INDICE

1. Introduzione pag. 1

2. Scopo dello studio pag. 7

3. Materiali e Metodi pag. 7

3.1. Soggetti pag. 7

3.2. Analisi di Laboratorio pag. 8

3.3. Diagnostica strumentale pag. 8

3.4. Analisi Statistica pag. 9

4. Risultati pag. 9

5. Discussione pag. 10

6. Bibliografia pag. 13

7. Tabelle e Figure pag. 16

1. Introduzione

Ogni anno le malattie cardiovascolari (cardiovascular disease, CVD) causano 3.9 milioni di morti in Europa di cui oltre 1.8 milioni nei paesi dell'Unione Europea. Le CVD rappresentano circa il 45% di tutte le cause di morte nel Continente [1]. Le cause di queste malattie sono multifattoriali, alcune modificabili mediante interventi sullo stile di vita (attività fisica, fumo, abitudini alimentari), altre necessitanti un ulteriore intervento farmacologico, come le dislipidemie, l'ipertensione arteriosa, il diabete mellito (DM) [2]. Grandi studi epidemiologici come il MRFIT (Multiple Risk Factor Intervention Trial) [3] o il Framingham [4] hanno dimostrato l'esistenza di una stretta relazione tra colesterolemia, mortalità e incidenza delle CVD, specie della cardiopatia ischemica [5]. In particolare, in un ampio range di concentrazioni di colesterolo totale (CT) vi è una correlazione diretta tra colesterolo LDL (LDL-C) e rischio cardiovascolare (cardiovascular risk, CVR), per cui livelli elevati di LDL-C sono considerati uno dei principali fattori di rischio modificabili [6, 7].

Diversi trial clinici hanno stabilito che la riduzione dei livelli di CT e/o LDL-C è statisticamente e clinicamente associata alla riduzione degli eventi CV e della mortalità, motivo per il quale le Linee Guida Europee sottolineano come CT, LDL-C ed ApoB debbano rappresentare il target primario [8].

Per valori lipemici "normali" si fa riferimento a valori tra il 25° ed il 75° percentile:

- CT < 240 mg/dl;
- HDL - C >50 mg/dl (nel maschio), > 60 mg/dl (nella femmina)
- LDL - C < 160 mg/dl;
- Apo B < 120 mg/dl.

A parità di profilo lipidico, un soggetto può essere in maggiore o minore misura esposto ad un evento CV fatale e non-fatale: risulta quindi imprescindibile stratificare il rischio per poter individuare un valore desiderabile da raggiungere, cioè un target terapeutico "ad personam". A tale scopo sono stati realizzati numerosi scores per la stima del CVR in soggetti sani, come il Systemic Coronary Risk Estimation (SCORE), l'ASSIGN (CV risk estimation model from the Scottish Intercollegiate Guidelines Network), il Q-Risk, il Prospective Cardiovascular Munster Study (PROCAM), il Reynolds, il CUORE, il Pooled Cohort equations ed il Globorisk [9]. Di questi lo SCORE rimane quello raccomandato dalle Linee Guida Europee [9]. Esso ci permette di stratificare il rischio da molto alto a basso, come riportato in Tabella 1. Lo SCORE viene utilizzato per la stratificazione del CVR in soggetti *senza* storia personale di CVD. Infatti i soggetti con CVD accertata, clinicamente nota o documentata in maniera inequivocabile ai test di imaging, rientrano automaticamente nella fascia di rischio molto alto, così come soggetti affetti da DM con danno d'organo o insufficienza renale cronica moderato-severa [10].

E' chiaro che se per un soggetto sano la patologia ateromasica si manifesta dopo la 5°-6° decade di vita, in un soggetto che fin dalla nascita risulta esposto ad elevati livelli di LDL-C i segni di CVD si manifesteranno più precocemente [11, 12]. E' il cosiddetto *cholesterol burden* [12] (vedi Figura 1). Tra questi soggetti troviamo i soggetti affetti da ipercolesterolemia familiare (familial hypercholesterolemia, FH), patologia a prevalente trasmissione autosomica dominante (ADH) (della forma autosomica recessiva non parleremo nella nostra trattazione, NdR), determinante scarso turn-over di lipoproteine a bassa densità circolanti, con conseguente esposizione precoce ad elevati livelli di LDL-C [12]. E' una condizione frequente (nella sua forma eterozigote – HeFH - si stima una prevalenza di 1/250-1/500) [13] e sottostimata (è possibile risalire ai dati, incompleti, di solo 22 Paesi nel mondo)

[12]. L'ADH è attualmente inquadrabile come mutazione di uno dei seguenti geni: LDL recettore (LDLR), ApoB e PCSK9 (vedi Tabella 2) [14]. Per la diagnosi di HeFH si deve ricorrere a dei tool diagnostici validati:

- Il US Make Early Diagnoses Prevent Early Deaths Program Diagnostic Criteria (MEDPED), che utilizza i livelli di CT e LDL-C nonchè l'anamnesi familiare [15];

- Il Dutch Lipid Clinic Network - Diagnostic Criteria (DLCN), sistema a punti che utilizza i livelli di LDL-C, l'esame obiettivo, l'anamnesi personale e familiare ed eventualmente la presenza accertata di mutazioni genetiche [16] (non utilizzabile nei bambini [14]). E' il più utilizzato nella pratica clinica, così come suggerito anche dalle Linee Guida Europee [9].

