



PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DO PARANÁ

**ESCOLA DE MEDICINA
PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA
SAÚDE**

CYNTHIA FRANÇA WOLANSKI BORDIN

**EFICÁCIA DE ANTICORPOS MONOCLONAIS
INIBIDORES DA PCSK-9 EM PACIENTES DE ALTO
RISCO CARDIOVASCULAR: REVISÃO
SISTEMÁTICA E METANÁLISE**

**Curitiba
2018**

CYNTHIA FRANÇA WOLANSKI BORDIN

**EFICÁCIA DE ANTICORPOS MONOCLONAIS
INIBIDORES DA PCSK-9 EM PACIENTES DE
ALTO RISCO CARDIOVASCULAR: REVISÃO
SISTEMÁTICA E METANÁLISE**

Tese de doutorado apresentada
ao Curso de Pós-Graduação em
Ciências da Saúde da Pontifícia
Universidade Católica do
Paraná como requisito para a
obtenção do título de Doutor.

Orientador: Prof. Dr. José
Rocha Faria Neto

Co-orientador: Prof. Dr.
Cristina Pellegrino Baena

**Curitiba
2018**

RESUMO

Introdução - Evidências recentes mostram que os regimes de doses múltiplas de inibidores de PCSK9 são eficazes na redução do LDL colesterol, porém há necessidade de dados mais conclusivos sobre a eficácia em população de alto risco cardiovascular. O objetivo do presente estudo foi avaliar a eficácia dos anticorpos anti-PCSK9 no controle das dislipidemias, assim como o papel desta terapia nos desfechos clínicos em pacientes de alto risco cardiovascular, em ensaios clínicos randomizados.

Método: Revisão sistemática de literatura, conduzida segundo diretrizes da Cochrane para o desenvolvimento de metanálise, sendo os dados reportados de acordo com PRISMA (Preferred Reporting Items for Systematic reviews and Meta-Analysis). O levantamento foi realizado em bases de dados eletrônicas (Medline-Pubmed, Embase, Cochrane Library, CINAHL, Web of Science, Scopus, Scielo, LILACS), considerando estudos de coorte, ensaios randomizados e casos controle, sendo empregados termos relativos à população, tipos de intervenção, comparação entre diferentes terapias e desfechos. Foram incluídos estudos clínicos controlados randomizados (fase II e III), onde os critérios de inclusão indicavam claramente que apenas pacientes de alto risco cardiovascular (hipercolesterolemia familiar heterozigóticos, e equivalentes de risco de doença arterial coronária) foram recrutados. A metanálise foi conduzida por meio do software STATA® resumando os efeitos para variáveis contínuas e desfechos binários. **Resultados:** Doze estudos foram elegíveis para esta revisão sistemática, envolvendo 60674 participantes de alto risco cardiovascular. A variação percentual média da linha de base (IC 95%) para LDL-C, Lp (a), HDL-C, APO B, Lipo (a), triglicérides, não HDL-C e colesterol total foram -52,38 (-55,18; -49,57), 6,97 (5,86; 9,09) %, -41,11 (-46,36; -35,86) %, -29,02 (-34,10; -23,94) %, -13,13 (-15,77; -10,50) %, -43,75 (-47,03; -40,47) %, -32,70 (-35,21; -30,19)%, respectivamente. Considerando a análise dos desfechos binários o RR (95%) para evento cardiovascular maior foi de 0,8 (0,83; 0,93), $I^2 = 0\%$ ($p = 0,905$), mortes por doença cardiovascular foi de 0,88 (0,67; 1,16), $I^2 = 0\%$ ($p = 0,347$) e para morte por qualquer causa foi de 0,88 (0,72, 1,19), $I^2 = 47,8\%$ ($p = 0,053$) comparando inibidores de PCSK9 com placebo ou com terapia padrão. Não foram encontrados resultados significativos para outros eventos adversos.

Conclusão: os inibidores de PCSK9 são eficazes na melhoria dos lipídios plasmáticos, assim como na redução de eventos cardiovasculares maiores em populações de alto risco.

Palavras-chave: inibidores de PCSK9, hipercolesterolemia, alto risco cardiovascular

ABSTRACT

Background - Recent evidence shows that multiple dose regimens of PCSK9 inhibitors are effective in lowering LDL cholesterol in general populations however evidence is lacking in high cardiovascular risk populations. Our aim was to evaluate the efficacy of anti-PCSK9 antibodies in randomized controlled trials focusing on high risk profile populations.

Methods: Electronic searches in MEDLINE/ PubMed, Embase, The Cochrane Library, CINAHL, Web of Science, Scopus, SciELO and LILACS and recent conferences were conducted. Working in pairs we included randomized clinical controlled trials reporting data on anti-PCSK9 antibodies versus placebo or current therapy in high-risk patients (heterozygous FH, established and CHD risk-equivalent). We pooled rates of common adverse events and percentages of LDL-C lowering as other lipid changes from baseline. Random effects were used to summarize pooled data.

