



Hipercolesterolemia familiar homocigótica em Portugal: caracterização de casos diagnosticados geneticamente no âmbito do Estudo Português de Hipercolesterolemia Familiar, 1999-2023

Familial hypercholesterolemia in Portugal: characterization of genetic diagnosed cases in the Portuguese Study of Familial Hypercholesterolemia, 1999-2023

Ana Margarida Medeiros^{1,2}, Ana Catarina Alves^{1,2}, Beatriz Miranda^{1,2}, Joana Rita Chora^{1,2}, Patrício Aguiar³, Mário Amaro⁴, Margarida Bruges⁵, Sofia Ferreira⁶, António Furtado⁷, Ana Gaspar⁸, Filipa Sousa Gonçalves³, Goreti Lobarinhas⁹, Guilherme Lourenço¹⁰, Paula Martins¹¹, Sofia Moura Antunes¹², Isabel Palma¹³, Quitéria Rato¹⁴, Diogo Torres¹⁵, Miguel Toscano Rico¹⁶, André Travessa¹⁷, Mafalda Bourbon^{1,2}

mafalda.bourbon@insa.min-saude.pt

(1) Grupo de Investigação Cardiovascular. Unidade de Investigação e Desenvolvimento. Departamento de Promoção da Saúde e Prevenção de Doenças não Transmissíveis, Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge, Lisboa, Portugal; (2) Biosystems & Integrative Sciences Institute. Faculdade de Ciências, Universidade de Lisboa, Lisboa, Portugal; (3) Centro de Referência das Doenças Hereditárias do Metabolismo, Serviço de Medicina Interna, Unidade Local de Saúde de Santa Maria, Lisboa, Portugal; (4) Serviço de Medicina Interna, Unidade de Saúde Local de Almada/Seixal, Seixal, Portugal; (5) Serviço de Nefrologia, Unidade Local de Saúde Lisboa Ocidental, Lisboa, Portugal; (6) Serviço de Pediatria, Unidade Local de Saúde da Cova da Beira, Covilhã, Portugal; (7) Serviço de Medicina Interna, Unidade Local de Saúde Matosinhos. Matosinhos, Portugal; (8) Serviço de Pediatria, Unidade Local de Saúde de Santa Maria, Lisboa, Portugal; (9) Serviço de Pediatria, Unidade Local de Saúde de Barcelos/Esposende, Barcelos, Portugal; (10) Serviço de Cardiologia Pediátrica, Unidade Local de Saúde de São José, Lisboa, Portugal; (11) Serviço de Cardiologia Pediátrica, Unidade Local de Saúde de Coimbra, Coimbra, Portugal; (12) Serviço de Pediatria, Hospital de Cascais, Cascais, Portugal; (13) Serviço de Endocrinologia, Unidade Local de Saúde de Santo António, Porto, Portugal; (14) Serviço de Cardiologia, Unidade Local de Saúde da Arrábida, Setúbal, Portugal; (15) Serviço de Cardiologia, Hospital Lusíadas Amadora, Amadora, Portugal; (16) Serviço de Medicina Interna, Unidade Local de Saúde de São José, Lisboa, Portugal; (17) Serviço de Genética Médica, Unidade Local de Saúde de Santa Maria, Lisboa, Portugal.

_Resumo

A Hipercolesterolemia Familiar (FH) é uma condição autossómica semidominante causada por variantes patogénicas ou provavelmente patogénicas nos genes *LDLR*, *APOB* e *PCSK9*. A FH pode apresentar-se na forma monoalélica (FH heterocigótica) ou bialélica (FH homocigótica). A forma homocigótica é mais rara e com fenótipo mais grave. Indivíduos com FH homocigótica geralmente apresentam hipercolesterolemia severa ($LDL > 400 \text{ mg/dL}$), xantomas e doença cardiovascular aterosclerótica (DCVA) prematura em idade jovem.

Até 2023, foram referenciados ao Estudo Português de Hipercolesterolemia Familiar 1291 casos-index. Neste estudo foram analisados os casos com FH homocigótica.

Foram identificados 15 casos com FH homocigótica: 5 com a mesma variante bialélica no *LDLR*, 7 com variantes bialélicas diferentes no *LDLR*, 1 com variantes bialélicas diferentes no *PCSK9*, e 2 com variantes nos genes *LDLR* e *APOB*. A maioria dos indivíduos eram adultos (73%) e do sexo feminino (87%), 13% apresentando xantomas tendinosos e 36% com DCVA. Variantes de alelo nulo estão associadas a um fenótipo mais grave e a uma menor resposta ao tratamento, sendo necessária terapêutica independente da atividade do receptor de LDL.

