

8<sup>th</sup> International Conference on  
**Global Health**

May 22-25, 2018 | Miami, Florida

**FIU**

Robert Stempel College  
of Public Health  
& Social Work

Global Health Consortium



INTERNATIONAL  
ATHEROSCLEROSIS  
SOCIETY



## **Política Pública en Intervenciones en Salud:**

La Hipercolesterolemia como Factor de Riesgo en  
Diabetes y Enfermedad Cardiovascular: Una Llamada  
a la Acción en America Latina y el Caribe

Pablo Corral MD  
Internist. Lipidologist.  
FASTA University, School of Medicine,  
Pharmacology / Research Department.  
Mar del Plata, Argentina.

# FH in Argentina

First Detection Program Registry

---



**SALUD**  
**MGP**  
MAR DEL PLATA  
BATÁN



*Universidad de Buenos Aires*

Facultad de Farmacia y Bioquímica



Mar del Plata



# The *DA VINCI* Study

---

ESTUDIO ARGENTINO PREVALENCIA EN HIPERCOLESTEROLEMIA FAMILIAR

Argentine Study Prevalence Familial Hypercholesterolemia



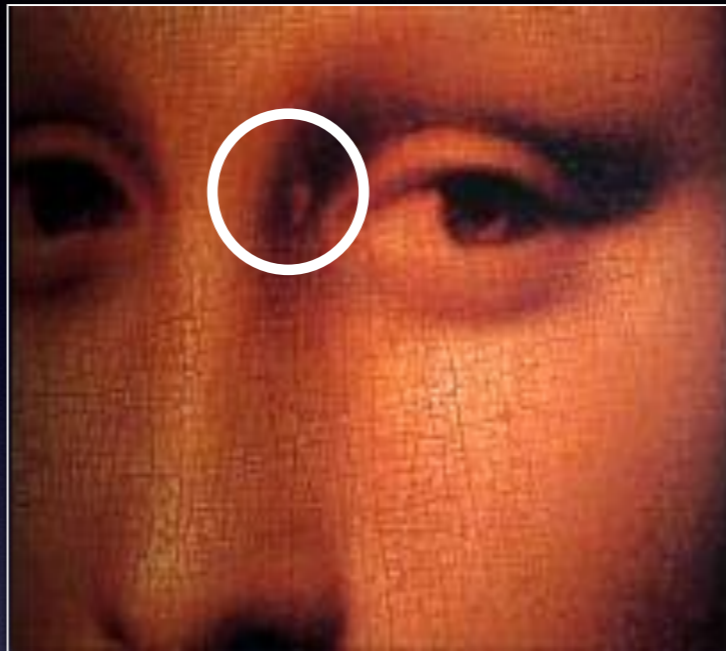
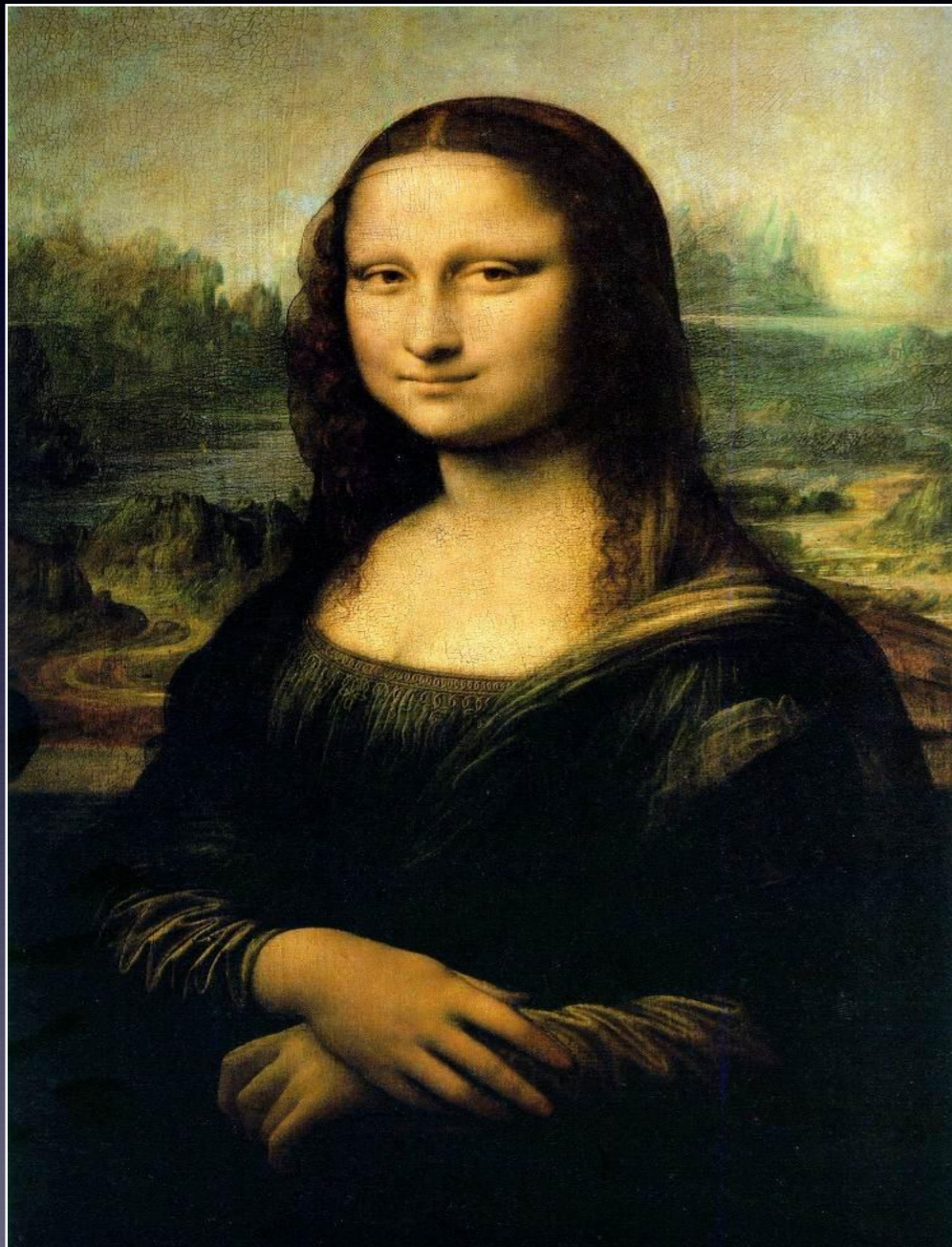
Directors: Pablo Corral, MD

Prof. Laura Schreier, PhD



# Did Mona Lisa Suffer from High Cholesterol?

By Jeff Israely



## Medical Archaeology



### Xanthelasma and Lipoma in Leonardo da Vinci's *Mona Lisa*

60

*Current Cardiology Reviews*, 2008, 4, 60-62

## The Real Code of Leonardo da Vinci

Madonna Lisa María de Gherardini (Mona Lisa)  
1479-1516 († 37a.)



# Methodology of *DA VINCI* Registry

# *DA VINCI* Registry

---

2015

- Trabajo de campo, 10 reuniones presenciales, una vez al mes

2016

- Recolección y análisis de resultados
- Presentaciones y comienzo de estudios genéticos

2017

- Trabajo de campo
- Presentaciones y análisis de estudios genéticos (N=150)

2018

- Trabajo de campo
- Recolección y análisis de resultados
- Presentaciones y análisis de estudios genéticos (N=250)



# DA VINCI Registry

---

## Team

- Directores (2): L. Schreier, P. Corral
- Laboratorio Lipop./Ateros. UBA FFyB (3):  
G. Lopez, L. Cacciagiu, G. Berg
- Médicos colaboradores (3):  
A. Waitz, F. Vazquez V., P. Marioli
- Alumnos UFASTA (5):  
B. Sáenz, JM. Sánchez G, N. Parodi R, A. Terren, G. Malbrán
- Secretaria: F. Eden
- Técnico extraccionista: D. Gonzalez

# Methodology of *DA VINCI* Registry



## Argentina

Population 41.4 million  
FH expected 150.000\*

## Mar del Plata

Population 621.000  
FH expected 2500\*

\* Prevalence 1/250



# Methodology of *DA VINCI* Registry

Database from Department of Health  
Mar del Plata (TC & LDL-C) 2012-15

Inclusion criteria:

- Adults patients (> 18 yr)
- TC > 300 mg/dL and/or  
LDL-C > 190 mg/dL

Evaluated Hypercholesterolemic cases  
04/2015-03/2016

51.253



1.965 (3.8%)



