

# HOFH

**Updates and Information**  
on **HoFH**

**today**

La **Rivista Italiana** della **Ipercolesterolemia Familiare Omozigote**

1 • 2024





Volume 6 • N. 1 • 2024

**Editor in Chief**

MAURIZIO AVERNA  
Palermo

**Editors Emeriti**

STEFANO BERTOLINI  
Genova

SEBASTIANO CALANDRA  
Modena

**Co-Editors**

MARCELLO ARCA  
Roma

PAOLO CALABRÒ  
Caserta

ALBERICO L. CATAPANO  
Milano

ANGELO B. CEFALU  
Palermo

Reg. Trib. di Milano in corso

**Editore**

EDIZIONI INTERNAZIONALI srl

**EDIMES**

Edizioni Medico Scientifiche - Pavia

Edizioni Internazionali Srl  
Divisione EDIMES  
Edizioni Medico Scientifiche - Pavia

Via Riviera, 39 - 27100 Pavia  
Tel. 0382.526253 - Fax 0382.423120  
E-mail: edint.edimes@tin.it

# sommario

## EDITORIALE

- 3 HoFH  
**Maurizio Averna**

## RASSEGNE

- 4 Verso la politerapia della ipercolesterolemia familiare omozigote  
**Marcello Arca**

- 12 Come interpretare l'analisi genetica della Ipercolesterolemia familiare  
**Sebastiano Calandra**  
**Patrizia Tarugi**  
**Claudio Rabacchi**

## CASO CLINICO

- 19 Impatto delle terapie innovative sulla qualità di vita dei pazienti affetti da Ipercolesterolemia Familiare Omozigote: un caso clinico esemplificativo  
**Gabriella Iannuzzo**  
**Ilenia Calcaterra**  
**Matteo Di Minno**

## CRONACA

- 22 Cronaca dell'evento HoFH 2 days Bologna 7/8 maggio 2024  
**Maurizio Averna**

## HoFH PER IMMAGINI

- 26 Immagini ecocardiografiche di stenosi aortica severa in diverse proiezioni

## IN BIBLIOTECA

- 27 Novità dalla letteratura  
**Antonina Giammanco**

## Norme redazionali

La rivista pubblica esclusivamente articoli su invito del board editoriale.

Il testo deve essere dattiloscritto e salvato in un file unico come documento .rtf o .doc, in doppio spazio e non deve eccedere il numero di cartelle assegnate, incluse le referenze bibliografiche, tabelle e figure.

La pagina del titolo deve contenere anche il nome dell'/gli autore/i, affiliazione e recapiti (telefono, fax, indirizzo e-mail).

Le voci bibliografiche devono essere citate nel testo con numero arabo progressivo ed ordinate nella bibliografia secondo l'ordine di citazione.

Lo stile delle citazioni deve essere conforme alle norme standard (Vancouver style). Le abbreviazioni non standard devono essere spiegate in esteso alla prima citazione.

Le tabelle devono essere dattiloscritte ed inserite nel testo dopo la bibliografia, numerate con numeri arabi nell'ordine di citazione. Ogni tabella deve essere munita di relativa legenda esplicativa.

Le illustrazioni devono essere citate nel testo in ordine consecutivo con numeri arabi. Le legende delle figure devono essere raggruppate ed inserite dopo le tabelle.

Le illustrazioni devono essere inserite nel testo in formato .jpeg o .tif e salvate ad alta risoluzione.



*Realizzato con il contributo incondizionato di Global Rare Diseases Chiesi Italia*



© Copyright 2024 Edizioni Medico-Scientifiche - Pavia

Edizioni Internazionali srl  
Divisione EDIMES  
Edizioni Medico-Scientifiche - Pavia

Via Riviera, 39 - 27100 Pavia  
Tel. 0382526253 - Fax 0382423120  
E-mail: edint.edimes@tin.it

Tutti i diritti sono riservati.  
Nessuna parte può essere riprodotta in alcun modo (compresi i microfilm e le copie fotostatiche) senza il permesso scritto dell'editore.

Cari Lettori,

anche quest'anno ho il piacere di presentarvi l'edizione annuale della nostra rivista HoFH Today. Come sapete la rivista si rivolge ad una audience di colleghi non necessariamente esperti nell'ambito di questa malattia rara, la Ipercolesterolemia Familiare Omozigote-HoFH.

Il primo dei due articoli di fondo a cura del Prof. Marcello Arca ed il secondo dell'Editor Emerito, Prof. Sebastiano Calandra.

Il prof. Arca descrive le nuove strategie farmacologiche per il trattamento dell'HoFH e la possibilità di usarle in combinazione; la prima ormai consolidata e ben supportata da solide evidenze anche di real world e l'evinacumab – anticorpo monoclonale anti-ANGPTL3 – che è stato recentemente approvato da AIFA per il trattamento della HoFH.

Il secondo articolo a cura del Prof. Calandra in collaborazione con la Prof.ssa Patrizia Tarugi ed il Dott. Claudio Rabacchi, è di fatto un'utile guida su come interpretare i risultati dell'analisi genetica nell'ipercolesterolemia familiare.

Lo spazio dedicato alle Novità della letteratura è a cura della Dott.ssa Giammanco e sono da segnalare gli articoli sul trattamento della HoFH in pediatria ed i risultati del registro SAFEHEART. Nella sezione HoFH PER IMMAGINI, sono presentate quadri ecocardiografici che riguardano la stenosi aortica, complicanza cardiovascolare tipica della HoFH. Nella sezione CRONACA il report di un evento – HoFH2days – svoltosi a Bologna il 7-8 maggio che ha visto tutti gli esperti italiani riuniti per discutere temi di grande rilievo scientifico inerenti alla HoFH. Infine il caso clinico sull'impatto delle terapie innovative sulla qualità di vita dei pazienti affetti da Ipercolesterolemia Familiare Omozigote è a cura delle Dott.sse Gabriella Iannuzzo, Ilenia Calcaterra e del Prof. Matteo Di Minno.

Il board editoriale si augura che anche questo numero della rivista riscuota il vostro l'interesse.

**Prof. Maurizio Averna**

*Editor in chief*

# Verso la politerapia della ipercolesterolemia familiare omozigote

Marcello Arca

Dipartimento di Medicina Traslazione e di Precisione - Sapienza Università di Roma

## ■ INTRODUZIONE

L'ipercolesterolemia familiare omozigote (HoFH) è una malattia rara del metabolismo lipidico caratterizzata da grave ipercolesterolemia dalla nascita, malattia cardiovascolare aterosclerotica accelerata (atherosclerotic cardiovascular disease o ASCVD), stenosi aortica o sopra-aortica e morte prematura (1). La prevalenza globale stimata di HoFH varia da 1 su 250.000 a 1 su 360.000 individui; tuttavia, la prevalenza è più elevata nei paesi in cui è presente un effetto fondatore e in alcune popolazioni con alti tassi di consanguineità (1).

HoFH è causata da mutazioni autosomiche che interessano entrambi gli alleli di diversi geni tra i quali quello che codifica per il recettore delle lipoproteine a bassa densità (*LDLR*; 85-90% dei casi), l'apolipoproteina B (*APOB*; 5-10%) o la proproteina convertasi subtilisina kexin tipo 9 (*PCSK9*; 1-3%) (1, 2). Tali mutazioni si trasmettono secondo una modalità semi-dominante. La HoFH può essere dovuta anche a mutazioni bi-alleliche che causano la perdita di funzione nel gene che codifica la proteina adattatrice *LDLRAP1* (*LDLRAP1*) (3). Questa forma che si trasmet-

te con modalità recessiva viene denominata ipercolesterolemia autosomica recessiva (ARH), ed è estremamente rara rappresentando <1% dei casi di HoFH.

Indipendentemente dal gene implicato, il meccanismo patogenetico della HoFH è rappresentato da una funzione residua del recettore per le LDL (*LDLR*) marcatamente ridotta (<30% rispetto alla norma) a cui consegue una ridotta clearance delle lipoproteine a bassa densità (LDL) dal plasma, che a sua volta porta ad una concentrazione della colesterolemia LDL (*LDL-C*) marcatamente elevata fin dalla nascita, con valori solitamente >400 mg/dL (e fino a 1.200 mg/dL) (1). Accanto all'aterosclerosi diffusa e grave, i pazienti affetti da HoFH sviluppano patologie della valvola aortica o sopra-aortica (1).

In assenza di trattamenti efficaci, la malattia coronarica nei pazienti con HoFH si manifesta già intorno ai 12 anni mentre l'età media del decesso per complicanze ischemiche è di 18 anni (4). La diagnosi nella prima infanzia e l'intervento con una terapia ipolipemizzante efficace il prima possibile sono quindi fondamentali per ridurre l'alto tasso di morbilità e mortalità cardiovascolari (CV) associate alla HoFH.

Il documento di Consenso 2023 della European Atherosclerosis Society (EAS) sull'HoFH raccomanda obiettivi di LDL-C <115 mg/dL per i pazienti pediatrici senza

Autore corrispondente

Marcello Arca

E-mail: marcello.arca@uniroma1.it

ASCVD, <70 mg/dL negli adulti con HoFH non complicata e <55 mg/dL negli adulti con ASCVD accertata o importanti fattori di rischio per ASCVD (1). Tuttavia, il raggiungimento di questi obiettivi può essere molto difficile a causa del grave aumento dell'LDL-C e della scarsa efficacia dei farmaci ipocolesterolemizzanti convenzionali (5). Da qui la necessità di disporre di nuovi farmaci che da un lato esercitino la loro azione in modo da consentire di superare il limite rappresentato dalla ridottissima funzionalità del LDLR presente nei pazienti HoFH e dall'altro di poter essere integrati in protocolli di trattamento combinati, basati cioè sulla associazione di più farmaci.

## ■ LE TERAPIE CONVENZIONALI DELLA IPERCOLESTEROLEMIA FAMILIARE OMOZIGOTE

Le statine e l'ezetimibe rappresentano i farmaci di prima linea per i pazienti con HoFH (*Tabella 1*).

Le statine inibiscono l'enzima  $\beta$ -idrossi- $\beta$ -metilglutaril coenzima A (HMG-CoA) reductasi, riducendo la produzione cellulare di co-

lesterolo e causando un aumento nella concentrazione di LDLR sulla superficie delle cellule. Studi a lungo termine che hanno valutato la sopravvivenza dei pazienti con HoFH nell'era post-statinica hanno dimostrato che la loro prognosi è significativamente migliore rispetto all'era pre-statinica (6). Inoltre, si raccomanda di iniziare le statine nei bambini dopo una diagnosi di HoFH a causa della prevenzione della progressione della placca aterosclerotica osservata in molteplici studi condotti in età pediatrica (7). La risposta alle statine, che potrebbe essere maggiore del previsto nei pazienti con doppia eterozigoti, è stata stimata essere nell'ordine di una riduzione dell'LDL-C nell'ordine del 14-30%.

L'ezetimibe, è un farmaco che inibisce l'attività della proteina Niemann-Pick C-1Like 1 (NPC1L1). Questa proteina è espressa sull'orletto a spazzola degli enterociti (ma anche sull'epitelio dei dotti biliari) e regola il riassorbimento del colesterolo contenuto nell'intestino. Tale inibizione, riduce l'assorbimento del colesterolo a livello dell'intestino e della bile negli epatociti. Queste riduzioni nella disponibilità di colesterolo

**TABELLA 1** • Farmaci disponibili in Italia per il trattamento dei pazienti con HoFH con raccomandazioni.

Farmaco	Meccanismo di azione	Dosaggi e via di somministrazione	Riduzione % attesa del LDL-C	Raccomandazioni
Statine (rosuvastatina, atorvastatina)	Inibizione HMG-CoA reductasi	40 mg/die (eventualmente atorvastatina 80 mg) per os	14-31%	Farmaci di prima linea, da iniziare il prima possibile anche in età pediatrica
Ezetimibe	Inibizione NPC1L1	10 mg/die per os	5-14%	Da associare alle statine come farmaci di prima linea
iPCSK9 (evolucumab)	Anticorpo monoclonale che lega la proteina PCSK9 circolante	140 mg in due dosi mensili (oppure 420 mg in unica dose al mese) Iniezione sottocutanea	15-32%	Da usare preferibilmente in pazienti con attività LDLR residua. Da interrompere se la riduzione del LDL-C è inferiore al 15%
Lomitapide	Inibizione del trasportatore MTP	5-60 mg/die per os	50-60%	Indipendente dalla attività LDLR residua
Evinacumab	Anticorpo monoclonale che lega la proteina ANGPTL3 circolante	15 mg per kg di peso corporeo ogni 4 settimane per infusione endovenosa (durata 1 ora in ambiente ospedaliero)	50%	Indipendente dalla attività LDLR residua

HMG-CoA reductasi, enzima  $\beta$  idrossi  $\beta$  metil glutaril coenzima A reductasi; NPC1L1, proteina Niemann-Pick C-1Like 1; PCSK9, proprotein convertase subtilisin/kexin type; 9 ANGPTL3, angiopoietina-like-3.

portano a un aumento compensatorio dell'*LDLR* epatico e a una maggiore clearance delle particelle LDL. La riduzione della LDL-C nei pazienti con HoFH osservata in corso di terapia con ezetimibe varia tra il 5%-14% (8).

