

Proprotein konvertaz subtilisin/keksin tip 9 (PCSK9) ve inhibitörleri

Proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 (PCSK9) and inhibitors

Dr. Ahmet Avcı, Dr. Kenan Demir, Dr. Bülent Behlül Altunkeser

Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi, Kardiyoloji Anabilim Dalı, Konya

Özet- Hiperkolesterolemi ateroskleroz için önemli bir risk faktörüdür. Düşük dansiteli lipoprotein kolesterolü (LDL-K) düşüren ilaçlar, kardiyovasküler morbidite ve mortaliteyi azaltırlar. Bununla birlikte, günümüzde statinler ile birçok hastada tedavi hedeflerine ulaşılamamaktadır. Bu sebeple, riskli ya da statin kullanamayan hastalarda yeni ilaçlara ihtiyaç vardır. Proprotein konvertaz subtilisin/keksin tip 9 (PCSK9), kolesterol metabolizmasının düzenlenmesinde önemli rol oynayan yeni bir ajandır. LDL reseptör parçalanmasını artırır ve kolesterol metabolizması ile kolesterolün naklini düzenler. Biz bu derlememizde, monoklonal antikolar, küçük müdahale edici RNA'lar ve diğer küçük inhibitör moleküller gibi PCSK9'u hedefleyerek düşük molekül ağırlıklı kolesterol seviyelerini azaltan, yeni gelişen tedavi yaklaşımlarını anlatmaya çalıştık.

Summary- Hypercholesterolemia is a major risk factor for atherosclerosis. Low-density lipoprotein cholesterol (LDL-C) lowering drugs reduce cardiovascular morbidity and mortality. However, many individuals treated with statins do not achieve their target levels of LDL-C. So, there is great need for new drugs to reduce cholesterol in those patients who have not achieved target levels with statins as well as those who are statin intolerant. Proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 (PCSK9) is a novel agent, which plays an important role in the regulation of cholesterol metabolism. It increases degradation of the low-density lipoprotein receptor, modulates cholesterol metabolism, and transport. This review will address new therapeutic strategies targeting PCSK9, including monoclonal antibodies, small interfering RNAs, and other small molecule inhibitors.

Dislipidemiler, özellikle hiperkolesterolemi, kardiyovasküler (KV) hastalıklar için önemli bir risk faktörüdür. Hiperkolesterolemi, düşük yoğunluklu lipoprotein kolesterol (LDL-K) seviyelerinin yüksekliği ile karakterizedir.^[1] Günümüzde hiperkolesteroleminin altın standart tedavisi, LDL-K ve KV riski azaltmada etkili olduğu kanıtlanmış statin tedavisidir.^[2] Bununla birlikte statin kullanan hastalarda hedef LDL-K düzeylerine ulaşma oranlarının %53'lerde olduğu ve statin kullanan hastaların %10-20'sinin de ilacı tolere edemediği bilinmektedir. Ayrıca LDL-K'yı düşüren ezetimib, niasin ve benzeri diğer ilaçlar da LDL-K hedeflerine ulaşmada ve KV olayları azaltmada ek fayda sağlamamaktadır.^[3] Dolayısıyla ailevi hiperlipidemi (AH) gibi yüksek ve çok yüksek risk altında olan hastaların önemli bir kısmında, tek başına statinle veya diğer lipit düşürücü ilaçlarla birlikte kullanım ile şu anda elde edilen LDL-K seviyelerinden daha düşük değerlere ihtiyaç vardır ve riski yüksek hastalar için yeni tedavi arayışları sürmektedir.

AH hastalarının genetik incelemelerinde başlıca iki defekt biliniyordu; LDL reseptör (LDL-R) alellerinde mutasyon (1700'den fazla mutasyon biliniyor) ve apolipoprotein (Apo) B'de mutasyon. Çok az oranda da, otozomal resesif hiperkolesterolemi adaptör proteinde mutasyonun AH'ye neden olabileceği bildirilmişti.^[4] Abifadel ve arkadaşları prematür kalp hastalığı olan otozomal dominant hiperkolesterolemi- li iki aile bildirdi. Buradaki kişilerin genetik incelemelerinde LDL-R ya da Apo B'de mutasyon ve defekt bulunamadı. Defekt proprotein konvertaz subtilisin/keksin tip 9 (PCSK9) bölgesinde saptandı.^[4] Zhao ve arkadaşları 2006 yılında, kanında ölçülebilir PCSK9 bulunmayan iki sağlıklı insan bildirdi. LDL-K değerleri yaklaşık 15 mg/dL civarındaydı. Bu tespitlerle birlikte PCSK9 ile LDL-K seviyeleri arasındaki ilişki araştırılmaya başlanmış oldu.^[5]

PCSK9, proprotein dönüştürücülerin ailesine ait olan 692 amino asitten oluşan bir glikoproteindir.^[6] Bir

tür serin proteazdır. İlk olarak birincil serebellar nöronlardaki apoptoz uyarımı sonrasında düzenlenmiş bir protein olarak keşfedilmiştir. Bu sebeple “neural apoptosis regulated convertase 1 (NARC-1)” olarak adlandırılmıştır.^[7] Sadece karaciğerde değil, aynı zamanda ince bağırsak, böbrek ve merkezi sinir sistemi içinde de açığa çıkar.^[2] PCSK9 geni birinci kromozomda yerleşir ve sinyal peptidi (amino asitler 1-30), pro-etki alanı (amino asitler 31-152), katalitik etki alanı, açığa kalan bir menteşe bölgesi ile sistein ve histidinden zengin C-terminal sahası ile yapılandırılmış çözünür bir zimojen (proPCSK9) olarak sentezlenir (Şekil 1).^[2]

Genetik çalışmalar, PCSK9’un fonksiyon kazanmasına sebep olan mutasyonların hiperkolesterolemiye yol açtığını, fonksiyon kaybına sebep olan mutasyonların ise düşük LDL-K seviyeleri ve azalmış KV hastalık riski ile ilişkili olduğunu gösterdi.^[8] Yapılan biyolojik araştırmalarla da PCSK9 kaynaklı LDL-R parçalanmasını kapsayan eşzamanlı mekanizmalar aydınlatıldı. Buna göre, PCSK9 salgılandıktan sonra karaciğer hücre sathındaki LDL-R’ye bağlanır ve onları parçalar. Hücre yüzeyine dönemeyen LDL-R nedeniyle LDL-K’nın karaciğer hücresine girmesi azalır ve kanda LDL-K düzeyi artar (Şekil 2).^[9]

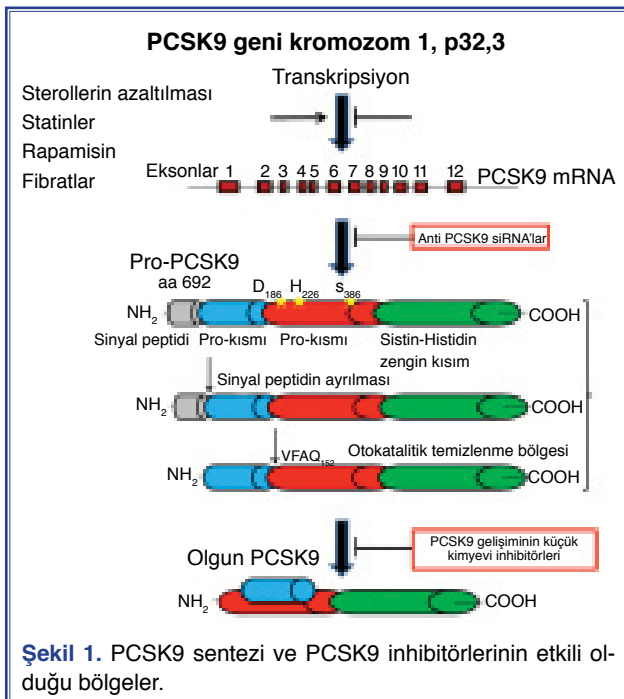
İlginç biçimde, statinler PCSK9 düzeylerini ve PCSK9’un mRNA’sını artırırlar.^[10] PCSK9’un artması LDL-R parçalanmasını artırır ve bu da statinle-

rin etkisini sınırlar. Böylelikle statin dozu artırılmasıyla beklenen LDL-K düşüklükleri elde edilemez hale gelir (“Counter-regulation”, %6’lar kuralı).^[11]

