



FACULDADE DE MEDICINA
UNIVERSIDADE DE
COIMBRA

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA – TRABALHO FINAL

NUNO ÁLVARO FERREIRA SILVA

***Vantagens da farmacoterapia dirigida à Lipoproteína (a) e
relação com doença cardiovascular precoce***

ARTIGO CIENTÍFICO ORIGINAL

ÁREA CIENTÍFICA DE CARDIOLOGIA

Trabalho realizado sob a orientação de:

PROFESSOR DOUTOR PEDRO FILIPE LOPES SILVA MONTEIRO

FEVEREIRO/2022

**Vantagens da farmacoterapia dirigida à lipoproteína (a) e relação
com doença cardiovascular precoce**

**Advantages of lipoprotein (a) targeted therapy and relationship with
early cardiovascular disease**

NUNO ÁLVARO FERREIRA SILVA¹, PEDRO FILIPE LOPES SILVA
MONTEIRO^{1,2}

¹FACULDADE DE MEDICINA, UNIVERSIDADE DE COIMBRA,
PORTUGAL

²SERVIÇO DE CARDIOLOGIA, CENTRO HOSPITALAR E
UNIVERSITÁRIO DE COIMBRA

NUNO.ALVARO.SILVA@GMAIL.COM

ÍNDICE

ABREVIATURAS.....	5
RESUMO	6
PALAVRAS-CHAVE	7
ABSTRACT	7
KEYWORDS	8
INTRODUÇÃO	8
MATERIAL E MÉTODOS.....	12
RESULTADOS.....	15
DISCUSSÃO.....	20
CONCLUSÃO	22
AGRADECIMENTOS	22
REFERÊNCIAS.....	23

ABREVIATURAS

- AIT: acidente isquémico transitório
- Apo(a): apolipoproteína a
- Apo B: apolipoproteína B
- AVC: acidente vascular cerebral.
- CHUC: Centro Hospitalar e Universitário de Coimbra
- CNV: copy number variation
- CV: cardiovascular
- DAP: doença arterial periférica
- DC: doença coronária
- DCV: doença cardiovascular
- EAM: enfarte agudo do miocárdio
- ESC: *European society of cardiology*
- FRCV: fator de risco cardiovascular
- IMC: índice massa corporal
- IPCSK9: inibidores da proproteína convertase kexina 9
- ITB: índice tornozelo-braço
- LDL: *low density lipoprotein*
- LDL-C: *low density lipoprotein-cholesterol*
- Lp(a): lipoproteína a
- LSN: limite superior da normalidade
- MACE: *major adverse cardiovascular events*
- mRNA: *messenger ribonucleic acid*
- SARS-CoV2: *Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2*
- siRNA: *small interfering ribonucleic acid*
- STEMI: *ST segment elevation myocardial infarction*
- UICC: unidade de investigação clínica em cardiologia

RESUMO

Introdução: A Lipoproteína (a) (Lp(a)) é um marcador de risco cardiovascular independente do nível de *Low density lipoprotein* (LDL), cuja patogenicidade se deve aos seus efeitos pró-aterogénicos, pró-trombóticos e pró-inflamatórios. Parece apresentar um risco significativamente superior para enfarte agudo do miocárdio (EAM) num contexto de primário face a um contexto de doença cardiovascular estabelecida. Contribui ainda para o surgimento de acidente vascular cerebral (AVC) isquémico, doença arterial periférica (DAP) e estenose aórtica. O seu doseamento é recomendado pela *European Society of Cardiology* (ESC), mas os atuais tratamentos para dislipidemias não reduzem significativamente o seu nível. Há, assim, necessidade de terapêutica dirigida e de orientações sobre quem dela mais beneficiaria. A elevação da Lp(a) é uma causa de doença cardiovascular (DCV) prematura.

Material e métodos: Colhemos dados de 42 doentes a participar no ensaio clínico HORIZON na Unidade de Investigação Clínica em Cardiologia (UICC) do Centro Hospitalar e Universitário de Coimbra (CHUC), alguns dos quais tinham participado previamente no ensaio FOURIER na mesma unidade, distribuídos por dois grupos (*screening failures* e grupo de estudo) em 2 momentos espaçados no mínimo em 2 meses, através da consulta de processos clínicos e de um questionário. Os dados que obtivemos foram: demográficos, tipo de evento índice, novos eventos cardiovasculares, presença de história familiar ou pessoal de DCV precoce, sintomas ou diagnóstico de isquemia de membro ou de estenose aórtica, qualidade e estilo de vida, infeção por SARS-CoV2, bioquímica, hemograma e perfil lipídico. Realizámos análise descritiva e de frequência e aplicámos o teste de Mann-Whitney para análise da distribuição da variável dependente nível Lp(a) em diferentes variáveis nominais, após excluir a sua normalidade.

Resultados: 71.43% dos doentes que tomaram previamente *evolocumab* tinham Lp(a)>70 mg/dL. Os níveis de Lp(a) foram significativamente superiores nos indivíduos com história familiar de DCV precoce ($p=0.005$) e nos indivíduos que já tomavam estatinas antes do seu evento índice ($p=0.032$). Não foram reportados *outcomes* do ensaio no grupo de estudo.

Discussão e conclusão: A toma prévia de *evolocumab* não parece ser suficiente para reduzir a Lp(a) para níveis de baixo risco. A história familiar de DCV precoce é um bom preditor de níveis de Lp(a) elevados em doentes com DCV estabelecida e, como tal, poderá ser um bom preditor dos doentes com maior benefício da terapêutica dirigida em contexto de prevenção primária. Seriam esperados eventos nos doentes que estariam a tomar placebo e, como tal, o papel da redução da Lp(a) na prevenção secundária poderá não ser de forte magnitude.

PALAVRAS-CHAVE

LIPOPROTEÍNA (A), OLIGONUCLEÓTIDOS ANTISENSE, INIBIDORES DA PROPROTEÍNA CONVERTASE 9, DOENÇAS CARDIOVASCULARES; ESTENOSE AÓRTICA

ABSTRACT

Introduction: Lipoprotein(a) is a proven cardiovascular risk factor independent of low-density lipoprotein level and its pathogenesis is based on pro-atherogenic, pro-thrombotic and pro-inflammatory properties. The risk of myocardial infarction seems more relevant on a primary basis than with established cardiovascular disease. It also contributes for ischemic strokes, peripheral artery disease and aortic valve stenosis. The European Society of Cardiology recommends its measurement, but current therapies fail to lower its levels significantly. Therefore, there's an impending need for a specific drug and for guidelines on who would most benefit from it. High levels of Lp(a) cause early cardiovascular disease.

