl) dove sono rappresentati i soggetti con Ipercolesterolemia severa. In accordo con il Copenhagen General Population Study (4) la prevalenza attesa di FH è di 4:1000 individui. I dati italiani (16) mostrano

come circa il 7% della popolazione italiana nella fascia di età compresa tra 35 e 79 anni, presenta valori di LDL-C >190 mg/dl. I dati ISTAT aggiornati al 1° gennaio 2018 indicano per questa fascia di età in Italia una numerosità di 35.668.573 individui. In accordo alla precedente prevalenza, i soggetti con ipercolesterolemia severa sono un numero largamente superiore alla frequenza attesa di FH. Lo stesso dato è stato rilevato nel Ventimiglia Heart Study (17) dove il 95° percentile della distribuzione dei livelli plasmatici di LDL-C è di circa 190 mg/dl con 83 individui con ipercolesterolemia severa contro i circa 8 FH attesi. Khera AV et al. hanno chiaramente dimostrato come in una grande coorte di oltre 20000 soggetti il 6,7% avevano livelli di LDL-C >190 mg/dl e con il semplice approccio della sequenza dei tre geni candidati (LDLR, APOB e PCSK9) solo circa il 2% erano carriers di FH monogenica (18).

La nuova architettura genetica della Ipercolesterolemia severa

I principali geni candidati responsabili della Ipercolesterolemia familiare autosomica dominante sono, come già descritto, i geni che codificano per LDL recettore (LDLR), per apolipoproteina B (APOB) e per (PCSK9). Tuttavia quando viene condotta una analisi genetica con strategie tradizionali che analizzano soltanto i tre geni candidati, il risultato non è sempre univoco. In *figura 2* sono descritti gli scenari possibili. È possibile fare diagnosi di Ipercolesterolemia monogenica se viene identificata la variante patogenetica in uno dei tre geni candidati e questo avviene nel 50% dei casi; si possono però identificare varianti il cui significato patogenetico non è certo: le cosiddette VUS (varianti di significato incerto - Variant of Uncertain Significance -).

Nel caso di assenza di varianti nei tre geni candidati è necessario valutare il così detto carico poligenico. Nel 2013 Talmud PJ (19) dimostrò come livelli di LDL-C sovrapponibili a quelli dei soggetti con ipercolesterolemia monogenica potevano essere spiegati dal contributo additivo di 12 varianti funzionali in altrettanti geni che contribuivano ciascuno ad un piccolo aumento di LDL-C. È quindi possibile analizzare le 12 varianti (*Tabella 3*) (20) o il pannello ridotto di 6 varianti (21) che performa altrettanto bene, per accertare la etiologia poligenica della Ipercolesterolemia severa. Tuttavia in una certa percentuale di casi (fino al 30%) non è possibile determinare la presenza di una etiologia né monogenica né poligenica; queste forme orfane potrebbero essere spiegate da altri geni ancora sconosciuti, ma prima di definirle orfane bisogna escludere i casi di ipercolesterolemia da aumenti di Lp(a) e di beta sitosterolemia (20).

I risultati del lavoro di Tada H (22) hanno introdotto un nuovo livello di complessità genetica. In una coorte di 500 soggetti con Ipercolesterolemia severa, l'analisi genetica ha permesso di identificare 5 gruppi:

1. Individui senza mutazioni;
2. Individui con mutazioni nei geni accessori (ABCG5, ABCG8, APOE, and LDLRAP1);
3. Individui con causa monogenica e cioè con mutazioni nei tre geni candidati (LDLR, PCSK9, e APOB);
4. Individui con causa oligogenica e cioè con mutazioni sia nei tre geni candidati (LDLR, PCSK9, e APOB) che in 4 geni accessori (ABCG5, ABCG8, APOE, and LDLRAP1);
5. Soggetti omozigoti.