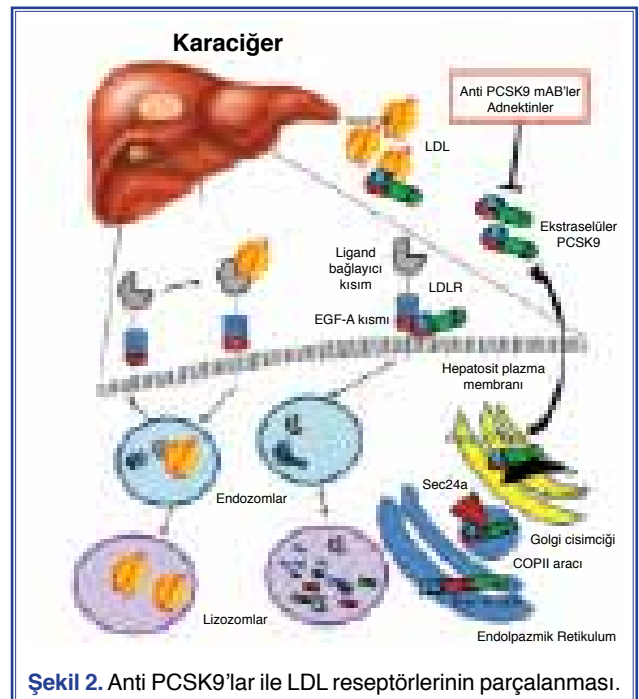
Farklı statinlerin PCSK9 düzeylerine etkinlik açısından farklılar taşıyıp taşımadığı

araştırılan bir konudur. Nozue ve arkadaşları ilk kez iki farklı statin (pitavastatin ve pravastatin) arasında bir fark olup olmadığını araştırdılar. Statin almayan 164 koroner arter hastasına rastgele günde 4 mg Pitavastatin veya 20 mg Pravastatin verdiler. Statin tedavi öncesi ve tedavinin 8. ayında, serum PCSK9 seviyelerine baktılar. Toplam PCSK9, pitavastatin grubunda 192 ± 65 ’ten 249 ± 84 ng/mL’ye (%37, $p < 0.0001$), pravastatin grubunda 192 ± 67 ng/mL’den 249 ± 81 ng/mL’ye (%39, $p < 0.0001$) geriledi. Sonuç olarak iki statinin PCSK9’u yükseltmesi açısından aralarında bir fark bulunamadı.^[12]

Farelerde PCSK9’un genetik silinmesinin yetişkin



Şekil 1. PCSK9 sentezi ve PCSK9 inhibitörlerinin etkili olduğu bölgeler.



Şekil 2. Anti PCSK9'lar ile LDL reseptörlerinin parçalanması.

organizmanın gelişmesine ve hayatına engel olmadığına dair tecrübe ve PCSK9 genin tam fonksiyon kaybı bulunan iki sağlıklı kadının tespit edilmesiyle, dolaşımdaki bu proteinin bulunmamasının hayatla bağdaştığı ispat edilmiş oldu.^[5,13,14] Bunlara dayanarak hiperkolesterolemi tedavisinde farklı stratejiler kullanılarak PCSK9 inhibisyonu gündeme geldi ve bu konuda araştırmalar yapılmaya başlandı. Anti-PCSK9 monoklonal antikoları, anti-PCSK9 siRNA'lar ve PCSK9 oluşmasını azaltan küçük kimyevi maddeler ile araştırmalar devam etmektedir. Hala klinik geliştirme safhasında olmasına rağmen Anti-PCSK9 monoklonal antikolar (mAb) ile LDL-K seviyelerinin %70 azalması, uzun bir süre sonra kolesterol seviyelerini düşürmek için tedavide yeni bir yol açmış oldu.^[2] Şu anda Anti-PCSK9 mAb'leri faz III klinik çalışmalarda değerlendirilmektedirler. İlk olarak ortaya çıkan AMG-145 ve REGN-727, tam olarak birer insan mAb (immunglobulin G2)'leridir. Sadece insan PCSK9'una bağlanırlar ve LDL-R'nin parçalanmasına engel olurlar.^[15]

PCSK9'u azaltan ilaçlarla yapılan çalışmalar

Henüz kısa bir geçmişe sahip olsalar da bu yeni ajanlarla çok hızlı bir şekilde klinik araştırmalar devam etmektedir.

Faz 1 çalışmaları

Dias ve arkadaşlarının yaptığı asendan doz çalışması ilk insan çalışmasıdır. Sağlıklı gönüllüler ile statin tedavisi altında olan hiperkolesterolemik hastalarda AMG-145'in güvenilirliği, tolerabilitesi ve etkileri değerlendirildi. Hastalar arasında heterozigot AH olan hastalar da mevcuttu. LDL-K homojen direkt test ile ölçüldü. İlaç tek doz veya farklı dozlarda birkaç kez, subkutan ya da 1 saat içerisinde intravenöz infüzyon yolu ile uygulandı. Tedavi sonrasında LDL-K hem sağlıklı plasebo grubunda hem de heterozigot AH olsun ya da olmasın statin kullanan hasta grubunda ciddi oranda düştü. LDL-K'daki düşmenin doza bağlı olduğu gözlemlendi. Çok düşük dozlarda ise faydasız bulundu. Yirmi bir mg'ın üzerindeki dozlarda LDL-K'daki düşme plasebo ile karşılaştırıldığında %64'lere ulaştı. Subkutan ya da intravenöz yapılan uygulama, LDL-K düşüş miktarında ve süresinde hafif değişikliklere sebep oldu. LDL-K düşüşü ailevi, ailevi olmayan hiperkolesterolemili ve statin kullanan, kullanmayan kişilerde benzer bulundu. LDL-K düşüşü, kullanılan statin türünden ve dozundan bağımsız görünüyordu. AMG-145 aynı zamanda plasebo ile karşılaştırıldığında,

Apo B ve Lipoprotein (a) [Lp(a)]'yı da ciddi oranda düşürdü. AMG-145'in yüksek dansiteli lipoprotein kolesterol (HDL-K) ve trigliserit (TG) seviyeleri üzerine tedavi edici etkisi görülmedi. AMG-145, serbest PCSK9 seviyelerini ciddi olarak azalttı. İstenmeyen etkiler plasebo grubu ile benzer bulundu. İlaç kesmeyi gerektiren ciddi yan etki gözlemlenmedi.^[16]

Sağlıklı gönüllülerde subkutan veya intravenöz olarak verilen PCSK9 mAb'u olan REGN-727'nin plasebo ile karşılaştırıldığı iki adet tek doz ve bir adet çoklu doz olmak üzere üç adet faz I asendan doz çalışması da 2012 yılında yayımlandı. Bu çalışmaları randomize, plasebo kontrollü, atorvastatin kullanan heterozigot ailevi hiperkolesterolemili ve yine atorvastatin kullanan ailevi olmayan hiperkolesterolemili hastalarda çok dozlu erişkin çalışmaları izledi. Bütün çalışmalar için birincil sonuç, istenmeyen olayların görülmesi, ikincil sonuç ise REGN-727'nin lipit profili üzerine etkisiydi. LDL-K düşme oranları ve süresi doz ile ilişkili bulundu. Statin almayanlarda LDL-K düşüklüğü daha uzun sürdü. Bunun statinle indüklenen PCSK9 artışına ikincil olduğu düşünüldü. REGN-727 ile Apo B seviyelerinde de önemli ölçüde azalma sağlandı. Farklı dozlar kullanılarak yapılan çalışmada atorvastatin ile birlikte REGN-727 alan 5 hastada, kreatinkinaz (CK) seviyelerinde normalin 3 katı düzeylere ulaşan kısa süreli yükselme gözlemlendi. Ancak, çalışma süresince istenmeyen olaylar sebebiyle ilaç bırakılması gereken hasta olmadı.^[17]

Faz 1 çalışmalarında dikkati çeken ortak özelliklere bakacak olursak, çalışmalarda iki ilaç denendi (AMG-145 ve REGN-727). İlaçlar intravenöz (bir saatlik infüzyon) ya da subkutan (abdominal) verildi. Tek doz ya da değişik dozlarda birkaç kez uygulandı. LDL-K düşüşü ailevi, ailevi olmayan hiperkolesterolemili ve statin kullanan, kullanmayan kişilerde benzer bulundu. Statin almayanlarda LDL-K düşüklüğü daha uzun sürdü (statinle indüklenen PCSK9 artışı). Yan etki (başta CK artışı) plaseboyla benzerdi. CK artışı geri dönüşlü ve egzersiz yapanlarda daha sıklıkla. Apo B ve Lp(a) da da düşme görüldü. İlaç dozu arttıkça LDL-K düşüş oranı da arttı ve ciddi yan etki görülmedi.

