

Programa GENYCO: estrategias para el diagnóstico precoz y seguimiento de pacientes con Hipercolesterolemia Familiar en Uruguay

Dell'Oca N¹; Reyes X¹; Machado F²; Ressia A¹; Fernandez G¹; Zelarayán M¹, Stoll M¹

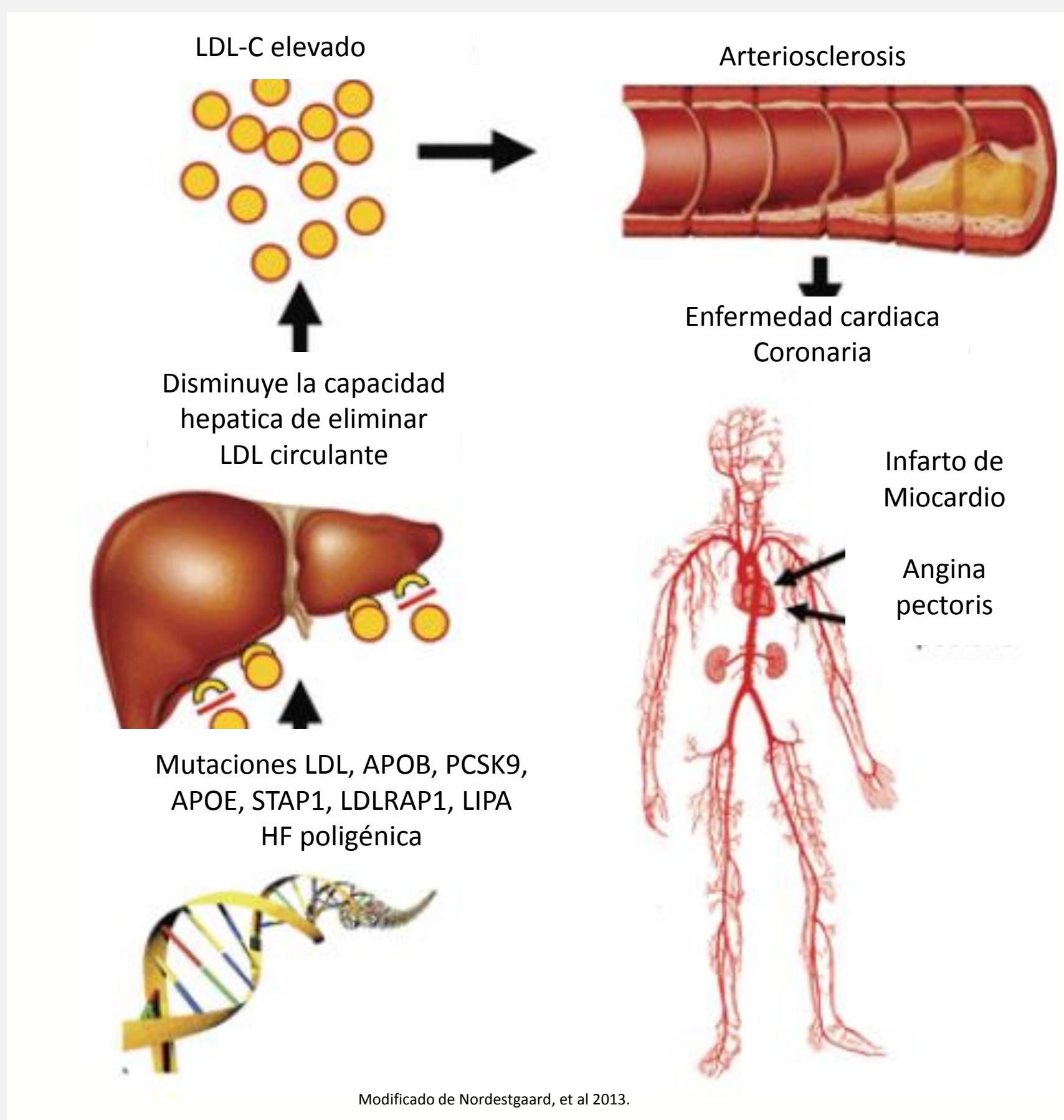
1 GENYCO Program, Cardiology Genetics Laboratory. Comisión Honoraria para la Salud Cardiovascular;
 2 Departamento de Cardiología Médica Uruguaya Corporación de Asistencia Médica. Montevideo-Uruguay

PROBLEMA

Hipercolesterolemia Familiar (HF)

La HF es el trastorno genético más frecuente asociado con enfermedad coronaria prematura una enfermedad que invalida y acorta la vida a los pacientes que la padecen (Masana *et al.*, 2013; Mata *et al.*, 2015)

Se trata de un trastorno oligogénico del metabolismo lipídico, de alta frecuencia poblacional, caracterizado por un aumento del colesterol LDL (LDL-c) desde el nacimiento debido a una disminución en la eliminación de moléculas de LDL-c de la circulación.