Tenendo conto delle riduzioni dei livelli di LDL-C, degli effetti favorevoli sul rischio di eventi ASCVD e di mortalità osservati con questi farmaci nonché di un loro vantaggioso rapporto costo-efficacia, le statine, in particolare modo quelle ad elevata efficacia (rosuvastatina ed atorvastatina ai massimi dosaggi tollerati) in associazione con l'ezetimibe rimangono lo schema terapeutico di prima linea nella HoFH (1).

Tuttavia, da quanto detto in precedenza, appare evidente che il meccanismo d'azione dei farmaci sopra citati è fortemente condizionato dall'attività residua del *LDLR* che purtroppo, è fortemente ridotta nella stragrande maggioranza dei pazienti con HoFH. Pertanto l'impiego di questa terapia di associazione raramente determina un calo della concentrazione plasmatica del LDL-C superiore al 40%, che evidentemente non è sufficiente per ottenere il raggiungimento dei target terapeutici nei pazienti con HoFH (5).

Un altro approccio terapeutico che si può aggiungere alle terapie farmacologiche sopra descritte è rappresentato dalla aferesi delle LDL (LDL apheresis o LA). La LA è una procedura fisica che rimuove selettivamente le lipoproteine contenenti apolipoproteina B (come le LDL) e riduce notevolmente l'LDL-C in modo acuto (9). Poiché l'LDL-C riuumenta nel tempo, le sedute di LA devono essere eseguite ogni due settimane o, in alcuni casi, ogni settimana. Questa procedura è inoltre limitata dall'accesso vascolare, dal tempo della procedura, dall'accessibilità per il paziente (potrebbe richiedere uno spostamento in un sito geografico remoto) e dai costi.

La LA è una procedura generalmente ben tollerata e per quanto riguarda possibili effetti indesiderati (quali anemia, ipotensione, sanguinamenti, ecc.) rimane un importante coadiuvante della farmacoterapia nei pazienti che non raggiungono i target di LDL-C. Tut-

tavia essa costituisce una procedura molto impegnativa con un impatto sfavorevole sulla qualità della vita dei pazienti. Dati di registro confermano l'efficacia di questa strategia, dimostrando notevoli riduzioni nei livelli di LDL-C e lipoproteine Lp(a), insieme a miglioramenti clinici, come la risoluzione degli xantomi ed anche, in una qualche misura, un miglioramento della prognosi cardiovascolare dei pazienti con HoFH (10). Tuttavia, un'analisi recente ha mostrato che oltre il 90% dei pazienti non raggiunge i target di trattamento raccomandati dalle linee guida e i pazienti si presentano con ASCVD prima che LA venga iniziata, dimostrando l'urgenza di una diagnosi tempestiva di HoFH e dell'inizio del trattamento.

## ■ I NUOVI FARMACI PER LA TERAPIA DELLA IPERCOLESTEROLEMIA FAMILIARE OMOZIGOTE

Diversi nuovi farmaci diretti contro proteine coinvolte nel metabolismo delle LDL sono stati messi a punto per il trattamento di questa grave forma di ipercolesterolemia genetica. Tra questi vanno menzionati gli inibitori della proteina *PCSK9* (*PCSK9i*), alirocumab ed evolocumab, la lomitapide e l'inibitore della proteina *ANGPTL3*, evinacumab, che sono entrati nella prescrivibilità per i pazienti affetti da HoFH (5, 10) (Tabella 1).

Data la capacità degli anticorpi monoclonali anti-*PCSK9* (mAb *PCSK9i*) di aumentare l'attività *LDLR* negli epatociti, gli inibitori *PCSK9* sono stati un'importante innovazione per i pazienti HoFH che hanno almeno una quota di *LDLR* funzionante. Il trial clinico TESLA Parte B (11) ha esaminato l'efficacia della dose di evolocumab 420 mg per iniezione sottocutanea ogni 4 settimane in 49 pazienti con HoFH (16 a placebo e 33 a trattamento attivo) e ha riportato una riduzione media netta (corretta per placebo) di LDL-C del 30,9% alla 12<sup>a</sup> settimana di trattamento; tuttavia, l'effetto variava in base allo stato di mutazione *LDLR*. Nel trial clinico TAUSSIG (12), studio condotto in aperto, non rando-

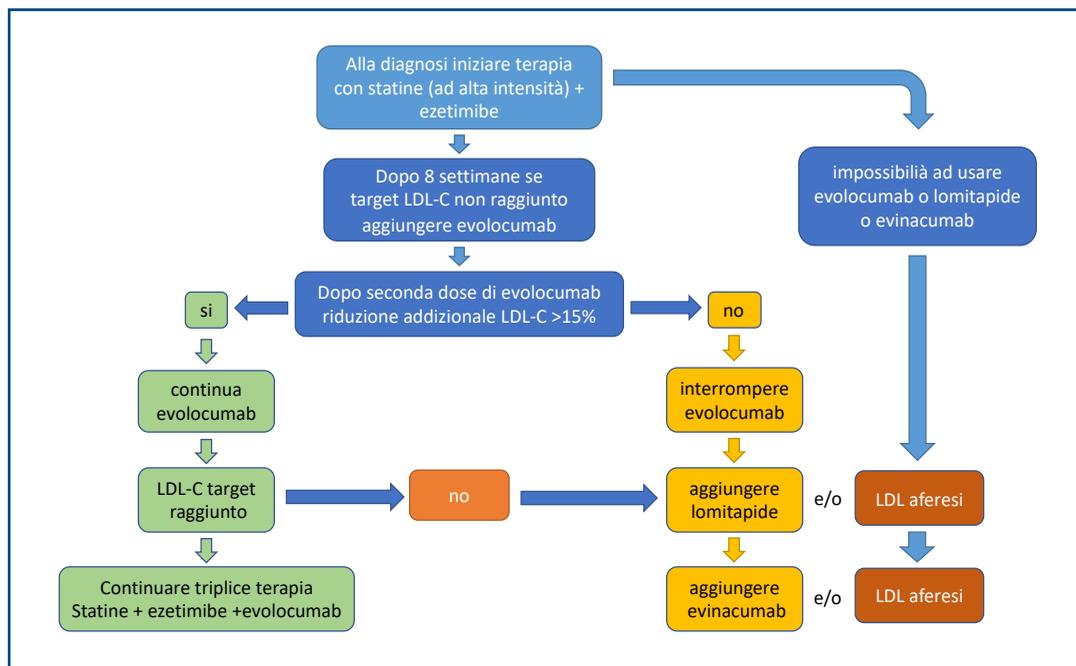
mizzato e non controllato, 106 pazienti con HoFH, dei quali 34 in trattamento con LA, sono stati sottoposti a terapia con iniezioni sottocutanee di evolocumab alla dose di 420 mg ogni 4 settimane. Alla 12<sup>a</sup> settimana di terapia, si osservava una riduzione del 20,6% dei livelli di LDL-C e tale effetto non era influenzato dalla concomitante presenza del trattamento con la LA. Infine lo studio ODYSSEY HoFH (13) ha randomizzato pazienti con HoFH geneticamente confermata a ricevere alirocumab 150 mg ogni due settimane oppure al placebo. In questi pazienti è stata osservata una riduzione media del 35,6% di LDL-C con alirocumab. Tuttavia anche in questo caso, le riduzioni di LDL-C erano altamente condizionate dalla severità delle mutazioni causative della malattia con un effetto praticamente assente tra i pazienti con mutazioni *LDLR null/null* (cioè con funzione *LDLR* residua pari quasi a zero). In ogni caso, in tutti gli studi condotti la terapia con evolocumab o alirocumab risultava molto ben tollerata senza la comparsa di eventi avversi di qualche significato clinico. In Italia solo l'evolocumab è autorizzato per il trattamento dei pazienti con HoFH.

Inclisiran offre un'alternativa ai mAb *PCSK9* per inibire l'attività della proteina *PCSK9*. L'inclisiran è un piccolo RNA interferente (siRNA) mirato all'RNA messaggero (mRNA) codificante il *PCSK9* negli epatociti e viene iniettato per via sottocutanea ogni 6 mesi dopo la dose a 90 giorni. Nello studio ORION-5 (14), disegnato proprio per valutare l'efficacia di questo farmaco nella HoFH, sono stati arruolati un totale di 56 pazienti, 37 randomizzati a ricevere 300 mg/die sottocute (secondo lo schema descritto) di inclisiran e 19 placebo. Al giorno 150 dall'inizio della terapia la riduzione della concentrazione del LDL-C era praticamente nulla (-1,68% corretta per placebo) nell'intero gruppo di pazienti, anche se raggiungeva il 26% nel sottogruppo dei pazienti portatori di mutazioni meno gravi (eterozigoti composti). Questa osservazione dimostra ancora una volta che la risposta dei pazienti HoFH alle strategie terapeutiche dirette ad inibire la funzione o la

sintesi della proteina *PCSK9* è altamente condizionata dalla gravità del difetto genetico. L'inclisiran non è autorizzato in Italia per il trattamento dei pazienti con HoFH.

Quindi, nonostante i progressi nel trattamento della ipercolesterolemia familiare (FH) in generale, una parte significativa dei pazienti con FH, in particolare i pazienti con HoFH con mutazioni *null/null* nel *LDLR*, continuano a non raggiungere i livelli di LDL-C raccomandati dalle linee guida. Allo scopo di superare queste limitazioni, le terapie che riducono il LDL-C tramite meccanismi indipendenti dall'attività di *LDLR* offrono interessanti opportunità. I farmaci lomitapide e evinacumab appartengono a questa categoria. La lomitapide è una piccola molecola in grado di inibire l'attività della proteina di trasferimento dei trigliceridi microsomiale (MTP) presente nel reticolo endoplasmatico degli epatociti e degli enterociti, inibendo così l'assemblaggio delle lipoproteine a bassissima densità (VLDL) e dei chilomicroni. Lomitapide, somministrata *per os* a dosaggi variabili tra 5 mg e 60 mg/die, riduce in modo dose-dipendente i livelli di LDL-C del 50-60% nei pazienti con HoFH (15). L'azione ipocolesterolemizzante della lomitapide è legata alla sua capacità di inibire la sintesi e la secrezione delle VLDL (oltre che dei chilomicroni a livello intestinale) che rappresentano i precursori fisiologici delle LDL. Pertanto la sua efficacia risulta indipendente dalla severità del difetto genetico responsabile della HoFH tanto da essere efficace anche in pazienti con assente (o molto ridotta) attività recettoriale. Tra gli effetti indesiderati della lomitapide devono essere annoverati i disturbi gastrointestinali (come la diarrea ed il vomito) e soprattutto la steatosi epatica, causata dalla ritenzione dei trigliceridi negli epatociti.

La lomitapide è stata approvata dall'Agenzia Europea per i Medicinali (EMA) nel 2013 ed ha ricevuto l'autorizzazione in commercio in Italia nel 2015. In più di un decennio dall'approvazione della lomitapide, è stata pubblicata una consistente mole di prove provenienti da studi clinici, studi del mondo reale e serie



**FIGURA 1** • Algoritmo diagnostico della HoFH proposto dal documento di Consenso della Società Europea della Aterosclerosi (EAS) sulla gestione dei pazienti con HoFH. Modificato da Ref (1).

di casi che hanno dimostrato l'efficacia/efficienza e la soddisfacente sicurezza (soprattutto epatica) della lomitapide (16, 17).

L'evinacumab è un anticorpo monoclonale completamente umanizzato in grado di inibire l'attività della proteina ANGPTL3 circolante. Nel trial clinico di fase 3 ELIPSE (18), uno studio randomizzato, controllato in doppio cieco che ha arruolato 65 pazienti affetti da HoFH, evinacumab alla dose di 15 mg/kg una volta al mese somministrato per via endovenosa, ha ridotto la concentrazione del LDL-C di circa il 50% se aggiunto alla terapia farmacologica convenzionale, con o senza LA. Questi risultati si sono mantenuti anche durante il trattamento a più lungo termine, in aperto. Si ritiene che l'azione ipocolesterolemizzante dell'evinacumab sia legata, almeno per la maggior parte, ad una accelerata rimozione e/o ad una ridotta sintesi delle lipoproteine VLDL (very-low density lipoprotein) o dei loro remnants che nell'uomo rappresentano i precursori da cui derivano le LDL. Ciò spiegherebbe l'osservazione che la risposta all'evinacumab è indipendente dal genotipo *LDLR* e simile nei pazienti con va-

rianti nulle bi-alleleliche o con funzione residua del *LDLR* quasi assente. Quindi l'evinacumab rappresenta il secondo farmaco disponibile che può essere annoverato nella categoria dei farmaci ipocolesterolemizzanti ad azione "*LDLR*-indipendente". L'evinacumab è stato approvato per la prescrizione in Italia ai pazienti affetti da HoFH con la Determina AIFA nel 2023.

