

**GENETICA**

# PREDISPOSIZIONE GENETICA ALLA ATEROSCLEROSI. IL MODELLO DELLA IPERCOLESTEROLEMIA FAMILIARE (FH)

**STEFANO BERTOLINI, SEBASTIANO CALANDRA****Introduzione**

La relazione fra colesterolo plasmatico e malattia aterosclerotica (con particolare riferimento all'aterosclerosi coronarica) è stata oggetto di una straordinaria serie di ricerche avviate fin dal 1910 quando fu dimostrata, per la prima volta, la presenza di elevate quantità di colesterolo nelle placche ateromasiche nell'uomo (1). Fondamentale in questo contesto è stata la descrizione di individui ipercolesterolemici che da un lato presentavano una patologia coronarica prematura e dall'altro appartenevano a famiglie nelle quali il carattere "ipercolesterolemia" mostrava una trasmissione Mendeliana di tipo autosomico dominante. Sulla base della puntuale descrizione di queste famiglie, nel 1936 Muller propose il termine di Ipercolesterolemia Familiare (FH) per indicare un disordine genetico ad alta penetranza caratterizzato sul piano clinico, nei soggetti adulti di entrambi i sessi, da ipercolesterolemia, xantomi tendinei, xantelasmi ed una marcata predisposizione alla malattia coronarica aterosclerotica prematura. Studi successivi di-

mostrarono che nella FH l'ipercolesterolemia era dovuta ad accumulo nel plasma di lipoproteine a bassa densità (LDL) e che esistevano rari casi di individui (bambini ed adolescenti), appartenenti a famiglie FH, che presentavano livelli estremamente elevati di LDL ed una diffusa xantomatosi tendinea e cutanea e che sviluppavano una devastante ed aggressiva patologia coronarica nelle prime due decadi di vita. Si profilavano quindi nell'ambito dell'entità nosografica FH:

- 1) individui (di più frequente riscontro) nei quali il carattere "elevate LDL" era compreso fra 190 e 400 mg/dl e
- 2) individui, nati da genitori ipercolesterolemici, che presentavano livelli di LDL estremamente elevati (>400 mg/dl), suggerendo rispettivamente una condizione genetica di eterozigosi e di omozigosi (effetto di dosaggio genico).

Le fondamentali scoperte di Joseph Goldstein e Michael Brown, con la identificazione del recettore LDL (LDLR) e del rispettivo gene codificante (2) hanno definito le basi fisiopatologiche e genetico-molecolari dell'accumulo di LDL nella FH (3),

aprendo la strada ad ulteriori studi sui rapporti fra LDL e sviluppo dell'aterosclerosi (4) e sul coinvolgimento della genetica nella patogenesi di questa condizione. In questo capitolo intendiamo fornire una breve panoramica sul ruolo dei test genetici nella gestione dei pazienti con FH.

### Tipologie di FH

Gli studi molecolari eseguiti sui pazienti con il sospetto clinico di FH (formulato sulla base di vari algoritmi diagnostici) consentono di distinguere diverse condizioni di Ipercolesterolemia Primitiva (3) (*Tabella 1*) e precisamente:

- 1) *FH propriamente detta o FH classica*: si tratta di un disordine monogenico a trasmissione autosomica co-dominante (Autosomal Dominant Hypercholesterolemia, ADH), dovuta a rare mutazioni (propriamente dette varianti patogenetiche) di tre geni principali (*LDLR/ADH-1*, *APOB/ADH-2* e *PCSK9/ADH-3*) e più raramente di un altro gene (*APOE*); questa forma può presentarsi allo stato eterozigote o più raramente allo stato omozigote.
- 2) *FH a trasmissione poligenica (o Ipercolesterolemia poligenica)*: si tratta di un disordine genetico complesso, che si aggrega in famiglie senza mostrare una trasmissione mendeliana monogenica di tipo dominante. Tale forma è dovuta alla presenza di varianti di diversi geni, frequenti nella popolazione, che singolarmente considerate hanno un blando effetto incrementale sui livelli plasmatici di LDL, ma che per effetto combinato possono indurre incrementi dei livelli di LDL comparabili a quelli osservabili nella classica FH eterozigote.
- 3) *FH a trasmissione monogenica recessiva, definita anche Ipercolesterolemia Autosomica Recessiva (ARH)*: si tratta

di un disordine molto raro, tranne che in alcune aree geografiche come la Sardegna, dovuto a mutazioni del gene *LDLRAP1*.