- Il Simon Broome Register - Diagnostic Criteria, che necessita per la valutazione i livelli di LDL-C, la storia familiare, la presenza di xantomi, eventualmente la presenza di mutazione genetica [17].

Per porre diagnosi è necessario escludere forme di ipercolesterolemia secondaria (mediante rilevazione di enzimi epatici, funzionalità renale e ormoni tiroidei , assenza di iperglicemia ed albuminuria/proteinuria) e altre forme di ipercolesterolemia familiare (iperlipemia familiare combinata, ipo-/a-betalipoproteinemia). La diagnosi di certezza si basa sul sequenziamento dei geni candidati. Il test genetico è incluso tra i criteri del DLCN, e se positivo per una mutazione dei geni codificanti per LDL-R, APO-B o PCSK9 ovviamente è da solo sufficiente per porre diagnosi di ADH. Ciononostante si può formulare una diagnosi clinica di FH qualora non fosse possibile accedere all'indagine genetica o questa non risulti disponibile [12, 18]. Inoltre, circa il 10-30% dei soggetti con una diagnosi clinica di FH non presenta una mutazione causale rilevabile: in questi individui è pertanto possibile una diagnosi clinica di

FH, ma non una diagnosi molecolare. D'altronde, è stata recentemente proposta una nuova opportunità diagnostica, basata su un pannello multigenico, che fornisce uno score per la cosiddetta "Ipercolesterolemia familiare poligenica". Difatti se l'FH in passato era ritenuta una patologia esclusivamente monogenica, si è visto che il 20-40% dei pazienti con diagnosi clinica di FH presenta delle mutazioni differenti da quelle comunemente riconosciute (a carico di LDL-R, APO-B e PCSK9) come ad esempio mutazioni a carico di Apo-E, ABCG5, ABCG8, LIPA, STAP1, (tutte con un fenotipo FH). Altri presentano un carico estremamente elevato di più varianti comuni di piccoli difetti (polimorfismi a singolo nucleotide), ciascuno dei quali aumenta in maniera esponenziale l'LDL-C. Altri individui con HeFH apparente non si caratterizzano per nessuna delle mutazioni genetiche sopra citate, suggerendo che possano essere presenti mutazioni inaccessibili al sequenziamento del DNA, come varianti introniche o variazioni del numero di copie, o mutazioni in geni non ancora definiti, o infine meccanismi non menzionati (ad esempio imprinting epigenetico).

In accordo alle nuove Linee Guida ESC/EAS, nei pazienti FH dobbiamo tener conto dei seguenti target di LDL-C:

- Bambini a partire dai 10 anni di età, LDL-C < 135 mg/dl,
- Adulti, LDL-C riduzione del 50% il valore di base o LDL-C < 70 mg/dl,
- Adulti con storia di CVD o in presenza di un fattore di rischio maggiore , LDL-C 55 mg/dl [8].

Per il trattamento delle varie forme di ipercolesterolemia sono in commercio diverse classi di farmaci, ciascuna con target metabolici differenti e per differenti categorie di pazienti [19]. Le statine sono indicate nel trattamento iniziale dei soggetti adulti con FH e nei bambini HeFH a partire dall'età di 8-10 anni [17, 20, 21]. Tuttavia, molti pazienti FH necessitano di

trattamento multiplo, o per gli elevati livelli in partenza di LDL-C e/o per la sensibilità al trattamento (risposta e tollerabilità - fra questi i soggetti con intolleranza accertata alle statine, che si stima essere il 10-15% dei pazienti, non solo FH, che hanno assunto questi farmaci) [22]. I farmaci che possono essere associati alla statina nel trattamento di questi soggetti includono l'ezetimibe, i sequestranti gli acidi biliari e la niacina (un discorso a parte merita l'LDL aferesi, che esula da questa trattazione) [14]. Più recente è l'avvento di nuovi farmaci ipocolesterolemizzanti, noti come anticorpi monoclonali (mAb) anti-PCSK9 (proprotein conversate sublitisin/kexin type 9), una proteina (codificata dal gene PCSK9 localizzato sul braccio corto del cromosoma 1, posizione p32.3) capace, quando secreta, di legarsi al complesso LDL-R/LDL-C e di aumentarne la degradazione all'interno del lisosoma, riducendo il numero dei recettori sulla superficie cellulare con conseguente incremento dei livelli di LDL-C [23]. Questi specifici mAb inibiscono la degradazione di LDL-R (determinandone l'aumento a livello della membrana cellulare epatocitaria) e riducendo significativamente il colesterolo sierico e, se aggiunti al trattamento con statine e agli inibitori dell'assorbimento, permettono di raggiungere una significativa riduzione dei valori plasmatici di LDL-C, con importanti benefici in termini di riduzione della mortalità. I benefici clinici dimostrati nei trial finora condotti comprendono:

- la riduzione di LDL-C in maniera dose dipendente fino al 60% nei pazienti in trattamento con statine [24, 25];

- la riduzione dei livelli di lipoprotein(a) [Lp(a) - il cui aumento, geneticamente determinato, costituisce un fattore di rischio indipendente sia per l'eguale capacità delle LDL di favorire lo sviluppo della placca ateromasica, sia per la capacità ulteriore di competere con il plasminogeno determinando un aumento del rischio trombotico] dal 18 al 36% [26];

- la riduzione dei livelli di trigliceridi da 12 al 31% con un modesto incremento di HDL-C dal 5 al 9% [27];

- la riduzione del volume della placca ateromasica [28];

- la significativa riduzione (oltre il 50%) del rischio di eventi CV [25].

