

Received: 23.05.2020
Accepted: 17.02.2021
Published: 02.06.2021

Skutki hamowania funkcji PCSK9 w obrębie wybranych tkanek*

The consequences of PCSK9 inhibition in selected tissues

Mateusz Maligłowska, Łukasz Bułdak, Bogusław Okopień, Aleksandra Bołdys

Katedra Farmakologii, Klinika Chorób Wewnętrznych i Farmakologii Klinicznej, Wydział Nauk Medycznych Śląskiego Uniwersytetu Medycznego w Katowicach

Streszczenie:

Konwertazy probiałkowe (PCs, proprotein convertases) to rodzina 9 proteaz serynowych (PC1/3, PC2, furyna, PC4, PC5/6, PACE4, PC7, SKI-1), której przedstawicielem jest również konwertaza probiałkowa typu 9 o aktywności subtylizyny/keksyny (PCSK9). Poszczególni członkowie tej rodziny, są głównym elementem w potranslacyjnej obróbce białek prekursorowych, prowadzącej do powstania biologicznie czynnych cząsteczek, takich jak hormony, enzymy, czynniki transkrypcyjne oraz czynniki wzrostu. W związku ze zdolnością aktywacji dużej liczby substratów, PCs odgrywają znaczącą rolę w przebiegu procesów fizjologicznych, takich jak embriogeneza, aktywność ośrodkowego układu nerwowego, metabolizm lipidów, a także w stanach patofizjologicznych m.in. infekcjach wirusowych i bakteryjnych, osteoporozie, hiperglikemii, chorobach sercowo-naczyniowych, neurodegeneracyjnych oraz nowotworowych. Zahamowanie funkcji konwertazy proproteinu typu 9 o aktywności subtylizyny/keksyny (PCSK9, proprotein convertase subtilisin/kexin 9) przez przeciwciała, takie jak alirokumab czy ewolokumab zmniejsza tempo degradacji receptora LDL (lipoproteina o małej gęstości). Wiąże się to z redukcją stężenia cholesterolu LDL w osoczu, którego normalizacja jest jednym z głównych celów służących ograniczeniu ryzyka sercowo-naczyniowego. Inhibitory PCSK9 (alirokumab, ewolokumab, bococizumab) zostały stworzone m.in. z myślą o pacjentach, u których mimo stosowania optymalnych dawek dostępnych leków hipolipemizujących (statyn, ezetymibu) nie udało się uzyskać pożądaných wartości stężeń cholesterolu LDL we krwi. Wydaje się, że ze względu na dużą skuteczność, przyszłe zastosowanie inhibitorów PCSK9 (PCSK9i) w codziennej praktyce klinicznej będzie bardziej powszechne. Uwzględniając działania pleiotropowe substancji dotychczas stosowanych w hiperlipidemii, takich jak statyny, omówiono piśmiennictwo pod kątem innych, poza hipolipemizującymi, możliwych skutków działania inhibitorów PCSK9 oraz oceniono ich potencjalne zalety lub wady.

Słowa kluczowe:

konwertaza probiałkowa typu 9 o aktywności subtylizyny/keksyny, PCSK9, inhibitor PCSK9, alirokumab, ewolokumab, lipoproteina o małej gęstości, LDL

Summary:

Proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 (PCSK9) is one of nine members of the proprotein convertase family. These serine proteases play a pivotal role in the post-translational modification of proteins and the activation of hormones, enzymes, transcription factors and growth factors. As a result, they participate in many physiological processes like embryogenesis, activity of central nervous system and lipid metabolism. Scientific studies show that the family of convertases is also involved in the pathogenesis of viral and bacterial infections, osteoporosis, hyperglycaemia, cardiovascular diseases, neurodegenerative disorders and cancer. The inhibition of PCSK9 by two currently approved for use monoclonal antibodies (alirocumab, evolocumab) slows down the degradation of low-density lipoprotein cholesterol receptors (LDLRs). This leads to increased density of LDLRs on the surface of hepatocytes, resulting in decreased level of low-density lipoprotein cholesterol (LDL-C) in the bloodstream, which is connected with the reduction of cardiovascular risk. PCSK9

*Artykuł powstał z udziałem środków subwencji dydaktyczno-badawczej Śląskiego Uniwersytetu Medycznego w Katowicach [PCN-1-185/N/9/0].

Keywords:	inhibitors (PCSK9i) were created for the patients who could not achieve appropriate level of LDL-C using current statin and ezetimibe therapy. It seems that high therapeutic efficacy of PCSK9i will make them more common in the clinical use. The pleiotropic effects of previously mentioned lipid-lowering therapies were the reasons for literature review of possible positive and negative effects of PCSK9 inhibition beyond cholesterol metabolism. proprotein convertase subtilisin/kexin type 9, PCSK9, PCSK9 inhibitor, alirocumab, evolocumab, low-density lipoprotein cholesterol, LDL
GICID	01.3001.0014.9127
DOI:	10.5604/01.3001.0014.9127
Word count:	8 372
Tables:	2
Figures:	2
References:	110

Adres autora: lek. Mateusz Maligłowska, Katedra Farmakologii, Klinika Chorób Wewnętrznych i Farmakologii Klinicznej, Wydział Nauk Medycznych Śląskiego Uniwersytetu Medycznego w Katowicach, ul. Medyków 18, 40 -752 Katowice; e-mail: mmaliglowka@sum.edu.pl

Wykaz skrótów: **ABCA1** – białkowy transporter błonowy (ATP – Binding Casette A1), **α-MSH** – hormon alfa-melanotropowy, **apoB** – apolipoproteina B, **ApoE** – apolipoproteina E, **ApoER2** – receptor typu 2 apolipoproteiny E (apolipoprotein E receptor type 2), **β-NGF** – czynnik wzrostu nerwów β (β – nerve growth factor), **BDNF** – neurotroficzny czynnik pochodzenia mózgowego (brain-derived neurotrophic factor), **CD36** – białko powierzchniowe monocytów, makrofagów, komórek śródbłonna naczyń biorące udział w aterogenezie, **CKD** – przewlekła choroba nerek (chronic kidney disease), **CHRD** – domena bogata w reszty cysteiny i histydy (Cys-His-rich domain), **CRD** – domena bogata w reszty cysteiny (Cys-rich domain), **EAS** – Europejskie Towarzystwo Miażdżycowe, **ESC** – Europejskie Towarzystwo Kardiologiczne, **ER** – siateczka śródplazmatyczna, **GLP-1** – glukagonopodobny peptyd 1 (glucagon-like peptide-1), **HCV** – wirus zapalenia wątroby typu C, **HDL** – lipoproteina o dużej gęstości, **IGF1** – insulinopodobny czynnik wzrostu 1 (insulin-like growth factor type 1), **IL-1β** – interleukina-1, **IL-6** – interleukina 6, **IL-10** – interleukina 10, **LDL** – lipoproteina o małej gęstości, **LDLR** – receptor lipoproteiny o małej gęstości, **Lp(a)** – lipoproteina a, **LPS** – lipopolisacharyd, **LRP1** – białko 1 związane z receptorem lipoproteiny o małej gęstości (low density lipoprotein receptor-related protein 1), **mRNA** – informacyjny kwas rybonukleinowy (messenger ribonucleic acid), **NPC1L1** – białko typu 1 podobne do białka Niemann i Picka C1, **OUN** – ośrodkowy układ nerwowy, **PCs** – konwertazy probiałkowe, **PCSK1 (PC1/3)** – konwertaza probiałkowa typu 1 o aktywności subtylizyny/keksyny, **PCSK2 (PC2)** – konwertaza probiałkowa typu 2 o aktywności subtylizyny/keksyny, **PCSK3 (PACE, furyna)** – konwertaza probiałkowa typu 3 o aktywności subtylizyny/keksyny, **PCSK4 (PC4)** – konwertaza probiałkowa typu 4 o aktywności subtylizyny/keksyny, **PCSK5 (PC5/6)** – konwertaza probiałkowa typu 5 o aktywności subtylizyny/keksyny, **PC5/6A** – postać rozpuszczalna enzymu; **PC5/6B** – postać enzymu związana z błoną komórkową, **PCSK6 (PACE4)** – konwertaza probiałkowa typu 6 o aktywności subtylizyny/keksyny, **PCSK7 (PC7)** – konwertaza probiałkowa typu 7 o aktywności subtylizyny/keksyny, **PCSK9** – konwertaza proproteinu typu 9 o aktywności subtylizyny/keksyny (proprotein convertase subtilisin/kexin type 9), **PCSK9i** – inhibitory PCSK9, **PCSK9 mAb** – przeciwciała monoklonalne przeciwko PCSK9 (alirocumab, ewolocumab), **POMC** – proopiomelanokortyna, **RISC** – rybonukleoproteina biorąca udział w wyciszaniu ekspresji genów (RNA-induced silencing complex), **ROS** – reaktywne formy tlenu (reactive oxygen species), **siRNA** – mały interferujący kwas rybonukleinowy (small-interfering ribonucleic acid, np. inkisiran), **SKI-1 (S1P)** – izoenzym subtylizyny/keksyny 1, **SMC** – komórka mięśniówki gładkiej (smooth muscle cell), **SREBP** – białko wiążące sekwencję odpowiedzi na sterole, **TGF-β** – transformujący czynnik wzrostu β, **TNF-α** – czynnik martwicy nowotworów α, **VLDL** – lipoproteina o bardzo małej gęstości, **VLDLR** – receptor lipoproteiny o bardzo małej gęstości (very-low-density lipoprotein receptor).

WPROWADZENIE

Zahamowanie funkcji konwertazy proproteinu typu 9 o aktywności subtylizyny/keksyny (PCSK9) przez przeciwciała, takie jak alirokumab i ewolokumab zmniejsza tempo degradacji receptora LDL. Wiąże się to z redukcją stężenia cholesterolu LDL w osoczu, którego normalizacja jest jednym z głównych celów służących ograniczeniu ryzyka sercowo-naczyniowego [87].