O diagnóstico genético permite identificar com precisão as variantes e os tipos de alelos, e implementar uma abordagem terapêutica mais personalizada nestes indivíduos.

_Abstract

Familial Hypercholesterolemia (FH) is an autosomal semidominant condition caused by pathogenic or likely pathogenic variants in the LDLR, APOB, and PCSK9 genes. FH can manifest in a monoallelic form (heterozygous FH) or a biallelic form (homozygous FH). The homozygous form, which is

rarer and has a more severe phenotype, with severe hypercholesterolemia ($LDL > 400 \text{ mg/dL}$), xanthomas, and premature atherosclerotic cardiovascular disease (ASCVD) at a young age.

This study aims to analyse cases of homozygous FH. Until 2023, 1291 index cases were referred to the Portuguese Familial Hypercholesterolemia Study. Among these, 15 cases were identified with homozygous FH: 5 with the same biallelic variant in LDLR, 7 with different biallelic variants in LDLR, 1 with different biallelic variants in PCSK9, and 2 with variants in both LDLR and APOB. Most individuals are adults (73%) and females (87%), with 13% presenting tendon xanthomas and 36% with ASCVD. Null allele variants were associated with a more severe phenotype and less responsive to treatments, requiring therapies with a mechanism of action independent of LDL receptor activity.

Genetic diagnosis enables precise identification of variants and allele types, allowing personalized therapeutic approaches for these individuals.

_Introdução

A Hipercolesterolemia Familiar (FH) é uma condição genética do metabolismo lipídico, caracterizada clinicamente por níveis elevados de colesterol das lipoproteínas de baixa densidade (C-LDL), levando a um risco aumentado de doença cardiovascular aterosclerótica (DCVA), e a uma maior morbilidade e mortalidade (1,2).

A FH é uma condição autossómica semidominante que se manifesta de forma monoalélica, designada por FH heterozigótica, ou bialélica, denominada FH homozigótica, consoante a presença de um ou dois alelos com variantes patogénicas ou provavelmente patogénicas (3-6). As variantes ocorrem em três genes primários, estando presentes em maior frequência no gene *LDLR* (>90%), e em menor frequência nos genes *APOB* (5-10%) e *PCSK9* (<1%) (1,7,8).

O padrão de hereditariedade da FH é considerado semidominante, uma vez que ambos os alelos afetados contribuem para o fenótipo, aumentando de forma aditiva o nível de C-LDL. O fenótipo observado em indivíduos homozigóticos é manifestamente mais grave do que nos indivíduos heterozigóticos, incluindo valores extremamente elevados de C-LDL (> 400 mg/dL não tratados), xantomas tendinosos ou cutâneos e presença de DCVA prematura em idade jovem (3,9).

As variantes identificadas nos indivíduos com FH podem ser classificadas em dois tipos, com base na atividade do recetor de LDL: alelo nulo ou alelo defeituoso. As variantes de alelo nulo correspondem a uma perda total de função (<10% de atividade), enquanto as variantes de alelo defeituoso implicam uma perda parcial de função (10-70% de atividade) (3,10). A determinação da atividade do recetor é realizada através de ensaios funcionais específicos que avaliam o ciclo do recetor das LDL, na forma da sua expressão, e ligação e internalização das partículas de LDL (5,11).

A FH homozigótica pode apresentar-se em três combinações possíveis de alelos: defeituoso/defeituoso, defeituoso/nulo ou nulo/nulo. Os tipos de variantes estão associados a diferentes graus de hipercolesterolemia, com as variantes de alelo nulo a resultarem em fenótipos mais graves, enquanto as variantes de alelo defeituoso estão geralmente associadas a um fenótipo mais moderado, sendo por esta razão essencial a identificação dos alelos nos indivíduos com FH homozigótica (6,12).