Il dato più interessante riguarda i livelli di LDL-C che sono più alti come atteso negli omozigoti, ma i casi oligogenici etero-

zigoti mostravano una media di LDL-C superiore ai monogenici eterozigoti con un rischio di malattia coronarica superiore negli oligogenici.

Prevalenza delle forme poligeniche-studi di coorte

Balder et al. (23) hanno utilizzato un database olandese "lifelines" dove erano arruolate 27958 donne di età compresa tra 25 e 40 anni e hanno selezionato un campione di 121 soggetti con LDL-C >190 mg/dl ed un campione controllo. Nel 24% delle donne con LDL-C >190 mg/dl sono state trovate varianti nei tre geni candidati mentre il 21% era portatore di un carico poligenico responsabile della Ipercolesterolemia severa. Degno di nota il fatto che nel 55% del campione non è stata trovata una causa genetica dell'Ipercolesterolemia severa, ma gli elevati livelli di LDL-C erano associati ad uno stile di vita sfavorevole. I risultati di questo lavoro confermano la complessità dell'architettura genetica dell'Ipercolesterolemia severa e sottolineano l'impatto del *lifestyle* come fattore responsabile in una proporzione di soggetti con livelli estremi di LDL-C.

Wang J et al. (24) hanno applicato delle tecniche di sequenziamento di nuova generazione (next generation sequencing-NGS) in una coorte di 313 soggetti con ipercolesterolemia severa (LDL-C >194 mg/dl). Il 54% dei soggetti era portatore di una causa monogenica di Ipercolesterolemia severa, il 13% di una causa poligenica e nel 33% non è stato possibile identificare alcun determinante genetico. Tuttavia se il campione veniva stratificato sulla base dei livelli di LDL-C, nel quartile con valori superiori a 310 mg/dl, la maggior parte dei soggetti (88%) era portatore di una causa monogenica attribuibile essenzialmente a mutazioni nel gene LDLR. Quindi è

possibile a priori prevedere una etiologia poligenica che decresce come prevalenza all'aumentare dei valori di LDL-C da >190 mg/dl a > 310 mg/dl. Come spiegare il 33% di soggetti con ipercolesterolemia severa senza una apparente causa genetica? È possibile che non conosciamo geni che potrebbero dare un contributo monogenico o poligenico, oppure che determinanti genetici non mendeliani (genoma mitocondriale o fattori epigenetici) possano contribuire all'aumento di LDL-C; infine fattori ambientali (es. *lifestyle*) da soli o con interazioni genetiche potrebbero determinare la comparsa del fenotipo "Ipercolesterolemia severa". L'identificazione dei soggetti con Ipercolesterolemia severa a etiologia monogenica e poligenica ha anche delle importanti implicazioni cliniche; Sharifi et al. (25) hanno dimostrato in una piccola coorte di monogenici e poligenici come l'aterosclerosi subclinica carotidea e coronarica sia più rappresentata negli ipercolesterolemici severi monogenici. La spiegazione potrebbe risiedere nel fatto che i monogenici hanno un "lifetime LDL-C burden" più alto perché l'accumulo di LDL inizia alla nascita mentre i poligenici possono raggiungere gli stessi livelli di LDL-C più tardivamente nella loro vita.

La gestione clinica del paziente con Ipercolesterolemia severa

Le linee guida europee e i documenti di consenso dell'European Atherosclerosis Society (1, 26) per la Ipercolesterolemia severa, che viene considerata sinonimo di FH, hanno mutuato gli stessi goal di LDL-C validi per la popolazione generale. Per la popolazione pediatrica <135 mg/dl, per gli adulti <100 mg/dl in prevenzione primaria e <70 mg/dl in prevenzione secondaria. Per i soggetti FH quindi, in assenza di evidenze derivate da trial specificamen-

te disegnati per tale categoria, vengono estese le evidenze prodotte dai trial controllati condotti in popolazioni non FH. Viene quindi assunto che anche per questi soggetti la riduzione del rischio cardiovascolare è proporzionale alla riduzione dei livelli di LDL-C con gli stessi parametri: riduzione di 1 mmol/L di LDL-C induce una riduzione del 22% del rischio relativo di mortalità cardiovascolare e del 12% della mortalità totale in 5 anni (27). I soggetti FH e quindi con Ipercolesterolemia severa da cause genetiche si considerano ad alto rischio sin dall'età giovane-adulta per la durata dell'esposizione agli alti livelli del fattore causale LDL-C.