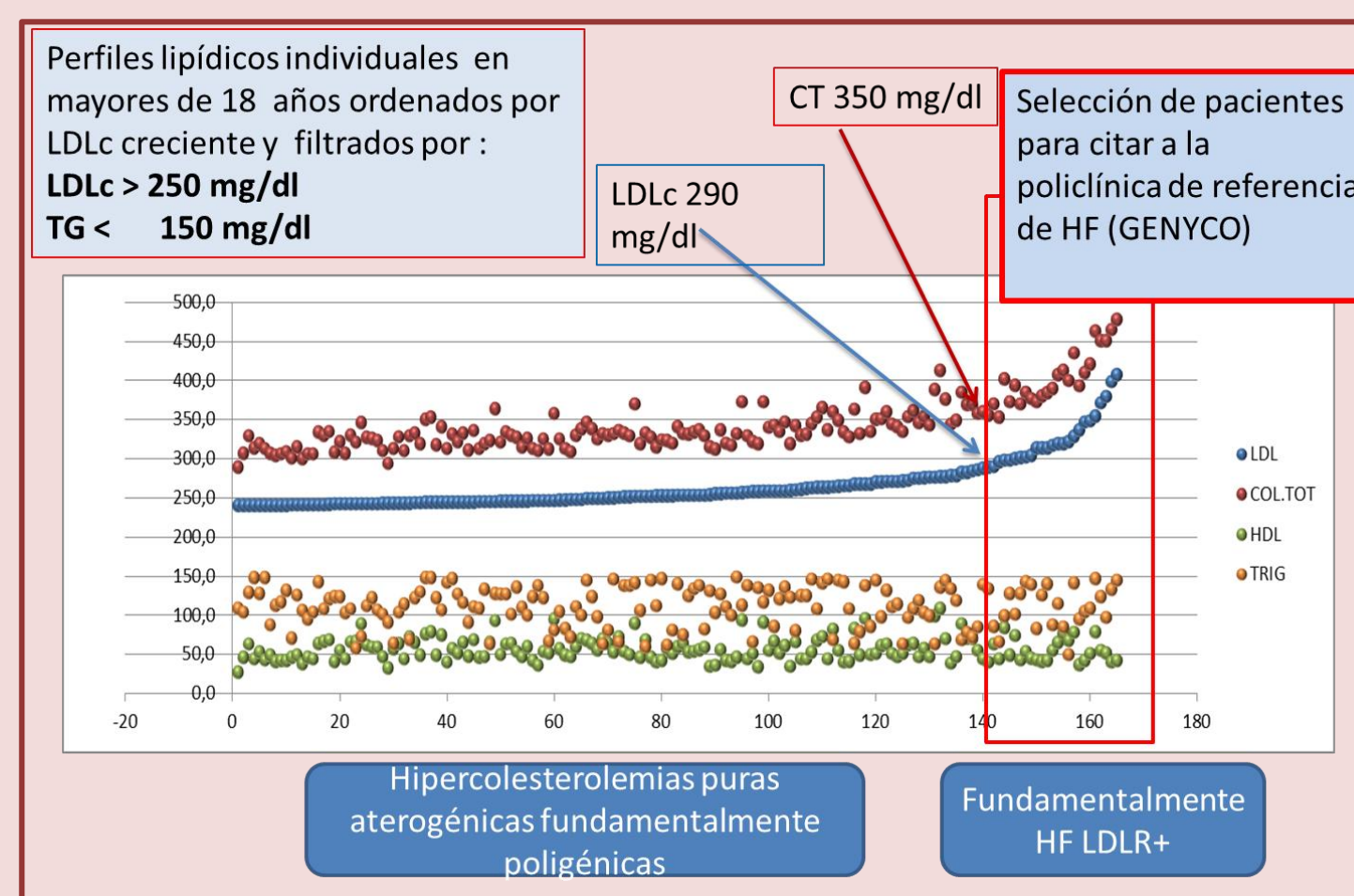
PROGRAMA GENYCO

Para reducir la carga evitable por enfermedades cardiovasculares se creó por ley en 2012 (Ley 18.996 Inciso 12, artículo 207) el programa **GENYCO** (de Genes y Colesterol) y su Decreto Reglamentario (357/013) es aprobado en 2013.

