



2023

UNIVERSITATEA DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE
„CAROL DAVILA”, BUCUREȘTI
ȘCOALA DOCTORALĂ
DOMENIUL MEDICINĂ

*Dislipidemiile familiale,
aspecte clinico-terapeutice și genetice la vârstă pediatrică*

REZUMATUL TEZEI DE DOCTORAT

Conducător de doctorat:

PROF. UNIV. DR. GHERGHINA IOAN

Student-doctorand:

TOPOR (Căs. CONSTANTIN)

ANDREEA TEODORA

2023

Cuprins

Introducere	9
I. Partea generală	12
1. Dislipidemii	13
1.1. Ateroscleroza	17
2. Hipercolesterolemia familială	19
2.1. Fiziopatologia hipercolesterolemiei familiale	20
2.2. Protocoale și algoritmi de diagnostic pentru hipercolesterolemia familială	21
2.3. Diagnostic diferențial	22
2.4. Diagnostic genetic	24
2.5. Cost-eficacitatea programelor naționale de screening	28
2.6. Tratamentul hipercolesterolemiei familiale	28
II. Contribuții personale	37
3. Ipoteza de lucru și obiectivele generale	38
4. Prezentări de caz	39
4.1. Caz clinic I	39
4.2. Discuții și concluzii caz I	41
4.3. Caz clinic II	43
4.4. Discuții și concluzii caz II	48
5. Studiu retrospectiv transversal	50
5.1. Ipoteza de lucru și obiective specifice	50
5.2. Material și metodă	50
5.3. Rezultate	52

5.4. Discuții	73
5.5. Concluzii	79
6. Studiu prospectiv	81
6.1. Ipoteza de lucru și obiective specifice	81
6.2. Material și metodă	81
6.3. Rezultate	87
6.4. Discuții	106
6.5. Concluzii	112
7. Concluzii și contribuții personale	114
Bibliografie	117

Lista cu abrevieri și simboluri

ABCG5	caseta legand a ATP-ului subfamilia G, membrul 5
ABCG8	caseta legand a ATP-ului subfamilia G, membrul 8
AD	autozomal dominant
ANGPTL3	proteina angiopoietin-like 3
Apo E	apolipoproteina E
ApoA-1	apolipoproteina A1
ApoA-V	apolipoproteina A-V
ApoB	apolipoproteina B
Apo-CII	apolipoproteina CII
AR	autozomal recesiv
ATP	adenozin trifosfat
BSEC	boala de stocaj a esterilor de colesterol
CCL2	proteina 1 chemoattractantă monocitară
CRISPR-Cas9	repetări palindromice scurte, interspațiate în mod regulat, grupate
DGGE	Denaturing Gradient Gel Electrophoresis
DHA	acid docosahexaenoic
EPA	acid eicosapentaenoic
GPIHBP1	glycosylphosphatidylinositol anchored high density lipoprotein binding protein 1
HDL	lipoproteine cu densitate mare
HeHF	hipercolesterolemia familială heterozigotă
HF	hipercolesterolemia familială
HoHF	hipercolesterolemia familială homozigotă
IAP	Indicele aterogenic al plasmei
ICAM1	molecula de adeziune intracelulară 1
IDL	lipoproteine cu densitate medie
IL-8	interleukina 8
INSMC	Institutul Național pentru Sănătatea Mamei și Copilului „Alessandrescu-Rusescu”, București
LAL	lipaza acidă lizozomală

LIPA	lipaza acidului lizozomic
LIPC	lipaza C, tipul hepatic
LIPG	lipaza G, tipul endotelial
LDL	lipoproteine cu densitate mică
LDLR	receptorul pentru LDL-colesterol
LDLRAP	proteina asociată receptorului pentru LDL colesterol
LPL	lipoprotein lipaza
MLPA	Multiplex Ligation-Dependent Probe Amplification
PCSK9	protein convertaza subtilisin/kexin 9
PGM	Personal Genome Machine
SSCP	Single-Strand Conformation Polymorphism
STAP1	Signal Transducing Adaptor Family Member 1
TG	trigliceride
VCAM1	molecula de adeziune celulară vasculară 1
VLDL	lipoproteine cu densitate foarte mică

Introducere

Interesul pentru dislipidemie este în creștere în lumea medicală, fiind unul dintre factorii de risc pentru afecțiunile cardiovasculare precoce. De multe ori, dislipidemia se instalează de la vârsta copilăriei. Însoțită de un stil de viață nesănătos, de alegeri alimentare agravante (consumul crescut de alimente procesate și fast-food), de tendința către sedentaritate, poate avea consecințe grave ca evenimente coronariene la vârste tinere (înainte de 50 ani).

Prezența factorilor de risc cardiovascular modificabili și non-modificabili în copilărie se asociază cu evenimente cardiovasculare în viața adultă [1]. De aceea, este esențială abordarea acestor factori de risc cardiovascular, inclusiv dislipidemia, în copilărie, pentru a îmbunătăți prognosticul, într-o abordare preventivă.

În România nu se află în derulare niciun program de screening pentru dislipidemia la vârstă pediatrică.

Lucrarea de față își propune să lanseze un semnal de alarmă privind dislipidemia, atât ca afecțiune de sine stătătoare cât și secundară unor alte afecțiuni sau indusă iatrogen.

În cadrul acestei lucrări de doctorat am pornit de la mai multe ipoteze de cercetare. Prima ipoteză a fost că pacienții cu dislipidemie au diverse afecțiuni sau urmează tratamente care influențează valorile profilului lipidic. Obiectivele au inclus analizarea afecțiunilor care au dus la creșterea valorilor LDL-colesterolului; descrierea afecțiunilor care pot determina modificări ale profilului lipidic.

Pentru demonstrarea acestei ipoteze am derulat un studiul retrospectiv, descriptiv, transversal pe o perioadă de 9 ani (2011-2020) ce include evaluarea a peste 3000 de profiluri lipidice recoltate în cadrul Institutului Național pentru Sănătatea Mamei și Copilului "Alessandrescu-Rusescu", București. Din cei 2413 pacienți incluși, 18,23% au avut valori crescute ale LDL-colesterolului (peste 130 mg/dL). Acești pacienți au avut diagnostice variate. Un procent semnificativ de pacienți (25,91%) au diagnosticați cu obezitate și alte tulburări prin exces de aport. Dintre pacienții incluși în studiu, 9,09% au fost diagnosticați cu dislipidemie și 6,36% specific cu hipercolesterolemie.

Cea de-a doua ipoteză a fost că pacienții cu hipercolesterolemie familială pot fi identificați prin screening și diagnosticul poate fi confirmat prin testare genetică. Pacienții cu hipercolesterolemie familială confirmată genetic răspund mai puțin la tratament igienico-dietetic față de pacienții cu testare genetică negativă. Obiectivele au inclus identificarea pacienților cu suspiciune de hipercolesterolemie familială; identificarea și descrierea mutațiilor genetice identificate la pacienții cu testare genetică pozitivă; determinarea răspunsului la tratamentul igienico-dietetic al pacienților cu hipercolesterolemie familială.

Pentru demonstrarea acestei ipoteze a fost derulat un studiu, prospectiv, longitudinal axat pe hipercolesterolemia familială ce conține elemente inovative în acest domeniu pentru țara noastră. Din câte știm, este la acest moment singurul studiu din România care include testarea genetică și descrierea mutațiilor identificate pentru hipercolesterolemia familială pentru pacienți de vârstă pediatrică. În cadrul acestui studiu au fost selectați 20 pacienți care au beneficiat de testare genetică pentru hipercolesterolemie familială. La opt pacienți au fost identificate mutații implicate în etio-patogenia hipercolesterolemiei familiale. Aceste mutații vizează genele care codifică receptorul pentru lipoproteine cu densitate mică (LDLR), apolipoproteina B (APOB) și protein convertaza subtilisin/kexin 9 (PCSK9).

Pacienții selectați pentru testare genetică au primit recomandări pentru inițierea tratamentului igienico-dietetic și ulterior a fost evaluat răspunsul la tratament. Pacienții cu testare genetică negativă au înregistrat scăderi mai mari ale colesterolului total și LDL-colesterolului comparativ cu pacienții cu testare genetică pozitivă.

Lucrarea include și prezentarea a două cazuri clinice deosebite. Prima pacientă, cu dislipidemie ereditară tip V, a reprezentat o provocare pentru echipa medicală având în vedere valorile extreme ale profilului lipidic și managementul dificil prin vârsta tânără (4 luni). Cel de-al doilea caz este un pacient cu hipercolesterolemie familială, heterozigot compus, care datorită valorilor mari ale LDL-colesterolului a necesitat începerea tratamentului cu statine off-label, înainte de vârsta la care a fost aprobat de Agenția Europeană pentru Medicamente.