Inhibitory PCSK9 (alirokumab, ewolokumab, bococizumab) zostały stworzone m.in. z myślą o pacjentach, u których mimo stosowania optymalnych dawek dostępnych leków hipolipemizujących (statyn, ezetymibu) nie udało się uzyskać pożądaných wartości stężeń cholesterolu LDL we krwi. Wydaje się, że ze względu na dużą skuteczność, przyszłe zastosowanie inhibitorów PCSK9 (PCSK9i) w codziennej praktyce klinicznej będzie bardziej powszechne. Zwłaszcza na podstawie nowych, zaostrzonych celów terapeutycznych parametrów gospodarki lipidowej, które zaprezentowano w wytycznych Europejskiego Towarzystwa Miażdżycowego (EAS) i Europejskiego Towarzystwa Kardiologicznego (ESC) pod koniec sierpnia 2019 r. w Paryżu. U pacjentów z grupy bardzo wysokiego ryzyka sercowo-naczyniowego zalecają uzyskanie stężenia cholesterolu LDL poniżej 55 mg/dl oraz redukcję o 50% w stosunku do wartości wyjściowej [54], co przy zastosowaniu dotychczasowych, doustnych leków hipolipemizujących nie jest zadaniem łatwym. Uwzględniając działania plejotropowe substancji dotychczas stosowanych w hiperlipidemii, takich jak statyny, omówiono piśmiennictwo pod kątem innych, poza hipolipemizującymi, możliwych skutków działania inhibitorów PCSK9 oraz oceny ich potencjalnych zalet lub wad.

KONWERTAZY PROBIAŁKOWE (PCs)

Konwertazy probiałkowe (PCs, proprotein convertases) to rodzina 9 proteaz serynowych (PC1/3, PC2, furyna, PC4, PC5/6, PACE4, PC7, SKI-1), której przedstawicielem jest również konwertaza probiałkowa typu 9 o aktywności subtylizyny/keksyny (PCSK9). Poszczególne członkowie owej rodziny, są głównym elementem w potranslacyjnej obróbce białek prekursorowych, prowadzącej do powstania biologicznie czynnych cząsteczek, takich jak: hormony, enzymy, czynniki transkrypcyjne oraz czynniki wzrostu. W związku ze zdolnością aktywacji dużej liczby substratów, PCs odgrywają znaczącą rolę w przebiegu procesów fizjologicznych, takich jak embriogeneza, aktywność ośrodkowego układu nerwowego, metabolizm lipidów, a także w stanach patofizjologicznych m.in. infekcjach wirusowych i bakteryjnych, osteoporozie, hiperglikemii, chorobach sercowo-naczyniowych, neurodegeneracyjnych oraz nowotworowych.

Większość PCs ulega dystrybucji we wszystkich tkankach organizmu człowieka. Wyjątkiem są PC1/3, PC2, PC4 oraz PCSK9, których geny są poddane ekspresji jedynie w wybranych lokalizacjach tkankowych [55].

W budowie chemicznej wszystkich PCs, można wyróżnić 5 analogicznych segmentów:

- peptyd sygnałowy – odpowiedzialny za wprowadzenie enzymu na szlak wydzielniczy,
- prodomena – część warunkująca konformację łańcucha białkowego,
- domena katalityczna, odpowiadająca za oddziaływanie z substratem (jej swoistość substratowa oraz budowa umożliwia zaklasyfikowanie danej proteazy do jednego z typów: subtylizyny/keksyny, pirolizyny, peptydazy K),
- domena P, stabilizująca PCs,
- domena C-końcowa, charakterystyczna dla danej PCs i warunkująca jej umiejscowienie komórkowe (w jej skład mogą wchodzić domeny: cytoplazmatyczna, transbłonowa, domena bogata w reszty cysteiny (CRD – Cys-rich domain), domena bogata w reszty cysteiny i histydyny (CHRD – Cys-His-rich domain) oraz region niezdefiniowany) [60, 91].

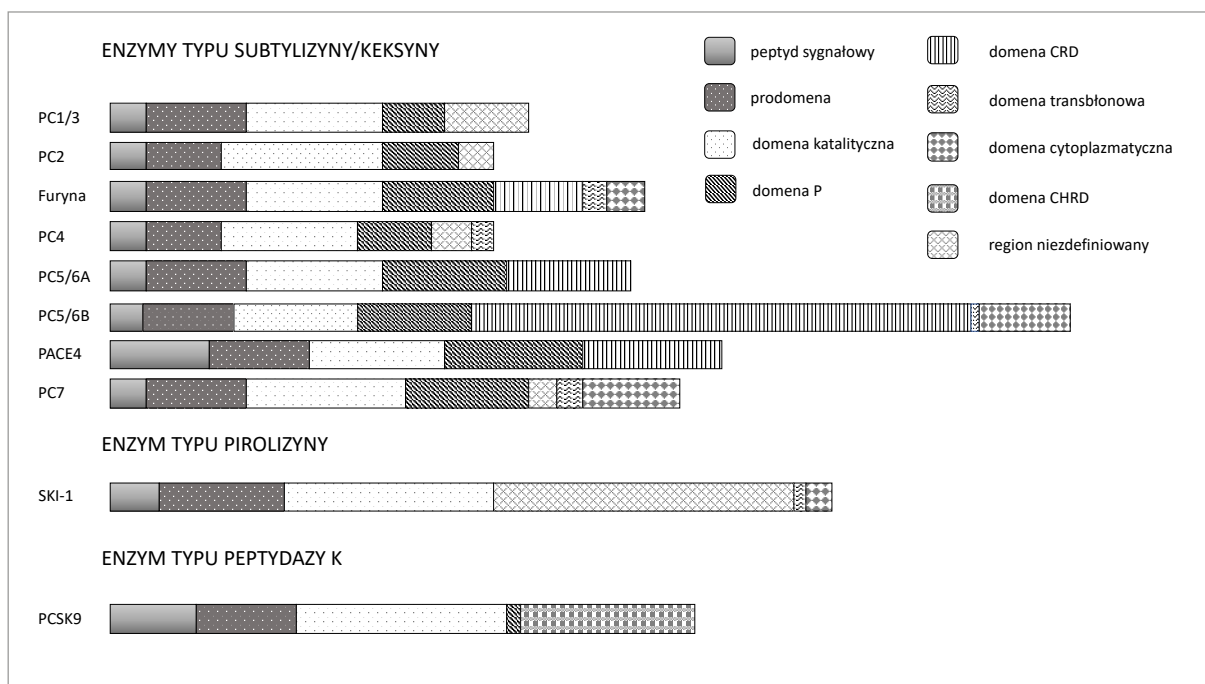
Na rycinie 1 przedstawiono schematycznie budowę konwertaz probiałkowych [55, 60, 91].

PC1/3 (PCSK1) to konwertaza probiałkowa, której ekspresja jest ograniczona do komórek układu nerwowego oraz endokrynnego, zaangażowanych w procesy regulujące apetyt oraz gospodarkę energetyczną organizmu (podwzgórze, przysadka, tarczyca, nadnercza, trzustka, żołądek, jelita). Z jej udziałem powstają aktywne postaci takich hormonów i neuropeptydów jak: insulina, glukagon, glukagonopodobny peptyd 1 (GLP-1), hormon alfa-melanotropowy (α -MSH), oreksyna, grelina. Mutacje w obrębie genów PCSK1, powodujące jej niedostateczną ekspresję, są brane pod uwagę jako jedna z przyczyn powstawania otyłości i mogą być przyszłym celem terapeutycznym [72].

Ekspresja PC2 (PCSK2) zachodzi przede wszystkim w mózgu, przysadce oraz wyspach trzustki, gdzie PCSK2 wspólnie z PCSK1 biorą udział w przekształceniu proopiomelanokortyny (POMC) w α -MSH oraz proinsuliny w insulinę i C-peptyd [49]. W przeciwieństwie do PCSK1 w jelitowych komórkach L, gdzie zachodzi synteza GLP-1 z prekursora, którym jest glukagon, PC2 w komórkach α wysp trzustkowych katalizuje przekształcenie proglukagonu w glukagon [78]. Genetyczne polimorfizmy w obrębie genów PC2 są związane z licznymi parametrami gospodarki węglowodanowej oraz patogenezą cukrzycy typu 2 [17].

Furyna (PCSK3, PACE) to najszerzej rozpowszechniona tkankowo konwertaza probiałkowa, która została zidentyfikowana przez badaczy jako pierwsza w 1990 r. Bierze udział m.in. w regulacji embriogenezy, aktywacji prekursorów czynników wzrostu (β -NGF, TGF- β , IGF1), patogenezie chorób nowotworowych (głowy, szyi, płuc) oraz aktywacji toksyn czynników infekcyjnych (*B. anthracis*, *Clostridioides* spp.) [102].

PCSK4 (PC4) to enzym umiejscowiony w gruczołach płciowych odpowiadający za regulację procesów reprodukcyjnych [98]. PCSK5 (PC5/6) w związku z alternatywnym splicingiem występuje w dwóch postaciach: wydzielniczej (rozpuszczalnej) – PC5/6A oraz związanej z błoną komórkową



Ryc. 1. Schemat budowy konwertaz probiałkowych, na podstawie: [55, 60, 91]

– PC5/6B. *In vivo* biorą udział w procesach embriogenezy, takich jak: ustalanie wzorca przód–tył zarodka czy rozwój i mineralizacja kości [38].

PCSK6 (PACE4) to szeroko rozpowszechniona proteaza białkowa, której rolą jest regulacja embriogenezy – ustalanie osi zarodka i rozwój struktur ośrodkowego układu nerwowego [83]. Ponadto jest brana pod uwagę jako element odpowiedzialny za gospodarkę sodową organizmu i pośredni regulator ciśnienia tętniczego [18].

Konwertaza probiałkowa PCSK7 (PC7) występuje również w wielu tkankach ssaków, zwłaszcza w jelicie grubym oraz śledzionie. Jej duża aktywność jest rejestrowana również w obrębie wątroby [90]. Wykazano, że jeden z wariantów alleli ludzkiej PC7 ma związek z obniżonym stężeniem triacylogliceroli i podwyższonym cholesterolem HDL (lipoproteina o dużej gęstości), co sprawia, że PC7 może być brana pod uwagę jako kolejny element patogenezy miażdżycy [36].

SKI-1 (S1P) oraz PCSK9 to enzymy odpowiedzialne za gospodarkę lipidową. Przy braku steroli w komórce, SKI-1 aktywuje czynniki transkrypcyjne SREBP, powodując syntezę cholesterolu i kwasów tłuszczowych. Ponadto z udziałem SKI-1 aktywowane są takie białka jak: neurotroficzny czynnik pochodzenia mózgowego (BDNF), somatostatyna czy glikoproteiny wirusowe [88].

Ważnym i dokładnie badanym zagadnieniem dotyczącym rodziny konwertaz probiałkowych jest potencjalne uczestnictwo kilku z ich przedstawicieli (PCSK3, PC4, PC5, PACE4, PC7) w patogenezie i rozwoju infekcji wirusowych. Enzymy te są zaangażowane w procesy migracji wirionów do wnętrza komórek gospodarza i ich dojrzewania

i rozprzestrzeniania się po osiągnięciu dojrzałości [40]. Trwają prace nad inhibitorami powyższych konwertaz, które w przyszłości miałyby być wykorzystane do walki z chorobami wirusowymi. Istotnym z praktycznego punktu widzenia jest to, że nowe leki, których punktem uchwytu nie byłby element budowy wirusa, miałyby przewagę nad dotychczasowymi terapiami, w zakresie ograniczonego nabywania przez drobnoustroje oporności.

