PCSK9 – nowe perspektywy farmakoterapii hipolipemizującej u pacjentów z chorobą wieńcową

Natalia Pauli¹, Monika Rać²

¹ Oddział Kardiologii Wielospecjalistyczny Szpital Wojewódzki, Gorzów Wielkopolski, Polska

² Zakład Biochemii, Katedra Biochemii i Chemii Medycznej, Pomorski Uniwersytet Medyczny, Polska

Farmacja Polska, ISSN 0014-8261 (print); ISSN 2544-8552 (on-line)

PCSK9 – new perspectives for lipid-lowering pharmacotherapy in patients with coronary artery disease

Optimal hypolipemic therapy reduces the risk of cardiovascular death. The drugs used in Poland are: statins, ion exchange resins, cholesterol absorption inhibitors, fibrates and proprotein subtilisin/cexin type 9 converting enzyme inhibitors (PCSK9). The function of PCSK9 is to bind receptors for LDL (LDLR) and reduce their amount in cell membrane, mainly hepatocytes and in circulation. The gene encoding PCSK9 is located on chromosome 1p32.3. The mature transcript consists of 12 exons, 692 amino acids. PCSK9 is synthesised as a zymogen and consists of several domains. The N-domain is a catalytic site inhibitor causing the mature PCSK9 protein to be catalytically neutral. PCSK9 acts through the transcription factor SREBP-2 – a protein that binds steroid response sequences. It is a mechanism of regulation through feedback. The LDLR receptor contains a domain structurally similar to the epithelial growth factor EGF-A, which is essential for recirculating the receptor from the endosome to the cell membrane. PCSK9 binds to this fragment of LDLR. Binding of EGF-A fragment by PCSK9 leads to internalisation of LDLR and its retention in the cell followed by degradation in lysosomes. A slightly different mechanism of action of PCSK9 is also possible. It binds inside the LDLR cell which has been internalized after the LDL particle has been attached. Then such a complex is degraded in the lysosome. The expression of PCSK9 promotes apoB100 secretion in liver cells. Thus, PCSK9 provides homeostasis in intracellular cholesterol transport. The polymorphism of a single nucleotide of *PCSK9* gene associated with overexpression of PCSK9 protein leads to increased LDLR degradation in lysosomes. Decreasing the amount of LDLR results in a decrease in the receptor capture of LDL particles and prolongation of their retention in plasma. In this situation, LDL particles may undergo chemical modification (oxidation, glycosylation) and damage endothelial cells. Inhibition of *PCSK9* gene expression or inhibition of PCSK9 activity is the aim of therapy in the treatment of hypercholesterolemia and its complications. The drugs injected are interfering RNA and monoclonal antibodies. Studies confirm that by reducing the activity of SREBP-2,

Adres do korespondencji

Monika Rac, Zakład Biochemii, Katedra Biochemii i Chemii Medycznej, Pomorski Uniwersytet Medyczny, Al. Powstańców Wielkopolskich 72, 70-111 Szczecin, e-mail: carmon12@gmail.com

Źródła finansowania

Praca finansowana z Funduszu Stymulacji Nauki PUM (projekt nr FSN-130-01/18).

Konflikt interesów:

Nie istnieje konflikt interesów.

Otrzymano: 2020.07.10

Zaakceptowano: 2020.07.23

Opublikowano on-line: 2020.07.31

DOI

10.32383/farmpol/125671

ORCID

Natalia Pauli (ORCID id: 0000-0001-8753-2445)

Monika Rać (ORCID id: 0000-0003-1561-346X)

Copyright

© Polskie Towarzystwo Farmaceutyczne

To jest artykuł o otwartym dostępie, na licencji CC BY NC <https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>

Hipercholesterolemia to podwyższone stężenie cholesterolu we krwi. Hipercholesterolemia pierwotna jest najczęściej uwarunkowana genetycznie i związana z mutacją w genie receptora dla LDL (LDLR), apolipoproteiny B100 (apoB100) lub proproteinowej konwertazy subtylizyny/keksyny typu 9 (ang. *proprotein convertase subtilisin/kexin type 9*, PCSK-9), [1, 2]. Hipercholesterolemia wtórna jest objawem innych chorób, takich jak: otyłość, zespół metaboliczny, cukrzyca, zespół nerzyczowy czy niedoczynność tarczycy. Powstaje ona w efekcie stosowania niektórych leków jak: tiazydy, kortykosteroidy, inhibitory proteaz, progestageny oraz leki β -adrenolityczne [3]. Pułę cholesterolu znajdującego się w organizmie tworzy cholesterol pokarmowy (egzogenny) i pochodzący z syntezy w różnych tkankach (endogenny). Według obowiązujących od 2019 r. wytycznych Europejskiego Towarzystwa Kardiologicznego u osób nieobciążonych lub obciążonych małym ryzykiem sercowo-naczyniowym uznaje się za nieprawidłowe stężenia cholesterolu w osoczu powyżej 190 mg/dL (5,0 mmol/L), a cholesterolu frakcji LDL powyżej 115 mg/dL (3,0 mmol/L), natomiast stężenia triglicerydów (TG) uznaje się za nieprawidłowe powyżej 150 mg/dL (>1,7 mmol/L). Z kolei dla osób z ryzykiem umiarkowanym docelowa wartość frakcji cholesterolu LDL powinna być poniżej 100 mg/dL (2,6 mmol/L), przy wysokim ryzyku <70 mg/dL (<1,8 mmol/L), a dla ryzyka bardzo wysokiego <55 mg/dL (<1,4 mmol/L). Rekomenduje się, aby we frakcjach lipidogramu znalazł się nie tylko cholesterol całkowity, LDL, HDL i TG, ale także nie-HDL-cholesterol (wartość wyliczana poprzez odjęcie od cholesterolu całkowitego stężenia HDL), apolipoproteina B i lipoproteina (a). [4, 5, 6]