**N=246**

**+ 40 (2018)**



# Methodology of *DA VINCI* Registry

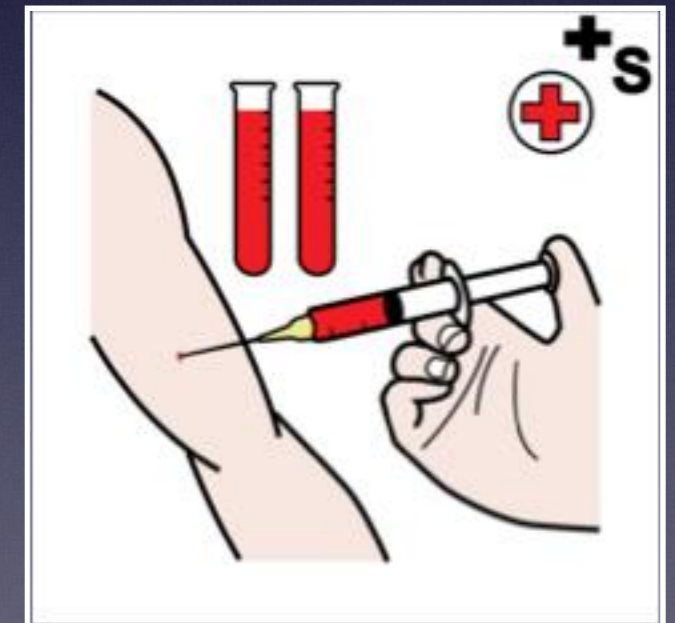
Ambulatory Center of  
Medical Specialties,  
Mar del Plata



Each patient  
(n=246)



Clinical check-up  
Physical examination,  
personal & family history



Blood sample



# Methodology of *DA VINCI* Registry

## DUTCH Lipid Criteria Network

- TC
- TG
- HDL-C
- LDL-C
- Apo B
- Apo AI
- Lp(a)
- TSH
- AST/ALT/Alk Phosphat.
- Creatinine
- DNA sample

Criterion <sup>1</sup>	Points
<b>Family history</b>	
First-degree relative with known premature (<55 years, men; <60 years, women) CHD <b>or</b>	1
First-degree relative with known LDL cholesterol >95th percentile by age and sex for country	
First-degree relative with tendon xanthoma and/or corneal arcus <b>or</b>	2
Child(ren) <18 years with LDL cholesterol >95th percentile by age and sex for country	
<b>Clinical history</b>	
Subject has premature (<55 years, men; <60 years, women) CHD	2
Subject has premature (<55 years, men; <60 years, women) cerebral or peripheral vascular disease	1
<b>Physical examination</b>	
Tendon xanthoma	6
Corneal arcus in a person <45 years	4
<b>Biochemical results (LDL-cholesterol)</b>	
>8.5 mmol/L (>325 mg/dL)	8
6.5–8.4 mmol/L (251–325 mg/dL)	5
5.0–6.4 mmol/L (191–250 mg/dL)	3
4.0–4.9 mmol/L (155–190 mg/dL)	1
<b>Molecular genetic testing (DNA analysis)</b>	
Causative mutation shown in the <i>LDLR</i> , <i>APOB</i> , or <i>PCSK9</i> genes	8

# Results of *DA VINCI* Registry



# Results of *DA VINCI* Registry

---

	n=246
Age (years)	46 (21-82)
Female	69%
TC (mg/dL)	314 (140-447)
HDL-C (mg/dL)	48 (27-112)
LDL-C (mg/dL)	198 (122-414)
TG (mg/dL)	175 (50-420)

# Results of *DA VINCI* Registry

---

FH Diagnostic DLCN Criteria	Patients (n=225)	%
Definite (>8)	22	9.7
Probable (6-8)	47	20.8
Possible(3-5)	105	46.6
Unlikely(<3)	51	22.6

Secondary causes: 21 patients (8 hypothyroidism, 2 cholestasis, 4 CKD, 1 TG > 1000 mg%, 3 pregnancy, 3 declined)



# Results of *DA VINCI* Registry

---

Treatment	Patients (n=225)	%
Statins	91	40.6
High doses statins	7	2.3
LDL-C < 100 mg/dL	17	7.7

# Results of *DA VINCI* Registry

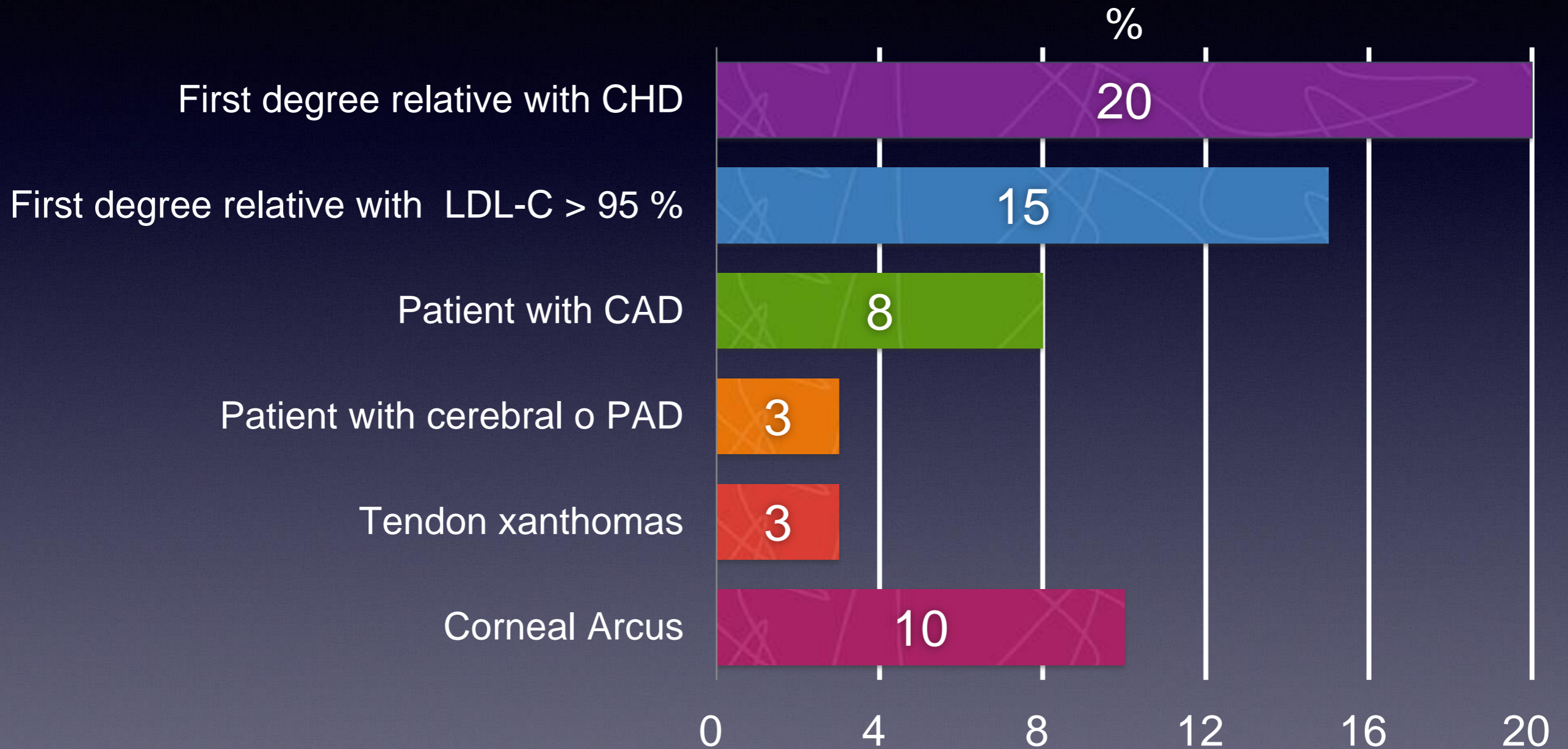
---

Statin	Dosis (mg.)	n=87
Atorvastatin	10	60
	20	7
	40	3
Rosuvastatin	10	13
	20	2
Simvastatin	20	2
Ezetimibe	10	2



