



PREVENIR LA MALALTIA CORONÀRIA PREMATURA A CATALUNYA MITJANÇANT L'AMPLIACIÓ DEL DIAGNÒSTIC D'HIPERCOLESTEROLÈMIA FAMILIAR

Lluís Masana Marín

Institut d'Investigació Sanitària Pere Virgili Reus – Hospital Universitari Sant Joan de Reus

Francisco Blanco Vaca

Institut de Recerca Hospital de la Santa Creu i Sant Pau

1. Resum

La hipercolesterolèmia familiar (HF) és la primera causa monogènica de la malaltia cardíaca coronària prematura (CHD). El diagnòstic d'HF és important, perquè el tractament redueix enormement la morbiditat cardiovascular i la mortalitat d'una manera rendible. La Societat Europea de Cardiologia va assenyalar que l'HF és poc diagnosticada i està infratractada a tot Europa. Segons el Servei Català de la Salut (SCS), només el 23% dels casos d'HF previstos a Catalunya (15.000) han estat diagnosticats clínicament, però només en un 7% dels casos s'han fet proves genètiques. A més, el diagnòstic genètic en cascada directa a partir de casos d'índex positius és insuficient. D'altra banda, la cascada inversa és important, ja que l'estudi dels nens hipercolesterolèmics també pot conduir a augmentar la detecció d'HF. Almenys un 30% dels casos amb diagnòstic clínic de certesa d'HF no tenen mutacions identificables en els gens principals de l'HF, cosa que suggereix que alguns poden tenir HF poligènica.

Objectius

1. Augmentar la detecció de pacients amb HF mitjançant la millora de la conscienciació sobre l'HF entre els metges que tracten els pacients amb CHD.
2. Implementar un protocol en cascada directa i inversa orientat a la identificació precoç de l'HF.
3. Comparar la taxa de detecció d'HF resultant dels objectius 1 i 2 amb la situació actual.
4. Establir un programa global de detecció d'HF a Catalunya segons els resultats i l'experiència obtinguda dels objectius previs, mitjançant la implicació a la xarxa de lípids de Catalunya, el desenvolupament d'una xarxa específica d'HF i el consell genètic per millorar la informació als pacients, les famílies i els treballadors sanitaris.
5. Definir de manera exhaustiva les característiques clíniques (perfil lipídic per ressonància magnètica i l'arterioesclerosi subclínica) d'aquests pacients en el moment del diagnòstic.

6. Provar el nou diagnòstic d'HF poligènica després del genotipatge dels principals SNPs que influeixen en el colesterol LDL.

7. Estudiar si els pacients amb hiperlipidèmia familiar combinada tenen una proporció significativa de mutacions pròpies de l'HF.

2. Resultats

Augment de la consciència de l'HF

S'han establert un conjunt de protocols (lipidòlegs, cardiólegs, metges de família i pediatres) per detectar l'HF entre els pacients que pateixen CHD precoç, i entre els adults o nens amb nivells alts de colesterol, mitjançant la implementació de la utilització de procediments diagnòstics d'HF.

Cribratge en cascada directa

Al nostre centre, s'han fet estudis familiars de detecció en cascada directa (familiars de primer grau) de pacients amb HF diagnosticats genèticament, amb especial atenció als infants.

Encara que el disseny original es va centrar en el cribratge de familiars d'HF, hem inclòs 100 diagnòstics genètics addicionals de casos d'índex putatius de la xarxa catalana de clíniques lipídiques. S'han estudiat un total de 769 familiars d'HF. D'aquests, prop de 464 (60%) són positius i augmenta el rendiment del cribratge genètic.

En el nostre hospital, hem estudiat 94 fills de 61 adults amb diagnòstic definit d'HF, ja sigui per genètica o clínicament si els pares tenien una prova genètica negativa. Fins ara, hem identificat 68 casos nous en nens. A causa de l'alt rendiment del mètode, vam decidir establir el protocol en la nostra pràctica clínica.

Cribratge en cascada inversa

Al nostre hospital s'han organitzat els estudis de pares de nens candidats incloent proves genètiques. Es van aplicar els mateixos protocols de cascada directa en les famílies amb HF confirmades.

Al projecte van participar 59 pediatres (responsables de 63.616 nens). Després d'haver fet 3.540 perfils de lípids complets, es van enviar 122 nens a la nostra unitat de lípids. S'han detectat 98 nens amb HF i 41 adults amb HF (32 nens i 35 familiars per cascada inversa). A causa de l'alt rendiment del mètode, hem establert el protocol en la nostra pràctica clínica.