L'AIFA ha di recente autorizzato l'immissione in commercio, in regime di rimborsabilità SSN (classe A), di due farmaci:

- Evolocumab (Repatha, Amgen Europe BV)

- Alirocumab (Praluent, Sanofi Spa)

con le seguenti indicazioni:

- Prevenzione primaria in pazienti di età ≤80 anni con ipercolesterolemia familiare eterozigote e livelli di LDL-C ≥130 mg/dl, nonostante la terapia da almeno 6 mesi con statina ad alta efficacia alla massima dose tollerata + ezetimibe, oppure con dimostrata intolleranza alle statine.

- Prevenzione secondaria in pazienti di età ≤80 aa con ipercolesterolemia familiare eterozigote o ipercolesterolemia non familiare o dislipidemia mista con livelli di LDL – C≥100 mg/dl nonostante terapia da almeno 6 mesi con statina ad alta potenza alla massima dose tollerata + ezetimibe o con dimostrata intolleranza alle statine.

- Ipercolesterolemia familiare omozigote, in pazienti di età ≤80 aa, (limitatamente ad evolocumab).

2. Scopo dello studio

Scopo del nostro lavoro è stato valutare l'efficacia di sei mesi di trattamento con anticorpi monoclonali anti-PCSK9 sul profilo lipidico e sugli indici di rigidità vascolare in una popolazione di pazienti con diagnosi di ipercolesterolemia familiare eterozigote (HeFH) che non abbiano raggiunto i livelli attesi di LDL-C nonostante terapia consolidata (da almeno 6 mesi) con statina ad alta efficacia alla massima dose tollerata in associazione ad ezetimibe.

3. Materiali e Metodi

3.1. Soggetti

Abbiamo reclutato 53 pazienti (28 M/25 F), con diagnosi genetica di HeFH, afferiti presso i nostri Ambulatori (Ambulatorio per la Diagnosi e la Cura delle Dislipidemie; Ambulatorio per la Cura dell'Ipertensione), e l'Ambulatorio per la Cura delle Dislipidemie dell'Ospedale Garibaldi-Nesima di Catania fra Settembre 2017 e Gennaio 2019 di età compresa fra i 35 e i 70 anni (età mediana 54, IQR 14), che non avevano raggiunto il target LDL-C previsto dalle indicazioni AIFA (>130 mg/dl in prevenzione primaria, >100 in prevenzione secondaria) nonostante terapia massimale con statina ad alta efficacia (atorvastatina 40-80 mg, rosuvastatina 20-40 mg) ed ezetimibe da almeno sei mesi prima dell'arruolamento. Tutti i pazienti all'arruolamento dovevano presentare valori di pressione arteriosa sistolica (SBP) ≤140 mg/dl e diastolica (DBP) 90 mg/dl con o senza terapia antipertensiva.

Al reclutamento (T0) sono stati eseguiti prelievi per i dosaggi ematochimici e gli esami strumentali, e registrati i parametri biometrici. Sono stati esclusi pazienti diabetici o con insufficienza renale cronica con filtrato <30 ml/min o con patologia epatica cronica. Circa il 47% dei nostri pazienti presentava una storia di patologia aterosclerotica precoce (ASCVD) intendendo pregresso infarto miocardico, sindrome coronarica acuta, rivascolarizzazione

coronarica (percutanea o mediante by-pass) o altre procedure di rivascolarizzazione arteriosa, ictus o evento ischemico transitorio o patologia aterosclerotica accertata.

Dopo sei mesi di trattamento (T1) è stata eseguita una nuova valutazione clinico-laboratoristica e strumentale di controllo.

Tutti i pazienti hanno firmato un consenso informato, in accordo alla Dichiarazione di Helsinki. Lo studio è stato approvato dal Comitato Etico dell'Università degli Studi di Messina (Prot. N° 46/19).

3.2. Analisi di Laboratorio

Tutte le analisi biochimiche sono state eseguite presso il nostro Centro dopo almeno 12 ore di digiuno notturno. Sono stati utilizzati metodi routinari per il dosaggio di lipidi plasmatici, transaminasi e CPK. La proteina C reattiva (CPR) è stata determinata mediante un kit ELISA. ApoB è stata dosata mediante metodo nefelometrico (Siemens AG Healthcare Sector, Erlangen, Germany). I livelli di Lp(a) sono stati misurati mediante latex agglutination immunoassay. LDL-C è stato calcolato mediante la formula di Friedewald.

3.3. Diagnostica strumentale

Per la determinazione della PWV è stato utilizzato un sistema SphygmoCor CVMS (AtCor Medical, Sydney, Australia). La pulse wave velocity (PWV) trasmessa attraverso la parete arteriosa è stata rilevata posizionando due sensori tonometrici a livello di due diversi polsi arteriosi, carotideo e femorale, e valutando l'onda di polso sotto guida elettrocardiografica. Si utilizza l'elettrocardiogramma per identificare l'inizio dell'onda di polso. La velocità (distanza/tempo in m/sec) è stata calcolata misurando l'intervallo di tempo tra due intervalli R-R e registrando l'onda di polso in ognuno dei due polsi in questo intervallo di tempo su 10 cicli cardiaci per coprire un intero ciclo respiratorio.