- 4) *Pseudo FH*: con questo termine si indicano alcune rare forme di ipercolesterolemia primitiva a trasmissione recessiva che rappresentano fenocopie della classica FH, nella sua forma etero o più raramente omozigote, dovute a mutazioni di geni che esercitano il loro effetto primariamente sul metabolismo del colesterolo e solo indirettamente sul metabolismo delle LDL; è questo il caso del difetto di Lipasi Acida Lisosomiale (dovuta a mutazioni del gene *LIPA*), caratterizzato da accumulo di esteri del colesterolo nel fegato o della Sitosterolemia (dovuta a mutazioni dei geni *ABCG5* o *ABCG8*), caratterizzata da aumentato assorbimento intestinale di colesterolo e di steroli vegetali e da un difetto di loro escrezione nel canale biliare.

### Genotipo della FH classica

A seconda dei criteri clinici più o meno stringenti adottati per la diagnosi clinica di FH, le mutazioni dei geni candidati (*Tabella 1*) si riscontrano, allo stato eterozigote, nel 40-80% dei pazienti (3). I portatori di queste mutazioni sono definiti con "fenotipo FH mutazione positivo" (FH Mut+). Viceversa, i pazienti con sospetto clinico di FH, nei quali non si riscontrano mutazioni di questi geni, sono definiti con "fenotipo FH mutazione negativo" (FH Mut-). La forma FH poligenica sembra essere responsabile del 15-20% dei casi dei soggetti (FH Mut-). Nel caso di ipercolesterolemie primitive particolarmente gravi (LDL >400 mg/dl), associate a xantomi diffusi presenti sin dall'infanzia e tali da suggerire una FH omozigote, si documenta in genere la

presenza di due alleli mutati dei geni candidati maggiori (*LDLR*, *APOB*, *PCSK9*) (con diverse combinazioni di due alleli mutanti che possono risultare in omozigoti veri (HO), eterozigoti composti (CHE) o doppi eterozigoti (DHE)). Non sono stati descritti ad oggi individui FH con fenotipo omozigote nei quali sia stata riscontrata una base esclusivamente poligenica. Individui con sospetto clinico di FH omozigote e mutazione negativi (*LDLR*, *APOB*, *PCSK9*) pos-

sono essere portatori di mutazioni bialleliche del gene *LDLRAP1* (Ipercolesterolemia Autosomica Recessiva) o dei geni *ABCG5/G8* (Sitosterolemia).

### Genetica molecolare della FH classica

In circa il 85-95% dei casi la FH classica (FH Mut+) è dovuta a mutazioni del gene *LDLR* (ADH-1) (Tabella 1 e Figura 1). Più

**Tabella 1 - Cause monogeniche maggiori e minori di espressione fenotipica di Ipercolesterolemia Familiare.**

Gene	Localizzazione cromosomica (No. Esone)	Modalità ereditaria	Proteina e peptide segnale (aa)	UniProtKB	MIM numero (i)	No. di varianti patogenetiche	Fenotipo (%)	Effetto
<i>Determinanti maggiori</i>								
LDLR	19p13.2 (18)	Co-dominante	860-21	P01130	143890-606945	>2000	85-90%	Difetto di LDLRs (a)
APOB	2p24.1 (29)	Co-dominante	4563-27	P04114	144010-107730	16*	5-10%	Difetto di legame delle LDL al LDLRs (a)
PCSK9	1p32.3 (12)	Co-dominante	692-30	Q8NBP7	603776-607786	32 GOF	1-2%	Aumento degradazione LDLRs (a)
LDLRAP1	1p36.11 (9)	Recessiva	308	Q5SW96	603813-605747	24	<1	Difetto di internalizzazione LDLRs nel fegato (b)
<i>Determinanti minori</i>								
APOE	19q13.2 (4)	Dominante	317-18	P02649	107741	1 (L167del)	<<1	Riduzione della trascrizione di <i>LDLR</i> (c)
ABCG5	2p21 (13)	Recessiva	651	Q9H222	605459	45	<<1	Aumentato assorbimento di steroli vegetali e colesterolo da intestino e canalicolo biliare (d)
ABCG8	2p21 (13)	Recessiva	673	Q9H221	605460	60	<1	
LIPA	10q23.3 (10)	Recessiva	399-23	P38571	613497	~ 100	<1	Aumento attività HMGCoAR e sintesi ApoB (e)