Materials and Methods: We collected data on 42 patients being followed on HORIZON clinical trial by UICC of CHUC, some of which had previously participated in FOURIER clinical trial on the same unit, divided in two groups (screening failures and study group) in two different moments, distanced a minimum of two months, by searching in the patient's files and by placing a questionnaire. The types of data that we gathered were: demographic, type of index cardiovascular event, new cardiovascular events, the presence of personal or family history of early cardiovascular disease, symptoms or diagnosis of limb ischemia or aortic stenosis, quality of life and lifestyles, infection by SARS-CoV2, complete blood count, and biochemical and lipid profile. We conducted a descriptive and frequency analysis and performed Mann-Whitney's test for analysis of the distribution of Lp(a) levels in different nominal variables, after excluding its normal distribution.

Results: 71.73% of patients that had previously taken evolocumab had Lp(a) levels > 70mg/dL. Lp(a) levels were significantly superior in patients with family history of early cardiovascular disease ($p < 0.005$) and in patients who were already taking statins when the index event occurred ($p = 0.032$). The outcomes of trial reported on the study group were none.

Discussion and conclusion: Treatment with evolocumab seems to be insufficient on lowering Lp(a) to levels of low risk. Presence of family history of early cardiovascular disease seems to be a good predictor of high Lp(a) levels in patients with established cardiovascular disease and, therefore, could select the patients who would most benefit of a targeted therapy on primary prevention context. Some cardiovascular events were expected in the study group, which could portray a smaller risk of events with established cardiovascular disease.

KEYWORDS

LIPOPROTEIN (A); OLIGONUCLEOTIDES, ANTISENSE; PROPROTEIN CONVERTASE 9; CARDIOVASCULAR DISEASES; AORTIC VALVE STENOSIS

INTRODUÇÃO

Os eventos cardiovasculares (CV) permanecem como uma das principais causas de morte a nível mundial, apesar do controlo de fatores de risco como a LDL, pelo que há uma necessidade contínua de identificar novos alvos terapêuticos para que, através da combinação de diferentes estratégias terapêuticas, se possa inverter esta tendência. A lipoproteína (a), ou Lp(a), pelo seu papel independente como fator de risco cardiovascular (FRCV), parece ser um bom candidato, para o qual até hoje não existe no mercado nenhuma terapêutica especificamente dirigida. A Lp(a) plasmática consiste num subtipo específico de lipoproteína de baixa densidade, composta por apolipoproteína a (apo(a), componente patognomónico) com ligação bissulfito à apolipoproteína B100 (porção *LDL-like*), que tem ganho o seu valor como FRCV independente do nível de LDL. A apo (a) é composta por 38 *kringles* (unidade funcional e estrutural proteica com várias rotações composta por um módulo terminal-N de 80 resíduos, dos quais 6 são de cisteína e formam 3 ligações dissulfito entre si) e terá evoluído a partir do gene do plasminogénio, mas enquanto este apresenta 5 *kringles* (KI a KV) e 1 domínio protéase, a apo(a) apresenta apenas KIV (10 subtipos diferentes) e KV, com o domínio protéase inativo. O diferente número de CNV no gene LPA vai determinar isoformas da apo(a) com diferentes tamanhos, por alteração do número de KIV2 na partícula. Este fenómeno poderá justificar a grande heterogeneidade de resultados de estudos anteriores que doseavam a Lp(a) com recurso a ensaios laboratoriais baseados em massa, sendo que atualmente se utilizam imunoensaios por turbidimetria devidamente calibrados e com um reagente de referência internacional, tornando-os relativamente independentes de isoformas. Outro componente da molécula consiste em fosfolípidos oxidados com ação pró-inflamatória, que existem quer covalentemente ligados à apo(a) quer na fase lipídica da Lp(a). (1); (2)

Esta lipoproteína apresenta características peculiares que poderão retratar o seu papel como FRCV independente: como referido, esta molécula parece ter evoluído do gene do plasminogénio e, assim sendo, poderá inibir a sua atividade se existir em excesso relativamente a este, interferindo com a cascata fibrinolítica. Ao contrário da apolipoproteína B (apoB), a apo(a) não transporta lípidos nem apresenta domínio lipídico, sendo hidrofílica e podendo, por isso, ligar-se ao endotélio desnudado rico em lisina, para a qual apresenta locais de ligação. Além disso, apresenta uma tendência igual ou até superior para se oxidar

relativamente à restante LDL, formando LDL oxidada altamente imunogénica e pró-inflamatória. (1)

Trata-se, assim, de uma partícula com ação pró-aterogénica e pró-trombótica, devendo-se a ação pró-aterogénica a vários mecanismos tais como o aumento da deposição de colesterol na parede arterial, a promoção da formação de células *foam* e da proliferação de músculo liso e a indução da quimiotaxia de monócitos para o espaço subendotelial. Os fosfolípidos oxidados justificam grande parte da ação pró-aterogénica e também pró-inflamatória da Lp(a). A sua ação pró-trombótica foi já explicada. O risco CV da Lp(a) deve-se sobretudo aos seus níveis circulantes, sendo que fatores como variantes genéticas e variações no número de *Kringles* terão pouca influência nos mesmos. (2)

Inúmeros estudos têm provado o papel da Lp(a) como FRCV independente, papel este que outrora tinha sido considerado irrelevante, como se demonstrou utilizando doentes do estudo *The Copenhagen City heart study*, um estudo prospetivo cardiovascular iniciado em 1976, com doentes acima dos 20 anos. O *multivariable-adjusted Hazard ratio* para enfarte miocárdico foi 2.6 (intervalo de confiança 95% 1.6-4.1) para doentes com níveis de Lp(a) no percentil 95 (>90 mg/dL) em relação a doentes com níveis abaixo do percentil 22 (<5mg/dL). (3). Já no âmbito da prevenção secundária, o efeito dos níveis de Lp(a) elevados no risco CV parece ser substancialmente menor, como demonstra uma metanálise de 11 estudos no âmbito da prevenção secundária, com um total de 18 979 doentes, que revelou um *Odds ratio* 1.40 para *Major adverse cardiovascular events* (MACE, com Intervalo de confiança a 95% 1.15-1.71), embora com heterogeneidade significativa entre estudos. Estratificando os resultados em função do colesterol LDL ou total médio basal, só houve uma associação significativa entre níveis de Lp(a), no quartil mais elevado, e MACE nos estudos com colesterol médio basal >130 mg/d, sugerindo que esta associação poderá estar atenuada em doentes com níveis baixos de colesterol. (4). Num estudo utilizando dados de um grande biobanco do Reino Unido com um *follow-up* mediano de 11.2 anos, os doentes com DCV estabelecida e Lp(a)>70 mg/dL tinham também um modesto *Hazard ratio* (1.16) de novos eventos comparado com os restantes. (5)