Le linee guida raccomandano le norme di *lifestyle* come primo approccio con particolare attenzione all'astensione dal fumo, all'aderenza alla dieta e all'attività fisica.

Lo scopo dei consigli nutrizionali è quello di evitare il sovrappeso e ridurre l'introito di colesterolo, grassi saturi e trans. L'attività fisica dovrebbe essere preceduta da una valutazione della *fitness* cardiorespiratoria. Tuttavia una volta diagnostica l'Ipercolesterolemia è raccomandato l'inizio della terapia farmacologica sia nei

Key points

- L'ipercolesterolemia severa (IS) è caratterizzata dalla presenza di livelli di LDL-C > 190 mg/dl
- La prevalenza di IS così definita è largamente maggiore della prevalenza attesa di Ipercolesterolemia Familiare
- L'architettura genetica della IS è complessa per la presenza di determinanti monogenici, poligenici, oligogenici e di interazione gene-ambiente
- Per una migliore identificazione della IS un cut-off di LDL-C > 190 mg/dl sarebbe preferibile al Dutch Lipid Clinic Network Score

bambini FH, a partire dagli 8-10 anni, sia negli adulti. Per i casi più gravi, come gli FH omozigoti, la terapia di prima linea è rappresentata dalla aferesi lipoproteica, quando disponibile, dalla terapia di combinazione statina + ezetimibe ed è oggi possibile trattare questi soggetti con lomitapide, farmaco che inibisce la proteina di trasferimento microsomiale dei trigliceridi (MTP), interferendo nell'assemblaggio epatico e nella secrezione delle VLDL, dal momento che questa proteina è fondamentale per il trasferimento dei trigliceridi sull'apolipoproteina B. Nei soggetti con FH omozigote in sola dieta, la riduzione massima ottenuta con lomitapide è stata del 51% per il colesterolo LDL, del 79% per il colesterolo VLDL, del 65% per i trigliceridi, del 56% per l'apolipoproteina B e del 15% per Lp(a); tuttavia sono frequenti steatosi epatica ed effetti collaterali gastrointestinali (28). L'esperienza italiana con lomitapide (29) dimostra come l'aggiunta in media di 19 mg/die del farmaco ha ridotto LDL-C del 68,2% e al nadir del 76,5%. Il 60% degli FH omozigoti avevano raggiunto il goal di LDL-C di <100 mg/dl, il 46,6% di <70 mg/dl, mentre l'80% (8 su 10 pazienti) in trattamento aferetico fu in grado di interrompere tale trattamento.

Recenti documenti di consenso dell'American College of Cardiology (ACC) (30) e della EAS (31) suggeriscono la possibilità di utilizzare un monoclonale anti PCSK9-evolocumab- che negli omozigoti con funzione recettoriale residua ha dimostrato di poter ridurre LDL-C di circa il 30%.

La terapia con statine degli FH ha prodotto una rilevante riduzione degli eventi cardiovascolari e l'esperienza olandese dimostra come le statine siano in grado di garantire una sopravvivenza libera da eventi sovrapponibile a quella dei soggetti non FH (5). L'analisi a lungo termine (20 anni) della coorte del Woscops study (32)