W tabeli 1 podsumowano lokalizacje tkankowe i funkcje poszczególnych konwertaz probiałkowych [55, 91].

PCSK9

PCSK9 to enzym syntetyzowany w siateczce śródplazmatycznej (ER) w postaci nieaktywnego zymogenu. W przeciwieństwie do większości konwertaz probiałkowych, ekspresja genu PCSK9 zachodzi jedynie w wybranych tkankach organizmu człowieka. Najbardziej w wątrobie i jelicie cienkim – organach w największym stopniu zaangażowanych w metabolizm cholesterolu, a ponadto w trzustce, nerkach, śródbłonku naczyń, OUN, śledzionie i płucach [55].

Po autokatalitycznej aktywacji w obrębie ER, PCSK9 traci zdolności proteolityczne, zostaje wydzielona do osocza i działa jako białko wiążące receptor cholesterolu LDL (LDLR) głównie na powierzchni komórek wątrobowych, uniemożliwiając tym samym przyłączenie cholesterolu LDL. Ponadto odpowiada za degradację LDLR przez promowanie jego endocytozy do hepatocytów [55]. W ostatnich latach odkryto, że enzym może usuwać LDLR również przed wydzieleniem do osocza, jeszcze w obrębie aparatu Golgiego (szlak wewnątrzkomórkowy) [93]. Mechanizm

Tabela 1. Lokalizacja i funkcje konwertaz probiałkowych (PCs) [3,4]

Enzym	Miejsce ekspresji	Funkcja
PCSK1 (PC1/3) Podwzgórze	przysadka, trzustka, tarczyca, nadnercza	Regulacja apetytu i gospodarki węglowodanowej
PCSK2 (PC2)	Mózg, przysadka, trzustka	Regulacja gospodarki węglowodanowej
PCSK3 (PACE, furyna)	Ekspresja ogólnoustrojowa	Regulacja embriogenezy, aktywacja czynników wzrostu, patogeneza chorób infekcyjnych i nowotworowych
PCSK4 (PC4)	Gonady	Regulacja procesów rozrodczych
PCSK5 (PC5/6)	Kora nadnerczy, jelito cienkie, nerki, jajniki	Regulacja embriogenezy
PCSK6 (PACE4)	Mięśnie, serce, przysadka, jelito cienkie, mózdzek, nerki	Regulacja embriogenezy
PCSK7 (PC7)	Ekspresja ogólnoustrojowa	Regulacja gospodarki lipidowej
SKI-1 (S1P)	Ekspresja ogólnoustrojowa	Regulacja gospodarki lipidowej
PCSK9	Wątroba, jelito cienkie	Regulacja gospodarki lipidowej

Tabela 2. Wpływ leczenia hipolipemizującego wysokimi dawkami statyn, ezetymibu i inhibitorów PCSK9 (PCSK9i) na wybrane parametry gospodarki lipidowej [21]

	Statyny [%]	Ezetymib [%]	PCSK9i [%]
LDL	↓ 50–60	↓ 20–25	↓ ok. 60
HDL	↑ 5–10	↔	↑ 5–10
TG	↓ 25–35	↓ 5–10	↓ ok. 15
apoB	↓ 40–50	↓ 15–20	↓ ok. 50
lipoproteina (a)	↔ / ↑	↓ ok. 10	↓ ok. 25

te powodują wzrost stężenia cholesterolu LDL w osoczu i stanowią główny cel w leczeniu hipercholesterolemii za pomocą przeciwciał monoklonalnych, takich jak alirokumab i ewolokumab.

INHIBITORY PCSK9 A LIPIDY

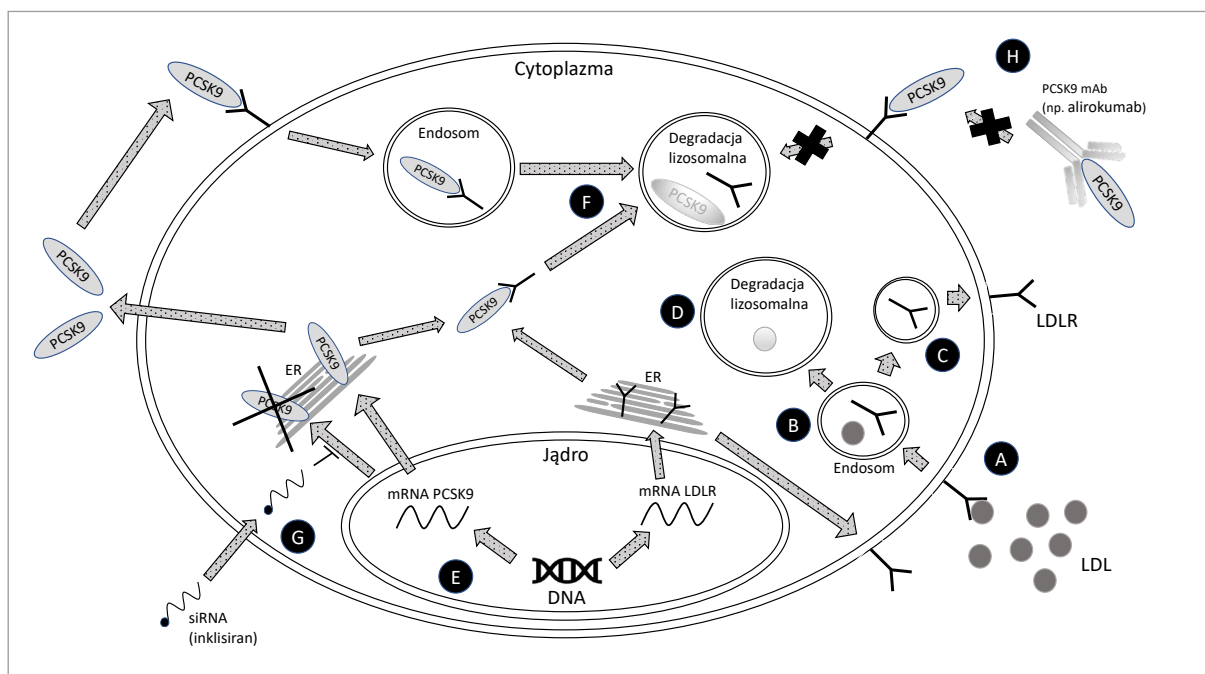
Zainteresowanie blokowaniem PCSK9 sięga czasów badań genetycznych spośród rodzin, których członkowie mieli duże stężenia cholesterolu LDL w osoczu, ze wszelkimi ich niekorzystnymi skutkami, przy braku wykrytych mutacji w obrębie genów receptora LDL (LDLR) czy apolipoproteiny B (apoB) [80]. W 2003 r. zidentyfikowano 2 mutacje w obrębie genu PCSK9, zwiększające aktywność jego produktu, które określono jako rzadką przyczynę rodzinnej hipercholesterolemii [1]. Badania następnych lat doprowadziły do wykrycia mutacji nonsensownych, których nosiciele mieli niższe stężenia cholesterolu LDL w osoczu i rzadsze występowanie choroby niedokrwiennej serca [20]. Powyższe prace były podstawą do stworzenia substancji blokującej działanie PCSK9.

Alirokumab i ewolokumab to pierwsze i jedyne stosowane w praktyce klinicznej inhibitory PCSK9. Są to ludzkie

przeciwciała monoklonalne, wiążące osoczkową postać PCSK9 i uniemożliwiające jej przyłączenie do receptora LDL. Podaje się je podskórnie, w zależności od dawki, co 2-4 tygodni.

W przeprowadzonych badaniach klinicznych zaobserwowano ich skuteczność w obniżaniu stężenia cholesterolu LDL (nawet o 60% wyjściowej wartości) [63], a także istotne statystycznie zmniejszenie ryzyka sercowo-naczyniowego. W badaniach FOURIER i ODYSSEY Outcomes, redukcja ryzyka wystąpienia pierwszorzędnego punktu końcowego (np. zawał serca, udar niedokrwieny mózgu) wynosiła 15% [94]. Ponadto, w porównaniu z innymi, dobrze znanymi lekami hipolipemizującymi (statyny, ezetymib), inhibitory PCSK9 prowadziły do redukcji stężenia lipoproteiny(a), uznanej za niezależny czynnik ryzyka sercowo-naczyniowego [30]. Statyny w większym stopniu redukowały stężenia triacylogliceroli, natomiast wpływ na parametry, takie jak cholesterol HDL czy apoB obie grupy substancji wykazywały podobny [80].

Szczegółowe porównanie wartości parametrów gospodarki lipidowej uzyskiwanych w trakcie leczenia poszczególnymi substancjami przedstawiono w tabeli 2 [80].



Ryc. 2. Mechanizmy działania inhibitorów PCSK9, na podstawie: [33]; ER – siateczka śródplazmatyczna; LDL – lipoproteina o małej gęstości; LDLR – receptor lipoproteiny o małej gęstości; PCSK9 – konwertaza propeptydu typu 9 o aktywności subtylizyny/keksyny; PCSK9 mAb – przeciwciało monoklonalne przeciwko PCSK9 (alirokumab, ewolokumab); siRNA – małe interferujące RNA (inklisiran). A. Część cząsteczki cholesterolu LDL po połączeniu z receptorem LDLR trafia do endosomu. B. W miarę jego dojrzewania dochodzi do rozdzielania molekuł – receptor trafia ponownie na powierzchnię błony komórkowej (C), a LDL ulega katabolizmowi w obrębie lizosomu (D). Gen PCSK9 ulega transkrypcji do mRNA (E), a następnie translacji i w obrębie siateczki śródplazmatycznej tworzone jest dojrzałe białko. Może ono zostać wydzielone do przestrzeni pozakomórkowej lub połączyć się wewnątrz komórki z receptorem LDL. Obie drogi prowadzą do degradacji lizosomalnej LDLR (F). G. Zastosowanie siRNA (inklisiran) hamuje translację mRNA PCSK9 uniemożliwiając tym samym powstanie białka. H. Zastosowanie przeciwciała przeciw PCSK9 (PCSK9 mAb) uniemożliwia połączenie PCSK9 z LDLR w przestrzeni pozakomórkowej, zapobiegając w ten sposób degradacji receptora

Ważnym, z punktu widzenia kontynuowania terapii przez pacjenta, oprócz korzyści zdrowotnych, jest również stopień uciążliwości oraz ciężkości działań niepożądanych danego leczenia. Inhibitory PCSK9 to leki, które na podstawie dotychczasowych analiz są uznawane za bezpieczne, a najczęstszymi działaniami niepożądanymi ich stosowania są: objawy grypopodobne, infekcje górnych dróg oddechowych oraz łagodne objawy nadwrażliwości w miejscu podania (ból, świąd, wysypka). W przeciwieństwie do statyn, substancje te nie mają szkodliwego działania w obrębie wątroby i mięśni szkieletowych skutkującego wzrostem aktywności aminotransferaz wątrobowych czy kinazy kreatynowej [64].