3.4. Analisi Statistica

L'ipotesi di normalità della distribuzione delle variabili studiate è stata verificata con il test di Kolmogorov-Smirnov. Poiché alcune variabili dello studio presentavano una distribuzione non-normale è stato utilizzato un approccio statitistico non-parametrico. I risultati sono stati espressi come mediana (IQR) per le variabili continue e come frequenze (percentuali, %) per le variabili categoriche. Le differenze tra fra i tempi T0 e T1 sono state eseguite con test di Wilcoxon. Il Delta (Δ) T1/T0 di TC, HDL, TG, LDL, Lpa, FPG, CRP, CPK, GOT, GPT, PWV è stato calcolato con la seguente formula: ((T1-T0)/T0)*100. Infine è stata eseguita l'analisi di regressione lineare per valutare la relazione fra ΔLDL-C e ΔPWV. L'analisi statitistica è stata eseguita con IBM SPSS Statistics for Windows - version 23. Abbiamo considerato un livello di significatività alpha di 0.05.

4. Risultati

La Tabella 3 mostra le caratteristiche della nostra popolazione, espresse come mediana (IQR) al T0 e al T1, con il Δ% e la significatività statistica. Sono stati, come detto, reclutati 53 pazienti con età compresa fra 40 e 68 anni, di cui 28 maschi (52.8%), normopeso o con leggero sovrappeso (BMI 24.96, IQR 4.24). Venticinque di loro presentavano storia di ASCVD (47.2%). Dodici erano fumatori (22.6%). Per quanto riguarda le terapie praticate, 13 soggetti assumevano antipertensivi (24.5%), 29 soggetti erano in terapia con atorvastatina 40 mg (54.7%) e 24 pazienti assumevano rosuvastatina 20 mg (45.3%). Tutti i soggetti assumevano ezetimibe 10 mg. Riguardo il genotipo FH quasi tutti i pazienti presentavano mutazione a carico di LDLR (52 soggetti), ad eccezione di un soggetto con mutazione a carico di ApoB. Di questi, 25 erano LDLR null (47.2%) e 27 defective (50.9%). Tutti i soggetti erano eterozigoti.

Dopo sei mesi di trattamento con anti-PCSK9 i pazienti hanno presentato miglioramento del profilo lipidico (CT Δ= -33.4%, p<0.0001; LDL-C Δ= -51%, p<0.0001; TG Δ= -6.7%, p<0.05; ApoB Δ= -45.4%, p<0.001; Lp(a) Δ=-25%, p<0.001), con riduzione non significativa dei valori di CPR (Δ= -16.1%, p=0.81). Gli indici di rigidità vascolare, espressi come PWV si sono ridotti in maniera significativa (PWV, Δ= -15%, p<0.0001). Nessun paziente ha riportato effetti collaterali, o aumento dei valori di CPK e transaminasi (vedi Tabella 4), in linea con quanto riportato nei grandi trial [25, 27, 29]. Abbiamo infine condotto l'analisi di regressione lineare, che ha messo in evidenza la relazione fra le variazioni dei livelli di LDL-C (ΔLDL-C) ed il miglioramento degli indici di rigidità vascolare (ΔPWV) (beta index 0.334, p<0.05).

5. Discussione

Negli ultimi anni è stato crescente l'interesse verso il raggiungimento del target lipidico, soprattutto in determinate categorie di pazienti ad elevato rischio cardiovascolare, quali i pazienti con FH. È stata ribadita più volte la necessità riassunta dall'assioma: "the lower the better" [30, 31], come anche accolto dalle nuove Linee Guida ESC/EAS 2019, che hanno sottolineato come l'abbassamento dei livelli di LDL-C, ApoB ed Lp(a) sia fondamentale nella gestione del rischio CV, nella prevenzione del primo evento e nella riduzione del rischio di recidiva [8]. Scopo del nostro studio era, *in primis*, valutare nella nostra popolazione di soggetti HeFH l'efficacia del trattamento con mAb anti-PCSK9 sulla componente lipidica, nonché se tale trattamento potesse determinare un miglioramento degli indici di rigidità vascolare, ed infine se tale miglioramento potesse essere correlabile in qualche modo al miglioramento del profilo lipidico o al trattamento *per se*. Il nostro studio ha confermato quanto riportato in letteratura: gli anticorpi monoclonali anti-PCSK9 sono efficaci nel miglioramento del profilo lipidico in termini di riduzione significativa dei livelli di CT, LDL-

C, Lp(a) ed ApoB [24-27, 29]. La funzione di PCSK9 e quindi l'inibizione mediante anticorpi monoclonali ci spiega bene l'efficacia sui livelli circolanti di CT, LDL-C ed ApoB: riduzione della degradazione del complesso LDL-R/LDL-C con aumento di esposizione sulla superficie cellulare di LDL-R e quindi aumento dell'internalizzazione della frazioni circolanti [23]. Più complicato è risultato trovare il nesso causale tra mAb anti-PCSK9 e riduzione significativa dei livelli di Lp(a) seppur in linea a quanto riportato in vari trial ed in popolazioni variegate (studio MENDEL, pazienti in monoterapia con mAb senza storia di terapia con altri ipocolesterolemizzanti [32]; studio LAPLACE-TIMI, mAb anti-PCSK9 in associazione a statina [27, 33]; studio RUTHERFORD, in soggetti HeFH [34]; studio GAUSS, in pazienti "statin intolerant" [35]). Infatti il catabolismo di Lp(a) non è del tutto noto e non sembra unicamente legato ad un meccanismo LDLR-mediato [36].