UniProtKB (SWISS-Prot e TrEMBL) release 07/10/2020 = database di sequenze proteiche e informazioni funzionali. MIM = Mendelian Inheritance in Man. \*Varianti del gene *APOB* che codificano per apoB con difetto di legame a LDLRs causando accumulo di LDLs nel plasma; (a) FH-Classica, (b) ARH, (c) rara forma di Ipercolesterolemia a trasmissione dominante quasi esclusiva della penisola Iberica, (d) Sitosterolemia, (e) difetto di Lipasi Acida Lisosomiale (LAL).

di 2000 varianti di questo gene sono state riportate nelle banche dati. La loro frequenza varia a seconda delle popolazioni di riferimento. Le mutazioni sono distinte in cinque classi a seconda del documentato o altamente probabile effetto patogenetico:

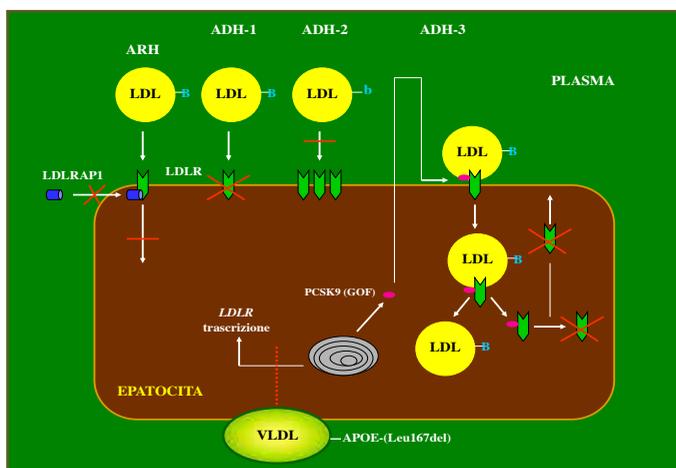
- 1) *pathogenic*;
- 2) *likely pathogenic*;
- 3) *uncertain significance o VUS*;
- 4) *likely benign*;
- 5) *benign*.

Nell'ambito delle varianti classificate come patogeniche o probabilmente patogeniche (indicate in genere con il termine "mutazioni") una distinzione importante riguarda il loro possibile effetto biologico sull'attività del recettore LDL. Alcune di queste varianti (es. delezioni/inserzioni maggiori con scorrimento della trama di lettura, mutazioni dei siti di splicing, mutazioni nonsense) che si assume possano abolire l'attività del recettore sono definite "mutazioni recettore negative" (R-NEG mut). Altri tipi di mutazioni (es. mutazioni missenso, minute delezioni/inserzioni senza scorrimento della trama di lettura), che possono consentire il mantenimento di una funzione recettoriale residua di variabile entità, si definiscono "mutazioni recettore difettive" (R-DEF mut). Pazienti porta-

tori eterozigoti di R-NEG mut presentano un quadro clinico più grave ed una risposta meno efficace ai farmaci ipolipemizzanti rispetto ai soggetti con R-DEF mut. Ciò vale, in modo più eclatante, nel caso di individui omozigoti. Per esempio, lo studio retrospettivo dei pazienti FH omozigoti identificati in Italia ha chiaramente dimostrato non solo che i pazienti R-NEG mut avevano un fenotipo più grave rispetto ai pazienti omozigoti R-DEF mut, ma anche che, nel tempo, l'età mediana di sopravvivenza libera da eventi cardiovascolari era 25 anni nei pazienti R-NEG mut rispetto ai 50 anni nei pazienti R-DEF mut (3, 5, 6).