Potencjalnie niebezpiecznym działaniem niepożądanym związanym z przynależnością inhibitorów PCSK9 do grupy przeciwciał monoklonalnych jest ich immunogenność. Skutkiem może być neutralizacja działania PCSK9 i osłabienie redukcji stężenia LDL w osoczu, a także częstsze występowanie odczynów w miejscu podawania leków [76]. Powyższe działania niepożądane były jedną z przyczyn zaprzestania prac nad wprowadzeniem do użytku klinicznego bococizumabu (badania SPIRE) [53]. W dotychczasowych analizach obserwowano niewielką częstotliwość występowania przeciwciał skierowanych przeciw aliokumabowi i ewolokumabowi [81, 86], a wykrywane przeciwciała nie wpływały istotnie na skuteczność terapii [77].

W związku z dużą skutecznością hipolipemizującą przeciwciał monoklonalnych zaangażowanych w inhibicję osoczowej PCSK9, trwają badania nad substancjami, które ingerowałyby w funkcję konwertazy na innym szczeblu jej biologicznej aktywności. Sprawdzane są m.in. związki chemiczne: blokujące transkrypcję lub translację informacyjnego RNA (mRNA, messenger ribonucleic acid) dla PCSK9, interferujące z wydzielaniem PCSK9 z hepatocytów czy naśladujące fragment wiążący PCSK9 do receptora LDL [61].

Istotnym, będącym obecnie w 3 fazie badań klinicznych, związkiem hipolipemizującym zaangażowanym w blokowanie ekspresji genu PCSK9 jest inkalisiran. Jest to syntetyczna cząsteczka siRNA (small-interfering RNA), która po wejściu do wnętrza hepatocytu, łączy się z polipeptydowym kompleksem RISC (RNA-induced silencing complex) degradując następnie mRNA PCSK9 [27]. Za wybiórczość oraz wydłużone działanie w obrębie komórek wątroby, odpowiada element strukturalny inkalisiranu (łańcuch N-acetylogalaktozaminy) o dużym powinowactwie do receptorów asialoglikoproteinowych hepatocytów [73]. Pozwala to na stosowanie leku w ograniczonych dawkach i z mniejszą częstotliwością (co 3-6 miesięcy) redukując tym samym częstość występowania działań niepożądanych i zapewniając większą wygodę stosowania [33].

Od chwili odkrycia PCSK9 (2003) naukowcy zastanawiają się jakie, poza hipolipemizującymi, efekty w obrębie innych tkanek przynosi blokowanie działania powyższego enzymu.

HAMOWANIE FUNKCJI PCSK9

Trzustka

Wzrost liczby receptorów cholesterolu LDL na powierzchni hepatocytów, będący skutkiem działania inhibitorów PCSK9, powoduje przesunięcie cholesterolu LDL z osocza do wnętrza komórek wątroby. To samo zjawisko w obrębie komórek β trzustki (wydzielających insulinę) z następczym nadmiernym gromadzeniem cholesterolu LDL może doprowadzić do ich dysfunkcji [71]. Dzieje się tak, że względu na główną rolę jaką pełni cholesterol w formowaniu błon komórkowych, jak również sekrecji insuliny w odpowiedzi na wzrost glikemii. Aby lepiej zrozumieć działanie PCSK9, najlepszymi byłyby badania nad różnicą w funkcjonowaniu enzymu wydzielanego do krwi przez wątrobę i lokalnie tworzonego w obrębie komórek trzustki [43].

Częstość występowania cukrzycy typu 2 u pacjentów z hipercholesterolemią rodzinną jest mniejsza w porównaniu do ich zdrowych krewnych [9], natomiast osoby posiadające mutacje utraty funkcji PCSK9 mają większe ryzyko wystąpienia cukrzycy typu 2 [84]. Te analizy oraz dowody na zwiększone ryzyko wystąpienia cukrzycy typu 2 u pacjentów leczonych statynami [16, 69, 75, 82], skłoniły naukowców do badania wpływu stosowania inhibitorów PCSK9 na gospodarkę węglowodanową.

Mimo przesłanek płynących z ekspertyz genetycznych i patofizjologicznych, w dotychczasowych badaniach nie udowodniono zwiększonego ryzyka wystąpienia cukrzycy typu 2 u pacjentów leczonych inhibitorami PCSK9 [58, 66]. Istnieją jednak dowody na nieznaczne, w porównaniu z placebo, podwyższanie przez inhibitory PCSK9 glikemii na czczo (średnio o 1,88 mg/dl; $P < 0,001$) oraz odsetka hemoglobiny glikowanej (średnio o 0,032%; $P < 0,001$) [22]. By jednoznacznie ocenić potencjał diabetogenny inhibitorów PCSK9 konieczne są dalsze, długoterminowe analizy.

Jelito cienkie

Jelito cienkie, to drugi po wątrobie narząd w dużym stopniu zaangażowany w metabolizm cholesterolu. Jest miejscem jego absorpcji z pożywienia, bierze udział w syntezie frakcji HDL, a także odpowiada za wydalanie nadmiaru steroi [46]. Inhibicja umiejscowionego w rąbku szczoteczki białka typu 1 podobnego do białka Niemann i Picka C1 (NPC1L1), odpowiedzialnego za wchłanianie cholesterolu, za pomocą ezetymibu jest uzupełnieniem leczenia statynami u pacjentów, u których nie udało się osiągnąć docelowych wartości lipidogramu [96]. Umożliwia dodatkowe obniżenie stężenia LDL-C o 21-27% w porównaniu z placebo [54].

Dotychczasowe badania wskazują, że PCSK9 wytwarzana w enterocytach nie jest wydzielana do krążenia systemowego, a działa jedynie w sposób auto- i parakryny. Hamowanie enzymu jelitowego zwiększa klirens lipoprotein bogatych w triacyloglicerole za pośrednictwem receptora LDL oraz zmniejsza sekrecję apolipoproteiny B48. Skutkiem tego jest spadek poposiłkowego stężenia triacylogliceroli [95, 100].

Nerki i nadnercza

Poza zmniejszaniem liczby LDLR w obrębie hepatocytów, PCSK9 powoduje także jej redukcję w komórkach nerek, płuc czy tkanki tłuszczowej [85]. Badania sugerują, że enzym może być również zaangażowany w okresie zarodkowym w proces nefrogenezy [89], a ponadto w ekspresję podjednostki alfa, jednego z nerkowych kanałów sodowych [92]. Analizy modeli zwierzęcych nie potwierdziły jednak wpływu niedoboru PCSK9 na ciśnienie tętnicze czy gospodarkę sodową organizmu [8].

Najczęstszą przyczyną śmierci pacjentów z przewlekłą chorobą nerek (CKD, chronic kidney disease) są powikłania sercowo-naczyniowe. Większe ryzyko sercowo-naczyniowe jest związane m.in. z dyslipidemią, która w przewlekłej chorobie nerek charakteryzuje się podwyższonym stężeniem triacylogliceroli, Lp(a) i VLDL (lipoproteina o bardzo małej gęstości) oraz niedoborem frakcji cholesterolu HDL [65]. Ponieważ istnieją sprzeczne dane na temat stężeń PCSK9 u chorych z CKD [109] konieczne są dalsze badania dotyczące skuteczności inhibitorów PCSK9 w tej grupie pacjentów. Natomiast zwiększone stężenie PCSK9 w przebiegu hipercholesterolemii związanej z zespołem nerczycowym pozwala przypuszczać, że inhibitory PCSK9 znajdą zastosowanie w jego terapii [37].

Składnikiem niezbędnym do syntezy hormonów steroidowych jest cholesterol [13, 39]. Intensywna redukcja jego stężenia w osoczu, budziła wątpliwości dotyczące wpływu takiego postępowania na prawidłową syntezę hormonów w nadnerczach i gonadach. Dotychczasowe analizy przeprowadzone u osób obciążonych mutacją utraty funkcji PCSK9 oraz obserwacje pacjentów leczonych ewolokumabem nie wykazały zaburzeń w syntezie hormonów steroidowych, mimo niskich stężeń cholesterolu LDL wśród badanych [10, 15].

Naczynia i krew

Jedną z głównych przyczyn rozwoju miażdżycy jest odkładanie w obrębie podródbłonkowej macierzy wybranych naczyń tętniczych, nadmiaru cholesterolu LDL. Przekształcany następnie w procesach oksydacji, lipolizy i proteolizy do postaci bardziej reaktywnej - ox-LDL (oxidized low-density lipoprotein), jest czynnikiem inicjującym proces aterosogenezy [21].

Badania ostatnich lat potwierdziły, że PCSK9 przyspiesza rozwój miażdżycy pod wpływem mechanizmu związanego ze zwiększaniem stężenia LDL-C w osoczu, ale

również przez bezpośredni wpływ na komórki tworzące ścianę naczyń tętniczych i blaszki miażdżycowe [19, 23, 101]. Analiza szlaków metabolicznych oraz funkcji PCSK9 w ścianach naczyń, pozwala przewidzieć potencjalnie korzystne działanie przeciwmiażdżycowe związane z ich hamowaniem za pomocą inhibitorów PCSK9 [41]. W dotychczasowych eksperymentach udowodniono, że inhibitory PCSK9 wpływają pozytywnie na stabilizację i morfologię blaszki miażdżycowej, czyniąc ją mniej podatną na uszkodzenia [47, 107], a także zmniejszają potencjał trombogeny płytek krwi [7, 45].

Komórkami, które są odpowiedzialne za wydzielanie PCSK9 w naczyniach są komórki mięśniówki gładkiej (SMCs, smooth muscle cells) oraz śródbłónka [25]. W pełni funkcjonalne białko wykrywane jest również w makrofagach blaszek miażdżycowych [29].

Monocyty, makrofagi i komórki piankowate

Procesem inicjującym rozwój blaszek miażdżycowych jest transformacja monocytów i makrofagów w komórki piankowate pod wpływem gromadzenia się w ich wnętrzu ox-LDL. Napływ lipoprotein przez błonę komórkową odbywa się z udziałem wielu białek, takich jak: SRs (receptory zmieniające, scavenger receptors), CD36, CD68, LOX-1 (lectin-like ox-LDL) [108]. Makrofagi, nadmiar toksycznego cholesterolu wydzielają do przestrzeni zewnątrzkomórkowej za pomocą transporterów błonowych, np. ABCA1 (ATP Binding Cassette A1). PCSK9 przesuwą równowagę transportu cholesterolu w kierunku wnętrza makrofagów przez regulację ekspresji odpowiednich przenośników, przyczyniając się do powstawania większej liczby komórek piankowatych i nasilenia aterosklerozy [2, 26, 74].