O risco de estenose aórtica nestes doentes será igualmente significativo, como é demonstrado pelos dados dos estudos *The Copenhagen City heart study* e *Copenhagen General Population Study* que apontam um *hazard ratio* 2.9 (intervalo de confiança 1.8-4.9) para níveis superiores ao percentil 95(>90mg/dL) face ao percentil 22 (<5 mg/dL). (6)

O risco de AVC isquémico nestes doentes é relevante, mas menor: *hazard ratio* 1.6 (intervalo confiança 1.24-2.05) para níveis >93 mg/dL face a níveis <10 mg/dL, utilizando doentes dos mesmos estudos. (7) Para a presença de DAP nestes doentes, a evidência é

mais controversa, tendo-se obtido num estudo com 998 doentes um *Odds-Ratio* 1.9 (intervalo confiança 95% 1.4-2.5) para doentes com Lp(a)>30 mg/dL. (8)

Embora previamente se estipulasse que o risco CV conferido pelos níveis de Lp(a) adquiria uma conformação curvilínea, com o risco concentrado nos níveis muito elevados de Lp(a), foi demonstrado mais recentemente que existe uma relação linear e independente para níveis basais ou sob terapêutica com estatina, com risco de 31% (basal) a 43% (sob estatina) para níveis >50 mg/dL. (5); (9). No entanto, postula-se que o benefício cardiovascular da redução dos níveis de Lp(a) dependerá de grandes reduções absolutas, como se verificou numa análise de randomização Mendeliana, na qual uma redução absoluta dos níveis de Lp(a) de 101.5 mg/dL teria benefício cardiovascular equivalente a uma redução dos níveis de LDL-C de 38.67 mg/d, redução esta que produz uma redução do risco cardiovascular clinicamente significativa (10); (11)

Estima-se que 10 a 20% da população geral apresente níveis de Lp(a) >50mg/dL. Esta percentagem sobe para 30% na presença de DCV precoce (< 55 anos no homem e <65 anos na mulher), sendo uma causa de DCV prematura e acelerada. (2) Atendendo a isto e sendo que cerca de 90% do nível Lp(a) plasmático é determinado geneticamente, podemos contextualizar as mais recentes recomendações da ESC no doseamento da Lp(a). (10) (Tabela 1)

Tabela 1 Recomendações da *European Society of Cardiology* no doseamento da Lp(a) (10)

- Medição considerada, pelo menos, 1 vez na vida adulta para identificar doentes com Lp(a) muito elevada (>180mg/dL), que tem um risco de DCV aterosclerótica equivalente ao da hipercolesterolemia familiar heterozigótica. (recomendação IIa, evidência C)
- Medição considerada em doentes selecionados com história familiar de DCV prematura e para reclassificação de doentes que estão no limiar entre risco intermédio e alto. (recomendação IIa, evidência C)

O efeito da dieta e exercício físico terá um efeito marginal na redução de Lp(a), segundo os estudos atuais. Recentemente foi demonstrado pelo ensaio JUPITER que as estatinas não diminuem e poderão até aumentar ligeiramente os níveis de Lp(a) (12) e, mesmo em combinação com fármacos como ezetimibe poderão aumentar em 11% os níveis de Lp(a). Algumas terapêuticas como os inibidores da proproteína convertase kexina 9 (IPSK9) ou niacina, reduzem até 30 % os níveis de Lp(a). A aférese lipídica é também uma opção. (2)

O estudo TQJ230A12301 é um ensaio clínico multicêntrico de fase 3, duplamente oculto, controlado por placebo, com o objetivo primário de testar se a administração do fármaco TQJ 230 dirigido à Lp(a) (oligonucleótido *antisense* dirigido ao mRNA da apo(a), diminuindo a sua produção no fígado) diminui o risco de MACE (mortes por doença cardiovascular, EAM e AVC não fatais, revascularização coronária urgente) em doentes com

doença cardiovascular estabelecida e Lp(a) >70 mg/dL e na subpopulação de doentes com Lp(a) >90 mg/dL. O fármaco demonstrou, em Fase 2, reduções do nível de Lp(a) até 75.1 mg/dL a partir de um nível médio 99.3 mg/dL e reduções estatisticamente significativas na apoB e fosfolípidos oxidados associados à apo(a) e à apoB, sem apresentar alteração no nível de plaquetas clinicamente significativa. O estudo tem duração prevista de 4.5 anos, com um período de dupla ocultação mínimo de 2.5 anos. É composto por um período de *screening* de 2 semanas, seguido de um período opcional de otimização terapêutica de 4 a 12 semanas, caso não sejam atingidos os alvos terapêuticos estipulados, e por o período de dupla ocultação. A medicação do estudo é administrada por via subcutânea mensalmente pelo próprio, pelo cuidador ou por um profissional de saúde. (13)

Neste estudo, com uma amostra de doentes do ensaio clínico HORIZON, verificámos se os achados foram ao encontro do conhecimento atual sobre a Lp(a) e aferimos sobre a utilidade terapêutica de um fármaco especificamente dirigido para a Lp(a). Para esse efeito, investigámos a presença de história pessoal ou familiar de DCV precoce nos nossos doentes e verificámos se a sua presença estava ou não relacionada com níveis superiores de Lp(a) em doentes com DCV estabelecida, o que poderá permitir identificar os doentes com maior benefício em prevenção primária. Estudámos também os valores de Lp(a) em doentes que tomaram previamente o fármaco *evolocumab* através do estudo FOURIER (ensaio multicêntrico duplamente oculto, controlado por placebo e randomizado para estudo do impacto da redução adicional de LDL nos eventos CV em doentes com DCV estabelecida a tomar o IPSCK9 e estatinas) ou OLE FOURIER (estudo de fase 3b para avaliar a segurança a longo prazo da administração de *evolocumab*) que decorreram igualmente na UICC, tirando proveito da rara oportunidade de estudar doentes que tenham participado simultaneamente em ambos os estudos, para verificar se esta redução, com um fármaco não específico, terá sido suficiente para atingir o patamar <70 mg/dL, o que poderia indicar futilidade terapêutica de um fármaco especificamente dirigido.