Optymalna terapia hipolipemizująca zmniejsza ryzyko zgonu z przyczyn sercowo-naczyniowych. Profilaktyka i leczenie hipercholesterolemii opiera się na modyfikacji stylu życia, tzn. przestrzeganiu diety, utrzymywaniu odpowiedniej aktywności fizycznej i unikaniu czynników ryzyka [7]. Jeśli modyfikacja stylu życia nie jest skuteczna, wprowadza się farmakoterapię. Lekami stosowanymi w Polsce są: statyny, żywice jonowymienne, inhibitory wchłaniania cholesterolu, fibraty i inhibitory PCSK9 [8]. Pierwsza reakcja syntezy cholesterolu z acetylokoenzymu A w wątrobie jest katalizowana przez reduktazę 3-hydroksy-3-metylglutarylo-koenzymu A (HMG-CoA). Enzym ten jest regulowany poprzez hamowanie zwrotne. Statyny są odwracalnymi, kompetycyjnymi inhibitorami reduktazy HMG-CoA i są lekami z wyboru w leczeniu dyslipidemii. Cholesterol jest w wątrobie metabolitem wyjściowym do syntezy lipoprotein i kwasów żółciowych. Cholesterol ma charakter hydrofobowy, dlatego jego transport we krwi jest możliwy tylko

PCSK9 inhibitors are effective in reducing plasma LDL concentration, not only preventing LDLR degradation, but also reducing PCSK9 itself from liver. Thus, they reduce the risk of cardiovascular death or the need for hospitalization due to unstable coronary disease and coronary revascularization. The knowledge of molecular basis of PCSK9 and its inhibitors seems important in clinical practice due to the need of using these drugs in the treatment of lipid disorders, in accordance with the current cardiologic standards.

Keywords: hypercholesterolemia, proprotein subtilisin-type 9 subtilisin-cexin converter, PCSK9 inhibitors.

© Farm Pol, 2020, 76 (6): 312–317

w kompleksach z białkami, w postaci różnych cząstek lipoprotein. Cholesterol frakcji LDL jest internalizowany do komórek poprzez receptor LDLR za pośrednictwem apoB100. Receptor LDLR jest glikoproteiną błonową podlegającą regulacji. Gdy stężenie cholesterolu w komórce jest małe, aby efektywniej wychwytywać go z osocza w postaci cząstek LDL, kompensacyjnie wzrasta ekspresja receptorów LDLR. Gdy stężenie cholesterolu w komórce jest duże, maleje liczba receptorów LDLR w błonie komórkowej. Za tą regulację odpowiada białko PCSK9 [9, 10]. Żywice jonowymienne wiążą w jelicie kwasy żółciowe, a przez to zmniejszają ich transport zwrotny do wątroby. Jest to sygnał do zwiększenia syntezy kolejnych kwasów żółciowych z cholesterolu, poprzez aktywację pierwszego enzymu na szlaku ich syntezy – 7α hydroksylazy cholesterolu. W ten sposób pula cholesterolu w hepatocytach ulega zmniejszeniu, co prowadzi do zwiększenia ekspresji LDLR. Zwiększenie ilości LDLR na powierzchni hepatocytów prowadzi do zwiększenia ilości internalizowanych cząstek LDL z krwi i obniżenia poziomu tej frakcji cholesterolu w osoczu [11]. Wchłanianie cholesterolu z przewodu pokarmowego może być natomiast zahamowane dzięki działaniu leku będącego wybiórczym inhibitorem białka Niemann-Picka (NPC1L1). Białko to jest transportem cholesterolu w rąbku szczoteczkowym jelita cienkiego. Białko NPC1L1 podlega również ekspresji w komórkach wątrobowych, dlatego stosowanie inhibitorów wchłaniania cholesterolu równocześnie zwiększa zwrotnie liczbę receptorów LDLR na powierzchni komórek hepatocytów [12, 13]. Fibraty są aktywatorami receptorów aktywowanych proliferatorami peroksysomów typu alfa (ang. *peroxisome proliferator-activated receptor alpha*, PPAR α). PPAR α działają jako czynniki transkrypcyjne, zwiększając transkrypcję genu lipazy lipoproteinowej, a hamując syntezę apoproteiny CIII. W konsekwencji nasila się lipoliza wewnątrz-oso-czowa i zmniejsza stężenie cząstek LDL [14].