Apolipoproteina E (apoE) wytwarzana m.in. w makrofagach i komórkach mięśniówki gładkiej jest białkiem przeciwmiażdżycowym. Funkcje, takie jak redukcja wewnątrzkomórkowego gromadzenia lipoprotein, hamowanie powstawania komórek piankowatych i promowanie przeciwwapalnego fenotypu makrofagów pełni za pomocą receptora 2 (apoER2) [5]. PCSK9 zmniejsza ekspresję apoER2, osłabiając ochronne działanie apoE [67].

W patofizjologii miażdżycy istotną rolę odgrywa stan zapalny [32]; jego nasilenie wiąże się z rozwojem aterosklerozy. PCSK9 jest zdolny do indukcji ekspresji cytokin prozapalnych (TNF- α , IL-1 β , IL-6), translokacji do jądra komórkowego czynników odpowiedzialnych za kontrolę transkrypcji cytokin prozapalnych (NF- κ B, nuclear factor kappa B) oraz redukcji powstawania cytokin przeciwzapalnych (IL-10, arginaza) w makrofagach [74, 99].

KOMÓRKI ŚRÓDBŁONKA

Apoptoza komórek endothelium, promowana przez ox-LDL sprzyja jego dysfunkcji i powoduje powstawanie korzystnych warunków do rozwoju miażdżycy [108]. Eksperymenty przeprowadzone na ludzkich komórkach śródbłónka uzyskanych z krwi pępowinowej wskazują, że PCSK9

bierze udział w nasilaniu apoptozy powodowanej przez ox-LDL za pośrednictwem szlaku białek Bcl/Bax – kaspaza-9 – kaspaza-3 [106].

W odpowiedzi na zaburzoną równowagę między gromadzeniem a usuwaniem nadmiaru ox-LDL z komórek piankowatych macierzy podśródbłonkowej, wyścielające je komórki śródbłónka otrzymują sygnał do wytwarzania cytokin prozapalnych i czynników adhezyjnych. Jedną ze składowych sygnałów jest obecność PCSK9 [50].

Reaktywne formy tlenu (ROS, reactive oxygen species) wytwarzane w nadmiarze w mitochondriach m.in. w przebiegu stanu zapalnego, stanowiącego składową patogenezę miażdżycy [32], są zdolne do indukcji uszkodzeń komórek endothelium, a także aktywacji komórek zapalnych i tym samym nasilenia procesu zapalnego w obrębie ściany naczynia tętniczego [108]. Komórki z wyciszonym genem PCSK9 wytwarzają mniej ROS w mitochondriach [25].

KOMÓRKI MIĘŚNIÓWKI GŁADKIEJ NACZYŃ (SMCs)

Komórki mięśniówki gładkiej pod wpływem PCSK9 nabywają zdolności do proliferacji, migracji, a także syntezy kolagenu czy wychwyty lipoprotein. Powoduje to powstawanie z ich udziałem komórek piankowatych, a więc progresji miażdżycy [14]. Ponadto pod wpływem PCSK9, w obrębie SMCs, dochodzi do zwiększenia wytwarzania czynników adhezji komórkowej (VCAM-1, vascular cell adhesion molecule 1) ułatwiających proces infiltracji makrofagów do wnętrza blaszki miażdżycowej [24].

OUN

Komórki układu nerwowego

PCSK9 to jedno z białek zaangażowanych w rozwój ośrodkowego układu nerwowego i proces prawidłowego zamykania cewy nerwowej zarodków [3, 89]. Ponadto cholesterol jest podstawowym budulcem błon komórkowych w ośrodkowym układzie nerwowym, zapewniając ich prawidłową funkcję, dlatego stosowanie wzmocnionej terapii hipolipemizującej rodziło pytania dotyczące jej potencjalnie niekorzystnego wpływu na pracę neuronów. Dodatkowym bodźcem do przeprowadzenia analizy działań niepożądanych w obrębie OUN inhibitorów PCSK9, były wyniki badań sugerujące gorsze osiągnięcia w testach neurokognitywnych oraz mniejszą szybkość psychomotoryczną pacjentów leczonych statynami [59], lepsze rezultaty osiągnięte w testach neuropsychologicznych w grupie zdrowych dorosłych posiadających wyższe stężenia cholesterolu LDL [51] czy podwyższone stężenie PCSK9 w płynie mózgowo-rdzeniowym u pacjentów dotkniętych chorobą Alzheimera [110].

U nosicieli mutacji utraty funkcji PCSK9, nie obserwuje się zaburzeń neurokognitywnych [68]. Modele teoretyczne sugerują, że ekspozycja na inhibitory PCSK9, może zwiększać ryzyko wystąpienia choroby Alzheimera [105]. Założenia te, nie znajdują jednak potwierdzenia w dotychczasowo

uzyskiwanych danych eksperymentalnych [31]. Również analizy przeglądowe licznych randomizowanych badań klinicznych nie ujawniają częstszych zaburzeń neurologicznych (w tym neurokognitywnych) w czasie stosowania inhibitorów PCSK9 [6, 56, 103]. Ponieważ działania niepożądane w obrębie OUN mogą się pojawić z opóźnieniem, wymagana jest czujność oraz długofalowy nadzór nad pacjentami stosującymi inhibitory PCSK9.

NACZYNIA UKŁADU NERWOWEGO

Zapobieganie niekorzystnym incydomom w układzie sercowo-naczyniowym, takim jak udary niedokrwienne, jest głównym celem terapii hipolipemizującej. Opublikowane w maju 2020 r., wyniki randomizowanego badania klinicznego z zastosowaniem ewolokumabu dodanego do wcześniejszej terapii statynami, ujawniły skuteczność PCSK9i zarówno w prewencji pierwotnej jak i wtórnej udarów niedokrwiniowych w obrębie OUN [35]. Może to w przyszłości zmodyfikować zalecenia dla pacjentów z grupy wysokiego ryzyka sercowo-naczyniowego.

PCSK9 A INFЕКCJE

Bakteryjne

Lipopolisacharyd (LPS) to jeden z elementów strukturalnych zewnętrznej błony komórkowej bakterii Gram-ujemnych, który bierze udział w wyzwoleniu reakcji zapalnej zakażonego organizmu. Gdy dochodzi do przedostania się bakterii do krwi, LPS w połączeniu z lipoproteiną LDL jest utylizowany za pośrednictwem receptora LDL; ogranicza to reakcję zapalną [52].

Zarówno cytokiny prozapalne, jak i LPS indukują ekspresję PCSK9 [28, 79], zmniejszając degradację endotoksyn bakteryjnych [12]. Pacjenci z mutacją utraty funkcji PCSK9 rzadziej umierają z powodu sepsy w przeciwieństwie do pacjentów, u których mutacja w obrębie genu PCSK9 zwiększa jego aktywność [104]. Powyższe dane wskazują, że PCSK9 nasila reakcję zapalną w odpowiedzi na zakażenie, a inhibitory PCSK9 mogą znaleźć zastosowanie w zwalczaniu sepsy [62].

Wirusowe

Jednym ze sposobów przedostawania się wirusów do wnętrza komórek gospodarza jest wykorzystanie białek błonowych. W przypadku wirusa zapalenia wątroby typu C (HCV), udowodniono, że wnika on do hepatocytów głównie z udziałem białka receptorowego cholesterolu LDL (LDLR) oraz białka CD81 [24]. Hepatocyty zakażonych wirusem HCV zawierały więcej LDLR w porównaniu z komórkami wątrobowymi zdrowych pacjentów [97]. W badaniach *in*

vitro wykazano, że PCSK9 może chronić przed rozprzestrzenianiem się wirusa HCV w związku ze zmniejszaniem ilości LDLR [48]. Przeprowadzone w 2016 r. badania ludzkich hepatocytów nie ujawniły jednak zwiększonej wrażliwości na zakażenie HCV w obecności alirokumabu [70]. Niejednoznaczne obserwacje oraz występowanie działań niepożądanych w przebiegu leczenia inhibitorami PCSK9 w postaci objawów grypopodobnych oraz częstszych infekcji górnych dróg oddechowych [11, 34, 44] pozwala przypuszczać, że PCSK9 ma swój udział w patogenezie chorób wirusowych [42].

Pasożytnicze

Pasożyty, to organizmy, których budulcem oraz częścią niezbędną do prawidłowego rozwoju jest cholesterol. Ze względu na brak zdolności do jego syntezy *de novo*, wykorzystują cholesterol pochodzący z organizmu gospodarza [57]. W związku z tym wysunięto hipotezę, jakoby mutacje utraty funkcji PCSK9 (bardziej rozpowszechnione w populacjach subsaharyjskich) wpływały korzystnie nie tylko na ryzyko sercowo-naczyniowe, lecz również na ryzyko zapadnięcia na pasożytozy [4]. W 2018 r. opublikowano wyniki badań przeprowadzonych w grupie 752 malijskich dzieci, spośród których nosiciele mutacji zwiększających aktywność PCSK9 byli bardziej podatni na ciężki przebieg malarii [4]. Powyższe dane sugerują, że w przyszłości inhibitory PCSK9 będą mogły znaleźć zastosowanie w leczeniu chorób pasożytniczych.

PODSUMOWANIE

Zastosowanie inhibitorów PCSK9 w terapii hipolipemizującej wydaje się następnym, po leczeniu statynami, przełomowym momentem w walce z miażdżycą i ryzykiem sercowo-naczyniowym. Ich duża skuteczność, przy mało istotnych, jak dotąd, obserwowanych działaniach niepożądanych nie powinna jednak uspić czujności lekarzy i naukowców. Odkrycie obecności PCSK9 w tkankach pozawątrobowych to dopiero pierwszy krok do dokładnego zrozumienia, w jaki sposób poszczególne komórki organizmu będą reagować na zahamowanie jej funkcji. Dotychczasowe wyniki badań stwarzają nadzieję na wykorzystanie inhibitorów PCSK9 w terapii zespołu nerczycowego, infekcji bakteryjnych i pasożytniczych. Należy jednak uwzględnić, że ich stosowanie może niekorzystnie wpływać na parametry gospodarki węglowodanowej, procesy poznawcze w obrębie OUN czy przebieg infekcji wirusowych. Podsumowując, należy wyraźnie zaznaczyć, że zgodnie z aktualną wiedzą, korzyści płynące ze stosowania inhibitorów PCSK9, przeważają nad ewentualnymi działaniami niepożądanymi. Wydaje się zatem, że terapie ingerujące w funkcje konwertaz probiałkowych będą w przyszłości wykorzystywane w medycynie.