# Results of *DA VINCI* Registry

Percentage of patients with History, Clinical and Physical DLCN





# Tendon Xanthomas



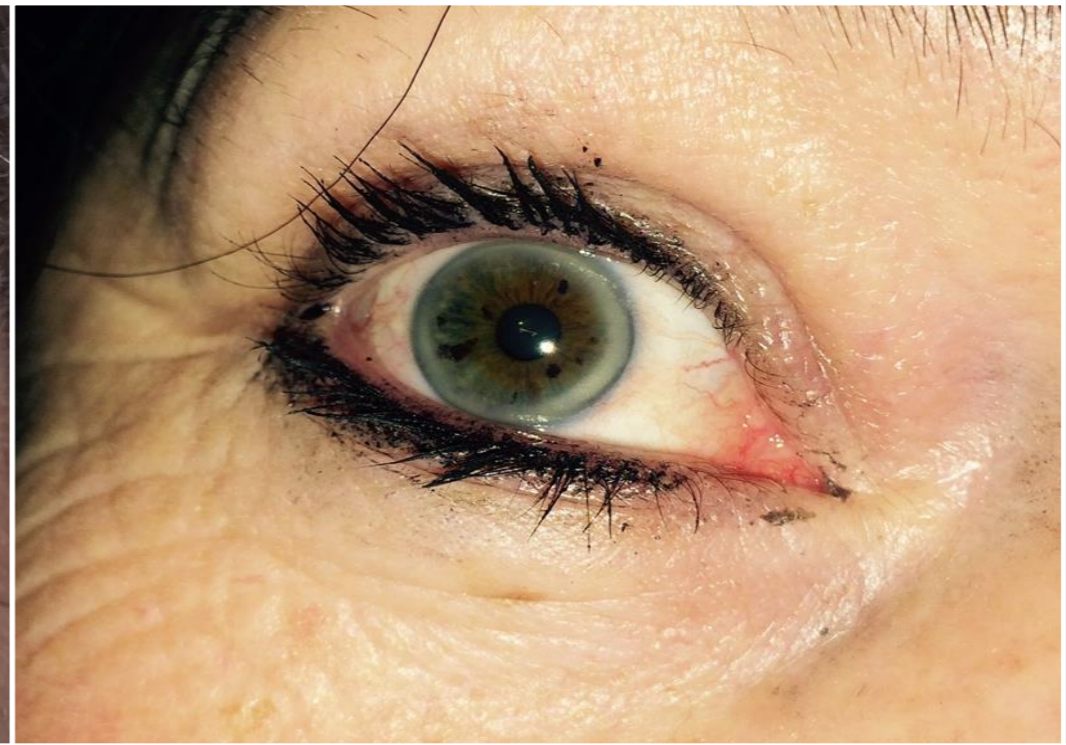
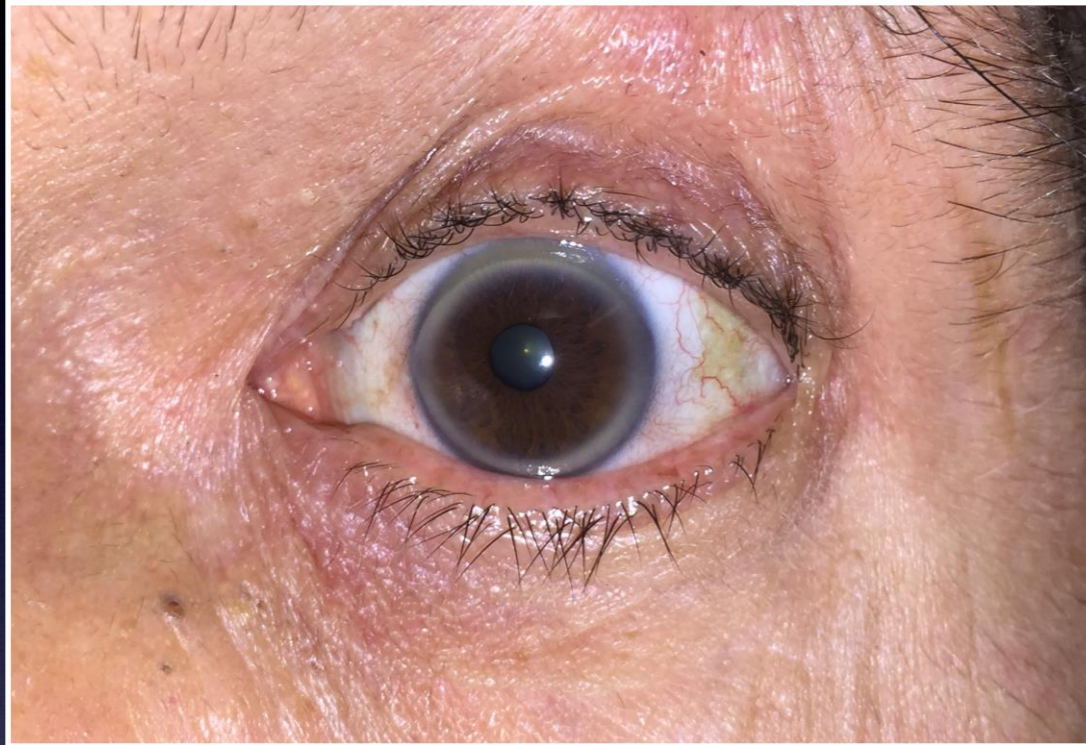