Jak już wspomniano, kluczową rolę w metabolizmie LDLR odgrywa białko PCSK9. Funkcją PCSK9 jest wiązanie LDLR i zmniejszenie liczby receptorów LDLR w błonie komórkowej hepatocytów oraz w układzie krążenia. Ekspresja PCSK9 zachodzi głównie w hepatocytach, ale też w jelicie cienkim, nerkach, nadnerczach, trzustce, płucach, mózgu, śledzionie, grasicy, a u osób z miażdżycą także w komórkach piankowatych. Konwertaza PCSK-9 jest protezą [15]. Gen kodujący PCSK9 jest zlokalizowany na chromosomie 1p32.3. Dojrzały transkrypt składa się z 12 eksonów, z 692 aminokwasów. Enzym syntetyzowany jest w postaci zymogenu i składa się z peptydu sygnałowego (aminokwasy 1–30), domeny N-końcowej (aminokwasy 31–152), domeny katalitycznej (aminokwasy 153–451) oraz domeny C-końcowej bogatej w cysteinę i histydynę (aminokwasy 452–692) [16]. Nowo syntetyzowana cząsteczka białka PCSK9 ulega w siateczce endoplazmatycznej modyfikacji potranslacyjnej, polegającej na autokatalitycznym usunięciu prodomeny końca N przez domenę katalityczną, a następnie ponownemu niekowalencyjnemu wiązaniu z C-domeną lub domeną katalityczną. W ten sposób N-domena staje się inhibitorem miejsca katalitycznego, powodując, że dojrzałe białko PCSK9 jest katalitycznie obojętne [17]. Dojrzałe białko PCSK9 jest następnie transportowane do przestrzeni zewnątrzkomórkowej w procesie egzocytozy [18, 19]. Zsyntetyzowane cząsteczki PCSK9 wiążą receptor LDLR wewnątrz komórek wątroby, ale są także wydzielane do krwi i mogą tam się wiązać z krążącymi LDLR [20]. U osób zdrowych stężenie PCSK9 w osoczu spada w okresie porannym, a rośnie po posiłku [21]. Zależność pomiędzy PCSK9 a LDLR nie jest wynikiem proteolitycznego działania tego enzymu, ponieważ udowodniono, że odmiana PCSK9 nieczynna katalitycznie oddziałuje z LDLR tak samo jak odmiana czynna [22]. PCSK9 działa poprzez SREBP-2 (ang. *sterol regulatory element binding proteins*), białko wiążące sekwencje odpowiedzi na sterole. Jest to mechanizm regulacji poprzez sprzężenie zwrotne. SREBP-2 jest czynnikiem transkrypcyjnym. Cholesterol i jego metabolity powodują zahamowanie aktywacji SREBP-2 poprzez wiązanie go z białkiem SCAP, czyli białkiem aktywującym hydrolizę SREBP (ang. *cleavage activating protein*, SREBP). SCAP ma domenę reagującą na stężenia steroli w przestrzeni siateczki endoplazmatycznej i w błonach komórkowych. Gdy w komórce jest mała pula cholesterolu, niezwiązany ze SCAP, aktywny SREBP-2 indukuje syntezę LDLR i reduktazy HMG-CoA. W ten sposób ilość cholesterolu w komórce wzrasta. Jednocześnie jednak SREBP-2 indukuje syntezę PCSK9. W miejscu promotoryjnym genu PCSK9 znajduje się motyw wiązania do

SREBP-2 [23, 24]. Z kolei receptor LDLR zawiera domenę strukturalnie podobną do nabłonkowego czynnika wzrostu EGF-A, która jest niezbędna dla recyrkulacji receptora z endosomu do błony komórkowej. PCSK9 wiąże się z tym fragmentem LDLR. Związanie fragmentu EGF-A przez PCSK9 prowadzi do internalizacji LDLR i jego zatrzymania w komórce, a następnie degradacji w lizosomach. Możliwy jest także nieco odmienny mechanizm działania PCSK9. Wiąże on wewnątrz komórki LDLR, który uległ internalizacji po uprzednim przyłączeniu cząsteczki LDL. Następnie taki kompleks jest degradowany w lizosomie. Ekspresja PCSK9 promuje wydzielanie apoB100 w komórkach wątroby. W ten sposób PCSK9 zapewnia homeostazę w dokomórkowym transporcie cholesterolu [25, 26, 27]. Molekularny mechanizm działania PCSK9, jego inhibitorów oraz statyn przedstawiono na **rycinie 1**.