Ao contrário da forma heterozigótica, que é muito comum (1 em 300), a forma homozigótica é mais rara (1 em 400.000) (13,14). A identificação destes indivíduos nos primeiros anos de vida é muito importante, pois permite a implementação de medidas terapêuticas desde cedo, de modo a travar a

progressão da aterosclerose e reduzindo, assim, o risco de doença cardiovascular aterosclerótica (3,6,15,16). A esperança e qualidade de vida de pessoas com FH homozigótica melhorou significativamente nos últimos 30 anos (9), devido ao desenvolvimento de diversos fármacos que atuam na via do recetor das LDL (estatinas, inibidores de absorção intestinal e inibidores de PCSK9 (iPCSK9)) que, em conjunto, permitem uma redução de C-LDL de cerca de 60% (3,17). Mais recentemente, foram aprovados novos fármacos específicos para a FH homozigótica, sendo que, em Portugal, está aprovado apenas o inibidor de ANGPTL3 (iANGPTL3), que reduz o LDL por uma via independente do recetor de LDL. Este fármaco é particularmente importante para os homozigotos de alelo nulo/nulo, uma vez que estes não respondem a fármacos dependentes da via do recetor das LDL. A LDL aférese é um tratamento fundamental nos indivíduos com FH homozigótica, utilizado em combinação com outras terapêuticas. Existem, no entanto, limitações relativamente ao seu uso, como a acessibilidade, a invasibilidade e duração do procedimento, que impactam a qualidade de vida das pessoas.

_Objetivo

Neste trabalho, pretende-se analisar os casos identificados geneticamente com FH homozigótica, referenciados ao Estudo Português de Hipercolesterolemia Familiar entre 1999 e 2023.

_Material e métodos

O Estudo Português de Hipercolesterolemia Familiar é um projeto de investigação, coordenado pelo INSA desde 1999, gratuito para os seus participantes e instituições de saúde colaboradoras (18). No momento da referenciação, foi realizado um perfil bioquímico com determinação de colesterol total (CT), C-LDL direto, colesterol HDL (C-HDL) e triglicéridos (TG), por métodos enzimáticos colorimétricos e imunoturbidimétricos.

Desde 2017, o estudo molecular é realizado através de um painel de NGS que inclui 8 genes (*LDLR*, *APOB*, *PCSK9*, *LDLRAP1*, *APOE*, *LIPA*, *ABCG5* e *ABCG8*). Para os casos recebidos entre 1999 e 2016, o estudo molecular incluiu a

análise dos genes *LDLR*, *APOB* (apenas fragmentos de 2 exões) e *PCSK9*, utilizando as metodologias de sequenciação de *Sanger* e de *MLPA* (*Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification*), para a identificação de grandes rearranjos no gene *LDLR* (19). Todas as variantes encontradas por NGS foram validadas por sequenciação de *Sanger*, e o estudo foi alargado aos familiares, sempre que possível, para identificação de familiares em risco. A classificação das variantes foi realizada segundo as *guidelines* do *American College of Medical Genetics and Genomics* (ACMG), utilizando as recomendações do painel de peritos do *Clinical Genome Resource* (ClinGen) *Familial Hypercholesterolemia Variant Curation Expert Panel* (FH VCEP) para o gene *LDLR* (5) e as *guidelines* gerais do ACMG com as respetivas adaptações para os restantes genes (20,21). A atividade da proteína foi determinada através de ensaios funcionais, realizados no nosso grupo de investigação ou por outros laboratórios (11,22-24), permitindo classificar as variantes, com base na atividade do recetor de LDL, em variantes de alelo nulo e variantes de alelo defeituoso.

Em 2024, foram recolhidos dados de seguimento (*follow-up*) para 6 dos indivíduos com FH homozigótica.

_Resultados

Até ao final de 2023, foram referenciados 1291 indivíduos com critérios clínicos de FH (casos-índice), e confirmados geneticamente com FH homozigótica 15 indivíduos. Dois dos casos com FH homozigótica foram identificados através do estudo de familiares (método *cascade screening*).

Na **tabela 1** encontram-se as características demográficas, clínicas e perfil lipídico dos indivíduos com FH homozigótica, assim como as variantes identificadas nos genes primários da FH, o tipo de alelo e as respetivas atividades determinadas através de estudos funcionais.

No total de indivíduos com FH homozigótica, foram identificados 5 casos com a mesma variante bialélica no gene *LDLR* (**tabela 1A**), 7 casos com diferentes variantes bialélicas no gene *LDLR* (**tabela 1B**), 1 caso com diferentes variantes bialélicas no gene *PCSK9* (**tabela 1B**), e 2 casos com variantes bialélicas em genes diferentes (*LDLR* e *APOB*) (**tabela 1C**).

Tabela 1: Características demográficas, clínicas e genéticas dos indivíduos com FH homozigótica do Estudo Português de FH.