Faz 2 çalışmaları

İlk faz 2 çalışması, Amerika Birleşik Devletleri'nde ve Kanada'da 16 lipit kliniğinde yapılan çok merkezli, randomize, REGN-727'nin plasebo ile karşıla-

tırıldığı Faz 2 çalışmasına, stabil diyet altında olan statinle birlikte ezetimib alan ya da almayan, tedavi altında LDL-K >100 mg/dL olan heterozigot AH hastaları dahil edildi. Hastaların çoğu yüksek doz olmak üzere tamamı statin alıyordu ve yaklaşık %70 hasta ezetimib kullanıyordu. Hastalar, REGN-727 4 haftada bir 150 mg, 200 mg, 300 mg, 2 haftada bir 150 mg ve 2 haftada bir plasebo (1:1:1:1) şeklinde olacak şekilde randomize edildi. Birincil son nokta 12. haftadaki LDL-K değerinin başlangıçtakine göre ortalama olarak yüzde azalmasıydı. LDL-K seviyesi Friedewald formülü ile hesaplandı. On ikinci hafta sonunda LDL-K seviyesinde başlangıca göre plasebo grubunda %10.7'lik, 4 haftada bir 150 mg grubunda %28.9'luk, 4 haftada bir 200 mg grubunda %31.5'luk, 4 haftada bir 300 mg grubunda %42.5'luk ve 2 haftada bir 150 mg grubunda %67.9'luk azalma görüldü. Total kolesterol, HDL-dışı-K (non-HDL-C) ve Apo B'de de ciddi değişiklikler gözlemlendi. Haftada iki kez uygulanan 150 mg REGN-727 ile 12 hafta sonunda HDL-K'da başlangıca göre %12.3'lük ve Apo A1'de %8.8'lik artış görüldü. Lp(a)'da istatistiksel olarak ciddi düşme görülmedi. Çalışma süresince, hepatik transaminazlar ve CK'da 3 kattan fazla yükselme görülmedi. En sık istenmeyen olay, enjeksiyon yerinde gözlenen cilt reaksiyonları olarak bildirildi.^[18]

Rutherford çalışması: Statinle birlikte ezetimib alan ya da almayanlarda, tedavi altında LDL-K > 100 mg/dL olan heterozigot AH hastalarında AMG-145 350 mg ve 420 mg'nin plasebo ile karşılaştırıldığı çok merkezli faz 2 çalışmasıdır. AMG-145, 4 haftada bir subkutan yolla uygulanmıştır. Hastaların %90'ı gibi büyük bir kısmı, yoğun statin tedavisi almaktaydı. %64 hasta ise ezetimib kullanmaktaydı. LDL-K seviyesi hem direkt, hem de Friedewald formülüyle ölçüldü. Birincil son nokta 12. haftadaki LDL-K değerinin başlangıçtakine göre ortalama olarak yüzde azalmasıydı. AMG-145 hızlı ve doz ilişkili LDL-K düşüşüne sebep oldu. On ikinci hafta sonunda başlangıca göre AMG-145 350 mg ile LDL-K'da %42.7'lik ve AMG-145 420 mg ile %55.2'lik düşüş sağlandı. Üç yüz elli mg verilen hastaların %70'i, 420 mg verilen hastaların da %89'unun LDL-K'sı 100mg/dL'nin altına düşerken, 350 mg alan hastaların %44'ünün, 420 mg verilen hastaların ise %65'inin LDL-K'sı, 70 mg/dL'nin altına düştü. LDL-K ile birlikte total kolesterol, HDL-dışı-K ve Apo B değerlerinde de ciddi düşüklük görüldü. TG düzeylerinde dozla ilişkili sırasıyla %15 ve %20'lik azalma görülürken HDL-K'da %7'lik artış

görüldü. Apo A1'deki değişiklik önemli değildi. İki hastada tedavi ile ilişkili olmadığı düşünülen ciddi yan etki (1 hastada atriyal fibrilasyon ve 1 hastada apandisit ile sonrasında yara enfeksiyonu) gözlemlendi. En sık bildirilen yan etki nazofarenjit, enjeksiyon yerinde ağrı ve baş ağrısıydı. Üç hastada asemptomatik CK artışı görüldü. Ağır egzersiz yapanlarda daha sıkı ve geri dönüşlüydü.

Bu çalışmanın diğer heterozigot AH hastalarıyla yapılan faz 2 çalışmalarından bazı farkları vardı. Diğer faz 2 çalışmalarında REGN-727 kullanılmıştı. LDL-K düşüşü daha fazla gibi görünüyordu. Bunun sebebi olarak LDL-K düşükçe (<70 mg/dL) Friedewald formülünün direkt ölçmeye göre LDL-K'yı daha düşük gösteriyor ("underestimation") olmasından kaynaklandığı düşünüldü. REGN-727 ile yapılan çalışmada Lp(a)'da hafif azalma saptanırken bu çalışmada Lp(a)'daki düşüklük istatistiksel olarak önemli düzeye ulaştı.^[19]

Roth ve arkadaşları tarafından yapılan diğer çok merkezli, çift-kör ve plasebo kontrollü bir faz 2 çalışmasına en az 7 hafta 10 mg atorvastatin tedavisi sonrasında LDL-K >100 mg/dl olan hastalar dahil edildi. Hastalar 3 gruba ayrıldı. Birinci grubun atorvastatin dozu 10 mg'den 80 mg'ye yükseltildi ve beraberinde plasebo verildi. İkinci grupta, 10 mg atorvastatine 2 haftada bir REGN-727 eklendi. Üçüncü gruba da 80 mg atorvastatin ve 2 haftada bir REGN-727 verildi. Sekiz hafta sonrasında başlangıca göre LDL-K'da azalma, en fazla 80 mg atorvastatin+ REGN-727 (%73±4) grubunda gözlenirken ikinci sırada 10 mg atorvastatin+ REGN-727 (%66±4) ve en az 80 mg atorvastatin+plasebo (%17±4) grubunda görüldü. Bu oranlar, istatistiksel açıdan incelendiğinde REGN-727 alan gruplarda LDL-K seviyeleri, 80 mg atorvastatin+plasebo alanlara göre ciddi olarak düşerken (p<0.001), REGN-727 alan gruplar arasında bir fark görülemedi (p=0.16). İkincil son nokta olan LDL-K <100 mg/dl hedefine ulaşma, atorvastatin 80 mg grubunda %52, atorvastatin 10 mg+REGN-727 grubunda %100 ve yine atorvastatin 80+REGN-727 grubunda %100 olarak gözlemlendi. Diğer hedef olan LDL-K <70 mg/dL'ye ulaşma, atorvastatin 80 mg grubunda %17, atorvastatin 10 mg+REGN-727 grubunda %97 ve yine atorvastatin 80+REGN-727 grubunda %90 olarak görüldü. Bu fark, atorvastatin 80 mg+REGN-727 grubunun giriş LDL-K değerlerinin, atorvastatin 10mg+REGN-727 grubuna göre

daha yüksek olmasıyla açıklandı. Atorvastatin 80 mg+REGN-727 alan grupta, diğerleri ile karşılaştırıldığında edildiğinde HDL-K' da hafif bir yükselme görüldü. Apo A1 düzeyleri 3 grupta benzer bulundu ve değişiklik görülmedi. Lp(a) seviyeleri atorvastatin 80 mg+REGN-727 grubunda %31 azalma gösterdi. Çalışma süresince ciddi yan etki görülmedi.^[20]

Stein ve arkadaşları yayımladıkları bir yazıda, düşük doz statin ile birlikte anti-PCSK9 ilacı kullanıldığında, PCSK9 seviyelerinin daha az arttığı ve yüksek doz statinle birlikte kullanılmasına benzer oranda LDL-K düşüşü sağladığı yorumunda bulundular.^[11]