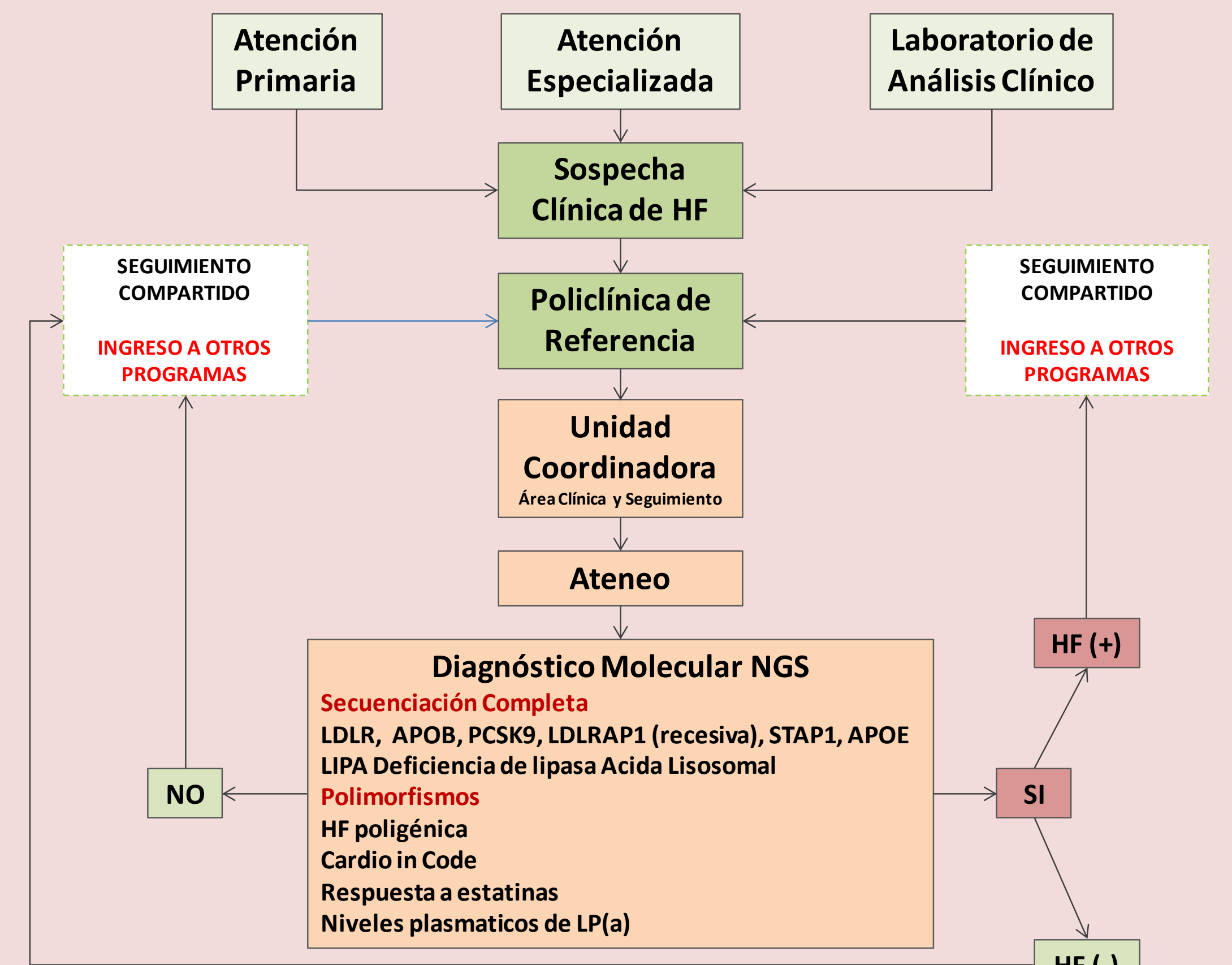
Es un Programa de genética preventiva orientado a la salud pública, cuyo **objetivo principal** es prevenir la muerte súbita y la enfermedad cardiovascular en uruguayos a través de la identificación precoz, diagnóstico molecular, seguimiento y tratamiento de pacientes con Hipercolesterolemia Familiar (HF) y otras dislipemias aterogénicas.

Funciona como un **registro** centralizado nacional, que incluye un proceso asistencial específico para la identificación de los pacientes portadores de Hipercolesterolemia Familiar y sus familiares afectados.

CRIBADO DESDE LABORATORIO CLINICO



ALGORITMO DIAGNÓSTICO



La organización del programa se basa en la adaptación de las instalaciones existentes y el conocimiento clínico en cada institución médica pública o privada a través de la creación de **Policlínicas de Referencia** que reciben los pacientes con alta sospecha clínica de HF. Estas policlínicas interactúan con la **Unidad Coordinadora**, con sede en la CHSCV a través de un software desarrollado para el **diagnóstico, registro y seguimiento** de pacientes con HF.