Per quanto riguarda l'effetto diretto sulla parete vascolare, lo studio GLAGOV aveva già evidenziato l'efficacia di evolocumab sulla riduzione della progressione aterosclerotica misurata mediante ecografia endovascolare [28]. Inoltre, Cheng et al. hanno messo in evidenza come i livelli di PCSK9 siano associati in maniera lineare al volume del core necrotico di una placca coronarica in corso di evento acuto, indipendentemente dai livelli di LDL-C e dall'uso di statine [37]. Analogamente, lo spessore medio-intimale carotideo correla direttamente con i livelli di PCSK9 circolanti in soggetti ipertesi, anche dopo aggiustamento per il profilo lipidico [38]. Ancora, il gruppo di Ruscica et al. ha di recente riportato come i livelli di PCSK9 circolanti siano strettamente correlati allo stiffness vascolare ed in particolare alla PWV, in una popolazione femminile indipendentemente dall'età e dal climaterio [39]. Questi dati vanno quindi a supporto di quanto riportato nella nostra popolazione: il trattamento con alirocumab/evolocumab determina un miglioramento significativo della rigidità vascolare, espressa come PWV.

Il nostro studio presenta alcune limitazioni: innanzitutto si tratta di uno studio osservazionale e non randomizzato in cieco, per cui le singole scelte terapeutiche seguono una strategia decisionale. Inoltre, la numerosità campionaria è abbastanza esigua (nonostante ciò è stata comunque riportata la significatività nella riduzione delle componenti lipidiche e negli indici di rigidità vascolare, nonché l'associazione tra variazione dei livelli di LDL-C e PWV).

Possiamo concludere che l'aggiunta di mAb anti-PCSK9 ad un trattamento statinico ad elevata intensità migliora significativamente il profilo lipidico e la PWV in pazienti HeFH; inoltre la variazione di PWV sembra essere dipendente dalla riduzione dei livelli di LDL-C. Il nostro studio conferma il beneficio derivante dal trattamento con questi nuovi farmaci. Ulteriori studi saranno necessari per valutare anche l'efficacia su altri indici di danno d'organo.

1. Bibliografia

Reference List

1. European-Heart-Network, *European Cardiovascular Disease Statistics 2017 edition*. 2017.
2. Gulizia M.M., e.a., *Documento di consenso intersocietario ANMCO/ISS/AMD/ANCE/ARCA/FADOI/GICR-IACPR/SICI-GISE/SIBioC/SIC/SICOA/SID/SIF/SIMEU/SIMG/SIMI/SISA Colesterolo e rischio cardiovascolare: percorso diagnostico-terapeutico in Italia. .* Giornale Italiano di Cardiologia 2016. **Vol. 17, suppl 1 al N 6**.
3. Neaton, J.D., et al., *Serum cholesterol level and mortality findings for men screened in the Multiple Risk Factor Intervention Trial. Multiple Risk Factor Intervention Trial Research Group.* Arch Intern Med, 1992. **152**(7): p. 1490-500.
4. D'Agostino, R.B., Sr., et al., *General cardiovascular risk profile for use in primary care: the Framingham Heart Study.* Circulation, 2008. **117**(6): p. 743-53.
5. Lewington, S., et al., *Blood cholesterol and vascular mortality by age, sex, and blood pressure: a meta-analysis of individual data from 61 prospective studies with 55,000 vascular deaths.* Lancet, 2007. **370**(9602): p. 1829-39.
6. Perk, J., et al., *European Guidelines on cardiovascular disease prevention in clinical practice (version 2012). The Fifth Joint Task Force of the European Society of Cardiology and Other Societies on Cardiovascular Disease Prevention in Clinical Practice (constituted by representatives of nine societies and by invited experts).* Eur Heart J, 2012. **33**(13): p. 1635-701.
7. Ference, B.A., et al., *Low-density lipoproteins cause atherosclerotic cardiovascular disease. 1. Evidence from genetic, epidemiologic, and clinical studies. A consensus statement from the European Atherosclerosis Society Consensus Panel.* Eur Heart J, 2017. **38**(32): p. 2459-2472.
8. Francois Mach, C.B., Alberico L. Catapano, , *2019 ESC/EAS Guidelines for the management of dyslipidaemias: lipid modification to reduce cardiovascular risk. The Task Force for the management of dyslipidaemias of the European Society of Cardiology (ESC) and European Atherosclerosis Society (EAS).* European Heart Journal (2019) 00, 178, 2019.
9. Catapano, A.L., et al., *2016 ESC/EAS Guidelines for the Management of Dyslipidaemias: The Task Force for the Management of Dyslipidaemias of the European Society of Cardiology (ESC) and European Atherosclerosis Society (EAS) Developed with the special contribution of the European Assocciation for Cardiovascular Prevention & Rehabilitation (EACPR).* Atherosclerosis, 2016. **253**: p. 281-344.
10. Piepoli, M.F., et al., *2016 European Guidelines on cardiovascular disease prevention in clinical practice: The Sixth Joint Task Force of the European Society of Cardiology and Other Societies on Cardiovascular Disease Prevention in Clinical Practice (constituted by representatives of 10 societies and by invited experts)Developed with the special contribution of the European Association for Cardiovascular Prevention & Rehabilitation (EACPR).* Eur Heart J, 2016. **37**(29): p. 2315-2381.
11. Ridker, P.M., *LDL cholesterol: controversies and future therapeutic directions.* Lancet, 2014. **384**(9943): p. 607-617.
12. Nordestgaard, B.G., 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**(45): p. 3478-90a.