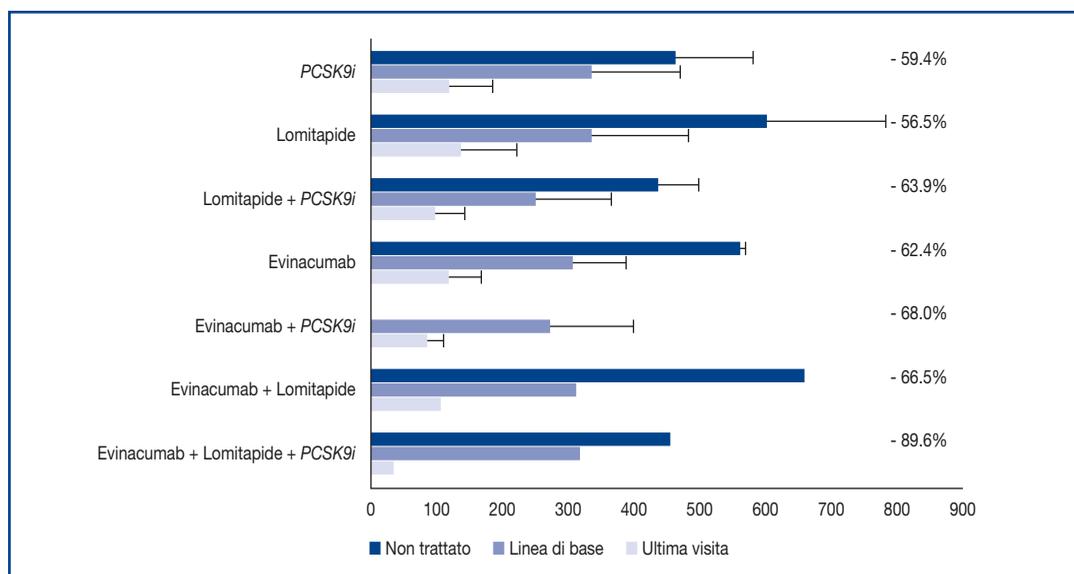
## ■ VERSO LA POLITERAPIA NEL TRATTAMENTO DELLA IPERCOLESTEROLEMIA FAMILIARE OMOZIGOTE

Il documento di Consenso 2023 della European Atherosclerosis Society (EAS) sull'HoFH compie uno sforzo per collocare in un algoritmo terapeutico tutte le strategie di trattamento fin qui descritte (Figura 1). Tuttavia questo approccio, che seppur pragmatico, in quanto cerca di tenere insieme le evidenze dei trial clinici, con la accessibilità e la sostenibilità economica delle terapie, soffre di alcune limitazioni. La prima è rappresentata dal fatto che propone una strategia *stepwise*

o a gradini per la quale le diverse terapie devono essere utilizzate in un ordine sequenziale. Tale approccio può generare delle difficoltà nel raggiungimento degli obiettivi terapeutici. Infatti come più volte sottolineato in questo articolo, le diverse terapie disponibili, anche quelle più recenti, se impiegate da sole o anche se in schemi terapeutici multipli (ad esempio terapie statine + ezetimibe + PCSK9i) non offrono una reale possibilità di raggiungere gli obiettivi di LDL-C raccomandati in tutti i pazienti con HoFH. Inoltre la terapia a gradini offre meno possibilità di raggiungere rapidamente una marcata riduzione della LDL-C che rappresenta l'unica reale garanzia per poter evitare la formazione degli ateromi o la loro regressione così come la prevenzione dello sviluppo del danno valvolare nei pazienti con HoFH. La seconda limitazione che a mio avviso può essere ravvisata nell'algoritmo terapeutico proposto dalla EAS è costituita dal fatto che esso sembra non dare particolare rilievo alla necessità di impiegare molto precocemente le nuove terapie ad azione ipocolesterolemizzante "LDLR indipendente" che consentirebbero di trattare i pazienti senza alcuna necessità di conoscere la natura e severità della mutazione o verificare preliminarmente

la risposta alle terapie ad azione LDLR-dipendente.

Ciò induce a ritenere che combinare fin dalla prima diagnosi di HoFH tutte le strategie terapeutiche disponibili (eventualmente con un ordine sequenziale diverso, *LDLR independent first*) sia la via per raggiungere questo importante risultato di cura. Purtroppo non abbiamo delle solide evidenze scientifiche che confermano l'utilità e la sostenibilità di questa strategia che potremo definire "della politerapia". Tuttavia qualche evidenza è disponibile in letteratura. Khoury *et al.* (19) hanno riportato il follow-up a lungo termine (>10 anni) di una donna di 52 anni affetta da grave HoFH, che è stata trattata con farmaci ipolipemizzanti convenzionali (statine ed ezetimibe) per diversi anni prima di iniziare ad assumere lomitapide ed evinacumab. L'aggiunta di questi farmaci ha determinato una riduzione del LDL-C fino a livelli di circa 31 mg/dl. Come conseguenza di tale marcata riduzione della colesterolemia, gli Autori hanno potuto documentare (nell'arco di circa 4 anni di terapia) non solo una chiara regressione degli xantomi tendinei e xantelasma in entrambi gli occhi, ma anche una significativa regressione della malattia ateromasica carotidea stimata in



**FIGURA 2** • Riduzione del LDL-C in relazione alla aggiunta alle terapie convenzionali (statine ed ezetimibe) dei nuovi farmaci ipocolesterolemizzanti approvati per il trattamento dei pazienti con HoFH. Modificato da Ref. 20.

circa il 36% di riduzione della estensione delle placche. Inoltre in uno studio più recente che ha raccolto i dati del follow-up di una ampia coorte di pazienti Italiani affetti da HoFH D'Erasmus *et al.* (20) hanno potuto documentare che la combinazione delle terapie convenzionali con i nuovi farmaci era in grado di terminare una riduzione della LDL-C che sfiorava il 90% (Figura 2).

## ■ CONCLUSIONI

L'armamentario terapeutico per curare i pazienti affetti da HoFH si è molto arricchito in questi ultimi anni consentendo di poter immaginare risultati prima inimmaginabili. Le sfide per il futuro saranno quelle di riuscire a favorire sempre di più la possibilità di affrontare la cura in questa grave forma di ipercolesterolemia genetica attraverso algoritmi che prevedono la politerapia come scelta di prima linea da iniziare il più precocemente possibile con lo scopo di impedire lo sviluppo delle complicanze ischemiche su base ateromasiche e di quelle valvolari indotte dalla HoFH. Studi volti ad offrire ulteriori evidenze circa il beneficio clinico e la sostenibilità di tale approccio saranno fondamentali per modificare in modo definitivo il paradigma di trattamento della HoFH.

## ■ BIBLIOGRAFIA

1. Cuchel M, Raal FJ, Hegele RA, et al. 2023 Update on European Atherosclerosis Society Consensus Statement on Homozygous Familial Hypercholesterolaemia: new treatments and clinical guidance. *Eur Heart J.* 2023; 44: 2277-2291.
2. Berberich AJ, Hegele RA. The complex molecular genetics of familial hypercholesterolaemia. *Nat Rev Cardiol.* 2019; 16: 9-20.
3. D'Erasmus L, Di Costanzo A, Arca M. Autosomal recessive hypercholesterolemia: update for 2020. *Curr Opin Lipidol.* 2020; 31: 56-61.
4. Nordestgaard BG, Chapman MJ, Humphries SE, et al. Familial hypercholesterolaemia is underdiagnosed and undertreated in the general population: guidance for clinicians to prevent coronary heart disease: consensus statement of the European Atherosclerosis Society. *Eur Heart J.* 2013; 34: 3478-3490.
5. Santos RD, Cuchel M. LDL-C-Lowering Therapies for Adults and Children With Homozygous Familial Hypercholesterolemia: Challenges and Successes. *Circulation.* 2024; 149: 363-366.
6. Raal FJ, Pilcher GJ, Panz VR, et al. Reduction in mortality in subjects with homozygous familial hypercholesterolemia associated with advances in lipid-lowering therapy. *Circulation.* 2011; 124: 2202-2207.
7. Wiegman A, Gidding SS, Watts GF, Chapman MJ, Ginsberg HN, Cuchel M, Ose L, Averna M, Boileau C, Borén J, et al. Familial hypercholesterolaemia in children and adolescents: Gaining decades of life by optimizing detection and treatment. *Eur. Heart J.* 2015; 36: 2425-2437.
8. Kayikcioglu M, Tokgozoglu L. Current Treatment Options in Homozygous Familial Hypercholesterolemia. *Pharmaceuticals.* 2023; 16: 64.
9. Luirink IK, Determeijer J, Hutten BA, et al. Efficacy and safety of lipoprotein apheresis in children with homozygous familial hypercholesterolemia: a systematic review. *J Clin Lipidol.* 2019; 13: 31-39.
10. Gu J, Gupta RN, Cheng H, Xu Y, Raal FJ. Current treatments for the management of homozygous familial hypercholesterolemia: a systematic review and commentary. *Eur J Prev Cardiol.* 2024; 18: zwae144.
11. Raal FJ, Honarpour N, Blom DJ, et al. Inhibition of PCSK9 with evolocumab in homozygous familial hypercholesterolaemia (TESLA Part B): a randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *Lancet.* 2015; 385: 341-350.
12. Raal FJ, Hovingh GK, Blom D, et al. Long-term treatment with evolocumab added to conventional drug therapy, with or without apheresis, in patients with homozygous familial hypercholesterolaemia: an interim subset analysis of the open-label TAUSSIG study. *Lancet Diabetes Endocrinol.* 2017; 5: 280-290.
13. Blom DJ, Harada-Shiba M, Rubba P, et al. Efficacy and safety of alirocumab in adults with homozygous familial hypercholesterolemia: the ODYSSEY HoFH trial. *J Am Coll Cardiol.* 2020; 76: 131-142.
14. Raal F, Durst R, Bi R, Tallozy Z, Maheux P, Lesogor A, Kastelein JJP; ORION-5 Study Investigators. Efficacy, Safety, and Tolerability of Inclisiran in Patients With Homozygous Familial Hypercholesterolemia: Results From the ORION-5 Randomized Clinical Trial. *Circulation.* 2024; 149: 354-362
15. Cuchel M, Meagher EA, du Toit Theron H, et al. Efficacy and safety of a microsomal triglyceride transfer protein inhibitor in patients with

- homozygous familial hypercholesterolaemia: a single-arm, open-label, phase 3 study. *Lancet*. 2013; 381: 40-46.
16. D'Erasmus L, Steward K, Cefalu AB, et al. Efficacy and safety of lomitapide in homozygous familial hypercholesterolaemia: the pan-European retrospective observational study. *Eur J Prev Cardiol*. 2022; 29: 832-841.
  17. Larrey D, D'Erasmus L, O'Brien S, Arca M. Long-term hepatic safety of lomitapide in homozygous familial hypercholesterolaemia. *Liver Int*. 2023; 43: 413-423.
  18. Raal FJ, Rosenson RS, Reeskamp LF, et al. Evinacumab for Homozygous Familial Hypercholesterolemia. *N Engl J Med*. 2020; 383: 711-720.
  19. Khoury E, Lauzière A, Raal FJ, Mancini J, Gaudet D. Atherosclerotic plaque regression in homozygous familial hypercholesterolaemia: a case report of a long-term lipid-lowering therapy involving LDL-receptor-independent mechanisms. *Eur Heart J Case Rep*. 2023; 7: ytad029.
  20. D'Erasmus L, Bini S, Casula M, et al. Contemporary lipid-lowering management and risk of cardiovascular events in homozygous familial hypercholesterolaemia: insights from the Italian LIPIGEN Registry. *Eur J Prev Cardiol*. 2024; 31: 1038-1047.

# Come interpretare i risultati dell'analisi genetica nell'ipercolesterolemia familiare

Sebastiano Calandra<sup>1</sup>, Patrizia Tarugi<sup>2</sup>, Claudio Rabacchi<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Dipartimento di Scienze Biomediche, Metaboliche e Neuroscienze, Università di Modena e Reggio Emilia, Modena;

<sup>2</sup>Dipartimento di Scienze della Vita, Università di Modena e Reggio Emilia, Modena;

<sup>3</sup>Dipartimento di Scienze Mediche e Chirurgiche Materno-Infantili e dell'Adulto.

Università di Modena e Reggio Emilia, Policlinico, Modena

## ■ INTRODUZIONE

La definizione di ipercolesterolemia familiare (FH) comprende disordini a trasmissione monogenica di tipo semi-dominante o recessivo che in passato erano definiti rispettivamente come Ipercolesterolemia familiare autosomica dominante (Autosomal Dominant Hypercholesterolemia, ADH) e ipercolesterolemia autosomica recessiva (Autosomal Recessive Hypercholesterolemia, ARH). Indipendentemente dal tipo di trasmissione, questi disordini sono caratterizzati da elevati livelli di LDL-colesterolo (LDL-C) che sono dovuti a difetti del meccanismo responsabile per la rimozione delle LDL dal plasma mediata dal recettore LDL (LDL-R) (1-5).