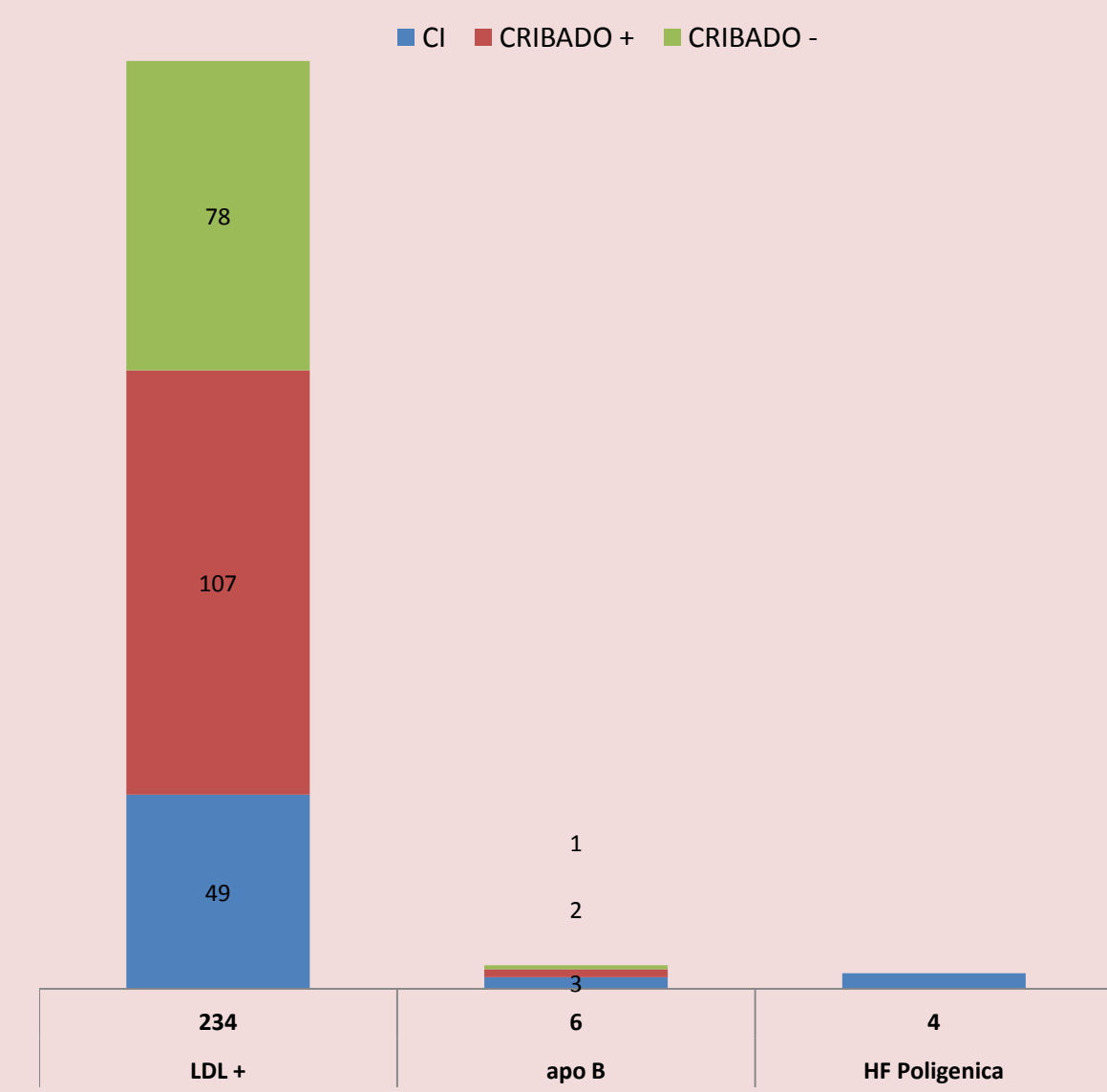
RESULTADOS

52 CI con mutación (LDLr-Apo B)

4 CI HF poligénica

Cribado 109 familiares (+)

79 Familiares (-)



CLASIFICACIÓN DE LAS MUTACIONES

MUTACIONES PATOGENÉTICAS

Región afectada	Nomenclatura HGVS	Evidencia de patogenicidad
LDLR	Prom c.-135C>G	PS3 PS4
	Prom c.-140C>A	PS4, PM1-PM2, PP1-PP4
	Prom c.-227G>C	PS4, PM1-PM2, PP1-PP4
	Exon 4 p.Gly207Gly	PS1-PS3
	Exon 4 p.Asp221Gly	PS1-PS4
	Exon 4 p.Asp227Gly	PS1-PS4
	Exon 4 p.Cys222Trp	PS4, PM1-PM2, PP1-PP2
	Exon 4 p.Gly219del	PS1-PS3
	Exon 6 p.Cys276Argfs*24	PVS1-PS1
	Exon 6 p.Glu288Lys	PS1-PS4
	Intron 6 c.941-12G>A	PS1-PS4
	Exones 4-5-6 p.P106_G314del/P106R	PVS1-PS1
	Intr 6/Exon 7 c.941-12G>A/p.Cys318*	PVS1-PS1
	Exon7 p.Cys318*	PVS1-PS4
	Exon7 p.Gly343Ser	PS1-PS3
	Exon8 p.Cys368Tyr	PS1-PS4
	Exon8/Intron 6 p.Cys368Tyr	PS1-PS4
Intron 8 c.1186+5 G>A	PS1-PS4	
Exon 9 p.Leu401Val	PS1-PS4	
Exon 9 p.R406W	PS1-PS4	
Exon 9 p.Glu418Lys	PS1-PS4	
Exon 9 p.Ala431Val	PS1-PS3	
Exon 9 p.Ile451Thr	PS1-PS4	
Exon 10 p.Asp482Asn	PS1-PS4	
Exon 10 p.Ile488Thrfs*48	PVS1-PS4	
Exon 10 p.Gln474Hisfs*63	PVS1-PS1	
Intron 11 c.1706-10G>A	PS1-PS4	
Exon 12 p.Gly593Alafs*72	PVS1-PS1	
Exon12 p.Asp601His	PS1-PS4	
Exon12 p.Glu615Glu	PVS1-PS1	
Exon 14 p.Cys681*	PVS1-PS1	
Exon 14 p.Asn688Glnfs*29	PVS1-PS1	
Intron 16 c.2389+4A>G	PS1-PS4	
Exon 11/Exon 17 p.Asn564His/p.Val800_Leu802del	PVS1-PS1	
Exon 26 ApoB p.Arg3527Gln	PS1-PS4	