Tratamentul dislipidemiilor începe și se bazează pe măsuri igienico-dietetice și schimbarea stilului de viață. În anumite situații este necesar tratamentul medicamentos. Opțiunile de tratament medicamentos la pacienții cu dislipidemie includ tratamentul cu statine, inhibitori de PCSK9,

anticorpi monoclonali. Date recente demonstrează că inițierea tratamentului cu statine la tinerii cu vârsta sub 18 ani, diagnosticați cu hipercolesterolemie familială reduce riscul de afecțiuni cardiovasculare la vârstă adultă [1].

Abordarea dislipidemiei de la vârstă pediatrică, într-o manieră preventivă, poate îmbunătăți calitatea vieții pacienților prin prevenția evenimentelor cardiovasculare pentru care aceștia prezintă un risc crescut. În cadrul unui program de screening pentru hipercolesterolemie familială, pentru fiecare 1000 de persoane testate pot fi evitate 46 infarcte miocardice, 50 cazuri de angină, 8 accidente vasculare cerebrale și 16 decese pe o perioadă de 20 ani [2].

Există anumite limitări ale studiilor prezentate. Una dintre ele este reprezentată de costul încă ridicat al testării genetice în țara noastră. Din acest considerent numărul de pacienți care au putut beneficia de diagnostic molecular pentru hipercolesterolemie familială a fost mic. Sunt necesare studii de anvergură mai mare, pe un areal geografic mai extins pentru a putea descrie corespunzător mutațiile responsabile de etiopatogenia hipercolesterolemiei familiale în România.

Lucrarea de față completează informațiile disponibile la nivel mondial privind implicarea dislipidemiei la pacienții cu alte afecțiuni subiacente sau tratament. Aduce informații noi în lumea medicală privind diagnosticul molecular al pacienților cu hipercolesterolemie familială și mai ales mutațiile identificate la pacienții de vârstă pediatrică din țara noastră, informații ce pot contribui la bazele unui program național de screening pentru dislipidemie la vârstă pediatrică și unui registru al pacienților cu hipercolesterolemie familială.

I. Partea generală

1. Dislipidemii

Dislipidemia este definită de valorile crescute plasmatice ale colesterolului total și/sau trigliceridelor (TG) sau valoarea scăzută a lipoproteinelor cu densitate mare (HDL-colesterol). Efectul pe termen lung al dislipidemieii este dezvoltarea aterosclerozei [3].

Asocierea dintre factorii de risc din copilărie și dezvoltarea afecțiunilor cardiovasculare aterosclerotice la vârstă adultă a fost demonstrată recent [4, 5]. Anumiți factori de risc, printre care hiperlipemia, hipertrigliceridemia, hipertensiunea și obezitatea la vârste tinere pot accelera procesul de aterogeneză [6].

Există patru clase de dislipidemii la vârstă pediatrică: dislipidemia determinată de stilul de viață, dislipidemia ca efect secundar al anumitor tratamente medicamentoase, afecțiuni genetice ale lipidelor și dislipidemii secundare în cadrul altor afecțiuni [7, 8].

2. Hipercolesterolemia familială

Hipercolesterolemia familială (HF) este o afecțiune genetică frecventă (prevalența estimată în SUA fiind de 1:220 persoane). Studiul EUROASPIRE-IV, în cadrul căruia a fost investigată prevalența HF folosind criteriile Dutch Lipid Clinic Network, în 24 de țări europene estimează o prevalența HF la 8,3%-20% la pacienții cu vârstă mai mică de 50 ani, variațiile fiind destul de mari de la o țară la alta (în Finlanda 3,4% vs. Bosnia Herțegovina 20,8%) [9]. Dacă nu este diagnosticată și tratată la timp, HF duce la infarct miocardic la bărbați în 50% din cazuri înainte de vârsta de 50 ani, iar la femei în 30% din cazuri înaintea vârstei de 60 ani [10].

Majoritatea pacienților sunt asimptomatici la vârstă pediatrică și se prezintă de obicei la momentul evenimentului cardiovascular, observându-se afecțiuni coronariene mai frecvent decât afectarea arterelor periferice sau afectarea cerebrală [11]. Organizații ca Societatea Europeană de Ateroscleroză (European Atherosclerosis Society) și Academia Americană de Pediatrie (American Academy of Pediatrics) recomandă efectuarea unui screening universal la vârstă pediatrică pentru a identifica pacienții la risc de boală aterosclerotică precoce [1, 12–14].

Screening-ul pentru HF este la îndemâna medicilor de familie și pediatriilor deoarece include întrebări privind antecedentele heredocolaterale (istoric familial de evenimente cardiovasculare

ca de exemplu infarct miocardic acut sau accident vascular cerebral la vârste tinere) și determinarea nivelului de colesterol total și LDL-colesterol [15, 16]. Valorile LDL-colesterolului sugestive pentru HF variază între autori de la 140 mg/dL la 190 mg/dL [15, 17–19].

2.1. Fiziopatologia hipercolesterolemiei familiale

HF este determinată de mutații la nivelul genelor care codifică proteine cheie implicate în căile de endocitoză și reciclare a receptorului pentru LDL (LDLR). Aceste mutații duc la valori crescute ale LDL-colesterolului în plasmă [20]. Valorile crescute ale LDL-colesterolului duc la retenția colesterolului la nivelul peretelui arterial și apariția celulelor spumoase la nivelul intimei arterelor. Astfel de leziuni precoce determină ateroscleroză obstructivă apoi angină pectorală și /sau ruptura plăcii de aterom urmată de evenimente cardiovasculare ca de exemplu infarct miocardic [20].

2.2. Protocoale și algoritmi de diagnostic pentru hipercolesterolemia familială

Au fost propuse mai multe abordări privind algoritmul ideal pentru identificarea pacienților cu HF. Criteriile Simon Broome și Dutch Lipid Clinic Network folosite în mod curent la pacienții adulți pentru diagnosticul HF nu sunt aplicabile la vârstă pediatrică.

Nu există un consens nici în ceea ce privește vârsta la care ar trebui efectuat screening-ul. Consensul lipsește și în ceea ce privește inițierea tratamentului cu statine pe care unii autori îl recomandă de la vârsta de 8 ani, alții începând cu 10 ani, sau recomandă chiar administrarea acestora abia atunci când și alți factori de risc cardiovasculari sunt prezenți [18, 21].

2.3. Diagnostic diferențial

Diagnosticul diferențial este important pentru a deosebi HF de alte afecțiuni cu manifestări similare, ca de exemplu xantomatoza cerebrotendinoasă, boala de stocaj a esterilor de colesterol și sitosterolemia [22].

2.4. Diagnostic genetic

Transmitere HF este autozomal dominantă. În cadrul mecanismului patogenetic al HF au fost identificate mutații responsabile de reducerea catabolismului particulelor de LDL colesterol. Până în prezent au fost raportate cinci mutații majore care determina HF: APOB, APOE, LDLR,

PCSK9 și STAP1 [23]. La nivel mondial au fost documentate peste 1200 de mutații la nivelul LDLR care afectează domeniile funcționale ale receptorului pentru LDL. Mutații heterozigote pentru LDLR sunt identificate în aproximativ 90% din cazurile de HF în timp ce mutațiile APOB sunt identificate în aproximativ 5% din cazuri iar PCSK9 în aproximativ 1% din cazuri. Prevalența mutațiilor variază geografic [20].

Identificarea mutației genetice cauzatoare pentru HF confirmă diagnosticul. Diagnosticul genetic este esențial pentru efectuarea screening-ului în cascadă ceea ce permite confirmarea sau infirmarea HF la alți membrii ai familiei [24].

2.5. Cost-eficacitatea programelor naționale de screening

Beneficiul pentru sănătate și cost-eficacitate program național de screening sunt corelate negativ cu vârsta la momentul diagnosticului [25]. Un studiu, realizat în Spania estimează că raportul incremental cost-eficacitate este de 26.792€ per eveniment coronarian evitat și 111.567€ per deces evitat [2].

2.6. Tratamentul hipercolesterolemiei familiale

Hipercolesterolemia familială necesită tratament pe tot parcursul vieții pacientului afectat [17].

Tratamentul HF, în formele ușoare-medii, este bazat pe măsurile igieno-dietetice. Multiple studii au confirmat faptul că factorii de risc pentru ateroscleroză la adult contribuie la dezvoltarea aterosclerozei la copii. Printre acești factori enumerăm: valorile crescute ale LDL-colesterolului (caracteristice pentru HF), obezitatea, hipertensiunea, expunerea la fumat, diabetul și altele [26, 27].