Lo studio molecolare sistematico di pazienti con FH monogenica, viventi in un territorio geograficamente definito, ha consentito di identificare gruppi (*cluster*) di individui, apparentemente non relati, che sono risultati portatori della stessa mutazione del gene *LDLR*. Per esempio, in Italia sono stati identificati 12 *cluster* (Tabella 2) in specifiche aree geografiche del Paese, presumibilmente indicative della presenza, in aree circoscritte, di un possibile effetto fondatore (5). Lo studio clinico italiano dei pazienti appartenenti a questi *cluster* ha permesso non solo di verificare il diverso impatto biologico delle specifi-

**Figura 1** - Meccanismi patogenetici delle forme monogeniche dominanti (ADH-1, ADH-2 e ADH-3) o recessive (ARH) di Ipercolesterolemie primitive che coinvolgono direttamente o indirettamente il recettore LDL. La figura include anche la rara forma di ipercolesterolemia dovuta ad una mutazione della apoE presente nelle VLDL (Tabella 1).



**Tabella 2 - Principali Clusters di famiglie Italiane non relate che condividono la stessa variante patogenetica del gene LDLR.**

Variante patogenetica	No. famiglie	No. HE	No. HO	No. CHE	No. DHE	LDL-C (mmol/L)	Punteggio variante	ASCVD	Localizzazione geografica
c.1567G>A, p.(Val523Met)	61	122	5	8	1	6,22±1,09	0,266	22%	Sud
c.1775G>A, p.(Gly592Glu)	45	105	4	12		6,28±1,10	0,292	16%	Sud
c.662A>G, p.(Asp221Gly)	102	202	5	1	4	6,47±1,41	0,297	28%	Nord-Est
c.2054C>T, p.(Pro685Leu)	32	58	6	6		6,67±1,34	0,333	24%	Centro-Ovest
c.68-?-1845+?del, p.(Val23Glyfs*29)	12	61	2			7,06±1,35	0,540	37%	Nord-Ovest
c.313+1G>A, p.[Ser65_Pro105del, Pro105Argfs*13]	17	35				7,43±1,42	0,543	22%	Sardegna
c.1586+1G>A, p.[Gly529_Phe530ins22, Thr454_Gly529del]	11	27				7,57±1,51	0,608	43%	Sicilia
c.1415_1418dupACAT, p.(Gln474Hisfs*63)	52	192				7,49±1,35	0,655	35%	Nord-Ovest
c.1646G>A, p.(Gly549Asp)	75	160	3	5		7,55±1,44	0,664	45%	Sud, Sicilia
c.1257C>G, p.(Tyr419*)	10	38			4	7,65±1,58	0,675	40%	Sicilia
c.1735G>T, p.(Asp579Tyr)	16	56				7,95±1,36	0,704	48%	Nord-Ovest
c.682G>A, p.(Glu228Lys)	17	33			1	8,10±1,60	0,740	42%	Nord
c.1778delG, p.(Gly593Alafs*72)	13	48				8,16±1,66	0,794	48%	Sardegna
c.1846-?-2140+?del, p.(Glu615fs*16)	11	30		2		8,73±1,27	0,869	54%	Centro-Est

Leggenda: HE = pazienti eterozigoti; HO = pazienti omozigoti; CHE = pazienti con due differenti varianti alleliche di *LDLR*; DHE = pazienti con una variante del gene *LDLR* ed una variante del gene *APOB* o *PCSK9*; LDL-C = valori plasmatici dei pazienti HE aggiustati per età e sesso; Punteggio variante = indice di gravità clinica della variante calcolato come rapporto tra numero di soggetti con valori aggiustati di LDL-C sopra la mediana del campione totale e numero totale di soggetti portatori della stessa variante patogenetica; ASCVD = percentuale di soggetti di età superiore a 30 anni con eventi coronarici; Localizzazione geografica = prevalente distribuzione delle singole varianti patogenetiche nelle varie aree geografiche della penisola.

che mutazioni presenti nei *cluster*, ma anche di valutare la variabilità fenotipica individuale riscontrata fra i soggetti portatori della stessa mutazione (5).