PÍSMIENICTWO

- [1] Abifadel M., Varret M., Rabès J.P., Allard D., Ouguerram K., Devillers M., Cruaud C., Benjannet S., Wickham L., Erlich D., Derré A., Villéger L., Farnier M., Beucier I., Bruckert E. i wsp.: Mutations in PCSK9 cause autosomal dominant hypercholesterolemia. *Nat. Genet.*, 2003; 34: 154–156
- [2] Adorni M.P., Cipollari E., Favari E., Zanolini I., Zimetti F., Corsini A., Ricci C., Bernini F., Ferri N.: Inhibitory effect of PCSK9 on Abca1 protein expression and cholesterol efflux in macrophages. *Atherosclerosis*, 2017; 256: 1–6
- [3] An D., Wei X., Li H., Gu H., Huang T., Zhao G., Liu B., Wang W., Chen L., Ma W., Zhang H., Cao S., Yuan Z.: Identification of PCSK9 as a novel serum biomarker for the prenatal diagnosis of neural tube defects using iTRAQ quantitative proteomics. *Sci. Rep.*, 2015; 5: 17559
- [4] Arama C., Diarra I., Kouriba B., Sirois F., Fedoryak O., Thera M.A., Coulibaly D., Lyke K.E., Plowe C.V., Chrétien M., Doumbo O.K., Mbikay M.: Malaria severity: Possible influence of the E670G PCSK9 polymorphism: A preliminary case-control study in Malian children. *PLoS One*, 2018; 13: e0192850
- [5] Bai X.Q., Peng J., Wang M.M., Xiao J., Xiang Q., Ren Z., Wen H.Y., Jiang Z.S., Tang Z.H., Liu L.S.: PCSK9: A potential regulator of apoE/apoER2 against inflammation in atherosclerosis? *Clin. Chim. Acta*, 2018; 483: 192–196
- [6] Banach M., Rizzo M., Nikolic D., Howard G., Howard V.J., Mikhailidis D.P.: Intensive LDL-cholesterol lowering therapy and neurocognitive function. *Pharmacol. Ther.*, 2017; 170: 181–191
- [7] Barale C., Bonomo K., Frascaroli C., Morotti A., Guerrasio A., Cavallot F., Russo I.: Platelet function and activation markers in primary hypercholesterolemia treated with anti-PCSK9 monoclonal antibody: A 12-month follow-up. *Nutr. Metab. Cardiovasc. Dis.*, 2020; 30: 282–291
- [8] Berger J.M., Vaillant N., Le May C., Calderon C., Brégeon J., Prieur X., Hadchouel J., Loirand G., Cariou B.: PCSK9-deficiency does not alter blood pressure and sodium balance in mouse models of hypertension. *Atherosclerosis*, 2015; 239: 252–259
- [9] Besseling J., Kastelein J.J., Defesche J.C., Hutten B.A., Hovingh G.K.: Association between familial hypercholesterolemia and prevalence of type 2 diabetes mellitus. *JAMA*, 2015; 313: 1029–1036
- [10] Blom D.J., Djedjos C.S., Monsalvo M.L., Bridges I., Wasserman S.M., Scott R., Roth E.: Effects of evolocumab on vitamin E and steroid hormone levels: Results from the 52-week, phase 3, double-blind, randomized, placebo-controlled DESCARTES study. *Circ. Res.*, 2015; 117: 731–741
- [11] Blom D.J., Hala T., Bolognese M., Lillestol M.J., Toth P.D., Burgess L., Ceska R., Roth E., Koren M.J., Ballantyne C.M., Monsalvo M.L., Tsimsonis K., Kim J.B., Scott R., Wasserman S.M.: A 52-week placebo-controlled trial of evolocumab in hyperlipidemia. *N. Engl. J. Med.*, 2014; 370: 1809–1819
- [12] Boyd J.H., Fjell C.D., Russell J.A., Sirounis D., Cirstea M.S., Walley K.R.: Increased plasma PCSK9 levels are associated with reduced endotoxin clearance and the development of acute organ failures during sepsis. *J. Innate Immun.*, 2016; 8: 211–220
- [13] Bułdak Ł., Marek B., Kajdaniuk D., Urbanek A., Janyga S., Bołdyś A., Basiak M., Maligłowska M., Okopień B.: Endocrine diseases as causes of secondary hyperlipidemia. *Endokrynol. Pol.*, 2019; 70: 511–519
- [14] Campbell J.H., Popadyne L., Nestel P.J., Campbell G.R.: Lipid accumulation in arterial smooth muscle cells. Influence of phenotype. *Atherosclerosis*, 1983; 47: 279–295
- [15] Cariou B., Benoit I., Le May C.: Preserved adrenal function in fully PCSK9-deficient subject. *Int. J. Cardiol.*, 2014; 176: 499–500
- [16] Cederberg H., Stančáková A., Yaluri N., Modi S., Kuusisto J., Laakso M.: Increased risk of diabetes with statin treatment is associated with impaired insulin sensitivity and insulin secretion: A 6-year follow-up study of the METSIM cohort. *Diabetologia*, 2015; 58: 1109–1117
- [17] Chang T.J., Chiu Y.F., Sheu W.H., Shih K.C., Hwu C.M., Quertermous T., Jou Y.S., Kuo S.S., Chang Y.C., Chuang L.M.: Genetic polymorphisms of PCSK2 are associated with glucose homeostasis and progression to type 2 diabetes in a Chinese population. *Sci. Rep.*, 2015; 5: 14380
- [18] Chen S., Cao P., Dong N., Peng J., Zhang C., Wang H., Zhou T., Yang J., Zhang Y., Martelli E.E., Naga Prasad S.V., Miller R.E., Malfait A.M., Zhou Y., Wu Q.: PCSK6-mediated corin activation is essential for normal blood pressure. *Nat. Med.*, 2015; 21: 1048–1053
- [19] Cheng J.M., Oemrawsingh R.M., Garcia-Garcia H.M., Boersma E., van Geuns R.J., Serruys P.W., Kardys I., Akkerhuis K.M.: PCSK9 in relation to coronary plaque inflammation: Results of the ATHEROREMO-IVUS study. *Atherosclerosis*, 2016; 248: 117–122
- [20] Cohen J.C., Boerwinkle E., Mosley T.H. Jr, Hobbs H.H.: Sequence variations in PCSK9, low LDL, and protection against coronary heart disease. *N. Engl. J. Med.*, 2006; 354: 1264–1272
- [21] D'Ardes D., Santilli F., Guagnano M.T., Bucci M., Cipollone F.: From endothelium to lipids, through microRNAs and PCSK9: A fascinating travel across atherosclerosis. *High Blood Press. Cardiovasc. Prev.*, 2020; 27: 1–8
- [22] de Carvahlo L.S., Campos A.M., Sposito A.C.: Proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 (PCSK9) inhibitors and incident type 2 diabetes: A systematic review and meta-analysis with over 96,000 patient-years. *Diabetes Care*, 2018; 41: 364–367
- [23] Denis M., Marcinkiewicz J., Zaid A., Gauthier D., Poirier S., Lazure C., Seidah N.G., Prat A.: Gene inactivation of proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 reduces atherosclerosis in mice. *Circulation*, 2012; 125: 894–901
- [24] Diedrich G.: How does hepatitis C virus enter cells? *FEBS J.*, 2006; 273: 3871–3885
- [25] Ding Z., Liu S., Wang X., Deng X., Fan Y., Shahanawaz J., Shmookler Reis R.J., Varughese K.I., Sawamura T., Mehta J.L.: Cross-talk between LOX-1 and PCSK9 in vascular tissues. *Cardiovasc. Res.*, 2015; 107: 556–567
- [26] Ding Z., Liu S., Wang X., Theus S., Deng X., Fan Y., Zhou S., Mehta J.L.: PCSK9 regulates expression of scavenger receptors and ox-LDL uptake in macrophages. *Cardiovasc. Res.*, 2018; 114: 1145–1153
- [27] Dyrbus K., Gąsior M., Penson P., Ray K.K., Banach M.: Inclisiran – New hope in the management of lipid disorders? *J. Clin. Lipidol.*, 2020; 14: 16–27
- [28] Feingold K.R., Moser A.H., Shigenaga J.K., Patzek S.M., Grunfeld C.: Inflammation stimulates the expression of PCSK9. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 2008; 374: 341–344
- [29] Ferri N., Tibolla G., Pirillo A., Cipollone F., Mezzetti A., Pacia S., Corsini A., Catapano A.L.: Proprotein convertase subtilisin kexin type 9 (PCSK9) secreted by cultured smooth muscle cells reduces macrophages LDLR levels. *Atherosclerosis*, 2012; 220: 381–386
- [30] Gencer B., Kronenberg F., Stroes E.S., Mach F.: Lipoprotein(a): The revariant. *Eur. Heart J.*, 2017; 38: 1553–1560