# Tendon Xanthomas

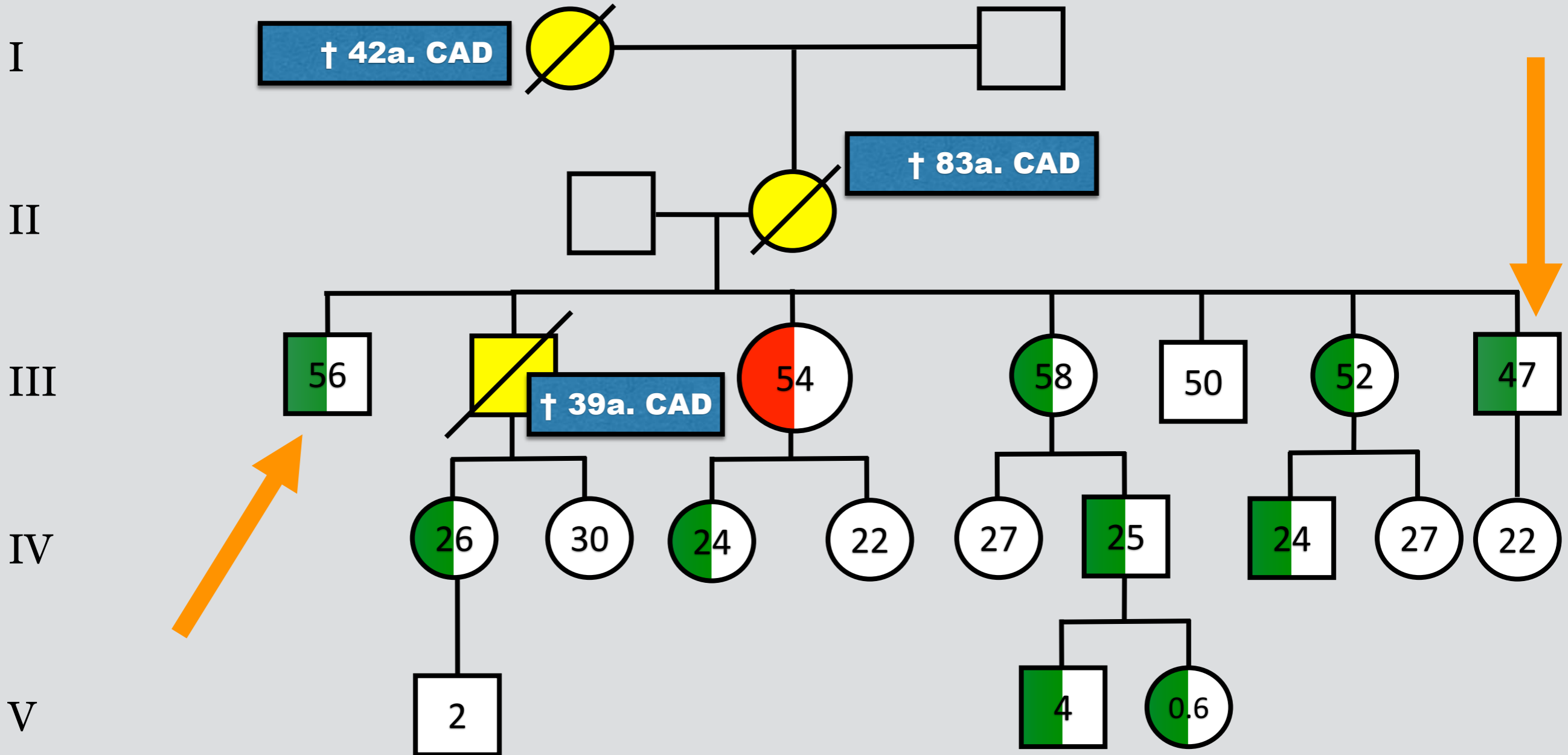



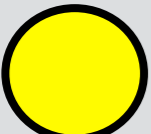

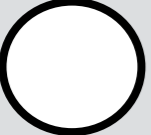


# Premature Corneal Arcus



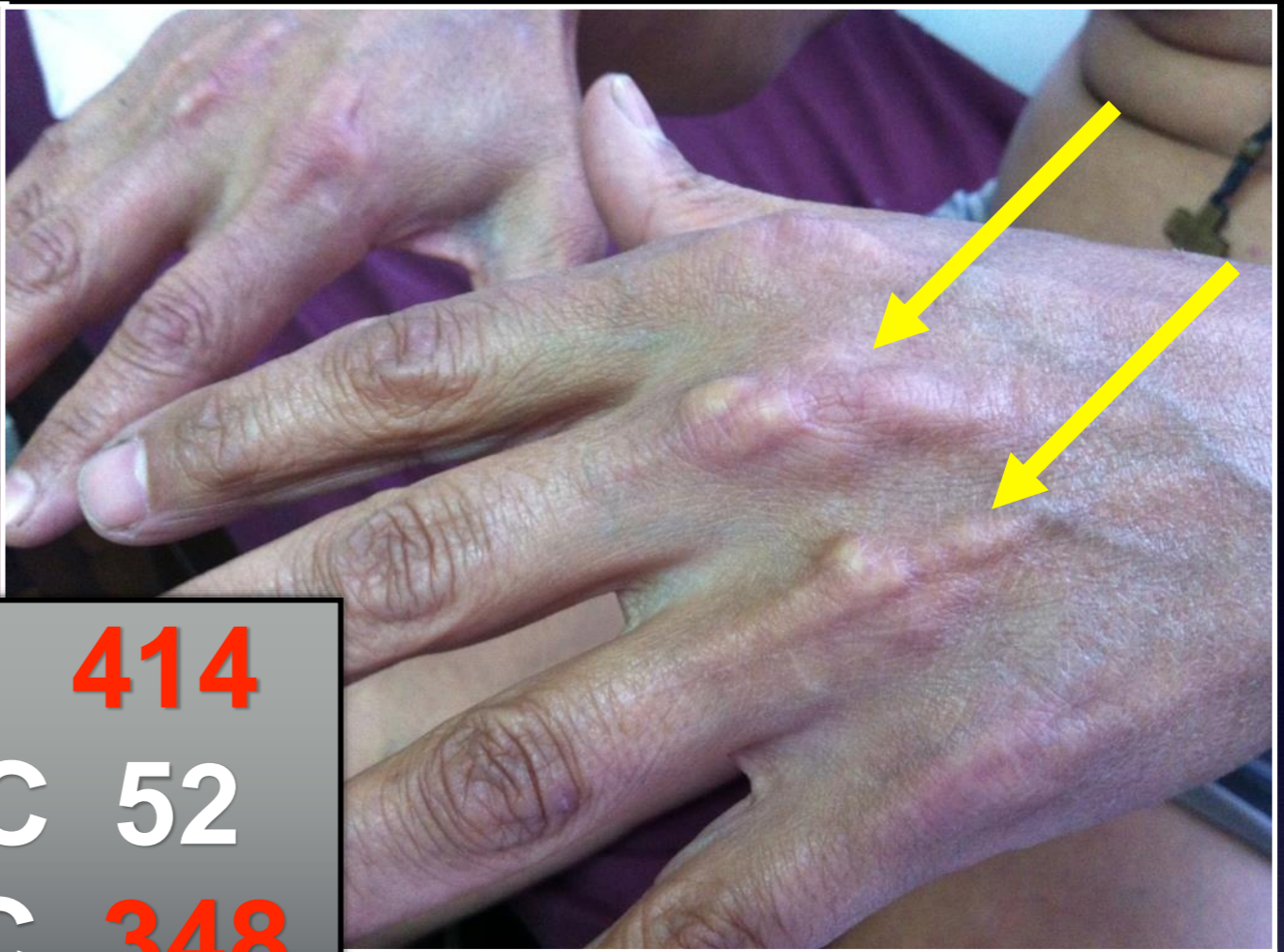




-  HF patient
-  Suspect HF patient
-  Index Case
-  Unaffected individual

Mutation LDLR exon 14 c.2043C>A p.Cys681X



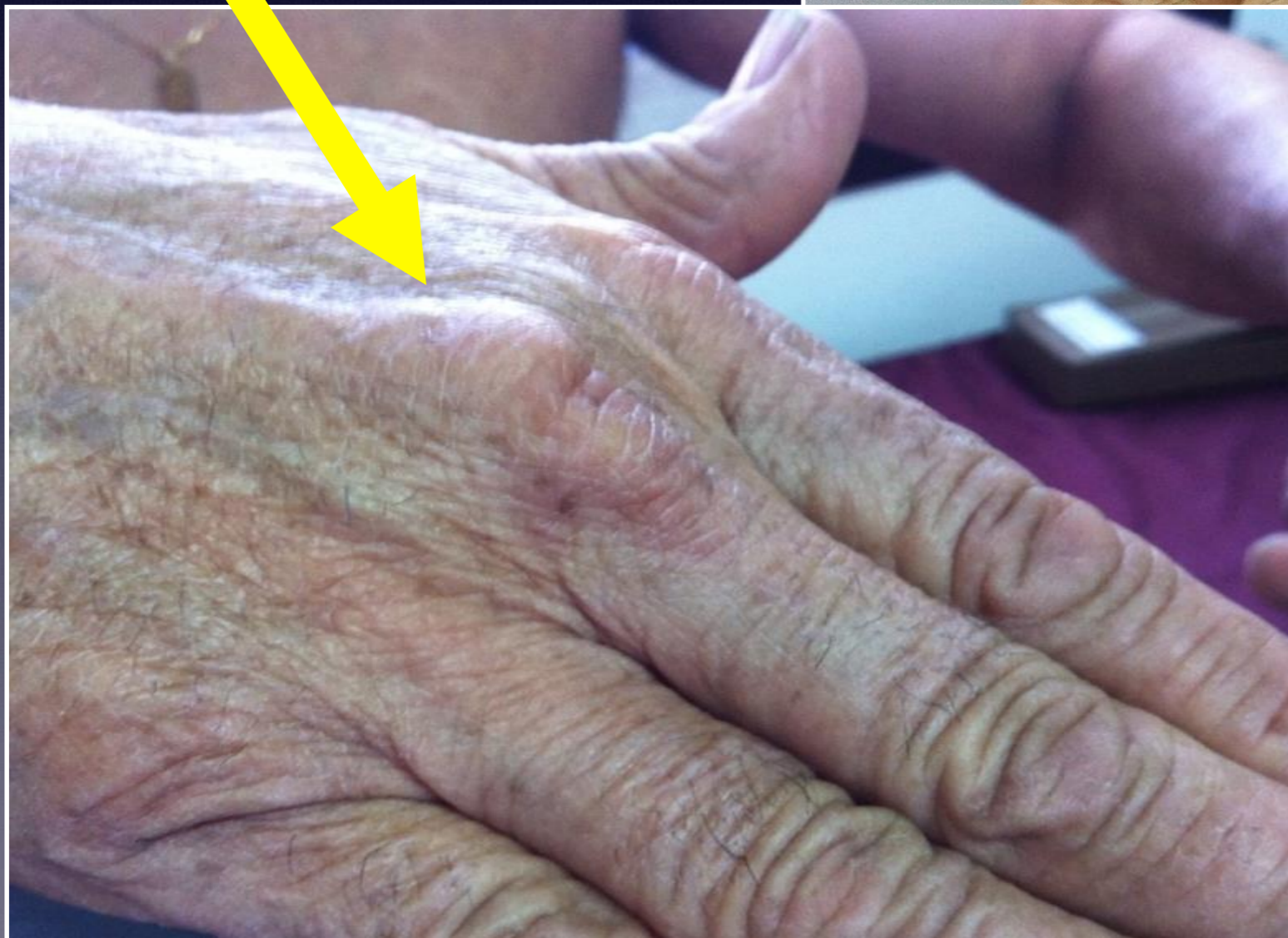


TC	414
HDL-C	52
LDL-C	348
TG	69





TC	439
HDL-C	41
LDL-C	365
TG	165









# Xanthomas regression



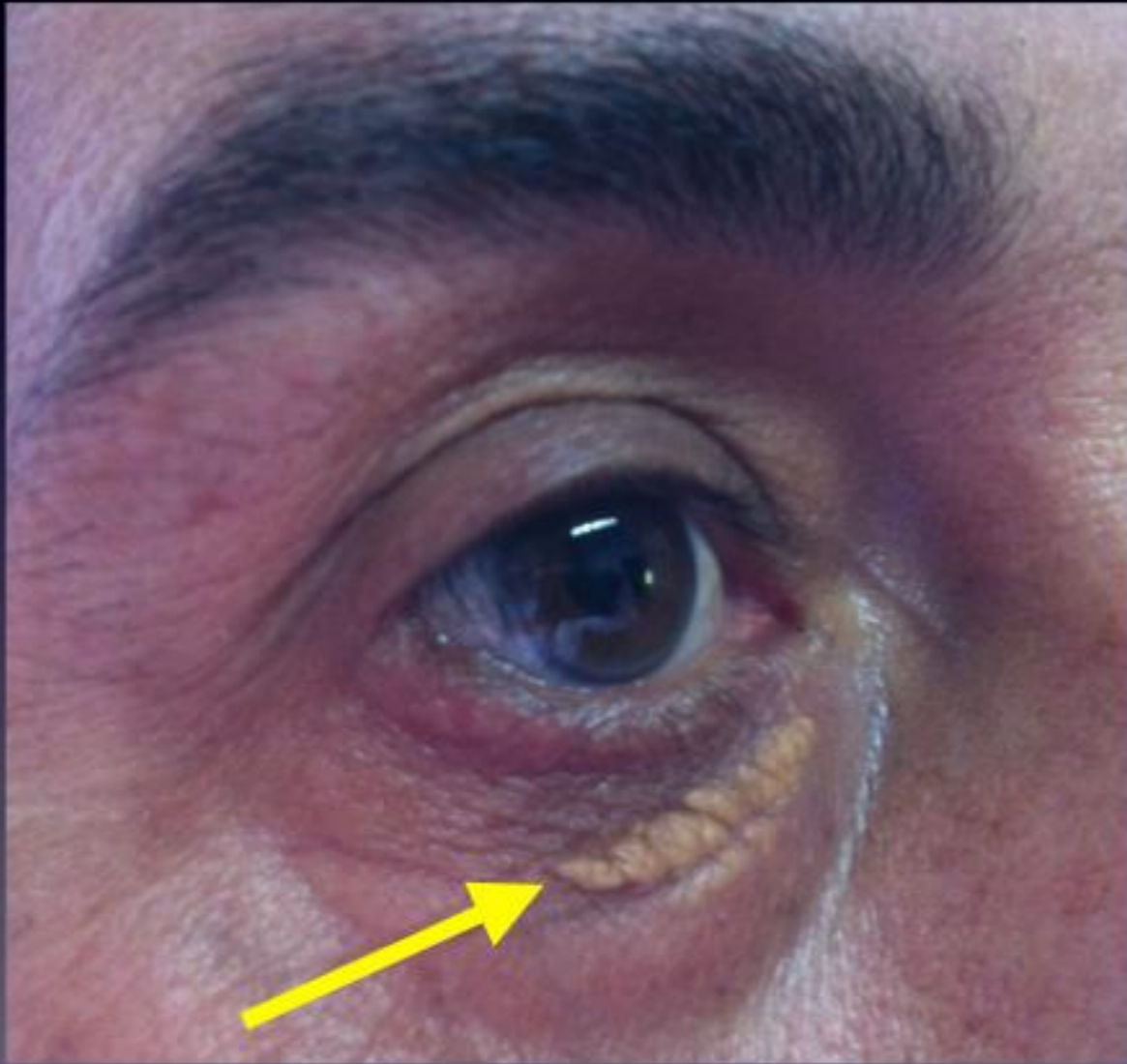
**LDL-C 348 mg/dL**



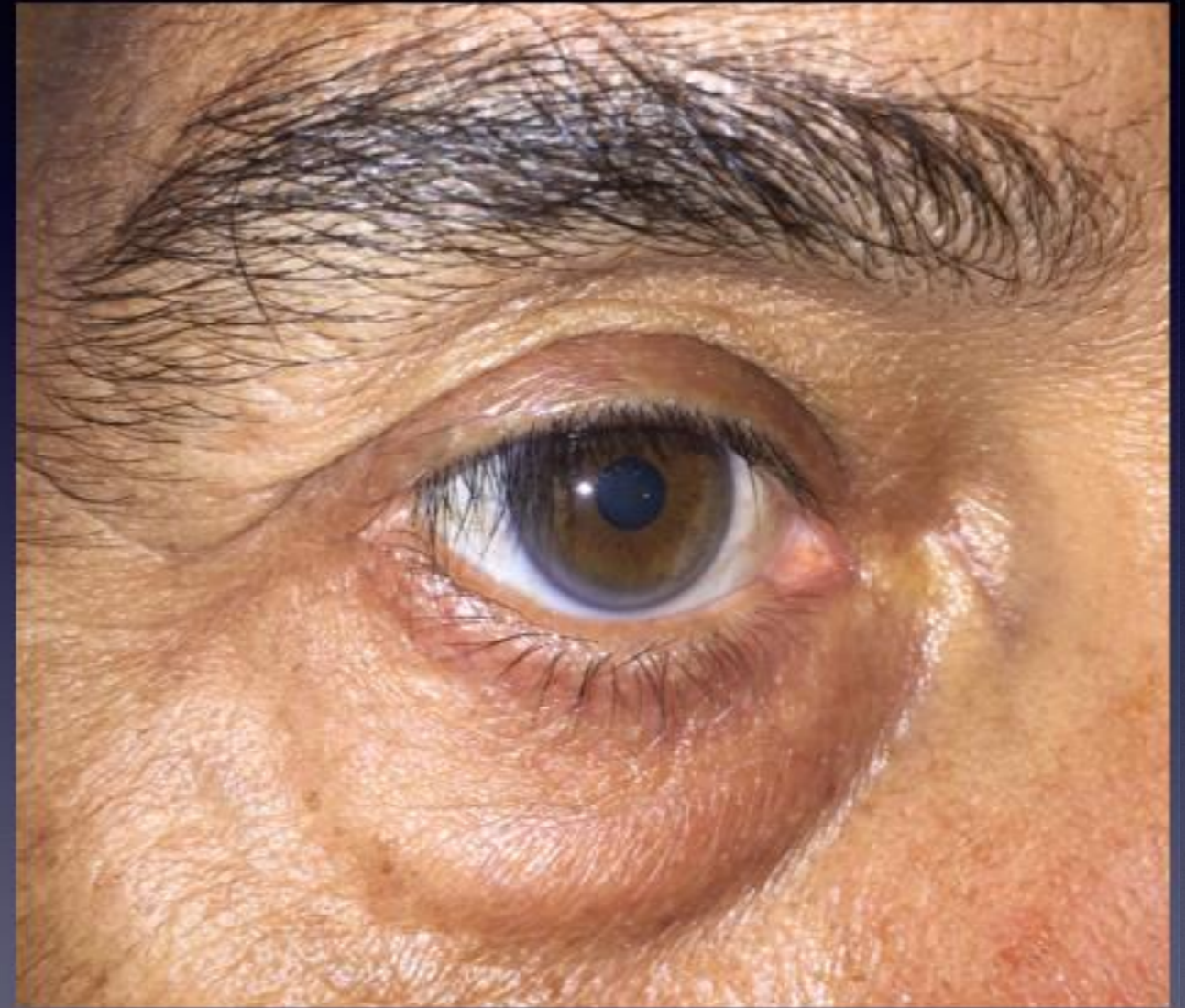
**LDL-C 84 mg/dL**



# Xanthelasma regression



**LDL-C 348 mg/dL**



**LDL-C 84 mg/dL**



# Results of *DA VINCI* Registry

---



Estimated Prevalence of FH  
(based on definite cases)

**1/291**



# Primera descripción de variantes en los genes RLDL y APOB presentes en una muestra de pacientes de Argentina con Hipercolesterolemia Familiar.

Virginia G. Bañares<sup>1,2</sup>, María Beatriz Araujo<sup>1,3</sup>, Gerardo Elikir<sup>1</sup>, Martín Pucci<sup>1</sup>, Pablo Corral<sup>1</sup> y Laura E. Schreier<sup>1,4</sup>.  
 1-Red Iberoamericana de Hipercolesterolemia Familiar.  
 2-Centro Nacional de Genética Médica, A.N.L.I.S. "Dr. Carlos Malbrán" -Administración Nacional de Laboratorios e Institutos de Salud.  
 3-Servicio de Nutrición, Hospital Nacional de Pediatría "Dr. Juan P. Garrahan".  
 4-Laboratorio de Lípidos y Aterosclerosis, Departamento de Bioquímica Clínica, Facultad de Farmacia y Bioquímica, UBA.

## Introducción

La Hipercolesterolemia Familiar (HF) es una de las enfermedades monogénicas más frecuentes (1/400-500) que se caracteriza por:

- ✓ antecedentes familiares.
- ✓ niveles elevados de colesterol debido a déficit en el aclaramiento hepático de las lipoproteínas de baja densidad (LDL) y se asocia con arteriopatía aterosclerótica precoz.

La gran mayoría (90%) de las mutaciones descritas están en el gen del receptor de las LDL (RLDL), seguido por el gen de la apoproteína B (APOB), su ligando principal. Solo en el RLDL se han descrito más de 1000 variantes patogénicas, pero en la Argentina no hay descripciones sistemáticas de las mutaciones presentes en los pacientes con diagnóstico clínico de HF.

**Objetivo:** Describir variantes genéticas en RLDL y buscar la presencia de las mutaciones R3527Q y H3543Y en el gen APOB en un grupo de pacientes argentinos con diagnóstico clínico de HF.

**Población y métodos:** varones y mujeres menores de 65 años, con diagnóstico clínico de HF según criterio MEDPED-OMS con puntaje  $\geq 6$ , 20/26 casos índices.

Secuenciación directa de los 18 exones del RLDL, promotor y zonas intrónicas flanqueantes, purificación de los amplificadores por columna de afinidad, directa o desde gel de agarosa, cuantificación en gel y secuenciación directa de cada uno de los segmentos en "forward" y "reverse". Las variantes observadas se chequearon por lo menos en duplicado. La secuencia de referencia utilizada fue la *genomic reference sequence*, NCBI.

Base de datos del RLDL, *UCL-LDLR-FH-database*. El estudio *in silico* se realizó con los programas *Polyphen-2* y *SIFT* y se complementó con el análisis bioinformático aplicando el programa *VMD*.