Dados demográficos					Dados clínicos		Perfil lipídico (mg/dL)					Variantes identificadas				
Sexo	Idade (ano de referência)	Idade presente (vivo ou morto)	DCVA (idade)	Xantomas tendinosos		CT	C-LDL	C-HDL	TG	Tratamento	Gene	cDNA	Proteína	Classificação da variante	Atividade da proteína*	
F	55 (2000)	78 (?)	Não	Não	Pré	-	-	-	-	-	<i>LDLR</i>	c.[1285G>C]; [1285G>C]	p.[(Val429Leu)]; [(Val429Leu)]	Patogénica	15-30% de atividade	
					Em	299	232	47	99	Estatina						
F**	25 (2006)	42 (vivo)	Não	Não	Pré	596	512	65	96	-	<i>LDLR</i>	c.[1291G>A]; [1291G>A]	p.[(Ala431Thr)]; [(Ala431Thr)]	Patogénica	~20% de atividade	
					Em	370	299	54	84	Estatina + ezetimiba						
F	21 (2009)	35 (?)	Não	Não	Pré	345	210	51	-	-	<i>LDLR</i>	c.[1216C>T]; [c.1216C>T]	p.[(Arg406Trp)]; [(Arg406Trp)]	Patogénica	60-65% de atividade	
					Em	258	186	50	79	Estatina						
F	33 (2022)	35 (vivo)	Angina (15)	?	Pré	544	460	49	175	-	<i>LDLR</i>	c.[1027G>A]; [1027G>A]	p.[(Gly343Ser)]; [(Gly343Ser)]	Patogénica	65-70% de atividade	
					Em	391	326	47	105	Estatina + ezetimiba						
M**	35 (2023)	35 (vivo)	Estenose aórtica (35)	Sim	Pré	-	-	-	-	-	<i>LDLR</i>	c.[661G>T]; [661G>T]	p.[(p.Asp221Tyr)]; [(p.Asp221Tyr)]	Patogénica	<10% de atividade	
					Em	767	702	35	161	Rosuvastatina + ezetimiba + iPCSK9 + LDL aférese						

Idade expressa em anos; F, feminino, M, masculino; ?, desconhecido; DCVA, doença cardiovascular aterosclerótica; EAM, enfarte do miocárdio; CT, colesterol total; C-LDL, colesterol LDL; C-HDL, colesterol HDL; TG, triglicéridos; pré, valores pré-tratamento; em, valores em tratamento; iPCSK9, inibidor de PCSK9; *atividade da proteína LDLR com a variante em comparação com uma proteína de atividade normal (*wild type*); **Casos que correspondem a indivíduos com informação de seguimento (*follow-up*) disponível.

artigos breves_ n. 7

B – Casos com diferentes variantes bialélicas

Dados demográficos			Dados clínicos		Perfil lipídico (mg/dL)					Variantes identificadas					
Sexo	Idade (ano de referência)	Idade presente (vivo ou morto)	DCVA (idade)	Xantomas tendinosos		CT	C-LDL	C-HDL	TG	Tratamento	Gene	cDNA	Proteína	Classificação da variante	Atividade da proteína*
F**	36 (2001)	58 (vivo)	Não	Não	Pré	49	435	42	64	-	LDLR	c.[313+6T>C];	p.[Leu64_Pro105 delinsSer];	VUS	?
					Em	355	280	51	119	Rosuvastatina + ezetimiba		[1291G>A]	[[Ala431Thr]]	Patogénica	~20% de atividade
M	29 (2006)	46 (morto)	EAM (23)	Não	Pré	561	515	-	-	-	LDLR	c.[631C>G];	p.[(His211Asp)];	Patogénica	100% expressão, ~50% ligação e internalização
					Em	346	298	29	84	Estatina + ezetimiba + LDL aferése		[1178delA]	[[Lys393Argfs*20]]	Patogénica	<10% de atividade
F	46 (2011)	58 (?)	Não	Não	Pré	600	-	-	-	-	LDLR	c.[1633G>T];	p.[(Gly545Trp)];	Patogénica	10% de atividade
					Em	185	108	63	36	Estatina + ezetimiba		[1775G>A]	[[Gly592Glu]]	Patogénica	51% expressão, ~40% ligação e internalização
F	61 (2012)	72 (vivo)	Angina (50)	Não	Pré	587	401	69	67	-	LDLR	c.[1061-?_1845+?del];	p.[?];	Patogénica	<10% de atividade
					Em	389	293	65	122	Estatina + ezetimiba + LDL aferése		[1216C>T]	[[Arg406Trp]]	Patogénica	60-65% de atividade
F**	10 (2016)	18 (vivo)	Não	Não	Pré	656	594	45	70	-	LDLR	c.[670G>A];	p.[(Asp224Asn)];	Patogénica	<10% de atividade
					Em	470	397	38	70	Estatina		[1291G>A]	[[Ala431Thr]]	Patogénica	~20% de atividade
F**	15 (2018)	20 (vivo)	Não	Não	Pré	423	317	41	323	-	LDLR	c.[1060+1G>A];	p.[(Gly293_Glu332del)];	Patogénica	?
					Em	470	397	38	70	Atorvastatina		[1585G>C]	[[Ala431Thr]]	VUS	~70% de atividade
F	39 (2021)	42 (?)	EAM (34)	Sim	Pré	-	-	-	-	-	LDLR	c.[1187-34_2140+43del];	p.[(?)];	Provavelmente patogénica	<10% de atividade
					Em	175	122	42	46	Estatina + ezetimiba + iPCSK9		[241C>T]	[[Arg81Cys]]	Provavelmente patogénica	~70% de atividade
F	11 (2011)	23 (vivo)	Não	Não	Pré	316	234	50	58	-	PCSK9	c.[185C>A];	p.[(Ala62Asp)];	Provavelmente patogénica	46% expressão ~35% internalização
					Em	139	88	42	55	Estatina		[1399C>G]	[[Pro467Ala]]	VUS	56% expressão ~35% internalização