2.6.1. Managementul non-farmacologic

Opțiunile de tratament în HF depind de vârsta pacientului și de nivelul LDL-colesterolului. Pacienții cu HF necesită consiliere privind schimbarea stilului de viață. Intervenția asupra stilului de viață constă în dietă săracă în grăsimi, activitate fizică, renunțarea la fumat se menține chiar dacă este inițiat și tratamentul medicamentos [18].

2.6.2. Managementul farmacologic

Conform ghidurilor europene, tratamentul cu statine este recomandat la pacienții de vârstă pediatrică începând cu vârsta de 10 ani, concomitent cu măsuri privind schimbarea stilului de

viață [28]. În România, conform Agenției Naționale a Medicamentului și a Dispozitivelor Medicale, rosuvastatina este aprobată pentru administrare în pediatrie de la vârsta de 6 ani.

Dacă tratamentul cu statine se dovedește ineficient se pot lua în considerare creșterea dozei de statine, schimbarea cu un alt compus din aceeași clasă considerat mai eficient, adăugarea la schema de tratament a unui alt medicament, cu același efect dar alt mecanism de acțiune [29].

Alte opțiuni de tratament medicamentos disponibile pentru pacienții de vârstă pediatrică sunt inhibitorii de absorbție a colesterolului (ezetimibe), rășini schimbătoare de ioni (colestyramin)[29]. În ultimii ani au fost făcute progrese remarcabile în ceea ce privește opțiunile de tratament pentru scăderea valorilor colesterolului. Inhibitorii PCSK-9 (evolocumab, alirocumab) pot ajuta la scăderea valorilor LDL-colesterolului cu 50-60% atunci când sunt asociați tratamentului cu statine [19, 30, 31].

Optimizarea tratamentului HF pentru copii și adolescenți afectați necesită o echipă multidisciplinară care să includă medicul de familie, medicul pediatru și ulterior trecerea către serviciile medicale pentru adulți [32].

II. Contribuții personale

3. Ipoteza de lucru și obiectivele generale

Cercetarea de față, cu titlul Dislipidemiile familiale, aspecte clinico-terapeutice și genetice la vârstă pediatrică are la bază teoria conform căreia persoanele cu un bagaj genetic deosebit, expuși la anumiți factori de mediu au șanse mai mari de a dezvolta anumite afecțiuni și răspund diferit la tratament.

Cercetarea inițială începe cu două cazuri clinice deosebite ce stau la baza interesului autoarei pentru această patologie. Ambele cazuri sunt forme rare, severe ce au pus în dificultate echipa medicală din punct de vedere al managementului. Prin prezentarea acestor cazuri, sunt evidențiate particularitățile pacienților cu dislipidemie primară.

Primul studiu, descriptiv, transversal își propune să abordeze toate tipurile de dislipidemii identificate în cadrul unui spital de pediatrie, indiferent de etiologie. Obiectivele includ descrierea diagnosticelor pacienților cu dislipidemia și evaluarea riscului aterogen la aceștia prin utilizarea unor indici (Indicele Aterogen al Plasmei, indicii Castelli I și II).

Cel de-al doilea studiu, prospectiv intervențional este axat pe hipercolesterolemia familială și are ca obiective descrierea unor aspecte legate de diagnosticul genetic al pacienților cu suspiciune de hipercolesterolemie familială, abordarea unor elemente clinice și terapeutice importante pentru managementul acestor pacienți.

4. Prezentări de caz

4.1. Caz clinic I

Prezentăm cazul unui sugar de sex feminin, internat la INSMC "Alessandrescu-Rusescu" din București la vârsta de 4 luni. Pacienta a fost îndrumată în clinica noastră de medicul de familie.

Rezultatele investigațiilor de laborator, în mod deosebit profilul lipidic au fost surprinzătoare: lipemie totală 22.390 mg/dL (valoare normală 400-800 mg/dL), trigliceridemie 18.260 mg/dL (valoare normală 35-160 mg/dL), LDL-colesterol 900 mg/dL, HDL-colesterol 20 mg/dL, raport colesterol/trigliceride 0,04. Funcția hepatică nu a putut fi evaluată (transaminaze nedozabile).

A fost efectuată lipidograma cu următoarele rezultate: α -lipoproteine 19,9%, pre β -lipoproteine 39,3%, β -lipoproteine 39,2%, chilomicroni 1.6%. Este evidentă creșterea intensă a pre β -lipoproteinelor și chilomicronilor.

În această etapă, au putut fi stabilite următoarele diagnostice: dislipidemie ereditară tip V cu hipercolesterolemie și hipertrigliceridemie.

În contextul valorilor extreme ale profilului lipidic și al resurselor terapeutice restrânse (sugar de vârstă mică, alimentat exclusiv natural), a fost inițiat tratament igienico-dietetic. Evoluția pacientei pe termen scurt a fost marcată, în prima lună de la stabilirea diagnosticului, de 2 episoade de pancreatită acută edematoasă. Ulterior, sub regim igienico-dietetic, evoluția a fost lent favorabilă.

4.2. Discuții caz clinic I

Hiperlipoproteinemia tip V este un fenotip rar de dislipidemie caracterizat de prezența chilomicronilor în probele recoltate à jeun și forme extreme de hipertrigliceridemie [33]. Prevalența acestui tip de dislipidemie este de 0,13-0,15% în populația de vârstă adultă [34].

În cazul prezentat, măsurile utilizate de obicei pentru scăderea hipertrigliceridemiei au fost extrem de dificil de implementat, singura intervenție putând fi făcută la nivel dietetic prin ajustarea cantității de lapte și diversificare.

Acest caz, investigat în cadrul clinicii înainte de începerea studiilor prezentate în cadrul acestei teze a fost marcat de dificultatea managementului. La momentul respectiv, opțiunile de tratament au fost extrem de reduse. Este cazul care stă la baza interesului autoarei pentru dislipidemiile ereditare.

4.3. Caz clinic II

Prezentăm cazul unui pacient, de sex masculin, care la vârsta de 4 ani a fost diagnosticat cu hipercolesterolemie familială, având la acel moment următoarele valori ale profilului lipidic: colesterol total 942 mg/dL (valoare normală \leq 200mg/dL [35]), LDL-colesterol 792 mg/dL (valoare normală \leq 130 mg/dL), HDL-colesterol 20 mg/dL (valoare normală \geq 40 mg/dL), lipide totale 2286 mg/dL. Au fost testați genetic ambii părinți și copilul (Olanda). În urma testării genetice a fost diagnosticat cu Hipercolesterolemie familia, heterozigot compus, moștenind o

mutație de la mamă și o mutație de la tată (mutație/genotip 1 LDLR:C201X, exon 4 ; mutație/genotip 2 LDLR:G571E, exon 12). A primit recomandare de tratament cu statine (rosuvastatină) și ezetimibe.

Prima prezentare a acestui pacient la INSMC "Alessandrescu-Rusescu" București a avut loc la vârsta de 5 ani. La acel moment pacientul începuse dieta hipolipemiantă și se reușise scăderea valorilor profilului lipidic până la valori ale colesterolului total de 453 mg/dL și LDL-colesterol 401 mg/dL. De comun acord cu părinții a fost decisă inițierea tratamentului off-label cu rosuvastatină în doze progresiv crescânde. Tratamentul a fost inițiat cu doza de 2.5 mg/zi, după 4 luni doza a fost crescută la 5 mg/zi și ulterior la 10 mg/zi.

Cel mai bun rezultat pe parcursul a 2 ani și 6 luni de tratament a fost scăderea colesterolului total cu 36.4% și a LDL-colesterolului cu 42.39%, la prima dublare a dozei de rosuvastatină (5mg/kg/zi). După această doză valorile profilului lipidic al pacientului au fost staționare, în platou, apoi au crescut, moment în care s-a decis suplimentarea schemei terapeutice cu ezetimibe. Pacientul a tolerat bine tratamentul, fără a prezenta nici unul dintre efectele adverse menționate în prospectul produsului.

Acest caz a fost publicat cu titlul *Statins treatment and oro-dental aspects in a case of hereditary hypercholesterolemia in a child under 6 years* în revista *Acta Endocrinol* (Buchar) (2019 Jul-Sep;15(3):378-383. doi: 10.4183/aeb.2019.378. PMID: 32010359; PMCID: PMC6992394), Revistă cotate ISI, Factor de impact 0,55 [36].