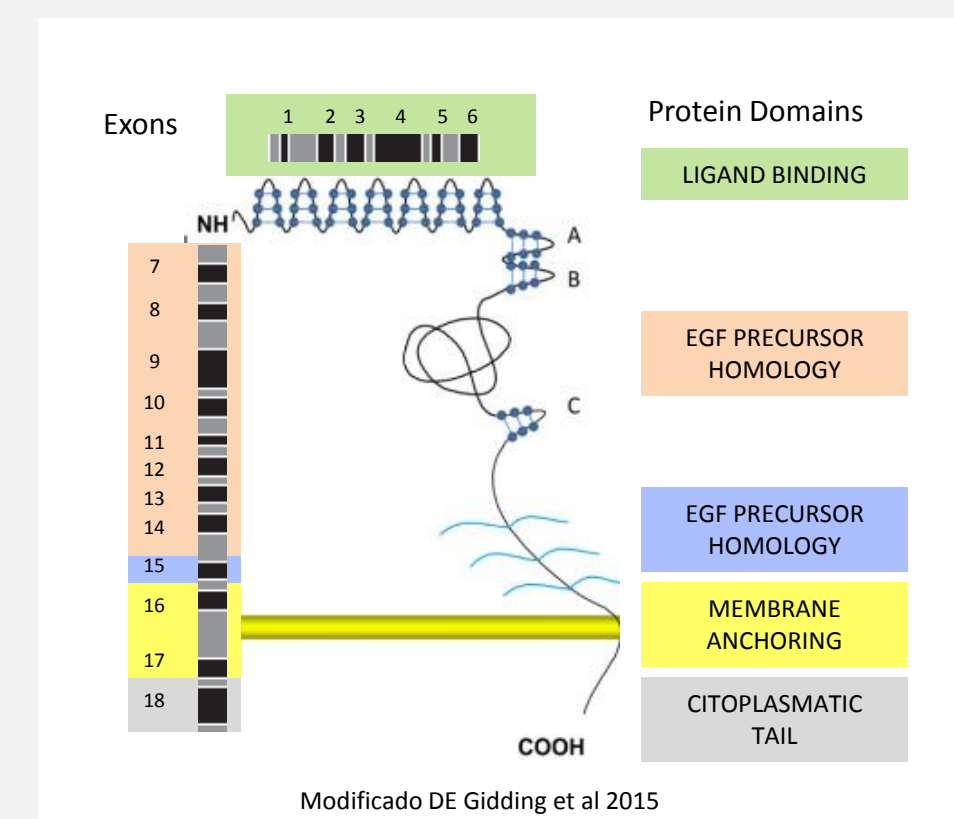
MUTACIONES DE SIGNIFICADO CLÍNICO INCIERTO

Gen afectado	Nomenclatura HGVS
PCSK9	c.1432G>A
chr1	c.85delC
STAP1	c.277G>A
chr4	c.120+6T>C
ApoB	c.6639_6641delTGA
	c.1266A>G
	c.5599C>T
	c.3337G>C
LDLR	c.2448G>C
chr19	c.680-92_680-91insG
	c.1236-30C>T

