

**PÂMELA RODRIGUES DE SOUZA SILVA**

**Programa de seguimento de coorte de pacientes com  
hipercolesterolemia familiar na região metropolitana de São Paulo**

Tese apresentada à Faculdade de Medicina da  
Universidade de São Paulo para obtenção do título  
de Doutor em Ciências

Programa de Cardiologia

Orientador: Prof. Dr. Alexandre da Costa Pereira

**São Paulo**

**2017**

**PÂMELA RODRIGUES DE SOUZA SILVA**

**Programa de seguimento de coorte de pacientes com  
hipercolesterolemia familiar na região metropolitana de São Paulo**

Tese apresentada à Faculdade de Medicina da  
Universidade de São Paulo para obtenção do título  
de Doutor em Ciências

Programa de Cardiologia

Orientador: Prof. Dr. Alexandre da Costa Pereira

**São Paulo**

**2017**

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)**

Preparada pela Biblioteca da  
Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

©reprodução autorizada pelo autor

Silva, Pâmela Rodrigues de Souza  
Programa de seguimento de coorte de pacientes  
com hipercolesterolemia familiar na região  
metropolitana de São Paulo / Pâmela Rodrigues de  
Souza Silva. -- São Paulo, 2017.  
Tese (doutorado) -- Faculdade de Medicina da  
Universidade de São Paulo.  
Programa de Cardiologia.  
Orientador: Alexandre da Costa Pereira.

Descritores: 1.Hipercolesterolemia familiar  
2.Doenças cardiovasculares 3.Programas de  
rastreamento 4.Lipoproteína de baixa densidade  
5.Caso índice 6.Doença genética

USP/FM/DBD-483/17

## **Dedicatória**

Aos meus pais com gratidão por sua compreensão, carinho e incansável apoio ao longo do período de elaboração deste trabalho.

## **Agradecimentos**

Ao Dr. Alexandre da Costa Pereira, pela excelência em ensinar e orientar.

À Dra Cinthia Elim Jannes que sempre esteve do meu lado nos momentos em que eu mais precisei.

Ao Professor Dr. José E. Krieger por permitir a execução deste trabalho no Laboratório de Cardiologia e Genética Molecular.

À equipe do Hipercol Brasil que se tornaram amigos que eu vou levar para toda a vida. Sem vocês esse trabalho não existiria.

À equipe médica do Ambulatório de Lípidos do InCor, em especial ao Dr. Raul Dias que foi um grande colaborador e professor deste projeto e de muitas outras atividades desenvolvidas.

A todos os funcionários e alunos do Laboratório de Genética e Cardiologia Molecular pela amizade.

À Ana Maria Piesco Moreira da Costa que foi uma grande amiga durante esses cinco anos de trabalho. Sempre me ouviu e soube usar as melhores palavras de ânimo e alegria! Sua amizade foi algo que eu conquistei nesses cinco anos e vou levar para sempre na minha vida.

Às meninas da secretaria da pós-graduação. Obrigado pela paciência, vocês sempre tiveram muita disponibilidade e paciência.

À Universidade de São Paulo (USP) pelas aulas e oportunidades que me proporcionaram.

A todos os pacientes incluídos no protocolo de pesquisa, sem eles nenhum trabalho seria realizado.

Aos meus pais, Gilberto Rodrigues da Silva e Maria Aparecida de Souza Silva. Sem dúvida sem vocês eu não teria chegado até aqui. Sem o suporte e orientações que vocês sempre me deram durante toda a minha vida eu não seria a pessoa e profissional que me tornei hoje.

Ao meu namorado, Danilo da Silva Nogueira, por todos esses anos juntos. Obrigada por sempre estar do meu lado me apoiando.

Por fim, agradeço a Deus por todo o caminho percorrido, é com muita fé em Ti que cheguei até aqui!

## **Normatização Adotada**

Esta tese está de acordo com as seguintes normas, em vigor no momento desta publicação:

Apresentação de dissertações e teses sob forma de compilação de artigos, aprovado em 16 de setembro de 2011, pela Comissão de Pós-Graduação da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.

Referências: adaptado de International Committee of Medical Journals Editors (Vancouver).

Abreviatura dos títulos dos periódicos de acordo com List of Journals Indexed in Index Medicus.

## Sumário

Dedicatória

Agradecimentos

Normatização Adotada

Sumário

Resumo

Abstract

1. INTRODUÇÃO.....	1
1.1 Hipercolesterolemia Familiar .....	1
1.2 Fisiopatologia da HF.....	2
1.3 Diagnósticos da HF.....	6
1.4 Rastreamento genético em cascata .....	9
1.5 Fatores de risco para DCV na HF .....	10
2. OBJETIVOS .....	12
2.1 Objetivo Geral.....	12
2.2 Objetivos Específicos .....	12
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	13
3.1 Desenho de estudo .....	13
3.2 População do estudo e critérios de inclusão .....	13
3.3 Coleta de dados .....	15
3.4 Análises de dados.....	16
4. RESULTADOS .....	17
5. ANÁLISE CRÍTICA .....	32
6. CONCLUSÃO.....	35
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	36
APÊNDICE	

## Resumo

Silva PRS. Programa de seguimento de coorte de pacientes com hipercolesterolemia familiar na região metropolitana de São Paulo [Tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2017.

**Introdução:** A Hipercolesterolemia Familiar (HF) é uma doença genética caracterizada clinicamente por elevados níveis de lipoproteína de baixa densidade (LDL-C) na corrente sanguínea desde a infância. Indivíduos que apresentam HF podem desenvolver doença aterosclerótica ainda em idade jovem. Os principais preditores de risco no desenvolvimento da doença cardiovascular (DCV) nesses indivíduos após entrarem em um programa de rastreamento genético não são conhecidos na nossa população. Além disso, a HF é subdiagnosticada e subtratada mundialmente e o rastreamento genético em cascata dos familiares tem sido mundialmente avaliado como o método diagnóstico mais custo. Contudo, a efetividade do rastreamento genético em cascata é dependente dos critérios clínicos de entrada do primeiro indivíduo da família e não há um consenso de qual critério apresenta a melhor acurácia para detecção de uma mutação. **Objetivos:** Identificar os fatores determinantes para ocorrência de eventos cardiovasculares (CV) em todos os indivíduos da coorte e avaliar o critério clínico para detecção de uma variante genética patogênica para HF, no primeiro indivíduo da família, após serem inseridos em um programa de rastreamento genético em cascata. **Métodos:** Estudo de coorte prospectiva aberta dos pacientes que foram inseridos no programa de rastreamento genético em cascata para HF. A população do estudo é definida como caso índice (CI), o primeiro da família a ser identificado clinicamente e encaminhado para o teste genético, e os familiares, que são os parentes de 1º grau do CI em que foi encontrada uma alteração genética. Todos os indivíduos são inseridos na coorte no momento em que recebem o laudo genético (tempo zero,  $T_0$ ). Um ano depois do  $T_0$  é realizado o primeiro contato telefônico, ou seja, primeiro ano de seguimento ( $T_1$ ) **Resultados:** No  $T_1$ , o total de 818 indivíduos foi incluído, sendo verificados 47 eventos CV, sendo 14 (29,7%) fatais. Para o CI, o único fator independente associado ao aumento do risco de eventos CV no  $T_1$  foi a presença de arco corneano (OR: 9,39; IC

95%: 2,46-35,82). Para os familiares com uma mutação positiva os fatores associados ao aumento do risco de eventos CV foram diabetes mellitus (OR: 7,97; IC 95%: 2,07-30,66) e consumo de tabaco (OR: 3,70; IC 95%: 1,09-12,50). Na análise do melhor critério clínico para detecção de uma mutação patogênica no CI os valores de LDL-C  $\geq$  230 mg/dL tiveram a melhor relação entre sensibilidade e especificidade. Na análise da curva ROC o escore *Dutch Lipid Clinic Network* (DLCN) apresentou melhor desempenho do que o LDL-C para identificar uma mutação, a área sob a curva ROC foi 0,744 (IC 95%: 0,704-0,784) e 0,730 (IC 95%: 0,687-0,774), respectivamente,  $p = 0,014$ . **Conclusão:** Em um ano de seguimento essa coorte identificou uma alta incidência de eventos CV após a entrada em um programa de rastreamento genético em cascata e os preditores dos eventos CV diferem entre CI e familiares. Esses resultados podem contribuir para o desenvolvimento de ações preventivas nesse grupo altamente susceptível de indivíduos. Além disso, devido a importância da detecção da mutação para um diagnóstico definitivo de HF e a importância da cascata ser custo efetiva o estudo identificou que o critério único do LDL-C  $\geq$  230 mg/dl é viável para indicar o CI para o teste genético.

**Descritores:** Hipercolesterolemia Familiar; Doenças Cardiovasculares; Programa de Rastreamento; Lipoproteína de Baixa Densidade; Caso Índice; Doença Genética.

## Abstract

Silva PRS. Program of follow-up of cohort of patients with familial hypercholesterolemia in the metropolitan region of São Paulo [Thesis]. São Paulo: "Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo"; 2017.

**Introduction:** Familial Hypercholesterolemia (FH) is a genetic disease characterized clinically by high levels of low density lipoprotein (LDL-C) in the bloodstream since childhood. Individuals with FH can develop atherosclerotic disease at a young age. The main predictors of cardiovascular disease (CVD) risk in these individuals after entering a genetic screening program are not known in our population. In addition, FH is underdiagnosed and undertreated worldwide and cascaded genetic screening of family members has been evaluated globally as the most cost effective for the diagnosis of FH. However, the effectiveness of cascading genetic screening is dependent on the clinical entry criteria of the first individual in the family and there is no consensus as to which criterion shows the best accuracy for detecting a mutation. **Objectives:** To identify the determinant factors for cardiovascular (CV) events in all individuals in the cohort and to evaluate the clinical criteria for detecting a genetic variant pathogenic to FH in the first individual of the family after being inserted into a genetic screening program in cascade. **Methods:** Open prospective cohort study of patients who were enrolled in the cascade genetic screening program for FH. The study population is defined as index case (IC), the first of the family to be clinically identified and referred to the genetic test, and relatives, who are the first-degree relatives of the IC in which a genetic alteration was found. All individuals are inserted into the cohort at the moment they receive the genetic report (time zero,  $T_0$ ). The first follow-up telephone contact is made one year after  $T_0$  (first year of follow-up,  $T_1$ ). **Results:** In  $T_1$ , a total of 818 subjects were included, and 47 CV events were verified, of which 14 (29.7%) were fatal. For IC, the only factor independently associated with the increased risk of CV events in  $T_1$  was the presence of a corneal arch (OR: 9.39; 95% CI: 2.46-35.82). For relatives with positive mutation, factors associated with increased risk of CV events were diabetes mellitus (OR: 7.97; 95% CI: 2.07-30.66) and tobacco consumption (OR: 3.70; 95% CI: 1.09-12.50). In the analysis of the best clinical criteria for the detection of a pathogenic

mutation in the IC, the LDL-C values  $\geq 230$  mg/dL had the best relationship between sensitivity and specificity. In the ROC curve analysis, the Dutch Lipid Clinic Network (DLCN) score performed better than LDL-C to identify a mutation, the area under the ROC curve was 0.744 (95% CI: 0.704-0.784) and 0.730 (CI 95 %: 0.687-0.774), respectively,  $p = 0.014$ . **Conclusion:** At one year follow-up this cohort identified a high incidence of CV events following entry into a cascade genetic screening program and the predictors of CV events differ between IC and family members. These results may contribute to the development of preventive actions in this group highly susceptible to individuals. In addition, because of the importance of detecting the mutation for a definitive diagnosis of HF and the importance of the cascade being cost effective, the study identified that the single LDL-C criterion  $\geq 230$  mg / dl is feasible to indicate IC for the genetic test.

**Descriptors:** Familial Hypercholesterolemia; Cardiovascular Diseases; Mass Screening; low density lipoprotein; index case; genetic disease.

## 1. INTRODUÇÃO

### 1.1 Hipercolesterolemia Familiar

A Hipercolesterolemia Familiar (HF) é uma doença genética, autossômica dominante, caracterizada clinicamente por elevados níveis de lipoproteína de baixa densidade (LDL-C) na corrente sanguínea. Os indivíduos com HF, na maioria dos casos, são expostos a níveis elevados de LDL-C desde a infância e/ou adolescência, por isso podem apresentar sinais clínicos que são característicos do acúmulo do colesterol como xantomas de tendão (acúmulo de colesterol nos tendões), xantelasmas (acúmulo de colesterol nas pálpebras) e arco corneano (quando ocorre em indivíduos com menos de 45 anos de idade)<sup>1</sup>. Quando presentes, esses sinais podem estar associados com doença aterosclerótica subclínica, principalmente a ocorrência de xantomas de tendão<sup>2,3</sup>.

A HF é na maioria dos casos autossômica dominante e ocorre principalmente por alterações no gene que codifica o receptor do LDL (LDLR) e, com menos frequência, mutações no gene que codifica a apolipoproteína B (APOB) e alterações que causam ganho de função no gene que codifica a pró-proteína convertase subutilisina/kexina tipo 9 (PCSK-9). A HF é subclassificada como heterozigótica ou homozigótica, que está relacionada com a presença de um ou dois alelos afetados nos genes citados acima, sendo a prevalência de cada forma variável em 1 a cada 500 e 1 a cada 1.000.000 de indivíduos, respectivamente<sup>4-6</sup>.

Na população que compõe a rede de HF Ibero-Americana são estimados cerca de 1,2 milhões de indivíduos com HF heterozigótica e apenas 27.400 indivíduos têm sido identificados com ambos diagnósticos, clínico e molecular. Na rede apenas quatro países (Brasil, Espanha, Uruguai e Portugal) apresentam um programa sistemático para captação e diagnóstico dos indivíduos com a doença<sup>7</sup>. No Brasil, o programa Hipercol Brasil, realiza desde 2011 o diagnóstico da doença através do rastreamento genético em cascata. A estimativa é que haja 670.000 indivíduos com HF no país e menos de 1% da população diagnosticada<sup>8</sup>.

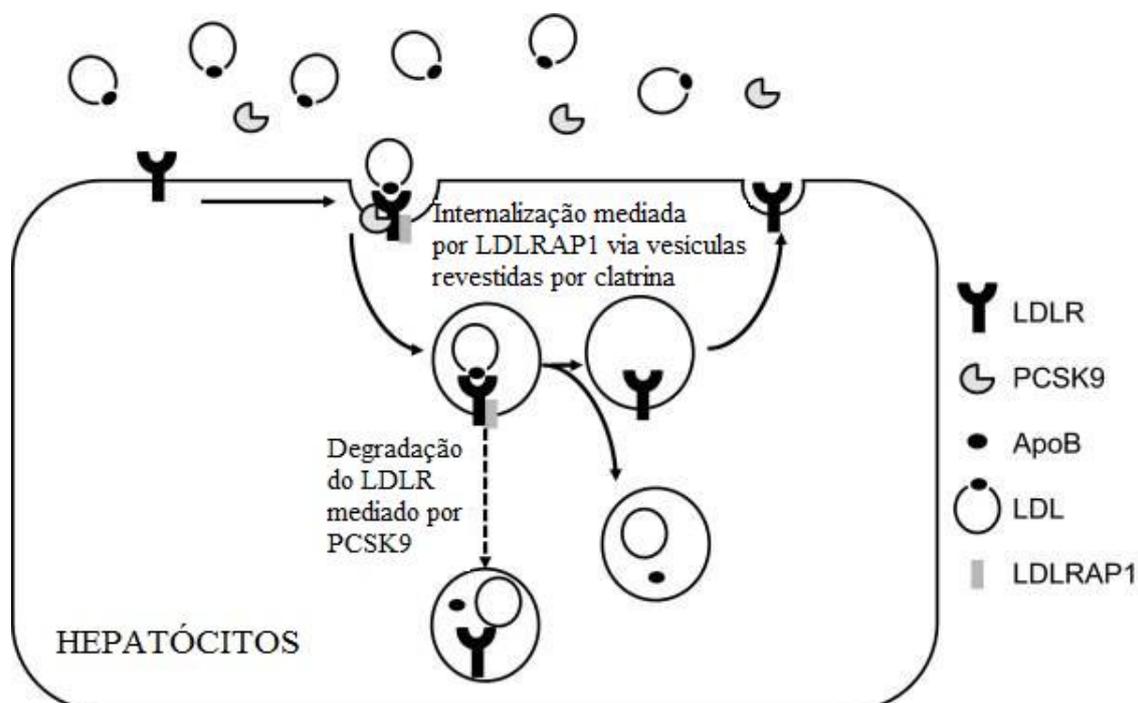
## 1.2 Fisiopatologia da HF

As dislipidemias são caracterizadas por alterações nos níveis de lipoproteínas ou de lipídeos circulantes na corrente sanguínea em consequência de fatores genéticos e/ou ambientais, que alteram sua produção ou catabolismo. As causas das dislipidemias podem ser primárias, secundárias ou ambas<sup>9,10</sup>.

Quando a causa é primária a base de sua fisiopatologia está relacionada a uma alteração genética que modifica os mecanismos normais de transporte ou função dos lipídeos no organismo, que em geral, apresentam níveis muito elevados de Colesterol Total (CT) (> 300 mg/dL) e LDL-C (>190mg/dl), sinais clínicos como xantomas de tendão (acúmulo de colesterol nos tendões), história familiar de dislipidemia, doença cardiovascular (DCV) precoce (homens com menos de 55 anos de idade e mulheres com menos de 60 anos de idade), e na maioria dos casos dificuldade em atingir níveis desejáveis de colesterol com uso de doses máximas dos fármacos para diminuição do colesterol. As dislipidemias secundárias apresentam múltiplas causas como o hipotireoidismo, diabetes, doença renal, alcoolismo, dieta alimentar e estilo de vida<sup>11</sup>. Ainda o HIV também pode ser uma causa da dislipidemia secundária devido tanto a infecção como também ao tratamento com antirretrovirais<sup>12</sup>.

Quando a dislipidemia ocorre por alterações genéticas, o aumento dos lipídeos pode ocorrer desde a infância, mas mesmo quando a dislipidemia começa no adulto jovem o tempo de exposição a níveis elevados de colesterol tem como consequência o desenvolvimento da aterosclerose precoce. A aterosclerose é a principal patogênese envolvida no desenvolvimento da DCV, devido ao acúmulo de lipídios e elementos fibrosos, as chamadas placas ateroscleróticas, nas artérias que dificultam o fluxo sanguíneo e até mesmo a sua obstrução. As placas ateroscleróticas podem apresentar intensa atividade inflamatória e a ruptura da mesma proporciona um fenótipo instável altamente trombogênico, levando ao processo conhecido como aterotrombose, sendo este um dos principais determinantes das manifestações clínicas da aterosclerose, e as dislipidemias, hipertensão arterial e tabagismo são os principais fatores de risco para início do processo de formação de placas ateroscleróticas<sup>13-15</sup>.

A HF é a dislipidemia primária mais comum<sup>16</sup>. A causa do aumento dos níveis de LDL-C está relacionada a alterações nos genes que codificam proteínas que participam do processo de endocitose da partícula de LDL-C. No processo normal, o LDLR facilita a remoção do LDL-C da corrente sanguínea para dentro da célula via APOB. As partículas de LDL-C se ligam aos receptores ativando o processo de internalização LDL/APOB/LDLR por hepatócitos via absorção que são mediados pela proteína adaptadora do receptor de LDL tipo 1 (LDLRAP1). Internalizado, o LDL-C se desliga do receptor, e então, o LDLR é degradado pela proteína PCSK9 ou é reciclado para superfície celular dos hepatócitos. De forma alternativa, o LDLR também pode ser degradado através da ligação PCSK9 exógeno na superfície celular e ser internalizado e degradado. Qualquer defeito nos genes que codificam as proteínas relacionadas ao processo de remoção do LDL do sangue, seja uma alteração funcional ou quantitativa, irá interferir no processo de depuração da partícula e resultará em hipercolesterolemia<sup>4,17,18</sup> (ver Figura 1).