4.4. Discuții și concluzii caz II

Forma homozigotă a hipercolesterolemiei familiale (HoHF) este rară, prevalența estimată fiind 1:160.000-1:300.000 persoane și este caracterizată de valori extreme ale LDL-colesterolului de peste 500 mg/dL [37]. Pacienții cu HoHF au ateroscleroză până la vârsta de 20 ani și de multe ori nu supraviețuiesc după vârsta de 30 ani [38].

În cazul pacientului nostru, după începerea tratamentului cu statine s-a obținut scăderea LDL-colesterolului seric cu 42,39%. Raportându-ne la valoarea LDL-colesterolului de la diagnostic, scăderea totală prin dietă și tratament farmacologic a fost de 70,83%. În ciuda acestor rezultate, pacientul a menținut valori ale LDL-colesterolului peste pragul recomandat de 135 mg/dL.

În concluzie, rezultatele obținute în cadrul tratamentului acestui pacient sunt susținute de date din literatură la nivel internațional, și susțin ipoteza conform căreia, pe termen scurt, tratamentul cu statine nu pare să aibă efecte adverse majore. Sunt necesare studii care să evalueze siguranța tratamentului pe termen lung la pacienții cu HF deoarece, probabil că vor urma tratament cu statine pe tot parcursul vieții.

5. Studiu retrospectiv transversal

5.1. Ipoteza de lucru și obiective specifice

Ipoteza de lucru pentru studiul retrospectiv transversal a fost că pacienții cu dislipidemie au diverse afecțiuni sau urmează tratamente care influențează valorile profilului lipidic.

Obiectivele specifice au inclus:

- ✓ Descrierea caracteristicilor profilului lipidic pentru pacienții evaluați în cadrul unui spital de pediatrie;
- ✓ Identificarea pacienților cu dislipidemie care au fost evaluați în cadrul unui spital de pediatrie;
- ✓ Descrierea caracteristicilor pacienților cu dislipidemie evaluați într-un spital de pediatrie;
- ✓ Analizarea afecțiunilor care au dus la creșterea valorilor LDL-colesterolului;
- ✓ Descrierea afecțiunilor care pot determina modificări ale profilului lipidic;
- ✓ Evaluarea riscului aterogenic la pacienții cu valori crescute ale LDL-colesterolului;
- ✓ Selecția pacienților cu suspiciune de hipercolesterolemie familială.

5.2. Material și metodă

A fost realizat un studiu retrospectiv descriptiv, transversal în cadrul căruia au fost evaluate valorile colesterolului total, LDL-colesterolului, HDL-colesterolului, trigliceridelor și lipidelor pacienților, consecutivi, pentru care a fost solicitată această investigație serologică, în perioada 2011-2020.

A fost ales un nivel prag al LDL-colesterolului de 130 mg/dL, conform Protocolului Român de Pediatrie [39]. Valorile acceptabile, borderline, și anormale pentru colesterolul total, LDL-

colesterol și trigliceride au fost definite conform recomandărilor elaborate de Panelul de Experti National Cholesterol Education Program (NCEP) [40].

În funcție de nivelul LDL-colesterolului pacienții au fost împărțiți în 2 grupuri, primul grup (A) cu valori ale LDL-colesterolului mai mici de 130 mg/dl și al doilea grup (B) cu valori ale LDL-colesterolului ≥ 130 mg/dL.

Pentru cuantificarea riscului aterogenic la pacienții cu valori crescute ale LDL-colesterolului au fost calculați Indicii Castelli I, Castelli II și Indicele Aterogenic al Plasmei (IAP).

Prelucrarea statistică a datelor a fost realizată utilizând software Microsoft Excel, Epi Info™ și MedCalc® Statistical Software. Pentru determinarea semnificației statistice au fost utilizate teste parametrice și neparametrice și a fost aleasă o valoare a semnificației statistice $<0,05$.

Studiul a fost aprobat de comisia de etică a spitalului și a fost derulat respectând Declarația Drepturilor Omului de la Helsinki.

5.3. Rezultate

5.3.1. Lotul de studiu

În cadrul acestui studiu au fost evaluate peste 3000 de dozări ale profilului lipidic din perioada 2011-2020. După eliminarea duplicatelor, constând în recoltări repetate pentru același pacient, au fost incluși 2413 pacienți.

Tabel 5.2. Valorile medii ale profilului lipidic pe grupe de vârstă

	0–2 ani	3–5 ani	6–8 ani	9–11 ani	12–14 ani	15–18 ani
	(n = 613)	(n = 354)	(n = 444)	(n = 455)	(n = 338)	(n = 209)
Colesterol total	146,4	165,9	167,3	167,3	156,9	154,5
(mg/dL)	($\pm 51,9$)	($\pm 50,5$)	($\pm 44,9$)	($\pm 40,2$)	($\pm 40,1$)	($\pm 39,3$)
LDL-colesterol	88,2	107,0	108,4	111,0	102,6	101,8
(mg/dL)	($\pm 37,1$)	($\pm 43,6$)	($\pm 38,5$)	($\pm 37,2$)	($\pm 36,0$)	($\pm 37,0$)

HDL-colesterol	41,3	53,6	55,5	53,1	50,0	49,1
(mg/dL)	(±15,4)	(±29,0)	(±14,1)	(±14,0)	(±14,5)	(±13,6)
Trigliceride	135,4	72,6	81,9	87,9	95,5	86,1
(mg/dL)	(±101,2)	(±36,9)	(±55,6)	(±46,3)	(±54,7)	(±49,4)

5.3.2. Lotul cu valori crescute ale LDL-colesterolului

Din lotul de studiu au fost identificați 440 pacienți (18,23%) cu valori ale LDL-colesterolului peste 130 mg/dl. Vârsta medie a pacienților cu valori mari ale LDL-colesterolului este 7,90 ani (±4,46). Aproape jumătate (47,50%) dintre acești pacienți sunt de gen feminin. Majoritatea pacienților (69,09%) provin din mediul urban și 44,77% din București.

Tabel 5.5. Diagnosticale pacienților cu valori crescute ale LDL-colesterolului (peste 130 mg/dL)

Diagnostic	Procentul de pacienți (n=440)
Boli endocrine, de nutriție și de metabolism	52,75%
<ul style="list-style-type: none"> • Obezitatea și alte tulburări prin exces de aport • Tulburări de metabolism (inclusiv hipercolesterolemia familială) • Malnutriție • Afecțiuni ale glandei tiroide (hipotiroidism) • Diabet zaharat 	25,91%
Altele	11,37%
Bolile sistemului respirator	11,14%
Tulburări mentale și de comportament	4,10%
Bolile sistemului digestiv	0,23%
Bolile sistemului nervos	28,65%
Malformații congenitale, deformații și anomalii cromozomiale	3,41%
Bolile sistemului osteo-articular și țesutului conjunctiv	3,21%
Bolile sistemului genito-urinar	2,96%
	2,51%
	2,29%
	1,59%
	0,92%

Boli ale sângelui și organelor hematopoietice și unele tulburări ale sistemului imunitar	0,69%
Bolile ochiului și anexelor sale	0,68%
Bolile sistemului circulator	0,23%
Tumori	0,23%

Tabel 5.6. Valorile profilului lipidic în funcție de diagnostic, pentru pacienții din grupul cu valori crescute ale LDL-colesterolului

Diagnostic	Colesterol total (mg/dL)	LDL-colesterol (mg/dL)	HDL-colesterol (mg/dL)	Trigliceride (mg/dL)
Boli endocrine, de nutriție și de metabolism	216,19 (± 48,12)	161,84 (± 41,26)	51,73 (± 15,08)	110,26 (± 63,50)
Altele	216,70 (± 66,24)	155,19 (± 30,01)	57,20 (±42,74)	100,35 (± 59,51)
Bolile sistemului respirator	206,53 (± 38,47)	151,33 (± 21,00)	50,71 (± 21,11)	128,28 (± 64,90)
Tulburări mentale și de comportament	229,46 (± 46,19)	176,35 (± 38,81)	53,78 (± 12,39)	101,35 (± 58,02)
Bolile sistemului digestiv	224,08 (± 62,36)	166,84 (± 47,57)	52,30 (± 20,23)	80,23 (± 65,10)
Bolile sistemului nervos	222,40 (± 38,12)	151,90 (± 25,06)	49,00 (± 14,14)	135,70 (± 69,84)
Malformații congenitale, deformații și anomalii cromozomiale	207,75 (± 49,52)	158,90 (± 35,50)	41,30 (± 16,85)	123,77 (± 76,08)
Bolile sistemului osteo-articular și țesutului conjunctiv	211,85 (± 56,63)	158,85 (± 42,27)	50,00 (± 16,75)	75,14 (± 20,31)
Bolile sistemului genito-urinar	432,00	325,00	57,75	253,75