- [31] Gencer B., Mach F., Guo J., Im K., Ruzza A., Wang H., Kurtz C.E., Pedersen T.R., Keech A.C., Ott B.R., Sabatine M.S., Giugliano R.P., FOURIER Investigators: Cognition after lowering LDL-cholesterol with evolocumab. *J. Am. Coll. Cardiol.*, 2020; 75: 2283–2293
- [32] Geovanani G.R., Libby P.: Atherosclerosis and inflammation: Overview and updates. *Clin. Sci.*, 2018; 132: 1243–1252
- [33] German C.A., Shapiro M.D.: Small interfering RNA therapeutic inclisiran: A new approach to targeting PCSK9. *BioDrugs*, 2020; 34: 1–9
- [34] Giugliano R.P., Desai N.R., Kohli P., Rogers W.J., Somaratne R., Huang F., Liu T., Mohanavelu S., Hoffman E.B., McDonald S.T., Abrahamson T.E., Wasserman S.M., Scott R., Sabatine M.S., LAPLACE-TIMI 57 Investigators: 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
- [35] Giugliano R.P., Pedersen T.R., Saver J.L., Sever P.S., Keech A.C., Bohula E.A., Murphy S.A., Wasserman S.M., Honarpour N., Wang H., Pineda A.L., Sabatine M.S., FOURIER Investigators: Stroke prevention with the PCSK9 (proprotein convertase subtilisin-kexin type 9) inhibitor evolocumab added to statin in high-risk patients with stable atherosclerosis. *Stroke*, 2020; 51: 1546–1554
- [36] Guillemot J., Essalmani R., Hamelin J., Seidah N.G.: Is there a link between proprotein convertase PC7 activity and human lipid homeostasis? *FEBS Open Bio*, 2014; 4: 741–745
- [37] Haas M.E., Levenson A.E., Sun X., Liao W.H., Rutkowski J.M., de Ferra S.D., Schumacher V.A., Scherer P.E., Salant D.J., Biddinger S.B.: The role of proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 in nephrotic syndrome-associated hypercholesterolemia. *Circulation*, 2016; 134: 61–72
- [38] Hoac B., Susan-Resiga D., Essalmani R., Marcinkiewicz E., Seidah N.G., McKee M.D.: Osteopontin as a novel substrate for the proprotein convertase 5/6 (PCSK5) in bone. *Bone*, 2018; 107: 45–55
- [39] Hu J., Zhang Z., Shen W.J., Azhar S.: Cellular cholesterol delivery, intracellular processing and utilization for biosynthesis of steroid hormones. *Nutr. Metab.*, 2010; 7: 47
- [40] Izaguirre G.: The proteolytic regulation of virus cell entry by furin and other proprotein convertases. *Viruses*, 2019; 11: 837
- [41] Karagiannis A.D., Liu M., Toth P.P., Zhao S., Agrawal D.K., Libby P., Chatzizisis Y.S.: Pleiotropic anti-atherosclerotic effects of PCSK9 inhibitors from molecular biology to clinical translation. *Curr. Atheroscler. Rep.*, 2018; 20: 20
- [42] Khademi F., Momtazi-Borojeni A.A., Reiner Ž., Banach M., Al-Rasadi K.A., Sahebkar A.: PCSK9 and infection: A potentially useful or dangerous association? *J. Cell. Physiol.*, 2018; 233: 2920–2927
- [43] Kockx M., Kritharides L.: Pancreatic PCSK9 and its involvement in diabetes. *J. Thorac. Dis.*, 2019; 11: S2018–S2022
- [44] Koren M.J., Scott R., Kim J.B., Knusel B., Liu T., Lei L., Bolognese M., Wasserman S.M.: 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
- [45] Koskinas K.C., Windecker S., Buhayer A., Gencer B., Pedrazzini G., Mueller C., Cook S., Muller O., Matter C.M., Räber L., Heg D., Mach F.: Design of the randomized, placebo-controlled evolocumab for early reduction of LDL-cholesterol levels in patients with acute coronary syndromes (EVOPACS) trial. *Clin. Cardiol.*, 2018; 41: 1513–1520
- [46] Kruit J.K., Groen A.K., van Berkel T.J., Kuipers F.: Emerging roles of the intestine in control of cholesterol metabolism. *World J. Gastroenterol.*, 2006; 12: 6429–6439
- [47] Kühnast S., Van Der Hoorn J.W., Pieterman E.J., van den Hoek A.M., Sasiela W.J., Gusarova V., Peyman A., Schäfer H.L., Schwahn U., Jukema J.W., Princen H.M.: Alirocumab inhibits atherosclerosis, improves the plaque morphology, and enhances the effects of a statin. *J. Lipid Res.*, 2014; 55: 2103–2112
- [48] Labonté P., Begley S., Guévin C., Asselin M.C., Nassoury N., Mayer G., Prat A., Seidah N.G.: PCSK9 impedes hepatitis C virus infection *in vitro* and modulates liver CD81 expression. *Hepatology*, 2009; 50: 17–24
- [49] Leak T.S., Keene K.L., Langefeld C.D., Gallagher C.J., Mychaleckyj J.C., Freedman B.I., Bowden D.W., Rich S.S., Sale M.M.: Association of the proprotein convertase subtilisin/kexin-type 2 (PCSK2) gene with type 2 diabetes in an African American population. *Mol. Genet. Metab.*, 2007; 92: 145–150
- [50] Leiva E., Wehinger S.R., Guzmán L., Orrego R.: Role of oxidized LDL in atherosclerosis. W: *Hypercholesterolemia*, red.: S.A. Kumar. IntechOpen Limited, London 2015, 55–77
- [51] Leritz E.C., McGlinchey R.E., Salat D.H., Milberg W.P.: Elevated levels of serum cholesterol are associated with better performance on tasks of episodic memory. *Metab. Brain Dis.*, 2016; 31: 465–473
- [52] Levels J.H.M., Marquart J.A., Abraham P.R., van den Ende A.E., Molhuizen H.O.F., van Deventer S.J.H., Meijers J.C.M.: Lipopolysaccharide is transferred from high-density to low-density lipoproteins by lipopolysaccharide-binding protein and phospholipid transfer protein. *Infect. Immun.*, 2005; 73: 2321–2326
- [53] Li T., Jiang S., Ni B., Cui Q., Liu Q., Zhao H.: Discontinued drugs for the treatment of cardiovascular disease from 2016 to 2018. *Int. J. Mol. Sci.*, 2019; 20: 4513
- [54] Mach F., Baigent C., Catapano A.L., Koskinas K.C., Casula M., Badimon L., Chapman M.J., De Backer G.G., Delgado V., Ference B.A., Graham I.M., Halliday A., Landmesser U., Mihaylova B., Pedersen T.R.: 2019 ESC/EAS guidelines for the management of dyslipidaemias: Lipid modification to reduce cardiovascular risk. *Eur. Heart J.*, 2020; 41: 111–188
- [55] Małuch I., Walewska A., Sikorska E., Prahl A.: Konwertazy probiałkowe – rodzina proteaz serynowych o szerokim spektrum funkcji fizjologicznych. *Post. Bioch.*, 2016; 62: 472–481
- [56] Mannarino M.R., Sahebkar A., Bianconi V., Serban M.C., Banach M., Pirro M.: PCSK9 and neurocognitive function: Should it be still an issue after FOURIER and EBBINGHAUS results? *J. Clin. Lipidol.*, 2018; 12: 1123–1132
- [57] Mbikay M., Mayne J., Seidah N.G., Chrétien M.: Of PCSK9, cholesterol homeostasis and parasitic infections: Possible survival benefits of loss-of-function PCSK9 genetic polymorphisms. *Med. Hypotheses*, 2007; 69: 1010–1017
- [58] Monami M., Sesti G., Mannucci E.: PCSK9 inhibitor therapy: A systematic review and meta-analysis of metabolic and cardiovascular outcomes in patients with diabetes. *Diabetes Obes. Metab.*, 2019; 21: 903–908
- [59] Muldoon M.F., Barger S.D., Ryan C.M., Flory J.D., Lehoczyk J.P., Matthews K.A., Manuck S.B.: Effects of lovastatin on cognitive function and psychological well-being. *Am. J. Med.*, 2000; 108: 538–546
- [60] Naureckiene S., Ma L., Sreekumar K., Purandare U., Lo C.F., Huang Y., Chiang L.W., Grenier J.M., Ozenberger B.A., Jacobsen J.S., Kennedy J.D., DiStefano P.S., Wood A., Bingham B.: Functional characterization of Narc 1, a novel proteinase related to proteinase K. *Arch. Biochem. Biophys.*, 2003; 420: 55–67