ha dimostrato nei pazienti con Ipercolesterolemia severa (LDL-C >190 mg/dl) un beneficio superiore a quello ottenuto nei primi 5 anni del trial in termini di riduzione dei MACE (eventi cardiovascolari maggiori) (HR 0,79 vs 0,63), della mortalità cardiovascolare e soprattutto per tutte le cause. Tali risultati sottolineano l'importanza della durata del trattamento. Per tale motivo le recenti linee guida americane (33) raccomandano nei soggetti con Ipercolesterolemia severa di non calcolare il rischio a 10 anni e trattare per raggiungere il goal di LDL-C <100 mg/dl con statina ad alta efficacia, associando eventualmente ezetimibe e, se necessario, inibitori della PCSK9. Esiste tuttavia un gap nella pratica clinica poiché solo il 20% dei soggetti con Ipercolesterolemia severa raggiunge i goal di LDL-C per il mancato uso delle terapie più efficaci e per la mancata titolazione della terapia. Nonostante l'uso delle terapie di combinazione più efficaci molti soggetti con Ipercolesterolemia severa non raggiungono i goal perché i livelli basali di LDL-C sono superiori a quel 50-60% che è la riduzione massima ottenibile con tali terapie; in questi casi le raccomandazioni delle società scientifiche americane ed europee suggeriscono la terapia addizionale con inibitori di PCSK9 (30, 31). Tali farmaci nel *setting* dell'Ipercolesterolemia severa hanno dimostrato di ottenere una riduzione additiva di LDL-C del 40-50%. Inoltre gli inibitori di PCSK9 rappresentano una valida opzione nei soggetti con Ipercolesterolemia severa, veri intolleranti alle statine, in aggiunta alla monoterapia con ezetimibe.

Commento

I dati a nostra disposizione dimostrano che la semplice identificazione con i criteri clinici del Dutch Lipid Clinic Net-

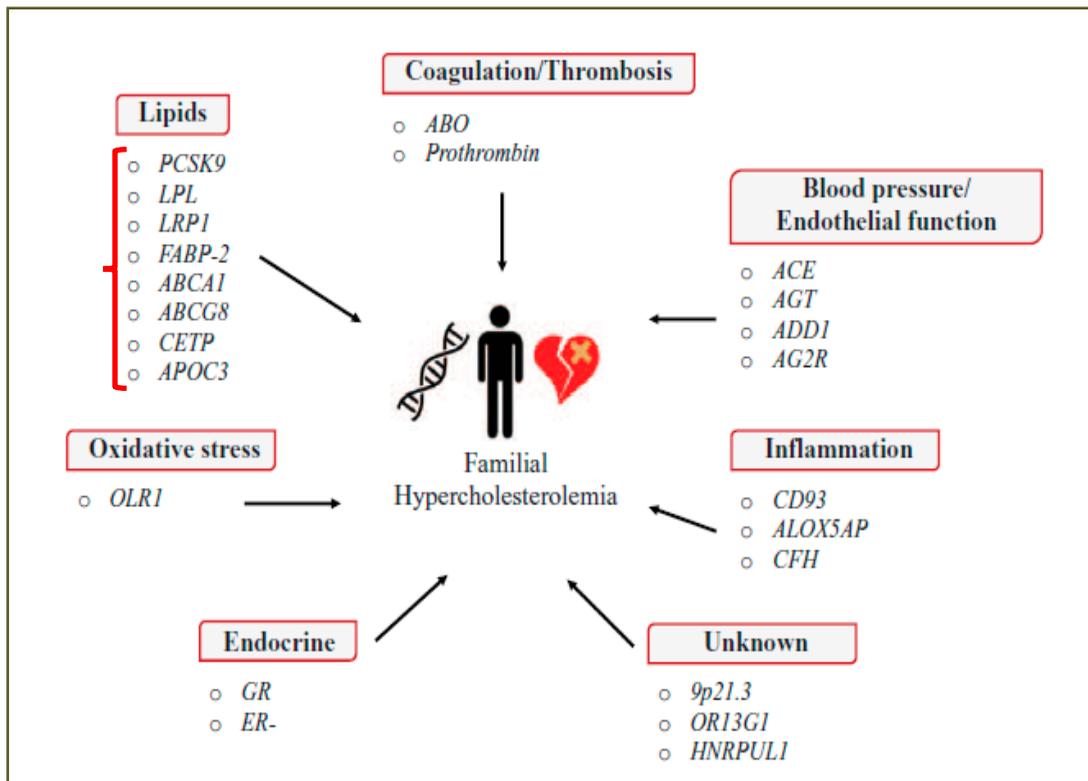


Figura 3 - Score di suscettibilità poligenica alle malattie cardiovascolari nella Ipercolesterolemia Familiare.