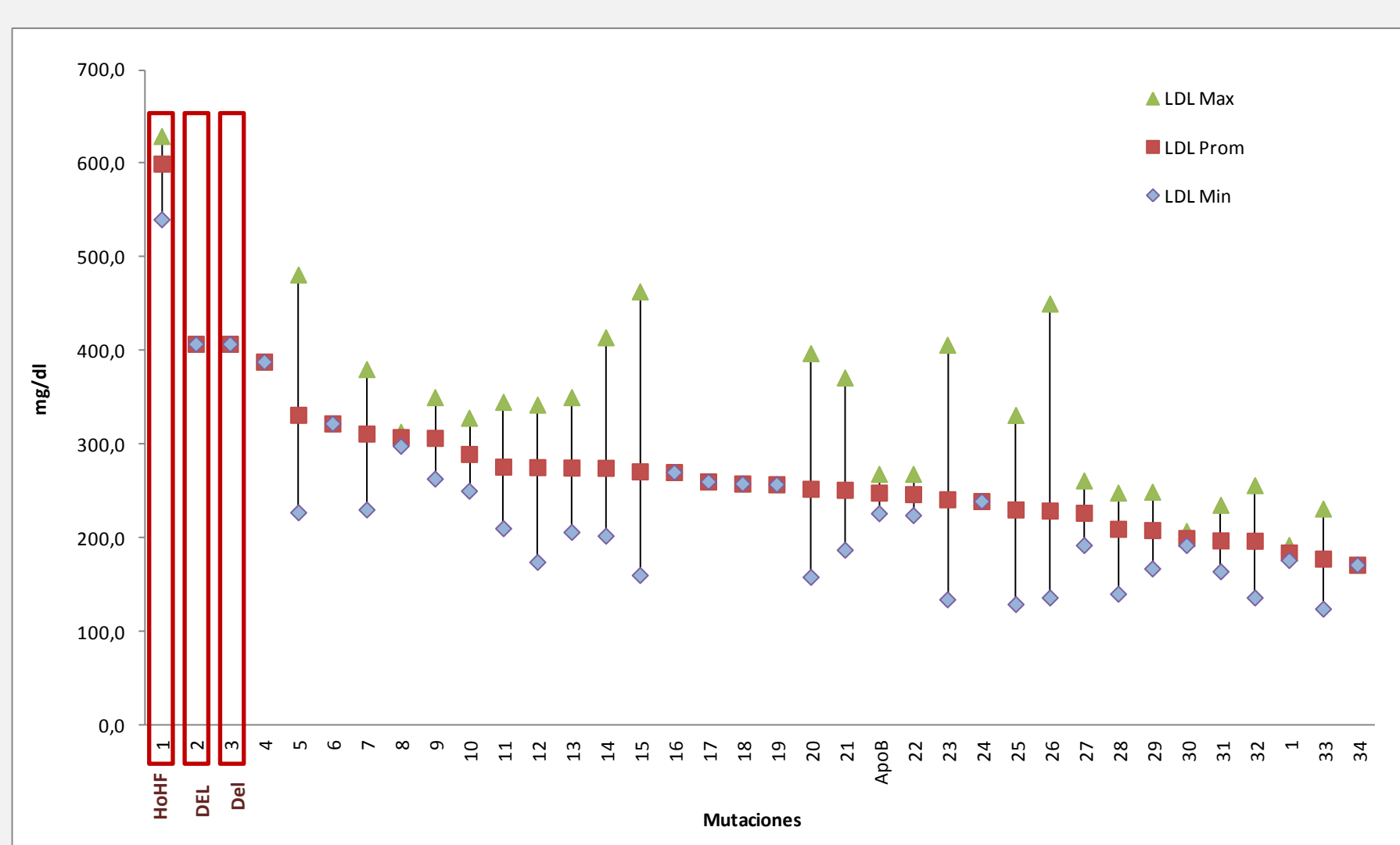
REGLAS PARA COMBINAR CRITERIOS PARA CLASIFICAR VARIANTES

Pathogenic:	(i) 1 Very strong (PVS1) AND (ii) 1 Strong (PS1-PS4) OR (iii) 2 Moderate (PM1-PM6) OR (iv) 1 Moderate (PM1-PM6) and 1 supporting (PP1-PP5) OR (v) 2 Supporting (PP1-PP5) OR (vi) 2 Strong (PS1-PS4) OR (vii) 1 Strong (PS1-PS4) AND (viii) 3 Moderate (PM1-PM6) OR (ix) 2 Moderate (PM1-PM6) AND 2 Supporting (PP1-PP5) OR (x) 1 Moderate (PM1-PM6) AND 4 supporting (PP1-PP5)
Likely pathogenic:	(i) 1 Very strong (PVS1) AND 1 moderate (PM1-PM6) OR (ii) 1 Strong (PS1-PS4) AND 1-2 moderate (PM1-PM6) OR (iii) 1 Strong (PS1-PS4) AND 2 supporting (PP1-PP5) OR (iv) 2 Strong (PS1-PS4) OR (v) 2 Moderate (PM1-PM6) AND 2 supporting (PP1-PP5) OR (vi) 1 Moderate (PM1-PM6) AND 4 supporting (PP1-PP5)
Benign:	(i) 1 Stand-alone (BA1) OR (ii) 2 Strong (BS1-BS4)
Likely benign:	(i) 1 Strong (BS1-BS4) and 1 supporting (BP1-BP7) OR (ii) 2 Supporting (BP1-BP7)
Uncertain significance:	(i) Other criteria shown above are not met OR (ii) The criteria for benign and pathogenic are contradictory