Fonte: Ito e colaboradores (2015)<sup>19</sup>.

Figura 1 - Proteínas envolvidas no metabolismo das lipoproteínas.

Existem diferentes genes relacionados com a HF, e todos causam um defeito no processo de remoção do LDL-C do plasma sanguíneo. Além disso, todas as variantes genéticas apresentam alta variabilidade fenotípica, enfatizando a influência do ambiente (ex. dieta alimentar, estilo de vida) na condição clínica de cada indivíduo<sup>1,20,21</sup>.

Aproximadamente 90% dos casos de HF ocorrem por alterações no gene que codifica o LDLR. Atualmente são conhecidas cerca de 1.891 mutações nesse gene (<http://www.hgmd.cf.ac.uk/ac/search.php>). O gene LDLR está localizado no cromossomo 19, com 18 exons e 839 aminoácidos que formam a proteína do LDLR (OMIM 606945). Os indivíduos que apresentam mutação nesse gene na forma heterozigótica tem uma deficiência de 50% do LDLR, levando ao aumento de 2 vezes no número de partículas de LDL-C no sangue<sup>5,22</sup>.

As alterações nesse gene foram divididas em 5 classes, que estão relacionadas a funcionalidade do receptor<sup>23</sup>:

- Classe I, são geralmente mutações *nonsense*, grandes deleções e mutações na região do promotor do gene que resultam na ausência de síntese do LDLR;
- Classe II, causam o bloqueio completo (classe II a) ou parcial (classe II b) do transporte do LDLR do retículo endoplasmático para o aparelho de Golgi, que acaba por diminuir a quantidade de receptor na membrana plasmática;
- Classe III, resulta em um defeito no domínio de ligação do LDLR, dessa forma o LDL não se liga ao LDLR;
- Classe IV, nesse tipo de alteração o LDL e seu receptor se ligam corretamente, porém existe uma deficiência na internalização do LDL/LDLR pelas vesículas revestidas de clatrina para dentro da célula;
- Classe V, o processo de reciclagem do LDLR não é realizado efetivamente.

As classificações funcionais das alterações no gene do LDLR influenciam no fenótipo, ou seja, no perfil lipídico dos indivíduos com HF como também na resposta ao tratamento para redução dos níveis lipídicos. Em indivíduos que apresentam uma

alteração genética com alelo nulo (Classe I) o fenótipo, geralmente, é mais severo (elevados níveis de LDL-C e CT) quando comparados a alterações com alelos defeituosos (Classe II, III, IV e V)<sup>24,25</sup>.

As alterações que ocorrem no gene APOB correspondem a menos de 5% dos casos de HF. Ele está localizado no cromossomo 2, com 29 exons, dos quais o exon 26 (7.572 pares de base) é o maior e codifica mais da metade da proteína (OMIM 107730). O mesmo gene produz duas formas a apoB-48 e apoB-100. A apoB-48 é produzida pelo intestino delgado sendo necessária para produção dos quilomícrons. A apoB-100 é produzida no fígado e é a principal apolipoproteína que compõe a partícula de LDL, além disso, possui um domínio de ligação com o LDLR agindo como mediador para a ligação da partícula de LDL com o seu receptor para ser metabolizado para dentro da célula. Em um único processo de produção o gene APOB faz as duas isoformas com funções diferentes<sup>26,27</sup>.

Alterações nesse gene que estão relacionadas a HF são aquelas que causam defeitos no domínio de ligação do apoB-100 com o LDLR prejudicando o metabolismo do LDL aumentando a sua concentração no plasma sanguíneo. Contudo, a HF causada por esse gene apresenta um fenótipo menos grave, sendo que as concentrações plasmáticas de LDL-C geralmente estão abaixo do percentil 95 da população em mais de 25% dos heterozigotos e os homozigotos possuem concentrações plasmáticas de LDL-C mais comparáveis a HF heterozigótica<sup>26-29</sup>.

Estudos realizados com o gene APOB descrevem a hipótese de que os níveis de LDL-C menores do que em outras formas de HF ocorra devido ao caminho alternativo da metabolização da partícula de LDL através da apolipoproteína E (ApoE) presente nas lipoproteínas de densidade intermediária (IDL) na superfície celular que também é um ligante para o LDLR. No entanto, esses pacientes podem ter uma concentração aumentada de pequenas partículas densas de LDL, que são as partículas mais aterogênicas, portanto eles apresentam um risco cardiovascular elevado<sup>30,31</sup>.

O gene PCSK9 é formado de 12 exons, com 3.617 pares de base, produz uma proteína com 692 aminoácidos (OMIM 607786). A frequência de HF causada por esse gene corresponde a menos de 1% dos casos. O gene é expresso em maior quantidade no

fígado, intestino delgado e nos rins. Uma mutação que aumenta a atividade do gene gera uma proteína PCSK9 com ganho de função que aumenta a degradação do LDLR, diminuindo o número de receptores na membrana plasmática prejudicando o metabolismo do LDL-C, aumentando a sua concentração no plasma sanguíneo<sup>4,32</sup>. Algumas alterações genéticas nesse gene que causam perda de função na proteína foram associadas a diminuição de risco de DCV. Por isso, atualmente, a inibição da PCSK9 tem sido um importante alvo terapêutico para hipercolesterolêmicos, já que a sua inibição aumenta o número de LDLR<sup>33,34</sup>.

A HF mais frequente é autossômica dominante, como os genes citados acima, porém tem se considerado uma outra forma de HF autossômica recessiva, com uma frequência rara, que ocorre devido a alterações no gene que codifica a LDLRAP1. O gene *LDLRAP1* é formado por 9 exons e dá origem a uma proteína de 308 aminoácidos (OMIM 605747). Somente pacientes que apresentam mutações no gene *LDLRAP1* na forma homozigótica ou heterozigoto composto é que vão apresentar fenótipo da doença; quando presentes na forma heterozigótica simples estes indivíduos são considerados apenas portadores da alteração genética, não apresentam hipercolesterolemia. Além disso, apresentam níveis de LDL-C e risco de DCV menores do que os homozigotos com alteração no gene *LDLR*<sup>35-37</sup>.

### 1.3 Diagnósticos da HF

O diagnóstico e o tratamento precoce da HF são importantes para prevenção de DCV que ocorrem devido aos níveis elevados de LDL-C. Indivíduos com HF heterozigótica quando não tratados podem apresentar DCV aos 30 anos de idade, que muitas vezes levam a óbito o adulto jovem. Na população geral, dos indivíduos com menos de 60 anos de idade cerca de 5% dos casos de Infarto Agudo do Miocárdio apresentam HF heterozigótica<sup>5,6,38</sup>.

O diagnóstico clínico pode ser realizado com base nos seguintes critérios: elevados níveis de LDL-C ( $\geq 190$  mg/dl em adultos e  $170 \geq$  mg/dl em crianças);

presença de xantomas de tendão, arco corneano (< 45 anos de idade) e xantelasma, que nem sempre estão presentes mas são indicativos importantes de HF; DCV precoce (homens com menos de 55 anos de idade e mulheres com menos de 60 anos de idade); histórico de familiar de primeiro grau com hipercolesterolemia e DCV precoce. Durante o diagnóstico clínico é importante investigar causas secundárias de dislipidemias, como hipotireoidismo, alterações nas funções renais e qualquer outra condição que possa aumentar os níveis de LDL-C<sup>22</sup>.

Na literatura existem ferramentas padronizadas para o diagnóstico clínico, como *Dutch Lipid Clinic Network (DLCN)*<sup>39</sup>, descrito na Quadro 1, *US Make Early Diagnosis Prevent Early Death (MEDPED)*<sup>40</sup> e *Simon Broome Register Group*<sup>41</sup>.

O critério MEDPED<sup>40</sup> é fundamentado por grupos de idade e grau de parentesco com o indivíduo com HF utilizando pontos de cortes de LDL-C e CT específicos para cada grupo. Esse critério não leva em conta a presença de sinais clínicos como xantomas de tendão, arco corneano e a ocorrência de DCV.

O diagnóstico do *Simon Broome*<sup>41</sup> é baseado nos níveis de LDL-C e CT (CT  $\geq$  290 mg/dl ou LDL-C  $\geq$  190 mg/dl em adultos, e para crianças com menos de 16 anos de idade CT  $\geq$  260 mg/dl ou LDL-C  $\geq$  160 mg/dl), sendo utilizado os níveis sem tratamento com hipolipemiantes ou mais alto durante o tratamento; presença de sinais clínicos como os xantomas de tendão no paciente ou em parentes de 1º grau; histórico familiar de DCV precoce e hipercolesterolemia. No final o critério classifica o indivíduo como definitivo ou provável, dependendo do somatório dos critérios apresentados.

Quadro 1 – Critério diagnóstico para Hipercolesterolemia Familiar adaptado do DLCN<sup>39</sup>.

Parâmetros	Pontos
<b>Histórico Familiar</b>	
Parente de 1º grau portador de doença vascular/coronária prematura (homem < 55 anos, mulher < 60 anos) OU	1
Parente adulto de 1º ou 2º grau com LDL ≥190 mg/dL	
Parente de 1º grau portador de xantoma tendinoso e/ou arco corneano OU	2
Parente de 1º grau < 16 anos com LDL ≥ 160 mg/dL	
<b>História Clínica</b>	
Paciente portador de doença arterial coronária prematura (homem < 55 anos, mulher < 60 anos)	2
Paciente portador de doença arterial cerebral ou periférica prematura (homem < 55 anos, mulher < 60 anos)	1
<b>Exame Físico</b>	
Xantoma de tendão	6
Arco corneano < 45 anos de idade	4
<b>Nível de LDL-C (mg/dl)</b>	
≥ 330 mg/dl	8
250 a 329 mg/dl	5
190 a 249 mg/dl	3
155 a 189 mg/dl	1
<b>Análise do DNA</b>	
Presença de mutação funcional do gene do receptor de LDL, da apoB100 ou da PCSK9	8
<b>Diagnóstico de HF</b>	
Certeza se	> 8 pontos
Provável se	6 a 8 pontos
Possível se	3 a 5 pontos

Fonte: WHO, 1999<sup>39</sup>

Todos esses critérios diagnósticos, citados anteriormente, recomendam que os indivíduos que são definidos clinicamente como definitivo ou provável para HF sejam encaminhados para o diagnóstico molecular<sup>42</sup>. Contudo, não há critérios clínicos que predizem de forma absoluta a HF e nem há um consenso de qual critério teria melhor aplicabilidade. O diagnóstico clínico nem sempre se caracteriza como possível principalmente em crianças com HF heterozigótica<sup>43</sup>. Além disso, o custo do teste genético ainda é dispendioso, por isso vários países têm buscado desenvolver algoritmos que apresentem uma boa acurácia e garantam que esses testes sejam usados efetivamente<sup>44-47</sup>.

A identificação de uma mutação permite um diagnóstico mais preciso da HF, que não são possíveis apenas com os níveis lipídicos e critérios clínicos. Além disso, tem importantes implicações clínicas, pois permite a aplicação de medidas preventivas e terapêuticas adequadas minimizando os riscos de DCV precoce. Contudo o teste genético ainda não é acessível para a população geral na maioria dos países<sup>6,48,49</sup>.

#### 1.4 Rastreamento genético em cascata

A estratégia de rastreamento genético em cascata tem se apresentado como uma ferramenta mais efetiva e econômica para o diagnóstico dos indivíduos com HF. Na triagem em cascata, um paciente índice é inicialmente diagnosticado clinicamente empregando um dos critérios clínicos citados anteriormente ou algum critério já padronizado pelo programa. Após o teste genético, é confirmada a presença ou ausência de uma mutação. Quando o paciente índice apresenta uma mutação é iniciado o rastreamento genético nos seus parentes de primeiro grau para procurar novos casos de HF. Os seus familiares de primeiro grau apresentam 50% de chances de ter a doença<sup>8,50-52</sup>.

O rastreamento genético em cascata é considerado o método de melhor custo benefício para diagnóstico da HF, pois permite a identificação de indivíduos com a doença ainda jovens sendo economicamente e socialmente benéfico, pois trás efeitos

direto na morbidade e mortalidade nesses indivíduos que apresentam maior risco para DCV<sup>52,53</sup>.

Mesmo sendo custo efetivo o rastreamento em cascata não é capaz de identificar todos os indivíduos com HF, por isso tem sido discutido o rastreamento universal, no qual toda a população é rastreada de forma sistemática com base nos valores de colesterol. Não há informações sobre a implementação desse método em algum programa de HF. Contudo, tem sido crescente a discussão do desenvolvimento do rastreamento universal dos níveis lipídicos, principalmente, com as crianças e adolescentes buscando identificar os indivíduos que terão maior risco de desenvolver DCV precoce. Porém, o rastreamento universal tem como principal desvantagem o elevado custo e o alto número de indivíduos falsos positivos, além das questões éticas que envolvem o rastreamento com as crianças, principalmente relacionadas com o uso de medicamentos hipolipemiantes em idade precoce<sup>50,54,55</sup>.

No Brasil os primeiros estudos com HF foram realizados com um pequeno número de indivíduos buscando apenas identificar a origem étnica das mutações encontrada nesses indivíduos<sup>56,57</sup>. Em seguida, outro grupo desenvolveu um estudo, identificando clinicamente e molecularmente 156 indivíduos com HF, onde concluíram que mutações no gene LDLR podem influenciar na resposta ao tratamento para diminuir os níveis lipídicos<sup>58</sup>. Atualmente, o Hipercol Brasil, programa de rastreamento genético em cascata para HF, já identificou molecularmente 125 casos índices com HF, sendo encontrada uma mutação para HF em 59,4% dos familiares rastreados. Esses dados mostram que o rastreamento em cascata no Brasil é viável e constitui em um método satisfatório para identificação dos familiares<sup>8</sup>.

### 1.5 Fatores de risco para DCV na HF

Indivíduos com HF são expostos por longo tempo a níveis elevados de LDL-C ( $\geq 190$  mg/dl) por isso o risco de desenvolverem aterosclerose ainda na idade do adulto

jovem e, conseqüentemente, um evento cardiovascular (CV) é dez vezes maior que a população geral. A aterosclerose é o principal fator para o desenvolvimento de DCV nesses indivíduos<sup>13,14,59,60</sup>.

O nível de LDL-C dos pacientes que apresentam HF constitui no fator preditivo de maior importância para ocorrência do evento CV ao longo da vida<sup>61</sup>. Embora a mutação seja provavelmente o fator mais importante na expressão clínica da HF, pois determina os níveis elevados de LDL-C, a interação de fatores ambientais também vão influenciar para aumento do risco de DCV<sup>62</sup>.

O uso de tabaco é uma condição que agrava o prognóstico clínico do indivíduo com HF. Um estudo realizado com a coorte de HF na Holanda verificou que os indivíduos que eram fumantes apresentaram maior ocorrência de eventos CV do que os não fumantes e que após o cessamento do uso do tabaco por 6 a 9 anos houve um decréscimo significativo no risco de DCV<sup>63</sup>. Outros preditores para ocorrência de eventos CV que são importantes de serem identificados e prevenidos nesses indivíduos são hipertensão arterial, aumento do índice de massa corporal, níveis baixos de HDL-C. Esses fatores de riscos citados contribuem para o aumento da incidência de DCV nesses indivíduos, contudo pouco se sabe dos efeitos da entrada desses pacientes em uma coorte de rastreamento genético<sup>64,65</sup>.

## 2. OBJETIVOS

### 2.1 Objetivo Geral

Identificar os fatores determinantes para ocorrência de eventos CV em todos os indivíduos da coorte e avaliar o critério clínico para detecção de uma variante genética patogênica para HF, no primeiro indivíduo da família, após serem inseridos em um programa de rastreamento genético em cascata.

### 2.2 Objetivos Específicos

1. Analisar a incidência de eventos CV nos indivíduos que entraram no programa, em 1 ano de seguimento
2. Avaliar os preditores de eventos CV após um ano de seguimento, em uma população atendida por um programa de rastreamento genético de HF.
3. Comparar os critérios clínicos de entrada do CI para o programa de rastreamento genético de HF já padronizado na literatura com o critério adotado pelo programa.
4. Definir a aplicabilidade do critério utilizado pelo programa para identificar uma mutação no CI, com base nos indivíduos já inseridos na coorte através de balanço entre sensibilidade e especificidade de cada ponto de corte definido;

### 3. MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1 Desenho de estudo

Estudo de coorte prospectiva aberta dos pacientes que foram inseridos no programa de rastreamento genético em cascata para Hipercolesterolemia Familiar (Programa Hipercol Brasil)<sup>8</sup>. O estudo foi realizado no Laboratório de Genética e Cardiologia Molecular no Instituto do Coração (InCor) da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (FMUSP). O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética (CAPPesq número 3757/12/013).

#### 3.2 População do estudo e critérios de inclusão

Os indivíduos que apresentam diagnóstico clínico de HF, ou seja, apresentam LDL  $\geq$  210 mg/dl e histórico familiar de DCV precoce são encaminhados para o Programa Hipercol Brasil. Os indivíduos foram encaminhados do Ambulatório de Lípidos do InCor, das Unidades Básicas de Saúde de São Paulo, dos centros parceiros e através do site (<http://www.hipercolesterolemia.com.br/>). Os indivíduos quando acessam o site do programa respondem um questionário que gera uma pontuação que irá classifica-lo como possível caso de HF. Essas questões são enviadas para o e-mail do programa. Caso a pontuação classifique esse indivíduo como possível caso de HF é solicitado por email um contato de telefone, e então ele é convocado para participar do programa de rastreamento.

Os indivíduos encaminhados ou convocados são denominados de Caso Índice (CI), primeiro indivíduo da família a entrar no programa, e são orientados, por profissionais treinados, sobre a importância da identificação e do rastreamento genético para HF e da posterior identificação de seus familiares de primeiro grau caso ele apresente uma mutação. Nesta ocasião é aplicado e solicitado que o participante da pesquisa leia o termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE), e se o indivíduo optar pela participação no estudo é, então, realizada a coleta de material biológico, aplicação de questionário de identificação, avaliação de risco cardiovascular e anamnese clínica completa.

Após o resultado genético, o CI é convocado para retornar ao programa, onde só então é entregue o laudo com o resultado do seu exame. Quando o CI é positivo, ou seja, apresenta uma mutação já definida como causadora de HF, novamente é esclarecido a importância do rastreamento em cascata dos familiares e, então, o programa solicita autorização para o contato com os familiares de primeiro grau. Os familiares de primeiro grau são contatados por telefone para participar do programa e são orientados sobre a importância do rastreamento, visto que, os familiares com laudo genético positivo serão então convocados seus familiares de primeiro grau e assim por diante. Quando o CI apresenta um exame genético negativo (não foi encontrada nenhuma mutação relacionada a HF) não é realizado a cascata genética, porém ele é orientado sobre a importância do acompanhamento ambulatorial pois o resultado não descarta o diagnóstico clínico de HF e, também, a importância de seus familiares realizarem periodicamente exames de acompanhamento do seu colesterol.

Os indivíduos positivos para HF se caso aceitarem são matriculados, acompanhados e tratados no Ambulatório de Dislipidemia do Instituto do Coração (InCor/HCFMUSP) pelo Sistema Único de Saúde (SUS), quando residem em São Paulo. Pacientes de centros parceiros são tratados pelos próprios centros de origem e os outros pacientes são encaminhados para seus médicos particulares ou para posto de saúde de referência.

Todos os indivíduos com mais de 15 anos de idade, inseridos no programa de rastreamento genético em cascata, estão participando do estudo de seguimento, sendo inseridos na coorte no momento em que recebem o laudo genético (tempo zero,  $T_0$ ). Os

indivíduos são: os CI e familiares com diagnóstico molecular positivo para HF; os CI e familiares com diagnóstico molecular negativo.

### 3.3 Coleta de dados

Após um ano da entrega do laudo genético foi realizado o contato telefônico com o paciente (1º seguimento, T<sub>1</sub>). O contato telefônico é o momento em que se realiza a coleta de dados dos pacientes incluídos no estudo, que ocorre através da aplicação de um questionário padronizado. Em alguns casos, quando possível, a coleta de dados foi realizada pessoalmente.