Le mutazioni del gene *APOB* (ADH-2) (Tabella 1 e Figura 1) che determinano difetto di legame dell'apolipoproteina B delle LDL al recettore, sono presenti in percentuale variabile (2-10%) dei pazienti FH, a seconda delle aree geografiche considerate (3, 5). Nel 90% dei casi si tratta di una singola mutazione, p.(Arg3527Gln), che si riscontra più frequentemente nei paesi del Centro-Nord Europa rispetto ai paesi

dell'area mediterranea. Il fenotipo clinico associato alla mutazione è meno severo rispetto a quello riscontrato nei portatori di mutazioni del gene *LDLR*, sia nel caso di pazienti eterozigoti che nel caso di pazienti omozigoti (3, 5, 6).

Le mutazioni del gene *PCSK9* (ADH-3) (Tabella 1 e Figura 1) riscontrate in soggetti con FH monogenica conferiscono "guadagno di funzione" alla proteina PCSK9 che determina una riduzione del numero di recettori LDL sulla superficie cellulare. Si tratta di mutazioni rare, ad impatto biologico variabile, che complessiva-

mente sono presenti in circa 1% dei pazienti con FH eterozigote. Infrequente è il riscontro di pazienti portatori omozigoti per questo tipo di mutazioni (3, 5, 6).

### Fenotipo clinico della FH

#### *Individui adulti*

Il livello di LDL può essere molto variabile (da moderato a severo). In generale livelli di LDL  $\geq 190$  mg/dl (4,9 mmol/L) (3, 5, 7) con una storia familiare positiva per ipercolesterolemia e/o malattia coronarica prematura, possono essere elementi fortemente suggestivi di FH classica. La presenza di xantomi tendinei nel caso indice o in un familiare (peraltro presenti solo nel 15-20% dei casi; in circa 45% dei soggetti di età  $>30$  anni nella nostra casistica) è un ulteriore criterio diagnostico importante. Diverse combinazioni di criteri diagnostici sono state proposte e variamente applicate a seconda dei paesi. In Europa le combinazioni di criteri maggiormente adottati sono il "Simon Broome" ed il "DLCN" (proposto dalla rete delle Lipid Clinics olandesi) (3). In termini clinici i livelli di LDL nel caso indice e nei familiari, così come la presenza di xantomi ed una storia familiare positiva per ipercolesterolemia o cardiopatia coronarica prematura, concorrono a corroborare il sospetto di FH che in termini pratici si traduce nel prospettare la diagnosi di FH "possibile/probabile/definita" (3).

In Italia i centri clinici che afferiscono al consorzio LIPIGEN hanno adottato, per gli individui adulti, i criteri DLCN, che sulla base di un punteggio risultante dalla presenza e gravità dei dati clinici rilevati nel caso indice e nei familiari, forniscono indicazioni sulla probabilità di avere una FH (3). Ovviamente non sempre è possibile disporre di elementi importanti per l'applicazione di questi criteri, soprattutto per quanto riguarda la storia familiare.

#### *Bambini ed adolescenti*

Nonostante sia un disordine genetico, la diagnosi di FH eterozigote non è generalmente effettuata nell'infanzia, tranne nei casi con una storia familiare positiva. In molti casi il sospetto diagnostico deriva da un reperto laboratoristico accidentale di LDL elevate (p.e. LDL  $\geq 160$  mg/dl) in completa assenza di segni clinici di rilievo. In effetti, nei bambini livelli di LDL  $\geq 160$  mg/dl e la storia clinica di un genitore con ipercolesterolemia o con cardiopatia ischemica prematura sono gli unici criteri diagnostici di rilievo a supporto di un sospetto di FH (8). Tuttavia, nei rari casi in cui si riscontrano livelli di LDL estremamente elevati ( $\geq 400$  mg/dl), in associazione a xantomi tendinei e cutanei comparsi precocemente (nei primi anni di vita), che sono elementi di forte sospetto per una condizione di FH omozigote dominante o recessiva (3, 6), il pediatra è in genere indotto ad uno studio più approfondito, avviando il paziente a Centri specialistici.