I geni coinvolti nella ADH comprendono:

- 1) il gene *LDLR* che codifica il recettore delle LDL (ADH-1). Questo recettore è coinvolto nel processo di cattura, internalizzazione cellulare e conseguente degradazione delle LDL plasmatiche nei tessuti, particolarmente nel fegato;
- 2) il gene *APOB* che codifica l'apolipoproteina B-100 (ApoB-100), la maggiore com-

ponente proteica delle LDL responsabile del legame delle LDL al LDL-R (ADH-2);  
3) il gene *PCSK9* che codifica la proteina Protein Convertase Subtilisin/Kexin type 9 (PCSK9), una proteina che promuove la degradazione intracellulare del LDL-R (ADH-3).

Nella ARH il gene coinvolto è *LDLRAP1* che codifica la proteina adattatrice coinvolta nel reclutamento di LDL-R in specifiche regioni della membrana cellulare degli epatociti per la internalizzazione del LDL-R nelle cellule. ADH-1 e ADH-2 sono causate da varianti di sequenza che determinano perdita di funzione (*Loss of function*, LOF variant) del gene *LDLR* o del gene *APOB* o da varianti geniche che determinano un guadagno di funzione (*Gain of function*, GOF variant) del gene *PCSK9*. ARH è dovuta a varianti LOF del gene *LDLRAP1* (1-7).

La caratterizzazione molecolare di un grande numero di pazienti ADH (eterozigoti ed omozigoti) ha mostrato che più del 90% di essi sono risultati portatori di varianti LOF del gene *LDLR*. Ad oggi, circa 3000 varianti di questo gene sono state riportate nelle banche dati disponibili. Molto meno numerose sono le varianti LOF (soltanto 16) del gene *APOB* che riducono il legame di LDL al LDL-R, che sono state riscontrate in 3-8% dei pazienti con FH. Circa l'1% dei pazienti FH sono

Autore corrispondente

Sebastiano Calandra

E-mail: sebcac@unimore.it

risultati portatori di 32 varianti GOF del gene *PCSK9*. Una ventina sono le varianti LOF del gene *LDLRAP1* che sono state riscontrate nei rari pazienti con ARH.

Vi sono altri disordini genetici del metabolismo del colesterolo a trasmissione monogenica recessiva che possono presentare ipercolesterolemia dovuta ad un aumento delle LDL plasmatiche simile a quello riscontrata nei pazienti FH. Tra questi disordini troviamo la Sitosterolemia, dovuta a varianti patogeniche dei geni *ABCG5/ABCG8* (coinvolti nell'assorbimento intestinale del colesterolo) e il Difetto di Lipasi Acida Lisosomiale, un enzima coinvolto nel metabolismo epatico del colesterolo, dovuta a varianti patogeniche del gene *LIPA*. L'analisi genetica di numerosi pazienti FH ha dimostrato che alcuni di essi sono risultati portatori eterozigoti sia di una variante patogenica dei geni candidati per FH (*LDLR*, *APOB*, *PCSK9*) che portatori eterozigoti di varianti patogeniche dei geni *ABCG5/ABCG8* o del gene *LIPA*. Questa rara condizione è definita come ipercolesterolemia familiare a eredità oligogenica (4, 8, 9).

È importante sottolineare che una grande percentuale (40-60%) di pazienti adulti con ipercolesterolemia primitiva non ha varianti patogeniche nei geni candidati; questi pazienti sono designati soggetti "fenotipo positivi/genotipo negativi". È stato riportato che una pro-

porzione variabile di questi soggetti ha ereditato una combinazione di varianti genetiche, frequenti nella popolazione, ognuna delle quali induce un modesto aumento dei livelli plasmatici di LDL-C, ma il cui effetto combinato può essere causa di un aumento di LDL-C simile a quello osservabile in pazienti FH "fenotipo positivo/genotipo positivo" (Eredità poligenica, Polygenic burden) (4, 8, 9).

È opportuno ricordare che il termine "variante genica" è oggi impiegato per indicare qualsiasi variazione della sequenza del gene oggetto di studio, a prescindere dal suo impatto biologico. Il termine "variante patogenica" ed il termine "variante verosimilmente patogenica" indicano una variante che è causa certa o altamente probabile del disordine genetico oggetto di studio (es. FH). Questi termini sono oggi usati in sostituzione rispettivamente di "mutazione" e "polimorfismo" impiegati in passato.

In un paziente con sospetta diagnosi di FH omozigote (HoFH) a trasmissione semi-dominante possiamo riscontrare tre diversi assetti genotipici:

- 1) presenza di due identiche varianti patogeniche dello stesso gene candidato (*LDLR*\*/*LDLR*\*, *APOB*\*/*APOB*\*, *PCSK9*\*/*PCSK9*\*). In passato tale paziente era definito come "omozigote vero"; oggi è indicato come affetto da FH a trasmissione semi-dominante

**TABELLA 1 • Nuova nomenclatura genetica per il fenotipo clinico Ho-FH.**

Terminologia clinica tradizionale	Terminologia basata sulla genetica molecolare	Commenti
IPERCOLESTEROLEMIA FAMILIARE OMOZIGOTE (Ho-FH) <i>Termine generico che include uno spettro di diagnosi genetiche</i>	Ipercolesterolemia bi-allelica semi-dominante: monogenica (singolo gene causativo) - 2 copie di varianti identiche - 1 singola copia di 2 varianti diverse	"Semi-dominante" indica che i familiari portatori di un singolo allele mutato (eterozigoti) hanno un fenotipo meno severo - Precedentemente chiamato "omozigote vero" - Precedentemente chiamato "eterozigote composto"
	Ipercolesterolemia bi-allelica semi-dominante: digenica (due diversi geni causativi) - 1 singola copia di 2 varianti diverse	"Semi-dominante" indica che i familiari portatori di un singolo allele mutato (eterozigoti) hanno un fenotipo meno severo - Precedentemente chiamato "doppio eterozigote"
	Ipercolesterolemia bi-allelica recessiva (ARH): monogenica (singolo gene causativo) - 2 copie di varianti identiche - 1 singola copia di 2 varianti diverse	I genitori eterozigoti del paziente sono "portatori veri" con fenotipo clinico e biochimico normale - Precedentemente chiamato ARH "omozigote vero" - Precedentemente chiamato ARH "eterozigote composto"

- di tipo monogenico, portatore di due copie di una identica variante dello stesso gene (portatore bi-allelico) (*Tabella 1*);
- 2) presenza di due varianti patogeniche diverse dello stesso gene candidato (*LDLR+ / LDLR\**; *APOB+ / APOB\**; *PCSK9+ / PCSK9\**) ereditate dai genitori portatori eterozigoti rispettivamente di una delle due varianti. In passato tale paziente era definito come “eterozigote composto”; oggi è indicato come affetto da FH a trasmissione semi-dominante di tipo monogenico portatore bi-allelico di una copia di due differenti varianti dello stesso gene (*Tabella 1*);
  - 3) presenza di due varianti patogeniche di due geni candidati diversi (*LDLR\* / APOB\**; *LDLR\* / PCSK9\**; *APOB\* / PCSK9\**) ereditate dai genitori ciascuno eterozigote per una delle due varianti. In passato, tale paziente era definito come “doppio eterozigote”; oggi è indicato come affetto da FH a trasmissione semi-dominante di tipo digenico in quanto portatore di una copia di due varianti patogeniche di due geni diversi (*Tabella 1*).

## ■ CLASSIFICAZIONE E INTERPRETAZIONE CLINICA DELLE VARIANTI

La classificazione e la interpretazione clinica delle varianti si basa su diverse osservazioni:

- 1) la frequenza della variante annotata nelle banche dati di popolazione (es. 1000 Genomes, dbSNP);
- 2) la frequenza della variante nei soggetti affetti rispetto ai soggetti sani;
- 3) la presenza della variante nelle banche dati specifiche per gene/malattia (es. HGMD, LOVD);
- 4) il tipo di variante (missenso, nonsense, frameshift, ecc.);
- 5) la valutazione funzionale mediante sistemi di predizione *in silico* (es. Polyphen-2, SIFT, CADD);
- 6) la localizzazione della variante in regioni “calde” del gene (hot spots);
- 7) studi funzionali della variante in sistemi biologici;

- 8) dati derivanti dalla letteratura scientifica (es. PubMed);
  - 9) segregazione della variante con il fenotipo clinico (es. OMIM, ClinVar);
  - 10) modalità di trasmissione della variante.
- L’American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG) e l’Association for Molecular Pathology (AMP) hanno sviluppato linee guida per classificare le varianti in base al loro impatto biologico, distinguendo le seguenti classi funzionali:
- 1) *variante patogena* (pathogenic variant, P);
  - 2) *variante probabilmente patogena* (likely pathogenic, LP);
  - 3) *variante di significato incerto* (variant of uncertain significance, VUS);
  - 4) *variante probabilmente benigna* (likely benign, LB);
  - 5) *variante benigna* (benign variant, B).
- La ACMG/AMP ha anche proposto i criteri da adottare per assegnare un ruolo patogenico alle varianti riscontrate nell’analisi del gene in esame (10).

## ■ IDENTIFICAZIONI DI VARIANTI GENICHE NELLA FH

### Gene *LDLR*

Il sequenziamento di questo gene nei pazienti con ADH-1 (eterozigoti ed omozigoti) ha portato alla identificazione di un’ampia serie di varianti di diversa tipologia sia riguardo al tipo di variante (vedi oltre) che alla sua specifica localizzazione nel gene. La tipologia delle varianti riscontrate è riassunta nella *tabella 2*. Le varianti più frequentemente riscontrate sono sostituzioni e delezioni di singoli nucleotidi, anche se non mancano delezioni o inserzioni di grandi dimensioni. Riguardo alla attribuzione di patogenicità si può affermare che alcuni tipi di varianti siano probabilmente patogeniche anche in assenza di studi funzionali; è il caso di delezioni, inserzioni, varianti che provocano l’inserimento di codoni di terminazione del mRNA, varianti nei siti di splicing, sostituzione di singoli nucleotidi che determinano la formazione di un codone di terminazione del mRNA. Ciò non si applica direttamente a quelle varianti di singoli nucle-

**TABELLA 2 •** Tipi di varianti nella sequenza del DNA.

Tipo di variante	Descrizione
Sostituzione	Un singolo nucleotide è stato sostituito da un nucleotide diverso
Delezione	Uno o più nucleotidi sono stati eliminati
Inserzione	Uno o più nucleotidi sono stati inseriti
Duplicazione	Uno o più nucleotidi sono stati duplicati in tandem
Delezione-inserzione	Uno o più nucleotidi sono stati eliminati e rimpiazzati da uno o più nucleotidi diversi
Inversione	Uno o più nucleotidi sono stati invertiti nella loro sequenza complementare

otidi che determinano la sostituzione di singoli aminoacidi a livello del LDL-R (varianti missenso). In questo caso, l'attribuzione di patogenicità deve basarsi su una serie di criteri condivisi dalla comunità scientifica come da indicazioni di ACMG/AMP (vedi oltre).

### Gene *APOB*

Nel caso del gene *APOB*, le varianti riscontrate in pazienti con FH (ADH-2) sono un numero molto ridotto e sono tutte sostituzioni di singoli nucleotidi che determinano la sostituzione di singoli aminoacidi (varianti missenso). Tra queste sostituzioni, particolare rilievo rivestono quelle che riguardano la regione della proteina ApoB ritenuta costituire il principale sito di legame dell'ApoB con il LDL-R. Nel caso specifico, vi è una singola variante prevalente nella popolazione caucasica, che determina la sostituzione dell'arginina in posizione 3527 della proteina ApoB con l'aminoacido glutammina.

### Gene *PCSK9*

Anche per questo gene, le varianti più frequentemente riscontrate nei pazienti FH (ADH-3) sono sostituzioni di singoli nucleotidi che determinano variazioni di singoli aminoacidi. In questo caso, tali sostituzioni possono determinare un guadagno di funzione della proteina PCSK9 (varianti GOF), responsabili di una aumentata degradazione del LDL-R.

### Gene *LDLRAP1*

La rara ipercolesterolemia autosomica recessiva (ARH) è dovuta prevalentemente a varianti nonsense e frameshift che causano la

formazione di proteine LDLRAP1 troncate e non funzionali.

## ■ ATTRIBUZIONE DI PATOGENICITÀ ALLE VARIANTI MISSENSO

L'attribuzione di patogenicità particolarmente nel caso di varianti missenso è resa possibile dall'impiego di tre diverse strategie di indagine, che comprendono:

- 1) prove biologiche funzionali;
- 2) studi di co-segregazione nelle famiglie;
- 3) analisi bio-informatiche (11-13).