Laplace-Timi 57 çalışması: Yetmiş sekiz merkezden 631 hastanın katıldığı, doz belirlemesine yönelik literatürdeki en büyük faz 2 doz çalışmasında, ezetimib alan veya almayan statin tedavisi altında olan, her iki haftada bir subkutan AMG-145 70 mg, 105 mg ve 140 mg yapılan, ayrıca her dört haftada bir subkutan AMG-145 280 mg, 350 mg ve 420 mg yapılan hastalar plasebo ile karşılaştırılmıştır. Birincil son nokta 12. haftadaki LDL-K'nın başlangıçtaki değerine göre yüzde olarak değişmesidir. AMG-145 (140 mg 2 haftada bir uygulama) ile en düşük ortalama LDL-K seviyesine ulaşıldı (plaseboya göre %66.1'lik azalma). TG'de %33.7'lik, Apo B'de %56.4'lük azalma ve HDL-K'da %8.1'lik artış görüldü. Apo A1 seviyelerinde değişiklik görülmedi. HDL-K yüksekliği, ilacın HDL-K'yı doğrudan yükseltmesinden ziyade, HDL-K'nın LDL-K'ya transfer olamaması ile açıklandı. Başlangıç PCSK9 seviyesi yüksek olan hastalarda LDL-K daha fazla düştü. İlk kez bu çalışmada alt grup analizi yapıldı. Tedavi ile ilişkili ciddi istenmeyen olaya rastlanmadı. İstenmeyen olaylar ise plasebo ile benzer bulundu.^[21]

LAPLACE-TIMI 57 alt grup ve izlem çalışmaları

Desai ve arkadaşları, LAPLACE-TIMI 57 çalışmalarının sonuçlarını analiz ederek AMG-145'in Lp(a) üzerine olan etkisini araştırdılar. Plasebo ile karşılaştırdıklarında 12. haftanın sonunda 2 haftada bir kez subkutan uygulanan AMG-145 70 mg, 105 mg, 140 mg dozları, Lp(a) düzeylerinde sırasıyla %18, %32 ve %32'lik düşmeye ($p<0.001$), yine plasebo ile karşılaştırdıklarında 4 haftada bir kez subkutan uygulanan AMG-145 280 mg, 350 mg, 420 mg da sırasıyla %18, %23 ve %23'lük düşmeye ($p<0.001$) sebep olduğunu gösterdiler. Özellikle aterojenik lipit profili bulunan hastalarda, AMG-145'in, LDL-K düşürmesinin ya-

nında ilave faydalar sağlayabileceğini belirttiler.^[22]

Desai ve arkadaşları LAPLACE-TIMI 57 izlem çalışmasında ise, AMG-145'in ATP III kriterlerine göre koroner arter hastalığı gibi yüksek riske sahip 282 hastanın tedavi hedeflerine ulaşmış olmadığını incelediler. Bilindiği gibi ATP III'te tavsiye edilen tedavi hedefleri, yüksek riske sahip hastalarda, LDL-K <70 mg/dL, HDL-dışı-K <100 mg/dL ve Apo B <80 mg/dL olacak şekildedir. İki haftada bir 140 mg AMG-145 verilmesi ile, hastaların % 90'ında hedef LDL-K seviyelerine, %95'inde hedef HDL-dışı-K seviyelerine ve %95'inde hedef Apo B seviyelerine ulaşılabilirdi. %90 hastada ise 3 hedef de sağlandı. Araştırmacılar devam eden faz 3 çalışmalar ile, bu verilen ilacın güvenli bir şekilde KV olayları azalttığı gösterilebilirse halk sağlığı üzerine ciddi faydalar sağlanacağına inandıklarını yazdılar.^[23]

Mendel çalışması: Elli iki merkezin katıldığı, LDL-K'sı 2.6 mmol/L ile 4.9 mmol/L (100-190 mg/dL) arasında bulunan düşük risk skoruna sahip, statin kullanmayan 406 hastanın katıldığı plasebo kontrollü faz 2 çalışmasıdır. Dolayısıyla ilk monoterapi çalışmasıdır. AMG-145 çeşitli doz ve doz aralıklarında subkutan olarak kullanılmış ve 10 mg ezetimib ile karşılaştırılmıştır. Birincil son nokta 12. haftadaki LDL-K'nın başlangıç değerine göre yüzde olarak değişmesidir. AMG-145 bütün doz gruplarında LDL-K'yı ciddi olarak düşürdü. Başlangıç değerine göre en fazla düşüklük her 2 haftada bir 140mg AMG-145 (%50.9) verilerek sağlandı. Ezetimib ile tedavi edilen grupta karşılaştırıldığında ise, %36.7'lik ek azalma elde edildi. Bu tedavi dozunda 12. hafta sonunda total kolesterolde %32.9, HDL-dışı-K'da %48, Apo B'de %44.5, TG'de %10.6 ve Lp(a)'da %27 azalma görülürken, HDL-K'da %11.3 ve Apo A1'de %9 artış saptandı. Serbest PCSK9'da ise %3.8 azalma oldu ($p<0.0001$). AMG-145 iyi tolere edildi ve istenmeyen olaylar plaseboya benzer bulundu. Enjeksiyon bölgesinde sertlik sık olmasına rağmen ciddi değildi. İstenmeyen olaylar dozla ve uygulama sıklığıyla ilişkili bulunmadı. İki hastada transaminazlarda 3 kattan fazla yükselme gözlemlendi, ancak tedaviyi kesmeksizin gerilediği görüldü. Sadece bir hastada CK'da 10 kattan fazla yükselme görüldü. Bu çalışma, statin intoleransı olan hastaları da kapsayan daha geniş ve farklı hasta gruplarında PCSK9 inhibitörlerinin monoterapide değerlendirilmesi gerektiğine ek deliller sağlamıştır.^[24]

Gauss çalışması: Kas ile ilişkili yan etkilerden do-

layı statini tolere edemeyen hastalarda AMG-145'in etkisini ve tolerabilitesi araştıran randomize, plasebo ve ezetimib kontrollü farklı dozlar kullanılarak yapılan 33 merkezin katıldığı bir çalışmadır. Başlangıçtaki LDL-K ortalaması 193 mg/dL olan 160 hasta randomize edildi. AMG-145 her 4 haftada bir subkutan olarak uygulandı. LDL-K direk metod ile ölçüldü. Birincil son nokta LDL-K'nın başlangıca göre 12. haftadaki yüzde olarak değişmesiydi. Diğer son noktalar güvenlik ve tolerabilite ile ilişkiliydi. AMG-145 verilen bütün gruplardaki LDL-K düşüşü ezetimib ve plasebo grubuna göre fazlaydı. AMG-145 alan hastaların LDL-K <100 mg/dL'ye ulaşma oranı %54, LDL-K < 70 mg/dL ulaşma oranı %18, AMG-145+ezetimib grubunda ise sırasıyla %90 ve %62 bulundu. Ayrıca AMG-145 kullanan hastalarda Apo B ve Lp(a) da azaldı. HDL-K ve Apo A1 yükseldi. TG ise değişmedi. AMG-145 kullanan 4 hastada ciddi yan etki (koroner arter hastalığı, pankreatit, kalça fraktürü ve senkop) görüldü. En sık görülen istenmeyen olay ise miyaljiydi. Yan etki görülme oranları ezetimib grubunda %3.1, AMG-145 grubunda %3.1-15.6, ezetimib+AMG-145 grubunda %20 bulundu. Sonuç olarak AMG-145 kas şikâyetleri sebebiyle statini tolere edemeyen hastalarda da kısa dönem iyi tolere edilebilen bir ilaç olarak kabul edildi.^[25]

Faz 3 Çalışmaları

Faz 3 dönemine gelindiğinde artık AMG-145'in adı konmuştu: Evolocumab, REGN-727 ise Alirocumab adını almıştı.