work (DLCN) dei pazienti FH, la cui prevalenza nella popolazione generale è di 1:250 (4) non risolve in modo esauriente il problema della Ipercolesterolemia severa (LDL-C >190 mg/dl), che è largamente più rappresentata nella coda di destra della distribuzione dei livelli di LDL-C in una data popolazione (Figura 1). D'altra parte se è vero che i soggetti FH per il loro peculiare "lifetime LDL-C burden" hanno un carico di malattia coronarica maggiore dei non FH (18), è pur vero che i soggetti con livelli di LDL-C >190 mg/dl, se portatori di altre condizioni di rischio, possono essere considerati a rischio CV molto alto e meritano pertanto la stessa attenzione clinica dei soggetti FH e cioè vanno identificati e trattati precocemente senza necessariamente valutare il profilo di rischio a 10 anni (10,33) (Figura 3). Nel

Box 2 sono elencate le tipologie di pazienti con Ipercolesterolemia severa (FH e non-FH). D'altra parte le nuove strategie di sequenziamento (NGS) hanno fatto luce sulla complessità dell'architettura genetica dell'Ipercolesterolemia severa, permettendoci di scoprire nuove etiologie oltre la

Box 2 - Chi sono i pazienti con Ipercolesterolemia severa?

- Pazienti HoFH
- Pazienti IS/FH con precedenti manifestazioni cardiovascolari di natura aterosclerotica
- Pazienti IS/FH con aterosclerosi subclinica avanzata
- Pazienti IS/FH con livelli di LDL-C >400 mg/dl
- Pazienti IS/FH con livelli di LDL-C >310 mg/dl + 1 FR
- Pazienti IS/FH con livelli di LDL-C >190 mg/dl + 2 high risk conditions