As questões irão fornecer informações sobre os exames bioquímicos atuais; acompanhamento com médico especialista, inquirindo sobre quantas vezes ele procurou um médico especialista no último ano; ocorrência de internação no último ano, independente da causa; qual medicamento o paciente está utilizando; com relação ao medicamento hipolipemiante será questionado se houve alterações na dose e no medicamento, e adesão ao tratamento (quantas vezes esquece de tomar o medicamento); surgimento de fatores de risco adicionais para DCV como: hipertensão arterial, diabetes e tabagismo; realização de atividade física (frequência por semana e horas por dia); ocorrência de eventos CV novos, fatais e não fatais, sendo definido: infarto agudo do miocárdio, angina com hospitalização, cirurgia de revascularização, acidente vascular cerebral isquêmico, angioplastia coronariana, insuficiência cardíaca congestiva. Em caso de falecimento do indivíduo participante do estudo é solicitado por telefone, por algum membro da família, a causa da morte conforme descrito no atestado de óbito e data e local do falecimento. O questionário está apresentado no Apêndice.

No estudo, o perfil lipídico dos indivíduos, exames de imagem como cintilografia, eletrocardiograma, eco cardiograma, cateterismo cardíaco, Angiotomografia computadorizada e/ ou score de cálcio, ecodoppler de carótidas são

obtidos dos prontuários médicos do InCor ou são solicitados o envio por email, quando não realizados no InCor, com prévio consentimento do paciente.

### 3.4 Análises de dados

Foram realizados nos primeiros resultados uma análise descritiva das variáveis. Para as variáveis contínuas foram calculados a média e o desvio-padrão. As variáveis categóricas foram calculadas como frequências. As diferenças entre as frequências foram comparadas pelo teste do qui-quadrado. As diferenças entre as médias foram comparadas através do teste t ou análise variância (ANOVA) se necessário. Foi considerado significativo um p valor  $< 0,05$ . A análise de regressão logística foi realizada para determinar variáveis preditoras independentes. A magnitude da associação foi estimada pelo *Odds Ratio* (OR) com intervalo de confiança de 95% (IC 95%). Foi realizada análise de sensibilidade, especificidade, valor preditivo positivo e valor preditivo negativo para avaliar o melhor critério clínico para diagnóstico da HF. No primeiro ano de seguimento, um total de 818 indivíduos foi inserido no estudo sendo 299 CI (167 CI com mutação positiva e 132 CI sem mutação) e 519 familiares (348 familiares com mutação positiva e 171 sem mutação) que foram apresentados no primeiro artigo. No segundo artigo, para análise de padronização do critério de entrada do CI para o estudo genético foram utilizados todos os CI que estavam no T<sub>0</sub>, mesmo que ainda não havia sido realizado o primeiro contato telefônico do seguimento, sendo um total de 257 CI com mutação e 496 CI sem mutação. Todos os dados dos indivíduos foram obtidos do Programa Hipercol Brasil com autorização dos mesmos após assinatura do TCLE. Todas as análises estatísticas foram realizadas utilizando o programa *Statistical Package for the Social Sciences* (SPSS versão 13.0).

## **4. RESULTADOS**

### **Artigo 1**

**Atherosclerosis. 2016; (250): 144 - 150**

#### **Preditores dos eventos cardiovasculares após um ano de rastreamento molecular para Hipercolesterolemia Familiar.**

Este estudo relata o primeiro ano de seguimento dos indivíduos inscritos no programa de rastreamento genético em cascata para HF no Brasil, um ano depois de receberem seus resultados de testes genéticos. Diferente dos estudos já realizados, esta não é uma descrição única de eventos CV iniciais em uma coorte de pacientes com HF, visto que estamos seguindo todos os indivíduos que foram submetidos a uma triagem genética, nossos resultados nos permitem obter estimativas de risco para uma variedade mais ampla de subgrupos de risco que são comumente vistos neste tipo de programa. Conforme relatado, um alto risco de eventos CV não é apenas visto em CI mas também nos familiares com mutação, contudo os preditores dos eventos CV são diferentes para cada grupo de indivíduos.



## Predictors of cardiovascular events after one year of molecular screening for Familial hypercholesterolemia



Pâmela R.S. Silva<sup>a,\*</sup>, Cinthia E. Jannes<sup>a</sup>, Julia D.C. Marsiglia<sup>a</sup>, Jose E. Krieger<sup>a</sup>, Raul D. Santos<sup>b</sup>, Alexandre C. Pereira<sup>a</sup>

<sup>a</sup> Laboratory of Genetics and Molecular Cardiology, Heart Institute (InCor), University of São Paulo Medical School Hospital, São Paulo, Brazil

<sup>b</sup> Lipid Clinic, Heart Institute (InCor), University of São Paulo Medical School Hospital, São Paulo, Brazil

### ARTICLE INFO

#### Article history:

Received 17 March 2016

Received in revised form

9 May 2016

Accepted 11 May 2016

Available online 15 May 2016

#### Keywords:

Familial hypercholesterolemia

Cascade screening

Cardiovascular diseases

Cardiovascular disease predictors

Index patient

### ABSTRACT

**Background and aims:** This study reports the first year follow-up of individuals enrolled in Brazil's genetic cascade screening program for Familial Hypercholesterolemia (FH), Hipercol Brasil. Predictors for the occurrence of cardiovascular (CV) events in individuals screened for FH were studied. **Methods:** This is an open prospective cohort of individuals who were included in a cascade genetic screening program for FH. The first prospective follow-up was carried out one year after patients received their genetic test result. Individuals included in this study were index cases (proband) and relatives with identified (M+) or not genetic mutations (M-). Logistic regression analysis was performed to determine predictive variables for the occurrence of CV events censored at one-year of follow-up.

**Results:** A total of 818 subjects were included, 47 first CV events were ascertained, with 14 (29.7%) being fatal. For index cases, the only factor independently associated with increased risk of CV events was the presence of corneal arcus (OR: 9.39; 95% CI: 2.46–35.82). There was an inverse association of CV events with higher HDL-cholesterol levels (OR: 0.95; 95% CI: 0.90–0.99). For M+ relatives, risk factors associated with increased CV events risk were diabetes mellitus (OR: 7.97; 95% CI: 2.07–30.66) and tobacco consumption (OR: 3.70; 95% CI: 1.09–12.50).

**Conclusions:** A high one-year incidence of CV events was found in this cascade-screening cohort. Predictors of events differed between index cases and relatives and can be useful for the development of preventive efforts in this highly susceptible group of individuals.

© 2016 Elsevier Ireland Ltd. All rights reserved.

### 1. Introduction

Familial hypercholesterolemia (FH) is an autosomal dominant disease clinically characterized by elevated levels of serum low-density lipoprotein-cholesterol (LDL-C) and the occurrence of early cardiovascular disease (CVD) [1–5]. The worldwide prevalence varies from 1:200 to 1:500 in the heterozygous form. The homozygote form is rare and its prevalence is around 1:300,000–1,000,000. In Brazil, it is estimated that there are 402,000 to 670,000 cases of FH and less than 1% are diagnosed and treated appropriately [6–8].

HipercolBrasil program [7] is a nation-wide initiative to provide molecular FH screening for in-risk probands and first-degree

relatives. Initially, the Index Case (IC) is clinically identified (LDL-C  $\geq$  210 mg/dL without lipid-lowering drugs) and molecularly tested for a mutation in one of the three known genes that cause heterozygous FH (*LDLR*, *PCSK9* and *APOB*). Once a mutation is detected in an IC, all first-degree relatives (regardless of their cholesterol levels) are invited to participate in the screening program. First-degree relatives have a 50% chance of having the disease [8,9].

FH patients are at high risk for early cardiovascular disease (CVD), since they are exposed to elevated LDL-C levels since birth [10,11]. The risk of cardiovascular (CV) events in these patients may be increased by 20 times if FH is not diagnosed and treated properly [11]. Other factors may increase the risk of CV events in these individuals, such as smoking, hypertension, diabetes, high body mass index (BMI), family history of premature CVD and low levels of HDL cholesterol (HDL-C) [12–16]. However, most studies evaluating the impact of risk factors in FH patients included only probands and

\* Corresponding author. Av. Dr. Enéas de Carvalho Aguiar, 44 – Cerqueira Cesar, São Paulo, SP, 05403-900, Brazil.

E-mail address: [pam\\_r\\_s@usp.br](mailto:pam_r_s@usp.br) (P.R.S. Silva).

were derived from retrospective or cross sectional evaluations, thus making the predictors of CV events in relatives still uncertain. In addition, it is tempting to speculate that clinical and demographic determinants of cardiovascular events will vary depending on the final result of the molecular screening program and that this may have important consequences for the care of these individuals. Therefore, the aim of this study was to identify the main CV event predictors in individuals included in a cascade screening cohort for FH, for both probands and relatives.

## 2. Materials and methods

### 2.1. Study design

This study evaluated prospectively a cohort of patients who were included in the genetic cascade screening program, HipercolBrasil [7] and was conducted at the Laboratory of Genetics and Molecular Cardiology of the Heart Institute (InCor), University of São Paulo Medical School Hospital, São Paulo, Brazil. The study was approved by the Institutional Ethics Committee (CAPPesq number 3757/12/013).

### 2.2. Study population and inclusion criteria

The cascade screening program for FH was previously reported by Jannes et al. [7] Index Cases (IC) and relatives summoned by HipercolBrasil program were oriented by trained professionals about the importance of familial genetic screening and written informed consent was obtained from all IC and relatives. For underage individuals (<18 years old), written informed consent was obtained from their legal responsible. The genetic test results were delivered privately in the presence of patients only. In that occasion, patients were instructed about the genetics of FH and the importance of mutation detection. Along with the report, participants received informative folders about FH, cardiovascular disease and the importance of cholesterol control. All patients who agreed to enter the program were registered in the Lipid Clinic of the Heart Institute (InCor/HC-FMUJSP), which is the reference tertiary center for treatment and follow-up.

Individuals older than 15 years which were participating in the cascade-screening program were included in the follow-up study once they received the genetic screening report (T0). Study subjects were: IC with suggestive clinical and presenting a definitive genetic diagnosis of FH (M+); IC with suggestive clinical diagnosis but no identified mutations (M-); and relatives with and without identified causal mutations (rM+ and rM-, respectively). Although it is not expected that rM-present a higher risk for CV events when compared to M+ or rM+, these were maintained in the follow-up study so we could assess whether they indeed present no higher risk for CV events, as well to serve as a family-adjusted control group.

### 2.3. One-year follow-up

To collect data from individuals included in the study, a standardized questionnaire was applied by phone by a trained professional one year after the patient received the result of the genetic test. The follow-up questionnaire ascertained whether the patient presented or not a cardiovascular event during the follow-up. In addition, the questionnaire inquired about previous CVD; presence of risk factors for atherosclerosis; history of early CVD in first-degree relatives (e.g. male <55 and female <60 years-old); current biochemical exams; follow-up with specialists; which medication the patient was using and if there were changes in prescription; adherence to treatment; onset of additional risk

factors for cardiovascular events (hypertension, diabetes, smoking); physical activity, and patient's general health. Incomplete treatment adherence was defined as patients failing to take their medication at least 5 times a month.

First cardiovascular events during follow-up were defined as: acute myocardial infarction, unstable angina with hospitalization, coronary angioplasty, coronary artery bypass surgery, ischemic stroke, ischemic heart disease, or congestive heart failure. Cardiovascular events, plasma lipids, presence of CVD risk factors, and use of lipid-lowering drugs were adjudicated from patients' medical records.

### 2.4. Statistical analysis

All statistical analyses were performed using the Statistical Package for Social Sciences (SPSS version 13.0). Initially, a descriptive analysis of the variables was carried out. For continuous variables the mean and standard deviation were calculated. Categorical variables were calculated as frequencies. The differences between frequencies were compared using the chi-square test. The differences between means were compared with Student *t* or Analysis of variance (ANOVA) tests if necessary. Significance was considered at a *p* value < 0.05. The logistic regression analysis was performed to determine predictive variables for the occurrence of CV events. The magnitude of the association was estimated using the odds ratio (OR) with 95% confidence intervals (95% CI).

## 3. Results

### 3.1. Clinical and laboratory parameters

A total of 818 subjects were included in the study. Tables 1 and 2 show clinical and laboratory characteristics of the subjects in the first year of follow-up, respectively. Of all ICs (*n* = 299) included in the analysis, 167 (55.8%) were M+ while 132 were M-. Of interest, after one year of follow-up, although 11% of M- IC had their dose of lipid-lowering agents increased, overall this group presented a trend for decrease in the prevalence of lipid-lowering treatment (LLT). For M+, in 18.5% the prescribed doses were increased, without a significant change in the overall prevalence of LLT.

Regarding the lipid profile, Table 2 shows that both M+ and M- IC presented a decrease in total and LDL-C, and an increase in HDL-C levels after one year (*p* < 0.05).

The numbers of relatives included in the analysis were 348 rM+ (67%) and 171 rM-. Table 1 shows that rM+ had an increase in the prevalence of diabetes diagnosis, in the use of lipid-lowering drugs and a decrease in tobacco consumption (*p* < 0.05) after one year. Among rM+ individuals that were under LLT during the follow-up, 29.8% presented changes in the drug dosage (21.2% with dose increase). However, of all patients under LLT 25.1% reported incomplete adherence to treatment. Table 2 shows that there was no significant alteration in lipid profile of relatives after one year.

### 3.2. Cardiovascular events during follow-up

During follow-up a total of 47 first new CV events occurred, being 33 (70%) nonfatal: 21.2% myocardial infarction, 15.5% angina, 12.1% coronary artery bypass surgery, 24.2% coronary angioplasty, 12.1% congestive heart failure, 3% ischemic stroke, and 10% ischemic heart disease. Fourteen events (30%) were fatal: 71.4% myocardial infarction, 21.4% congestive heart failure, and 7.1% ischemic stroke. Of all CV events (fatal or non-fatal) in the group of mutation positive individuals (IC and relatives) 24.3% refer to coronary angioplasty and 10.8% to coronary artery bypass surgery.

A total of 37 (7.2%) and 10 (3.3%) events occurred respectively in

**Table 1**

Clinical characteristics of index cases presenting or not familial hypercholesterolemia causing mutations (M +, n = 167; M –, n = 132) and their respective relatives (M +, n = 348; M –, n = 171) at the time of genetic test result deliver (T<sub>0</sub>) and one-year follow-up (T<sub>1</sub>).

	Mutation +				Mutation –					
	T <sub>0</sub>	n	T <sub>1</sub>	n	p value	T <sub>0</sub>	n	T <sub>1</sub>	n	p value <sup>b</sup>
<b>Index cases</b>										
Age (years)	50 ± 16	167	52 ± 15	167	0.01	56 ± 12	132	57 ± 12	132	0.01
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	27 ± 5	134	27 ± 4	134	0.42	28 ± 4	129	27 ± 5	129	0.07
Hypertension (%)	28.7	48	31.1	52	0.52	49.6	66	51.1	68	0.75
Diabetes (%)	8.4	14	11.4	19	0.30	16.5	22	22.6	30	0.20
Tobacco consumption										
Current	6.0	10	5.4	9		18.0	24	15.8	21	
Former	28.7	48	29.3	49	0.96	31.6	42	33.8	45	0.85
Never	51.5	86	50.3	84		48.9	65	48.1	64	
Pharmacological treatment <sup>a</sup> (%)	80.8	135	90.4	151	0.97	89.5	119	83.5	111	0.06
<b>Relatives</b>										
Age (years)	46 ± 17	348	48 ± 16	348	0.01	47 ± 16	171	49 ± 17	171	0.01
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	26 ± 5	333	26 ± 5	333	0.68	28 ± 14	162	27 ± 6	162	0.19
Hypertension (%)	30.5	106	32.8	114	0.47	25.0	43	25.0	43	0.94
Diabetes (%)	9.8	34	14.9	52	0.03	9.9	17	12.2	21	0.46
Tobacco consumption										
Current	12.1	42	8.6	30		9.3	16	9.3	16	
Former	21.0	73	24.7	86	0.21	23.3	40	23.8	41	0.99
Never	66.4	231	65.5	228		67.4	116	66.9	115	
Pharmacological treatment <sup>a</sup> (%)	68.7	239	79	275	0.04	25.6	44	23.8	41	0.11

<sup>a</sup> Medications for cholesterol treatment were statins, ezetimibe, resins, fibrates and niacin.

<sup>b</sup> p value < 0.05.

**Table 2**

Plasma lipids of index cases presenting or not familial hypercholesterolemia causing mutations (M +, n = 167; M –, n = 132) and of their relatives (M +, n = 348; M –, n = 171) at the period of genetic test result deliver (T<sub>0</sub>) and at 1 year follow-up (T<sub>1</sub>).

	Mutation +				Mutation –			
	T <sub>0</sub>	T <sub>1</sub>	n	p value	T <sub>0</sub>	T <sub>1</sub>	n	p value <sup>a</sup>
<b>Index cases</b>								
<b>TC (mg/dL)</b>								
All individuals	259 ± 95	241 ± 86	115	0.01	236 ± 71	218 ± 61	96	0.01
<b>LDL-C (mg/dL)</b>								
All individuals	188 ± 90	170 ± 84	119	0.01	156 ± 65	135 ± 51	95	0.01
<b>HDL-C (mg/dL)</b>								
All individuals	46 ± 14	48 ± 15	115	0.02	51 ± 15	53 ± 15	96	0.13
<b>TG (mg/dL)</b>								
All individuals	119 ± 57	113 ± 57	111	0.21	156 ± 103	155 ± 94	95	0.95
<b>Relatives</b>								
<b>TC (mg/dL)</b>								
All individuals	232 ± 61	229 ± 64	206	0.47	200 ± 39	203 ± 50	20	0.69
<b>LDL-C (mg/dL)</b>								
All individuals	162 ± 57	158 ± 60	200	0.39	126 ± 34	127 ± 39	18	0.91
<b>HDL-C (mg/dL)</b>								
All individuals	47 ± 13	48 ± 14	202	0.05	54 ± 16	56 ± 16	19	0.43
<b>TG (mg/dL)</b>								
All individuals	111 ± 70	107 ± 61	201	0.29	128 ± 54	120 ± 57	20	0.63

<sup>a</sup> p value < 0.05.

those presenting or not a mutation ( $p < 0.05$ ). There were respectively 20 (11.9%) and 4 (3%) cardiovascular events in IC presenting or not a mutation ( $p < 0.05$ ). Among M+ and M–relatives there was no difference in the rate of CV events, 4.8% and 3.5% respectively ( $p > 0.05$ ).

Table 3 shows the clinical characteristics of IC presenting or not a CV event during follow-up. Comparing M+ IC with and without events, those presenting a CV event, had a higher prevalence of corneal arcus, previous CVD and, higher total and LDL-C and triglycerides with lower concentrations of HDL-C. For M– IC with CV events, only the prevalence of corneal arcus was significantly higher when compared to M– IC without events. There were no differences on the prevalence of LLT at baseline among the groups.

Table 4 shows characteristics of relatives presenting or not a CV

event. Among rM+, those presenting CV events were older and mostly male with a higher prevalence of hypertension, diabetes, tobacco consumption and corneal arcus ( $p < 0.05$ ). For rM– with a CV event, levels of total and LDL-C were higher when compared to rM– without events.

When performing univariate analysis, factors associated with increased risk of CV events in IC (M+ and M–) were the presence of a causal FH mutation and corneal arcus. After multivariable adjustment, corneal arcus presence was significantly associated with increased risk for CV events (Table 5). On the contrary there was an independent association of higher HDL-C levels with a reduced risk of CVD.