## Resultados

- ✦ Todos los casos índices tomaban medicación.
- ✦ En 12/20 casos (60%) se identificaron hasta el momento variantes dañinas, 91,7% (11/12) en el RLDL y 8,3% (1/12) en APOB.

TABLA 1: características clínicas, bioquímicas y genéticas de la muestra.

Clínica	Adultos		Niños	
	Heterocigota	Homocigota	Heterocigota	Homocigota
Edad	48,8 ± 9,9 (20-65)	16 ± 8,1 (21-43)	10 ± 3,2 (5-17)	15,3 ± 4,9 (8-17)
Mujeres/varones (n)	8/4	1/0	3/2	2/1
Dieta, n (%)	8 (66,7%)	1 (100%)	5 (100%)	3 (100%)
Medicación, n (%)	12 (100%)	1 (100%)	5 (100%)	3 (100%)
<b>Lípidos (mg/dl)</b>				
Total colesterol	393,5 ± 91,3 (6)	308 ± 57,4 (10)	47,5 ± 24,5 (2)	104,5 ± 35,5 (2)
LDLc				
HDLc				
TG				
<b>Mutación</b>				
LDLR gene, n (%)	6 (50%)			
APOB gene, n (%)	1 (8%)			

- ✦ En 1/20 casos, APOB R3527Q
- ✦ 17 variantes genéticas en el RLDL:
  - 7 snp comunes.
  - 2 raras, sinónimas y descriptas en la literatura.
  - 8 asociadas a HF, 3 no descriptas.
- ✦ De los 3 casos índices con fenotipo (homocigota), 1 fue homocigota simple y 2 heterocigotas compuestas.
- ✦ En 5/20 casos se observó la variante c.2043C>A, p.Cys681X (Figura 3).

TABLA 2: variantes genéticas encontradas en el gen RLDL.

Exón	Variante	Descripción	Dañina	Frecuencia
2	c.81C>T	p.cys27cys		
2	c.170A>C	p.Asp57Ala		
4	c.337G>T	p.Glu113X		
5	c.727T>C	Cys243Arg		
11	c.1617C>T	p.pro539pr		
12	c.1783C>T	p.Arg595Trp		
13	c.1879G>A	p.Ala627Thr		
13	c.1895A>T	p.Asn632Ile	Argentina	1

# HIPERCOLESTEROLEMIA FAMILIAR HETEROCIGOTA ESTRATEGIA DE DETECCIÓN POR SCREENING (CRIBADO) EN CASCADA FAMILIAR

P2-109



Pablo Corral

Instituto Clínica Médica. ICM. Universidad FASTA, Mar del Plata, Argentina

**Objetivo:** La Hipercolesterolemia Familiar (HF) heterocigota constituye un claro ejemplo de una patología sub-diagnosticada y sub-tratada. A su vez, el tener un patrón de herencia autosómica dominante con penetrancia cercana al 100% es imperativo el screening familiar para el diagnóstico. El presente trabajo describe una estrategia de screening en cascada familiar para el diagnóstico de HF.

**Material y Método:** un sexto hermano heterocigoto estudiado tuvieron

## APLICACIÓN DE LA TÉCNICA DE HIGH RESOLUTION MELTING PARA EL SCREENING GENÉTICO EN CASCADA FAMILIAR EN CASOS DE HIPERCOLESTEROLEMIA FAMILIAR



Quintana S<sup>1</sup>, Di Gerónimo V<sup>1</sup>, Videla Y<sup>1,2</sup>, Perez Maturro J<sup>1,2</sup>, Bañares V<sup>3,4</sup>, Schreier L<sup>4,5</sup>, Corral P<sup>5,6</sup>

<sup>1</sup> Laboratorio de Biología Molecular, Fares Taie Instituto de Análisis, Mar del Plata

<sup>2</sup> Centro Nacional de Genética Médica (CENAGEM), ANLIS "Dr. Carlos Malbrán" -Administración Nacional de Laboratorios e Institutos de Salud, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires  
<sup>3</sup> Instituto de Diagnóstico y Referencia Epidemiológica, Universidad FASTA, Mar del Plata.  
<sup>4</sup> Red Iberoamericana de Hipercolesterolemia Familiar.  
<sup>5</sup> Laboratorio de Lípidos y Aterosclerosis, Departamento de Bioquímica Clínica, Facultad de Farmacia y Bioquímica, UBA.  
 biologiademolecul@farestaie.com.ar



## METODOLOGÍA

Se estudiaron dos familias, la familia I con un CI donde se detectó la variante c.2043C>A, en el exón 14 del gen RLDL conocida como variante libanesa; y la familia II en la cual el CI presentó la variante 1003G>A en el exón 7 del dicho gen, ambas en heterocigosis.

Los CI fueron estudiados por secuenciación directa de los 18 exones del gen RLDL, promotor y zonas intrónicas flanqueantes.

Los integrantes de ambas familias se analizaron mediante HRM. En la familia I, se estudiaron 16 familiares (cuatro hermanos y la descendencia de ellos; un quinto hermano había fallecido a la edad de 39 años de un infarto agudo de miocardio). En la familia II se estudiaron 4 familiares.

Se realizó la extracción de ADN de sangre periférica, previa firma de consentimiento informado. Se llevaron a cabo amplificaciones por PCR en Tiempo Real con el intercalante fluorescente Evagreen, en un termociclador Rotor Gene Q, con el posterior análisis por HRM para la detección de las mutaciones en cada familia en forma puntual.

## RESULTADOS

Se realizó la extracción de ADN de los CI de cada familia (Fig. 1 y 2) y luego se analizaron los familiares (Fig. 3). La correlación entre el fenotipo presentado por los pacientes y el genotipo fue del 100% (Fig. 3).

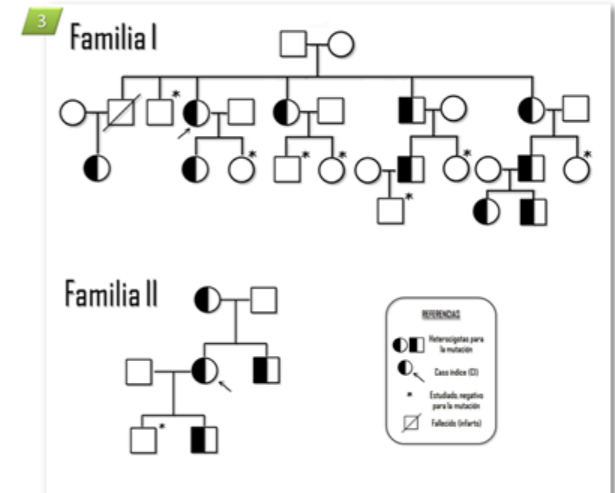


Figura 3. Árboles genealógicos Familia I y II

## CONCLUSIÓN

La implementación de una estrategia de screening en cascada genética permite detectar nuevos casos con fenotipo dudoso, tratarlos y finalmente, realizar consejo genético a fin de prevenir posibles casos más graves en las heterocigotas de la HF.

18 al 21 de Noviembre . 2015 . MAR DEL PLATA

SAIC . SAFIS

LX Reunión Científica Anual de la Sociedad Argentina de Investigación Clínica (SAIC)  
 Reunión Anual de la Sociedad Argentina de Fisiología (SAFIS)

Composición genética de la Hipercolesterolemia Familiar en Argentina en relación a los países de la Red Iberoamericana de HF.  
 Bañares\* VG<sup>1</sup>; Alves AC<sup>2</sup>; Alonso R<sup>3</sup>; Jannes C<sup>4</sup>; Medeiros AM<sup>2</sup>; Corral P<sup>5</sup>; Dell'Oca N<sup>6</sup>; Araujo MB<sup>7</sup>; Pereira A<sup>4</sup>; Elikir GD<sup>8</sup>; Reyes X<sup>6</sup>; Cuevas A<sup>3</sup>; Vázquez Cárdenas A<sup>9</sup>; Stoll M<sup>6</sup>; Santos R<sup>4</sup>; Mata P<sup>10</sup>; Schreier L<sup>11</sup> and Bourbon M<sup>2</sup>.

SAC 2015

41º CONGRESO ARGENTINO DE CARDIOLOGÍA

Del 15 al 17 de octubre de 2015, Centro de Convenciones "LA RURAL"  
 Fecha límite para el envío de temas libres: 20 de mayo de 2015

SOCIEDAD ARGENTINA DE CARDIOLOGÍA

## CRIBADO GENÉTICO EN CASCADA FAMILIAR; PRIMERA EXPERIENCIA EN HIPERCOLESTEROLEMIA FAMILIAR EN ARGENTINA

Corral Pablo, Quintana Silvia, Bañares Virginia, Schreier Laura





SALUD  
MGP  
MAR DEL PLATA  
BATÁN



UNIVERSIDAD  
FASTA

DA VINCI Study



Universidad de Buenos Aires

## High prevalence of Familial Hypercholesterolemia in Argentina: results of the first Detection Program.

Corral Pablo<sup>1</sup>, Lopez Graciela I<sup>2</sup>, Cristaldi Alejandro<sup>3</sup>, Tusedo Julio<sup>3</sup>, Cacciagiu Leonardo<sup>2</sup>, Berg Gabriela<sup>2</sup>, Schreier Laura<sup>2</sup>. <sup>1</sup>FASTA University, School of Medicine, Mar del Plata, Argentina. <sup>2</sup>University of Buenos Aires, Lab of Lipids and Atherosclerosis, Department of Clinical Biochemistry, Buenos Aires, Argentina. <sup>3</sup>Medical Ambulatory Center of Specialties, Direction of Health, District of G. Pueyrredón, Mar del Plata, Argentina.