13. Akioyamen, L.E., et al., *Estimating the prevalence of heterozygous familial hypercholesterolaemia: a systematic review and meta-analysis.* BMJ Open, 2017. **7**(9): p. e016461.
14. Bouhairie, V.E. and A.C. Goldberg, *Familial hypercholesterolemia.* Cardiol Clin, 2015. **33**(2): p. 169-79.
15. Williams, R.R., et al., *Diagnosing heterozygous familial hypercholesterolemia using new practical criteria validated by molecular genetics.* Am J Cardiol, 1993. **72**(2): p. 171-6.
16. World-Health-organization, *Familial hypercholesterolaemia Report of a second WHO consultation. Geneva: World Health Organization.* 1999.
17. DeMott K, N.L., Shaw EJ, et al. , *Clinical Guidelines and Evidence Review for Familial hypercholesterolaemia: the identification and management of adults and children with familial hypercholesterolaemia. London: National Collaborating Centre for Primary Care and Royal College of General Practitioners.* 2008.
18. Bertolini, S., et al., *Clinical expression of familial hypercholesterolemia in clusters of mutations of the LDL receptor gene that cause a receptor-defective or receptor-negative phenotype.* Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2000. **20**(9): p. E41-52.
19. AIFA, *Nota 13.* 26 marzo 2013 e successive modifiche (19.06.2014).
20. Robinson, J.G. and A.C. Goldberg, *Treatment of adults with familial hypercholesterolemia and evidence for treatment: recommendations from the National Lipid Association Expert Panel on Familial Hypercholesterolemia.* J Clin Lipidol, 2011. **5**(3 Suppl): p. S18-29.
21. Daniels, S.R., S.S. Gidding, and S.D. de Ferranti, *Pediatric aspects of familial hypercholesterolemias: recommendations from the National Lipid Association Expert Panel on Familial Hypercholesterolemia.* J Clin Lipidol, 2011. **5**(3 Suppl): p. S30-7.
22. Banach, M., et al., *Statin intolerance - an attempt at a unified definition. Position paper from an International Lipid Expert Panel.* Expert Opin Drug Saf, 2015. **14**(6): p. 935-55.
23. Peterson, A.S., L.G. Fong, and S.G. Young, *PCSK9 function and physiology.* J Lipid Res, 2008. **49**(6): p. 1152-6.
24. Dufour, R., et al., *Individualized low-density lipoprotein cholesterol reduction with alirocumab titration strategy in heterozygous familial hypercholesterolemia: Results from an open-label extension of the ODYSSEY LONG TERM trial.* J Clin Lipidol, 2019. **13**(1): p. 138-147.
25. Sabatine, M.S., et al., *Evolocumab and Clinical Outcomes in Patients with Cardiovascular Disease.* N Engl J Med, 2017. **376**(18): p. 1713-1722.
26. Raal, F.J., et al., *Reduction in lipoprotein(a) with PCSK9 monoclonal antibody evolocumab (AMG 145): a pooled analysis of more than 1,300 patients in 4 phase II trials.* J Am Coll Cardiol, 2014. **63**(13): p. 1278-1288.
27. Giugliano, R.P., et al., *Efficacy, safety, and tolerability of a monoclonal antibody to proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 in combination with a statin in patients with hypercholesterolaemia (LAPLACE-TIMI 57): a randomised, placebo-controlled, dose-ranging, phase 2 study.* Lancet, 2012. **380**(9858): p. 2007-17.
28. Puri, R., et al., *Impact of PCSK9 inhibition on coronary atheroma progression: Rationale and design of Global Assessment of Plaque Regression with a PCSK9 Antibody as Measured by Intravascular Ultrasound (GLAGOV).* Am Heart J, 2016. **176**: p. 83-92.
29. Tomlinson, B., et al., *Alirocumab for the treatment of hypercholesterolemia.* Expert Opin Biol Ther, 2017. **17**(5): p. 633-643.
30. Kato, E.T., et al., *Efficacy and Safety of Adding Ezetimibe to Statin Therapy Among Women and Men: Insight From IMPROVE-IT (Improved Reduction of Outcomes: Vytorin Efficacy International Trial).* J Am Heart Assoc, 2017. **6**(11).
31. Jarcho, J.A. and J.F. Keaney, *Proof That Lower Is Better — LDL Cholesterol and IMPROVE-IT.* New England Journal of Medicine, 2015. **372**(25): p. 2448-2450.
32. Koren, M.J., et al., *Efficacy, safety, and tolerability of a monoclonal antibody to proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 as monotherapy in patients with hypercholesterolaemia*