Il sospetto clinico di FH probabile o definita deve indurre il medico a proseguire l'iter diagnostico con il ricorso al test genetico specifico come suggerito dalle Lipid Clinics italiane aderenti al progetto LIPIGEN che raccomandano l'effettuazione del test genetico in presenza di un punteggio DLCN  $\geq 6$ .

### FH e ASCVD

La prematura malattia cardiovascolare su base aterosclerotica (ASCVD), in particolarmente l'infarto del miocardio (IHD), è una caratteristica cruciale della FH non trattata, qualunque sia la sua base genetica. Questo elemento è drammaticamente evidente nei pazienti con FH omozigote che possono sviluppare, quando non opportunamente trattati, ASCVD nelle prime decadi di vita, con interessamento di vari distretti vascolari (coronarie, valvola aorti-

ca, arco aortico, carotidi e arterie periferiche) (3, 6). Il fattore predisponente di gran lunga più importante per il rischio cardiovascolare è il livello plasmatico delle LDL e la durata dell'esposizione a livelli elevati di LDL. La presenza di una mutazione causativa in uno dei geni candidati maggiori (FH classica), e la conseguente esposizione ad alti livelli di LDL fin dalla nascita, è associata ad un più elevato rischio cardiovascolare rispetto a quello derivante da paragonabili livelli di LDL non associati a mutazioni di geni candidati (p.e. FH a trasmissione poligenica anche se con un indice poligenico elevato derivante dalla combinazione di LDL "raising variants", ognuna delle quali a basso impatto biologico) (9).

Un ampio studio prospettico ha dimostrato che, rispetto agli individui con livelli di LDL  $\leq 130$  mg/dl (popolazione di riferimento), negli individui con LDL-C  $\geq 190$  mg/dl "l'odd ratio" per la presenza di CAD era 22,3% (95% CI 10,7-54,3) fra coloro che erano portatori eterozigoti di una mutazione di un gene candidato maggiore (FH classica) e di 6,2% (95% CI 5,2-6,9) fra coloro che non erano portatori di una mutazione nei geni candidati ma portatori di una combinazione di varianti ad effetto additivo sui livelli di LDL (FH-poligenica) (10, 11).

Inoltre, è da sottolineare che nell'ambito dei pazienti con FH classica portatori di mutazione del gene *LDLR* (sia eterozigoti che omozigoti) il rischio cardiovascolare è influenzato dal tipo di mutazione: le mutazioni recettore negativo (R-NEG mut) si associano ad un rischio più elevato rispetto a quello dei portatori di mutazioni recettore difettivo (R-DEF mut) (3, 5, 6). A dispetto di un rischio elevato di ASCVD associato a FH, il profilo individuale di rischio è molto variabile. Il calcolo del rischio di ASCVD adottato per la popolazione generale, come il "Framingham risk score", non è applicabile ai pazienti con FH classica dato che in

questi pazienti i livelli basali di rischio non sono adeguatamente stimati dagli algoritmi derivati dalla popolazione generale. Proposte di un algoritmo alternativo sono state formulate; tra queste quella della "Spanish Familial Hypercholesterolemia Cohort Study (SAFEHEART)" finalizzata a identificare i pazienti FH a rischio più elevato nei confronti dei quali è necessario un trattamento più aggressivo.