- Familial Hypercholesterolemia (FH) is one of the most common inherited diseases, it is underdiagnosed and undertreated worldwide. There are no registries of FH in our country
- **Objective:** To launch a FH Detection Program in a District of Buenos Aires Province (where the National Health Survey showed increased cholesterol values)





## Genetic studies in definite/probable FH in Argentina

Corral Pablo (1), Geller Andrew (2), Polisecki Eliana (2), Bañares Virginia (3), Lopez Graciela (4), Berg Gabriela (4), Cacciagiu Leonardo (4), Hegele Robert (5), Schaefer Ernst (2), Schreier Laura (4)

(1)FASTA University, Mar del Plata, Argentina; (2) Boston Heart Diagnostics, MA, USA; (3) ANLIS, Centro Nacional de Genética Médica, Argentina; (4) Lipids and Atherosclerosis Laboratory, University of Buenos Aires, Argentina; (5) Robarts Research Institute, Ontario, Canada



Objective: to ascertain genetic causes in our FH patients  
with a DLCC > 6

**69 Index cases** (35 DLCC 7-8; 34 DLCC >8)

NGS genetic panel (23 genes)  
+  
Genetic Risk Score (10 SNPs)





# POSTER AWARD WINNERS

P. Corral, A. Geller, E. Polisecki, V. Bañares, G. López,  
G. Berg, L. Cacciagiú, R. Hegele, E. Schaefer, L. Schreier

have, with distinction, presented on

**GENETIC STUDIES IN DEFINITE/PROBABLE FH IN ARGENTINA**

at the 85<sup>th</sup> Congress of the European Atherosclerosis Society

EAS 2017, Prague, Czech Republic, April 23-26, 2017

Certified by

A handwritten signature in black ink, appearing to be "PK", enclosed in a white rectangular box.

Professor Petri Kovanen  
Award Committee Chair

A handwritten signature in black ink, appearing to be "Lale Tokgozoglu", enclosed in a white rectangular box.

Professor Lale Tokgozoglu  
EAS President

A handwritten signature in black ink, appearing to be "Jan Borén", enclosed in a white rectangular box.

Professor Jan Borén  
Scientific Programme Chair



# Genetic panel (23 genes)

High LDL-C	Low HDL-C	High HDL-C	High TG
LDLR	APOA1	SCARB1	LPL
APOB	ABCA1	LIPC	APOC2
PCSK9	LCAT	LIPG	APOA5
LDLRAP1		CETP	GPIHBP1
STAP1		APOC3	
APOE			
ABCG5/8			
CYP27A1			
DHCR24			
LIPA			



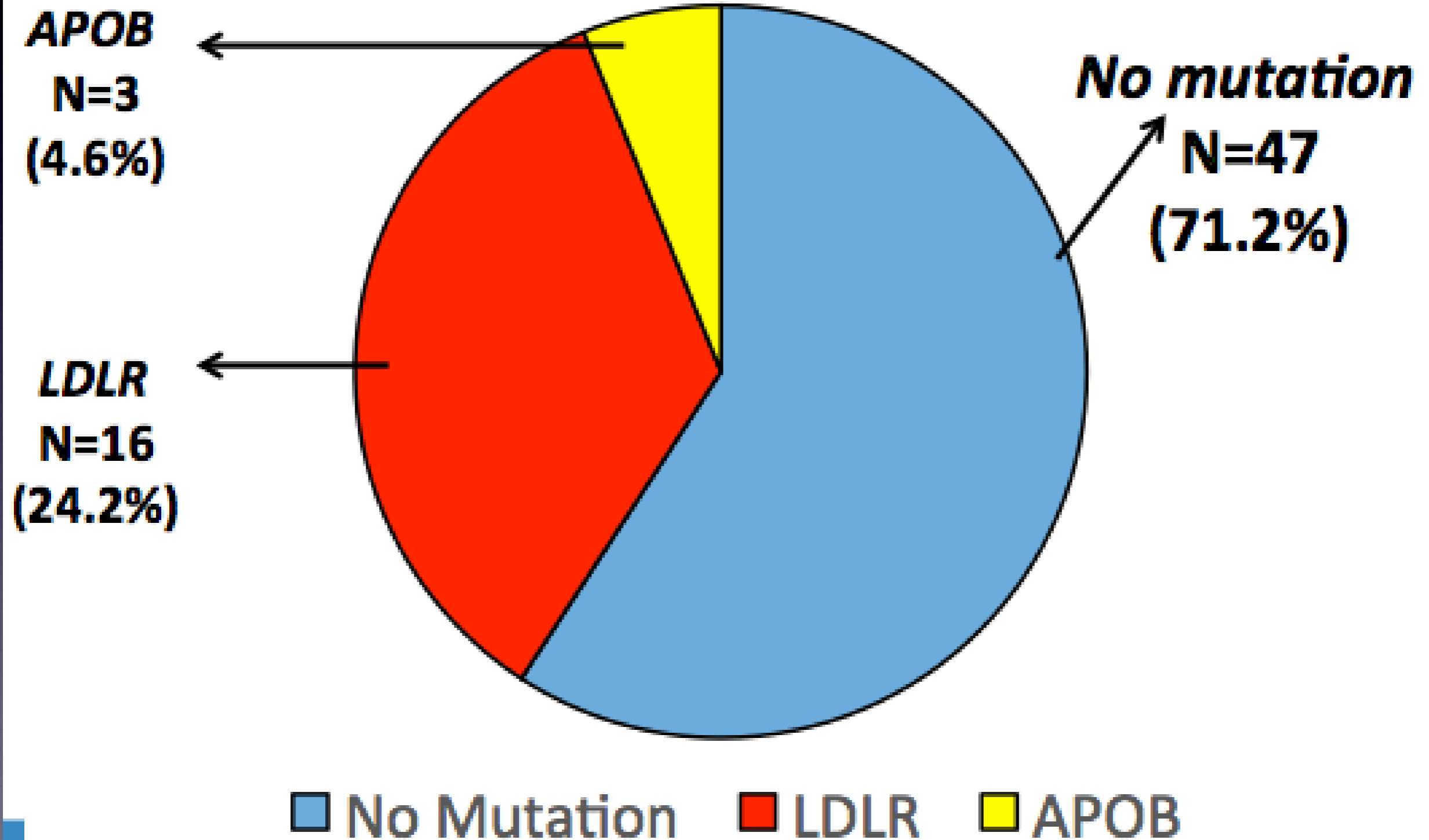
# Genetic Risk Score LDLc

CHR	Position	rsID	Gene
1	109817590	rs11206510	PCSK9
1	55496039	rs12740374	CELSR2
2	21286057	rs515135	APOB
2	44073881	rs6544713	ABCG8
5	156398169	rs3846663	HMGCR
5	74655726	rs1501908	TIMD4
12	121388962	rs2650000	HNF1A
19	11202306	rs6511720	LDLR
19	19407718	rs10401969	NCAN
20	39228784	rs6102059	MAFB