(MENDEL): a randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 2 study. Lancet, 2012. **380**(9858): p. 1995-2006.
33. Desai, N.R., et al., *AMG145, a monoclonal antibody against proprotein convertase subtilisin kexin type 9, significantly reduces lipoprotein(a) in hypercholesterolemic patients receiving statin therapy: an analysis from the LDL-C Assessment with Proprotein Convertase Subtilisin Kexin Type 9 Monoclonal Antibody Inhibition Combined with Statin Therapy (LAPLACE)-Thrombolysis in Myocardial Infarction (TIMI) 57 trial.* Circulation, 2013. **128**(9): p. 962-9.
34. Raal, F., et al., *Low-density lipoprotein cholesterol-lowering effects of AMG 145, a monoclonal antibody to proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 serine protease in patients with heterozygous familial hypercholesterolemia: the Reduction of LDL-C with PCSK9 Inhibition in Heterozygous Familial Hypercholesterolemia Disorder (RUTHERFORD) randomized trial.* Circulation, 2012. **126**(20): p. 2408-17.
35. Sullivan, D., et al., *Effect of a monoclonal antibody to PCSK9 on low-density lipoprotein cholesterol levels in statin-intolerant patients: the GAUSS randomized trial.* JAMA, 2012. **308**(23): p. 2497-506.
36. Rader, D.J., et al., *The low density lipoprotein receptor is not required for normal catabolism of Lp(a) in humans.* J Clin Invest, 1995. **95**(3): p. 1403-8.
37. Cheng, J.M., et al., *PCSK9 in relation to coronary plaque inflammation: Results of the ATHEROREMO-IVUS study.* Atherosclerosis, 2016. **248**: p. 117-22.
38. Lee, C.J., et al., *Association of serum proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 with carotid intima media thickness in hypertensive subjects.* Metabolism, 2013. **62**(6): p. 845-50.
39. Ruscica, M., et al., *Circulating Levels of Proprotein Convertase Subtilisin/Kexin Type 9 and Arterial Stiffness in a Large Population Sample: Data From the Brisighella Heart Study.* J Am Heart Assoc, 2017. **6**(5).

Tabella 1. Rischio SCORE [9, 10]

Classe di Rischio	Percentuale di Rischio	Soggetti
Rischio molto elevato	Rischio SCORE ≥10% Target terapeutico da raggiungere pari a LDL-C < 50 mg/dl.	CVD accertata (pregresso infarto miocardico o sindrome coronarica acuta o rivascolarizzazione coronarica o altro intervento di rivascolarizzazione arteriosa, ictus o TIA, aneurisma aortico e arteriopatia periferica. CVD documentata in maniera inequivocabile ai test di imaging: riscontro di placche significative alla coronarografia o all'ultrasonografia carotidea; riscontro alla TC coronarica di malattia multivasale con due vasi epicardici con lesioni >50%. NON comprende un qualsiasi aumento delle variabili continue all'imaging, quali lo spessore medio-intimale carotideo. DM associato a danno d'organo (ES. Proteinuria), o ad un fattore di rischio maggiore come abitudine al fumo, marcata ipercolesterolemia o marcata ipertensione o eserdio precoce e luna durata (almeno 20 anni). Insufficienza renale cronica (IRC) severa (GFR <30 ml/min/1.73 mq). FH con malattia CV accertata o un altro fatore di rischio maggiore.
Rischio elevato	Rischio SCORE compreso tra ≥5% e <10%. Target terapeutico previsto: LDL-C < 70 mg/dl.	Livelli marcatamente elevati dei singoli fattori di rischio, colesterolemia >8 mmol/l (>310 mg/dl) o LDL-C > 4.9 mmol/l (190 mg/dl) o pressione arteriosa ≥180/110 mmHg. FH senza altri fattori di rischio maggiori. Soggetti diabetici senza danno d'organo, o con durata <10 anni, o senza altri fattori di rischio aggiuntivi. IRC moderata (GFR 30-59 ml/min/1.73 mq).
Rischio moderato	Rischio SCORE compreso tra ≥1% e <5%. Target terapeutico previsto: LDL-C < 100 mg/dl.	Soggetti giovani (DM tipo 1< 35 anni, DM tipo 2 < 50 anni) con una durata di malattia inferiore a 10 anni e senza altri fattori di rischio
Rischio basso	Rischio SCORE <1%. Target terapeutico previsto: LDL-C < 116 mg/dl.	

Tabella 2. Tipi di mutazioni causanti FH (da [14] modificata)

Mutazione	**Gene**	**Meccanismo**	**Numero di mutazioni possibili (% di casi di FH)**
LDL recettore	*LDLR*	LDL recettore è assente o presenta ridotta capacità di legame all'LDL-C con ridotta eliminazione dal circolo	>900 (85-90%)
ApoB (nota anche come forma familiare difettiva di ApoB)	*ApoB*	Scarsa capacità di legame della particella LDL-C al sito del recettore	Mutations around the 3500 residues--most common is Arg3500Gln (5-10%)
PCSK9 (perdita di funzione)	*PCSK9*	Aumentati livelli di con aumento di eliminazione intracellulare di LDLR	Rara
LDL receptor adaptor protein	*LDLRAP1*	Protein needed for clathrin-mediated internalization of LDL receptor	Rare; autosomal recessive hypercholesterolemia