MATERIAL E MÉTODOS

Seleção da amostra

Neste estudo prospetivo e unicêntrico foram selecionados todos os doentes seguidos no serviço de Cardiologia do CHUC e convidados a participar no ensaio clínico TQJ230A12301 (HORIZON) nesse hospital por parte da UICC, mesmo que não tivessem reunido condições para prosseguir o estudo na fase de *screening*, quer por não apresentarem níveis de Lp(a) no limiar definido (>70 mg/dL) quer por recusa. Os critérios de seleção usados são sobreponíveis aos usados no ensaio clínico (Tabela 2).

Os doentes serão divididos em dois grupos: grupo em seguimento no ensaio e grupo de *screening failures*.

Tabela 2 Critérios de Seleção
Critérios de inclusão
<ul style="list-style-type: none">• Homens e mulheres entre >18 e ≤80 anos• Lp(a) > 70 mg/dL na visita de <i>screening</i>• Tratamento otimizado do colesterol LDL (LDL-C < 50 mg/dL ou dose máxima tolerada de estatinas + outro fármaco) e outros FRCV (HbA1C < 6.5% e tensão arterial < 140/90 mmHg)• EAM espontâneo >3 meses e <10 anos antes da visita de <i>screening</i> (definido por elevação ou diminuição de marcadores de lesão cardíaca, de preferência troponinas, com, pelo menos, 1 valor acima do percentil 99 da normalidade e mais 1 dos seguintes: sintomas de isquemia, novas alterações ST-T ou bloqueio completo ramo esquerdo de novo no eletrocardiograma, ondas Q patológicas, trombo coronário na angiografia e nova perda de miocárdio viável ou nova anormalidade regional de movimento da parede em imagem) e/ou• AVC isquémico (défice focal cerebral, espinhal ou visual agudo por enfarte do SNC documentado por imagem e não embólico ou AIT) >3 meses e <10 anos antes da visita de <i>screening</i> e/ou• DAP sintomática e clinicamente significativa (claudicação intermitente com Índice tornozelo-braço (ITB) < 0.9 ou amputação de membro ou revascularização por isquemia de membro)
Critérios de exclusão
<ul style="list-style-type: none">• Hipertensão não controlada no <i>screening</i> (sistólica ≥160 mmHg e diastólica ≥100 mmHg numa média de 3 medições)• Classe IV na classificação <i>Heart failure New York Heart Association</i> (NYHA)• História de neoplasia em qualquer órgão nos últimos 5 anos• História de AVC hemorrágico ou hemorragia major• Plaquetas < 140 000 per µL

- Doença hepática ativa ou disfunção hepática (transaminases > 2x Limite superior da normalidade (LSN) ou bilirrubina total >1,5x LSN) antes da randomização
- Doente positivo para HIV, Hepatite B ou Hepatite C no *screening*
- Doença renal significativa (Taxa de filtração glomerular (TGF) < 30 mL/min/1.73m² ou doença glomerular significativa com relação proteína/creatinina urinárias >500 mg/g) antes da randomização
- Mulheres grávidas ou em amamentação ou sem método de contraceção altamente eficaz
- Tratamento com niacina (a não ser em multivitamínico), com dose estável de IPCSK9 nos 3 meses anteriores ou com aférese de lipoproteínas;
- Eventos cardiovasculares entre o *screening* e o período de randomização;
- Procedimento de revascularização cardíaca, cerebral ou de membro planeado para depois do período de randomização.
- Doença não cardiovascular com esperança de vida <5 anos diagnosticada antes da randomização
- Infecção severa ativa ou disfunção major hematológica, endócrina, metabólica ou gastrointestinal antes da randomização
- Tratamento com oligonucleotídeos ou siRNA nos 9 meses antes do *screening* ou história de hipersensibilidade ao fármaco ou a excipientes

Colheita de dados

Os dados foram recolhidos pela consulta do processo clínico criado especificamente para o estudo e pela entrevista a doentes em dois momentos diferentes, separados no mínimo em 2 meses até 31 de dezembro de 2021. Relativamente aos doentes *screening failure* não foi efetuada consulta do processo clínico na 2ª recolha, uma vez que não mantêm seguimento clínico no estudo. Os dados de doseamentos analíticos na 2ª recolha só foram recolhidos após o período de randomização (início do fármaco ou placebo).

Os dados colhidos foram: sexo, idade, local de residência, idade no primeiro evento cardiovascular e presença de história pessoal ou familiar de DCV precoce, tipo de EAM (com ou sem supra ST), antecedentes ou clínica de estenose aórtica (dispneia de esforço, síncope de esforço, angina e sopro sistólico em foco aórtico) ou isquemia de membro (claudicação intermitente ou dor em repouso, dados da bioquímica, hemograma e perfil lipídico, informações sobre estilos (atividade física, hábitos tabágicos e alcoólicos) e qualidade de vida (adaptação SF-12), eventos adversos do fármaco, infecção por SARS-CoV2 e toma de estatina prévia ao evento índice.

Considerações éticas

O protocolo do estudo foi submetido à Comissão de Ética para a Saúde do Centro Hospitalar e Universitário de Coimbra, tendo sido obtido um parecer favorável para a sua realização.

Análise estatística

Para as variáveis nominais, optou-se pela análise de frequências, recorrendo, quando necessário, a análise em tabulação cruzada. Já nas variáveis quantitativas, calculou-se as médias aritméticas e desvio-padrão.

No âmbito da estatística inferencial, foram feitas análises comparando a distribuição de 1 variável quantitativa (nível de $L_p(a)$) em diferentes variáveis nominais. Foram feitos testes de normalidade e, perante a sua distribuição não normal e o reduzido número amostral, utilizou-se o teste não paramétrico de Mann-Whitney, com significância estatística para $p < 0.05$.

RESULTADOS

Foram selecionados 42 doentes, 28 no grupo do ensaio clínico e 14 no grupo de *screening failures*, 11 dos mesmos por apresentarem níveis Lp(a)<70 mg/dL, nos quais o intervalo máximo de seguimento no ensaio foi 120 dias após a randomização e o intervalo máximo entre períodos de recolha de dados foi de 4 meses.

Relativamente às características epidemiológicas da amostra, 34 (81%) doentes são do sexo masculino, 42 (100%) são caucasianos não hispânicos, com uma média etária de 64.24±9.30 anos. Em termos de estilos de vida, a atividade física média semanal foi 150.38±126.00 minutos (N=40), a carga tabágica média foi 16.90±23.37 no grupo com Lp(a)>70 mg/dL e 20.35±18.52 unidades maço-ano no grupo com Lp(a)<70 mg/dL e o consumo etílico médio foi 13.14±14.71 gramas de álcool diários.