Augmentar el nombre d'adults i nens amb HF diagnosticats

En el projecte han participat 14 unitats de la Xarxa d'Unitats de Lípids i Arterioesclerosi (XULA) a Catalunya. El nombre de nous casos enviats a proves genètiques i registrats en el registre d'HF de l'SCS s'ha multiplicat per 1,5.

Del 2015 al 2019, s'han registrat al registre oficial d'HF de l'SCS 155 pacients nous d'HF diagnosticats a la nostra unitat.

Del 2016 al 2019, 1.368 nous pacients han estat inclosos en el registre de l'SCS, 816 dels quals amb proves genètiques positives. A causa que, d'aquests, 298 estan en procés de registre, la xifra final de pacients registrats ha de ser de prop de 1.666 nous registres. En comparació amb el període 2012-2015 (1.173 nous diagnòstics i registres) la taxa de diagnòstic i registre ha augmentat en un 42%. El percentatge de nens diagnosticats continua sent baix (5,7%). El diagnòstic es retarda en les dones respecte als homes.

Establiment d'un programa

S'han coordinat les unitats de lípids de la XULA per configurar els mateixos protocols amb la coordinació de l'SCS.

Com s'ha esmentat en el punt anterior, tot i que al projecte es van unir 27 unitats, finalment 14 unitats han implementat, almenys en part, el programa de detecció, principalment en la part de cribratge en cascada directa.

Fenotipatge extensiu d'HF

S'ha fet el perfil lipídic per RNM en pacients amb HF i estudis d'IMT i rigidesa arterial en pacients adults i nens del nostre centre. S'han fet estudis d'RMN de lipoproteïnes plasmàtiques i nous biomarcadors plasmàtics (IDOL, PCSK9, LDLR) en 186 nens. Les dades s'han inclòs en dos manuscrits ja publicats.

S'ha fet una anàlisi completa de les dades d'RMN de pacients adults amb HF, inclòs el nombre i la mida de la lipoproteïna i les glicoproteïnes, en 320 pacients adults amb HF; aquesta anàlisi es va acabar el desembre del 2019. El període d'anàlisis bioquímiques s'ha acabat i els estudis estadístics estan en marxa.

Implementació del programa de canvi d'estil de vida

S'ha preparat un programa específic i els materials didàctics ja estan disponibles. S'ha fet un programa de tallers. Es van dur a terme un total de tres tallers educatius sobre educació en l'estil de vida: un per a nens d'entre 5 i 7 anys, i dos per a nens de 5 a 12 anys. Cada taller es va organitzar en sis sessions basades en el joc i el mètode d'aprenentatge centrat en l'educació d'estil de vida saludable. S'ha publicat un document amb dades preliminars.

S'està fent una comparació internacional amb l'objectiu d'avaluar l'impacte de la dieta mediterrània enfront de la dieta nòrdica. Per obtenir aquesta informació, un membre del nostre grup va passar tres mesos a la Universitat d'Oslo comparant dades.

Desenvolupament d'un web sobre hipercolesterolèmia familiar.

En 2019 hem comptat 1.171 visites al web creat, que ha estat visitat 3.601 vegades durant la durada del projecte. Diversos pacients ens han fet preguntes sobre hiperlipidèmies, que van ser respostes ràpidament. Un total de 12 familiars de pacients amb hipercolesterolèmia familiar s'han posat en contacte amb nosaltres a través d'aquest lloc web i han estat estudiats genèticament a l'Hospital de Sant Pau. Es tracta de casos en què, per diferents raons, era difícil o impossible obtenir la mostra biològica al seu centre de salut habitual.

Assessorament genètic

La demanda ha estat inferior a l'esperada, atès que els metges dels diferents centres de la XULA l'han dut a terme. Es van remetre directament a Sant Pau mostres biològiques (saliva, per a més comoditat) de 12 familiars corresponents a 5 famílies (a part del procediment sanitari habitual).

Anteriorment, se'ls explicaven els consentiments informats necessaris i com s'enviarien els resultats xifrats que havien de proporcionar al seu metge de família, pediatre o especialista en dislipidèmia a la seva àrea geogràfica.

Seqüenciació del gen RLDL en 50 famílies amb hiperlipidèmia familiar combinada

Només 1 pacient dels estudiats amb hiperlipidèmia familiar combinada té una mutació en el gen RLDL. Aquestes dades són coherents amb dades anteriors que indiquen que les mutacions en el gen RLDL no són una causa freqüent d'hipercolesterolèmia en pacients amb hiperlipidèmia combinada familiar.