Tabella 3. Caratteristiche della popolazione al basale

	Popolazione n=53
Caratteristiche demografiche	
Età	54 (14)
Maschi, n (%)	28 (52.8)
BMI, kg/m^2	24.96 (4.24)
ASCVD, n (%)	25 (47.2)
Lipid profile	
CT max	375 (70)
LDL-C max	298 (79)
CT	208 (44)
HDL-C	50 (17)
TG	84 (67)
LDL-C	143.5 (46.6)
ApoB	116 (38.5)
ApoAI	134.69 (28.18)
Lp(a)	25 (40.5)
Enzimi muscolari ed epatici	
ALT	26 (19)
AST	24 (10)
CPK	105 (59)
Fattori di rischio	
SBP	125.5 (25)
DBP	70 (10)
Glicemia	90 (14)
CRP	0.1 (0.24)
Fumatori, n (%)	12 (22.6)
PWV	9.1 (4.5)
Terapia	
Antipertensivi, n (%)	13 (24.5)
Atorvastatina 40 mg, n (%)	29 (54.7)
Rosuvastatina 20 mg, n (%)	24 (45.3)
Ezetimibe 10 mg	53 (100)
Genotipo FH	
LDLR, n (%)	52 (98.1)
LDLR null, n (%)	25 (47.2)
LDLR defective, n(%)	27 (50.9)
ApoB, n (%)	1 (1.9)
Fenotipo FH	
Heterozygous, n (%)	53 (100)

Abbreviazioni: SBP (systolic blood pressure); DBP (diastolic blood pressure); CT max (Massimo livello di colesterolo registrato); LDL-C max (massimo livello di LDL-C registrato); CT (colesterolo totale); HDL-C (high density lipoprotein-cholesterol); TG (triglyceridi); LDL-C (low density lipoprotein-cholesterol); ALT (alanino-amino transferasi); AST (aspartato-amino transferasi); CPK(creatinfosfochinasi); Lp(a) [lipoproteina (a)]; ApoB (Apolipoprotein a B); CRP (high-sensitivity C-reactive protein); PWV (pulse wave velocity); ASCVD: Atherosclerotic cardiovascular disease.

Tabella 4. Differenze prima (T0) e dopo trattamento (T1)

	T0	T1	Δ (sig)
Profilo lipidico			
CT	208 (44)	152.8 (57)	-33.4% (<0.001)
HDL-C	50 (17)	49 (15)	1.8% (=0.66)
TG	84 (67)	80.5 (47)	-6.7% (<0.05)
LDL-C	143.5 (46.6)	68 (38)	-51% (<0.001)
ApoB	116 (38.5)	69.4 (31)	-45.4% (<0.001)
ApoAI	134.69 (28.18)	136.74 (27.84)	1.5% (0.4)
Lp(a)	25 (40.5)	14 (30.5)	-25% (<0.001)
Enzimi muscolari ed epatici			
ALT	26 (19)	27.5 (14)	1.56% (=0.75)
AST	24 (10)	25 (8)	1.23% (=0.23)
CPK	105 (59)	111.5 (53)	6.3% (=0.7)
Fattori di rischio			
SBP	125.5 (25)	122.5 (22)	-2.17% (=0.23)
DBP	70 (10)	70 (11)	-0.46% (=0.44)
Glicemia	90 (14)	91 (12)	0.42% (=0.72)
CRP	0.1 (0.24)	0.1 (0.15)	-16.1% (=0.81)
Arterial stiffness			
PWV	9.1 (4.5)	7.5 (2.1)	-15% (<0.001)

Δ (sig): Δ-variazione tra valori basali e dopo sei mesi di trattamento, p per il test di Wilcoxon (T1-T0).

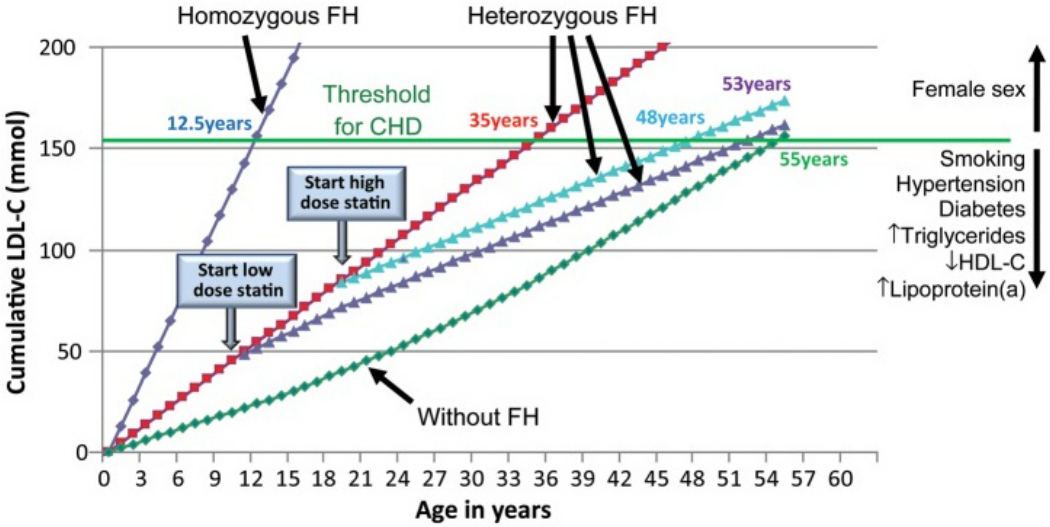

Figura 1. Cholesterol Burden [12].