Respetivamente ao exame físico dos doentes, foi normal nos 42 (100%) doentes na 1ª recolha e foi normal em 28 doentes (100%) na 2ª recolha. Os sinais vitais médios foram: tensão arterial 128.19±12.25/76.95±10.22 mmHg (N=42) na 1ª recolha e 127.71±13.10/74.00±7.54 mmHg (N=28) na 2ª recolha, frequência cardíaca 65.10±11.12 (N=42) na 1ªrecolha e 65.96±8.99 (N=28) na 2ª recolha. O índice de massa corporal (IMC) médio foi 28.14±3.58 (N=42) na 1ª recolha e 28.48±3.78 (N=28).

A comparação dos valores médios de dados bioquímicos e hematológicos nos dois momentos de recolha é efetuada na tabela 3 e os doseamentos lipídicos no *screening* são representados na tabela 4.

Tabela 3- Dados bioquímicos e hematológicos		
	1ª recolha	2ª recolha
Glicemia (mmol/L)	6.60±2.06 N=42	6.78±1.84 N=8
Hemoglobina A1C (%)	6.06±0.70 N=42	6.06±0.79 N=9
Bilirrubina (umol/L)	11.24±6.09 N=41	10.82±6.04 N=22
Creatinina (umol/L)	87.37±22.77 N=41	Sem aumento N=18
Fosfatase Alcalina (U/L)	72.85±20.5 N=41	68.78±22.32 N=9
Alanina aminotransferase (U/L)	28,05±14,9 N=41	22.64±10.05 N=22
Aspartato aminotransferase (U/L)	25.28±8.35 N=40	22.82±7.85 N=22
Gama-glutamilttransferase (U/L)	33.93±29.53 N=41	29.89±26.51 N=9
Ureia (mmol/L)	6.85±1.69 N=41	6.61±2.14 N=9

Ácido Úrico (umol/L)	335.10±100.29 N=41	305.78±114.54 N=9
Cálcio (mmol/L)	2.39±0.09 N=41	2.29±0.09 N=9
Fósforo (mmol/L)	1.07±0.14 N=41	1.07±0.10 N=9
Proteínas totais (g/L)	69.57±4.94 N=40	66.11±5.21 N=9
Sódio (mmol/L)	140.25±2.04 N=40	141.11±2.47 N=9
Potássio (mmol/L)	4.53±0.33 N=41	4.60±0.37 N=9
Cloro (mmol/L)	102.49±2.30 N=41	104.56±1.67 N=9
Creatina Cinase (U/L)	138.52±105.82 N=40	157.89±121.25 N=9
Albumina (g/L)	45.73±2.96 N=41	43.11±3.9 N=9
Hemoglobina (g/L)	143.45±13.13 N=42	140.59±14.91 N=22
Leucócitos (GI/L)	6.36±1.56 N=42	6.31±1.62 N=22
Neutrófilos (GI/L)	3.94±1.23 N=42	3.97±1.15 N=22
Plaquetas (GI/L)	200.60±49.49 N=42	190.41±49.64 N=22

Tabela 3 Os resultados são apresentados como média± desvio-padrão. Em alguns doentes os valores não estão disponíveis por erro laboratorial na sua determinação. Na segunda recolha, o número de dados recolhidos varia, pois, os doseamentos laboratoriais são diferentes consoante a fase de estudo.

Tabela 4 Doseamentos Lipídicos na 1ª recolha	
HDLC4 (mmol/L)	1.24±0.31 N=41
Não HDL (mmol/L)	2.06±0.83 N=41
Colesterol total (mmol/L)	3.30±0.87 N=41
VLDL (mmol/L)	0.56±0.24 N=41
Triglicerídeos (mmol/L)	3.20±11.54 N=41
LDL direta (mmol/L) (alvo- 1.4)	1.50±0.70 N=41
ApoB (g/L)	0.62±0.17 N=27; 0.55±0.27 (2ªrecolha, N=9)
Lp(a) (mg/dL)	97.33±51.00 N=42

Tabela 4 HDLC4- high density lipoprotein Gen 4; Não HDL - colesterol não HDL; VLDL - very low density lipoprotein; LDL direta- medição direta de Low density lipoprotein; ApoB- apolipoproteína B; Lp(a)- lipoproteína a. A maioria das determinações só se efetua no momento do screening. Os resultados são apresentados como média± desvio-padrão.

Apenas 3 (7.14%) dos 42 doentes apresentaram níveis de Lp(a) superior a 180 mg/dL, dos quais 2 tinham história pessoal de DCV precoce e 1 história familiar de DCV precoce.

Dos 14 doentes que participaram previamente no ensaio FOURIER, 10 (71,43%) apresentaram Lp(a)>70 mg/dL e 4 (28,57%) apresentaram Lp(a)<70 mg/dL. Todos estes doentes participaram posteriormente no ensaio OLE FOURIER, estando assim garantida a toma de *evolocumab*, mesmo tendo tomado placebo no ensaio FOURIER.

Abordando a tipologia do primeiro evento cardiovascular sofrido, dos 31 doentes com Lp(a)>70 mg/dL, 14 (45,16%) tiveram STEMI face a 7 (63,64%) dos 11 doentes com Lp(a)<70 mg/dL, com valor médio de Lp(a) 93.89 ± 48.92 nos doentes com STEMI e 100.78 ± 53.98 nos doentes que não tiveram esse evento. Aplicando o teste de Mann-Whitney, não existem diferenças estatisticamente significativas no nível de Lp(a) entre esses 2 grupos ($p=0.734$). Apenas 3 (7,10%) doentes tinham antecedentes de AVC isquémico, 2 dos quais com antecedentes concomitantes de enfarte e todos apresentavam Lp(a)>70 mg/dL. Igualmente 3 (7,10%) doentes apresentaram DAP, todos igualmente com Lp(a)>70 mg/dL. 1 (3,23%) doente, com Lp(a)>70 mg/dL, apresentou estenose aórtica severa.