IS=Ipercolesterolemia severa; FH=Ipercolesterolemia Familiare

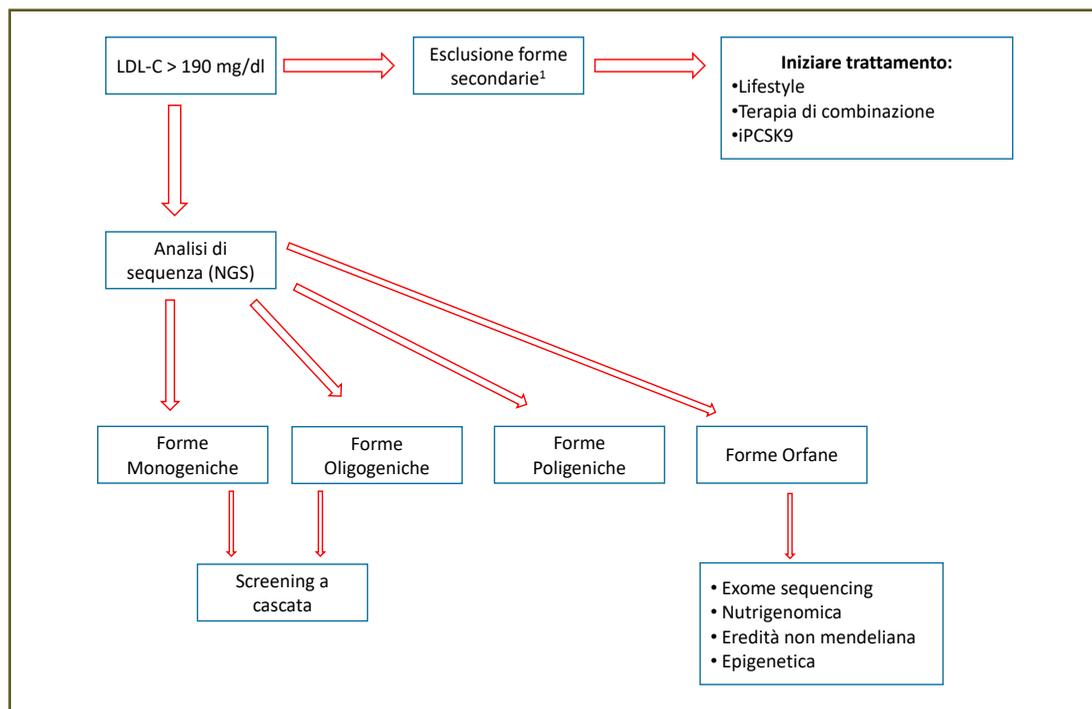


Figura 4 - Algoritmo per la gestione diagnostico-terapeutica dell'Ipercolesterolemia severa¹. Ipotiroidismo, colestasi, ipersurrenalismo, diabete, sindrome nefrosica, obesità viscerale, iperLp(a) genetica, terapia steroidea, ciclosporina, anticoncezionali, derivati vitamina A ed altro.

¹Ipotiroidismo, colestasi, ipersurrenalismo, diabete, sindrome nefrosica, obesità viscerale, iperLp(a) genetica, terapia steroidea, ciclosporina, anticoncezionali, derivati vitamina A ed altro.

monogenica, poligenica, oligogenica) ed in futuro ci faranno comprendere le interazioni geni-ambiente e le influenze epigenetiche per spiegare quella parte ancora percentualmente rilevante di Ipercoleste-

rolemia severa negativa all'analisi genetica attuale. L'algoritmo proposto in *figura 7* racchiude tutte le considerazioni finora fatte, necessita però di una validazione scientifica formale e con studi di *real life*.

RIASSUNTO

La definizione di Ipercolesterolemia severa può essere diversa in relazione al contesto clinico cui si riferisce, ad esempio, in un infartuato una colesterolemia LDL lontana dall'obiettivo terapeutico deve essere considerata severa anche in presenza di livelli plasmatici non particolarmente elevati. D'altra parte, i criteri del Dutch Lipid Clinic Network (DLCN) dei pazienti FH non risolvono in modo esauriente il problema dell'Ipercolesterolemia severa, se è vero che i soggetti con livelli di LDL-C >190 mg/dl, portatori di altri fattori di rischio, devono essere considerati a rischio molto alto e meritano la stessa attenzione clinica dei soggetti FH. Le nuove strategie di sequenziamento genico hanno permesso di identificare nuove forme oltre la monogenica (poligenica, oligogenica) e, in futuro, ci faranno comprendere le interazioni geni-ambiente e le influenze epigenetiche per spiegare quella parte percentualmente rilevante di Ipercolesterolemia severa, ancora negativa all'analisi genetica.

Parole chiave: Ipercolesterolemia severa, FH, forme poligeniche, epidemiologia, genetica, gestione clinica.