	(± 114,89)	(± 111,24)	(± 6,80)	(± 287,98)
Boli ale sângelui și organelor hematopoietice și unele tulburări ale sistemului imunitar	236,00 (± 22,06)	183,66 (± 39,39)	42,00 (± 2,64)	147,33 (± 38,00)
Bolile ochiului și anexelor sale	205,66 (± 33,82)	172,00 (± 24,87)	48,00 (± 6,00)	99,00 (± 24,02)
Bolile sistemului circulator	200,00 (NA*)	138,70 (NA*)	60,00 (NA*)	91,00 (NA*)
Tumori	205,00 (NA*)	148,00 (NA*)	52,00 (NA*)	185,00 (NA*)

Tabel 5.4. Valorile medii ale indicilor Castelli I și II și a Indicelui Aterogenic al Plasmei comparativ între grupul cu LDL-colesterol crescut și grupul cu LDL-colesterol normal

	Grupul de studiu (n=2413)	LDL-colesterol crescut (n=440)	LDL-colesterol normal (n=1973)	P
Indicele Aterogenic al Plasmei	-0,11 (± 0,33)	-0,07 (± 0,32)	-0,12 (± 0,34)	0,03
Indice Castelli I	3,46 (± 3,09)	4,73 (± 6,23)	3,17 (± 1,55)	0,00
Indice Castelli II	2,26 (± 1,44)	3,51 (± 2,48)	1,98 (± 0,83)	0,00

*Indicele Aterogenic al Plasmei = $\log(\text{TG}/\text{HDL})$; Indicele Castelli I = $\text{colesterol total}/\text{HDL-colesterol}$; Indicele Castelli II = $\text{LDL-colesterol}/\text{HDL-colesterol}$

5.4. Discuții

Prevalența anomaliilor profilului lipidic în populația pediatrică generală este estimată la 8-20% [41]. În studiul derulat, 18,23% dintre pacienți au avut valori crescute ale LDL-colesterolului (≥ 130 mg/dL), valoare destul de mare comparativ cu prevalența dislipidemieii la pacienții de vârstă pediatrică raportă în literatură.

În cadrul acestui studiu, 31,82% dintre pacienții cu vârsta între 0 și 9 ani au avut valori crescute ale TG (≥ 100 mg/dL), și 21,6% dintre cei cu vârsta între 0 și 2 ani. Putem aprecia, cu siguranță, că majoritatea copiilor cu vârsta între 0 și 2 ani sunt alăptați sau primesc un tip de formulă de lapte. În această grupă de vârstă, concentrația plasmatică a TG este de multe ori crescută (până la 150 - 200 mg/dL) [42–44]. Valoarea foarte mare a nivelului plasmatic al TG în această grupă de vârstă poate fi explicată prin obiceiurile alimentare și ritmul meselor. La vârste mici, sugarii, sunt hrăniți la intervale mici de timp și, probabilitatea ca recoltarea să fi fost efectuată à jeun este redusă.

În cadrul acestui studiu, mai mult de un sfert (25,91%) dintre pacienți au fost diagnosticați cu obezitate. Într-un alt studiu recent, derulat în partea de vest a României [45], prevalența supraponderabilității și obezității la copii de vârstă școlară a fost estimate sub 30%.

În cadrul acestui studiu 4,1% dintre pacienții cu valori crescute ale LDL-colesterolului au fost diagnosticați cu hipotiroidism congenital. În alte studii, printre pacienții cu hipotiroidism, 30% au avut valori crescute ale colesterolului total și LDL-colesterolului în timp ce 90% au avut dislipidemie [46, 47].

Rezultatele acestui studiu au fost publicate în revista *Medicina* cu titlul *Dyslipidemia in Pediatric Patients: A Cross-Sectional Study*, revistă cotate ISI, Factor de impact 2,6 [48].

5.5. Concluzii

Studiul retrospectiv descriptiv derulat în cadrul INSMC “Alessandrescu-Rusescu” București susține prin rezultatele obținute utilitatea și necesitatea implementării unui program național de screening. O astfel de măsură ar putea scădea povara afecțiunilor cardiovasculare la vârste tinere (înainte de 50 ani) care se răsfrânge atât asupra pacientului prin scăderea calității vieții acestuia și scăderea capacității de muncă, cât și asupra sistemului de sănătate prin costurile pe care le generează acest tip de patologii cu potențial evolutiv sever.

În țara noastră nu există un program de screening pentru dislipidemie la pacienții de vârstă pediatrică. În acest context dislipidemia primară este subdiagnosticată.

Rezultatele obținute în urma acestui studiu au susținut ipoteza de lucru, iar rezultatele preconizate au fost confirmate, cu îndeplinirea obiectivelor stabilite.

6. Studiu prospectiv

6.1. Ipoteza de lucru și obiective specifice

Acest studiu pornește de la ipoteza conform căreia pacienții cu hipercolesterolemie familială pot fi identificați prin screening iar diagnosticul poate fi confirmat prin testare genetică.

Obiectivele specifice au inclus:

- ✓ identificarea pacienților cu suspiciune de hipercolesterolemie familială;
- ✓ identificarea și descrierea mutațiilor genetice identificate la pacienții cu testare genetică pozitivă;
- ✓ evaluarea riscului aterogenic la pacienții incluși în studiu;
- ✓ inițierea tratamentului igienico-dietetic la pacienții cu suspiciune de hipercolesterolemie familială;
- ✓ determinarea răspunsului la tratamentul igienico-dietetic al pacienților cu hipercolesterolemie familială.

6.2. Material și metodă

Am realizat un studiu prospectiv, longitudinal privind testarea genetică a pacienților cu diagnostic clinic de hipercolesterolemie familială. Studiul a fost derulat în cadrul INSMC "Alessandrescu-Rusescu" din București. Pacienții au fost selectați din studiul retrospectiv transversal, descris anterior.

6.2.1. Selecția pacienților

Criteriile de includere în studiu au fost: vârstă sub 18 ani, evaluare profilului lipidic între anii 2011-2020, valoarea LDL-colesterolului peste 130 mg/dL la cel puțin o evaluare în cadrul clinicii, lipsa altor afecțiuni care să poată explica valorile crescute ale colesterolului, nu au efectuat deja testare genetică, acordul de includere în studiu.

6.2.2. Evaluare clinică și paraclinică

Pacienții selectați au fost evaluați clinic și paraclinic. Evaluarea clinică a inclus examen clinic, măsurarea greutății, înălțimii, determinarea presiunii arteriale. Evaluarea paraclinică a inclus prelevarea unor probe de sânge pentru evaluarea profilului lipidic și pentru testare genetică. Din considerente financiare (costul extrem de mare al testării genetice) au fost disponibile 20 testări genetice. Testarea genetică a fost efectuată în cadrul Centrului Regional de Genetică Dolj.

Pentru fiecare pacient a fost calculat indexul de masă corporală (IMC). Pentru cuantificarea riscului aterogenic au fost calculați Indicii Castelli I, Castelli II, IAP și raportul ApoB/ApoA.

La vizita inițială a fost realizată consilierea schimbării stilului de viață și a menținerii acestuia pe tot parcursul vieții. După un an de la vizita inițială, pacienții au fost invitați la reevaluare.

Pentru fiecare pacient inclus în studiu a fost obținut consimțământul informat al ambilor părinți. Studiul a fost aprobat de comisia de etică a spitalului și a fost derulat respectând Declarația Drepturilor Omului de la Helsinki.

6.2.3. Metodologie testare genetică

Testarea genetică a folosit kitul TruSigh Cardio enrichment. Testarea a fost evaluată, optimizată și validată în cadrul Centrului Regional de Genetică Medicală (CRGM) Dolj .

6.2.4. Recomandările dietetice

Recomandările dietetice au fost elaborate consultând mai multe surse bibliografice [8, 49–51]. S-a recomandat abordarea acestor recomandări în familie, de manieră incluzivă, de către toți membrii familiei, pentru a evita perceperea acestora ca punitive de către copii.

6.2.5. Prelucrare statistică

Grupul de pacienți a fost împărțit în 2 subgrupuri: grupul A – cu testare genetică negativă pentru HF și grupul B – cu testare genetică pozitivă. Rezultatul testării genetice a fost considerat pozitiv dacă a fost identificată o mutație cu semnificație patogenă sau o variantă VUS (variant of unknown significance). Prelucrarea statistică a datelor a fost realizată utilizând software Microsoft Excel, Epi Info™ și MedCalc®. Pentru determinarea semnificației statistice au fost utilizate teste parametrice și neparametrice și a fost aleasă o valoare a semnificației statistice $<0,05$.