Polimorfizm pojedynczego nukleotydu genu PCSK9 związany z nadekspresją białka PCSK9 prowadzi do zwiększenia degradacji LDLR w lizosomach. Zmniejszenie ilości LDLR powoduje zmniejszenie wychwyty cząstek LDL drogą receptorową i wydłużenie ich retencji w osoczu [18, 28, 29]. W tej sytuacji cząstki LDL mogą ulegać chemicznej modyfikacji (utlenianiu, glikozylacji) i uszkadzać komórki śródbłonna, a wychwytywane przez mało specyficzne receptory makrofagów, w konsekwencji prowadzą do zmian miażdżycowych i wzrostu ryzyka sercowo-naczyniowego [30]. Z drugiej strony, w niektórych populacjach etnicznych opisywano mutacje genu PCSK9 powodujące utratę funkcji białka, ale związane z obniżonym poziomem LDL w osoczu i znaczącym zmniejszeniem ryzyka sercowo-naczyniowego [28]. Badania wykazały także, że u ponad 30% osób z normolipidemią na czczo, cząsteczki PCSK9 w osoczu wiążą się z cząstkami LDL poprzez białko apoB100. Wiązanie LDL przez PCSK9 hamuje zdolność jego wiązania do LDLR na powierzchni komórki. PCSK9 nie wiąże się natomiast z cząstką VLDL, ponieważ apoB100 jest w niej zasłonięte przez apoCIII [31]. Możliwe zatem, że PCSK9 odgrywa ważną rolę w promowaniu transportu lipidów do tkanek obwodowych poprzez ograniczenie ich wychwyty przez wątrobę w postaci lipoprotein zawierających apoB. Wykazano również [32, 33], że stan zapalny powoduje wzrost ekspresji PCSK9 w wątrobie, a w następstwie spadek białka LDLR w wątrobie i wzrost stężenia LDL w osoczu. Potwierdza to związek procesów zapalnych z nasileniem zmian miażdżycowych. Z nieopublikowanych jeszcze wyników badań własnych wynika z kolei, że stężenie PCSK9 w osoczu ujemnie koreluje z parametrami rozkurczowymi badanymi w echokardiografii, pełniąc niejako funkcję ochronną przed

Regulacja transportu lipidów do komórki odbywa się poprzez łączenie się białka PCSK9 z receptorem LDLR lub cząstką LDL

Po połączeniu LDLR z LDL następuje internalizacja do komórki, ale receptor może być ponownie wykorzystany.

Połączenie LDLR z PCSK9 prowadzi do degradacji receptora.

Aktywność LDLR wzrasta po zastosowaniu inhibitora PCSK9

Ekspresja PCSK9, LDLR i reduktazy HMG-CoA znajduje się pod kontrolą SREBP-2

Statyny hamują reduktazę HMG-CoA a aktywują SREBP-2

Rycina 1.

Molekularny mechanizm działania PCSK9, jego inhibitorów oraz statyn.

Figure 1.

Molecular mechanism of PCSK9 activity, its inhibitors and statins.

przerostem lewej komory. Czasami nowo odkryte białko, poza pierwotnie opisaną funkcją, zaangażowane jest w szereg innych zjawisk i wykazuje działanie pleiotropowe. Może to dotyczyć również PCSK9.

Zahamowanie aktywności PCSK9 w hepatocycie zwiększa aktywność receptora LDLR, poprzez zwiększenie jego ilości na powierzchni komórki. Zahamowanie ekspresji genu *PCSK9* lub zahamowanie aktywności białka PCSK9 jest celem terapii w leczeniu hipercholesterolemii i jej powikłań. Eksperymentalny lek *inklisiran*, podawany w iniekcjach, jest małą cząsteczką kwasu rybonukleinowego (siRNA) interferującą z matrycowym RNA dla genu *PCSK9*. Jego działanie polega na blokowaniu transkrypcji genu *PCSK9*. Lek ten już w ciągu 90 dni skutecznie zmniejsza stężenie w osoczu cholesterolu frakcji LDL o 56% [34,

35]. Hamowanie PCSK9 przez siRNA blokuje funkcję czynnika transkrypcyjnego dla cytokin NF- κ B (ang. *nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells*) i ma działanie przeciwzapalne [36]. Do stosowanych inhibitorów PCSK9 należą podawane w iniekcji podskórnej przeciwciała monoklonalne wiążące PCSK9, takie jak *alirokumab* i *ewolokumab*. Ich połączenie z białkiem PCSK9 uniemożliwia łączenie z LDLR. Zapobiega więc degradacji LDLR i zwiększa ich ilość w błonie komórkowej hepatocytu. Wówczas wychwyt cząstek LDL przez receptor LDLR zmniejsza stężenie cholesterolu tej frakcji w osoczu [37, 38] Ponieważ SREBP-2 jest również aktywowany przez statyny, mogą one w tym mechanizmie indukować syntezę LDLR. Jednoczesne osłabienie funkcji PCSK9 w przypadku jego inhibitorów, zwiększa także hipolipemizujący wpływ statyn [39,