Em termos de efeitos adversos da medicação em estudo, apenas 5 (17,86%) dos 28 doentes no grupo de estudo, tiveram reações adversas que justificaram a suspensão da medicação administrada, 3 por trombocitopenia ($<140000/\text{mm}^3$) e 2 por reação de hipersensibilidade local em várias inoculações. Os indivíduos que apresentaram trombocitopenia, apresentavam todos valores basais próximos do limite inferior da normalidade (151,34 em média). O valor das plaquetas variou em média $1634 \pm 41729/\text{mmol}^3$ (N=22), com uma diminuição máxima de $34000/\text{mmol}^3$. A creatinina sérica não aumentou em relação ao valor basal em nenhum dos doentes em que se fez o doseamento adequado à fase do estudo (N=18) e apenas 1 (5,56%) dos mesmos 18 doentes apresentou aumento do nível de LDL em relação ao valor basal.

A presença de história familiar ou pessoal de DCV precoce nos doentes é ilustrada pelo Gráfico 1. Num total de 11 doentes com Lp(a)<70 mg/dL, 7 apresentavam história pessoal de DCV precoce e nenhum desses 11 doentes apresentava história familiar de DCV precoce. 12 num total de 31 doentes com Lp(a)>70 mg/dL padeceram de DCV precoce e 9 desses mesmos doentes tinham história familiar de DCV precoce. Como os níveis de Lp(a) não seguem distribuição normal no grupo de doentes sem história familiar de DCV precoce (*Shapiro-Wilk* $p=0.004$) e como a nossa amostra apresenta um tamanho muito reduzido face ao total de doentes do ensaio para o uso de testes paramétricos, utilizou-se um teste não paramétrico de Mann-Whitney e verificou-se que a presença de história familiar de DCV precoce se associa a níveis mais elevados de Lp(a) de forma significativa ($U=237$, $p=0.005$), com uma mediana de 119,90 mg/dL no grupo com história familiar de DCV perante uma mediana de 85,70 nos doentes sem. Não houve diferenças estatisticamente significativas no caso da história pessoal de DCV precoce ($U=186$, $p=0.411$).

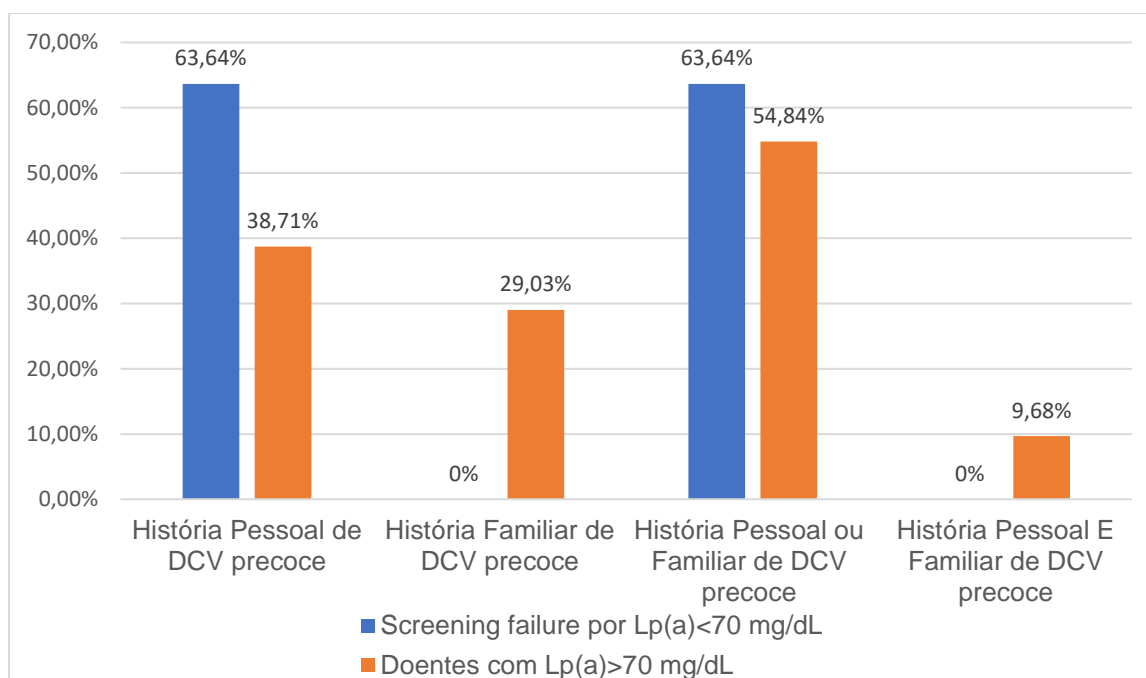


Figura 1 Presença de Doença Cardiovascular (DCV) precoce nos dois grupos de doentes. Lp(a)-Lipoproteína a

Tabela 5 Qualidade de vida (adaptação SF-12) (14)		
	Grupo de estudo	Screening Failures
Saúde global 1ªrecolha (N=40)	<ul style="list-style-type: none"> Boa: 15 (53.57%) Média:11 (39.29%) Má: 2 (7.14%) 	<ul style="list-style-type: none"> Boa: 8 (66.67%) Média: 4 (33.33%) Má: 0
Saúde global 2ªrecolha(N=29)	<ul style="list-style-type: none"> Boa:12 (63.16%) Média:5 (26.32%) Má:2 (10.53%) 	<ul style="list-style-type: none"> Boa:8 (80.00%) Média2: (20.00%) Má:0
Limitação a subir escadas 1ªrecolha(N=40)	<ul style="list-style-type: none"> Nenhuma: 13 (46.43%) Ligeira:11 (39.29%) Moderada:3 (10.71%) Acentuada:1 (3.57%) 	<ul style="list-style-type: none"> Nenhuma:5 (41.67%) Ligeira :4 (33.33%) Moderada:2 (16.67%) Acentuada:1 (8.33%)
Limitação a subir escadas 2ªrecolha(N=29)	<ul style="list-style-type: none"> Nenhuma: 12 (63.16%) Ligeira:4 (21.05%) Moderada:3 (15.79%) Acentuada:0 	<ul style="list-style-type: none"> Nenhuma:5 (50.00%) Ligeira :5 (50.00%) Moderada:0 Acentuada:0
Tempo cheio de energia 1ªrecolha (N=40)	<ul style="list-style-type: none"> Maior parte do tempo:15 (53.57%) 	<ul style="list-style-type: none"> Maior parte do tempo:8 (66.67%)

	<ul style="list-style-type: none"> • Metade do tempo:6 (21.43%) • Menos de metade:7 (25.00%) 	<ul style="list-style-type: none"> • Metade do tempo:4 (33.33%) • Menos de metade:0
Tempo cheio de energia 2ª recolha (N=29)	<ul style="list-style-type: none"> • Maior parte do tempo:12 (63.16%) • Metade do tempo:4 (21.05%) • Menos de metade:3 (15.79%) 	<ul style="list-style-type: none"> • Maior parte do tempo:6 (60.00%) • Metade do tempo:3 (30.00%) • Menos de metade:1 (10.00%)
Infeção por COVID-19 (N=40)	4 (14.29%)	0