### Epidemiologia

La originaria prevalenza stimata per la FH monogenica dominante eterozigote suggerita da Joseph Goldstein e Michael Brown era di 1:500, nell'assunto che la forma omozigote fosse circa 1:1.000.000 (2). In realtà, studi di popolazione eseguiti adottando una diagnosi di FH basata su criteri clinici (DLCN) o basati sulla genetica molecolare ha indicato una frequenza decisamente superiore (tra 1:219 e 1:300 individui). Una prevalenza ancora maggiore è stata riscontrata in popolazioni ristrette (Franco-Canadesi, Afrikaners, Cristiano-Libanesi per la presenza di un effetto fondatore). Sulla base di queste osservazioni la prevalenza della FH omozigote nella popolazione generale è stata stimata tra 1:250.000 e 1:300.000.

Esistono numerosi studi riguardanti la prevalenza di FH classica tra gli individui con ASCVD (particolarmente IHD), con risultati variabili anche in funzione dell'età dei pazienti considerati ed i criteri diagnostici adottati. La prevalenza varia dal 2% al 20%, a seconda degli studi. Lo studio EUROASPIRE ha indicato una prevalenza di FH dell'8% tra i pazienti con infarto del miocardio e del 20% tra quelli con cardiopatia ischemica prematura. Una recente estesa meta-analisi ha documentato che la frequenza di FH (eterozigote) nella popolazione generale era pari a 1:313, ma che tale

prevalenza era 10 volte maggiore tra i pazienti con IHD, 20 volte maggiore in pazienti con IHD prematura e 23 volte maggiore nei pazienti con ipercolesterolemia severa (10, 11).

### Ruolo del test genetico

Una larga parte dei pazienti con sospetto clinico di FH sono di fatto non diagnosticati in modo completo in quanto non sottoposti a test genetico molecolare. In effetti è solo il riscontro di una mutazione in uno dei geni candidati (forma monogenica) o di una combinazione di varianti comuni ad effetto incrementale sui livelli di LDL (forma poligenica) che porta ad una diagnosi certa e definitiva. Attualmente il test genetico consiste, nella maggior parte dei casi, nell'analisi parallela di un pannello di geni noti influenzare i livelli di LDL (*LDLR*, *APOB*, *PCSK9*, *LDLRAP1*, *LIPA*, *APOE*, *ABCG5/G8*) (Tabella 1), eventualmente estesa ad altri geni che esercitano effetti biologici sui lipidi plasmatici o tissutali. Il risultato di questa analisi può rivelare la presenza di una mutazione confermando la diagnosi clinica (fenotipo positivo/mutazione positivo) o l'assenza di mutazioni causative (fenotipo positivo/mutazione negativo). In questo secondo caso l'analisi genetica può rilevare la presenza di varianti ad affetto incrementale sulle LDL configurando una forma di FH di tipo poligenico. In altri casi questa combinazione di varianti non è presente, pur manifestando il paziente un fenotipo suggestivo di FH. Infine, può verificarsi il caso (particolarmente a seguito di screening a cascata dei familiari del caso indice) di individui che hanno fenotipo negativo (non chiaro quadro clinico e livelli di LDL entro i limiti di normalità), ma che risultano essere portatori di una mutazione causativa (fenotipo negativo/mutazione positivo).

### Utilità del test genetico

Il testo genetico è fortemente raccomandato (12) nel contesto di una consulenza genetica per le seguenti ragioni:

- 1) Consente di stabilire una diagnosi definitiva, soprattutto a fronte di manifestazioni fenotipiche incerte (p.e. livelli di LDL moderati conseguenti a terapie, assenza di una storia familiare positiva per ipercolesterolemia e predisposizione a IHD precoce). Ciò è particolarmente importante se il caso indice è in età pediatrica ed è completamente asintomatico.
- 2) Fornisce una base biologica per formulare una prognosi ed una stratificazione del rischio. La presenza di una mutazione causativa in un gene principale rappresenta un fattore di rischio cardiovascolare rispetto alla sua assenza a parità dei livelli plasmatici delle LDL. Tra i pazienti ad alto rischio (con ipercolesterolemia severa e storia familiare positiva per IHD precoce e quindi con sospetto clinico di FH), quelli che hanno una diagnosi genetica positiva presentano un "calcium coronary score" più elevato ed un peggior risultato al "cardiac stress test" rispetto a quelli mutazione-negativi (9). Inoltre, il risultato del test genetico ha ripercussioni positive sull'inizio della terapia ipo-lipidemizzante e l'aderenza a questo trattamento nel tempo.
- 3) Giustifica lo screening familiare (screening a cascata) finalizzato all'identificazione di familiari FH che possono pertanto essere sottoposti a valutazioni cliniche cardiovascolari ed un tempestivo efficace trattamento (3, 5). Lo screening familiare è particolarmente importante quando il caso indice è un bambino (asintomatico), dato che in questo caso lo screening a cascata a "ritroso" può consentire di identificare la presenza di