40]. Inhibitory PCSK9 w połączeniu ze statynami zmniejszają stężenie w osoczu cholesterolu frakcji LDL o 60% [41]. Leki te są skuteczne w redukcji stężenia LDL także u osób opornych na działanie statyn [42]. Badania potwierdzają, że zmniejszając aktywność SREBP-2, inhibitory PCSK9 są skuteczne w redukcji stężenia LDL w osoczu, nie tylko zapobiegając degradacji LDLR, ale też zmniejszając wydzielanie samego PCSK9 z wątroby. W ten sposób zmniejszają ryzyko zgonu z przyczyn sercowo-naczyniowych lub konieczność hospitalizacji z powodu niestabilnej choroby wieńcowej i rewaskularyzacji wieńcowej [43]. Prowadzone wciąż badania naukowe wskazują, że nową strategią leczenia hipercholesterolemii mogą stać się małe peptydy imitujące domenę EGF-A na LDLR, wiążącą PCSK9. Wiązanie PCSK9 z małymi peptydami ma hamować degradację LDLR i zwiększyć wchłanianie cząstek LDL [44]. Inhibitory PCSK9 są dobrze tolerowane. Powodują one istotnie mniej objawów ze strony mięśni poprzecznie prążkowanych niż statyny, tj. u ok. 1/3 pacjentów. Do najczęstszych działań niepożądanych w przypadku stosowania inhibitorów PCSK9 należą: powikłania skórne po podskórnym podawaniu przeciwciał monoklonalnych, bóle stawów, pleców i głowy, zapalenia błony śluzowej części nosowej gardła, infekcje górnych dróg oddechowych, objawy grypopodobne, wzrost stężenia aminotransferazy alaninowej (AlAT) lub asparaginianowej (AspAT). Jednak ich częstość nie przekracza 10% pacjentów stosujących tę terapię [45, 46, 47]. Z pewnością do wad należy wysoki koszt terapii inhibitorami PCSK9.

Wytyczne European Society of Cardiology (ESC) i European Atherosclerosis Society (EAS) dotyczące leczenia hipercholesterolemii zalecają stosowanie trzech kroków:

1. ustalić docelowe stężenie cholesterolu frakcji LDL i zastosować maksymalną tolerowaną dawkę statyny;
2. jeśli nie osiągnięto docelowego stężenia LDL należy zastosować inhibitory wchłaniania cholesterolu;
3. w przypadku braku efektów należy dodać inhibitor PCSK9 [48].

Terapia skojarzona polega zatem na:

- połączeniu statyny, inhibitora wchłaniania cholesterolu i inhibitora PCSK9 u pacjentów nieosiągających celu leczenia za pomocą statyny i inhibitora wchłaniania cholesterolu, lub
- połączeniu statyny i inhibitora PCSK9 u pacjentów nietolerujących leczenia inhibitorem wchłaniania cholesterolu, lub
- połączeniu inhibitora wchłaniania cholesterolu i inhibitora PCSK9 u pacjentów nietolerujących stosowania statyn [49, 50].

Nie należy zapominać, że skutkiem długotrwałej terapii statynami jest obniżenie poziomu cholesterolu w komórce, a w konsekwencji zwiększenie ekspresji reduktazy HMG-CoA i białka NPC1L1 w nabłonku jelita cienkiego, a także białka PCSK9. Jest to tzw. „efekt ucieczki”, którego konsekwencją jest ponowny wzrost stężenia LDL, mimo jego pierwotnego obniżenia dzięki zastosowaniu terapii hipolipemizującej [51].

Hipercholesterolemia stanowi ryzyko powstania wielu powikłań ze strony układu sercowo-naczyniowego. Farmakoterapia inhibitorami PCSK9 stanowi alternatywę dla pacjentów, u których standardowe schematy leczenia zawodzą lub też terapia statynami jest niewskazana ze względu na poważne działania niepożądane. Znajomość molekularnych podstaw mechanizmu działania PCSK9 i jego inhibitorów wydaje się ważna w praktyce klinicznej, z uwagi na konieczność stosowania tych leków w terapii zaburzeń lipidowych u pacjentów kardiologicznych, zgodnie z obowiązującymi standardami. Leki takie jak *alirokumab* i *ewolokumab*, będące w pełni ludzkimi przeciwciałami monoklonalnymi, zostały już zarejestrowane w leczeniu hipercholesterolemii, mieszanej dyslipidemii oraz homozygotycznej hipercholesterolemii rodzinnej.