### Prove biologiche funzionali

Nel caso di varianti missenso dei geni *LDLR* e *LDLRAP1* (ADH-1 e ARH), le prove funzionali comportano l'incubazione di cellule derivate dal paziente (fibroblasti cutanei o linfoblasti derivati da linfociti del sangue) con LDL "normali" marcate con isotopo radioattivo o con sostanza fluorescente, al fine di stabilirne, il legame, la internalizzazione e la degradazione intracellulare in confronto a cellule derivate da un soggetto sano di controllo. Nel caso del gene *APOB* (ADH-2), lo studio funzionale consiste nella incubazione di fibroblasti o linfociti/linfoblasti di un soggetto normale in presenza di LDL isolate dal paziente portatore della variante della proteina ApoB per verificarne la capacità di legame al LDL-R.

La presenza di varianti aminoacidiche nella proteina PCSK9 (ADH-3) prevede l'impiego di diverse tecniche per determinare alcune proprietà della variante di PCSK9, quali il clivaggio autocatalitico, la espressione della

proteina, l'effetto della variante sull'attività del LDL-R e la sua affinità per LDL-R (14). È superfluo sottolineare che le prove funzionali richiedono laboratori dedicati con esperienza specifica e risorse finanziarie adeguate che sono disponibili in un numero limitato di centri che si occupano di genetica della FH.

### Studi di co-segregazione

Queste indagini prevedono lo screening della variante genica riscontrata nel paziente (caso indice) in tutti i familiari disponibili. L'obiettivo è verificare se la variante riscontrata nel caso indice sia presente in altri membri della famiglia con FH e non si riscontri nei familiari normocolesterolemici. Tanto maggiore è il numero di familiari esaminati tanto più informativo è questo screening.

### Analisi bio-informatiche

L'analisi bio-informatica (analisi *in silico*) delle varianti missenso si basa sul confronto fra i caratteri fisico-chimici della proteina

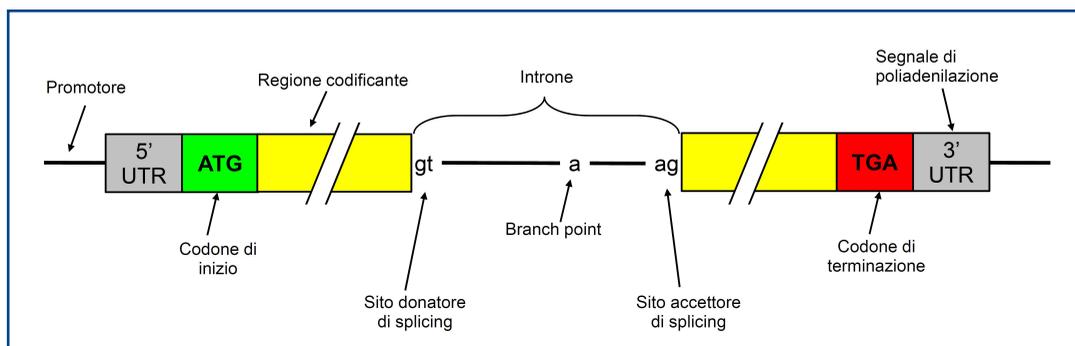
mutata con quelli della proteina normale, condotto sulla base di alcune caratteristiche quali:

- 1) proprietà fisico-chimiche dell'aminoacido mutato;
  - 2) grado di conservazione del dominio della proteina contenente l'aminoacido in questione nel corso dell'evoluzione;
  - 3) proprietà strutturali della proteina mutata.
- È oggi disponibile un software integrato (sistema REVEL) che permette di considerare simultaneamente le varie proprietà della proteina mutata (15).

## ■ REFERTO GENETICO-MOLECOLARE

Il referto genetico deve riportare i geni che sono stati analizzati, la metodologia di sequenziamento genico e fornire una descrizione accurata delle varianti riscontrate. Possono emergere i seguenti scenari:

- 1) presenza di una variante rara in uno dei



**FIGURA 1** • Regioni del gene in cui le varianti possono influenzare la funzione genica.

1) Varianti nella regione del promotore possono influenzare l'espressione genica aumentandola o riducendola in vario grado fino alla abolizione di funzione; 2) varianti nella regione 5' non tradotta (5'UTR) partecipano alla regolazione della traduzione della proteina a livello dei ribosomi; 3) varianti nel codone di inizio della traduzione possono bloccare la traduzione causando la riduzione/assenza della proteina; 4) varianti nella regione codificante la proteina possono avere effetti diversi, nella maggior parte dei casi si può formare una proteina strutturalmente alterata con l'acquisizione di nuove funzioni o perdita della funzione originaria. Ad esempio, le varianti missenso (in cui un aminoacido è sostituito con un aminoacido diverso) possono alterare la funzione della proteina e/o alterare la sua stabilità ed il suo metabolismo intra- ed extra-cellulare. Le varianti nonsense (in cui un aminoacido è sostituito da un codone di stop) causano l'arresto della traduzione della proteina con conseguente formazione di una proteina troncata. Le varianti "frameshift" che consistono in delezioni, inserzioni o delins (contemporanea delezione ed inserzione di nucleotidi) di un numero di nucleotidi non multiplo di 3 comportano lo scorrimento della trama di lettura del mRNA producendo un codone di terminazione prematuro con formazione di una proteina troncata; 5) varianti nella sequenza non codificante, localizzate nei siti di splicing o negli introni, possono influenzare la maturazione del mRNA la cui sequenza potrebbe essere alterata a causa della perdita completa o parziale di sequenze codificanti. Varianti di splicing possono indurre alterazioni della trama di lettura del mRNA con la formazione di codoni di terminazione prematuri e la conseguente formazione di proteine troncate.

geni candidati già dimostrata essere patogena o probabilmente patogena da prove funzionali *in vitro*, studi di co-segregazione, analisi bioinformatica *in silico* (diagnosi genetica positiva per variante FH-causativa);

- 2) presenza di una variante rara in uno dei geni candidati non riportata in banche dati e non ancora sostenuta da studi funzionali (variante di incerto significato, VUS) ma che in base ad analisi bio-informatica *in silico* è risultata avere un effetto *deleterio* (diagnosi probabilmente positiva). In questo caso, l'attribuzione di patogenicità richiederebbe l'analisi di co-segregazione e studi di popolazione ed eventualmente l'analisi funzionale *in vitro* e l'analisi del carico poligenico (Polygenic risk score);
- 3) presenza di una variante rara in uno dei geni candidati non riportata in banche dati e non ancora sostenuta da studi funzionali (variante di incerto significato, VUS) ma che in base ad analisi bio-informatica *in silico* è risultata avere effetto *benigno* (diagnosi incerta). In questo caso, l'attribuzione di patogenicità richiederebbe l'analisi di co-segregazione e studi di popolazione ed eventualmente l'analisi funzionale *in vitro* e l'analisi del carico poligenico (Polygenic risk score);
- 4) assenza di varianti rare in uno dei geni candidati (fenotipo positivo/genotipo negativo) con polygenic risk score elevato (>90° percentile) (diagnosi di ipercolesterolemia poligenica);
- 5) assenza di varianti rare in uno dei geni candidati (fenotipo positivo/genotipo negativo) con polygenic risk score negativo (diagnosi genetica negativa);
- 6) presenza di varianti comuni (polimorfismi) a basso impatto biologico (diagnosi genetica negativa).

Quando l'analisi genetica indica la presenza di una variante rara, come ai punti 2 e 3, non ancora funzionalmente caratterizzata, l'analisi bioinformatica può essere considerata uno strumento utile per definire la probabilità che tale variante abbia un effetto biologico patogenico o benigno. Comunque sia, in questi casi il

clinico, in attesa di un risultato definitivo che può derivare da ulteriori studi, è chiamato a procedere al trattamento ipolipemizzante più idoneo per il paziente sulla base della gravità del fenotipo clinico e della storia familiare.

## ■ CONCLUSIONI

A fronte di un paziente con ipercolesterolemia primitiva, l'analisi genetica rappresenta una tappa fondamentale del procedimento diagnostico. Le attuali tecnologie di sequenziamento consentono di effettuare la sequenza in parallelo di un pannello di geni coinvolti a vario titolo nel metabolismo del colesterolo. Nel caso della Ipercolesterolemia Familiare (FH), i geni candidati coinvolti nella forma semi-dominante (ADH-1, ADH-2 e ADH-3) sono rispettivamente *LDLR*, *APOB* e *PCSK9* ed il gene coinvolto nella forma recessiva (ARH) è il gene *LDLRAP1*. Il maggior numero di varianti geniche causative (varianti patogeniche) riguarda il gene *LDLR*. Il tipo di varianti e la loro localizzazione nel gene sono molto variabili. L'attribuzione di patogenicità ad una variante è basata su diversi criteri tra cui la prova funzionale biologica *in vitro*, la dimostrazione di una co-segregazione della variante con il fenotipo FH, e analisi bio-informatiche condotte con diversi algoritmi. Nel caso che non siano riscontrate varianti nei geni candidati è probabile che il fenotipo ipercolesterolemico sia il risultato della presenza, in vari geni del genoma, di varianti a basso impatto biologico, capaci singolarmente di determinare un minimo incremento di LDL-C, ma il cui effetto combinato può determinare un incremento sostanziale dei livelli di LDL-C paragonabili a quello dovuto a varianti patogeniche del gene *LDLR*. Si parla in questo caso di eredità poligenica (Carico poligenico) che può essere quantificata dimostrando la presenza di queste varianti nel genoma.

## ■ BIBLIOGRAFIA

1. Goldstein JL, Hobbs HH, Brown MS. Familial hypercholesterolemia. In C.R. Scriver, A.L.

- Beaudet, W.S. Sly, D. Valle, eds, *The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease*, 8th ed. New York: McGraw-Hill 2001; 2863-2913.
- Goldstein JL, Brown MS. A century of cholesterol and coronaries: from plaques to genes to statins. *Cell*. 2015; 161: 161-172.
  - Defesche JC, Gidding SS, Harada-Shiba M, et al. Familial hypercholesterolaemia. *Nat Rev Dis Primers*. 2017; 3: 17093.
  - Berberich AJ, Hegele RA. The complex molecular genetics of familial hypercholesterolaemia. *Nat Rev Cardiol*. 2019; 16: 9-20.
  - 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: 342-348.
  - Bertolini S, Calandra S, Arca M, et al. Homozygous familial hypercholesterolemia in Italy: Clinical and molecular features. *Atherosclerosis*. 2020; 312: 72-78.
  - D'Erasmus L, Di Costanzo A, Arca M. Autosomal recessive hypercholesterolemia: update for 2020. *Curr Opin Lipidol*. 2020; 31: 56-61.
  - Tada H, Nohara A, Kawashiri MA. Monogenic, polygenic, and oligogenic familial hypercholesterolemia. *Curr Opin Lipidol*. 2019; 30: 300-306.
  - Di Taranto MD, Fortunato G. Genetic Heterogeneity of Familial Hypercholesterolemia: Repercussions for Molecular Diagnosis. *Int J Mol Sci*. 2023; 24: 3224.
  - Richards S, Aziz N, Bale S, et al. ACMG Laboratory Quality Assurance Committee. Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology. *Genet Med*. 2015; 17: 405-424.
  - Benito-Vicente A, Alves AC, Etxebarria A, et al. The importance of an integrated analysis of clinical, molecular, and functional data for the genetic diagnosis of familial hypercholesterolemia. *Genet Med*. 2015; 17: 980-988.
  - Bourbon M, Alves AC, Sijbrands EJ. Low-density lipoprotein receptor mutational analysis in diagnosis of familial hypercholesterolemia. *Curr Opin Lipidol*. 2017; 28: 120-129.
  - Chora JR, Iacocca MA, Tichy L, et al. The Clinical Genome Resource (ClinGen) Familial Hypercholesterolemia Variant Curation Expert Panel consensus guidelines for LDLR variant classification. *Genet Med*. 2022; 24: 293-306.
  - Larrea-Sebal A, Trenti C, Jebari-Benslaiman S, et al. Functional Characterization of p. (Arg-160Gln) PCSK9 Variant Accidentally Found in a Hypercholesterolemic Subject. *Mol Sci*. 2023; 24: 3330.
  - Larrea-Sebal A, Jebari-Benslaiman S, Galicia-Garcia U, et al. Predictive Modeling and Structure Analysis of Genetic Variants in Familial Hypercholesterolemia: Implications for Diagnosis and Protein Interaction Studies. *Curr Atheroscler. Rep*. 2023; 25: 839-859.

# Impatto delle terapie innovative sulla qualità di vita dei pazienti affetti da Ipercolesterolemia Familiare Omozigote: un caso clinico esemplificativo

Gabriella Iannuzzo, Ilenia Calcaterra, Matteo Di Minno

Università degli Studi di Napoli. Federico II

La storia di S.M., che oggi ha 47 anni, è segnata dalla diagnosi di Ipercolesterolemia Familiare Omozigote all'età di 6 anni e dalla morte per infarto del miocardio della sorella di 18 anni, affetta dalla stessa patologia.