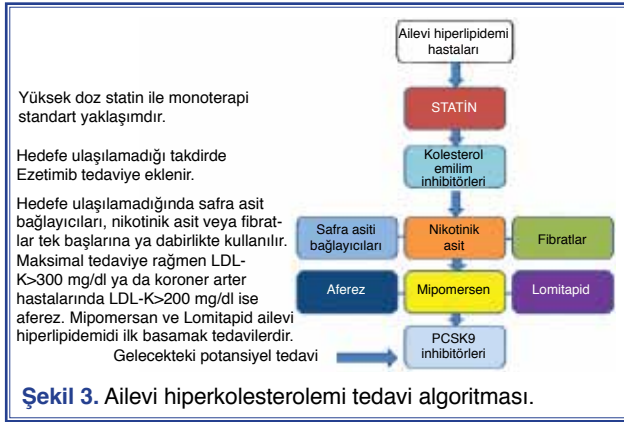
Gauss-2 çalışması: Çok merkezli, randomize, plasebo kontrollü ilk faz 3 çalışmasıdır. En az iki statini kas şikâyetleri sebebiyle tolere edemeyen 307 hasta çalışmaya dahil edildi. Hastaların yarısından çoğu yüksek riskliydi. Bazal LDL-K seviyeleri 193±59 mg/dL idi. Her iki haftada bir 140 mg Evolocumab+plasebo ve her dört haftada bir 420 mg Evolocumab+plasebo, ezetimib+plasebo ile karşılaştırıldı. Evolocumab+plasebo grubunda bazale göre LDL-K düşüşü ortalama %55, LDL-K <100 mg/dL'ye ulaşılacak hasta oranları %75, buna mukabil kas şikâyetleri %12 iken ezetimib+plasebo grubunda bu oranlar sırasıyla %38, %10, kas şikâyetleri ise %23 olarak bulundu. Evolocumab ile ayrıca, Apo B, Lp(a) ve HDL-dışı-K azaldı. İlaç çok iyi tolere edildi (%96). Evolocumab'ın, tolere edilebilirliği ve güçlü etkinliği ile, statin kullanamayan, hiperkolesterolemik yüksek riskli hastalarda büyük ölçüde klinik ihtiyaca cevap

verebilecek umut verici bir ilaç olduğu belirtildi.^[26]

Mendel-2 çalışması: Çok merkezli, randomize, kontrollü faz 3 klinik çalışmasıdır. Yüz kırk ve 420 mgr Evolocumab, ezetimib ile karşılaştırıldı. Şimdiye kadar ki en büyük monoterapi çalışmasıdır. LDL-K 100 mg/dL ile 190 mg/dL arasında olan Framingham risk skoru <%10 olan 614 hasta çalışmaya dahil edildi. Evolocumab tedavisi ile başlangıca göre LDL-K'da plasebo grubuna göre %55 ile %57, ezetimib grubuna göre ise ortalama %38 ila %40 arasında daha fazla düşüklük sağlandı (p<0.001). LDL-K <70 mgr/dL hedefine ulaşılan hasta oranları Evolocumab grubunda %70 iken ezetimib grubunda %18 bulundu. Evolocumab kullanan hastaların %72'sinde LDL-K düşüşünün %50'den fazla olduğu görüldü. Ayrıca, Evolocumab grubunda Apo B, HDL-dışı-K, Lp(a) ve TG düzeyleri azaldı, HDL-K yükseldi. Evolocumab kullanan iki hastada ilaçla ilgili olabileceği düşünülen ciddi yan etki görüldü. Birincisi akut pankreatit diğeri transaminaz ve CK değerlerinde 8 kattan fazla yükselme idi. İlaç kestikten sonra bu değerler normal seviyelere döndü. Kas şikâyetleri birbirine benzer bulundu. Enjeksiyon bölgesindeki reaksiyonların yüksek olduğu bildirildi. Ancak bunlar ilacı kesmeyi gerektirmedi.^[27]

Descartes çalışması: Dokuz ülkede 88 merkezde yapılan, 901 hastanın çalışmaya dahil edildiği faz 3 çalışmasıdır. Hastalar ATPIII kriterlerine göre sahip oldukları risklere göre gruplara ayrıldı. Dört ila 12 hafta arası, diyet, 10 mg atorvastatin, 80 mg atorvastatin, 80 mg atorvastatin+ezetimib tedavisi alan ve bu tedaviye, rağmen LDL-K'sı >70 mg/dL olan hastalar 2'ye 1, her 4 haftada bir 420 mg evolocumab ve plaseboya randomize edildi. Bu çalışma ile ilk kez 1 yıllık sonuçlar verildi. Evolocumab, LDL-K'yı %48-61 oranında düşürdü. Ayrıca TG, Lp(a) ve Apo B'de de düşme görüldü. HDL-K ve Apo A1 seviyelerinde daha önceki çalışmalara benzer şekilde ılımlı ama istatistiksel olarak anlamlı artış saptandı. En sık rastlanan yan etkiler nazofaranjit, üst solunum yolu enfeksiyonu, grip ve sırt ağrısı olarak bildirildi.^[28]

Laplace-2 çalışması: On yedi ülkeden 198 merkezin katıldığı, Evolocumab'ın plasebo ve ezetimib ile karşılaştırıldığı, primer hiperkolesterolemi ve dislipidemi bulunan 2067 hastanın 2 aşamada 1'den 24'e kadar tedavi grubuna randomize edildiği bir faz 3 çalışmadır. Hastalar öncelikli olarak birinci aşamada düşük doz ve yüksek doz statin tedavisine randomize



edildiler. Statin olarak atorvastatin, rosuvastatin ve simvastatin kullanıldı. Dört haftalık lipit stabilizasyon periyodundan sonra ikinci aşamada Evolocumab, ezetimib ve plasebo grubuna tekrar randomize edildi. On ikinci haftada düşük doz statin kullanan ve Evolocumab iki haftada bir alan hastalarda LDL-K'da %66-75, ayda bir alanlarda %63-75 azalma görüldü. İki haftada bir Evolocumab alanlarda başlangıç LDL-K, 115-124 mg/dL iken, 39-49 mg/dL'ye, ayda bir alanlarda 123-126 mg/dL iken, 43-48 mg/dL'ye geriledi. Yüksek doz statin kullanan ve Evolocumab iki haftada bir alan hastalarda ise, başlangıç LDL-K 89-94 mg/dL iken, 35-38 mg/dL'ye, ayda bir alanlarda 89-94 mg/dL iken, 33-35 mg/dL'ye geriledi. Evolocumab ile tedavi edilen hastalarda en sık görülen yan etkiler sırt ağrısı, artralji, baş ağrısı, kas spazmları ve ekstremitelerde ağrıları olarak bildirildi. Gruplar arasında yan etki profili benzer bulundu. Bu çalışmanın sonuçlarına göre, düşük doz ya da yüksek doz statin kullanan primer hiperkolesterolemi ve miks tip hiperlipidemide hastalarının tedavilerine Evolocumab eklendiğinde LDL-K'da ek düşüşler elde edildiği anlaşıldı.^[29]

İlk kez, AH tedavi algoritmalarında Sniderman ve arkadaşları, "PCSK9 inhibitörleri AH hastalarının çoğunda LDL-K tedavi hedeflerine ulaşmada uygun görünmektedir" şeklinde vurgulama yaptılar (Şekil 3).^[30]

Lipit aferezinin PCSK9 üzerine etkisini araştıran çalışma

Lipit aferezi, ciddi AH'si olan hastalarda LDL-K'yı düşürür. Tavori ve arkadaşları 6 AH hastasında lipit aferez öncesi ve sonrasında PCSK9 seviyelerini araştırdılar. PCSK9 seviyelerinin LDL-K ile uyumlu bir şekilde %52±5 oranında azaldığını ve yine LDL-K'ya benzer şekilde 2 hafta sonra tekrar eski düzey-

lerine geri döndüğünü gördüler. PCSK9 azalmasının, lipit aferezinin olumlu etkilerinden biri olarak düşünüldü ve ilk kez anti-PCSK9 tedavilerinin lipit aferez sıklığını azaltabileceğini ve birlikte verildiğinde sinerjik etki ile tedavinin kısıtlılıklarını azaltabileceğini ileri sürdüler.^[31]

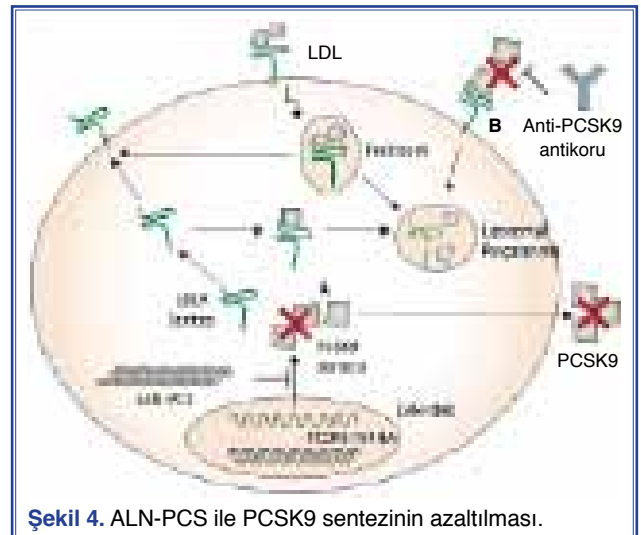
RNA interferansı ile PCSK9 sentezinin azaltılması ile ilgili çalışma

PCSK9 düzeylerini azaltmanın bir yolu da mRNA'sını etkilemektir. Bu amaçla geliştirilen ALN-PCS ismi verilen, yeni bir ilaç tanımlandı (Şekil 4).