Table 6 shows the univariate associations with increased risk for CV events in rM+. Older age, male sex, hypertension, diabetes,

**Table 3**  
Characteristics of the index cases according to the presence or absence of cardiovascular (CV) events.

	Mutation + (n = 167)						Mutation- (n = 132)					
	Presence of CV events <sup>a</sup>						Presence of CV events					
	Yes (n = 20)		No (n = 147)		p value		Yes (n = 4)		No (n = 128)		p value <sup>d</sup>	
	n	n	n	n		n	n	n	n		n	
Age (years)	56 ± 19	20	50 ± 15	147	0.08	63 ± 10	4	55 ± 12	128	0.22		
Males (%)	55.0	11	42.2	62	0.27	25.0	1	25.0	32	0.99		
Females (%)	45.0	9	57.8	85		75.0	3	75.0	96			
Hypertension (%)	35.0	7	27.9	41	0.25	50.0	2	50.0	64	0.97		
Diabetes (%)	0	0	9.5	14	0.17	0	0	17.2	22	0.42		
Previous CVD (%)	60.0	12	37.4	55	0.05	50.0	2	29.5	38	0.37		
Family history of CVD <sup>b</sup> (%)	40.0	8	35.4	52	0.21	50.0	2	48.2	62	0.80		
Pharmacological treatment <sup>c</sup> (%)	70.0	14	82.3	121	0.74	100	4	89.1	114	0.53		
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	27 ± 6	14	27 ± 5	126	0.96	27 ± 3	4	28 ± 4	126	0.55		
Tobacco consumption (current and former) (%)	35.0	7	34.7	51	0.59	25.0	1	50.0	64	0.31		
Corneal arcus (%)	50.0	10	24.5	36	0.01	50.0	2	13.3	17	0.04		
Xanthelasma (%)	20.0	4	10.2	15	0.09	0	0	7.0	9	0.58		
Tendon xanthoma (%)	15.0	3	9.5	14	0.26	0	0	2.3	3	0.78		
TC (mg/dL)	351 ± 175	13	264 ± 93	124	0.01	254 ± 121	4	240 ± 67	114	0.68		
LDL-C (mg/dL)	274 ± 161	13	193 ± 90	126	0.01	174 ± 101	4	160 ± 63	112	0.66		
HDL-C (mg/dL)	37 ± 8	13	47 ± 13	126	0.01	52 ± 14	4	50 ± 14	114	0.78		
TG (mg/dL)	182 ± 137	13	122 ± 57	122	0.01	140 ± 103	4	163 ± 108	113	0.67		

<sup>a</sup> Patients who had a cardiac event in the first year of follow-up.<sup>b</sup> Family first degree who had some early cardiovascular event: male < 55 and female < 60 years-old.<sup>c</sup> Medications for cholesterol treatment were statins, ezetimibe, resins, fibrates and niacin.<sup>d</sup> p value < 0.05. TC: total cholesterol; TG: triglycerides.**Table 4**  
Characteristics of the relatives according to the presence or absence of cardiovascular (CV) events.

	Mutation + (n = 348)						Mutation- (n = 171)					
	Presence of CV events <sup>a</sup>						Presence of CV events					
	Yes (n = 17)		No (n = 331)		p value		Yes (n = 6)		No (n = 165)		p value <sup>d</sup>	
	n	n	n	n		n	n	n	n		n	
Age (years)	55 ± 16	17	46 ± 16	331	0.02	66 ± 6	6	47 ± 16	165	0.01		
Males (%)	64.7	11	36.9	122	0.02	50.0	3	36.4	60	0.49		
Females (%)	35.3	6	63.1	209		50.0	3	63.6	105			
Hypertension (%)	64.7	11	28.7	95	0.01	66.7	4	23.6	39	0.01		
Diabetes (%)	47.1	8	7.9	26	0.01	33.3	2	9.1	15	0.05		
Previous CVD (%)	76.5	13	35.0	116	0.01	50.0	3	10.2	17	0.01		
Family history of CVD <sup>b</sup> (%)	47.1	8	50.2	166	0.47	66.7	4	47.3	78	0.49		
Pharmacological treatment <sup>c</sup> (%)	94.1	16	67.4	223	0.04	16.7	1	26.1	43	0.39		
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	28 ± 7	16	26 ± 5	328	0.34	27 ± 3	6	28 ± 14	165	0.92		
Tobacco consumption (current and former) (%)	70.6	12	31.1	103	0.01	50.0	3	32.1	53	0.35		
Corneal arcus (%)	41.2	7	16.9	56	0.01	0	0	4.2	7	0.63		
Xanthelasma (%)	11.8	2	8.8	29	0.67	0	0	3.0	5	0.69		
Tendon xanthoma (%)	11.8	2	7.6	25	0.68	0	0	0	0	0.84		
TC (mg/dL)	234 ± 74	14	238 ± 68	223	0.82	249 ± 6	2	190 ± 39	25	0.04		
LDL-C (mg/dL)	174 ± 72	14	164 ± 58	214	0.55	166 ± 11	2	115 ± 36	23	0.06		
HDL-C (mg/dL)	43 ± 13	14	47 ± 13	219	0.28	54 ± 18	2	51 ± 15	24	0.84		
TG (mg/dL)	86 ± 39	14	125 ± 131	219	0.27	149 ± 111	2	129 ± 64	25	0.69		

<sup>a</sup> Patients who had a cardiac event in the first year of follow-up.<sup>b</sup> Family first degree who had some early cardiovascular event: male < 55 and female < 60 years old.<sup>c</sup> Medications for cholesterol treatment were statins, ezetimibe, resins, fibrates and niacin.<sup>d</sup> p value < 0.05. TC: total cholesterol; TG: triglycerides.

previous CVD, tobacco consumption (current or former) and corneal arcus were all associated. In the multivariate analysis only diabetes and tobacco consumption remained significantly associated with the risk of CV events.

#### 4. Discussion

This study reports the first follow-up in individuals enrolled in the cascade genetic screening program for FH in Brazil, one year after they received their genetic test results. Different from previous reports, this is not a sole description of early events in a cohort of FH patients. Since we are following all individuals that were

submitted to a genetic screening cascade our results allow us to derive estimates of risk for a broader variety of risk subgroups that are commonly seen in this type of program. As reported, a high risk of CV events is not only seen in probands of such a cohort, but rather in all different substrata analyzed. Predictors of this risk are, however, different.

##### 4.1. Cardiovascular events and their predictors in index cases and relatives

As previously described [14], the incidence of CV events in M+ individuals was higher than in M-, and the incidence of fatal or

**Table 5**

Variables associated with CV events in index cases presenting or not mutations after univariate and multivariate logistic regression.

	OR <sup>a</sup>	95% CI	p value <sup>c</sup>	OR <sup>b</sup>	95% CI	p value
Mutation +	4.35	1.45–13.07	0.01			
Age (years)	1.02	0.99–1.05	0.10			
Gender (male)	1.93	0.83–4.47	0.12			
Hypertension	1.28	0.50–3.27	0.59			
Previous CVD	2.75	1.17–6.43	0.01			
Tobacco consumption (current and former)	0.87	0.34–2.25	0.77			
Family history of CVD	1.84	0.55–6.07	0.31			
Xanthelasma	2.70	0.82–8.86	0.10			
Corneal arcus	7.33	2.63–20.44	0.01	9.39	2.46–35.82	0.01
Tendon xanthomas	2.93	0.76–11.22	0.11			
TC	1.00	0.99–1.01	0.88			
LDL-C	1.01	1.00–1.02	0.01			
HDL-C	0.95	0.91–0.99	0.01	0.95	0.90–0.99	0.04
TG	1.00	0.99–1.01	0.20			

<sup>a</sup> Univariate Logistic Regression Analysis.<sup>b</sup> Multivariate Logistic Regression Analysis (Adjusted for age, gender, HDL-C, corneal arcus, previous CVD).<sup>c</sup> p value < 0.05.**Table 6**

Variables associated with CV events in relatives with positive mutations after univariate and multivariate logistic regression.

	OR <sup>a</sup>	95% CI	p value <sup>c</sup>	OR <sup>b</sup>	95% CI	p value
Age (years)	1.03	1.01–1.06	0.02			
Gender (male)	3.14	1.13–8.70	0.02			
Hypertension	4.41	1.58–12.29	0.01			
Diabetes	10.25	3.65–28.82	0.01	7.97	2.07–30.66	0.01
Previous CVD	6.02	1.92–18.89	0.01			
Tobacco consumption (current and former)	5.26	1.80–15.33	0.01	3.70	1.09–12.50	0.03
Family history of CVD	0.67	0.22–2.00	0.47			
Xanthelasma	1.37	0.29–6.37	0.68			
Corneal arcus	4.03	1.40–11.57	0.01			
Tendon xanthoma	1.37	0.29–6.36	0.68			
TC	0.99	0.99–1.01	0.99			
LDL-C	1.01	0.99–1.01	0.54			
HDL-C	0.97	0.93–1.02	0.28			
TG	0.99	0.97–1.01	0.99			

<sup>a</sup> Univariate Logistic Regression Analysis.<sup>b</sup> Multivariate Logistic Regression Analysis (Adjusted for age, hypertension, diabetes, previous CVD, tobacco consumption and corneal arcus).<sup>c</sup> p value < 0.05.

nonfatal CV events in the first year of follow-up was more than twice in M + IC than in affected relatives. The occurrence of coronary artery bypass surgery and coronary angioplasty among M + IC and rM+ was 35%, suggesting that the cascade screening could have in part contributed to the occurrence of these events. After genetic diagnosis affected individuals were indeed referred to a tertiary cardiology center. Needless to say that the sole fact that these individuals were molecularly diagnosed as having FH may have led to increased use of diagnostic procedures to diagnose subclinical atherosclerosis that is frequently encountered in FH patients [2] and, consequently, led to more revascularization procedures. It is not the scope of the present work to discuss the evidence-based indication of revascularization procedures for coronary artery disease. It should be realized, nonetheless, that individuals that received new revascularization procedures were perceived by their clinicians as having increased cardiovascular risk.

FH phenotype presents great variability within the same family and among different mutations [17,18]. However, through the analysis of risk factors association with CV events, it is possible to infer that exposure time to elevated levels of LDL-C in the IC seems to be the most important factor that influenced CV event occurrence. In M + IC who suffered a CV event, mean baseline LDL-C levels were 274 mg/dL, being 29% higher than in IC who did not have a CV event. Previously, LDL-C levels  $\geq 260$  mg/dL have been shown to increase in 8.29 times the risk of a CV event in FH

individuals [18–21]. Indeed, xanthelasma and corneal arcus formation, important markers of long term exposition to high levels of LDL-C [22], were significantly higher in the M + IC who had a CV event and the latter was independently associated with occurrence of CVD in the follow-up.

On the other hand, as previously seen in cross sectional evaluations [13,14] higher HDL-C concentrations were independently associated with a reduced risk of CV events.

Of importance, in the rM+ who had a CV event, predictors were different from those of index cases. We have observed, as predictors, a higher prevalence of lifestyle-related factors such as diabetes, hypertension, tobacco consumption, resembling the factors related to CV events in the non-FH populations [23]. This highlights the importance of early detection and reemphasizes the need for cascade screening of FH probands' first-degree family members [24].

#### 4.2. Life-style changes after genetic screening

Another important question we have addressed was regarding the effects of going through FH genetic screening upon lifestyle changes. This is particularly important since once FH screening programs are well established they will constitute golden opportunities to impact the cardiovascular health of high-risk individuals in a community. Understanding the dynamics of its impact is, thus,

paramount for the better overall use of this resource.

In general, FH index cases present higher prevalence and duration of statin use than their relatives [17,18]. In the first year of follow-up, there was a significant decrease in total and LDL-C levels in M+ IC. Although 81% of M+ ICs were already under LLT treatment when enrolled in the study, the genetic test result might have contributed to treatment adherence and adjustment of drug dosage. This justifying the significant decrease in the lipid levels of these individuals, despite the overall majority of them being already on treatment at baseline.

In the rM+, there was a significant increase in LLT prevalence. When they received the genetic result, 68.7% of rM+ were under treatment and after the program guiding and referral to specific care, the prevalence increased to 79%. However, there was no significant decrease in lipid levels after one year probably due to the fact that many rM+ were still adjusting their treatment, both for dose and type of medication. In addition, one in four referred incomplete adherence to proposed treatment. A follow-up study with FH individuals, performed in the Netherlands [25], has shown that when they got in the screening program, only 37.6% of patients follow the LLT and one year after they were enrolled in the program, that percentage increased to 92.5%.

Unexpectedly, in this one year of follow-up there was a significant increase in diabetes prevalence on rM+. It is difficult to infer in a one-year follow-up period the main reason for this augmented prevalence, being this one of the limitations of this study. However, we must take into account the use of statins in the incidence of diabetes, as pointed by Preiss et al. [26] who have shown that the use of statins seems to be associated with the increase in diabetes incidence. We could not associate the observed increased incidence with dose augmentation or statin initiation. Another possibility is that, since diabetes information was self-referred, the noted increase is mainly secondary to increased awareness and search for health care resources by individuals exposed to the program's information on cardiovascular related risks.

In conclusion, after one-year follow-up of individuals enrolled in the HiperCol Brasil genetic cascade screening program we were able to detect a high prevalence of CV events after this small follow-up period. Moreover, we could identify that in IC the long-term exposition to high levels of LDL-C, indicated by the presence of corneal arcus, seem to be the most important predictor of short-term risk for a CV event, while in relatives of positive ICs one was able to associate CV events occurrence to an increased number of modifiable risk factors. Longer follow-up will help to better characterize the importance of risk factors for CVD onset in a population receiving contemporary lipid lowering therapy.

#### Conflict of interest

The authors declared that they do not have anything to disclose regarding conflict of interest with respect to this manuscript.

#### Acknowledgments

We thank the patients who participated in the cohort study, the technical assistance of the Laboratory of Genetics and Molecular Cardiology group, Heart Institute (InCor) University of Sao Paulo Medical School Hospital. The funding of Sociedade Hospital Samaritano and Ministério da Saúde (PROADI-SUS; SIPAR; 25000.180.672/2011-81) are gratefully acknowledged.

RDS refers receiving honoraria for consulting or speaker activities from Amgen, Aegerion, Astra Zeneca, Akcea, Boehringer-Ingelheim, Cerenis, Genzyme, Kowa, Eli-Lilly, Merck, Prizer, Sanofi/Regeneron, Torrent and Unilever.

#### References

- [1] J.L. Goldstein, M.S. Brown, The LDL receptor, *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 29 (2009) 431–438.
- [2] L.A. Neefjes, G.J. Ten Kate, R. Alexia, K. Nieman, A.J. Galema-Boers, J.G. Langendonk, A.C. Weustink, N.R. Mollet, E.J. Sijbrands, G.P. Krestin, P.J. de Feyter, Accelerated subclinical coronary atherosclerosis in patients with familial hypercholesterolemia, *Atherosclerosis* 219 (2011) 721–727.
- [3] G. Vaca, A. Vazquez, M.T. Magana, M.L. Ramirez, I.P. Davalos, E. Martinez, B. Marin, G. Carrillo, Mutational analysis of the LDL receptor and APOB genes in Mexican individuals with autosomal dominant hypercholesterolemia, *Atherosclerosis* 218 (2011) 391–396.
- [4] R. Alonso, J.C. Defesche, D. Tejedor, S. Castillo, M. Stef, N. Mata, P. Gomez-Enterria, C. Martinez-Faedo, L. Forga, P. Mata, Genetic diagnosis of familial hypercholesterolemia using a DNA-array based platform, *Clin. Biochem.* 42 (2009) 899–903.
- [5] A.C. Fahed, G.M. Nemer, Familial hypercholesterolemia: the lipids or the genes? *Nutr. Metab. (Lond)* 8 (2011) 23.
- [6] B.G. Nordestgaard, M.J. Chapman, S.E. Humphries, H.N. Ginsberg, L. Masana, O.S. Descamps, O. Wiklund, R.A. Hegele, F.J. Raal, J.C. Defesche, A. Wiegman, R.D. Santos, G.F. Watts, K.G. Parhofer, G.K. Hovingh, P.T. Kovanen, C. Boileau, M. Averna, J. Boren, E. Bruckert, A.L. Catapano, J.A. Kuivenhoven, P. Pajukanta, K. Ray, A.F. Stalenhoef, E. Stroes, M.R. Taskinen, A. Tybjaerg-Hansen, Familial hypercholesterolemia 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.* 34 (2013) 3478–3490.
- [7] C.E. Jannes, R.D. Santos, P.R. de Souza Silva, L. Turolla, A.C. Gagliardi, J.D. Marsiglia, A.P. Chacra, M.H. Miname, V.Z. Rocha, W.S. Filho, J.E. Krieger, A.C. Pereira, Familial hypercholesterolemia in Brazil: cascade screening program, clinical and genetic aspects, *Atherosclerosis* 238 (2015) 101–107.
- [8] A.D. Sniderman, S. Tsimikas, S. Fazio, The severe hypercholesterolemia phenotype: clinical diagnosis, management, and emerging therapies, *J. Am. Coll. Cardiol.* 63 (2014) 1935–1947.
- [9] R.D. Santos, A.C. Gagliardi, H.T. Xavier, A. Casella Filho, D.B. Araujo, F.Y. Cesena, R.J. Alves, A.C. Pereira, A.M. Lottemberg, A.P. Chacra, A.A. Faludi, A.C. Sposito, F.F. Ribeiro Filho, F.A. Helfenstein Fonseca, I. de Carlos Back Giuliano, L.H. Catani, M.C. Bertolami, M. Hiroshi Miname, M.C. de Oliveira Izar, O. Monte, R.C. Maranhao, T.L. Martinez, V. Arruda Machado, V. Zorzaneli Rocha, W. Salgado Filho, First Brazilian guidelines for familial hypercholesterolemia, *Arq. Bras. Cardiol.* 99 (2012) 1–28.
- [10] A. van der Graaf, J.J. Kastelein, A. Wiegman, Heterozygous familial hypercholesterolemia in childhood: cardiovascular risk prevention, *J. Inher. Metab. Dis.* 32 (2009) 699–705.
- [11] A.C. Goldberg, P.N. Hopkins, P.P. Toth, C.M. Ballantyne, D.J. Rader, J.G. Robinson, S.R. Daniels, S.S. Gidding, S.D. de Ferranti, M.K. Ito, M.P. McGowan, P.M. Moriarty, W.C. Cromwell, J.L. Ross, P.E. Ziajka, Familial hypercholesterolemia: screening, diagnosis and management of pediatric and adult patients: clinical guidance from the national lipid association expert panel on familial hypercholesterolemia, *J. Clin. Lipidol.* 5 (2011) 51–58.
- [12] E. Jarauta, R. Mateo-Gallego, A.M. Bea, M. Crespo, A. Ballester, M.V. Rubio, L. Baila-Rueda, P. Calmarza, A. Cenarro, E. de Groot, F. Civeira, Atherosclerosis progression in patients with autosomal dominant hypercholesterolemia in clinical practice, *J. Clin. Lipidol.* 8 (2014) 373–380.
- [13] P.R. de Sauvage Nolting, J.C. Defesche, R.J. Buirma, B.A. Hutten, P.J. Lansberg, J.J. Kastelein, Prevalence and significance of cardiovascular risk factors in a large cohort of patients with familial hypercholesterolemia, *J. Intern Med.* 253 (2003) 161–168.
- [14] R. Alonso, N. Mata, S. Castillo, F. Fuentes, P. Saenz, O. Muniz, J. Galiana, R. Figueras, J.L. Diaz, P. Gomez-Enterria, M. Mauri, M. Piedecausa, L. Irigoyen, R. Aguado, P. Mata, Cardiovascular disease in familial hypercholesterolemia: influence of low-density lipoprotein receptor mutation type and classic risk factors, *Atherosclerosis* 200 (2008) 315–321.
- [15] M.D. Allard, R. Saedi, M. Yousefi, J. Frohlich, Risk stratification of patients with familial hypercholesterolemia in a multi-ethnic cohort, *Lipids Health Dis.* 13 (2014) 65.
- [16] A.C. Jansen, E.S. van Aalst-Cohen, M.W. Tanck, M.D. Trip, P.J. Lansberg, A.H. Liem, H.W. van Lennep, E.J. Sijbrands, J.J. Kastelein, The contribution of classical risk factors to cardiovascular disease in familial hypercholesterolemia: data in 2400 patients, *J. Intern Med.* 256 (2004) 482–490.
- [17] M. Farnier, E. Bruckert, Severe familial hypercholesterolemia: current and future management, *Arch. Cardiovasc Dis.* 105 (2012) 656–665.
- [18] D.A. Bell, J. Pang, S. Burrows, T.R. Bates, F.M. van Bockxmeer, A.J. Hooper, P. O'Leary, J.R. Burnett, G.F. Watts, Effectiveness of genetic cascade screening for familial hypercholesterolemia using a centrally co-ordinated clinical service: an Australian experience, *Atherosclerosis* 239 (2015) 93–100.
- [19] T. Sugisawa, T. Okamura, H. Makino, M. Watanabe, I. Kishimoto, Y. Miyamoto, N. Iwamoto, A. Yamamoto, S. Yokoyama, M. Harada-Shiba, Defining patients at extremely high risk for coronary artery disease in heterozygous familial hypercholesterolemia, *J. Atheroscler. Thromb.* 19 (2012) 369–375.
- [20] A.J. Lusis, R. Mar, P. Pajukanta, Genetics of atherosclerosis, *Annu. Rev. Genomics Hum. Genet.* 5 (2004) 189–218.
- [21] M. Gottlieb, G. Bonardi, E.H. Moriguchi, Physiopathology and inflammatory aspects of atherosclerosis, *Sci. Medica* 15 (2005) 203–207.