La diagnosi clinica [LDL-colesterolo (LDL-c) >600 mg/dl, xantomi tendinei, xantelasmi, arco corneale] è confermata dall'analisi genetica, che ha rilevato una mutazione dell'esone 8 del gene del recettore delle LDL [c.1135T>C, p.C379R (C358R)]. A completare il quadro gli sono stati diagnosticati una stenosi aortica severa, che ha richiesto la sostituzione valvolare a 23 anni, ed episodi di angina instabile a 24 anni, trattati con PCI e impianto di stent medicato.

Lo spettro "morte cardiovascolare" lo ha accompagnato in questi anni, rendendolo paradossalmente estremamente concentrato su se stesso e sulla sua malattia, ben consapevole della possibile evoluzione della stessa e, quindi teso a vivere in un sorta di bolla di protezione.

Tra i 23 e i 39 anni, il paziente ha assunto

tutte le terapie disponibili al tempo: statine alla massima dose tollerata, ezetimibe, inibitori della PCSK9 e plasmaferesi delle lipoproteine ogni 14 giorni, ma, nonostante ciò, i livelli di LDL-c, chiodo fisso della sua vita, si sono mantenuti elevati a 289 mg/dl.

S.M. informatissimo su qualsivoglia nuovo trattamento ipolipidemizzante, soprattutto quelli in corso di sperimentazione, in maniera maniacale ha cominciato a prestare massima attenzione alla dieta e all'attività fisica, attribuendo ad entrambe un potere spropositato, con un ulteriore pessimo impatto sulla sua qualità di vita, già condizionata dalla scelta di una attività lavorativa insoddisfacente, che però gli ha consentito di continuare il trattamento bimensile aferetico e i continui accessi ospedalieri "cautelativi". A 40 anni, il paziente inizia la terapia con *Lomitapide*, l'inibitore della proteina microsomiale di trasporto dei trigliceridi (MTP), partendo da una dose di 5 mg e aumentando progressivamente fino a 40 mg, per raggiungere valori per lui eccezionali di LDL-c di 130 mg/dl. Comincia a tirare un sospiro di sollievo, anche se nonostante la sua resistenza è stato necessario ridurre la dose a 20 mg per aumento delle transaminasi (AST 192

Autore corrispondente

Gabriella Iannuzzo

E-mail: gabriella.iannuzzo@unina.it

U/l, ALT 270 U/l), con stabilizzazione dei parametri epatici ma conseguente incremento dei livelli di LDL-c a 200 mg/dl.

Questo nuovo aumento del LDL-c ha effetti estremamente deleteri per il paziente, che vede il mondo crollargli addosso, per cui continua a concentrarsi strenuamente su dieta, attività fisica ed integratori alimentari di ogni genere, convinto ormai di poter osare lui in prima persona per migliorare la propria condizione, arrivando lì dove non arrivano i farmaci.

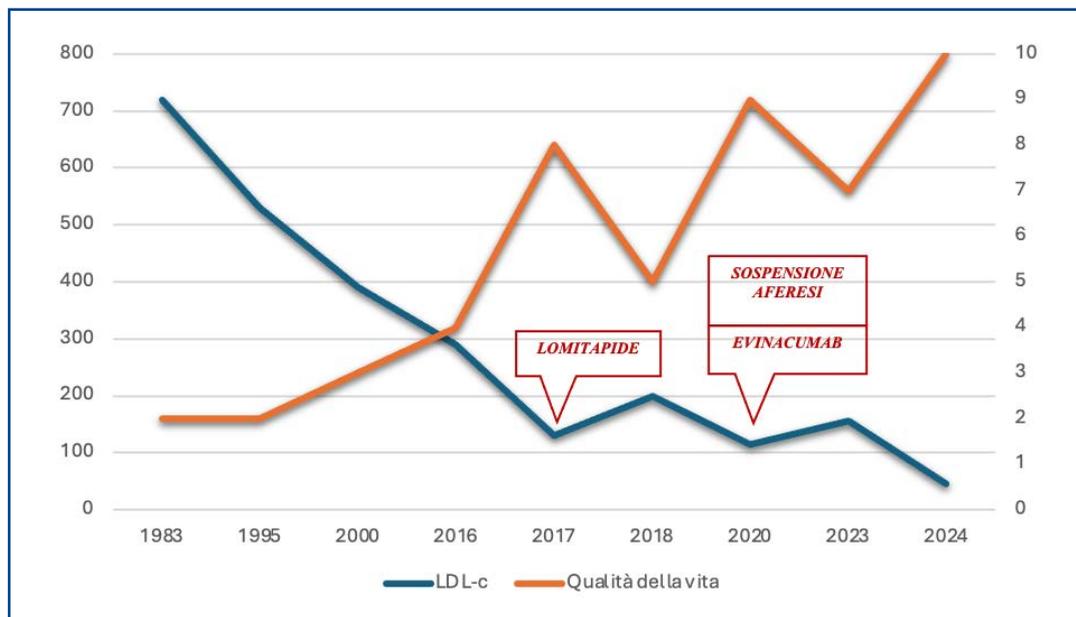
Una nuova svolta arriva a 44 anni con l'introduzione di *Evinacumab* (15 mg/kg ev), anticorpo monoclonale anti ANGPTL3. Dopo soli due mesi di trattamento, il paziente sospende la plasmaferesi e dopo 4 mesi raggiunge livelli di LDL-c di 114 mg/dl; ricomincia la sua vita: dopo 20 anni riesce finalmente ad andare in vacanza, al mare con la famiglia e sembra essere più sereno.

Tuttavia, un anno dopo, compiuti i 45 anni, una tomoscintigrafia miocardica, effettuata per routine, in assenza di sintomatologia, rivela una lieve ischemia inducibile, che rende necessario un intervento di PCI e l'impianto di uno stent medicato per una stenosi sub occlusiva della coronaria destra.

Il mondo gli crolla addosso, rientra nel loop dell'ossessione nei confronti dell'LDL-col: l'attenzione alla dieta diviene l'unico pensiero della sua vita, riduce drasticamente l'apporto di proteine animali e zuccheri semplici e incrementa spasmodicamente l'attività fisica, che pratica di giorno e di notte. Ne consegue una riduzione eccessiva del peso corporeo (BMI 17 kg/m<sup>2</sup>), che cerca di nascondere, pancitopenia, perdita dei capelli e delle unghie, ipotrofia muscolare e debolezza estrema e parallelamente, è presente un aumento dei livelli di LDL-c a 155 mg/dl, nonostante la terapia invariata.

A questo punto si è reso necessario monitoraggio nutrizionale settimanale e supporto psicologico, con sospensione temporanea di ogni terapia in corso.

È stata questa la chiave di volta, cioè la paura di non poter fare più la terapia farmacologica necessaria per la sua sopravvivenza ed il ritorno all'afèresi lipoproteica, che ha impattato positivamente il paziente, con un ritorno a un regime alimentare e ad attività fisica normali e quindi alla ripresa della sua politerapia standard (statine, ezetimibe, lomitapide, evinacumab) a livelli di LDL-c di 46 mg/dl (*Figura 1*).



**FIGURA 1** • Variazioni della qualità di vita con le variazioni dei valori di LDL-C.

Recentemente il paziente, ormai normopeso e con valori di LDL-C stabilmente intorno ai 40 mg/dl, ha intrapreso una nuova attività lavorativa, più gratificante sia in termini economici che di soddisfazione personale.

È, ormai, ben nota l'importanza della politerapia nel trattamento della ipercolesterolemia familiare omozigote, ed in particolare l'introduzione di nuovi farmaci ipolipemizzanti come lomitapide ed evinacumab alla terapia tradizionale, per il raggiungimento

degli obiettivi stabiliti dalle linee guida per il trattamento della stessa; tuttavia non è da trascurare come la politerapia farmacologica possa positivamente avere un impatto significativo sulla qualità di vita dei pazienti con Ipercolesterolemia Familiare Omozigote, soprattutto per quelli che hanno provato l'invadente della plasmateresi, non solo in termini di gestione dei livelli di LDL-c, ma anche per un miglioramento del benessere fisico e psichico.

# HoFH2days Bologna 7-8 maggio 2024

Maurizio Averna

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

Dopo il successo della scorsa edizione svoltasi a Milano (17-18 maggio 2023), "HoFH2days" approda a Bologna, il 7 e 8 Maggio 2024.

Emerge, sin dai primi interventi di Cesare Sirtori, Professore Emerito di Farmacologia presso l'Università degli Studi di Milano, e di Marina Cuchel, Professore associato e ricercatore in Translation Medicine and Human Genetic dell'Università della Pennsylvania, come sia fondamentale guardare al paziente in modo olistico e non più focalizzare l'attenzione solo sulla patologia di cui è portatore. Tale concetto diventa di cruciale importanza nel momento in cui "bisogna bilanciare l'efficacia clinica della terapia con la compliance del paziente", come sottolinea la Prof.ssa Cuchel.

L'ipercolesterolemia familiare omozigote (HoFH) è un disordine raro del metabolismo lipidico, caratterizzato da una severa ipercolesterolemia (con livelli di LDL colesterolo estremamente elevati) e insorgenza di malattie cardiovascolari in età precoce. Tale patologia è geneticamente determinata da mutazioni a carico di 4 principali geni candidati: *LDLR*, *APOB*, *PCSK9* e *LDLRAP1*. La Prof.ssa Cuchel pone l'attenzione su come "a fronte di una prevalenza stimata di 1:360.000, meno del 10% dei pazienti sono diagnosticati e, nei casi in cui si riesce a fare diagnosi, spesso

questa è tardiva". Tuttavia, in questo scenario l'Italia è riuscita a raggiungere percentuali di diagnosi nettamente più elevate come si evince dallo studio del gruppo Lipigen sulla popolazione italiana affetta da HoFH, nel quale sono stati individuati 125 pazienti a fronte dei 163-195 soggetti stimati (circa il 70%). Commentando i dati del registro HoFH International Clinical Collaborators (HICC registry), la Prof.ssa Cuchel continua sottolineando che "l'età media alla diagnosi è di 12,7 anni. Più bassa nei Paesi a non high income rispetto a quella nei Paesi high income (10 vs 16)". Tale discrepanza è dovuta verosimilmente al fenotipo più grave che i pazienti con HoFH presentano in questi Paesi. Altro dato interessante è quello che nei Paesi high income circa il 92% dei pazienti ricevono una diagnosi genetica. "La diagnosi dell'ipercolesterolemia familiare è basata su criteri clinici ed è il fenotipo del paziente che guida l'inizio precoce della terapia" suggerisce Maria Grazia Zenti, Specialista in Endocrinologia e Responsabile della Struttura di Diabetologia e Malattie Metaboliche presso l'Ospedale Pederzoli di Peschera del Garda (VR), "fondamentale nell'iter diagnostico è il rule-out delle forme secondarie ed è necessario porre attenzione ai pazienti ipercolesterolemici non responders alla terapia o ai figli di genitori ipercolesterolemici, poiché in questi casi si potrebbe nascondere una sottostante FH". La diagnosi di ipercolesterolemia è basata su criteri clinici e genetici. I nuovi criteri clinici esposti all'EAS nel 2023 sono:

Autore corrispondente

Maurizio Averna

E-mail: maurizio.averna@unipa.it

## Box 2 Updated criteria for the diagnosis of homozygous familial hypercholesterolaemia

### Clinical criteria

- LDL-C criteria:

Untreated LDL-C >10 mmol/L (>~400 mg/dL) is suggestive of HoFH requiring further investigation to confirm the diagnosis.

- Additional criteria:

Cutaneous or tendon xanthomas before age of 10 years and/or

untreated elevated LDL-C levels consistent with heterozygous FH in both parents\*

\*In digenic form, one parent may have normal LDL-C levels and the other may have LDL-C levels consistent with HoFH.

2023 Update on European Atherosclerosis Society Consensus Statement on Homozygous Familial Hypercholesterolaemia: new treatments and clinical guidance. M. Cuchel et al. *European Heart Journal*, Volume 44, Issue 25, 1 July 2023; 2277-2291.

“La FH è determinata da mutazioni a carico di 4 geni che vanno a determinare variazioni dell’attività del recettore per le LDL, in base all’attività residua del recettore, l’LDL-C plasmatico può variare da valori poco sopra il range di normalità a valori francamente patologici (150-1500 mg/dl)” spiega Angelo Baldassare Cefalù, Professore ordinario dell’Università degli Studi di Palermo: “Questo vasto range di valori pone il dubbio se l’analisi genica determini un’over diagnosi a causa dell’identificazione di varianti di significato incerto (variant of unknown significance – VUS). Quando identifichiamo una VUS dovremmo valutare la probabilità pre-test della patologia genetica in esame e fare studi funzionali, inoltre sarebbe auspicabile compilare test familiari, seguire il paziente nel tempo, porre attenzione al fenotipo e utilizzare i criteri di Chora”. Le curve di Kaplan-Meier sulla sopravvivenza correlata ai valori di LDL hanno dimostrato che i pazienti con VUS, che mostrano valori di LDL-C minori dei soggetti con mutazioni sicuramente patologiche, hanno una sopravvivenza minore rispetto ai soggetti sani. Gavino Casu durante la sua relazione ci dice che “gli elevati livelli di LDL-C e la sua deposizione a livello vascolare assieme allo stato infiammatorio cronico sono i determinanti della patologia aterosclerotica, che non interessa solo il distretto coronarico ma coinvolge tutto l’albero vascolare”. I dati esposti dal

Dott. Casu mostrano come le caratteristiche della placca ne determinano la sua instabilità e quindi un rischio maggiore di eventi cardiovascolari. L’imaging vascolare, quindi, non deve solo dare informazioni sulla presenza di placche lungo l’albero vascolare ma le “tecniche di imaging, come l’ecografia intravascolare (IntraVascular Ultrasound -IVUS) e l’Optical coherence tomography-OCT, ci permettono di caratterizzare la placca e di prendere adeguate decisioni terapeutiche. La terapia ipolipemizzante ci permette di modificare il fenotipo di placca, a tal proposito lo studio HUYGENES ha mostrato, mediante tecnica IVUS, come Evolocumab aumenti il cappuccio fibroso della placca e riduca l’arco corneale.”