Range of the resulting score: 0-2.42; Cutoff 90<sup>th</sup> percentile=1.96

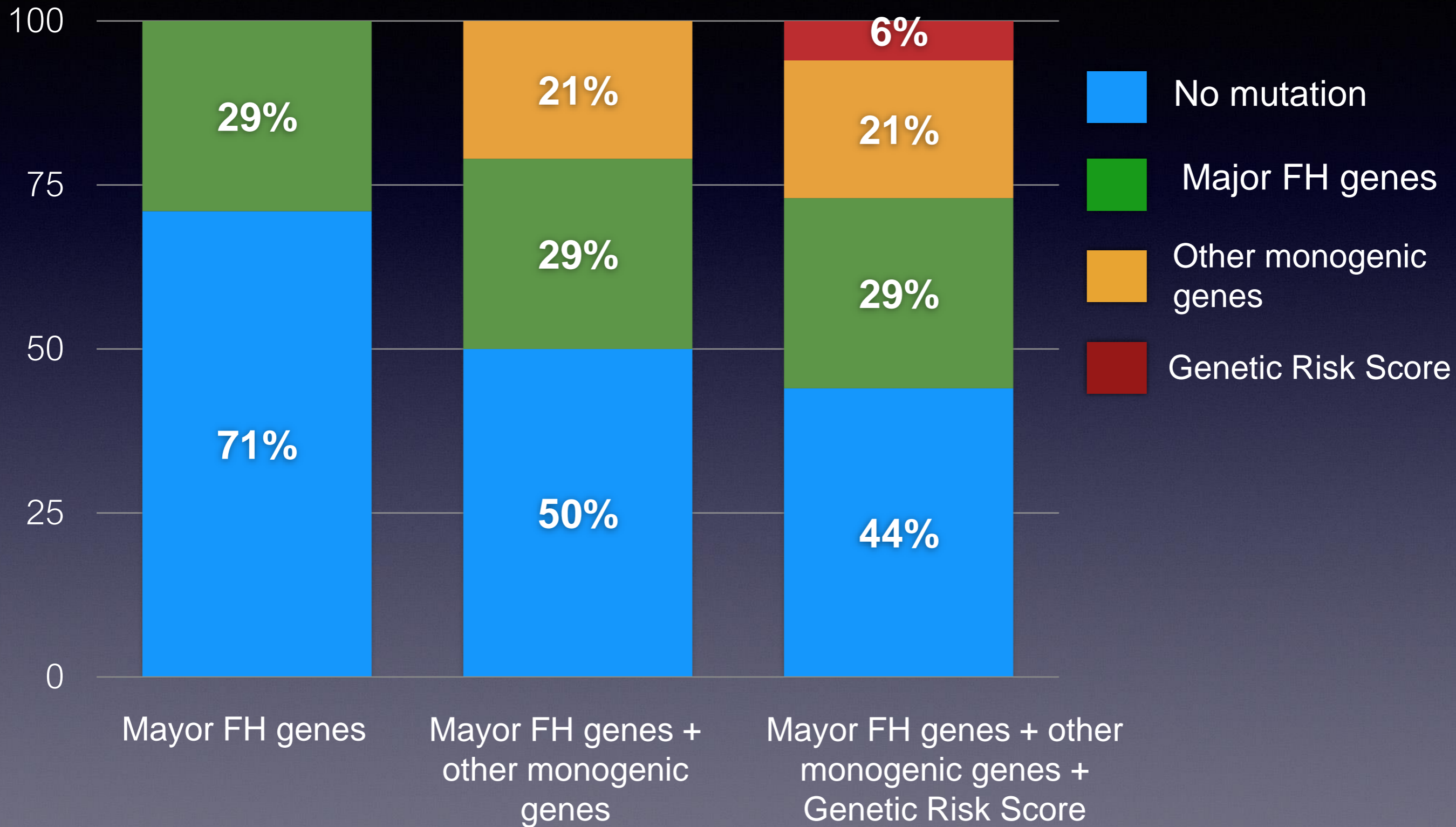


# Proportion of FH patients detected by traditional (major) genes





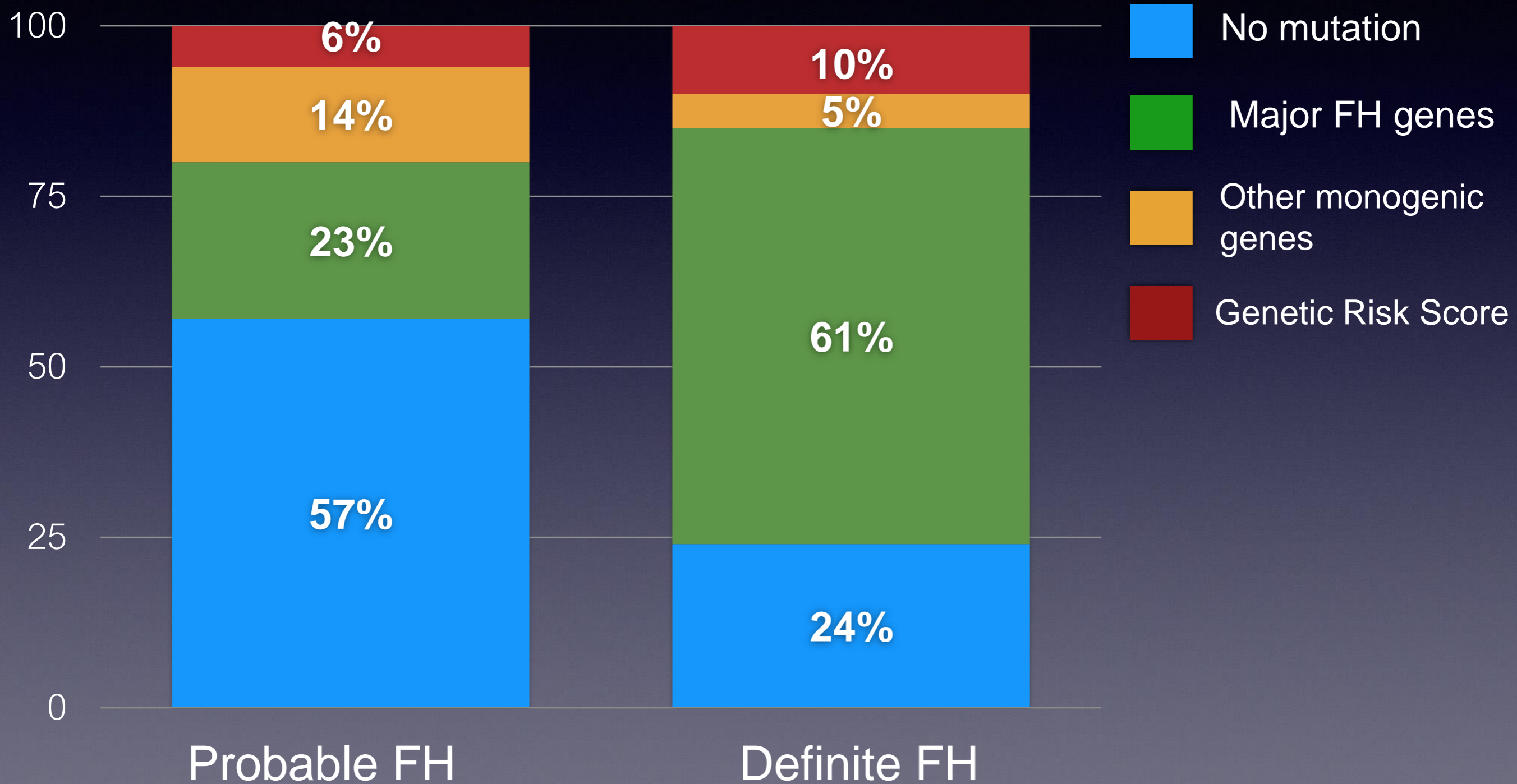
# Monogenic and Polygenic components in DA VINCI registry





# Genetic results: Probable vs. Definite FH

## DA VINCI registry





# Preliminary spectrum of genetic variants in familial hypercholesterolemia in Argentina



Virginia G. Bañares, PhD<sup>\*</sup>, Pablo Corral, MD, Ana Margarida Medeiros, PhD, María Beatriz Araujo, MD, Alfredo Lozada, MD, Juan Bustamante, PhD, Roxana Cerretini, PhD, Graciela López, MSci, Mafalda Bourbon, PhD, Laura E. Schreier, PhD



# The present...the future...

## *FH Argentina*

*Molecular analysis of patients with a clinical phenotype of Familial Hypercholesterolaemia through a target exome sequencing panel*

Project coordinators: Pablo Corral MD  
Laura Schreier PhD

Coordinator of Genetic Analysis: Mafalda Bourbon

## **Methods**

- 8 gene target exome sequencing (TES) panel (including coding regions and splice regions of *LDLR*, *APOB*, *PCSK9*, *APOE*, *LIPA*, *LDLRAP1*, *ABCG5*, *ABCG8*;
- 6 SNPS LDL score
- 2 statin intolerance SNPs



# What did we learn doing this registry?

---

We need the participation of different stakeholders to improve the situation of FH in our country:

- 1- The Government and Public Health sector
- 2- Patient advocacy groups
- 3- Medical Community
- 4- Pharmaceutical and Biotech Industry
- 5- Payer



# What is the future/challenge of the FH in Argentina ?

---

- 1-Continue our registry/study in Mar del Plata (400 patients to be detected in the next 36 months)
- 2-Expand this pilot program to other cities in Argentina
- 3-Add other stakeholders to the mission of detect and treat more patients
- 4- Share the experience and work together with other countries like at the IberoAmerican Network and with important Scientific Societies as the EAS, IAS and te FH Foundation.



# Conclusions and remarks

---

This preliminary data showed that one out of 186 patients present definite diagnosis of FH according to DLC

This study allows to start with cascade detection and with adequate provide treatment

Less than 50% of patients were on treatment

Majority of patients did not reach target (LDL-C) below 100 mg/dL

Genetic studies will provide more accurate prevalence



"Doing a registry like this is an extremely time-consuming activity but the effort is rewarded when you can finally see the results"

More patients detected

More patients treated

More lives saved





SALUD  
MGP  
MAR DEL PLATA  
BATÁN



ESTUDIO DE DETECCIÓN DE  
HIPERCOLESTEROLEMIA  
FAMILIAR

Lugar de atención: CEMA-Sector





Thank you very much