Piśmiennictwo

1. Paththinige CS, Sirisena ND, Dissanayake V. Genetic determinants of inherited susceptibility to hypercholesterolemia – a comprehensive literature review. *Lipids Health Dis.* 2017; 16(1): 103. doi: 10.1186/s12944-017-0488-4.
2. Łukaszewski W, Kręgielska-Narożna M. Diagnostyka i leczenie zaburzeń lipidowych według wytycznych Europejskiego Towarzystwa Kardiologicznego (ESC) i Europejskiego Towarzystwa Miażdżowego (EAS) z 2016 roku. *Forum Zaburzeń Metabolicznych.* 2018; 9(1): 23–35.
3. Arent-Piotrowska K. Hipercholesterolemia – zmora dzisiejszych czasów. Co zrobić, by zapobiec jej konsekwencjom w świetle aktualnych zaleceń kardiologicznych. *Probl Hig Epidemiol.* 2018; 99(2): 108–113.
4. Filipiak K. Nowe europejskie wytyczne dotyczące dyslipidemii 2019 – krytyczne spojrzenie eksperta. Subiektywne wskazanie dziesięciu najważniejszych zmian. *Lekarz POZ.* 2019; 5: 357–365.
5. Zdrojewski T, Jankowski P, Bandosz P, Bartuś S, Chwojnicki K, Drygas W, et al. Nowa wersja systemu oceny ryzyka sercowo-naczyniowego i tablic SCORE dla populacji Polski. *Kardiologia Polska.* 2015; 73(10): 958–961. doi: 10.5603/KP.2015.0182.
6. Bachorski W, Mickiewicz A, Gruchała M, Fijałkowski M. Diagnostyka zaburzeń przemiany lipidów w praktyce lekarskiej. *Lipid disorder diagnostics in the medical practice.* *Choroby Serca i Naczyni.* 2017; 14(5): 258–262.
7. Cybulska B, Kłosiewicz-Latoszek L. Prewencja chorób sercowo-naczyniowych – postępy 2015. *Med Prakt.* 2016; 6: 23–33.
8. Woźniakowska-Kapłon B, Filipiak KJ, Mamcarz A, Barylski M, Cybulska B, Dąbrowski R, et al. Aktualne problemy terapii dyslipidemii w Polsce – II Deklaracja Sopocka. Stanowisko grupy ekspertów wsparte przez Sekcję Farmakoterapii Sercowo-Naczyniowej Polskiego Towarzystwa Kardiologicznego. *Kardiologia Polska.* 2014; 72(9): 847–853.
9. Ferrier DR. D. Chlubek red. *Lippincott Illustrated Reviews: Biochemia.* 7 wyd. Wrocław, Polska: Edra Urban & Partner; 2018: 300.
10. Woźniakowska-Kapłon B. Terapia hipercholesterolemii w schorzeniach układu sercowo-naczyniowego – jaki cel, jaka statyna, jaka dawka? *Folia Kardiologia.* 2014; 9: 55–66.
11. Filipiak KJ, Sokółski M. Leki hipolipemizujące – mechanizmy działania, dobór, kojarzenie i dawkowanie *Choroby Serca i Naczyni.* 2017; 14(5): 283–287.