ESTRUCTURA PROTEICA DE LDLR



SEVERIDAD DE LAS MUTACIONES



1	c.-140C>A
2	p.P106_G314del/P106R
3	p.Glu288Lys/p.Glu615Glu
4	p.Ala431Val (FH Algerian-2)
5	p.Gly593Alafs*72 (FH Sassari-1)
6	p.Asn688Glnfs*29
7	p.Ile451Thr
8	p.Cys318*
9	c.941-12 G>A
10	c.1186+5 G>A
11	p.Asp227Gln (Africanier-1)
12	p.Cys276Argfs*24
13	p.Ile401Val
14	p.Gln474Hisfs*63 (Savona/Parma)
15	p.Cys222Trp
16	p.Glu418Lys
17	c.941-4 G>A/p.Cys318*
18	p.R406W
19	p.Gly343Ser (FH Picardie-3)
20	p.Asp482Asn
21	p.Asn564His/p.Val800_Leu802del
22	p.Asp221Gly (Padova-1)
23	c.-135C>G (FH Columbia 2)
24	p.Glu615Glu
25	p.Gly219del (FH Lithuania)
26	p.Cys368Tyr/c.941-39C>T
27	c.2389+4 A>G
28	p.Asp601His
29	p.Cys681* (Lebanese)
30	p.Ile488Thrfs*48
31	c.1706-10 G>A
32	p.Gly207Gly
33	c.-140C>A
34	p.Glu288Lys
ApoB	p.Arg3527Gln

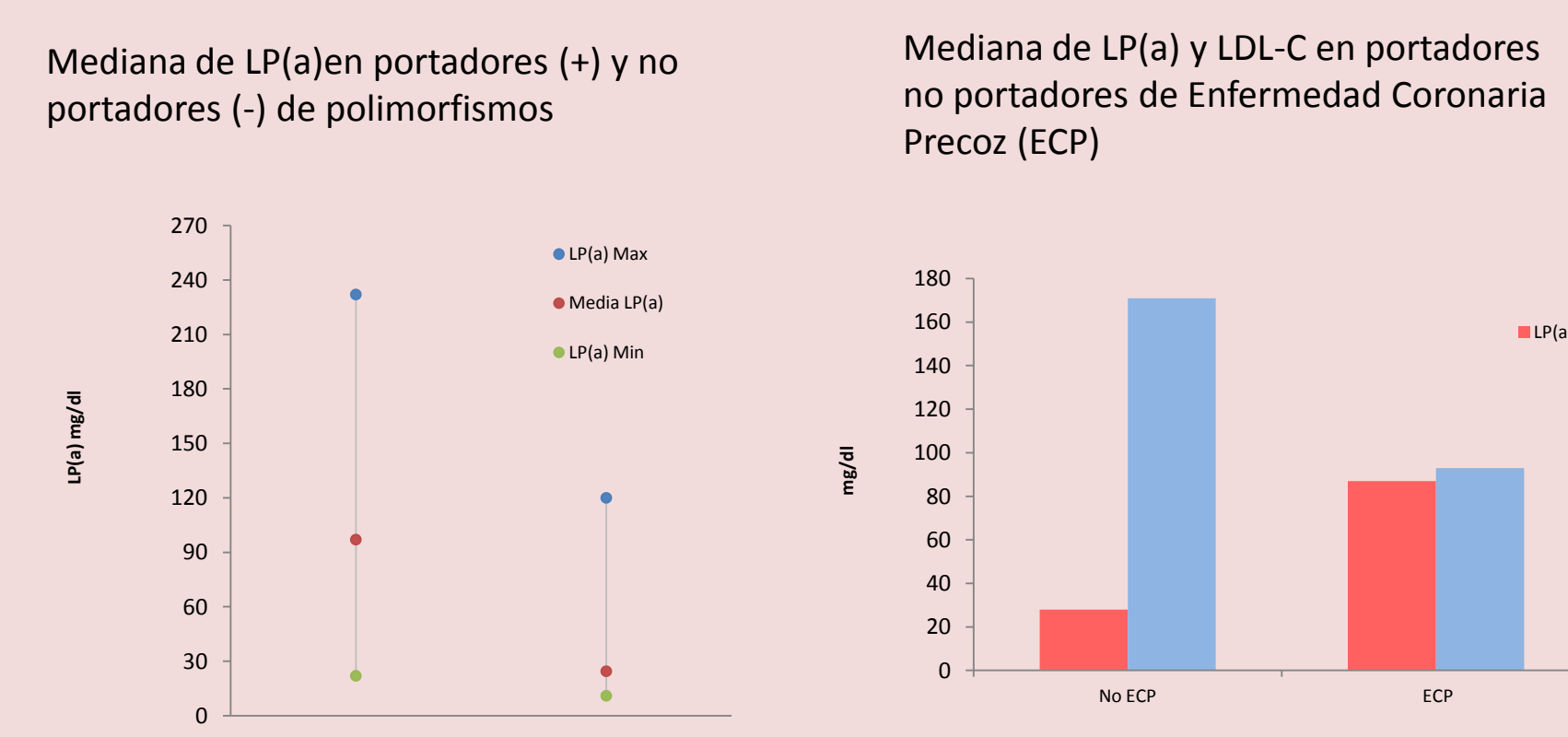
HoHF Homocigoto HF
 CheHF Heterocigoto compuesto
 Del Gran deleción

Sin sentido (STOP prematuro, cambio de ORF)
 Sitios de splicing
 INDEL Gran deleción
 Cambio de sentido
 En promotor

Entre las 10 primeras mutaciones aparecen una gran deleción, 3 mutaciones que generan STOP prematuros y 3 mutaciones que afectan sitios de splicing.