Bibliografia

- Catapano AL, Graham I, De Backer G, Wiklund O, Chapman MJ, Drexel H, et al. ESC Scientific Document Group. 2016 ESC/EAS Guidelines for the Management of Dyslipidaemias. *Eur Heart J*. 2016; 37: 2999-3058.
- Goldstein JK, Hobbs HH, Brown MS. Familial hypercholesterolemia. In: Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, Valle D, eds. *The metabolic & molecular bases of inherited disease*. 8th ed. New York: McGraw-Hill. 2001; 2863-2913.
- Austin MA, Hutter CM, Zimmern RL, Humphries SE. Genetic causes of monogenic heterozygous familial hypercholesterolemia: a Huge prevalence review. *Am J Epidemiol*. 2004; 160: 407-420.
- 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.
- Versmissen J, Oosterveer DM, Yazdanpanah M, Defesche JC, Basart DC, Liem AH, et al. Efficacy of statins in familial hypercholesterolemia: a long term cohort study. *BMJ*. 2008; 337: a2423.
- Zuliani G, Arca M, Signore A, Bader G, Fazio S, Chianelli M, Bellosta S, et al. Characterization of a new form of inherited hypercholesterolemia: familial recessive hypercholesterolemia. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 1999; 19: 802-809.
- Garcia CK, Wilund K, Arca M, Zuliani G, Fellin R, Maioli M, et al. Autosomal recessive hypercholesterolemia caused by mutations in a putative LDL receptor adaptor protein. *Science*. 2001; 292: 1394-1398.
- Jarauta E, Junyent M, Gilabert R, Plana N, Mateo-Gallego R, de GE, Cenarro A, et al. Sonographic evaluation of Achilles tendons and carotid atherosclerosis in familial hypercholesterolemia. *Atherosclerosis*. 2009; 204: 345-347.
- Chapman MJ, Ginsberg HN, Amarenco P, Andreotti F, Boren J, Catapano AL, et al. Triglyceride-rich lipoproteins and high density lipoprotein cholesterol in patients at high risk of cardiovascular disease: evidence and guidance for management. *Eur Heart J*. 2011; 32: 1345-1361.
- Santos RD, et al. International Atherosclerosis Society Severe Familial Hypercholesterolemia Panel. *Lancet Diabetes Endocrinol*. 2016; 4: 850-861.
- Sniderman AD, et al. The Severe Hypercholesterolemia Phenotype Clinical Diagnosis, Management, and Emerging Therapies. *Journal of the American College of Cardiology*. 2014; 63: n. 19.
- Pérez de Isla L, Alonso R, Mata N, Saltijeral A, Muñoz O, Rubio-Marin P, et al. Coronary Heart Disease, Peripheral Arterial Disease, and Stroke in Familial Hypercholesterolemia Insights From the SAFEHEART Registry (Spanish Familial Hypercholesterolemia Cohort Study for the SAFEHEART Investigators; *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2016; 36: 2004-2010.
- Khera Amit V, Chaffin M, Aragam KG, Haas ME, Roselli C, Hoan S, et al. Genome-wide polygenic scores for common diseases identify individuals with risk equivalent to monogenic mutations; *Nat Genet*. 2018; 50: 1219-1224.
- Bertolini S, et al. Clinical expression of familial hypercholesterolemia in clusters of mutations of the LDL receptor gene that cause a receptor-defective or receptor-negative phenotype. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2000; 20: E41-52.
- 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.
- Giampaoli S, et al. Cardiovascular health in Italy. Ten-year surveillance of cardiovascular diseases and risk factors: Health Examination Survey 1998-2012. *Eur J Prev Cardiol*. 2015; 22 (Suppl. 2): 9-37.
- Barbagallo CM, Cavera G, Sapienza M, Noto D, Cefalù AB, Pagano M, Montalto G, Notarbartolo A, Averna MR. Prevalence of overweight and obesity in a rural southern Italy population and relationships with total and cardiovascular mortality: the Ventimiglia di Sicilia project. *Int J Obes Relat Metab Disord*. 2001; 25: 185-190.
- Khera AV, Won HH, Peloso GM, Lawson KS, Bartz TM5, Deng X, et al. Diagnostic Yield and Clinical Utility of Sequencing Familial Hypercholesterolemia Genes in Patients With Severe Hypercholesterolemia. *J Am Coll Cardiol*. 2016; 67: 2578-2589.
- Talmud PJ, et al. Use of low-density lipoprotein cholesterol gene score to distinguish patients with polygenic and monogenic familial hypercholesterolemia: a case-control study. *Lancet*. 2013; 381: 1293-1301.
- Berberich AJ, Hegele RA. The complex molecular genetics of familial hypercholesterolemia. *Nat Rev Cardiol*. 2019; 16: 9-2.
- M. Futema, S. Shah, J.A. Cooper, 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, *Clin. Chem*. 2015; 61: 231-223.
- Tada H, Kawashiri MA, Nomura A, Teramoto R, Hosomichi K, Nohara A, Inazu A, Mabuchi