- [22] LA. Zech Jr., J.M. Hoeg, Correlating corneal arcus with atherosclerosis in familial hypercholesterolemia, *Lipids Health Dis.* 7 (2008) 7.
- [23] A.F. Simao, D.B. Precoma, J.P. Andrade, F.H. Correa, J.F. Saraiva, G.M. Oliveira, A.L. Murro, A. Campos, A. Alessi, A. Avezum Jr., A.C. Achutti, A.C. Miguel, A.C. Sousa, A.M. Lotemberg, A.P. Lins, A.A. Falud, A.A. Brandao, A.F. Sanjuliani, A.S. Sbissa, F.A. Alencar, A.H. Herdy, C.A. Polanczyk, C.J. Lantieri, C.A. Machado, C. Scherr, C. Stoll, C. Amodeo, C.G. Araujo, D. Saraiva, E.H. Moriguchi, E.T. Mesquita, F.A. Fonseca, G.P. Campos, G.P. Soares, G.S. Feitosa, H.T. Xavier, I. Castro, I.C. Giuliano, I.V. Rivera, I.C. Guimaraes, J.S. Issa, J.R. Souza, N.J. Faria, L.B. Cunha, L.C. Pellanda, L.A. Bortolotto, M.C. Bertolami, M.H. Miname, M.A. Gomes, M. Tambascia, M.V. Malachias, M.A. Silva, M.C. Iza, M.E. Magalhaes, M.S. Bacellar, M. Milani, M. Wajngarten, N. Chorayeb, O.R. Coelho, P.B. Villela, P.C. Jardim, R.D. Santos Filho, R. Stein, R.S. Cassani, R.I. D'Avila, R.M. Ferreira, R.B. Barbosa, R.M. Povoia, S.E. Kaiser, S.C. Ismael, T. Carvalho, V.Z. Giraldez, W. Coutinho, W.K. Souza, I Brazilian Guidelines for cardiovascular prevention, *Arq. Bras. Cardiol.* 101 (2013) 1–63.
- [24] A. Ryan, C.D. Byrne, Importance of early recognition of heterozygous familial hypercholesterolaemia, *Curr. Opin. Lipidol.* 26 (2015) 298–303.
- [25] M.A. Umans-Eckenhausen, J.C. Defesche, M.J. van Dam, J.J. Kastelein, Long-term compliance with lipid-lowering medication after genetic screening for familial hypercholesterolemia, *Arch. Intern Med.* 163 (2003) 65–68.
- [26] D. Preiss, S.R. Seshasai, P. Welsh, S.A. Murphy, J.E. Ho, D.D. Waters, D.A. DeMicco, P. Barter, C.P. Cannon, M.S. Sabatine, E. Braunwald, J.J. Kastelein, J.A. de Lemos, M.A. Blazing, T.R. Pedersen, M.J. Tikkanen, N. Sattar, K.K. Ray, Risk of incident diabetes with intensive-dose compared with moderate-dose statin therapy: a meta-analysis, *JAMA* 305 (2011) 2556–2564.

## **Artigo 2**

**Atherosclerosis. 2017; 263: 257-262**

### **Avaliação clínica e laboratorial dos parâmetros usados para identificação do caso índice para o rastreamento genético para Hipercolesterolemia Familiar no Brasil.**

Neste estudo, avaliamos os parâmetros clínicos e laboratoriais utilizados na identificação dos CIs para triagem genética em uma coorte de indivíduos brasileiros suspeitos de diagnóstico de HF. Em um período de 5 anos, 753 CI foram rastreados com uma taxa de detecção de mutação positiva de 1 em cada 3 indivíduos usando técnicas de biologia molecular de nova geração. O critério DLNC parece ser viável para a identificação de indivíduos com uma mutação que causa HF, especificamente com uma pontuação > 6. No entanto, os valores de LDL-C  $\geq$  230 mg/dL também apresentaram boa discriminação e podem ser usados como um único parâmetro para detectar a presença de uma mutação em indivíduos com hipercolesterolemia.



## Evaluation of clinical and laboratory parameters used in the identification of index cases for genetic screening of familial hypercholesterolemia in Brazil



Pâmela R.S. Silva<sup>a,\*</sup>, Cinthia E. Jannes<sup>a</sup>, Theo G.M. Oliveira<sup>a</sup>, Marcio H. Miname<sup>b</sup>, Viviane Z. Rocha<sup>b</sup>, Ana Paula Chacra<sup>b</sup>, Maria Helane C. Gurgel<sup>c</sup>, Renan M. Montenegro<sup>c</sup>, Carlos Roberto M. Rodrigues Sobrinho<sup>c</sup>, Annie Seixas Bello Moreira<sup>d</sup>, Marcelo H.V. Assad<sup>d</sup>, Marina R.C. Pinto<sup>a</sup>, Mauricio Teruo Tada<sup>a</sup>, Raul D. Santos<sup>b,1</sup>, Alexandre C. Pereira<sup>a,1</sup>, Jose E. Krieger<sup>a,1</sup>

<sup>a</sup> Laboratory of Genetics and Molecular Cardiology, Heart Institute (InCor), University of São Paulo Medical School Hospital, São Paulo, Brazil

<sup>b</sup> Lipid Clinic, Heart Institute (InCor), University of São Paulo Medical School Hospital, São Paulo, Brazil

<sup>c</sup> Cardiology Department, Walter Cantídio University Hospital, Federal University of Ceara, Fortaleza, Brazil

<sup>d</sup> Cardiology Department, National Institute of Cardiology, Rio de Janeiro, Brazil

### ARTICLE INFO

#### Article history:

Received 12 April 2017

Received in revised form

30 May 2017

Accepted 21 June 2017

Available online 22 June 2017

#### Keywords:

Familial hypercholesterolemia  
Low-density lipoprotein cholesterol  
Screening  
Index patient

### ABSTRACT

**Background and aims:** There is controversy on the accuracy of different diagnostic criteria for familial hypercholesterolemia (FH). The aim of this study is to assess the performance of different clinical criteria used to identify individuals for FH genetic cascade screening in Brazil.

**Methods:** All index cases (IC) registered in the Hipercol Brasil program between 2011 and 2016 were analyzed. Inclusion criteria were age  $\geq 18$  years and elevated LDL-cholesterol (LDL-C) levels, with a conclusive result in the genetic test, whether positive or negative. Initially, we tested the multivariable association between clinical and laboratory markers and the presence of an FH causing mutation. Then, we analyzed sensitivity, specificity, positive and negative predictive values for the LDL-C quartile distribution, LDL-C as a continuous variable, as well as the performance measures for the Dutch Lipid Clinic Network (DLCN) score to identify a mutation.

**Results:** Overall, 753 ICs were included and an FH causing mutation was found in 34% ( $n = 257$ ) of the subjects. After multivariable analysis, LDL-C as a continuous variable, tendon xanthomas and corneal arcus were independently associated with the presence of FH mutations. LDL-C values  $\geq 230$  mg/dL (5.9 mmol/L) had the best tradeoff between sensitivity and specificity to diagnose a mutation. The DLCN score presented a better performance than LDL-C to identify a mutation, area under the ROC curve were 0.744 (95% CI: 0.704–0.784) and 0.730 (95% CI: 0.687–0.774), respectively,  $p=0.014$ .

**Conclusions:** In our population, LDL  $\geq 230$  mg/dL is a feasible criterion to indicate ICs to genetic testing.

© 2017 Published by Elsevier Ireland Ltd.

### 1. Introduction

Familial hypercholesterolemia (FH) is an autosomal dominant genetic disorder caused by variants that alter LDL-cholesterol (LDL-

C) catabolism, leading to elevated blood cholesterol levels and consequently increasing the risk of atherosclerotic cardiovascular disease (ASCVD) development. In addition, due to the long-term exposure to high LDL-C, individuals with FH may present clinical signs that indicate the presence of tendon xanthomas, corneal arcus (when present in individuals aged  $\leq 45$  years), and xanthelasma [1].

Currently, there are about 1600 mutations described as causing FH, with 95% of them occurring in the gene coding for the LDL receptor (*LDLR*). The remaining 5% affect genes coding for apolipoprotein B (*APOB*) and proprotein convertase subtilisin/kexin type 9

**Abbreviations:** M+, mutation positive; M-, mutation negative; IC, index case; FH, familial hypercholesterolemia; ASCVD, atherosclerotic cardiovascular disease.

\* Corresponding author. Av. Dr. Enéas de Carvalho Aguiar, 44 - Cerqueira Cesar, São Paulo, SP, 05403-900, Brazil.

E-mail address: [pam\\_r\\_s@usp.br](mailto:pam_r_s@usp.br) (P.R.S. Silva).

<sup>1</sup> These authors are last co-authors of the manuscript.

(PCSK9) [2,3].

FH is an underdiagnosed and undertreated disease [4] and heterozygous FH is estimated to affect up to 670,000 Brazilians [5]. The diagnosis and treatment of FH could change the prevalence scenario of ASCVD at early ages since LDL-C lowering treatment has been shown to reduce cardiovascular disease incidence and mortality [6,7].

Diagnosis of FH individuals may be cost-effectively performed through genetic cascade screening programs [7]. Cascade screening methods consist in the identification of an index case (IC), which, because of its high *a priori* probability of harboring a causal mutation, is then referred to genetic test and, in case of a positive result (i.e. an identified causal genetic mutation), all first-degree relatives are screened for the same mutation. Despite being the most cost-effective method, it depends on the assertive identification of an IC, which is itself based on clinical criteria [8]. In the literature, the most adopted clinical classifiers for FH are from the Simon Broome Register Group [9] and the Dutch Lipid Clinic Network (DLCN) [10]; however, there is no international consensus on which are the best clinical predictors to refer patients for genetic test. This is particularly relevant if one considers the different settings from which ICs may be referred (direct-consumer, primary care, secondary care) and the different availability of detailed laboratory and clinical information on them. Therefore, population-specific adjustments are frequently observed in the literature [11,12].

The accuracy of specific clinical or biochemical parameters may change from one setting to another and the overall cost-effectiveness of cascade screening programs depends on the balance between sensitivity and specificity testing for the IC. Therefore, in this study, we assessed the accuracy of different FH diagnostic clinical criteria in the Hipercol Brasil [5], a state of the art genetic cascade-screening program.

## 2. Materials and methods

This study was performed with subjects registered in an FH genetic cascade screening program in Brazil. Participants were recruited by doctors from the Heart Institute (InCor), University of Sao Paulo Medical School or from partner institutions. In addition, individuals, who contacted the program via website, were also selected by trained health professionals from the program. After inclusion criteria were met, participants were referred to genetic testing.

The program is conducted at the Laboratory of Genetics and Molecular Cardiology at the Heart Institute (InCor/HCFMUSP), University of São Paulo Medical School Hospital, São Paulo, Brazil. The study was approved by the Institutional Ethics Committee (CAPPesq number 3757/12/013), and all subjects signed an informed consent form.

### 2.1. Study population and inclusion criteria

We included in this analysis all IC individuals registered in Hipercol Brasil between 2011 and 2016. The inclusion criteria for this study were: age  $\geq 18$  years and a conclusive result of the genetic test, whether positive or negative. The only inclusion criterion for being registered at Hipercol Brasil was to have previous documentation of an LDL-C  $\geq 210$  mg/dL. However, some individuals with LDL-C values  $\leq 210$  mg/dL were also included in the program during the selected period, when referred by local physicians due to other overwhelming clinical characteristics associated with FH.

### 2.2. Clinical and laboratory characteristics

All relevant clinical information was collected through a

standardized questionnaire and physical exams followed by the collection of biological material as previously described [5]. Subjects were examined for the presence of xanthomas, xanthelasma or corneal arcus. Weight (kg) and height (m) were determined and the body mass index (BMI in  $\text{kg}/\text{m}^2$ ) was calculated. Laboratorial exams were obtained from medical records or from previous exams brought by the participants. Values of fasting total cholesterol (TC), LDL-C, HDL-C, and triglycerides (TG) were collected. LDL-C values used were those available at baseline evaluation. When the subject was on statin use, we asked for the highest documented value before statin initiation. In case we could not retrieve that piece of information, the value obtained under statin treatment was used to calculate the scores. The DLCN score was calculated using information available at the baseline visit and, therefore, the presence of an FH causing mutation was not considered for diagnosis.

### 2.3. Genetic testing

Subjects were tested for six FH-related genes: *LDLR*, *APOB*, *PCSK9*, *LDLRAP1*, *LIPA* and *APOE* using state of the art molecular techniques. Target regions were considered as coding exons plus 10 bp of introns up- and downstream. The promoter region of *LDLR* was also screened. Templates were prepared on Ion One Touch System and sequenced in Ion Torrent PGM<sup>®</sup> platform, with 32 samples per run in a 316v2 Ion Chip. Raw FASTQ files were imported into CLC Genomics Workbench 9.5 (QIAGEN) and analyzed using a custom pipeline. Minimum quality requirements for variant call were: base quality of PhredQ  $\geq 20$ ; target-region coverage  $\geq 10\times$ ; frequency of variant allele  $\geq 20\%$  and bidirectional presence of the variant allele. After minor allele frequency filtering (MAF  $\leq 0.002$ ) with control populations (NHLBI-ESP6500, ExAC and 1000Genomes), all potentially causal variants were consulted for previous description in ClinVar, Human Genome Mutation Database (HGMD<sup>®</sup> Professional - QIAGEN), British Heart Foundation and Jojo Genetics databases. Pathogenicity attribution was performed according to the American College of Medical Genetics (ACMG) guideline [13].

For previously undescribed variants, functional impact prediction was performed with SIFT, PROVEAN and PolyPhen-2 and variants without previous description were considered as potentially pathogenic when pointed as damaging in at least two algorithms and if MAF  $\leq 0.002$ . Individuals with negative results were also screened for large insertions and deletions via MLPA (MRC-Holland).

### 2.4. Statistical analysis

Initially, a descriptive analysis of the variables was carried out and results are presented according to the IC's genetic results: mutation positive (M+) for those in whom a causative genetic variant was identified, and mutation negative (M-) for those without observed causative variants. For continuous variables, the mean and standard deviations were calculated. Categorical variables were described as frequencies. The differences between frequencies were compared using the Chi-square test. The differences between means were compared with Student *t* or analysis of variance (ANOVA) tests, if necessary. Logistic regression was used to test the independent association of clinical and laboratory variables with the presence of a mutation. The performance (sensitivity, specificity, positive and negative predictive values PPV and NPV, respectively) of different criteria to diagnose the presence of an FH causing mutation was tested as follows: first, the categorical distribution of LDL-C (25th, 50th and 75th percentiles) within the study population; second LDL-C levels as continuous variables and the best tradeoff between sensitivity and specificity was

**Table 1**  
Index case (IC) clinical characteristics according to the presence or absence of an FH causative mutation.

	Mutation + (n = 257)		Mutation – (n = 496)		p value <sup>a</sup>
	n	n	n	n	
Age (years)	50 ± 15	257	52 ± 13	496	0.01
Males (%)	39.3	101	36.7	182	0.45
Female (%)	60.3	155	63.3	314	
Hypertension (%)	30.4	78	48.0	238	0.01
Diabetes (%)	10.1	26	12.7	63	0.45
Early coronary artery disease (%) <sup>b</sup>	31.1	80	31.0	154	0.65
Acute myocardial infarction (%)	16.7	43	18.3	91	0.95
Angina (%)	24.5	63	22.0	109	0.16
Family history of increased LDL-C levels (%) <sup>c</sup>	47.1	121	50.4	250	0.01
Family history of early coronary artery disease (%) <sup>d</sup>	40.5	104	44.0	218	0.03
Current pharmacological treatment (%) <sup>e</sup>	81.7	210	80.8	401	0.77
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	27 ± 5	221	27 ± 5	481	0.10
Smoking (%)	8.6	22	14.7	73	0.05
Tendon xanthoma (%)	13.2	34	1.0	5	0.01
Xanthelasma (%)	12.5	32	7.1	35	0.01
Corneal arcus (%)	28.4	73	13.5	67	0.01
DLCN score (%)					
Definitive	40.9	105	10.1	50	0.01
Probable	28.4	73	29.2	145	
Possible	22.2	57	42.7	212	
Unlikely	2.3	6	12.1	60	

<sup>a</sup>  $p < 0.05$ .

<sup>b</sup> Coronary disease in men aged under 55 years or women aged under 60 years.

<sup>c</sup> First or second degree relatives with TC > 260 mg/dL or LDL > 160 mg/dL in children (>16 years) or TC > 290 mg/dL or LDL > 190 mg/dL in adults (pre-treatment levels or the highest level under treatment).

<sup>d</sup> Family history of coronary disease (e.g. heart attack) in first or second degree relatives (men aged under 55 years and women aged under 60 years).

<sup>e</sup> Current use of lipid-lowering drugs (e.g. statins). To transform mg/dL in mmol/L multiply by 0.0256.

determined by calculating the area under the receiver operation curve (ROC); third the DLCN score; we compared the discriminative value of the DLCN criteria and the best determined LDL-C value by C statistics; finally we calculated the IC's age distribution in our population (25th, 50th and 75th percentiles) and analyzed the best LDL-C cutoff for each age group ( $\leq 40$ , 41–51, 52–59 and  $\geq 60$  years old) through C statistics. Significance was considered at a  $p < 0.05$ . Statistical analyses were performed using the Statistical Package for Social Sciences (SPSS version 13.0), except for the comparison of discrimination between LDL-C values and the DLCN score that was done using an online tool (<http://vassarstats.net>).

### 3. Results

Seven hundred and fifty-three ICs were included in the study. Tables 1 and 2 describe clinical and laboratorial characteristics of included individuals. Overall, 34.1% ( $n = 257$ ) of screened individuals had a positive mutation identified through genetic screening (M+). M+ individuals were significantly younger than M- ICs. The presence of characteristic clinical signs of FH such as xanthomas, xanthelasma and corneal arcus was greater in M+ individuals. There were no differences between the groups regarding the presence of previous ASCVD or lipid lowering therapy. Overall, 40.9% of the individuals that were classified as a "definitive" diagnostic in the DLNC clinical score had a causal variant identified (Table 1).

Table 2 shows baseline and on-treatment plasma lipids of the studied subjects. The average baseline and on-treatment LDL-C and TC values were higher in M+ individuals. On the other hand, M- individuals presented higher values for both baseline and on-treatment TG.

Table 3 shows that after multivariable logistic regression analysis, the presence of tendon xanthomas, corneal arcus and baseline LDL-C values was independently associated with the presence of an

FH causative mutation. No independent association was found with family history of early ASCVD or elevated LDL-C levels.