F, feminino, M, masculino; ?, desconhecido; DCVA, doença cardiovascular aterosclerótica; EAM, enfarte do miocárdio; CT, colesterol total; C-LDL, colesterol LDL; C-HDL, colesterol HDL; TG, triglicéridos; pré, valores pré-tratamento; em, valores em tratamento; iPCSK9, inibidor de PCSK9; *atividade da proteína LDLR com a variante (expressão, ligação e/ou internalização das partículas de LDL em comparação com uma proteína de atividade normal (*wild type*), nos ensaios que envolvem variantes no gene PCSK9 é quantificada a expressão do LDLR e a internalização das partículas de LDL. **Casos que correspondem a indivíduos com informação de seguimento (*follow-up*) disponível; VUS, variante de significado incerto.

C – Casos com diferentes variantes bialélicas em genes diferentes (digénico)

Dados demográficos			Dados clínicos		Perfil lipídico (mg/dL)					Variantes identificadas					
Sexo	Idade (ano de referência)	Idade presente (vivo ou morto)	DCVA (idade)	Xantomas tendinosos		CT	C-LDL	C-HDL	TG	Tratamento	Gene	cDNA	Proteína	Classificação da variante	Atividade da proteína*
F**	21 (2022)	22 (vivo)	Não	Não	Pré	465	356	78	149	-	LDLR	c.1291G>A	p.(Ala431Thr)	Patogénica	~20% de atividade
					Em	237	152	59	99	Atorvastatina + ezetimiba	APOB	c.10580G>A	p.(Arg3527Gln)	Patogénica	~40% LDL ligação e internalização
F	12 (2022)	13 (vivo)	Não	Não	Pré	273	195	66	62	-	LDLR	c.1118G>A	p.(Ala431Thr)	Patogénica	64-69% ligação e internalização
					Em	180	119	53	66	Atorvastatina	APOB	c.13480_13482del	p.(Gln4494del)	Patogénica	50-60% ligação e internalização

F, feminino, M, masculino; DCVA, doença cardiovascular aterosclerótica; EAM, enfarte do miocárdio; CT, colesterol total; C-LDL, colesterol LDL; C-HDL, colesterol HDL; TG, triglicéridos; pré, valores pré-tratamento; em, valores em tratamento; iPCSK9, inibidor de PCSK9; *atividade da proteína LDLR com a variante (expressão, ligação e/ou internalização das partículas de LDL em comparação com uma proteína de atividade normal (*wild type*), nos ensaios que envolvem variantes no gene APOB é quantificada a ligação e internalização das partículas de LDL. **Casos que correspondem a indivíduos com informação de seguimento (*follow-up*) disponível.