Fitzgerald ve arkadaşlarının bildirdiği bu ilaçla yapılan plasebo kontrollü faz 1 çalışmasına göre, LDL-K'da %40 ve PCSK9'da %70 azalma sağlandı. Ciddi bir yan etkiye rastlanmadı.^[32] Bu ilaçla ilgili faz çalışmaları devam etmektedir.

Osler çalışması

Osler çalışması açık etiketli bir çalışmadır. Evolocumab ile yapılan 4 adet faz 2 çalışmalarının (Mendel, LAPLACE-TIMI 57, Gauss ve Rutherford) 1104 hastası, içinde buldukları çalışmalar tamamlandığında 2 gruba ayrıldı. Grubun birisine 4 haftada bir 420 mg subkutan Evolocumab verilirken diğer grup normal standart bakım ile 52 hafta boyunca izlendi. OSLER çalışmasına girdikten sonra Evolocumab'ı kesilen hastaların LDL-K seviyelerinin, başlangıçtakine yakın seviyelere geri döndüğü görüldü. Ciddi yan etkiler Evolocumab grubunda %7.1 iken, standart bakım ile izlenen hastalarda %6.3 olarak saptandı. Bu çalışma, Evolocumab'ın etkinliğini, güvenilirliğini ve



tolerabilitesini gösteren en büyük çalışma olarak değerlendirildi.^[33]

AMG-145 ile yapılan meta analizler

Evolocumab ile yapılan 4 adet faz 2 çalışmasına (Rutherford, Laplace-TIMI57, Mendel ve Gauss) katılan 1359 hastanın Lp(a)'sındaki doz ilişkili azalma kontrol grubu ile karşılaştırıldı. On iki hafta boyunca tedâvî edilen hastalarda Lp(a)'daki düşme, LDL-K'nın ve Apo B'nin yüzde olarak düşüşü ile pozitif ilişki gösterdi.^[34]

Stein ve arkadaşları, Evolocumab ile yapılan 4 adet faz 2 çalışmasının verileriyle Evolocumab'ın hiperlipidemik hastalardaki etkisini ve güvenilirliğini araştırdılar. On iki hafta boyunca, 1359 hastaya farklı dozlarda tedavi uygulanmıştı. Bütün Evolocumab verilen hastalarda plaseboya göre LDL-K'da ortalama yüzde azalma %40.2-59.3 arasında görüldü. Apo B, HDL-dışı-K, TG ve Lp(a)'da istatistikî azalma gözlenirken, HDL-K'da artış görüldü. İstenmeyen olaylar ve ciddi yan etkiler Evolocumab grubunda %56.8 ve %2 gözlenirken plasebo grubunda sırasıyla %49.2 ve %1.2 olarak saptandı.^[35]

Devam eden çalışmalar

2014 yılında yapılan Amerikan Kalp Cemiyeti'nin kongresinde sunulan Rutherford-2 çalışmasının ön verilerine bakıldığında, Evolocumab'ın AH hastalarında, LDL-K'da yaklaşık olarak ortalama %60'a varan oranlarda azalmaya yol açtığı gösterilmiştir. Ayrıca Alirocumab ile yapılan faz III çalışması olan ODYSSEY-MONO çalışmasının ilk verileri de bu kongrede bildirilmiştir. Bu çalışmada Alirocumab, statin tedavisi almayan hastalara verildi. Sonuçları Evolocumab ile benzer bulundu. Alirocumab, PCSK9 seviyelerini arttırdığı bilinen fibratlar ile birlikte uygulandığında da etkili bulundu.^[2] Diğer Odyssey çalışmaları da 2014 yılı Avrupa Kardiyoloji Kongresi'nde takdim edildi. ODYSSEY COMBO II çalışmasında, yüksek riskli olup, statin kullanan hastalarda, Alirocumab ile Ezetimib'in karşılaştırılmasında, Alirocumab verilen grupta LDL-K seviyelerinde %50.6'lık düşme, Ezetimib verilen grupta ise %20.7'lik azalma meydana geldi ($p<0.0001$). Aradaki bu farkın 52 haftalık takipte de devam ettiği görüldü. Maksimal lipit tedavisi altında LDL-K düzeyleri 100 mg ve üzerinde bulunan heterozigot AH hastalarında yapılan ODYSSEY-FH 1 ve FH II çalışmalarında Alirocumab (2 haftada bir enjeksiyon) ile plasebo karşılaştırıldı.

Alirocumab alan hastalarda LDL-K seviyelerinde %50'ye varan oranlarda düşme sağlandığı ve bu düşmenin 52 haftalık takipte de devam ettiği görüldü. Olguların yarısında düşük doz ilaç (75 mg) yeterli idi. Yan etkiler açısından da plasebodan farklı bir sonuç alınmamıştı. ODYSSEY-LONG TERM çalışmasında ise, Alirocumab'ın LDL-K seviyelerinde %61 nisbetinde azalma sağladığı tesbit edildi ve ilacın güvenli olduğu belirtildi.

Çalışmalara son bir bakış

AMG-145 ile yapılan çalışmalarda daha çok hasta randomize edildi ve daha çok merkez dahil edildi. REGN-727 ile halen devam eden ODYSSEY çalışmalarının tamamlanması ile bu ajan için de binli rakamlarla hasta randomize edilmiş olacak. Bu alanda en büyük çalışma olması beklenen ODYSSEY-OutCOMES'da LDL-K düzeyleri >70 mg/dl olan 18.000 akut koroner sendrom hastasının randomize edilmesi bekleniyor. AMG-145 ile yapılan çalışmalarda, LDL-K direk metodla, REGN-727/SAR-236553 ile yapılan çalışmalarda, Friedewald formülüyle ölçüldü. İki haftada bir yapılan enjeksiyonlar, 4 haftada bir yapılanlara göre daha iyi gibi görüldü. Bütün çalışmalarda son enjeksiyonlar 12. haftada yapıldı. En sık görülen yan etkiler, miyalji, CK ve transaminazlarda artış (çok az kişide ilaç kesmeyi gerektirdi), nazofaranjit, baş ağrısı, öksürük, bulantı, enjeksiyon yerinde reaksiyonlar, sırt ağrısı, diyare ve bilirubin yüksekliği olarak bildirildi.

İlk kez Werner ve arkadaşları dolaşımdaki PCSK9 seviyelerinin koroner arter hastalığı olan hastalarda KV olayları ön gördüğünü gösterdi. PCSK9'un tahmin gücünün serum TG seviyeleri ile olan pozitif korelasyonuna bağlı olduğu belirtildi. Bu tahmin, PCSK9'un koroner arter hastalarında, muhtemelen aterosjenik Apo B taşıyan lipoprotein salınımını ve temizlenmesini düzenleyen, TG metabolizmasında da rol oynayabilen bir protein olduğunu düşündürdü. PCSK9'un KV hastalık risk değerlendirmesinde bir kriter olarak kullanılabileceği ileri sürüldü.^[36]

Bununla birlikte, PCSK9'un genel fizyolojik işlevleri hala inceleme altında olup, elde edilen sonuçlar bu proteinin LDL-K dengesinin düzenlenmesinin dışında daha tanınmayan başka rollerinin de olabileceğini düşündürmektedir. Beslenme ve hormonal durum PCSK9 plazma seviyelerinin düzenlenmesinde yer alır ve açlık, glukagon ve büyüme hormonu ile

rocumab ve 10 mg ezetimib almaya randomize edildi. LDL-K seviyelerinde alirocumab alan hastalarda %48'lik azalma görüldükçe, ezetimib grubunda %20'lik azalma görüldü ($p < 0.0001$). İki grup arasında yan etkiler benzer bulundu.^[44]

Avrupa Ateroskleroz Derneği'nin homozigot AH hastaları için 2014 yılında yayımladığı uzlaşma panelinde PCSK9 inhibitörlerinin, tavsiye edilen tedavi algoritmasına gelecekteki tedavi seçenekleri olarak şimdiden girdiği görülmektedir (Şekil 5).^[45]

Tüm bu çalışmalarda elde edilen çok iyi neticelere rağmen hala bazı önemli tereddütler vardır.