FH in uno dei genitori non consapevole del rischio cardiovascolare correlato.

- 4) Fornisce una informazione cruciale per la consulenza genetica rivolta al caso indice e ai suoi familiari. Ciò è particolarmente rilevante se vi è il rischio di concepimento di un individuo FH omozigote.

Quindi il test genetico è giustificato dai seguenti argomenti:

- a) la presenza di un rischio cardiovascolare aumentato in coloro che sono portatori di mutazioni causali di FH;
- b) l'applicazione di trattamenti efficaci per ridurre i livelli di LDL e conseguentemente il rischio vascolare correlato;
- c) la possibilità di identificare altri pazienti portatori della mutazione attraverso screening a cascata dei familiari;
- d) una maggiore aderenza alla terapia adottata dalla consapevolezza di avere una malattia genetica definita.

## Bibliografia

1. Goldstein JL, Brown MS. A century of cholesterol and coronaries: from plaques to genes to statins. *Cell*. 2015; 161: 161-72.
2. Goldstein JL, Brown MS. The LDL receptor. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2009; 29: 431-8.
3. Defesche JC, Gidding SS, Harada-Shiba M, et al. Familial hypercholesterolaemia. *Nat Rev Dis Primers*. 2017; 3: 17093.
4. Borén J, Chapman MJ, Krauss RM, et al. Low-density lipoproteins cause atherosclerotic cardiovascular disease: pathophysiological, genetic, and therapeutic insights: a consensus statement from the European Atherosclerosis Society Consensus Panel. *Eur Heart J*. 2020; 41: 2313-30.
5. Bertolini S, Pisciotta L, Rabacchi C, et al. Spectrum of mutations and phenotypic expression in patients with autosomal dominant hypercholesterolemia identified in Italy. *Atherosclerosis*. 2013; 227: 342-8.
6. Bertolini S, Calandra S, Arca M, et al. Homozygous familial hypercholesterolemia in Italy: Clinical and molecular features. *Atherosclerosis*. 2020; 312: 72-8.
7. Di Taranto MD, Giacobbe C, Fortunato G. Familial hypercholesterolemia: a complex genetic disease with variable phenotypes. *Eur J Med Genet*. 2020; 63: 103831.
8. Ramaswamia U, Futema M, Bogsrudc, MP, et al. Comparison of the characteristics at diagnosis and treatment of children with heterozygous familial hypercholesterolaemia (FH) from eight European countries. *Atherosclerosis*. 2020; 292: 178-87.
9. Sharifi M, Futema M, Nair D, Humphries SE. Polygenic Hypercholesterolemia and Cardiovascular Disease Risk. *Curr Cardiol Rep*. 2019; 21: 43.
10. Hu P, Dharmayat KI, Stevens CAT, et al. Prevalence of Familial Hypercholesterolemia Among the General Population and Patients With Atherosclerotic Cardiovascular Disease: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Circulation*. 2020; 141: 1742-59.
11. Beheshti SO, Madsen CM, Varbo A, Nordestgaard BG. Worldwide Prevalence of Familial Hypercholesterolemia: Meta-Analyses of 11 Million Subjects- *J Am Coll Cardiol*. 2020; 75: 2553-66.
12. Sturm AC, Knowles JW, Gidding SS, et al. Clinical Genetic Testing for Familial Hypercholesterolemia: JACC Scientific Expert Panel. *J Am Coll Cardiol*. 2018; 72: 662-80.