Não foram reportados quaisquer eventos cardiovasculares correspondentes aos *outcomes* do ensaio no grupo de doentes em estudo e apenas 1 doente no grupo dos *screening failures* apresentou sintomas compatíveis com síndrome coronário agudo, não sendo possível a sua confirmação, uma vez que não recorreu a cuidados médicos. 15 dos 31 doentes com Lp(a)>70 mg/dL (48,39%) já tomavam estatinas antes do seu evento índice face a 2 dos 9 doentes Lp(a)<70 mg/dL (22.22%, N=40). Os níveis de Lp(a) são superiores, de forma estatisticamente significativa (U=274; p=0.032 com o teste de Mann-Whitney), nos doentes que já tomavam estatinas antes do seu enfarte, com medianas de 99.30 mg/dL em oposição a 85.70 mg/dL. 5 dos 9 doentes com história familiar de DCV precoce (55.60%) já tomava estatinas antes do seu enfarte.

DISCUSSÃO

O facto da maioria da amostra ser do sexo masculino está de acordo com a tendência populacional global de maior prevalência no sexo masculino para a idade média obtida, pois só acima dos 75 anos é que a tendência se inverte. (15) O facto de todos os indivíduos serem da mesma raça torna os níveis de Lp(a) comparáveis entre si. (5). Os doentes apresentam, em média, um controlo razoável dos FRCV mais comuns, com um bom controlo glicémico e tensional, mas com valores do IMC e LDL ligeiramente acima do recomendado. A atividade física dos doentes é muito variável. A carga tabágica média superior no grupo com Lp(a) <70 mg/dL pode contribuir para a alta incidência de história pessoal de DCV precoce nesse grupo.

A maioria dos doentes que participou concomitantemente no ensaio FOURIER apresentava níveis elevados de Lp(a), o que nos poderá levar a concluir que a redução pelo fármaco *evolocumab* não será suficiente e, portanto, reforçam a utilidade terapêutica de um fármaco especificamente dirigido para controlo de um FRCV que, como referido, necessita de grandes reduções absolutas para ter impacto clínico. Contudo, desconhecemos os níveis prévios à toma do fármaco e estes poderiam ser bastante elevados.

A incidência de eventos STEMI segue a habitual tendência populacional (15) e, como a distribuição dos níveis de Lp(a) é semelhante nos eventos STEMI e não STEMI, não podemos associar níveis de Lp(a) mais elevados a eventos cardiovasculares mais severos.

A baixa incidência de AVC isquémico e de DAP reportada poderá ser reflexo do menor *Hazard ratio* nos estudos mencionados, sendo o risco significativo, uma vez que não foram reportados quaisquer eventos desta tipologia no grupo com Lp(a) < 70 mg/dL. Já a baixa incidência de estenose aórtica contrasta com o elevado *Hazard ratio* nos estudos mencionados, achado que em parte se pode dever à idade média da amostra baixa em relação à habitual nesta patologia.

A incidência de trombocitopenia nesta pequena amostra deve ser interpretada à luz dos baixos valores de base dos doentes por ela acometidos, sendo que a diminuição máxima não foi muito significativa. Assim, prevê-se um uso limitado na medicação nos doentes com baixos valores basais de plaquetas, apesar de não podermos confirmar se os doentes referidos faziam o fármaco em estudo.

A maioria dos doentes em ambos os grupos apresenta uma boa qualidade de vida, o que poderá em parte ser interpretado à luz de um viés de seleção, dado que os doentes que participam em ensaios clínicos estão à partida mais motivados para a sua saúde, o que pode ser causa e/ou consequência desta maior qualidade de vida.

Apenas se verificaram 4 infeções por SARS-COV2, uma das quais diagnosticada concomitantemente com o EAM, o que poderá também ser tradutor de uma maior

preocupação com saúde nos nossos doentes. Embora se sugira que a infeção por SARS-COV2 tenha um risco acrescido de trombozes arteriais e que esse risco seja particularmente elevado em doentes com níveis de Lp(a) elevados (16), apenas se verificou 1 caso nesse contexto e, portanto, não temos evidência suficiente para confirmar ou negar essa associação.

Embora haja racional para admitir que, num cenário de controlo otimizado de FRCV, o número de eventos no grupo de *screening failures* com Lp(a) <70 mg/dL fosse semelhante ao número de eventos de doentes com Lp(a)>70 mg/dL a tomar o fármaco em estudo, no grupo de estudo tínhamos doentes que certamente teriam sido aleatorizados para receber placebo e, portanto, seria expectável que houvesse eventos cardiovasculares nesses doentes cujo nível de Lp(a) não estaria controlado. Assim, ao não existirem quaisquer eventos no grupo de estudo, podemos inferir que o impacto do controlo dos níveis de Lp(a) num contexto de prevenção secundária seja baixo como indicam os estudos anteriores.

Os resultados por nós obtidos demonstram que a presença de história familiar de DCV precoce poderá funcionar, assim, como um bom preditor de níveis elevados de Lp(a) em doentes com doença cardiovascular estabelecida e identificar doentes onde o benefício da redução da Lp(a) poderá ser maior, dado que esse fator de risco contribuiu, de forma relevante, para DCV nesses doentes, a maioria dos quais já a tomar estatinas, ao invés da presença de história pessoal de DCV precoce que pode ser determinado por múltiplos fatores além dos níveis de Lp(a). Os níveis superiores de Lp(a) nos doentes que já tomavam estatinas previamente ao evento índice poderá, de facto, indicar que estes medicamentos poderão aumentar os níveis de Lp(a).

Tendo em conta a presença estaticamente significativa de história familiar de DCV precoce em doentes com DCV estabelecida e a possível menor evidência da redução de Lp(a) na redução de eventos cardiovasculares num contexto de prevenção secundária face a prevenção primária, sugeridos quer pela nossa análise quer por estudos prévios, poder-se-á justificar o rastreio ativo da presença de história familiar de DCV como forma de dirigir o tratamento das dislipidemias num contexto de prevenção primária, importante dado que as terapêuticas para as dislipidemias mais comuns não modificam este fator de risco, caso a terapêutica em estudo se venha a demonstrar pobre em efeitos secundários como os nossos resultados parecem sugerir e se venha a tornar disponível, eventualmente até num comprimido de associação única com estatinas, de forma a retardar a DCV nestes doentes com risco acrescido. O reduzido efeito do *evolocumab* e os níveis superiores de Lp(a) em doentes a tomar estatinas, aliados a uma maioria dos doentes com história familiar de DCV precoce já a tomar estatinas, sugeridos pelo nosso estudo, reforçam esta necessidade de uma profilaxia primária dirigida, que poderia ter mudado a história natural do evento índice nestes doentes.