- [61] Nishikido T, Ray K.K.: Inclisiran for the treatment of dyslipidemia. *Expert Opin. Investig. Drugs*, 2018; 27: 287–294
- [62] Norata G.D., Tavori H., Pirillo A., Fazio S., Catapano A.L.: Biology of proprotein convertase subtilisin kexin 9: Beyond low-density lipoprotein cholesterol lowering. *Cardiovasc. Res.*, 2016; 112: 429–442
- [63] Okopień B., Buldak Ł., Boldys A.: Current and future trends in the lipid lowering therapy. *Pharmacol. Rep.*, 2016; 68: 737–747
- [64] Pasta A., Cremonini A.L., Pisciotto L., Buscaglia A., Porto I., Barra F., Ferrero S., Brunelli C., Rosa G.M.: PCSK9 inhibitors for treating hypercholesterolemia. *Expert Opin. Pharmacother.*, 2020; 21: 353–363
- [65] Pavlakou P., Liberopoulos E., Dounousi E., Elisaf M.: PCSK9 in chronic kidney disease. *Int. Urol. Nephrol.*, 2017; 49: 1015–1024
- [66] Perego C., Da Dalt L., Pirillo A., Galli A., Catapano A.L., Norata G.D.: Cholesterol metabolism, pancreatic β -cell function and diabetes. *Biochim. Biophys. Acta Mol. Basis Dis.*, 2019; 1865: 2149–2156
- [67] Poirier S., Mayer G., Benjannet S., Bergeron E., Marcinkiewicz J., Nassoury N., Mayer H., Nimpf J., Prat A., Seidah N.G.: The proprotein convertase PCSK9 induces the degradation of low density lipoprotein receptor (LDLR) and its closest family members VLDLR and ApoER2. *J. Biol. Chem.*, 2008; 283: 2363–2372
- [68] Postmus I., Trompet S., de Craen A.J., Buckley B.M., Ford I., Stott D.J., Sattar N., Slagboom P.E., Westendorp R.G., Jukema J.W.: PCSK9 SNP rs11591147 is associated with low cholesterol levels but not with cognitive performance or noncardiovascular clinical events in an elderly population. *J. Lipid Res.*, 2013; 54: 561–566
- [69] Preiss D., Seshasai S.R., Welsh P., Murphy S.A., Ho J.E., Waters D.D., DeMicco D.A., Barter P., Cannon C.P., Sabatine M.S., Braunwald E., Kastelein J.J., de Lemos J.A., Blazing M.A., Pedersen T.R. i wsp.: Risk of incident diabetes with intensive-dose compared with moderate-dose statin therapy: A meta-analysis. *JAMA*, 2011; 305: 2556–2564
- [70] Ramanathan A., Gusarova V., Stahl N., Gurnett-Bander A., Kyrat-sous C.A.: Alirocumab, a therapeutic human antibody to PCSK9, does not affect CD81 levels or hepatitis C virus entry and replication into hepatocytes. *PLoS One*, 2016; 11: e0154498
- [71] Ramin-Mangata S., Blanchard V., Lambert G.: Key aspects of PCSK9 inhibition beyond LDL lowering. *Curr. Opin. Lipidol.*, 2018; 29: 453–458
- [72] Ramos-Molina B., Martin M.G., Lindberg I.: PCSK1 variants and human obesity. *Prog. Mol. Biol. Transl. Sci.*, 2016; 140: 47–74
- [73] Ray K.K., Corral P., Morales E., Nicholls S.J.: Pharmacological lipid-modification therapies for prevention of ischaemic heart disease: Current and future options. *Lancet*, 2019; 394: 697–708
- [74] Ricci C., Ruscica M., Camera M., Rossetti L., Macchi C., Colciago A., Zanotti I., Lupo M.G., Adorni M.P., Cicero A.F., Fogacci F., Corsini A., Ferri N.: PCSK9 induces a pro-inflammatory response in macrophages. *Sci. Rep.*, 2018; 8: 2267
- [75] Ridker P.M., Danielson E., Fonseca F.A., Genest J., Gotto A.M. Jr, Kastelein J.J., Koenig W., Libby P., Lorenzatti A.J., MacFadyen J.G., Nordestgaard B.G., Shepherd J., Willerson J.T., Glynn R.J., JUPITER Study Group: Rosuvastatin to prevent vascular events in men and women with elevated C-reactive protein. *N. Eng. J. Med.*, 2008; 359: 2195–2207
- [76] Ridker P.M., Tardif J.C., Amarenco P., Duggan W., Glynn R.J., Jukema J.W., Kastelein J.J., Kim A.M., Koenig W., Nissen S., Revkin J., Rose L.M., Santos R.D., Schwartz P.F. i wsp.: Lipid-reduction variability and antidrug-antibody formation with bococizumab. *N. Eng. J. Med.*, 2017; 376: 1517–1526
- [77] Roth E.M., Goldberg A.C., Catapano A.L., Torri A., Yancopoulos G.D., Stahl N., Brunet A., Lecorps G., Colhoun H.M.: Antidrug antibodies in patients treated with alirocumab. *N. Eng. J. Med.*, 2017; 376: 1589–1590
- [78] Rouillé Y., Martin S., Steiner D.F.: Differential processing of proglucagon by the subtilisin-like prohormone convertases PC2 and PC3 to generate either glucagon or glucagon-like peptide. *J. Biol. Chem.*, 1995; 270: 26488–26496
- [79] Ruscica M., Ricci C., Macchi C., Magni P., Cristofani R., Liu J., Corsini A., Ferri N.: Suppressor of cytokine signaling-3 (SOCS-3) induces proprotein convertase subtilisin kexin type 9 (PCSK9) expression in hepatic HepG2 cell line. *J. Biol. Chem.*, 2016; 291: 3508–3519
- [80] Sabatine M.S.: PCSK9 inhibitors: Clinical evidence and implementation. *Nat. Rev. Cardiol.*, 2019; 16: 155–165
- [81] Sabatine M.S., Giugliano R.P., Keech A.C., Honarpour N., Wiviott S.D., Murphy S.A., Kuder J.F., Wang H., Liu T., Wasserman S.M., Sever P.S., Pedersen T.R., FOURIER Steering Committee and Investigators: Evolocumab and clinical outcomes in patients with cardiovascular disease. *N. Eng. J. Med.*, 2017; 376: 1713–1722
- [82] Sattar N., Preiss D., Murray H.M., Welsh P., Buckley B.M., de Craen A.J., Seshasai S.R., McMurray J.J., Freeman D.J., Jukema J.W., Macfarlane P.W., Packard C.J., Stott D.J., Westendorp R.G., Shepherd J.: Statins and risk of incident diabetes: A collaborative meta-analysis of randomised statin trials. *Lancet*, 2010; 375: 735–742
- [83] Scamuffa N., Calvo F., Chrétien M., Seidah N.G., Khatib A.M.: Proprotein convertases: Lessons from knockouts. *FASEB J.*, 2006; 20: 1954–1963
- [84] Schmidt A.F., Swerdlow D.I., Holmes M.V., Patel R.S., Fairhurst-Hunter Z., Lyall D.M., Hartwig F.P., Horta B.L., Hyppönen E., Power C., Moldovan M., van Iperen E., Hovingh G.K., Demuth I., Norman K.: PCSK9 genetic variants and risk of type 2 diabetes: A mendelian randomisation study. *Lancet Diabetes Endocrinol.*, 2017; 5: 97–105
- [85] Schmidt R.J., Beyer T.P., Bensch W.R., Qian Y.W., Lin A., Kowala M., Alborn W.E., Konrad R.J., Cao G.: Secreted proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 reduces both hepatic and extrahepatic low-density lipoprotein receptors in vivo. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 2008; 370: 634–640
- [86] Schwartz G.G., Steg P.G., Szarek M., Bhatt D.L., Bittner V.A., Diaz R., Edelberg J.M., Goodman S.G., Hanotin C., Harrington R.A., Jukema J.W., Lecorps G., Mahaffey K.W., Moryusef A., Pordy R., Quintero K., Roe M.T.: Alirocumab and cardiovascular outcomes after acute coronary syndrome. *N. Eng. J. Med.*, 2018; 379: 2097–2107
- [87] Seidah N.G.: PCSK9 as a therapeutic target of dyslipidemia. *Expert Opin. Ther. Targets*, 2009; 13: 19–28
- [88] Seidah N.G.: The proprotein convertases, 20 years later. *Methods Mol. Biol.*, 2011; 768: 23–57
- [89] Seidah N.G., Benjannet S., Wickham L., Marcinkiewicz J., Jasmin S.B., Stifani S., Basak A., Prat A., Chretien M.: The secretory proprotein convertase neural apoptosis-regulated convertase 1 (NARC-1): Liver regeneration and neuronal differentiation. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, 2003; 100: 928–933
- [90] Seidah N.G., Hamelin J., Mamarbachi M., Dong W., Tardos H., Mbikay M., Chretien M., Day R.: cDNA structure, tissue distribution, and chromosomal localization of rat PC7, a novel mammalian proprotein convertase closest to yeast kexin-like proteinases. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, 1996; 93: 3388–3393
- [91] Seidah N.G., Prat A.: The biology and therapeutic targeting of the proprotein convertases. *Nat. Rev. Drug Discov.*, 2012; 11: 367–383
- [92] Sharotri V., Collier D.M., Olson D.R., Zhou R., Snyder P.M.: Regulation of epithelial sodium channel trafficking by proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 (PCSK9). *J. Biol. Chem.*, 2012; 287: 19266–19274
- [93] Shrestha P., van de Sluis B., Dullaart R.P.F., van den Born J.: Novel aspects of PCSK9 and lipoprotein receptors in renal disease-related dyslipidemia. *Cell. Signal.*, 2019; 55: 53–64

- [94] Steffens D., Bramlage P., Scheeff C., Kasner M., Hassanein A., Friebe J., Rauch-Kröhnert U.: PCSK9 inhibitors and cardiovascular outcomes. *Expert Opin. Biol. Ther.*, 2020; 20: 35–47
- [95] Stoeckenbroek R.M., Lambert G., Cariou B., Hovingh G.K.: Inhibiting PCSK9 – biology beyond LDL control. *Nat. Rev. Endocrinol.*, 2018; 15: 52–62
- [96] Suchy D., Łabuzek K., Stadnicki A., Okopień B.: Ezetimibe – a new approach in hypercholesterolemia management. *Pharmacol. Rep.*, 2011; 63: 1335–1348
- [97] Syed G.H., Tang H., Khan M., Hassanein T., Liu J., Siddiqui A.: Hepatitis C virus stimulates low-density lipoprotein receptor expression to facilitate viral propagation. *J. Virol.*, 2014; 88: 2519–2529
- [98] Tadros H., Chrétien M., Mbikay M.: The testicular germ-cell protease PC4 is also expressed in macrophage-like cells of the ovary. *J. Reprod. Immunol.*, 2001; 49: 133–152
- [99] Tang Z.H., Peng J., Ren Z., Yang J., Li T.T., Li T.H., Wang Z., Wei D.H., Liu L.S., Zheng X.L., Jiang Z.S.: New role of PCSK9 in atherosclerotic inflammation promotion involving the TLR4/NF-κB pathway. *Atherosclerosis*, 2017; 262: 113–122
- [100] Taskinen M.R., Björnson E., Andersson L., Kahri J., Porthan K., Matikainen N., Söderlund S., Pietiläinen K., Hakkarainen A., Lundbom N., Nilsson R., Ståhlman M., Adiels M., Parini P., Packard C.: Impact of proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 inhibition with evolocumab on the postprandial responses of triglyceride-rich lipoproteins in type II diabetic subjects. *J. Clin. Lipidol.*, 2020; 14: 77–87
- [101] Tavori H., Giunzioni I., Predazzi I.M., Plubell D., Shivinsky A., Miles J., Devay R.M., Liang H., Rashid S., Linton M.F., Fazio S.: Human PCSK9 promotes hepatic lipogenesis and atherosclerosis development via apoE- and LDLR-mediated mechanisms. *Cardiovasc. Res.*, 2016, 110: 268–278
- [102] Thomas G.: Furin at the cutting edge: From protein traffic to embryogenesis and disease. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, 2002; 3: 753–766
- [103] Van Bruggen F.H., Nijhuis G.B.J., Zuidema S.U., Luijendijk H.: Serious adverse events and deaths in PCSK9 inhibitor trials reported on ClinicalTrials.gov: A systematic review. *Expert Rev. Clin. Pharmacol.*, 2020; 13: 787–796
- [104] Walley K.R., Thain K.R., Russell J.A., Reilly M.P., Meyer N.J., Ferguson J.F., Christie J.D., Nakada T.A., Fjell C.D., Thair S.A., Cirstea M.S., Boyd J.H.: PCSK9 is a critical regulator of the innate immune response and septic shock outcome. *Sci. Transl. Med.*, 2014; 6: 258ra143
- [105] Williams D.M., Finan C., Schmidt A.F., Burgess S., Hingorani A.D.: Lipid lowering and Alzheimer disease risk: A Mendelian randomization study. *Ann. Neurol.*, 2020, 87: 30–39
- [106] Wu C.Y., Tang Z.H., Jiang L., Li X.F., Jiang Z.S., Liu L.S.: PCSK9 siRNA inhibits HUVEC apoptosis induced by ox-LDL via Bcl/Bax-caspase9-caspase3 pathway. *Mol. Cell. Biochem.*, 2012, 359: 347–358
- [107] Yano H., Horinaka S., Ishimitsu T.: Effect of evolocumab therapy on coronary fibrous cap thickness assessed by optical coherence tomography in patients with acute coronary syndrome. *J. Cardiol.*, 2020; 75: 289–295
- [108] Yurtseven E., Ural D., Baysal K., Tokgözoğlu L.: An update on the role of PCSK9 in atherosclerosis. *J. Atheroscler. Thromb.*, 2020; 27: 909–918
- [109] Zheng-Lin B., Ortiz A.: Lipid management in chronic kidney disease: Systematic review of PCSK9 targeting. *Drugs*, 2018; 78: 215–229
- [110] Zimetti F., Caffarra P., Ronda N., Favari E., Adorni M.P., Zanotti I., Bernini F., Barocco F., Spallazzi M., Galimberti D., Ricci C., Ruscica M., Corsini A., Ferri N.: Increased PCSK9 cerebrospinal fluid concentrations in Alzheimer's disease. *J. Alzheimers Dis.*, 2017; 55: 315–320

Autorzy deklarują brak potencjalnych konfliktów interesów.