Col·lecció de mostres i estudi genètic de mutacions de familiars de primer grau

En l'últim any es van recollir un total de 227 mostres de sang o saliva (230 el 2018) per fer estudis genètics de familiars de casos indexats amb hipercolesterolèmia familiar i una mutació identificada en un dels gens següents: RLDL, ApoB i PCSK9 (cascada directa i inversa). Per tant, fins ara s'han processat un total de 769 mostres de familiars. Aquests resultats parcials signifiquen que es multiplica per 2,4 el nombre d'estudis familiars que es feien anualment abans del projecte de La Marató (generalment uns 80 a l'any des de centres de la XULA). Per tant, hem aconseguit estudiar-ne al voltant d'un terç més dels 600 dirigits com a objectiu en el projecte. Un total de 14 centres hospitalaris de la XULA han enviat mostres i informació clínica d'aquests familiars que ens permeten dur a terme aquest estudi genètic.

3. Rellevància i possibles implicacions futures

Aquest projecte és un clar exemple de recerca translacional: el nostre projecte es va dissenyar per avaluar l'impacte de la implementació de protocols de detecció en la identificació d'adults i nens amb HF. Una detecció precoç ha de resultar en una teràpia també precoç i en la reducció del risc cardiovascular. Aquestes accions no poden aïllar-se ni limitar-se a un sol centre, sinó que han de ser implementades pels sistemes de salut a través de programes específics.

El nostre projecte proporciona evidència científica suficient per canviar la pràctica clínica que condueix a millorar la detecció de l'HF, així com la seva teràpia i pronòstic. En el nostre projecte hem abordat les etapes següents:

1. Implementació de protocols de detecció d'HF adaptats a diferents especialitats.
2. Programes de coordinació interna entre diferents serveis hospitalaris i unitats de lípids.
3. Coordinació entre diferents nivells d'atenció de la salut: atenció primària i unitats de lípids.
4. Coordinació entre unitats de lípids de la Xarxa Catalana d'Unitats de Lípids (XULA).
5. Implementació del cribratge directe a partir de casos índex d'adults.
6. Implementació del cribratge invers a partir de nens amb sospita d'HF.
7. Implementació de noves tècniques basades en l'RMN per obtenir un coneixement més complet de la situació clínica.
8. Implementació de programes d'estil de vida, particularment en edats primerenques (nens), per mitigar els efectes de la malaltia en la infància i en el futur.
9. Implementació d'un web dedicat al tema

Com a resultat del projecte s'han implementat els canvis següents en l'atenció mèdica:

1. S'han escrit diferents protocols consensuats per millorar la detecció d'HF: cardiologia, neurologia, medicina d'atenció primària i pediatria d'atenció primària. Aquests protocols estan actius, tot i que se segueixen amb diferent intensitat. La coordinació entre les unitats de lípids de l'hospital i l'atenció primària i els pediatres està activa. Aquests protocols s'implementen i s'han estabilitzat més enllà de la durada d'aquest projecte.
2. Fins a 22 unitats de la XULA estaven disposades a col·laborar en el programa de La Marató de TV3. Finalment, 8 unitats es van implicar activament en el projecte. L'algoritme dirigit a les indicacions d'anàlisi genètiques i el processament de mostres s'han implementat de manera coordinada. Es mantindrà aquesta xarxa de col·laboració.
3. S'han implementat protocols i algoritmes per activar la recerca de familiars de primer i segon grau d'FH (cribratge en cascada directa) que seguiran sent un estàndard d'atenció en aquesta població.
4. S'han implementat protocols i algoritmes per activar la detecció d'HF en nens en l'àrea de la nostra pròpia unitat. Aquesta coordinació es mantindrà més enllà de la

durada d'aquest projecte, com a estàndard per a la detecció precoç d'HF.

5. S'ha mostrat que és possible augmentar a Catalunya gairebé 2,5 vegades la taxa d'anàlisi de familiars de pacients amb hipercolesterolèmia familiar i una mutació identificada, mitjançant l'estudi genètic per cascada familiar directa. Això implica la possibilitat d'incrementar la taxa de diagnòstic d'una manera molt rendible.

6. En el context d'aquest projecte s'ha desenvolupat un conjunt complet de protocols i tècniques, incloses sessions grupals, per implementar una dieta adequada i precoç i un estil de vida saludable en general. Aquesta informació s'ha posat a disposició dels grups que s'ocupen d'aquesta malaltia a través de xarxes nacionals i internacionals.

Sens dubte els resultats del nostre projecte han canviat els estàndards clínics per detectar i tractar els pacients amb HF, i ha modificat també la implementació de canvis en l'estil de vida i ha abordat la situació de risc d'aquests pacients des d'etapes precoces. Aquest projecte augmentarà el rendiment de la detecció de l'HF a Catalunya i el situarà al nivell dels principals països europeus en aquest camp.