Alla luce di quanto detto è evidente l’importanza di un inizio precoce della terapia ipolipemizzante in quanto i pazienti con HoFH raggiungono precocemente i livelli di LDL-C individuati come valori di rischio per l’insorgenza di eventi cardiovascolari. Come specifica Alberto Zambon, Professore associato di Medicina Interna dell’Università degli Studi di Padova, “l’efficacia della terapia ipolipemizzante dipende dall’attività residua del recettore LDL”, inoltre sottolinea che “l’associazione statina/ezetimibe resta il primo step terapeutico con possibilità di associazione agli inibitori di PCSK9, questi sono pur sempre farmaci che dipendono dall’attività del recettore e nei pazienti con

*attività residua nulla, i valori di LDL-C permangono sopra i valori di target terapeutico nonostante la terapia massimale*". Opzioni terapeutiche come la Lomitapide, la terapia di inibizione di ANGPTL-3 e le tecniche di LDL-afèresi sono necessarie per raggiungere i valori di target terapeutico (LDL <115 nei bambini e LDL <70 negli adulti). Mentre sino ad oggi la tecnica di LDL-afèresi rappresentava il trattamento ottimale per il raggiungimento dei valori target nei bambini sotto gli 8 anni, oggi si può puntare su nuove strategie terapeutiche come Lomitapide ed Evinacumab, che in studi di fase 3 hanno mostrato efficacia e sicurezza anche in età pediatrica; ad oggi solo Evinacumab è stato approvato con tale indicazione.

L'intervento di *Maurizio Averna*, Professore Ordinario di Medicina Interna dell'Università degli Studi di Palermo, a conclusione della giornata, ha ampliato la tematica di discussione presentando i possibili utilizzi futuri della Lomitapide, ipotizzando un possibile ruolo di tale farmaco nella terapia antitumorale e nell'ipercolesterolemia refrattaria. Inoltre, ha ricordato come, grazie al suo meccanismo d'azione, la Lomitapide può avere un ruolo nella sindrome chilomicronemica familiare (Familial Chylomicronemia Syndrome - FCS) per la sua capacità di ridurre la secrezione di chilomicroni a livello intestinale e di VLDL a livello epatico.

La seconda giornata ha avuto come linea guida comune l'importanza dell'approccio multidisciplinare nei pazienti affetti da ipercolesterolemia familiare omozigote.

L'aspetto cardiologico è stato affrontato dal *Prof Paolo Calabrò*, Professore Ordinario per le Malattie dell'Apparato Cardiovascolari della Facoltà di Medicina e chirurgia della Università degli Studi della Campania, che ha posto il punto sulla *"precocità di manifestazioni aterosclerotiche non solo a livello coronarico ma anche a livello aortico e degli altri vasi"*, patologia aterosclerotica che in modo caratteristico colpisce l'apparato valvolare aortico, e sulla *"necessità di valutare i parametri che ci permettano di diagnosticare precocemente la patologia aterosclerotica*

*valvolare e sopra valvolare"*. Il Prof. Calabrò a conclusione del suo intervento ribadisce il concetto per cui: *"l'ipercolesterolemia è una patologia genetica ma soprattutto è una patologia cardiovascolare che ritroviamo nel soggetto giovane con manifestazioni precoci e premature che necessitano di approccio precoce per evitare le complicanze della progressione rapida della malattia"*.

*Simone Bini*, Dottorando di Ricerca presso l'Università degli Studi di Roma, nel suo intervento sottolinea l'importanza della terapia e della diagnosi precoce; infatti, dice: *"tanto è stato fatto in termini di terapia e diagnosi precoce e ciò emerge in modo chiaro dall'analisi dell'insorgenza di eventi MACE nei pazienti arruolati dopo il 2010 dal gruppo Lipigen, questi pazienti mostrano avere un'età più avanzata all'esordio"*.

L'intervento di *Fabio Nascimbeni*, Specialista in Medicina Interna presso l'AOU di Modena e Ricercatore presso l'Università di Modena e Reggio Emilia, ha invece espresso l'approccio della patologia dal punto di vista dell'epatologo sottolineando che il paziente con HoFH è un paziente che può presentare steatosi epatica: *"indipendentemente dai parametri FH che possono favorire lo sviluppo di steatosi epatica la patogenesi è legata a fattori acquisiti quali stile di vita non salutare e comorbidità metaboliche"*; altro dato che emerge da tale intervento è che l'insorgenza di steatosi epatica aumenta il rischio di eventi cardiovascolari precoci. La Lomitapide in questo setting di pazienti può essere utilizzata ma bisogna prestare attenzione a trattare le comorbidità metaboliche concomitanti, quindi inserendo il paziente in un percorso di cambiamento dello stile di vita promuovendo uno stile di vita sano, prevenire obesità, diabete e steatosi epatica associata a disfunzione metabolica. Molto interessanti sono i dati di real life mostrati da *Antonina Giammanco*, Dirigente medico e Ricercatore di Medicina Interna presso l'Università degli Studi di Palermo, i quali *"hanno confermato come i pazienti trattati con Lomitapide hanno presentato una buona compliance alla terapia con assenza di pro-*

*gressione di danno epatico e soprattutto che, l'aumento delle transaminasi, si è presentato nei momenti in cui non seguivano una stretta dietoterapia".* Gli interventi di Nascimbeni e Giammanco aprono la strada all'intervento di *Arturo Cesaro*, Cardiologo e Ricercatore in malattie cardiovascolari presso l'Università della Campania, che ha mostrato come nella pratica clinica *"il supporto con la dietista associato alla terapia con Lomitapide ha permesso di aumentare il dosaggio di Lomitapide, prima non tollerato, con una buona compliance da parte del paziente grazie alla riduzione degli effetti avversi gastrointestinali"*. *"Dobbiamo lavorare molto di più sullo stile di vita perché è vincente"* afferma la *Prof.ssa Francesca Carubbi*, Professore Associato dell'Università degli Studi di Modena, *"la dieta con pochi elementi ci permette di avere un potente farmaco con evidenza A"*, nella terapia con Lomitapide, il cui meccanismo d'azione determina accumulo di grasso a livello epatico, la dieta diventa fondamentale e un mezzo imprescindibile per ridurre gli effetti collaterali e la compliance del paziente. Quindi si proporrà al paziente non solo una dieta ipolipidica ma anche una giusta distribuzione dell'intake di grassi durante la giornata per evitare il carico lipidico. I rappresentanti dell'Associazione Nazionale Ipercolesterolemia Familiare (ANIF),

*Domenico della Gatta*, e del Gruppo Italiano Pazienti-FH (GIP-FH), *Martina Saverino*, hanno riportato il paziente al centro del dialogo medico, perché il paziente deve essere consapevole della sua patologia e delle terapie che gli vengono proposte. Il rapporto sinergico tra medico e paziente favorisce l'accettazione della diagnosi e aumenta la compliance alla terapia.

La Saverino suggerisce che la possibilità di avere a disposizione un team multidisciplinare nella gestione a 360° del percorso di cura sia fondamentale durante il trascorrere degli anni e la crescita del paziente. È necessario che le associazioni dei pazienti e le comunità scientifiche lavorino in sinergia per seguire il paziente nel suo percorso di vita, aiutandolo a diventare protagonista nella gestione della sua malattia, richiamando l'attenzione non solo sulla diagnosi come un punto fermo e statico nella vita del paziente ma come un punto di inizio di un percorso in itinere. Alla luce di quanto emerso durante le due giornate Bolognesi, dell'importanza di un approccio sinergico delle varie specialità che si avvicinano al paziente con HoFH, per garantire una diagnosi e terapia precoce e per un ottimale follow-up, ci diamo appuntamento al 24 settembre 2024 per la giornata di sensibilizzazione sull'Ipercolesterolemia Familiare.

## Immagine ecocardiografiche di stenosi aortica severa in diverse proiezioni

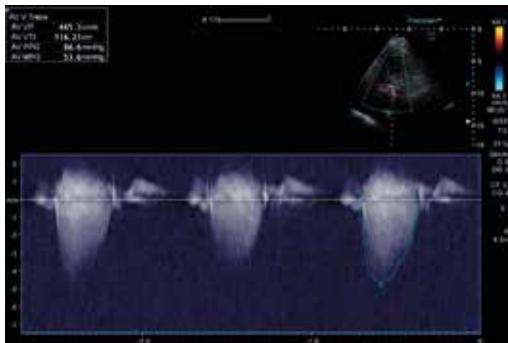
G.D., 34 anni, HoFH, affetto da stenosi aortica severa.



Parasternal long-axis view:  
AV = Aortic valve in systole.



Parasternal short-axis view:  
AV = Aortic valve in systole.



Continuous Doppler of aortic flow.  
Peak pressure gradient = 86.6 mmHg;  
Mean pressure gradient = 53.6 mmHg.

Immagine ottenute grazie alla collaborazione del Prof. Emilio Nardi - Dipartimento di Promozione della Salute, Materno-Infantile, di Medicina Interna e Specialistica di Eccellenza "G. D'Alessandro" (ProMISE) - Università degli Studi di Palermo.

# Novità dalla letteratura

Antonina Giammanco

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

L'ipercolesterolemia familiare omozigote (HoFH) è una condizione genetica rara caratterizzata da livelli estremamente elevati di colesterolo LDL (C-LDL) e malattia aterosclerotica prematura (ASCVD). Diversamente dall'ipercolesterolemia familiare eterozigote (HeFH), che è più comune della HoFH e le cui donne affette vengono diagnosticate più tardivamente oltre ad essere sottotrattate rispetto agli uomini, non è noto se queste differenze di genere si applichino anche alla HoFH. Recentemente è stato pubblicato uno studio (1) in cui sono state valutate le differenze di genere in termini di età alla diagnosi, fattori di rischio, trattamento ipolipemizzante, morbilità e mortalità ASCVD nei pazienti con HoFH. Le analisi sesso-specifiche per questo studio retrospettivo di coorte sono state eseguite utilizzando i dati del registro HoFH International Clinical Collaborators (HICC), il più grande set globale di dati di pazienti affetti da HoFH, che comprende 88 centri in 38 Paesi. I pazienti con HoFH che erano viventi durante o dopo il 2010 sono stati ritenuti idonei per l'inclusione. L'inserimento dei dati è avvenuto tra febbraio 2016 e dicembre 2020. I

dati sono stati analizzati da giugno 2022 a giugno 2023. È stato, pertanto, eseguito un confronto tra donne e uomini con HoFH per quanto riguarda età alla diagnosi, presenza di fattori di rischio, trattamento ipolipemizzante, prevalenza, insorgenza e incidenza di morbilità ASCVD (infarto miocardico [IM], stenosi aortica ed esiti di ASCVD) e mortalità. Sono stati inclusi i dati di 389 donne e 362 uomini con HoFH provenienti da 38 Paesi. Donne e uomini avevano età simile alla diagnosi (mediana [IQR], 13 [6-26] anni vs 11 [5-27] anni, rispettivamente), livelli di C-LDL non trattato (media [DS], 579 [203] vs 596 [186] mg/dl, rispettivamente) e prevalenza di fattori di rischio cardiovascolare, eccetto il fumo (38 donne su 266 [14,3%] vs 59 uomini su 217 [27,2%], rispettivamente). La prevalenza di IM era inferiore nelle donne (31 su 389 [8,0%]) rispetto agli uomini (59 su 362 [16,3%]), ma l'età al primo infarto era simile (media [DS], 39 [13] anni nelle donne vs 38 [13] anni negli uomini). I livelli di C-LDL trattato e la terapia ipolipemizzante erano simili in entrambi i sessi, in particolare le statine (248 su 276 donne [89,9%] vs 235 su 258 uomini [91,1%]) e l'aferesi delle lipoproteine (115 su 317 donne [36,3%] vs 118 uomini su 304 [38,8%]). Dopo sedici anni dalla diagnosi di HoFH, le donne avevano, rispetto agli uomini, un'incidenza cu-