1. Şu ana kadar tecrübe edilen 52 haftalık tedavinin umut verici verilerine rağmen, bağışıklık sistemi aktivasyonu ile ilgili olarak, anti-PCSK9 mAb ile daha uzun süreli tedavi güvenli olacak mı?

2. PCSK9'un tam fonksiyon kaybına yol açan genetik mutasyonlu hastaların verileri; normal bir hayat sürdürdüklerini göstermekle birlikte, bu durum ve LDL-K'da ciddi düşüşler herhangi bir komplikasyona yol açar mı?

3. PCSK9 ekspresyonu, merkezi sinir sistemi gibi ekstra-hepatik dokularda da tespit edilmiştir. Dolayısıyla, PCSK9'u azaltan ilaçlar ilerde nörolojik komplikasyonlara yol açabilir mi?

PCSK9 inhibitörleri ailevi, ailevi olmayan hiperkolesterolemi'de, statin ve ezetimib kullanan ve kullanmayan hastalarda LDL-K'nın yanı sıra, Apo B ve Lp(a)'yı düşüren, HDL-K'yı yükselten yeni ve umut veren ajanlardır. Bundan sonraki aşama, mortallite çalışmalarınıdır.

Yazar(lar) ya da yazı ile ilgili bildirilen herhangi bir ilgi çakışması (conflict of interest) yoktur.

Kaynaklar

- Nordestgaard BG, Chapman MJ, Humphries SE, Ginsberg HN, Masana L, Descamps OS, et al. Familial hypercholesterolemia is underdiagnosed and undertreated in the general population: guidance for clinicians to prevent coronary heart disease: consensus statement of the European Atherosclerosis Society. *Eur Heart J* 2013;34:3478-90a. [CrossRef](#)
- Norata GD, Tibolla G, Catapano AL. PCSK9 inhibition for the treatment of hypercholesterolemia: Promises and emerging challenges. *Vascul Pharmacol* 2014; pii: S1537-1891(14)00107-4.
- Catapano AL, Papadopoulos N. The safety of therapeutic monoclonal antibodies: implications for cardiovascular disease and targeting the PCSK9 pathway. *Atherosclerosis* 2013;228:18-28. [CrossRef](#)
- Abifadel M, Varret M, Rabès JP, Allard D, Ouguerram K, Devillers M, et al. Mutations in PCSK9 cause autosomal dominant hypercholesterolemia. *Nat Genet* 2003;34:154-156. [CrossRef](#)
- Zhao Z, Tuakli-Wosornu Y, Lagace TA, Kinch L, Grishin NV, Horton JD, et al. Molecular characterization of loss-of-function mutations in PCSK9 and identification of a compound heterozygote. *Am J Hum Genet* 2006;79:514-23. [CrossRef](#)
- Benjannet S1, Rhoads D, Essalmani R, Mayne J, Wickham L, Jin W, et al. NARC-1/PCSK9 and its natural mutants: zymogen cleavage and effects on the low density lipoprotein (LDL) receptor and LDL cholesterol. *J Biol Chem* 2004;279:48865-48875. [CrossRef](#)
- Seidah NG, Benjannet S, Wickham L, Mayne J, Wickham L, Jin W, et al. The secretory proprotein convertase neural apoptosis-regulated convertase 1 (NARC-1): liver regeneration and neuronal differentiation. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003;100:928-33. [CrossRef](#)
- Peterson AS, Fong LG, Young SG. PCSK9 function and physiology. *J Lipid Res* 2008;49:1595-9. [CrossRef](#)
- Tibolla G, Norata GD, Artali R, Meneghetti F, Catapano AL. Proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 (PCSK9): from structure-function relation to therapeutic inhibition. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 2011;21:835-43. [CrossRef](#)
- Dubuc G, Chamberland A, Wassef H, Davignon J, Seidah NG, Bernier L ve ark. Statins upregulate PCSK9, the gene encoding the proprotein convertase neural apoptosis-regulated convertase-1 implicated in familial hypercholesterolemia. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2004;24:1454-9. [CrossRef](#)
- Stein EA, Swergold GD. Potential of proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 based therapeutics. *Curr Atheroscler Rep* 2013;15:310. [CrossRef](#)
- Nozue T, Hattori H, Ishihara M, Iwasaki T, Hirano T, Kawashiri MA, et al. Comparison of effects of pitavastatin versus pravastatin on serum proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 levels in statin-naïve patients with coronary artery disease. *Am J Cardiol* 2013;111:1415-9. [CrossRef](#)
- 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 USA* 2005;102:5374-9. [CrossRef](#)
- Hooper AJ, Marais AD, Tanyanyiwa DM, Burnett JR. The C679X mutation in PCSK9 is present and lowers blood cholesterol in a Southern African population. *Atherosclerosis* 2007;193:445-8. [CrossRef](#)
- Dadu RT, Ballantyne CM. Lipid lowering with PCSK9 inhibitors. *Nat Rev Cardiol* 2014 Jun 24. doi: 10.1038/nrcardio.2014.84. [CrossRef](#)
- Dias CS, Shaywitz AJ, Wasserman SM, Smith BP, Gao B, Stolman DS, et al. Effects of AMG-145 on low-density lipoprotein cholesterol levels: results from 2 randomized, double-blind, placebo-controlled, ascending-dose phase 1 studies