MAS ALLA DE LA HF

POLIMORFISMOS de LP(a) rs10455872 y rs3798220 Y RIESGO CARDIOVASCULAR



La media de LP(a) en portadores de al menos alguno de los polimorfismos es mucho mayor que en los no portadores. Identificamos pacientes con ECP en los que el nivel de LP(a) es mejor predictor de riesgo cardiovascular que el nivel de LDL-C.

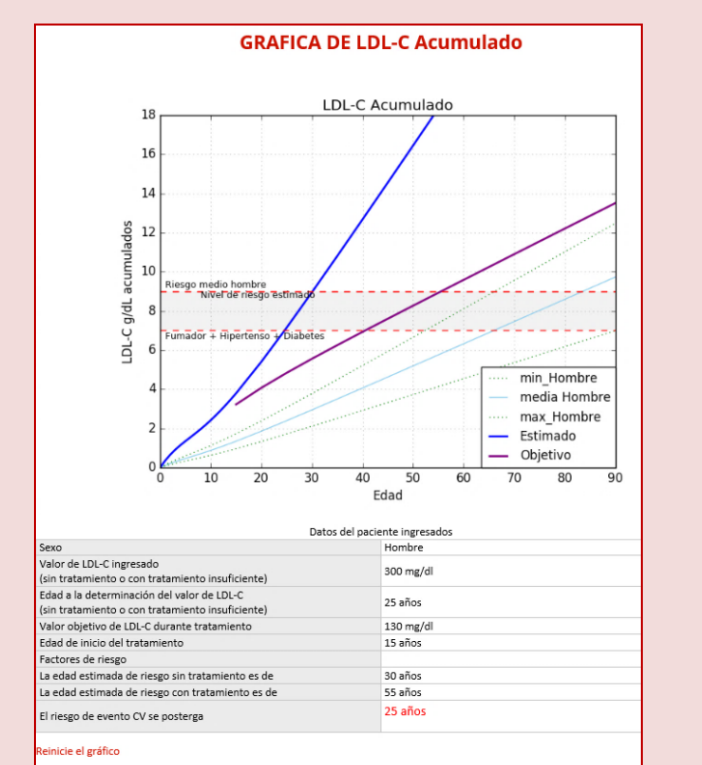
SISTEMA DE RECOLECCIÓN, TRANSPORTE Y PROCESAMIENTO DE MUESTRAS DE SALIVA



Una solución optimizada en el laboratorio del programa permite conservar el ADN genómico presente las muestras de saliva por largos periodos de tiempo a temperatura ambiente.

DESARROLLO SOFTWARE

PREDICTOR DE RIESGO VASCULAR



Desarrollamos un algoritmo por el cual, dada un único par de valores "edad - LDL-C" de un paciente, es posible estimar el recorrido de la curva de LDL-C vs Edad para dicho individuo, y luego calcular su perfil de LDL-C Acumulado vs Edad.

CONCLUSIONES

El programa GENYCO **disminuye las desigualdades en la accesibilidad al sistema de salud** al promover la universalización del diagnóstico molecular precoz de HF en todo el sistema sanitario uruguayo ya sea público o privado. La estrategia propuesta ha permitido avanzar en la identificación precoz de pacientes y grupos familiares con HF. La caracterización de las mutaciones y de su severidad nos permitirá establecer mejor el pronóstico de la HF y evaluar la asociación de estas con la respuesta a fármacos hipolipemiantes. Los polimorfismos de LP(a) son útiles en nuestra población para predecir el riesgo cardiovascular en pacientes sin otros factores de riesgo tradicionales como LDL-C elevado. Nuestro programa es importante para **disminuir la carga prematura y evitable de morbilidad, mortalidad y discapacidad** en el adulto joven producida por Enfermedades Cardiovasculares (la principal causa de muerte en nuestro país). Esto trae aparejado una mejora en la calidad de vida y la situación de salud de nuestra población.

REFERENCIAS

MASANA, L. et al. [Expert consensus on the detection and clinical management of familial hypercholesterolemia]. *Clin Investig Arterioscler*, v. 25, n. 4, p. 182-93, 2013 Sep-Oct 2013. ISSN 1578-1879. Disponible em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24041472> >.
 MATA, P. et al. [Diagnosis and treatment of familial hypercholesterolemia in Spain: Consensus document]. *Seminergen*, v. 41, n. 1, p. 24-33, 2015 Jan-Feb 2015. ISSN 1578-8865. Disponible em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25042971> >.
 NORDSTGAARD, B. G. et al. 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*, v. 34, n. 45, p. 3478-90a, Dec 2013. ISSN 1522-9645. Disponible em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23956253> >.
 GIDDING, S. S. et al. The Agenda for Familial Hypercholesterolemia: A Scientific Statement From the American Heart Association. *Circulation*, v. 132, n. 22, p. 2167-92, Dec 2015. ISSN 1524-4539. Disponible em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26510694> >