As principais limitações do nosso trabalho são o reduzido número da amostra face ao ensaio geral e o reduzido tempo de seguimento dos doentes a fazer medicação em estudo (período máximo de 1 ano). Estas serão ultrapassadas aquando da quebra de ocultação do ensaio, onde efetivamente poderemos comparar a eficácia do fármaco na redução de novos eventos e onde poderemos comprovar as nossas conclusões com uma amostra muito superior e com um tempo de acompanhamento maior. Outra limitação será a possível imprecisão das informações obtidas por questionário, baseadas na memória e perceção dos doentes, e poderia ser ultrapassada se tivéssemos acesso a toda a informação clínica destes.

CONCLUSÃO

O nosso trabalho, ao ser validado com uma amostra de tamanho adequado, virá a confirmar a necessidade de farmacoterapia especificamente dirigida à Lp(a) e poderá contribuir para selecionar os doentes que, no contexto de prevenção primária, terão maior benefício desta terapêutica, uma vez que inicialmente poderá não estar amplamente disponível. Permitirá ainda combater alguma hesitação em iniciar tratamento para dislipidemias, que poderá ter existido nos nossos doentes, reforçando a sua indicação.

Os nossos resultados estão de acordo com o menor risco de níveis de Lp(a) elevados no surgimento de novos eventos cardiovasculares sugerido anteriormente, mas reconhecemos que este será um achado facilmente mutável com uma análise mais robusta.

AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer ao meu orientador, Professor Doutor Pedro Monteiro, pelo voto de confiança depositado e toda a disponibilidade demonstrada.

Agradeço também a toda a equipa da UICC que sempre demonstrou disponibilidade para contribuir para o meu trabalho, mesmo no decurso das suas atividades clínicas.

Por último agradeço à minha família, como pilar fundamental de apoio e valores, e aos meus amigos pelo apoio e momentos partilhados.

REFERÊNCIAS

1. Tsimikas S. A test in context: Lipoprotein (a), Diagnosis, Prognosis, Controversies and Emerging Therapies. *Journal of American College of Cardiology*. 2017 February 14.
2. Gencer B, Kronenberg F, Stroes E, Mach F. Lipoprotein(a): the revenant. *European Heart Journal*. 2017 Feb: p. 1553-1560.
3. Kamstrup PR, Tybjaerg-Hansen A, Steffensen R, Nordestgaard BG. Genetically Elevated Lipoprotein(a) and Increased Risk of Myocardial Infarction. *American Medical Association*. 2009.
4. O'Donoghue M, Morrow DA, Tsimikas SM, Et a. Lipoprotein (a) For Risk Assessment in Patients with Established Coronary Artery Disease. *J Am Coll Cardiol*. 2014 Feb 18.
5. Aniruddh PP, Minxian W, Pirruccello JP, Ellinor PT, Ng K, et a. Lp(a) (Lipoprotein[a]) Concentrations and Incident Atherosclerotic Cardiovascular Disease, New Insights From a Large National Biobank. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2021 January.
6. Kamstrup PR, Tybjaerg-Hansen A, Nordestgaard BG. Elevated lipoprotein(a) and risk of aortic valve stenosis in the general population. *J Am Coll Cardiol*. 2014 Feb.
7. Langsted A, Nordestgaard BG, Kamstrup PR. Elevated Lipoprotein(a) and Risk of Ischemic Stroke. *J Am Coll Cardiol*. 2019 Jul: p. 54-66.
8. Tmoyan N, Ezhov M, Afanasieva O, Klesareva E, Razova O, Kukharchuk V, et al. The association of lipoprotein(a) and apolipoprotein(a) phenotypes with peripheral artery disease. *Ter Arkh*. 2018 Sep: p. 31-36.
9. Willeit P, Ridker P, Nestel P, et a. Baseline and on-statin treatment lipoprotein(a) levels for prediction of cardiovascular events: individual patient-data meta-analysis of statin outcome trials. *Lancet* p. 1311-1320. 2018.
10. Mach F, Baigent C, Catapano A, Koskinas KC, Casula M, Badimon L, et al. ESC Scientific Document Group, 2019 ESC/EAS Guidelines for the management of dyslipidaemias: lipid modification to reduce cardiovascular risk: The Task Force for the management of dyslipidaemias of the European Society of Cardiology (ESC) and (EAS). *European Heart Journal*. 2020 Jan: p. 11-118.
11. Burgess S, Ference BA, Staley JR, Freitag DF, Mason AM, Nielsen SF, et al. Association of LPA Variants With Risk of Coronary Disease and the Implications for Lipoprotein(a)-

Lowering Therapies, A Mendelian Randomization Analysis. JAMA Cardiology Volume 3, Number 7. 2018 July.

12. Khera A, Everett B, Caulfield M, Hantash F, Wohlgemuth J, Ridker P, et al. Lipoprotein(a) concentrations, rosuvastatin therapy, and residual vascular risk: an analysis from the JUPITER Trial (Justification for the Use of Statins in Prevention: an Intervention Trial Evaluating Rosuvastatin). *Circulation*. 2014 Feb: p. 635-42.
13. Novartis Research and Development. Clinical Trial Protocol CTQJ230A12301. ; 2019.
14. Ferreira L, Luís C. Validação da Versão Portuguesa e Determinação do Poder de Resposta e Significância Clínica do Life-Space Assessment (LSA). Escola Superior de Tecnologia de Coimbra. 2017.
15. Ibanez B, James S, Agewall S, Antunes MJ, Bucciarelli-Ducci C, Bueno H, et al. 2017 ESC Guidelines for the management of acute myocardial infarction in patients presenting with ST-segment elevation: The Task Force for the management of acute myocardial infarction in patients presenting with ST-segment elevation of the ESC. *European Heart Journal*. 2018 Jan: p. 119-177.
16. M. Moriarty P, Gorby LK, Stroes ES, Kastelein JP, Davidson M, Tsimikas S. Lipoprotein(a) and Its Potential Association with Thrombosis and Inflammation in COVID-19: a Testable Hypothesis. *Current Atherosclerosis Reports*. 2020 July.