6.3. Rezultate

Tabel 6.1. Mutațiile identificate la pacienții cu hipercolesterolemie familială.

Nr. caz	HF	Gena afectată	Variantă	Tipul variantei
#4	Tip 2 OMIM #144010 AD*	APOB	NM_000384.3:c.10580G>A rs5742904 (p.Arg3527Gln)	Heterozigot Probabil patogenică
#3	Tip 2 OMIM #144010 AD	APOB	NM_000384.3:c.12443_12444deli nsAA rs1558559244 (p.Ala4148Glu)	Heterozigot VUS*
#2	Tip 1 OMIM #143890 AR*/AD	LDLR	NM_000527.5:c.1618G>A rs769370816 (p.Ala540Thr)	Heterozigot Patogenică
#6	Tip 1 OMIM #143890 AD/AR	LDLR	NM_000527.5:c.1775G>A rs137929307 (p.Gly592Glu)	Heterozigot Patogenică
#7	Tip 1 OMIM #143890 AD/AR	LDLR	NM_000527.5:c.502G>A rs200727689 (p.Asp168Asn)	Heterozigot Patogenică
#8	Tip 1 OMIM #143890 AD/AR	LDLR	NM_000527.5:c.81C>G rs2228671 (p.Cys27Trp)	Heterozigot Probabil patogenică
#1	Tip 3 OMIM #603776 AD	PCSK9	NM_174936.4:c.836C>T rs1049662014 (p.Pro279Leu)	Heterozigot VUS
#5	Tip 3 OMIM #603776 AD	PCSK9	NM_174936.4:c.836C>T rs1049662014 (p.Pro279Leu)	Heterozigot VUS

*AD : autozomal dominantă; AR autozomal recesivă; VUS variantă cu semnificație incertă

În carul acestui studiu 20 pacienți au beneficiat de testare genetică. Variantele de mutații genetice identificate la acești pacienți sunt rezumate în tabelul 6.1.

S-au prezentat pentru reevaluare 10 pacienți, 4 pacienți din grupul cu testare genetică negativă și 6 pacienți din grupul cu testare genetică pozitivă. În grupul cu testare genetică negativă, după instituirea tratamentului igieno-dietetic și menținerea acestuia timp de 1 an, s-a obținut o scădere a colesterolului total cu 13,34% în timp ce pentru pacienții cu testare genetică pozitivă scăderea colesterolului total a fost de doar 7,93%. În grupul cu testare genetică negativă, după instituirea tratamentului igieno-dietetic, s-a obținut o scădere a LDL cu 18,5% în timp ce pentru pacienții cu testare genetică pozitivă scăderea LDL-colesterolului a fost nesemnificativă.

Tabel 6.3. Valorile profilului lipidic pentru întreg lotul de studiu și cele două grupuri (testare genetică pozitivă și testare genetică negativă).

	Lotul de studiu (n=20)	Testare genetică negativă (n=12)	Testare genetică pozitivă (n=8)	p
Colesterol total	224,35 mg/dL (± 30,75)	213,16 mg/dL (± 21,31)	241,12 mg/dL (± 36,29)	0,07
LDL-colesterol	154,25 mg/dL (± 26,79)	147,00 mg/dL (± 18,98)	165,12 mg/dL (± 34,01)	0,24
HDL-colesterol	59,55 mg/dL (± 17,69)	54,41 mg/dL (± 12,51)	67,25 mg/dL (± 22,14)	0,16
ApoA	149,05 mg/dl (±25,53)	139,30 mg/dL (± 21,72)	161,25 mg/dL (± 32,64)	0,14
ApoB	117,77 mg/dl (±17,54)	114,40 mg/dL (± 10,80)	122,00 mg/dL (± 23,68)	0,39

Tabel 6.4. Valorile medii ale indicilor Castelli I și II și a Indicelui Aterogenic al Plasmei comparativ între grupul cu testare genetică negativă și cel cu testare genetică pozitivă

	Grupul de studiu (n=20)	Testare genetică negativă (n=12)	Testare genetică pozitivă (n=8)	P
Indicele Aterogenic al Plasmei	-0,24 (± 0,27)	-0,18 (± 0,28)	-0,32 (± 0,32)	0,30
Indice Castelli I	4,02 (± 1,09)	4,11 (± 1,05)	3,89 (± 1,20)	0,66
Indice Castelli II	2,82 (± 0,98)	2,87 (± 0,92)	2,74 (± 1,13)	0,78
Raport ApoB/ApoA	0,82 (± 0,20)	0,84 (± 0,17)	0,79 (± 0,25)	0,63

*Indicele Aterogenic al Plasmei = $\log(\text{TG}/\text{HDL})$; Indicele Castelli I = colesterol total/HDL-colesterol; Indicele Castelli II = LDL-colesterol/HDL-

6.4. Discuții

HF este caracterizată de valori crescute ale LDL-colesterolului de la naștere ceea ce în timp duce la risc crescut pentru afectarea cardiovasculară aterosclerotică. În ciuda tuturor informațiilor cunoscute până la acest moment HF rămâne subdiagnosticată și subtratată, fiind marcată de morbiditate și mortalitate premature datorate afectării cardiovasculare aterosclerotice [52].

Din punct de vedere clinic și al valorilor profilului lipidic, diferențele dintre pacienții cu testare genetică pozitivă pentru HF și cei cu testare genetică negativă nu au fost semnificative din punct

de vedere statistic. În ciuda lipsei de semnificație statistică, se poate observa o scădere mai mare a valorilor LDL-colesterolului în urma aplicărilor măsurilor igieno-dietetice la pacienții cu testare genetică negativă, deci un răspuns mai bun la aceste măsuri.

Studiul de față este printre primele studii din România care își propune să contribuie la diagnosticul precoce al HF și reducerea semnificativă a morbidității și mortalității prin afectarea cardiovasculară aterosclerotică ale pacienților cu această afecțiune. În cadrul acestui studiu tehnica Next Generation Sequencing (NGS) a fost utilizată pentru a identifica mutațiile genetice cauzatoare la pacienții cu diagnostic clinic de HF. Din cunoștințele noastre, nu a mai fost desfășurat în România nici un alt studiu care să descrie variantele de mutații genetice asociate cu HF la nivelul populației țării noastre, la copii.

În studiul de față rata de mutații detectate este de 40%, 8 pacienți cu mutații identificate dintre care 5 cu mutații patogenice/probabil patogenice și 3 cu variante cu semnificație necunoscută. În ceea ce privește variantele patogenice/probabil patogenice, acestea au fost predominant la nivelul LDLR. În cadrul acestui studiu 2 pacienți au avut mutații la nivelul APOB, una dintre ele clasificate ca VUS și una probabil patogenă. În cadrul acestui studiu nu au fost identificate mutații noi, toate mutațiile fiind descrise anterior.

Lipsa de studii genetice pentru HF la nivelul țării noastre nu permite corelarea acestor rezultate cu distribuția geografică a anumitor mutații. Considerăm că sunt necesare studii de mai mare dimensiune, într-un areal geografic mai mare, pentru a identifica mutații responsabile pentru fenotipul de HF din România.

Studiul de față are anumite limitări. Numărul de pacienți incluși în studiu este foarte mic, lucru datorat costului extrem de mare al testării genetice pentru hipercolesterolemie familială. De asemenea, menționez că acest studiu a fost efectuat într-un singur centru medical, deci nu poate fi generalizat la nivel de regiune și țară.

Rezultatele acestui studiu au fost publicate în *Diagnostics*, cu titlul *Genetic Testing for Familial Hypercholesterolemia in a Pediatric Group: A Romanian Showcase*, revistă cotate ISI, cu factor de impact 3,6. [53].

6.5. Concluzii

În cadrul acestui studiu, 8 din 20 pacienți au avut testare genetică pozitivă pentru HF. Cele mai frecvente mutații au vizat LDLR dar au fost identificate și mutații ale APOB și PCSK9. Mai multe variante au fost raportate în studii anterioare (LDLR c.1618G>A, LDLR c.1775G>A).

Evaluarea profilului lipidic, primul pas spre diagnosticul clinic al HF este disponibilă universal, la un cost redus. Testarea genetică rămâne, însă, gold-standardul pentru diagnosticul HF [54].

Sunt necesare studii suplimentare, pe loturi de pacienți mai mari, ținând spectrul genetic al HF în România și identificarea unor indici pentru evaluarea riscului de ateroscleroză la acești pacienți.