Table 4 and Fig. 1 show values for sensitivity, specificity, PPV and NPV of different parameters to select ICs for genetic test. As expected, the higher the LDL-C levels, the greater the specificity and the lower the sensitivity for the presence of an FH causing mutation. LDL-C levels  $\geq 230$  mg/dL (5.9 mmol/L), that coincided with the 50<sup>th</sup> percentile of the LDL-C distribution of the IC population, had the best tradeoff between sensitivity and specificity to diagnose a mutation as shown in Supplemental Table 1. The DLCN score presented a better discrimination than LDL-C  $\geq 230$  mg/dL (5.9 mmol/L) to identify an FH causing mutation, area under the ROC curve respectively of 0.744 (95% CI: 0.704–0.784) and 0.730 (95% CI: 0.687–0.774),  $p=0.01$  (Supplemental Fig. 1 and Supplemental Table 1). The LDL-C  $\geq 230$  mg/dL cutoff was identified as the best value in the age groups ( $\leq 40$ ; 41–51; 52–59 year old), except for the elderly group ( $\geq 60$  years), in which the best

**Table 2**  
Index cases lipid values according to the presence or absence of an FH causative mutation.

	Mutation + (n = 257)		Mutation – (n = 496)		p value <sup>a</sup>
	n	n	n	n	
Baseline TC (mg/dL)	388 ± 84	134	320 ± 51	227	0.01
On treatment <sup>b</sup> TC (mg/dL)	340 ± 107	102	302 ± 53	206	0.01
Baseline LDL-C (mg/dL)	307 ± 79	127	232 ± 44	217	0.01
On treatment LDL-C (mg/dL)	265 ± 105	100	216 ± 45	195	0.01
Baseline HDL-C (mg/dL)	48 ± 15	125	50 ± 15	211	0.40
On treatment HDL-C (mg/dL)	46 ± 13	100	50 ± 15	193	0.03
Baseline TG (mg/dL)	141 ± 63	123	187 ± 106	208	0.01
On treatment TG (mg/dL)	144 ± 72	100	190 ± 119	189	0.01

<sup>a</sup>  $p < 0.05$ .

<sup>b</sup> With use of lipid-lowering drugs. To transform mg/dL in mmol/L multiply by 0.0256.

**Table 3**  
Parameters related to the presence of an FH causative mutation.

	OR <sup>a</sup>	95% CI	p value <sup>b</sup>	OR <sup>c</sup>	95% CI	p value <sup>b</sup>
Age (years)	0.98	0.97–0.99	0.01			
Hypertension	0.53	0.38–0.73	0.01			
Family history of early ASCVD	1.52	1.04–2.23	0.03			
Family history of increased LDL-C levels	1.70	1.12–2.56	0.01			
Tobacco consumption (current)	0.55	0.32–0.92	0.02			
Tendon xanthoma	15.93	6.14–41.31	0.01	6.06	1.86–19.71	0.01
Xanthelasma	2.11	1.27–3.51	0.01			
Corneal arcus	2.93	2.00–4.28	0.01	1.76	1.00–3.08	0.04
Baseline TC	1.01	1.01–1.02	0.01			
Baseline LDL-C	1.02	1.01–1.03	0.01	1.01	1.00–1.02	0.01
Baseline HDL-C	0.99	0.97–1.01	0.40			
Baseline TG	0.99	0.90–0.99	0.01			

<sup>a</sup> Univariate logistic regression analysis.

<sup>b</sup>  $p < 0.05$ .

<sup>c</sup> Multivariate logistic regression analysis (variables entered on model: age, family history of increased LDL-C levels, family history of ASCVD, baseline LDL-C, tendon xanthoma, corneal arcus).

**Table 4**  
Sensitivity, specificity, positive and negative predictive value (PPV and NPV, respectively) for LDL-C percentiles and the DLNC clinical score.

Score	Mutation +		Mutation -		Sensitivity	Specificity	PPV	NPV
	%	n	%	n	% (95% CI)	% (95% CI)	% (95% CI)	% (95% CI)
LDL-C $\geq 205$ mg/dL	40.4	208	59.6	307	87.0 (81.9–90.8)	30.3 (26.1–34.9)	40.3 (36.1–44.7)	81.2 (74.2–86.6)
LDL-C $\geq 230$ mg/dL	49.6	170	50.4	173	71.1 (64.8–76.6)	60.7 (56.0–65.3)	49.5 (44.1–54.9)	79.5 (74.7–83.6)
LDL-C $\geq 273$ mg/dL	68.6	118	31.4	54	49.3 (42.8–55.8)	87.7 (84.2–90.5)	68.6 (61.0–75.3)	76.1 (72.1–79.7)
DLNC								
Definitive	67.7	105	32.3	50	43.5 (37.2–50.0)	89.2 (86.0–91.8)	67.7 (59.6–74.8)	75.4 (71.5–78.8)
Probable	33.5	73	66.5	145	53.6 (44.9–62.1)	65.2 (60.4–69.7)	33.4 (27.3–40.2)	81.1 (76.5–85.1)
Possible	21.2	57	78.8	212	90.4 (79.7–96.0)	22.0 (17.3–27.5)	21.1 (16.5–26.6)	90.9 (80.6–96.2)
Unlikely	9.1	6	90.9	60	75.0 (35.5–95.5)	31.8 (22.5–42.7)	9.0 (3.7–19.3)	93.3 (76.4–98.8)

To transform mg/dL in mmol/L multiply by 0.0256.

LDL-C cutoff was 242 mg/dL (6.2 mmol/L) (Supplemental Fig. 2 and Supplemental Table 2).

#### 4. Discussion

In this study, we assessed clinical and laboratory parameters used in the identification of ICs for genetic screening in a cohort of Brazilian individuals suspected of FH diagnosis. In a 5-year period, 753 ICs were screened with a rate of positive mutation detection of 1:3 using state of the art molecular biology techniques. These numbers represent less than 0.5% of all estimated cases of FH in Brazil [5]. DLNC criteria seem to be feasible for the identification of individuals with an FH causing mutation, specifically with a score  $>6$ . However, LDL-C values  $\geq 230$  mg/dL also showed good discrimination and could be used as a sole parameter to screen for the FH mutation presence in hypercholesterolemic individuals.

In the age group analysis, using LDL-C value as a sole parameter, the cutoff in the elderly group ( $\geq 60$  years) increases when compared to other age groups. This result is understandable since cholesterol tends to increase with age, and older individuals might present with other types of dyslipidemias, which influence LDL-C levels. However, as the aim of the program is to identify positives IC in the youngest age possible, and the group of individuals with more than 60 years corresponds to the 75th percentile of our population, the majority of our target population would be covered with a 230 mg/dL cutoff.

Familial genetic cascade screening is considered the most cost-effective method for FH identification [16], and it is important for an assertive and early diagnostic both in ICs and relatives. In our study, we could show that even the ICs under treatment usually present high levels of LDL-C when entering the program, indicating

an inadequate and ineffective therapy, regardless of a known genetic background. Although genetic testing is important for the cascade screening and for diagnostic confirmation, the adopted treatment and clinical management are based on the phenotype features of each individual, which may be highly variable [17–19].

The cascade necessarily begins with a genetic-positive IC, and the identification of a mutation is strongly associated with the clinical diagnosis [12]. Nonetheless, criteria to establish the most cost-effective cutoff for the selection of to-be-screened ICs are not widely agreed upon. Consequently, different programs worldwide have made adjustments to obtain a more effective screening performance for their populations [12,20].

Considering that defining the best cutoff of a diagnostic test procedure involves trade-offs between sensitivity and specificity, and that molecular testing is not able to capture the entire complexity of the clinical diagnosis (it is rather a tool for cascade screening), we aimed at analyzing the overall accuracy of the tested approaches. It should be highlighted that depending on the specific clinical, economical or societal scenario, different options may be preferred. In our specific case, a balance between a high number of individuals with a positive genetic test and the number of individuals undergoing a still costly procedure is the determinant to consider the strategy. In addition, one must consider the ease by which healthcare providers and even individuals from the general population would be able to self-identify or identify a family member as candidates for screening.

The DLNC score is recommended in different guidelines for FH diagnosis [4,11,21]. However, this score is strongly dependent on a reliable knowledge of family history, laboratory values in relatives, and the presence of clinical signs of cholesterol deposits in the skin and tendons. Indeed, in our study, cholesterol deposit signs were

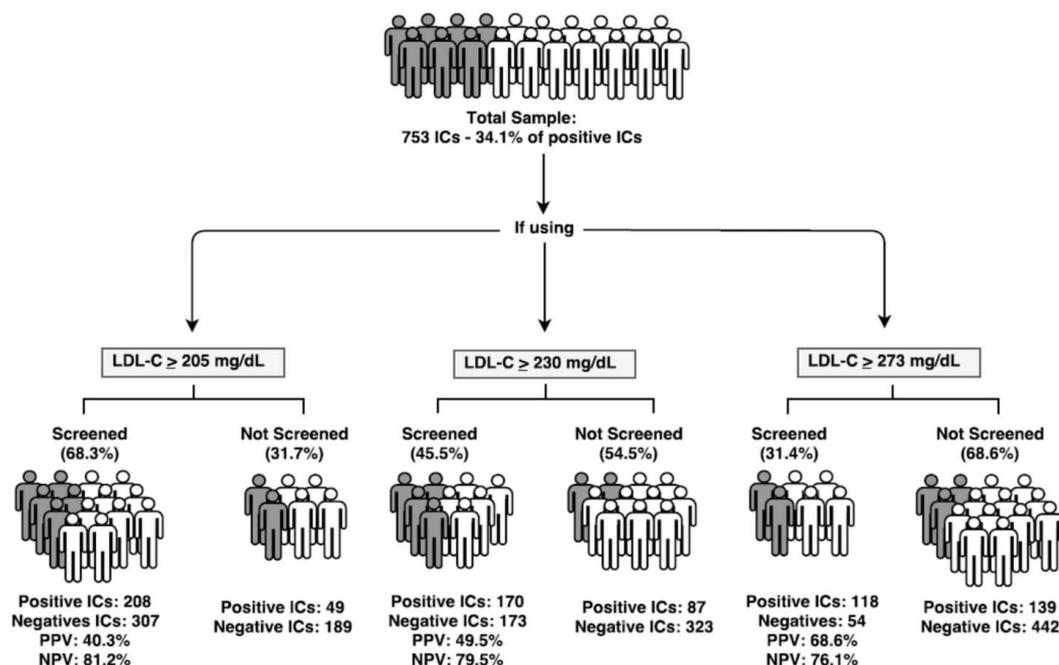


Fig. 1. Proportion of genetic-positive cases based on our population prevalence rate (34.1%) using the three tested cutoff values for LDL-C that correspond to percentiles 25, 50 and 75 for the studied population. Gray shaded individuals represent the percentage of confirmed positive cases while white shaded individuals represent the negative cases.

independently associated with mutation discovery, but they are becoming harder to find nowadays due to the use of lipid lowering therapy for hypercholesterolemia in the absence of an FH diagnosis [19]. In addition, some family information is frequently hard to obtain and usually inaccurate. Indeed, in our study, no independent association was found between family history of early ASCVD or elevated cholesterol levels with mutation finding. Therefore, we believe that the use of an LDL-C threshold could be an alternative to the DLNC score to indicate mutation screening, since previous evidence has suggested that very high blood cholesterol levels are associated with a greater chance of encountering a monogenic cause for the FH phenotype [22].

When comparing the discriminatory performance of DLNC scores with LDL-C values as a criterion for mutation identification, the former presented a better discriminatory performance. However, overall, the proposed LDL-C cutoff value of 230 mg/dL (5.9 mmol/L) was a reasonable alternative, with good discrimination capacity.

This study has limitations: first our cohort did not include individuals under 18 years and second, around 80% of the studied subjects were under statin treatment at the time of the evaluation, and even considering that we used the highest available LDL-C, with or without lipid lowering medications, we can't totally rule out an effect of statin treatment on our results. However, this problem is common to the contemporary FH cohorts, where hypercholesterolemia is diagnosed before FH [23]. Finally, the cost-effectiveness of our findings must be tested in a greater number of individuals.

In conclusion, our data suggest that both the DLNC score and a sole criterion of an LDL-C  $\geq$  230 mg/dL (5.9 mmol/L) seem to be

adequate for molecular FH screening in Brazilian individuals. However, using only LDL  $\geq$ 230 mg/dL is enough to indicate an IC to genetic test, when obtaining some reliable information on all the clinical variables required in DLNC guidelines is often difficult.

#### Conflict of interest

RDS refers receiving honoraria for consulting or speaker activities in the last 3 years from Amgen, Aegerion, Astra Zeneca, Akcea, Boehringer-Ingelheim, Biolab, Cerenis, Genzyme, Kowa, Eli-Lilly, Merck, Pfizer, Sanofi/Regeneron, Torrent, Procaps and Unilever. All the other authors have no conflict of interest. We wish to confirm that there are no other known conflicts of interest associated with this publication and there has been no significant financial support for this work that could have influenced its outcome.

#### Financial support

The funding of Sociedade Hospital Samaritano and Ministério da Saúde (PROADI-SUS; SIPAR: 25000.180.672/2011-81) and FAPESP (grant no 2013/17368-0) are gratefully acknowledged.

#### Acknowledgments

We thank the patients who participated in the cohort study, and the technical assistance of the Laboratory of Genetics and Molecular Cardiology group, Heart Institute (InCor) University of Sao Paulo Medical School Hospital.

## Appendix A. Supplementary data

Supplementary data related to this article can be found at <http://dx.doi.org/10.1016/j.atherosclerosis.2017.06.917>.

## References

- [1] R.D. Santos, A.C. Gagliardi, H.T. Xavier, A. Casella Filho, D.B. Araujo, et al., First Brazilian guidelines for familial hypercholesterolemia, *Arq. Bras. Cardiol.* 99 (2012) 1–28, S0066-782X2012001700001 [pii].
- [2] M.A. Austin, Genetic causes of monogenic heterozygous familial hypercholesterolemia: a HuGE prevalence review, *Am. J. Epidemiol.* 160 (2004) 407–420, <http://dx.doi.org/10.1093/aje/kwh236>.
- [3] S.E. Humphries, R.A. Whittall, C.S. Hubbart, S. Maplebeck, J.A. Cooper, et al., Genetic causes of familial hypercholesterolemia in patients in the UK: relation to plasma lipid levels and coronary heart disease risk, *J. Med. Genet.* 43 (2006) 943–949, <http://dx.doi.org/10.1136/jmg.2006.038356>, 43/12/943 [pii].
- [4] B.G. Nordestgaard, M.J. Chapman, S.E. Humphries, H.N. Ginsberg, L. Masana, et al., Familial hypercholesterolemia is underdiagnosed and undertreated in the general population: guidance for clinicians to prevent coronary heart disease, *Eur. Heart J.* 34 (2013) 3478–3490, <http://dx.doi.org/10.1093/eurheartj/ehz273>.
- [5] C.E. Jannes, R.D. Santos, P.R. de Souza Silva, L. Turolla, A.C.M. Gagliardi, et al., Familial hypercholesterolemia in Brazil: cascade screening program, clinical and genetic aspects, *Atherosclerosis* 238 (2015) 101–107, <http://dx.doi.org/10.1016/j.atherosclerosis.2014.11.009>, S0021-9150(14)01572-X [pii].
- [6] L. Mundal, M.B. Veierod, T. Halvorsen, K.B. Holven, L. Ose, et al., Cardiovascular disease in patients with genotyped familial hypercholesterolemia in Norway during 1994–2009, a registry study, *Eur. J. Prev. Cardiol.* (2016), <http://dx.doi.org/10.1177/2047487316666371>, 2047487316666371.
- [7] R.D. Santos, S.S. Gidding, R.A. Hegele, M.A. Cuchel, P.J. Barter, et al., Review defining severe familial hypercholesterolemia and the implications for clinical management: a consensus statement from the international atherosclerosis society severe familial hypercholesterolemia panel, *LANCET Diabetes Endocrinol.* 8587 (2016) 19–21, [http://dx.doi.org/10.1016/S2213-8587\(16\)30041-9](http://dx.doi.org/10.1016/S2213-8587(16)30041-9).
- [8] R. Henderson, M. O’Kane, V. McGilligan, S. Watterson, The genetics and screening of familial hypercholesterolemia, *J. Biomed. Sci.* 23 (2016) 39, <http://dx.doi.org/10.1186/s12929-016-0256-1>.
- [9] Risk of fatal coronary heart disease in familial hypercholesterolemia, Group scientific steering committee on behalf of the Simon Broome register, *BMJ* 303 (1991) 893–896, [http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list\\_uids=1933004](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=1933004).
- [10] J.C. Defesche, Familial hypercholesterolemia, in: E.J. Betteridge (Ed.), *Lipids Vasc. Dis.* 2000th ed., 2000, pp. 65–76. London, United Kingdom.
- [11] S.S. Gidding, M.A. Champagne, S.D. De Ferranti, J. Defesche, M.K. Ito, et al., The agenda for familial hypercholesterolemia: a scientific statement from the American Heart Association, *Circulation* 132 (2015) 2167–2192, <http://dx.doi.org/10.1161/CIR.0000000000000297>.
- [12] K. Haralambos, S.D. Whatley, R. Edwards, R. Gingell, D. Townsend, et al., Clinical experience of scoring criteria for Familial Hypercholesterolemia (FH) genetic testing in Wales, *Atherosclerosis* 240 (2015) 190–196, <http://dx.doi.org/10.1016/j.atherosclerosis.2015.03.003>.
- [13] S. Richards, N. Aziz, S. Bale, D. Bick, S. Das, 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.* 17 (2015) 405–423, <http://dx.doi.org/10.1038/gim.2015.30>.
- [14] Z. Ademi, G.F. Watts, J. Pang, E.J. Sijbrands, F.M. van Bockxmeer, P. O’Leary, E. Geelhoed, D. Liew, Cascade screening based on genetic testing is cost-effective: evidence for the implementation of models of care for familial hypercholesterolemia, *J. Clin. Lipidol.* 8 (2014) 390–400, <http://dx.doi.org/10.1016/j.jacl.2014.05.008>, S1933-2874(14)00233-5 [pii].
- [15] M. Farnier, E. Bruckert, Severe familial hypercholesterolemia: current and future management, *Arch. Cardiovasc Dis.* 105 (2012) 656–665, <http://dx.doi.org/10.1016/j.acvd.2012.05.011>, S1875-2136(12)00204-5 [pii].
- [16] D.A. Bell, J. Pang, S. Burrows, T.R. Bates, F.M. van Bockxmeer, A.J. Hooper, P. O’Leary, J.R. Burnett, G.F. Watts, Effectiveness of genetic cascade screening for familial hypercholesterolemia using a centrally co-ordinated clinical service: an Australian experience, *Atherosclerosis* 239 (2015) 93–100, <http://dx.doi.org/10.1016/j.atherosclerosis.2014.12.036>, S0021-9150(14)01658-X [pii].
- [17] P.R.S. Silva, C.E. Jannes, J.D.C. Marsiglia, J.E. Krieger, R.D. Santos, A.C. Pereira, Predictors of cardiovascular events after one year of molecular screening for Familial hypercholesterolemia, *Atherosclerosis* 250 (2016) 144–150, <http://dx.doi.org/10.1016/j.atherosclerosis.2016.05.023>.
- [18] J. Besseling, J.B. Reitsma, D. Gaudet, D. Brisson, J.J.P. Kastelein, et al., Selection of individuals for genetic testing for familial hypercholesterolemia: development and external validation of a prediction model for the presence of a mutation causing familial hypercholesterolemia, *Eur. Heart J.* 36 (2016) 2863–2913, <http://dx.doi.org/10.1093/eurheartj/ehw135>.
- [19] S.F.W. Santos, R.D. Santos, A.C.M. Gagliardi, H.Z. Xavier, A. Casella Filho, D.B. Araujo, et al., I Diretriz Brasileira de Hipercolesterolemia Familiar (HF), *Rev. Da Soc. Bras. Cardiol.* 99 (2012), <http://dx.doi.org/10.5935/abc.20120202>.
- [20] J. Wang, J.S. Dron, M.R. Ban, J.F. Robinson, A.D. McIntyre, et al., Polygenic versus monogenic causes of hypercholesterolemia ascertained clinically, *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 36 (2016) 2439–2445, <http://dx.doi.org/10.1161/ATVBAHA.116.308027>.
- [21] E.M. Degoma, Z.S. Ahmad, E.C. O’Brien, I. Kindt, P. Shrader, et al., Treatment gaps in adults with heterozygous familial hypercholesterolemia in the United States, *Circ. Cardiovasc. Genet.* 9 (2016) 240–249, <http://dx.doi.org/10.1161/CIRCGENETICS.116.001381>.