- H, Tajima A, Yamagishi M. Oligogenic familial hypercholesterolemia, LDL cholesterol, and coronary artery disease; *J Clin Lipidol*. 2018; 1436-1444.
23. Balder JW, Rimbert A, Zhang X, Viel M, Kanniga R, van Dijk F, et al. Genetics, Lifestyle, and Low-Density Lipoprotein Cholesterol in Young and Apparently Healthy Women, *Circulation*. 2018; 137: 820-831.
 24. Wang J, Dron JS., Ban MR., Robinson JF, McIntyre AD, et al. Polygenic Versus Monogenic Causes of Hypercholesterolemia Ascertained Clinically *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2016; 36: 2439-2445.
 25. Sharifi M, Higginson E, Bos S, Gallivan A, Ka Wah Li D Harvey, et al. Greater preclinical atherosclerosis in treated monogenic familial hypercholesterolemia vs polygenic hypercholesterolemia. *Atherosclerosis*. 2017; 263: 405-411.
 26. Nordestgaard BG, Chapman MJ, Humphries SE, Ginsberg HN, Masana L, Descamps OS, et al. European Atherosclerosis Society Consensus Panel. 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. *Eur Heart J*. 2013; 34: 3478-3490.
 27. Baigent C, Blackwell L, Emberson J, Holland LE, Reith C, Bhalra N, et al. Efficacy and safety of more intensive lowering of LDL cholesterol: a meta-analysis of data from 170,000 participants in 26 randomised trials. *Lancet*. 2010; 376: 1670-1681.
 28. Cuchel M, Bloedon LT, Szapary PO, Kolansky DM, Wolfe ML, Sarkis A, et al. Inhibition of microsomal triglyceride transfer protein in familial hypercholesterolemia. *N Engl J Med*. 2007; 356: 148-156.
 29. D'Erasmo L, Cefalù AB, Noto D, Giammanco A, Averna M, Pintus P, et al. Efficacy of Lomitapide in the Treatment of Familial Homozygous Hypercholesterolemia: Results of a Real-World Clinical Experience in Italy. *Adv Ther*. 2017; 34: 1200-1210.
 30. Lloyd-Jones DM, Morris PB, Ballantyne CM, Birtcher KK, Daly DD Jr, DePalma SM, et al. ACC expert consensus decision pathway on the role of non-statin therapies for LDL-cholesterol lowering in the management of atherosclerotic cardiovascular disease risk: a report of the American College of Cardiology Task Force on Clinical Expert Consensus Documents. *J Am Coll Cardiol*. 2016; 68: 92-125.
 31. Landmesser U, John Chapman M, Farnier M, Gencer B, Gielen S, Hovingh GK, et al. European Society of Cardiology/European Atherosclerosis Society Task Force consensus statement on proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 inhibitors: practical guidance for use in patients at very high cardiovascular risk. *Eur Heart J*. 2017; 38: 2245-225530
 32. Vallejo-Vaz AJ, Robertson M, Catapano AL, Watts GF, Kastelein JJ, Packard CJ, et al. Low-Density Lipoprotein Cholesterol Lowering for the Primary Prevention of Cardiovascular Disease Among Men With Primary Elevations of Low-Density Lipoprotein Cholesterol Levels of 190 mg/dl or Above: Analyses From the WOSCOPS (West of Scotland Coronary Prevention Study) 5.
 33. Grundy SM, et al. AHA/ACC/AACVPR/AAPA/ABC/ACPM/ADA/AGS/APhA/ASPC/NLA/PCNA Guideline on the Management of Blood Cholesterol: Executive Summary *Circulation*. 2018.