Més enllà dels aspectes translacionals, hem contribuït a establir noves evidències científiques:

1. La hipercolesterolèmia familiar és més freqüent del que s'esperava. En el cas de la forma homozigòtica, amb les dades existents és almenys dues vegades més freqüent del que s'esperava (1/450.000 persones).

2. En la hipocolesterolèmia familiar, com en la hipercolesterolèmia familiar, sembla que hi ha formes d'herència poligènica i no només monogènica.

3. Hi ha una alteració en la funcionalitat de l'HDL en pacients amb hipercolesterolèmia familiar heterozigota, específicament en el transport invers de colesterol.

4. LDL també participen en el transport invers de colesterol, ja que reben colesterol d'HDL *in vivo*, i en canalitzen el lliurament al fetge a través del receptor LDL. Aquesta via podria modificar-se en pacients amb hipercolesterolèmia familiar i mutació genètica RLDL, almenys en formes homozigotes.

5. Les tècniques d'RMN milloraran l'avaluació clínica dels trastorns lipídics. En aquest projecte hem utilitzat aquestes proves per analitzar pacients amb HF i avaluar el seu impacte en el risc cardiovascular. El perfil lipídic avaluat per RMN ha estat realitzat per la prova Liposcale (patentada pel nostre grup, entre d'altres) i realitzada per una *spin-off* de la Universitat Rovira i Virgili (Biosfer Teslab). Aquest projecte ajudarà a establir la indicació d'aquesta nova manera d'estudiar els desordres lipídics. També s'han provat nous biomarcadors clínics.

4. Bibliografia científica generada

Rodríguez-Borjabad C, Malo AI, Ibarretxe D, Girona J, Heras M, Ferré R, Feliu A, Salvadó M, Varela A, Amigó N, Masana L, Plana N, en representació de DECOPIN Group.

Efficacy of therapeutic lifestyle changes on lipid profiles assessed by NMR in children with familial hypercholesterolemia.

Clin Invest Arterioscl. 2019; en premsa.

Ibarretxe D, Rodríguez-Borjabad C, Feliu A, Bilbao JA, Masana L, Plana N.

Detecting familial hypercholesterolemia earlier in life by actively searching for affected children: The DECOPIN project.

Atherosclerosis. 2018; 278: 210-216.

Martín-Campos JM, Plana N, Figueras R, Ibarretxe D, Caixàs A, Esteve E, Pérez A, Bueno M, Mauri M, Roig R, Martínez S, Pintó X, Masana L, Julvé J, Blanco-Vaca F; Xarxa d'Unitats de Lípids i Arterioesclerosis (XULA).

Autosomal dominant hypercholesterolemia in Catalonia: Correspondence between clinical-biochemical and genetic diagnostics in 967 patients studied in a multicenter clinical setting.

J Clin Lipidol. 2018; 12: 1452-1462.

Plana N, Rodríguez-Borjabad C, Ibarretxe D, Ferré R, Feliu A, Caselles A, Masana L; en representació del projecte DECOPIN.

Lipid and lipoprotein parameters for detection of familial hypercholesterolemia in childhood. The DECOPIN Project.

Clin Investig Arterioscler. 2018; 30: 170-178.

Rodríguez-Borjabad C, Ibarretxe D, Girona J, Ferré R, Feliu A, Amigó N, Guijarro E, Masana L, Plana N; DECOPIN Group.

Lipoprotein profile assessed by 2D-1H-NMR and subclinical atherosclerosis in children with familial hypercholesterolaemia.

Atherosclerosis. 2018; 270:117-122.

Girona J, Rodríguez-Borjabad C, Ibarretxe D, Heras M, Amigó N, Feliu A, Masana L, Plana N, en representació del DECOPIN Group.

Plasma inducible degrader of the LDLR, soluble low-density lipoprotein convertase subtilisin/kexin type 9 levels as potencial biomarkers of familial hypercholesterolemia in children.

J Clin Lipidol. 2018; 12: 211-218.

Plana N, Rodríguez-Borjabad C, Ibarretxe D, Masana L.

Familial hypercholesterolemia in childhood and adolescents: A hidden reality.

Clin Investig. Arterioscler. 2017; 29: 129-140.

Rodríguez-Borjabad C, Narveud I, Christensen JJ, Ulven SM, Malo AI, Ibarretxe D, Girona J, Torvik K, Bogsrud MP^e, Retterstøl K, Plana N, Masana L, Holven KB.