*Autore corrispondente*

Antonina Giammanco  
E-mail: agiamman@gmail.com

mulativa di IM inferiore statisticamente significativa (5,0% nelle donne contro 13,7% negli uomini), mentre presentavano mortalità per tutte le cause (3,0% nelle donne vs 4,1% negli uomini) e mortalità cardiovascolare (2,6% nelle donne vs 4,1% negli uomini) inferiori in modo non significativo. In questo studio di coorte su soggetti con HoFH nota, l'IM era più elevato negli uomini rispetto alle donne, ma l'età alla diagnosi e al primo evento ASCVD erano simili. Pertanto, questi risultati suggeriscono che la diagnosi e il trattamento precoci sono importanti per attenuare l'eccessivo rischio cardiovascolare in entrambi i sessi. Recentemente sono stati pubblicati i dati di follow up provenienti dal registro SAFEHEART (Studio di coorte sull'ipercolesterolemia familiare spagnola), uno studio a lungo termine sulla HoFH. L'analisi ha riguardato dati relativi alle caratteristiche cliniche e genetiche, al profilo lipidico, al trattamento ipolipemizzante e agli eventi ASCVD ottenuti prospetticamente dal 2004 al 2022. Sono stati analizzati 39 pazienti affetti da HoFH. L'età media era di 42±20 anni e 19 (49%) erano donne. Il follow-up mediano è stato di 11 anni e l'età mediana alla diagnosi genetica era di 24 anni. Al momento dell'arruolamento, il 33% dei soggetti era affetto da ASCVD e il 18% aveva una stenosi valvolare aortica (AVS). Durante il follow up, 6 pazienti (15%) hanno presentato nuovi eventi ASCVD e un paziente (3%) ha presentato malattia valvolare aortica. I livelli mediani di C-LDL non trattati erano di 555 mg/dL e i livelli mediani di C-LDL all'ultimo follow-up erano di 122 mg/dL. La maggior parte dei pazienti (92%) era in terapia con statine ad alta intensità ed ezetimibe, il 28% con inibitori di PCSK9, il 26% con lomitapide e il 23% praticava LDL-afesi. 14 pazienti (36%) in prevenzione secondaria hanno raggiunto un livello di C-LDL inferiore a 100 mg/dL e il 10% ha raggiunto un livello di C-LDL inferiore a 70 mg/dL. I pazienti con varianti *null/null* erano più giovani, avevano livelli più elevati di C-LDL e avevano già avuto un primo evento ASCVD. La sopravvivenza da eventi liberi da malattia

è risultata maggiore nei pazienti con varianti *defective* rispetto a quelli portatori di almeno una variante *null* (2). Questo studio ha permesso di dare un aggiornamento sulle caratteristiche, sulla gestione nella vita reale e sugli esiti relativi a ASCVD dei pazienti con HoFH in un follow up mediano di 11 anni. I principali risultati di questo studio sono stati:

- 1) alta prevalenza di ASCVD e AVS prematuri, rispettivamente 33% e 18%;
- 2) i pazienti portatori di almeno un allele nullo hanno un fenotipo grave e una prognosi peggiore nel follow-up;
- 3) il miglioramento della gestione ipolipemizzante grazie alla disponibilità di nuovi farmaci come inibitori di PCSK9 e lomitapide ha permesso a un maggior numero di pazienti HoFH di ottenere una significativa riduzione dei livelli di C-LDL, riflettendo sostanziali progressi nel trattamento e il miglioramento della prognosi con una riduzione del numero di pazienti con eventi ASCVD.

I fattori che influenzano la prognosi dell'HoFH possono variare. Sulla base del burden cumulativo di C-LDL, i pazienti con HoFH mostrano un importante incremento del rischio di sviluppare malattia coronarica già a partire dai 10 anni di età. Pertanto, la diagnosi di HoFH deve essere fatta il prima possibile (3). In tal senso, come riportato da Harada-Sbiba M. (3), se l'HoFH fosse inclusa nei test di screening di massa, ci si potrebbe aspettare un miglioramento prognostico significativo. Ci sono stati diversi tentativi per lo screening dell'ipercolesterolemia familiare nei neonati, come la misurazione dei livelli lipidici nel campione di sangue proveniente dal cordone ombelicale. Tuttavia, con la possibile eccezione di rilevare HoFH in un bambino all'interno di una famiglia notoriamente affetta, lo screening del sangue da cordone ombelicale sembra essere inaffidabile per la diagnosi di FH (3).

Recentemente, è stato validato il dosaggio di colesterolo totale, C-LDL e apolipoproteina B su campioni di sangue essiccato (dried blood spot – DBS) confrontato con campioni di siero. Sebbene i risultati della convali-

da del test fossero entro limiti accettabili, è necessaria un'ulteriore convalida per essere idonei all'uso di questo test. Un'altra strategia per la diagnosi precoce di HoFH è stato un programma di screening universale nei bambini di 10 anni di età eseguito in Slovenia e in altri paesi. Lo screening pediatrico della HoFH si è dimostrato utile ed efficace in termini di costi.

Lo scopo di questi progetti era quello di trovare HeFH. Tuttavia, il burden cumulativo di C-LDL della HoFH comporterebbe il raggiungimento di livelli sufficienti per lo sviluppo di eventi cardiovascolari precoci già all'età di 10 anni, quando avverrebbe lo screening. I pazienti affetti da HoFH vengono trattati con aferesi lipoproteica per molti anni. Poiché il sistema Liposorber richiede 400 mL di volume, comprese 2 colonne e tubi, il peso corporeo del paziente deve superare i 30 kg. I bambini di peso inferiore a 30 kg ricevono una plasmaferesi semplice. Il recente sviluppo di farmaci come lomitapide ed evinacumab ha permesso di ridurre il C-LDL anche nei bambini piccoli, che non possono avere essere sottoposti a trattamento aferetico. Evinacumab è stato approvato in pazienti HoFH pediatriche di età compresa tra 5 e 11 anni negli Stati Uniti, in Europa, in Canada e in Giappone (4). Allo stato attuale, pertanto, abbiamo una nuova strategia per ridurre il C-LDL nei bambini piccoli affetti da HoFH, pertanto è estremamente importante diagnosticare la HoFH quanto più precocemente possibile (3). Lo studio di fase 3, in aperto, ha trattato con Evinacumab per via endovenosa alla dose di 15 mg/kg ogni 4 settimane, 14 pazienti di età compresa tra 5 e 11 anni con HoFH geneticamente definita (omozigoti veri ed eterozigoti composti) con C-LDL >130 mg/dL, nonostante la terapia ipolipemizzante ottimizzata (inclusa LDL-aferesi e lomitapide) (4). Il trattamento con evinacumab ha ridotto rapidamente ed in modo duraturo (fino alla settimana 24) il C-LDL con un'importante riduzione nella prima settimana [riduzione media (SE) del C-LDL di -48,3% (10,4%)] dal basale alla settimana 24. L'apolipoproteina B (ApoB)

(media [SE], -41,3% [9,0%]), il colesterolo legato alle lipoproteine non ad alta densità (-48,9% [9,8%]) e il colesterolo totale (-49,1% [8,1%]) erano diminuiti in modo simile. Eventi avversi emergenti dal trattamento sono stati segnalati in 10 pazienti (71,4%); tuttavia, solo 2 (14,3%) hanno riportato eventi simili che sono stati considerati correlati al trattamento (nausea e dolore addominale). Un evento avverso grave in corso di terapia con Evinacumab è stata una tonsillite (n=1), ma ciò non è stato considerato correlato al trattamento. Alla luce di questi dati, Evinacumab costituisce un nuovo trattamento per i pazienti pediatriche affetti da HoFH e C-LDL non adeguatamente controllato nonostante la terapia ipolipemizzante ottimizzata e i livelli di C-LDL si sono ridotti di circa la metà in questi pazienti estremamente ad alto rischio e difficili da trattare (4).

Una recente analisi ad hoc ha valutato i dati aggregati di sicurezza ed efficacia di 3 studi condotti su pazienti pediatriche con HoFH trattati con Evolocumab, l'anticorpo monoclonale anti-PCSK9 (proproteina convertasi subtilisina/kexina tipo 9) (5).

Recentissima novità i dati dello studio APH-19, un trial in aperto che ha valutato l'efficacia e la sicurezza di lomitapide in pazienti pediatriche affetti da HoFH. La lomitapide ha determinato una significativa riduzione dei livelli plasmatici di LDL-C (-53.5% rispetto al basale dopo 24 settimane di trattamento), dimostrandosi un'opzione efficace in questo setting di pazienti (6).

I pazienti HoFH di età compresa tra 10 e 17 anni hanno ricevuto un trattamento con evolocumab 420 mg in aperto per via sottocutanea a cadenza mensile o bisettimanale negli studi clinici TAUSSIG, RAMAN o HAUSER-OLE. Tutti i pazienti hanno ricevuto terapia ipolipemizzante standard con statine associate o meno ad ezetimibe. La durata dello studio variava da 12 a 260 settimane. L'endpoint primario era la comparsa di eventi avversi per 100 pazienti-anno in corso di terapia con Evolocumab. Gli endpoint di efficacia erano, invece, la variazione di C-LDL e di PCSK9 dal basale alla settimana 12 (5).

Dall'analisi aggregata, è emerso che dei 39 pazienti HoFH, il 69,2% erano maschi, l'età media era di 13,0 anni e il 79,5% (31/39) presentava varianti patogene *LDLR*. Nel complesso, l'esposizione mediana a Evolocumab è stata di 18,2 (Q1, Q3: 3,0, 18,5) mesi. Gli eventi avversi aggiustati per esposizione al trattamento (con un tasso di incidenza pari a  $\geq 5\%$ ) sono stati quelli a carico delle vie respiratorie superiori (6,6%), influenza (5,2%) e acne (5,0%) per 100 pazienti-anno. L'incidenza di eventi avversi gravi, aggiustata per esposizione dei pazienti al trattamento, è stata del 13,3% per 100 pazienti-anno. Esclusi 4 pazienti trattati con LDL-afèresi, la variazione percentuale mediana del C-LDL alla settimana 12 rispetto al basale è stata del -2,9% (Q1, Q3: -21,7, 1,5); tuttavia, il 42,9% (15/35) dei pazienti ha raggiunto una riduzione  $\geq 15\%$  del C-LDL rispetto al basale. L'attività residua del recettore LDL non era associata ad una riduzione del C-LDL. In questa analisi, pertanto, evolocumab è stato ben tollerato e sicuro. Questi risultati sulla sicurezza sono coerenti con i risultati di studi precedenti su evolocumab e i pazienti hanno mostrato una variabilità interindividuale nella riduzione del C-LDL. I risultati di questa analisi congiunta supportano le linee guida che suggeriscono l'utilizzo della terapia con inibitori di PCSK9 indipendentemente dalla funzione stimata residua di *LDLR* (5).

Per concludere, ad oggi, esistono nuove opportunità terapeutiche promettenti in termini di efficacia e sicurezza nel trattamento della HoFH, pertanto la diagnosi ed il trattamento precoci di questa patologia possono modi-

ficarne la sua stessa storia naturale migliorandone sopravvivenza e qualità di vita dei pazienti affetti.

## ■ BIBLIOGRAFIA

1. Mulder JWCM, Tromp TR, Al-Khnifisawi M, et al. Sex Differences in Diagnosis, Treatment, and Cardiovascular Outcomes in Homozygous Familial Hypercholesterolemia. *JAMA Cardiol.* 2024; 9 (4): 313-322. doi: 10.1001/jamacardio.2023.5597
2. Alonso R, Arroyo-Olivares R, Díaz-Díaz JL, et al. Improved lipid-lowering treatment and reduction in cardiovascular disease burden in homozygous familial hypercholesterolemia: The SAFEHEART follow-up study. *Atherosclerosis.* 2024; 393: 117516. <https://doi.org/10.1016/j.atherosclerosis.2024.117516>
3. Harada-Shiba M. How can we improve the prognosis of patients with homozygous familial hypercholesterolemia? *Atherosclerosis.* 2024; 393: 117551. doi: 10.1016/j.atherosclerosis.2024.117551. Epub 2024 Apr 16.
4. Wiegman A, Greber-Platzer S, Ali S, et al. Evincumab for Pediatric Patients With Homozygous Familial Hypercholesterolemia. *Circulation* 2024; 149; 5: 343-353.
5. Raal FJ, Hegele RA, Ruzza A, et al. Evolocumab Treatment in Pediatric Patients With Homozygous Familial Hypercholesterolemia: Pooled Data From Three Open-Label Studies. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2024; 44 (5): 1156-1164. doi: 10.1161/ATVBAHA.123.320268. Epub 2024 Mar 28.
6. Masana L, Zambon A, Schmitt CP, et al. Lomitapide for the treatment of pediatric patients with homozygous familial hypercholesterolemia (APH-19): results from the efficacy phase of an open-label, multicentre, phase 3 study. *Lancet Diabetes Endocrinol.* 2024; 16: S2213-8587 (24) 00233-X. doi: 10.1016/S2213-8587(24)00233-X.





EDIZIONI INTERNAZIONALI srl

**EDMES**

**Edizioni Medico Scientifiche - Pavia**