12. Altmann SW, Davis HR Jr, Zhu LJ, Yao X, Hoos LM, Tetzloff G, et al.: Niemann-Pick C1 Like 1 protein is critical for intestinal cholesterol absorption. *Science*. 2004; 303: 1201–1204. doi: 10.1126/science.1093131.
13. Sweeney ME, Johnson RR. Ezetimibe: an update on the mechanism of action, pharmacokinetics and recent clinical trials. *Expert Opin Drug Metabol Toxicol*. 2007; 3: 441–450. doi: 10.1517/17425255.3.3.441.
14. Hojka A, Rapak A. Receptory aktywowane proliferatorami peroksysomów (PPAR). Właściwości antyproliferacyjne Peroxisome proliferator-activated receptors (PPAR). Antiproliferative properties. *Postepy Hig Med Dosw* (online). 2011; 65: 404–413 doi: 10.5604/17322693.949463.
15. Seidah NG, Benjannet S, Wickham L, Marcinkiewicz J, Jasmin SB, Stifani S, et al. The secretory proprotein convertase neural apoptosis-regulated convertase 1 (NARC-1): liver regeneration and neuronal differentiation. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2003; 100: 928–933. doi: 10.1073/pnas.0335507100.
16. Lambert G, Charlton F, Rye KA, Piper DE. Molecular basis of PCSK9 function. *Atherosclerosis*. 2009 Mar; 203: 1–7. doi: 10.1016/j.atherosclerosis.2008.06.010.
17. Cunningham D, Danley DE, Geoghegan KF, Griffor MC, Hawkins JL, Subashi TA, et al. Structural and biophysical studies of PCSK9 and its mutants linked to familial hypercholesterolemia. *Nat Struct Mol Biol*. 2007 May; 14: 413–419. doi: 10.1038/nsmb1235.
18. Li J, Tumanut C, Gavigan JA, Huang WJ, Hampton EN, Tumanut R, et al. Secreted PCSK9 promotes LDL receptor degradation independently of proteolytic activity. *Biochem J*. 2007; 406: 203–207. doi: 10.1042/BJ20070664.
19. McNutt MC, Lagace TA, Horton JD. Catalytic activity is not required for secreted PCSK9 to reduce low density lipoprotein receptors in HepG2 cells. *J Biol Chem*. 2007; 282: 20799–20803. doi: 10.1074/jbc.C700095200.
20. Lagace TA. PCSK9 and LDLR degradation: regulatory mechanisms in circulation and in cells. *Curr Opin Lipidol*. 2014; 25: 387–393. doi: 10.1097/MOL.0000000000000114.
21. Browning JD, Horton JD. Fasting reduces plasma proprotein convertase, subtilisin/kexin type 9 and cholesterol biosynthesis in humans. *J Lipid Res*. 2010; 51: 3359–3363. doi: 10.1194/jlr.P009860.
22. Zhang DW, Lagace TA, Garuti R et al. Binding of proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 to epidermal growth factor-like repeat A of low density lipoprotein receptor decreases receptor recycling and increases degradation. *J Biol Chem*. 2007; 282: 18602–18612. doi: 10.1074/jbc.M702027200.
23. Jeong HJ, Lee HS, Kim KS, Kim YK, Yoon D, Wook S, et al. Sterol-dependent regulation of proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 expression by sterol-regulatory element binding protein-2. *J Lipid Res*. 2008; 49: 399–409. doi: 10.1194/jlr.M700443-JLR200.
24. Maxwell KN, Soccio RE, Duncan EM, Sehayek E, Breslow JL. Novel putative SREBP and LXR target genes identified by microarray analysis in liver of cholesterol-fed mice. *J Lipid Res*. 2003; 44: 2109–2119. doi: 10.1194/jlr.M300203-JLR200.
25. Momtazi AA, Banach M, Pirro M, Katsiki N, Sahebkar A. Regulation of PCSK9 by nutraceuticals. *Pharmacol Res*. 2017; 120: 157–169. doi: 10.1016/j.phrs.2017.03.023.
26. Sun H, Samarghandi A, Zhang N, Yao Z, Xiong M, Teng BB. Proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 interacts with apolipoprotein B and prevents its intracellular degradation, irrespective of the low-density lipoprotein receptor. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2012; 32: 1585–1595. doi: 10.1161/ATVBAHA.112.250043.
27. Li H, Dong B, Park SW, Lee HS, Chen W, Liu J. Hepatocyte nuclear factor 1α plays a critical role in PCSK9 gene transcription and regulation by the natural hypocholesterolemic compound berberine. *J Biol Chem* 2009; 284: 28885–28895. doi: 10.1074/jbc.M109.052407.
28. Cohen JC, Boerwinkle E, Mosley TH, Hobbs HH. Sequence Variations in PCSK9, low LDL, and protection against coronary heart disease. *N Engl J Med*. 2006; 354(12): 1264–1272. doi: 10.1056/NEJMoa054013.
29. Horton JD, Cohen JC, Hobbs HH. PCSK9: a convertase that coordinates LDL catabolism. *J Lipid Res*. 2009; 50: 172–177. doi: 10.1194/jlr.R800091-JLR200.
30. Bartoszewicz M, Rać M. Czynniki ryzyka choroby wieńcowej - diagnostyka, leczenie i prewencja. *Hygeia*. 2018; 53(3): 253–261.
31. Kosenko T, Golder M, Leblond G, Wenig W, Lagace TA. Low density lipoprotein binds to proprotein convertase subtilisin/kexin type-9 (PCSK9) in human plasma and inhibits PCSK9-mediated low density lipoprotein receptor degradation. *J Biol Chem*. 2013; 288: 8279–8288. doi: 10.1074/jbc.M112.421370.
32. Feingold KR, Moser AH, Shigenaga JK, Patzek SM, Grunfeld C. Inflammation stimulates the expression of PCSK9. *Biochem Biophys Res Comm* 2008; 374: 341–344. doi: 10.1016/j.bbrc.2008.07.023.