_Discussão

Neste trabalho, foram identificados 15 indivíduos com FH homozigótica, a maioria com variantes bialélicas patogénicas ou provavelmente patogénicas nos três genes da FH (*LDLR*, *APOB* ou *PCSK9*), sendo mais frequente a presença de variantes no gene *LDLR*. Três das variantes identificadas (*LDLR*: c.1585G>C/p.(Gly529Arg); *PCSK9*: c.1399C>G/p.(Pro467Ala); *LDLR*: c.313+6T>C) foram classificadas como variantes de significado incerto (VUS), no entanto, os estudos funcionais realizados revelaram um defeito na função do recetor das LDL (**tabela 1B**). Os estudos funcionais realizados em células heterólogas, para a variante *LDLR*: c.1585G>C/p.(Gly529Arg), resultaram numa diminuição da expressão do recetor e também da ligação e internalização das partículas de LDL, afetando assim a atividade do recetor (11). Para a variante *PCSK9*: c.1399C>G/p.(Pro467Ala), foi observada uma redução na expressão do recetor e na internalização das partículas de LDL em células heterólogas, bem como, em linfócitos dos indivíduos portadores desta variante (24). No caso da variante *LDLR*: c.313+6T>C, embora a atividade do recetor não tenha sido diretamente avaliada, os estudos de RNA realizados com o cDNA do indivíduo portador desta variante demonstraram a eliminação do exão 3 no transcrito final (p.Leu64_Pro105delinsSer). Esta alteração sugere que a variante resulta na introdução de um codão stop prematuro, levando à produção de uma proteína truncada não funcional (25).

Dois dos indivíduos com FH homozigótica descritos neste trabalho foram identificados através do estudo de familiares. Estes indivíduos apresentavam um fenótipo mais severo, não justificado pela presença de apenas uma variante, o que levou à realização de um estudo aprofundado dos 3 genes da FH, permitindo assim identificar uma variante adicional e confirmando o genótipo de FH homozigótica.

A idade média de referenciação foi de 29,9±15,3 anos, sendo que a maioria dos casos identificados são adultos (73%) e do sexo feminino (87%). Cerca de 13% apresentavam xantomas tendinosos, e 36% dos adultos apresenta-

vam, no momento da referenciação, doença cardiovascular aterosclerótica. No momento da referenciação, todos os casos estavam em terapêutica com estatina, 50% utilizavam uma associação de estatina com ezetimiba, 13% estavam em terapêutica em combinação com iPCSK9 e 13% realizavam LDL aférese. Tal como observado noutros países, estes indivíduos estão a ser diagnosticados tardiamente (adultos: 36,5±12,5 anos; crianças/adolescentes: 12,0±1,9 anos) e, apesar do tratamento implementado, não atingem os valores alvo de C-LDL recomendados (<70 mg/dL nos adultos, ou <55 mg/dL na presença de outros fatores de risco cardiovascular, e <115 mg/dL nas crianças e adolescentes) (3,9), o que contribui para a ocorrência de aterosclerose prematura (**tabela 1**).

Relativamente ao tipo de alelo, verificou-se que 5 indivíduos possuíam uma variante de alelo nulo, que resultam em recetores com uma atividade <10%, e 9 indivíduos apresentavam variantes de alelo defeituoso. Um caso foi identificado com duas variantes de alelo nulo (**tabela 1A**), sendo este o indivíduo com fenótipo mais severo, apresentando C-LDL=702 mg/dL, apesar do tratamento com rosuvastatina, ezetimiba, LDL aférese e iPCSK9. A presença de variantes de alelo nulo tem sido amplamente associada a um fenótipo mais severo e a uma menor resposta ao tratamento, uma vez que os tratamentos de primeira e segunda linha (estatina e iPCSK9) dependem da presença de atividade residual dos recetores de LDL (10,11,26-29). Para estes casos, está indicado uma terapêutica com mecanismo de ação independente do recetor de LDL (3,30).

Em 2024, foram recolhidos dados de seguimento de 6 indivíduos com FH homozigótica (identificados com ** na tabela): 4 indivíduos com duas variantes de alelo defeituoso estão atualmente em terapêutica combinada com iPCSK9; e 2 indivíduos, com pelo menos uma variante de alelo nulo, encontram-se em terapêutica combinada com iANGPTL3, incluindo o indivíduo com o fenótipo mais severo, cujo valor atual de LDL-C é de 74 mg/dL sob tratamento com rosuvastatina, ezetimiba, iANGPTL3 e LDL aferése.

_Conclusões

A FH homozigótica encontra-se subdiagnosticada tanto a nível mundial como em Portugal, uma vez que, face à prevalência estimada, muitos dos indivíduos afetados permanecem por identificar ou são diagnosticados tardiamente. Em Portugal, estima-se que existam cerca de 25 indivíduos com FH homozigótica, mas apenas 15 foram identificados ao longo dos 25 anos do Estudo Português de Hipercolesterolemia Familiar.

O diagnóstico genético em indivíduos com suspeita clínica de FH homozigótica permite identificar com precisão as variantes e os tipos de alelos presentes, viabilizando uma abordagem clínica/terapêutica mais personalizada. Além disso, contribui para a estratificação do risco cardiovascular destes indivíduos e para o rastreio dos seus familiares.