Rezultatele obținute în urma acestui studiu au susținut ipoteza de lucru, iar rezultatele preconizate au fost confirmate, cu îndeplinirea obiectivelor stabilite.

7. Concluzii și contribuții personale

Lucrarea de față, intitulată "Dislipidemiile familiale, aspecte clinico-terapeutice și genetice la vârstă pediatrică" își propune să tragă un semnal de alarmă în privința unei afecțiuni masiv subdiagnosticată, nu numai la nivelul țării noastre, dar și la nivel mondial. Factorii de risc pentru afecțiunile cardiovasculare (obezitatea, sedentarismul etc), pot fi prezenți încă din copilărie și, prin expunere prelungită la ei, pot grăbi apariția evenimentelor cardio-vasculare.

Prezenta lucrare și-a atins obiectivele propuse. Studiile derulate în cadrul acestei teze de doctorat, publicate în reviste de prestigiu, cu factor de impact cumulat 6,75 reprezintă o importantă sursă de informații privind dislipidemiile pentru comunitatea academică internațională.

Rezultatele studiului privind mutațiile identificate la pacienții cu suspiciune clinică de hipercolesterolemie familială inclus în această teză de doctorat este, din ceea ce știm primul care se adresează acestei patologii la vârstă pediatrică și pune bazele unei mai bune cunoașteri a caracteristicilor genetice ale hipercolesterolemiei familiale în România. Astfel, rezultatele obținute contribuie la augmentarea cunoașterii acestei boli și a corelației genotip-fenotip.

Pe baza datelor obținute în cadrul tezei de doctorat se pot trage următoarele concluzii:

1. Dislipidemiile, indiferent de cauza lor (genetică, secundară, indusă iatrogen) cresc riscul de afecțiuni cardiovasculare. Există multiple afecțiuni în cadrul cărora apare dislipidemia, de la afecțiuni genetice (Sindrom Down, Sindrom Prader-Willi) până la hipotiroidismul congenital. Acești pacienți necesită urmărire suplimentară și abordare pluridisciplinară.
2. Dislipidemiile de cauză genetică sunt frecvente. Hipercolesterolemia familială (HF), deși rară în formele severe homozigote, este frecventă în formele heterozigote.
3. Pacienții cu HF nu au, de obicei, în forma heterozigotă semne clinice distinctive care să atragă atenția medicului la examenul clinic. Niciunul dintre pacienții incluși în studiul derulat în cadrul acestei teze de doctorat, diagnosticați genetic cu hipercolesterolemie familială, forma heterozigotă, nu a prezentat semne clinice sugestive pentru această afecțiune.
4. Confirmarea diagnosticului prin testare genetică este importantă în managementul pacienților cu HF deoarece, în cazul acestor pacienți, este uneori necesar tratamentul concomitent cu mai mulți agenți de scădere a LDL-colesterolului.
5. Managementul pacienților cu dislipidemie este dificil mai ales la vârste fragede (sugar), dar și pe parcursul vieții prin complicațiile lor (infarct miocardic, accident vascular cerebral, pancreatită acută) necesitând implicarea unei echipe pluridisciplinare.
6. Măsurile de prevenție constând în screening universal și consilierea familiilor pacienților de vârstă pediatrică cu dislipidemie și în mod deosebit HF pot face diferența atât în ceea ce privește calitatea vieții acestora cât și prin reducerea costurilor pe care le generează complicațiile HF pentru sistemul de sănătate.

Ca direcții de perspectivă, datele obținute în urma acestui studiu ar putea constitui argumente solide pentru propunerea inițierii unui program de screening pentru dislipidemia la vârstă pediatrică, la nivel național.

Bibliografie selectivă

- [1] Kim GK, Yee JK, Bansal N. Algorithms for Treating Dyslipidemia in Youth. *Curr Atheroscler Rep*. Epub ahead of print 2023. DOI: 10.1007/s11883-023-01122-1.
- [2] Lázaro P, Isla LP De, Watts GF, et al. Cost-Effectiveness of a Cascade Screening Program for the Early Detection of Familial Hypercholesterolemia. *J Clin Lipidol*. Epub ahead of print 2017. DOI: 10.1016/j.jacl.2017.01.002.
- [3] Li J, Motsko SP, Goehring ELJ, et al. Prevalence of pediatric dyslipidemia: comparison of a population-based claims database to national surveys. *Pharmacoepidemiol Drug Saf* 2010; 19: 1031–1040.
- [4] Jacobs DRJ, Woo JG, Sinaiko AR, et al. Childhood Cardiovascular Risk Factors and Adult Cardiovascular Events. *N Engl J Med* 2022; 386: 1877–1888.
- [5] Schefelker JM, Peterson AL. Screening and Management of Dyslipidemia in Children and Adolescents. *J Clin Med*; 11. Epub ahead of print 2022. DOI: 10.3390/jcm11216479.
- [6] Schipper HS, de Ferranti S. Atherosclerotic Cardiovascular Risk as an Emerging Priority in Pediatrics. *Pediatrics*; 150. Epub ahead of print November 2022. DOI: 10.1542/peds.2022-057956.
- [7] Leopold S, Zachariah JP. Pediatric Lipid Disorders. *Pediatr Ann* 2021; 50: e105–e112.
- [8] Expert panel on integrated guidelines for cardiovascular health and risk reduction in children and adolescents: summary report. *Pediatrics* 2011; 128 Suppl: S213-56.
- [9] Watts GF, Pang J, Santos RD. Europe aspires to set the record straight on familial hypercholesterolaemia. *Atherosclerosis* 2015; 241: 769–771.
- [10] Sturm AC, Knowles JW, Gidding SS, et al. Clinical Genetic Testing for Familial Hypercholesterolemia: JACC Scientific Expert Panel. *J Am Coll Cardiol* 2018; 72: 662–680.
- [11] J. Casey Elkins, DNP, NP-C, CLS, FNLA and Sharon Fruh, PhD, RN F-B. Early diagnosis and treatment of familial hypercholesterolemia. 2019; 44: 18–24.
- [12] de Ferranti SD, Rodday AM, Parsons SK, et al. Cholesterol Screening and Treatment Practices and Preferences: A Survey of United States Pediatricians. *J Pediatr* 2017; 185: 99-105.e2.
- [13] Khoury M, Rodday AM, Mackie AS, et al. Pediatric Lipid Screening and Treatment in Canada: Practices, Attitudes, and Barriers. *Can J Cardiol* 2020; 36: 1545–1549.
- [14] Berger JH, Chen F, Faerber JA, et al. Adherence with lipid screening guidelines in standard- and high-risk children and adolescents. *Am Heart J* 2021; 232: 39–46.

- [15] Harada-shiba M, Ohta T, Ohtake A, et al. Guidance for Pediatric Familial Hypercholesterolemia 2017. 2018; 539–553.
- [16] Brett T, Qureshi N, Gidding S, et al. Screening for familial hypercholesterolaemia in primary care: Time for general practice to play its part. *Atherosclerosis* 2018; 277: 399–406.
- [17] Goldberg AC, Hopkins PN, Toth PP, et al. Familial Hypercholesterolemia: Screening, diagnosis and management of pediatric and adult patients. *J Clin Lipidol* 2011; 5: S1–S8.
- [18] Wiegman A, Gidding SS, Watts GF, et al. Familial hypercholesterolaemia in children and adolescents: Gaining decades of life by optimizing detection and treatment. *Eur Heart J* 2015; 36: 2425–2437.
- [19] Raal FJ, Hovingh GK, Catapano AL. Familial hypercholesterolemia treatments: Guidelines and new therapies. *Atherosclerosis* 2018; 277: 483–492.
- [20] Nordestgaard BG, Chapman MJ, Humphries SE, 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: 3478–3490.
- [21] Migliara G, Baccolini V, Rosso A, et al. Familial Hypercholesterolemia: A Systematic Review of Guidelines on Genetic Testing and Patient Management. *Front Public Heal* 2017; 5: 1–8.
- [22] Brautbar A, Leary E, Rasmussen K, et al. Genetics of Familial Hypercholesterolemia. *Curr Atheroscler Rep*; 17. Epub ahead of print 2015. DOI: 10.1007/s11883-015-0491-z.
- [23] Berberich AJ, Hegele RA. The complex molecular genetics of familial hypercholesterolaemia. *Nat Rev Cardiol* 2019; 16: 9–20.
- [24] Vrablik M, Tichý L, Freiberger T, et al. Genetics of Familial Hypercholesterolemia: New Insights. *Front Genet* 2020; 11: 1–10.
- [25] Kerr M, Pears R, Miedzybrodzka Z, et al. Cost effectiveness of cascade testing for familial hypercholesterolaemia, based on data from familial hypercholesterolaemia services in the UK. 2017; 1832–1839.
- [26] Wagner J, Abdel-Rahman SM. Pediatric statin administration: Navigating a frontier with limited data. *J Pediatr Pharmacol Ther* 2016; 21: 380–403.
- [27] McGill HCJ, McMahan CA. Determinants of atherosclerosis in the young. Pathobiological Determinants of Atherosclerosis in Youth (PDAY) Research Group. *Am J Cardiol* 1998; 82: 30T-36T.
- [28] Mach F, Baigent C, Catapano AL, et al. 2019 ESC/EAS Guidelines for the management of dyslipidaemias: Lipid modification to reduce cardiovascular risk. *Eur Heart J* 2020; 41: 111–188.