33. Liu X, Suo R, Chan CZY, Liu T, Tse G, Li G. The Immune Functions of PCSK9: Local and Systemic Perspectives. *J Cell Physiol*. 2019; 234(11): 19180–19188. doi: 10.1002/jcp.28612.
34. German CA, Shapiro MD. Small interfering RNA therapeutic inclisiran: a new approach to targeting PCSK9. *BioDrugs*. 2020; 34(1): 1–9. doi: 10.1007/s40259-019-00399-6.
35. Rechciński T, Kasprzak JD. Not only ISCHEMIA — report from AHA Scientific Sessions Philadelphia, 16–18 November, 2019. *Folia Cardiologica*. 2020; 15(1): 84–87.
36. Tang Z, Jiang L, Peng J, Ren Z, Wei D, Wu C, et al. PCSK9 siRNA suppresses the inflammatory response induced by oxLDL through inhibition of NF-κB activation in THP-1-derived macrophages. *Int J Mol Med*. 2012; 30: 931–938. doi: 10.3892/ijmm.2012.1072.
37. Sikora M, Kopec B, Banach B, Pawlik A. Obecne i nowe możliwości terapii przeciwplatekowej. Current and new possibilities of anti-platelet therapy. *Farm Wspólcz*. 2018; 11(2): 89–93.
38. Zhang XL, Zhu QQ, Zhu L, Chen QH, Li GN, Xie J, et al. Safety and efficacy of anti-PCSK9 antibodies: a meta-analysis of 25 randomized, controlled trials. *BMC Med*. 2015; 13: 123. doi: 10.1186/s12916-015-0358-8.
39. Careskey HE, Davis RA, Alborn WE, Troutt JS, Cao G, Konrad RJ, et al. Atorvastatin increases human serum levels of proprotein convertase subtilisin/kexin type 9. *J Lipid Res* 2008; 49: 394–398. doi: 10.1194/jlr.M700437-JLR200.
40. Rashid S, Curtis DE, Garuti R, Anderson NN, Bashmakov Y, Ho YK, et al. Decreased plasma cholesterol and hypersensitivity to statins in mice lacking Pcsk9. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2005; 102: 5374–5379. doi: 10.1073/pnas.0501652102.
41. Sabatine MS, Giugliano RP, Keech AC, Hanarpour N, Wiviott SD, Murphy SA, et al. FOURIER Steering Committee and Investigators. Evolocumab and clinical outcomes in patients with cardiovascular disease. *N Engl J Med*. 2017; 376(18): 1713–1722. doi: 10.1056/NEJMoa1615664.
42. Roth EM, Moriarty PM, Bergeron J, Langslet G, Manvelian G, Zhao J, et al. ODYSSEY CHOICE I investigators. A Phase III Randomized Trial Evaluating Alirocumab 300 Mg Every 4 Weeks as Monotherapy or Add-On to Statin: ODYSSEY CHOICE I. *Atherosclerosis*. 2016; 254: 254–262. doi: 10.1016/j.atherosclerosis.2016.08.043.
43. Razzouk L, Farkouh ME. Correction: Imaging outcomes in cardiovascular clinical trials. *Nature Reviews Cardiology*. 2009; 6(11): 672–672. doi: 10.1038/nrcardio.2009.186.
44. Zhang Y, Eigenbrot C, Zhou L, Shia S, Li W, Quan C, et al. Identification of a small peptide that inhibits PCSK9 protein binding to the low density lipoprotein receptor. *J Biol Chem*. 2014; 289(2): 942–955. doi: 10.1074/jbc.M113.514067.
45. Wołowicz Ł, Banach J, Rogowicz D, Grochowska M, Zukow W, Sinkiewicz W. Inhibitory proproteinowej konwertazy subtilizyny/keksyny 9 nowym, przełomowym narzędziem terapeutycznym w leczeniu dyslipidemii - Proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 inhibitors are a new, groundbreaking therapeutic tool in the treatment of dyslipidemia. *Journal of Education, Health and Sport*. 2016; 6(7): 525–539.
46. Moriarty PM, Jacobson TA, Bruckert E, Thompson PD, Guyton JR, Baccara-Dinet MT, et al. Efficacy and safety of alirocumab, a monoclonal antibody to PCSK9, in statin-intolerant patients: design and rationale of ODYSSEY ALTERNATIVE, a randomized phase 3 trial. *J Clin Lipidol*. 2014; 8: 554–561. doi: 10.1016/j.jacl.2014.09.007.
47. Janikowski K, Lelonek M. Inhibitory PCSK9 – nowa terapia hipolipemizująca PCSK9 inhibitors – a new lipid-lowering therapy. *Folia Cardiologica* 2015; 10(3): 178–182.
48. Catapano AL, Graham I, De Backer G, Wiklund O, Chapman MJ, Drexel H, et al. 2016 ESC/EAS Guidelines for the Management of Dyslipidaemias: The Task Force for the Management of Dyslipidaemias of the European Society of Cardiology (ESC) and European Atherosclerosis Society (EAS) Developed with the special contribution of the European Association for Cardiovascular Prevention & Rehabilitation (EACPR). *Atherosclerosis*. 2016; 253: 281–344. doi: 10.1016/j.atherosclerosis.2016.08.018.
49. Burchardt P. Wpływ terapii skojarzonej opartej na ezetimibie i statynie na metabolizm cholesterolu w świetle aktualnej wiedzy medycznej. *Choroby Serca i Naczyni*. 2018; 15(3): 135–145.
50. Barylski M. W parze skuteczniej i bezpieczniej, czyli kiedy ezetimib staje się nieocenionym partnerem w terapii dyslipidemii. *Choroby Serca i Naczyni* 2018; 15(1): 1–9.
51. Oi K, Komori H. Escape phenomenon with pravastatin during long-term treatment of patients with hyperlipidemia associated with diabetes mellitus. *Curr Therapeutic Res*. 1998; 59(2): 130–138. doi: 10.1016/s0011-393x(98)85009-1.