Assim, é essencial que indivíduos com suspeita clínica de FH sejam identificados em idade jovem e estudados molecularmente para que seja possível implementar o tratamento adequado, visando melhorar o prognóstico da sua condição.

Agradecimentos:

A todos os participantes e investigadores do Estudo Português de Hipercolesterolemia Familiar. Às unidades ULR/DPS e UTI/DGH, pela colaboração na determinação do perfil lipídico e nas corridas de sequenciação, respetivamente.

Referências bibliográficas:

- (1) Goldstein JL, Hobbs HH, Brown MS. Familial Hypercholesterolemia. In: Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, et al. (eds). The metabolic and molecular bases of inherited disease. 7th ed. New York: McGraw-Hill, 1995. pp. 1981-2030.
- (2) Ray KK, Pillas D, Hadjiphilippou S, et al. Premature morbidity and mortality associated with potentially undiagnosed familial hypercholesterolemia in the general population. *Am J Prev Cardiol.* 2023 Sep 6;15:100580. <https://doi.org/10.1016/j.ajpc.2023.100580>
- (3) 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 Jul 1;44(25):2277-91. <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehad197>
- (4) Berberich AJ, Hegele RA. The complex molecular genetics of familial hypercholesterolaemia. *Nat Rev Cardiol.* 2019 Jan;16(1):9-20. <https://doi.org/10.1038/s41569-018-0052-6>
- (5) Chora JR, Iacocca MA, Tichý L, et al. The Clinical Genome Resource (ClinGen) Familial Hypercholesterolemia Variant Curation Expert Panel consensus guidelines for LDLR variant classification. *Genet Med.* 2022 Feb 1;24(2):293-306. <https://doi.org/10.1016/j.gim.2021.09.012>
- (6) Sturm AC, Knowles JW, Gidding SS, et al. Clinical Genetic Testing for Familial Hypercholesterolemia. *J Am Coll Cardiol.* 2018 Aug 7;72(6):662-80. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2018.05.044>
- (7) Abifadel M, Varret M, Rabes JP, et al. Mutations in PCSK9 cause autosomal dominant hypercholesterolemia. *Nat Genet.* 2003;34:154-6. <https://doi.org/10.1038/ng1161>
- (8) Innerarity TL, Weisgraber KH, Arnold KS, et al. Familial defective apolipoprotein B-100: low density lipoproteins with abnormal receptor binding. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1987 Oct;84(19):6919-23. <https://doi.org/10.1073/pnas.84.19.6919>
- (9) Tromp TR, Hartgers ML, Hovingh GK, et al. Worldwide experience of homozygous familial hypercholesterolaemia: retrospective cohort study. *Lancet.* 2022 Feb 19;399(10326):719-28. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(21\)02001-8](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(21)02001-8)
- (10) Bourbon M, Alves AC, Alonso R, et al. Mutational analysis and genotype-phenotype relation in familial hypercholesterolemia: The SAFEHEART registry. *Atherosclerosis.* 2017 Jul 1;262:8-13. <https://doi.org/10.1016/j.atherosclerosis.2017.04.002>
- (11) Graça R, Alves AC, Zimon M, et al. Functional profiling of LDLR variants: Important evidence for variant classification: Functional profiling of LDLR variants. *J Clin Lipidol.* 2022 Jul 1;16(4):516-24. <https://doi.org/10.1016/j.jacl.2022.04.005>
- (12) Reijman MD, Defesche JC, Wiegman A. Genotype-phenotype correlation in a large cohort of pediatric patients with heterozygous and homozygous familial hypercholesterolemia. *Curr Opin Lipidol.* 2023 Dec 1;34(6):287-95. <https://doi.org/10.1097/MOL.0000000000000863>
- (13) Hu P, Dharmayat KI, Stevens CAT, et al. Prevalence of Familial Hypercholesterolemia Among the General Population and Patients With Atherosclerotic Cardiovascular Disease: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Circulation.* 2020 Jun 2;141(22):1742-59. <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.119.044795>
- (14) Beheshti SO, Madsen CM, Varbo A, et al. Worldwide Prevalence of Familial Hypercholesterolemia: Meta-Analyses of 11 Million Subjects. *J Am Coll Cardiol.* 2020 May 26;75(20):2553-66. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2020.03.057>
- (15) Groselj U, Wiegman A, Gidding SS. Screening in children for familial hypercholesterolaemia: start now. *Eur Heart J.* 2022 Sep 7;43(34):3209-12. <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehac224>
- (16) Wiegman A, Gidding SS, Watts GF, et al. Familial hypercholesterolaemia in children and adolescents: gaining decades of life by optimizing detection and treatment. *Eur Heart J.* 2015 Sep 21;36(36):2425-37. <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehv157>
- (17) Mach F, Baigent C, Catapano AL, et al. 2019 ESC/EAS Guidelines for the management of dyslipidaemias: Lipid modification to reduce cardiovascular risk. *Eur Heart J.* 2020 Jan 1;41(1):111-88. <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehz455>.