- [29] Harada-Shiba M, Ohtake A, Sugiyama D, et al. Guidelines for the Diagnosis and Treatment of Pediatric Familial Hypercholesterolemia 2022. *J Atheroscler Thromb*. Epub ahead of print 2023. DOI: 10.5551/jat.cr006.
- [30] Ogura M. PCSK9 inhibition in the management of familial hypercholesterolemia. *J Cardiol* 2018; 71: 1–7.
- [31] Aljenedil S, Ruel I, Watters K, et al. Severe xanthomatosis in heterozygous familial hypercholesterolemia. *J Clin Lipidol* 2018; 12: 872–877.
- [32] Daniels SR. How to identify children with familial hypercholesterolemia. *J Pediatr* 2017; 183: 2.
- [33] Chang Y-H, Lin D-Y, Tsai C-L, et al. Management of Patients with Type V Hyperlipoproteinemia: An Uncommon Phenotype of Dyslipidemia with Chylomicronemia and Severe Hypertriglyceridemia. *J Pers Med*; 13. Epub ahead of print December 2022. DOI: 10.3390/jpm13010068.
- [34] Sathiyakumar V, Pallazola VA, Park J, et al. Modern prevalence of the Fredrickson-Levy-Lees dyslipidemias: findings from the Very Large Database of Lipids and National Health and Nutrition Examination Survey. *Arch Med Sci* 2020; 16: 1279–1287.
- [35] Ferranti ASD De, Newburger JW. Dyslipidemia in children : Definition , screening , and diagnosis. 2019; 1–39.
- [36] Constantin ATT, Covacescu SMM, Kozma A, et al. Statins treatment and oro-dental aspects in a case of hereditary hypercholesterolemia in a child under 6 years. *Acta Endocrinol (Copenh)* 2019; 15: 378–383.
- [37] Vallejo-Vaz AJ, Ray KK. Epidemiology of familial hypercholesterolaemia: Community and clinical. *Atherosclerosis* 2018; 277: 289–297.
- [38] Ramaswami U, Humphries SE. Familial hypercholesterolaemia: what’s new? *Paediatr Child Heal (United Kingdom)* 2019; 29: 127–136.
- [39] Pitea AM. Hiper LDL-colesterolemia. In: Anca Doina Plesca (ed) *Protocoale de diagnostic si tratament in pediatrie*. Amaltea, 2019, pp. 394–396.
- [40] Jellinger PS, Handelsman Y, Rosenblit PD, et al. AMERICAN ASSOCIATION OF CLINICAL ENDOCRINOLOGISTS AND AMERICAN COLLEGE OF ENDOCRINOLOGY GUIDELINES FOR MANAGEMENT OF DYSLIPIDEMIA AND PREVENTION OF CARDIOVASCULAR DISEASE. *Endocr Pract Off J Am Coll Endocrinol Am Assoc Clin Endocrinol* 2017; 23: 1–87.
- [41] Brzeziński M, Metelska P, Myśliwiec M, et al. Lipid disorders in children living with overweight and obesity-large cohort study from Poland. *Lipids Health Dis* 2020; 19: 1–9.

- [42] Decsi T, Molnár D, Klujber L. Lipid levels in very low birthweight preterm infants. *Acta Paediatr Scand* 1990; 79: 577–580.
- [43] Kao LC, Cheng MH, Warburton D. Triglycerides, free fatty acids, free fatty acids/albumin molar ratio, and cholesterol levels in serum of neonates receiving long-term lipid infusions: controlled trial of continuous and intermittent regimens. *J Pediatr* 1984; 104: 429–435.
- [44] 4. Lipids. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*; 41, https://journals.lww.com/jpgn/Fulltext/2005/11002/4__Lipids.4.aspx (2005).
- [45] Pop TL, Maniu D, Rajka D, et al. Prevalence of Underweight, Overweight and Obesity in School-Aged Children in the Urban Area of the Northwestern Part of Romania. *Int J Environ Res Public Health*; 18. Epub ahead of print May 2021. DOI: 10.3390/ijerph18105176.
- [46] Mavromati M, Jornayvaz FR. Hypothyroidism-Associated Dyslipidemia: Potential Molecular Mechanisms Leading to NAFLD. *Int J Mol Sci*; 22. Epub ahead of print November 2021. DOI: 10.3390/ijms222312797.
- [47] Pearce EN. Update in lipid alterations in subclinical hypothyroidism. *J Clin Endocrinol Metab* 2012; 97: 326–333.
- [48] Constantin AT, Delia C, Tudor LM, et al. Dyslipidemia in Pediatric Patients : A Cross-Sectional Study. 2023; 1–12.
- [49] Heyman MB, Abrams SA. Fruit Juice in Infants, Children, and Adolescents: Current Recommendations. *Pediatrics*; 139. Epub ahead of print June 2017. DOI: 10.1542/peds.2017-0967.
- [50] Descamps OS, Tenoutasse S, Stephenne X, et al. Management of familial hypercholesterolemia in children and young adults: Consensus paper developed by a panel of lipidologists, cardiologists, paediatricians, nutritionists, gastroenterologists, general practitioners and a patient organization. *Atherosclerosis* 2011; 218: 272–280.
- [51] Ramaswami U, Humphries SE, Priestley-Barnham L, et al. Current management of children and young people with heterozygous familial hypercholesterolaemia - HEART UK statement of care. *Atherosclerosis* 2019; 290: 1–8.
- [52] Tokgozoglu L, Kayikcioglu M. Familial Hypercholesterolemia: Global Burden and Approaches. *Curr Cardiol Rep* 2021; 23: 151.
- [53] Constantin AT, Streata I, Silvia M, et al. Genetic Testing for Familial Hypercholesterolemia in a Pediatric Group : A Romanian Showcase. *Diagnostics* 2023; 13: 1–14.
- [54] Medeiros AM, Bourbon M. Genetic Testing in Familial Hypercholesterolemia: Is It for Everyone? *Curr Atheroscler Rep* 2023; 25: 127–132.

Lista cu lucrările științifice publicate

Constantin AT, Covacescu SM, Kozma A, Gherghina I, Lazarescu H. STATINS TREATMENT AND ORO-DENTAL ASPECTS IN A CASE OF HEREDITARY HYPERCHOLESTEROLEMIA IN A CHILD UNDER 6 YEARS. Acta Endocrinol (Buchar). 2019 Jul-Sep;15(3):378-383. doi: 10.4183/aeb.2019.378. PMID: 32010359; PMCID: PMC6992394.

Revistă cotate ISI, Factor de impact 0,55.

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6992394/>

(Capitolul 4, Subcapitolul 4.3. și Subcapitolul 4.4., paginile 43-49)

Constantin, A.T.; Delia, C.; Tudor, L.M.; Rosca, I.; Irimie, A.D.; Năstase, L.; Gherghina, I. Dyslipidemia in Pediatric Patients: A Cross-Sectional Study. Medicina 2023, 59, 1434. <https://doi.org/10.3390/medicina59081434>.

Revistă cotate ISI, Factor de impact 2,6.

<https://www.mdpi.com/1648-9144/59/8/1434>

(Capitolul 5, paginile 50-80)

Constantin AT, Streata I, Covăcescu MS, Riza AL, Roșca I, Delia C, Tudor LM, Dorobanțu Ș, Dragoș A, Ristea D, Ioana M, Gherghina I. Genetic Testing for Familial Hypercholesterolemia in a Pediatric Group: A Romanian Showcase. Diagnostics (Basel). 2023 Jun 7;13(12):1988. doi: 10.3390/diagnostics13121988. PMID: 37370883; PMCID: PMC10296998.

Revistă cotate ISI, Factor de impact 3,6.

<https://www.mdpi.com/2075-4418/13/12/1988>

(Capitolul 6, paginile 81-113)