- in healthy volunteers and hypercholesterolemic subjects on statins. *J Am Coll Cardiol* 2012;60:1888-98. [CrossRef](#)
17. Stein EA, Mellis S, Yancopoulos GD, Stahl N, Logan D, Smith WB, et al. Effect of a monoclonal antibody to PCSK9 on LDL cholesterol. *N Engl J Med* 2012;366:1108-18. [CrossRef](#)
 18. Stein EA, Gipe D, Bergeron J, Gaudet D, Weiss R, Dufour R, et al. Effect of a monoclonal antibody to PCSK9, REGN-727/SAR236553, to reduce low-density lipoprotein cholesterol in patients with heterozygous familial hypercholesterolaemia on stable statin dose with or without ezetimibe therapy: a phase 2 randomised controlled trial. *Lancet* 2012;380:29-36. [CrossRef](#)
 19. Raal F, Scott R, Somaratne R, Bridges I, Li G, Wasserman SM ve ark. Low-density lipoprotein cholesterol-lowering effects of AMG-145, a monoclonal antibody to proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 serine protease in patients with heterozygous familial hypercholesterolemia: the Reduction of LDL-C with PCSK9 Inhibition in Heterozygous Familial Hypercholesterolemia Disorder (RUTHERFORD) randomized trial. *Circulation* 2012;126:2408-17. [CrossRef](#)
 20. Roth EM, McKenney JM, Hanotin C, Asset G, Stein EA. Atorvastatin with or without an antibody to PCSK9 in primary hypercholesterolemia. *N Engl J Med* 2012;367:1891-900.
 21. Giugliano RP, Desai NR, Kohli P, Rogers WJ, Somaratne R, Huang F, et al. Efficacy, safety, and tolerability of a monoclonal antibody to proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 in combination with a statin in patients with hypercholesterolaemia (LAPLACE-TIMI 57): a randomised, placebo-controlled, dose-ranging, phase 2 study. *Lancet* 2012;380:2007-2017. [CrossRef](#)
 22. Desai NR, Kohli P, Giugliano RP, Somaratne R, Hoffman E, Liu T, et al. AMG-145, a monoclonal antibody against proprotein convertase subtilisin kexin type 9, significantly reduces lipoprotein(a) in hypercholesterolemic patients receiving statin therapy: an analysis from the LDL-C Assessment with Proprotein Convertase Subtilisin Kexin Type 9 Monoclonal Antibody Inhibition Combined with Statin Therapy (LAPLACE)-Thrombolysis in Myocardial Infarction (TIMI) 57 trial. *Circulation* 2013;128:962-9. [CrossRef](#)
 23. Desai NR, Giugliano RP, Zhou J, Somaratne R, Hoffman E, Liu T, et al. AMG-145, a monoclonal antibody against PCSK9, facilitates achievement of national cholesterol education program-adult treatment panel III low-density lipoprotein cholesterol goals among high-risk patients: an analysis from the LAPLACE-TIMI 57 trial (LDL-C assessment with PCSK9 monoclonal antibody inhibition combined with statin therapy-thrombolysis in myocardial infarction 57). *J Am Coll Cardiol* 2014;63:430-433. [CrossRef](#)
 24. Koren MJ, Scott R, Kim JB, Knusel B, Liu T, Lei L ve ark. Efficacy, safety, and tolerability of a monoclonal antibody to proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 as monotherapy in patients with hypercholesterolaemia (MENDEL): a randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 2 study. *Lancet* 2012;380:1995-2006. [CrossRef](#)
 25. Sullivan D, Olsson AG, Scott R, Kim JB, Xue A, GebSKI V, et al. Effect of a monoclonal antibody to PCSK9 on low-density lipoprotein cholesterol levels in statin-intolerant patients: the GAUSS randomized trial. *JAMA* 2012;308:2497-506. [CrossRef](#)
 26. Stroses E, Colquhoun D, Sullivan D, Civeira F, RosenSON RS, Watts GF, et al. Anti-PCSK9 Antibody Effectively Lowers Cholesterol in Patients With Statin Intolerance: The GAUSS-2 Randomized, Placebo-Controlled Phase 3 Clinical Trial of Evolocumab. *Am Coll Cardiol* 2014;63:2541-8. [CrossRef](#)
 27. Koren MJ, Lundqvist P, Bolognese M, Neutel JM, Monsalvo ML, Yang J, et al. Anti-PCSK9 Monotherapy for Hypercholesterolemia: The MENDEL-2 Randomized, Controlled Phase III Clinical Trial of Evolocumab. *J Am Coll Cardiol* 2014;63:2531-40. [CrossRef](#)
 28. Blom DJ, Hala T, Bolognese M, Lillestol MJ, Toth PD, Burgess L, et al. A 52-week placebo-controlled trial of evolocumab in hyperlipidemia. *N Engl J Med* 2014;370:1809-19. [CrossRef](#)
 29. Robinson JG, Nedergaard BS, Rogers WJ, Fialkow J, Neutel JM, Ramstad D, et al. Effect of evolocumab or ezetimibe added to moderate- or high-intensity statin therapy on LDL-C lowering in patients with hypercholesterolemia: the LAPLACE-2 randomized clinical trial. *JAMA* 2014;311:1870-82. [CrossRef](#)
 30. Sniderman AD, Tsimikas S, Fazio S. The severe hypercholesterolemia phenotype: clinical diagnosis, management, and emerging therapies. *J Am Coll Cardiol* 2014;63:1935-47. [CrossRef](#)
 31. Tavori H, Giunzioni I, Linton MF, Fazio S. Loss of plasma proprotein convertase subtilisin/kexin 9 (PCSK9) after lipoprotein apheresis. *Circ Res* 2013;113:1290-5. [CrossRef](#)
 32. Fitzgerald K, Frank-Kamenetsky M, Shulga-Morskaya S, Liebow A, Bettencourt BR, Sutherland JE, et al. Effect of an RNA interference drug on the synthesis of proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 (PCSK9) and the concentration of serum LDL cholesterol in healthy volunteers: a randomised, single-blind, placebo-controlled, phase 1 trial. *Lancet* 2014;383:60-8. [CrossRef](#)
 33. Koren MJ, Giugliano RP, Raal FJ, Sullivan D, Bolognese M, Langslet G. Efficacy and safety of longer-term administration of evolocumab (AMG-145) in patients with hypercholesterolemia: 52-week results from the Open-Label Study of Long-Term Evaluation Against LDL-C (OSLER) randomized trial. *Circulation* 2014;129:234-43. [CrossRef](#)
 34. Raal FJ, Giugliano RP, Sabatine MS, Koren MJ, Langslet G, Bays H, et al. Reduction in lipoprotein(a) with PCSK9 monoclonal antibody evolocumab (AMG-145): a pooled analysis of more than 1,300 patients in 4 phase II trials. *J Am Coll Cardiol* 2014;63:1278-88. [CrossRef](#)
 35. Stein EA, Giugliano RP, Koren MJ, Raal FJ, Roth EM, Weiss R, et al. Efficacy and safety of evolocumab (AMG-145), a fully human monoclonal antibody to PCSK9, in hyperlipidaemic patients on various background lipid therapies: pooled analysis of 1359 patients in four phase 2 trials. *Eur Heart J* 2014 Mar 4. [CrossRef](#)
 36. Werner C, Hoffmann MM, Winkler K, Böhm M, Laufs U.

- Risk prediction with proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 (PCSK9) in patients with stable coronary disease on statin treatment. *Vascul Pharmacol* 2014. pii: S1537-1891(14)00057-3.
37. Browning JD, Horton JD. Fasting reduces plasma proprotein convertase, subtilisin/kexin type 9 and cholesterol biosynthesis in humans. *J Lipid Res* 2010;51:3359-63. [CrossRef](#)
 38. Baass A, Dubuc G, Tremblay M, Delvin EE, O'Loughlin J, Levy E, et al. Plasma PCSK9 is associated with age, sex, and multiple metabolic markers in a population-based sample of children and adolescents. *Clin Chem* 2009;55:1637-45. [CrossRef](#)
 39. Persson L, Cao G, Stahle L, Sjöberg BG, Troutt JS, Konrad RJ, et al. Circulating proprotein convertase subtilisin kexin type 9 has a diurnal rhythm synchronous with cholesterol synthesis and is reduced by fasting in humans. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2010;30:2666-72. [CrossRef](#)
 40. Ferri N, Tibolla G, Pirillo A, Cipollone F, Mezzetti A, Pacia S, et al. Proprotein convertase subtilisin kexin type 9 (PCSK9) secreted by cultured smooth muscle cells reduces macrophages LDLR levels. *Atherosclerosis* 2012;220:381-6. [CrossRef](#)
 41. Rousselet E, Marcinkiewicz J, Kriz J, Zhou A, Hatten ME, Prat A, et al. PCSK9 reduces the protein levels of the LDL receptor in mouse brain during development and after ischemic stroke. *J Lipid Res* 2011;52:1383-91. [CrossRef](#)
 42. Roubtsova A, Munkonda MN, Awan Z, Marcinkiewicz J, Chamberland A, Lazure C, et al. Circulating proprotein convertase subtilisin/kexin 9 (PCSK9) regulates VLDLR protein and triglyceride accumulation in visceral adipose tissue. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2011;31:785-91. [CrossRef](#)
 43. Ling H, Burns TL, Hilleman DE. An update on the clinical development of proprotein convertase subtilisin kexin 9 inhibitors, novel therapeutic agents for lowering low-density lipoprotein cholesterol. *Cardiovasc Ther* 2014;32:82-8. [CrossRef](#)
 44. Roth EM, Taskinen MR, Ginsberg HN, Kastelein JJP, Colhoun HM, Robinson JG, et al. Monotherapy with the PCSK9 inhibitor alirocumab versus ezetimibe in patients with hypercholesterolemia: Results of a 24 week, double-blind, randomised Phase 3 trial. *Int J Cardiol* 2104. DOI:10.1016/j.ijcard.2014.06.049. [CrossRef](#)
 45. Cuchel M, Bruckert HN, Ginsberg HN, Raal FJ, Santos RD, Hegele RA, et al. Homozygous familial hypercholesterolemia: new insights and guidance for clinicians to improve detection and clinical management. A position paper from the Consensus Panel on Familial Hypercholesterolaemia of the European Atherosclerosis Society. *Eur Heart J* 2014 21;35:2146-57. [CrossRef](#)