artigos breves_ n. 7

- (18) Bourbon M, Rato Q; Investigadores do Estudo Português de Hipercolesterolemia Familiar. Portuguese Familial Hypercholesterolemia Study: presentation of the study and preliminary results. *Rev Port Cardiol.* 2006 Nov;25(11):999-1013.
- (19) Medeiros AM, Alves AC, Miranda B, et al. Unraveling the genetic background of individuals with a clinical familial hypercholesterolemia phenotype. *J Lipid Res.* 2024 Feb;65(2):100490. <https://doi.org/10.1016/j.jlr.2023.100490>
- (20) Richards S, Aziz N, Bale S, et al. 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 May;17(5):405-24. <https://doi.org/10.1038/gim.2015.30>
- (21) Chora JR, Medeiros AM, Alves AC, et al. Analysis of publicly available LDLR, APOB, and PCSK9 variants associated with familial hypercholesterolemia: application of ACMG guidelines and implications for familial hypercholesterolemia diagnosis. *Genet Med.* 2018 Jun 26;20(6):591-8. <https://doi.org/10.1038/gim.2017.151>
- (22) Graça R, Zimon M, Alves AC, et al. High-Throughput Microscopy Characterization of Rare LDLR Variants. *JACC Basic Transl Sci.* 2023 Jun 28;8(8):1010-21. <https://doi.org/10.1016/j.jacbts.2023.03.013>
- (23) Alves AC, Benito-Vicente A, Medeiros AM, et al. Further evidence of novel APOB mutations as a cause of familial hypercholesterolaemia. *Atherosclerosis.* 2018 Oct;277:448-56. <https://doi.org/10.1016/j.atherosclerosis.2018.06.819>
- (24) Alves AC, Etxebarria A, Medeiros AM, et al. Characterization of the first PCSK9 gain of function homozygote. *J Am Coll Cardiol.* 2015 Nov 10;66(19):2152-54. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2015.08.871>
- (25) Bourbon M, Duarte MA, Alves AC, et al. Genetic diagnosis of familial hypercholesterolaemia: the importance of functional analysis of potential splice-site mutations. *J Med Genet.* 2009 May;46(5):352-7. <https://doi.org/10.1136/jmg.2007.057000>
- (26) Santos PCJL, Morgan AC, Jannes CE, et al. Presence and type of low density lipoprotein receptor (LDLR) mutation influences the lipid profile and response to lipid-lowering therapy in Brazilian patients with heterozygous familial hypercholesterolemia. *Atherosclerosis.* 2014 Mar;233(1):206-10. Epub 2014 Jan 4. <https://doi.org/10.1016/j.atherosclerosis.2013.12.028>
- (27) Perez De Isla L, Alonso R, Watts GF, et al. Attainment of LDL-Cholesterol Treatment Goals in Patients With Familial Hypercholesterolemia: 5-Year SAFEHEART Registry Follow-Up. *J Am Coll Cardiol.* 2016 Mar 22;67(11):1278-85. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2016.01.008>
- (28) Alonso R, Mata N, Castillo S, et al. Cardiovascular disease in familial hypercholesterolaemia: influence of low-density lipoprotein receptor mutation type and classic risk factors. *Atherosclerosis.* 2008 Oct;200(2):315-21. Epub 2008 Feb 20. <https://doi.org/10.1016/j.atherosclerosis.2007.12.024>
- (29) Etxebarria A, Benito-Vicente A, Palacios L, et al. Functional characterization and classification of frequent low-density lipoprotein receptor variants. *Hum Mutat.* 2015 Jan;36(1):129-41. Epub 2014 Nov. 27. <https://doi.org/10.1002/humu.22721>
- (30) Pirillo A, Catapano AL, Norata GD. Monoclonal Antibodies in the Management of Familial Hypercholesterolemia: Focus on PCSK9 and ANGPTL3 Inhibitors. *Curr Atheroscler Rep.* 2021 Oct 26;23(12):79. <https://doi.org/10.1007/s11883-021-00972-x>