Comparison of Mediterranean and Nordic diet on lipid profile of FH children.

Atherosclerosis 2020. (Enviat.)

Sánchez-Hernández RM, Civeira F, Stef M, Perez-Calahorra S, Almagro F, Plana N, Novoa FJ, Sáenz-Aranzúbia P, Mosquera D; Soler C, Fuentes FJ, Brito-Casillas Y, Real JT, Blanco-Vaca F, Ascaso JF, Pocovi M.

Homozygous Familial Hypercholesterolemia in Spain: Prevalence and Phenotype-Genotype Relationship.

Circulation Cardiovascular Genetics, 2106; 9: 504-510.

Cedó L, Blanco-Vaca F, Escolà-Gil JC.

Antiatherogenic potential of ezetimibe in sitosterolemia: Beyond plant sterols lowering (editorial). Atherosclerosis, 2017; 260: 94-96.

Cedó L, Santos D, Silvennoinen R, Kaipiainen L, Valledor AF, Kovanen PT, Lee-Rueckert M, Gylling H, Blanco-Vaca F*, Escolà-Gil JC*.

Phytosterol-mediated inhibition of intestinal cholesterol absorption is independent of liver X receptor.

Molecular Nutrition & Food Research, 2017 Sep; 61(9).

Cedó L, Plana N, Matso J, Sánchez-Quesada JL, PT Kovanen, L Masana, JC Escolà-Gil, F Blanco-Vaca.

Altered HDL Remodeling and Functionality in Familial Hypercholesterolemia.

Journal of American College of Cardiology, 2018; 71: 466-468.

Martín-Campos JM, Plana N, Figueras R, Ibarretxe D, Caixàs A, Esteve E, Pérez A, Bueno M, Mauri M, Roig R, Martínez S, Pintó X, Masana L, Julve J, Blanco-Vaca F; Xarxa d'Unitats de Lípids i Arteriosclerosi (XULA).

Autosomal dominant hypercholesterolemia in Catalonia: Correspondence between clinical-biochemical and genetic diagnostics in 967 patients studied in a multicenter clinical setting.

J Clin Lipidol. 2018; 12: 1452-1462.

Blanco-Vaca F, Martín-Campos JM, Pérez A, Fuentes-Prior P.

rare STAP1 mutation incompletely associated with familial hypercholesterolemia.

Clin Chim Acta. 2018; 487: 270-274.

Blanco-Vaca F, Martín-Campos JM, Beteta-Vicente Á, Canyelles M, Martínez S, Roig R, Farré N, Julve J, Tondo M.

Molecular analysis of APOB, SAR1B, ANGPTL3, and MTTP in patients with primary hypocholesterolemia in a clinical laboratory setting: Evidence supporting polygenicity in mutation-negative patients.

Atherosclerosis. 2019; 283:52-60.

Diarte-Añazco EMG, Méndez-Lara K, Pérez A, Alonso N, Blanco-Vaca F, Julve J.

Novel insights into the role of HDL-associated sphingosine-1-phosphate in cardiometabolic diseases.

Int J Mol Sci. 2019 Dec 12; 20(24).

Cedó L, Metso J, Santos D, García-León A, Plana N, Sabate-Soler S, Rotllan N, Rivas-Urbina A, Méndez-Lara K, Tondo M, Heras M, Julve J, Pallarès V, Ruotsalainen A-K, Levonen A-L7, Sanchez-Quesada JL, Masana L, Kovanen PT, Jauhiainen M, Lee-Rueckert M, Blanco-Vaca F, Escolà-Gil JC.

LDL receptor regulates the reverse transport of macrophage-derived unesterified cholesterol via concerted action of the HDL-LDL axis. Insight from mouse models. Circulation Research 2020 (en revisió).

Manuscripts in preparació

Plana N, Rodríguez-Borjabad C, Ibarretxe D, Masana L.

Increasing FH detection by active global screening protocols.

En preparació. Inclourà l'impacte de la implementació del protocol en la detecció de casos d'HF.

Plana N, Girona J, Rodríguez-Borjabad C, Ibarretxe D, Amigó N, Feliu A, Masana L.

NMR assessed lipid profile in FH patient according genetic condition.

Inclourà dades de fenotipatge complet dels pacients amb HF estudiats.

Malo A, Girona J, Rodríguez-Borjabad C, Ibarretxe D, Amigó N, Feliu A, Masana L, Plana N.

NMR assessed glycoprotein profile in FH patients and its impact on subclinical atherosclerosis. It will include data on the association between glycoproteins and carotid sonography data.

Inclourà una comparació de dades de les dietes mediterrània i noruega en nens amb HF.