## 5. ANÁLISE CRÍTICA

A HF é a principal doença genética relacionada com a ocorrência de infarto agudo do miocárdio<sup>66,67</sup>. O tratamento tardio tem como efeito a exposição prolongada a elevados níveis de LDL-C, muitas vezes desde a infância, levando ao desenvolvimento de aterosclerose precocemente. Além disso, os fatores de riscos adicionais não são prevenidos e tratados e podem ter uma estimativa de efeito muito maior na população HF do que na população geral<sup>6,68</sup>.

No nosso trabalho buscamos avaliar inicialmente os principais fatores que podem estar associados com o aumento do risco da ocorrência de eventos CV em indivíduos que foram inseridos em um programa de rastreamento genético. O fator inovador desse estudo é que buscamos avaliar diferentes grupos que são inseridos na coorte e não apenas os indivíduos CI que apresentam uma mutação, o que permitiu verificar que existe uma diferença nos fatores de risco para eventos CV entre os grupos CI e familiares mutados.

No grupo de CI o principal fator que esteve associado à ocorrência de eventos CV foi o tempo de exposição a níveis elevados de LDL-C. Em geral o CI apresenta sinais clínicos que caracterizam essa exposição como arco corneano, xantomas de tendão e xantelasma, por isso ele é identificado clinicamente, na maioria dos casos, como um indivíduo com HF definitivo. Neste estudo, os fatores de risco que mais influenciaram na ocorrência de eventos CV nos familiares, após o resultado genético, estão relacionados ao estilo de vida, principalmente o uso de tabaco que aumentou em 3 vezes o risco de evento CV.

As diferenças encontradas nos grupos analisados, familiares e CI, são em parte explicadas pelo momento em que são inseridos na coorte. Em geral, o CI é identificado em idade mais velha e ele já apresenta o fenótipo de HF. Os familiares entram na coorte mais jovem e muitas vezes não tem diagnóstico clínico da doença e nem conhecimento sobre seus níveis lipídicos.

O diagnóstico precoce é importante para prevenção desses fatores de risco, pois ao longo do tempo, os indivíduos seriam diagnosticados logo no início da juventude, ou até mesmo na infância, permitindo assim o tratamento adequado e a prevenção dos riscos adicionais. Com o rastreamento em cascata os familiares são diagnosticados em

idade mais jovem, sendo esse o fator principal que caracteriza a efetividade desse método diagnóstico.

A HF apresenta grande variabilidade fenotípica mesmo em indivíduos que apresentam a mesma mutação e são da mesma família, e a variação dos fatores de risco nos grupos de indivíduos podem, em parte, explicar essa variabilidade<sup>51,69</sup>.

Esses resultados mostram que a HF ainda é um desafio para a saúde pública, pois afeta vários membros de uma mesma família, e a maioria dos indivíduos, principalmente os jovens, são assintomáticos, por isso os médicos de atenção primária precisam se envolver e receber treinamento para identificação e acompanhamento clínico adequado dessas famílias. A maioria dos indivíduos com HF deveriam ser tratados na atenção primária, tendo como foco a família como um todo, mesmo os membros não afetados, contudo no Brasil isso ainda não é aplicado.

Para o atendimento das dislipidemias na Atenção Primária seria necessário que o Ministério da Saúde criasse um programa específico dentro do sistema, assim como os programas de Diabetes e Hipertensão Arterial. Quando um programa é implantado dentro da Atenção Básica ele é pensado desde a prevenção, diagnóstico e tratamento do indivíduo e da família, pois esse é um dos princípios do atendimento na Unidade Básica de Saúde. Além disso, quando há um programa implementado todos os profissionais de saúde são treinados para o manejo adequado da doença e formas de diagnóstico rápido e eficiente também são desenvolvidos.

Casos mais graves e mais complexos devem ser encaminhados para centros especializados de referência, de preferência para uma equipe de dislipidemias. Além disso, é importante criar um modelo único e integrado para o diagnóstico e cuidados de HF a nível nacional, que seja possível de ser entendido por profissionais de saúde tanto na atenção primária como nos setores especializados, com o objetivo de diminuir os riscos de DCV e conseqüentemente, os custos de saúde e, acima de tudo, evitar mortes prematuras<sup>70</sup>.

Com esses resultados citados anteriormente, podemos levantar a importante questão sobre o diagnóstico ser realizado precocemente, e a implementação de um programa nacional de rastreamento que seja coordenado de forma centralizada entre as redes de atenção a saúde. Atualmente, no mundo, o rastreamento em cascata é considerado o método mais custo-efetivo e de maior aplicabilidade pelas coortes de HF.

Contudo, os critérios clínicos para encaminhar o indivíduo para o teste genético não apresentam um consenso sobre sua eficácia em diagnosticar uma mutação<sup>50,51,53,71</sup>.

Nesse trabalho, buscamos padronizar um critério para entrada do CI na nossa população que apresentasse uma boa acurácia com base nos CI já inseridos comparando com o critério DLCN que é o critério mais aplicado para identificar o indivíduo com HF. Buscamos padronizar apenas um valor de ponto de corte do LDL-C como critério de entrada e identificamos que o LDL-C maior ou igual a 230 mg/dl é válido e reprodutível, e é uma ferramenta simples e confiável. Apesar de o critério DLCN ter apresentado melhor desempenho ele é fortemente dependente de um conhecimento confiável da história da família, dos valores laboratoriais em parentes e da presença de sinais clínicos de depósitos de colesterol na pele e nos tendões, que atualmente, apresentam uma baixa frequência, em nossa coorte<sup>8</sup>, devido ao uso de medicamentos para hipercolesterolemia mesmo sem um diagnóstico de HF.

O objetivo de definirmos o critério com base apenas no ponto de corte do LDL-C é no sentido de definirmos um critério mais simples de ser aplicado e confiável. Questões sobre informações dos membros das famílias muitas vezes são difíceis de identificar sua fidedignidade, ou mesmo de se obter alguma informação. Com esse critério é esperado que qualquer profissional de saúde seja capaz de identificar um indivíduo possível de ter HF e encaminhá-lo para o teste genético para confirmação da doença. Estudos futuros serão necessários para avaliar a aplicação desse critério nessa coorte de indivíduos com HF.

## 6. CONCLUSÃO

Com os achados deste trabalho podemos concluir que a HF é uma doença que apresenta elevado risco para desenvolvimento de DCV e a identificação dos fatores de riscos associados com a ocorrência dos eventos CV apresentam variações nos diferentes grupos, CI e familiares, por isso as ações de prevenção e promoção de saúde devem ser pensadas de forma a controlar todos esse fatores. Além disso, o diagnóstico precoce é confirmado, pelos nossos resultados, como uma importante medida para diminuição da morbidade e mortalidade por DCV nesse grupo de indivíduos altamente susceptíveis. Para isso, se faz necessário a adequação de ferramentas para detecção dos casos clinicamente para encaminhamento do teste genético. Nós avaliamos e padronizamos o critério único do LDL-C maior ou igual a 230 mg/dl como critério suficiente e confiável para indicação do CI para realização do teste genético.

## 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Santos RD, Gagliardi ACM, Xavier HZ, Casella Filho A, Araújo DB, Cesena FY, et al. I Diretriz Brasileira de Hipercolesterolemia Familiar (HF). *Rev da Soc Bras Cardiol.* 2012;99(2).
2. Civeira F, Castillo S, Alonso R, Merin E, Cenarro A, Artied M, et al. Tendon Xanthomas in Familial Hypercholesterolemia Are Associated With Cardiovascular Risk Independently of the Low-Density Lipoprotein Receptor Gene Mutation. *Arter Thromb Vasc Biol.* 2005;25:1960–5.
3. Mangili LC, Miname MH, Silva PRS, Bittencourt MS, Rocha VZ, Mangili OC, et al. Achilles tendon xanthomas are associated with the presence and burden of subclinical coronary atherosclerosis in heterozygous familial hypercholesterolemia: A pilot study. *Atherosclerosis.* 2017;263:393–7.
4. Brautbar A, Leary E, Rasmussen K, Wilson DP, Steiner RD, Virani S. Genetics of familial hypercholesterolemia. *Curr Atheroscler Rep.* 2015;17(4):491.
5. Goldstein JL, Brown MS. The LDL receptor. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2009;29(4):431–8.
6. Nordestgaard BG, Chapman MJ, Humphries SE, Ginsberg HN, Masana L, Descamps OS, et al. Familial hypercholesterolaemia is underdiagnosed and undertreated in the general population: Guidance for clinicians to prevent coronary heart disease. *Eur Heart J.* 2013;34(45):3478–90.
7. Santos RD, Bourbon M, Alonso R, Cuevas A, Vásquez-Cárdenas A, Pereira AC, et al. Clinical and molecular aspects of familial hypercholesterolemia in Ibero-American countries. *J Clin Lipidol.* 2016;11:160–6.
8. Jannes CE, Santos RD, Silva PRS, Turolla L, Gagliardi ACM, Marsiglia JDC, et al. Familial hypercholesterolemia in Brazil: Cascade screening program, clinical and genetic aspects. *Atherosclerosis.* 2015;238:101–7.

9. Mahalle NP, Garg MK, Naik SS, Kulkarni M V. Study of pattern of dyslipidemia and its correlation with cardiovascular risk factors in patients with proven coronary artery disease. *Indian J Endocrinol Metab.* 2015;18(1):48–55.
10. Faludi AA, Izar MC de O, Saraiva JFK, Chacra APM, Bianco HT, Afiune Neto A, et al. Atualização da Diretriz Brasileira de Dislipidemias e Prevenção da Aterosclerose - 2017. *Arq Bras Cardiol.* 2017;109:1–76.
11. Nelson RH. Hyperlipidemia as a Risk Factor for Cardiovascular Disease Robert. *Prim Care.* 2014;40(1):195–211.
12. Aberg JA. Lipid Management in Patients Who Have HIV and Are Receiving HIV Therapy. *Endocrinol Metab Clin North Am.* 2009;38(1):207–22.
13. Jellinger PS, Smith DA, Mehta AE, Ganda O, Handelsman Y, Rodbard HW, et al. American Association of Clinical Endocrinologists' Guidelines for Management of Dyslipidemia and Prevention of Atherosclerosis. *Endocr Pr.* 2012;18 Suppl 1:1–78.
14. Teramoto T, Sasaki J, Ishibashi S, Birou S, Daida H, Dohi S, et al. Cardiovascular disease risk factors other than dyslipidemia. Executive summary of the Japan Atherosclerosis Society (JAS) guidelines for the diagnosis and prevention of atherosclerotic cardiovascular diseases in Japan - 2012 version. *J Atheroscler Thromb.* 2013;20(10):733–42.
15. Third Report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III) Final Report. *Circulation.* 2002;106(25):3143 LP-3143.
16. Gidding SS, Champagne MA, De Ferranti SD, Defesche J, Ito MK, Knowles JW, et al. The Agenda for Familial Hypercholesterolemia: A Scientific Statement from the American Heart Association. *Circulation.* 2015;132(22):2167–92.
17. Di Taranto MDD, D'Agostino MNN, Fortunato G. Functional characterization of mutant genes associated with autosomal dominant familial hypercholesterolemia: Integration and evolution of genetic diagnosis. *Nutr Metab Cardiovasc Dis.*

- 2015;25(11):979–87.
18. Seidah NG, Awan Z, Mbikay M. A Key Modulator of Cardiovascular Health. *Circ Res*. 2014;114(6):1022–36.
  19. Ito MK, Watts GF. Challenges in the Diagnosis and Treatment of Homozygous Familial Hypercholesterolemia. *Drugs*. 2015;75(15):1715–24.
  20. Bertolini S, Pisciotta L, Rabacchi C, Cefalù AB, Noto D, Fasano T, et al. Spectrum of mutations and phenotypic expression in patients with autosomal dominant hypercholesterolemia identified in Italy. *Atherosclerosis*. 2013;227(2):342–8.
  21. Garcia-Garcia AB, Ivorra C, Martinez-Hervas S, Blesa S, Fuentes MJ, Puig O, et al. Reduced penetrance of autosomal dominant hypercholesterolemia in a high percentage of families: Importance of genetic testing in the entire family. *Atherosclerosis*. 2011;218(2):423–30.
  22. Civeira F. Guidelines for the diagnosis and management of heterozygous familial hypercholesterolemia. *Atherosclerosis*. 2004;173(1):55–68.
  23. Hobbs HH, Brown MS, Goldstein JL. Molecular genetics of the LDL receptor gene in familial hypercholesterolemia. *Hum Mutat*. 1992;1(6):445–66.
  24. Santos PCJL, Pereira AC. Type of LDLR mutation and the pharmacogenetics of familial hypercholesterolemia treatment. *Pharmacogenomics*. 2015;16(15):1743–50.
  25. Bourbon M, Alves AC, Alonso R, Mata N, Aguiar P, Padró T, et al. Mutational analysis and genotype-phenotype relation in familial hypercholesterolemia: The SAFEHEART registry. *Atherosclerosis*. 2017;262:8–13.
  26. Innerarity TL, Mahley RW, Weisgraber KH, Bersot TP, Krauss RM, Vega GL, et al. Familial defective apolipoprotein B-100: a mutation of apolipoprotein B that causes hypercholesterolemia. *J Lipid Res*. 1990;31:1337–49.
  27. Borén J, Lee I, Zhu W, Arnold K, Taylor S, Innerarity TL. Identification of the low density lipoprotein receptor-binding site in apolipoprotein B100 and the

- modulation of its binding activity by the carboxyl terminus in familial defective Apo-B100. *J Clin Invest.* 1998;101(5):1084–93.
28. Ejarque I, Real JT, Martinez-Hervas S, Chaves FJ, Blesa S, Garcia-Garcia AB, et al. Evaluation of clinical diagnosis criteria of familial ligand defective apoB 100 and lipoprotein phenotype comparison between LDL receptor gene mutations affecting ligand-binding domain and the R3500Q mutation of the apoB gene in patients from a South Euro. *Transl Res.* 2008;151(3):162–7.
  29. Whitfield AJ, Barrett PHR, Van Bockxmeer FM, Burnett JR. Lipid disorders and mutations in the APOB gene. *Clin Chem.* 2004;50(10):1725–32.
  30. Marz W, Baumstark MW, Scharnagl H, Ruzicka V, Buxbaum S, Herwig J, et al. Accumulation of “small dense” low density lipoproteins (LDL) in a homozygous patient with familial defective apolipoprotein B-100 results from heterogenous interaction of LDL subfractions with the LDL receptor. *J Clin Invest.* 1993;92(6):2922–33.
  31. Alves AC atarina, Etxebarria A, Soutar AK atherine, Martin C, Bourbon M. Novel functional APOB mutations outside LDL-binding region causing familial hypercholesterolaemia. *Hum Mol Genet.* 2014;23(7):1817–28.
  32. Abifadel M, Varret M, Rabès J-P, Allard D, Ouguerram K, Devillers M, et al. Mutations in PCSK9 cause autosomal dominant hypercholesterolemia. *Nat Genet.* 2003;34(2):154–6.
  33. Cohen JC, Boerwinkle E, Mosley TH, Hobbs HH. Sequence Variations in PCSK9, Low LDL, and Protection against Coronary Heart Disease. *N Engl J Med.* 2006 Mar 23;354(12):1264–72.
  34. Steinberg D, Witztum JL. Inhibition of PCSK9: a powerful weapon for achieving ideal LDL cholesterol levels. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2009;106(24):9546–7.
  35. Pisciotta L, Oliva CP, Pes GM, Di Scala L, Bellocchio A, Fresa R, et al. Autosomal recessive hypercholesterolemia (ARH) and homozygous familial hypercholesterolemia (FH): A phenotypic comparison. *Atherosclerosis.* 2006;188(2):398–405.

36. Al-Kateb H, Bähring S, Hoffmann K, Strauch K, Busjahn A, Nürnberg G, et al. Mutation in the ARH Gene and a Chromosome 13q Locus Influence Cholesterol Levels in a New Form of Digenic-Recessive Familial Hypercholesterolemia. *Circ Res*. 2002;90(9):951–8.
37. Soutar AK, Naoumova RP, Traub LM. Genetics, Clinical Phenotype, and Molecular Cell Biology of Autosomal Recessive Hypercholesterolemia. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2003;23(11):1963–70.
38. Pang J, Poulter EB, Bell DA, Bates TR, Jefferson VL, Hillis GS, et al. Frequency of familial hypercholesterolemia in patients with early-onset coronary artery disease admitted to a coronary care unit. *J Clin Lipidol*. 2015;9(5):703–8.
39. WHO, Organization WH. Human Genetics Programme. Familial Hypercholesterolaemia (FH). Report of a second WHO Consultation. Organization WH, editor. *Geneva: World Health Organization*; 1999.
40. Williams RR, Hunt SC, Schumacher MC, Hegele RA, Leppert MF, Ludwig EH, et al. Diagnosing heterozygous familial hypercholesterolemia using new practical criteria validated by molecular genetics. *Am J Cardiol*. 1993;72(2):171–6.
41. Scientific Steering Committee on behalf of the Simon Broome Register Group. Risk of fatal coronary heart disease in familial hypercholesterolaemia. *BMJ*. 1991;303(October):893–6.
42. Rees A. Familial hypercholesterolaemia: underdiagnosed and undertreated. *Eur Hear J*. 2008;29(21):2583–4.
43. Van Der Graaf A, Kastelein JJP, Wiegman A. Heterozygous familial hypercholesterolaemia in childhood: Cardiovascular risk prevention. *J Inherit Metab Dis*. 2009;32(6):699–705.
44. Clarke REJ, Padayachee ST, Preston R, McMahon Z, Gordon M, Graham C, et al. Effectiveness of alternative strategies to define index case phenotypes to aid genetic diagnosis of familial hypercholesterolaemia. *Heart*. 2013;99(3):175–80.
45. Huijgen R, Hutten BA, Kindt I, Vissers MN, Kastelein JJP. Discriminative ability of LDL-cholesterol to identify patients with familial

- hypercholesterolemia: A cross-sectional study in 26 406 individuals tested for genetic FH. *Circ Cardiovasc Genet*. 2012;5(3):354–9.
46. Civeira F, Ros E, Jarauta E, Plana N, Zambon D, Puzo J, et al. Comparison of Genetic Versus Clinical Diagnosis in Familial Hypercholesterolemia. *Am J Cardiol*. 2008;102(9):1187–93.
  47. Okada T, Harada-Shiba M, Wakatsuki A, Oikawa S, Ohta T, Arai H, et al. Multicenter Study to Determine the Diagnosis Criteria of Heterozygous Familial Hypercholesterolemia in Japan. *J Atheroscler Thromb*. 2012;19(11):1019–26.
  48. Vohnout B, Gabcova D, Huckova M, Klimes I, Gasperikova D, Raslova K. Genetic testing of familial hypercholesterolemia in a real clinical setting. *Wien Klin Wochenschr*. 2016;128(23–24):916–21.
  49. Hooper AJ, Nguyen LT, Burnett JR, Bates TR, Bell DA, Redgrave TG, et al. Genetic analysis of familial hypercholesterolaemia in Western Australia. *Atherosclerosis*. 2012;224(2):430–4.
  50. Santos RD, Frauches TS, Chacra APM. Cascade Screening in Familial Hypercholesterolemia: Advancing Forward. *J Atheroscler Thromb*. 2015;22:869–80.
  51. Bell DA, Pang J, Burrows S, Bates TR, van Bockxmeer FM, Hooper AJ, et al. Effectiveness of genetic cascade screening for familial hypercholesterolaemia using a centrally co-ordinated clinical service: an Australian experience. *Atherosclerosis*. 2015;239(1):93–100.
  52. Henderson R, O’Kane M, McGilligan V, Watterson S. The genetics and screening of familial hypercholesterolaemia. *J Biomed Sci*. 2016;23:39.
  53. Lázaro P, Pérez de Isla L, Watts GF, Alonso R, Norman R, Muñoz O, et al. Cost-effectiveness of a cascade screening program for the early detection of familial hypercholesterolemia. *J Clin Lipidol*. 2017;11(1):260–71.
  54. Newman TB, Pletcher MJ, Hulley SB. Overly Aggressive New Guidelines for Lipid Screening in Children: Evidence of a Broken Process. *Pediatrics*. 2012;130(2):349–52.

55. Langslet G, Ose L. Screening methods in the diagnosis and assessment of children and adolescents with familial hypercholesterolemia. *Expert Rev Cardiovasc Ther.* 2013;11(8):1061–6.
56. Alberto FL, Figueiredo MS, Zago MA, Araújo AG, Dos-Santos JE. The Lebanese mutation as an important cause of familial hypercholesterolemia in Brazil. *Brazilian J Med Biol Res.* 1999;32(6):739–45.
57. Dos Santos JE, Zago MA. Familial hypercholesterolemia in Brazil. *Atheroscler Suppl.* 2003;4(3):1–2.
58. Caleb P, Lima J, Cruz A, Elin C, Turolla L, Eduardo J, 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;233(1):206–10.
59. Neefjes LA, Ten Kate GJ, Alexia R, Nieman K, Galema-Boers AJ, Langendonk JG, et al. Accelerated subclinical coronary atherosclerosis in patients with familial hypercholesterolemia. *Atherosclerosis.* 2011;219(2):721–7.
60. Mundal L, Veierod MB, Halvorsen T, Holven KB, Ose L, Iversen PO, et al. Cardiovascular disease in patients with genotyped familial hypercholesterolemia in Norway during 1994–2009, a registry study. *Eur J Prev Cardiol.* 2016;0(0):1–8.
61. Souverein OW, Defesche JC, Zwinderman AH, Kastelein JJ, Tanck MW. Influence of LDL-receptor mutation type on age at first cardiovascular event in patients with familial hypercholesterolaemia. *Eur Hear J.* 2007;28:299–304.
62. Jansen AC, van Aalst-Cohen ES, Tanck MW, Trip MD, Lansberg PJ, Liem AH, et al. The contribution of classical risk factors to cardiovascular disease in familial hypercholesterolaemia: data in 2400 patients. *J Intern Med.* 2004;256(6):482–90.
63. Kramer A, Jansen ACM, van Aalst-Cohen ES, Tanck MWT, Kastelein JJP, Zwinderman AH. Relative risk for cardiovascular atherosclerotic events after smoking cessation: 6–9 years excess risk in individuals with familial

- hypercholesterolemia. *BMC Public Health*. 2006;6:262.
64. Francisco J, Muñoz S. Predicting Cardiovascular Events in Familial Hypercholesterolemia: The SAFEHEART Registry. *Circulation*. 2017;136(19):1–32.
  65. Alonso R, Mata N, Castillo S, Fuentes F, Saenz P, Muniz O, et al. Cardiovascular disease in familial hypercholesterolaemia: influence of low-density lipoprotein receptor mutation type and classic risk factors. *Atherosclerosis*. 2008;200(2):315–21.
  66. Backer G De, Besseling J, Chapman J, Hovingh GK, Wood D, Kastelein JJP, et al. Prevalence and management of familial hypercholesterolaemia in coronary patients: An analysis of EUROASPIRE IV, a study of the European Society of Cardiology. *Atherosclerosis*. 2015;241:169–75.
  67. Wald DS, Bangash FA, Bestwick JP. Prevalence of DNA-confirmed familial hypercholesterolaemia in young patients with myocardial infarction. *Eur J Intern Med*. 2015;26(2):127–30.
  68. Watts GF, Gidding S, Wierzbicki AS, Toth PP, Alonso R, Brown WV, et al. Integrated guidance on the care of familial hypercholesterolemia from the International FH Foundation. *J Clin Lipidol*. 2014;8(2):148–72.
  69. Farnier M, Bruckert E. Severe familial hypercholesterolaemia: current and future management. *Arch Cardiovasc Dis*. 2012;105(12):656–65.
  70. Mata P, Alonso R, Pérez-Jiménez F. Screening for familial hypercholesterolemia: a model for preventive medicine. *Rev Esp Cardiol (Engl Ed)*. 2014;67(9):685–8.
  71. Hopkins PN, Toth PP, Ballantyne CM, Rader DJ. Familial hypercholesterolemias: prevalence, genetics, diagnosis and screening recommendations from the National Lipid Association Expert Panel on Familial Hypercholesterolemia. *J Clin Lipidol*. 2011;5(3 Suppl):S9-17.

## APÊNDICE

**QUESTIONÁRIO DE SEGUIMENTO DO PROGRAMA HIPERCOL BRASIL**

<p>Dados pessoais</p> <p>Nome: _____</p> <p>DNA: _____ RG INCOR: _____ Caso Índice( <input type="checkbox"/> ) Familiar ( <input type="checkbox"/> )</p> <p>Telefones: _____</p> <p>Email: _____ Facebook: _____</p> <p>Endereço: _____</p> <p>Data de preenchimento: ____/____/____</p> <p>Data de nascimento: ____/____/____</p> <p>(Preenchido pelo programa) Data de entrega do laudo: ____/____/____</p> <p>Toma remédio para colesterol: sim ( <input type="checkbox"/> ) não ( <input type="checkbox"/> ) data início: _____ local: _____</p> <p>Se não toma, porque?: _____</p>
---

<p>Visita: Presencial ( <input type="checkbox"/> ) Telefônica ( <input type="checkbox"/> ) Correio/email ( <input type="checkbox"/> )</p> <p>Estudo genético: _____</p>
---

**A perguntas abaixo se referem aos acontecimentos ocorridos no último ano.**

1.

a) Exames de colesterol atuais (indique os valores do seu ultimo exame):

data: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

Col total: \_\_\_\_\_ TG: \_\_\_\_\_ HDL: \_\_\_\_\_ LDL: \_\_\_\_\_ Glicose: \_\_\_\_\_

2. Quantas vezes vc procurou consulta médica especializada (Unidade de lípidos, cardiologista, endocrinologista) neste último ano? \_\_\_\_\_

3. Você esteve internado desde a sua última visita no Hipercol Brasil, no Incor?

Sim( ) Não( ) Não sabe ( )

Em caso afirmativo, especifique;

Data: \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_ local: \_\_\_\_\_ causa: \_\_\_\_\_

Data: \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_ local: \_\_\_\_\_ causa: \_\_\_\_\_

Data: \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_ local: \_\_\_\_\_ causa: \_\_\_\_\_

4. Você apresentou algum problema cardiovascular desde a sua última visita?

Sim( ) Não( ) Não sabe ( )

Se sim, responda as perguntas abaixo (colocar em todos data e local em que ocorreu o evento):

Insuficiência cardíaca congestiva aguda que requer tratamento hospitalar

Sim ( ) Não( ) N/S( )

Insuficiência cardíaca congestiva crônica que requer tratamento hospitalar

Sim ( ) Não( ) N/S( )

Infarto agudo do miocárdio

Sim ( ) Não( ) N/S( )

Tratamento trombolítico de urgência (trombose)

Sim ( ) Não( ) N/S( )

Tratamento de angioplastia de urgência: Sim ( ) Não( ) N/S( )

- stent recoberto \_\_\_\_\_

- stent convencional \_\_\_\_\_

- stent (não sei qual tipo) \_\_\_\_\_

- Número de stent \_\_\_\_\_

By-pass aorto-coronário (cirurgia de revascularização do miocárdio) de urgência para evitar infarto do miocárdio

Sim ( ) Não( ) N/S( )

Angioplastia coronariana transluminal percutânea e/ou by-pass aorto coronário de rotina (eletivo) Sim ( ) Não( ) N/S( )

- stent recoberto \_\_\_\_

- stent convencional \_\_\_\_

- stent (não sei qual tipo) \_\_\_\_

- Número de stent \_\_\_\_

By-pass aorto-coronário (cirurgia de revascularização do miocárdio) eletivo para evitar infarto do miocárdio

Sim ( ) Não( ) N/S( )

Cirurgia de revascularização miocárdica (Cirurgia de carótidas e/ou coronárias)

Sim ( ) Não( ) N/S( )

Diagnóstico inicial de angina

Sim ( ) Não( ) N/S( )

Piora da angina crônica estável

Sim ( ) Não( ) N/S( )

Síndrome coronariana aguda (conjunto de sinais e sintomas relacionados ao coração) que precisa de hospitalização

Sim ( ) Não( ) N/S( )

Arritmia potencialmente mortal (definida como taquicardia ou fibrilação ventricular)

Sim ( ) Não( ) N/S( )

Síncope ou tontura causada por uma arritmia

Sim ( ) Não( ) N/S( )

Infarto de miocárdio silencioso

Sim ( ) Não( ) N/S( )

Acidente vascular cerebral (AVC)

Sim ( ) Não( ) N/S( )

Insuficiência renal terminal que requer diálise e ou transplante renal

Sim ( ) Não( ) N/S( )

Diminuição da função renal (aumento de creatina em ao menos uns 50%)

Sim ( ) Não( ) N/S( )

Doença vascular periférica: Sim ( ) Não( ) N/S( )

( ) Doença vascular periférica (claudicação intermitente diagnosticada depois que entrou no programa Hipercol Brasil)

( ) Cirurgia de doença vascular periférica (aneurisma de aorta abdominal, revascularização vascular periférica)

Doença vascular aórtica significativa: Sim ( ) Não( ) N/S( )

( ) Troca de valvular aórtico

Implante de marcapassos ou desfibrilador: Sim ( ) Não( ) N/S( )

Doença isquêmica do coração: Sim ( ) Não( ) N/S( )

Outro transtorno de ritmo cardíaco (fibrilação auricular, bloqueio atrioventricular, etc).

Sim ( ) Não( ) N/S( )

Qual? \_\_\_\_\_

Exames

Cintilografia: Sim ( ) Não( ) N/S( )

Data: \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_ Local: \_\_\_\_\_ FEVE % = \_\_\_\_\_ resultado = \_\_\_\_\_

Eletrocardiograma: Sim ( ) Não( ) N/S( )

Data: \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_ Local: \_\_\_\_\_ resultado: \_\_\_\_\_

Eletrocardiograma estresse: Sim ( ) Não( ) N/S( )

Data: \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_ Local: \_\_\_\_\_ resultado: \_\_\_\_\_

Ecocardiograma estresse: Sim ( ) Não( ) N/S( )

Data: \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_ Local: \_\_\_\_\_ resultado: \_\_\_\_\_

Teste de esforço (MIBI) positivo: Sim ( ) Não( ) N/S( )

Data: \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_ Local: \_\_\_\_\_ Resultado: \_\_\_\_\_

Cateterismo cardíaco (Coronária): Sim ( ) Não( ) N/S( )

Resultado: \_\_\_\_\_

Angio tomografia computadorizada de carótidas e/ou escore de cálcio coronário

Sim ( ) Ano? \_\_\_\_\_ Não( ) N/S( ) Escore de cálcio: \_\_\_\_\_ Volume: \_\_\_\_\_

( ) coronariografia com estenosis > 70%

( ) coronariografia com estenosis 50 e 69%

( ) coronariografia com estenosis < 50%

Outro teste positivo (tomografia computadorizada multicorte, ressonância magnética, etc)

Sim ( ) Não( ) N/S( )

Imagem de infarto na tomografia computadorizada: Sim ( ) Não( ) N/S( )

Ecodoppler: Sim ( ) Não( ) N/S( )

Carótidas: Sim ( ) Não( ) N/S( )

% FE: \_\_\_\_\_ Resultado: \_\_\_\_\_

Ultrassom com doppler: Sim ( ) Não( ) N/S( )

( ) US doppler de carótidas com estenose > 70%

( ) US doppler de carótidas com estenose entre 50 e 69%

( ) US doppler de carótidas com estenose < 50%

Vascular Periférica

ecodoppler de membros superiores ou membros inferiores com estenose > 70%

ecodoppler de membros superiores ou membros inferiores com estenose entre 50 e 69%

ecodoppler de membros superiores ou membros inferiores com estenose menor < 50%

Evidência de aneurisma de aorta: Sim (  ) Não(  ) N/S(  )

Outras alterações cardiovasculares não descritas acima: Sim (  ) Não(  ) N/S(  )

Qual? \_\_\_\_\_

5. Você apresentou ou foi diagnosticado com doença vascular periférica:

Sim(  ) Não(  ) N/S (  )

6. Foi diagnosticado com desde a última visita no programa Hipercol Brasil diabetes *mellitus*?

Sim(  ) Não(  ) N/S (  )

7. Foi diagnosticado com hipertensão arterial?

Sim(  ) Não(  ) N/S (  )

8. Foi diagnosticado com câncer?

Sim(  ) Não(  ) N/S (  )

Em caso afirmativo:

Local d câncer: \_\_\_\_\_ Ano de diagnóstico: \_\_\_\_\_

Tratamento: QTP(  ) RXT(  ) Cirurgia(  )

Evolução: Livre da doença (  ) Em evolução (  ) Recidiva(  )

9. Sofreu alguma fratura óssea?

Sim(  ) Não(  ) N/S (  )

10. Controle dietético para hiperlipidemia?

Sim (  ) Não(  ) As vezes(  )

11. Em relação ao consumo de tabaco:

a) Não fumava e agora fumo (  ) Ano: \_\_\_\_\_ N° de cigarros por dia: \_\_\_\_\_

b) Continuo fumando (  ) qto tempo? \_\_\_\_\_ N° de cigarros por dia: \_\_\_\_\_

c) Fumava e parei de fumar(  ) Ano que parou: \_\_\_\_\_

d) Parou de fumar antes de entrar no programa ( ) qto tempo fumou?:\_\_\_\_\_

e) Nunca fumei ( )

12. Em relação ao seu tratamento Hipolipemiante (medicamentos para controle do colesterol), houve alguma mudança no seu tratamento desde a sua ultima visita no programa Hipercol Brasil?

Sim( ) Não( ) N/S( )

Qual?

---



---

13. Quantas pastilhas para o tratamento de colesterol você esquece de tomar:

a) Nunca esqueço.

b) 1-2 vezes /mês.

c) 2-4 vezes por mês

d) > 1/semana

14. Qual medicamento e qual dose você toma atualmente:

1. Rosuvastatina	Sim	Não	Não sei
5			
10			
20			
40			
1. Atorvastatina	Sim	Não	Não sei
10			
20			
40			
80			
2. Simvastatina	Sim	Não	Não sei
10			
20			
40			
80			

3. Lovastatina		Sim		Não		Não sei	
	10						
	20						
	40						
	80						
4. Pravastatina		Sim		Não		Não sei	
	10						
	20						
	40						
5. Fluvastatina		Sim		Não		Não sei	
	20						
	40						
	80						
6. Ezetimibe		Sim		Não		Não sei	
	5						
	10						
7. Resinas (unidades/dia)		Sim		Não		Não sei	
8. Fenofibrato		Sim		Não		Não sei	
	145						
	160						
	200						
9. Gemfibrozilo		Sim		Não		Não sei	
	600						
	900						
	1200						
10. Bezafibrato		Sim		Não		Não sei	
	200						
	400						
11. Ácido Nicotínico		Sim		Não		Não sei	
	500						
	1000						
	2000						
12. LDL aferesis		Sim		Não			
13. AAS		Sim		Não		Não sei	

100					
150					
300					
14. Clopidrogel		Sim		Não	Não sei
15. Sintrom		Sim		Não	Não sei
16. Betabloqueadores		Sim		Não	Não sei
17. Nitratos		Sim		Não	Não sei
18. Calcioantagonistas		Sim		Não	Não sei
19. IECAS		Sim		Não	Não sei
20. ARA II		Sim		Não	Não sei
21. Diuréticos tiazídicos		Sim		Não	Não sei
22. Diuréticos de ASA		Sim		Não	Não sei
23. Alfa-bloqueadores		Sim		Não	Não sei
24. Digitalicos		Sim		Não	Não sei
25. Insulina		Sim		Não	Não sei
26. Metformina		Sim		Não	Não sei
27. Sulfonilureas		Sim		Não	Não sei
28. Glitazonas		Sim		Não	Não sei
29. Glinidas		Sim		Não	Não sei
30. Orlistat		Sim		Não	Não sei
31. Sibutramina		Sim		Não	Não sei
32. Hormônios tireoidianos		Sim		Não	Não sei
33. Tratamento hormonal substitutivo		Sim		Não	Não sei
Especifique:					

15. Exame físico.

a) Peso \_\_\_\_\_ Kg      Altura \_\_\_\_\_ cm      IMC: \_\_\_\_ kg/m<sup>2</sup>

16. Atividade física (Questionário Internacional de Atividade Física)

Ao responder estas questões tenha em mente que:

**- Ativ. Física vigorosa: atividades que requerem um esforço físico grande e produz uma respiração muito mais intensa que o normal**

**- Ativ Física moderada: atividades que requerem um esforço moderado e produz respiração pouco mais intensa que o normal**

**- Pensar em atividades físicas que durem ao menos 10 minutos.**

1a. Nos últimos 7 dias, quantos dias realizou atividades físicas intensas, como levantar pesos, ativ aeróbica ou bicicleta em academia?

\_\_\_\_\_ dias da semana                      \_\_\_\_\_ nenhum (passar para pergunta 2)

1b. Nos dias que habitualmente pratica ativ física intensa, quanto tempo o faz por dia?

\_\_\_\_\_ horas                      \_\_\_\_\_ minutos

2a. Nos últimos 7 dias quantos dias realizou atividade física moderada como carregar pesos leves, andar de bicicleta em terreno plano, tênis? Não incluir caminhar.

\_\_\_\_\_ dias da semana                      \_\_\_\_\_ nenhum (passar para pergunta 3a)

2b. Nos dias que habitualmente pratica ativ física moderada, quanto tempo o faz por dia?

\_\_\_\_\_ horas                      \_\_\_\_\_ minutos

3a. Nos últimos 7 dias quantos dias caminhou ao menos 10 minutos? Por exemplo, caminhar do trabalho para casa, caminhada de um local a outro ou qualquer outra forma de caminhada que realize por ócio, esporte, exercício ou prazer.

\_\_\_\_\_ dias da semana                      \_\_\_\_\_ nenhum (passar para pergunta 4a)

3b. Nos dias que habitualmente caminha, quanto tempo o faz por dia?

\_\_\_\_\_ horas                      \_\_\_\_\_ minutos

3c. A que ritmo caminha normalmente?

( ) Ritmo vigoroso, onde respira muito mais intensamente que o normal

( ) Ritmo moderado, onde respira mais intensamente que o normal

( ) Ritmo mais lento que não produz mudanças na sua respiração

As últimas perguntas são sobre o tempo que gasta estando sentado cada dia no trabalho, em casa, quando realiza cursos no trabalho ou no tempo livre. Isto inclui o tempo que passa sentado em um escritório, visitando amigos, lendo ou vendo televisão.

4a. Nos últimos 7 dias quantas horas ficou sentado, em um dia de semana?

\_\_\_\_\_ horas                      \_\_\_\_\_ minutos

4b. Nos últimos 7 dias quantas horas ficou sentado, em um dia do final de semana?

\_\_\_\_\_ horas                      \_\_\_\_\_ minutos

5. Você se considera uma pessoa:

sedentária: \_\_\_\_\_ que faz ativ física moderada: \_\_\_\_\_ que faz ativ física intensa: \_\_\_\_\_