Results: Twelve studies were eligible to our systematic review involving 60674 high CVD risk participants. Mean percent change from baseline (95% CI) for LDLC, Lp(a), HDLC, APO B Lipo(a), triglycerides, non HDLC, and total cholesterol were -52.38 (-55.18; -49.57), 6.97 (5.86;9.09) %., -41,11 (-46,36; -35,86) %, -29.02 (-34.10; -23.94)%., -13.13(-15.77; -10.50)%, -43.75 (-47.03;-40.47)%., -32.70(-35.21;-30.19)%., respectively. Summarized RR (95%) for MACE 0.8 (0.83;0.93), $I^2 = 0$ % ($p = 0.905$), CHD deaths was 0.88 (0.67;1.16), $I^2 = 0$ % ($p = 0.347$), and for all cause death were 0.88 (0.72, 1.19), $I^2 = 47.8$ % ($p = 0.053$) comparing PCSK9 inhibitors to placebo or any other therapy. We did not find significant results for other adverse events.

Conclusion: PCSK9 inhibitors are effective in improving plasma lipids but most importantly major adverse cardiovascular events in high risk populations.

Keywords: PCSK9 inhibitors, hypercholesterolemia, high cardiovascular risk

APRESENTAÇÃO DA TESE

A presente tese é composta por capítulos. O capítulo 1 apresenta uma introdução geral, a contextualização do tema, os objetivos, método e discussão do presente estudo. O capítulo 2 apresenta o artigo formatado nas normas Heart BMJ. O capítulo 3 finaliza esta tese com as considerações finais do presente estudo.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ANVISA:	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
APO (a):	Apolipoproteína (a)
APO B:	Apolipoproteína B
AVE:	Acidente Vascular Encefálico
CHD	Coronary Heart Disease
CT:	Colesterol total
DCC:	Doença Coronária Cardíaca
ECM:	Evento Cardiovascular Maior
EGF-A:	Fator de crescimento epidérmico de repetição do domínio A
HDL:	High Density Lipoprotein
HDLC:	Colesterol HDL
HF:	Hipercolesterolemia Familiar
HFHe:	Hipercolesterolemia Familiar Heterozigótica
IAM:	Infarto Agudo do Miocárdio
IC:	Intervalo de Confiança
IDL:	Intermediate Density Lipoprotein
IM:	Infarto do Miocárdio
LDL:	Low Density Lipoprotein
LDLC :	Low Density Lipoprotein Cholesterol
LDLR:	Receptores de LDL
Lp(a):	Lipoproteína a
MACE:	Major Adverse Cardiovascular Event
RR:	Razão de Risco
TG:	Triglicérides
VLDL:	Very Low Density Lipoprotein

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1	11
1. INTRODUÇÃO	11
1.1 Dislipidemias como fator de risco cardiovascular.....	11
1.2 Pró-proteína Convertase Subtilisina/Kexin Tipo 9 (PCSK9)	15
1.3 Inibição da PCSK9 como alternativa terapêutica	18
1.4 Justificativa	21
1.5 Objetivo.....	22
2. MÉTODO	22
2.1 Seleção estudo.....	23
2.2 Extração dos dados e qualidade de avaliação.....	24
2.3 Análise estatística.....	25
3. DISCUSSÃO	26
CAPÍTULO 2 EFFICACY OF ANTI-PCSK-9 MONOCLONAL ANTIBODIES IN HIGH-RISK PATIENTS: SYSTEMATIC REVIEW AND META-ANALYSIS	30
CAPÍTULO 3 CONSIÇÕES FINAIS	60
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	62

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Modelo de classificação mediada por PCSK9 LDLR aos lisossomos...	17
Figura 2: Mecanismos de inibição da PCSK9.....	19
Figure 1: Study Flow Diagram.....	48
Figure 2: Major Cardiovascular Events – MACE.....	49
Figure 3: Coronary death.....	49
Figure 4: Fatal and non-fatal stroke.....	50
Figure 5: Non-fatal Myocardial Infarction (MI).....	50
Figure 6: All causes death.....	51
Figure 7: LDL % change.....	51
Figure 8: Lipo(a) % change.....	52
Figure 9: HDL% change.....	53
Figure 10:Triglycerides% change.....	54
Figure 11 Total cholesterol% change.	55
Figure 12: Non-HDL cholesterol% change.....	55
Figure 13: APO B% change	56
Figura 14: Funnel plot with pseudo 95% confidence limits for MACE.....	57
Figura 15: Quality of included studies.....	58
Figure 16: Univariate metaregression of age at baseline and PCSK9 monoclonal antibody inhibitors effect sizes on LDL absolute reduction in mg/Dl.....	59
Figure 17 Univariate metaregression of LDL levels at baseline and PCSK9 monoclonal antibody inhibitors effect sizes on LDL absolute reduction in mg/dL..	59

LISTA DE QUADROS

Quadro 1: Diferentes mAb inibidores da PCSK9 em estudo.....	23
---	----

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Valores referenciais do perfil lipídico e de alvo terapêutico, conforme avaliação de risco cardiovascular, para adultos com mais de 20 anos.....	15
Tabela 2: Diferentes mAb inibidores da PCSK9 em estudo.....	21
Tabela 3: Estudos que atenderam os critérios de seleção incluídos na metanálise.....	24

CAPÍTULO 1

1. INTRODUÇÃO

Os lipídes correspondem a um grupo heterogêneo de moléculas, com característica apolar e que possuem funções estruturais e reguladoras de diversos processos do organismo. Os lipídes que apresentam funções mais relevantes, considerando o ponto de vista fisiológico e clínico, são os fosfolipídios, colesterol, ácidos graxos e triglicerídeos ¹⁻³.

Observando-se a relação da alteração dos níveis séricos de lipídes com a avaliação de risco cardiovascular, destacam-se as lipoproteínas, estruturas que permitem o transporte dos lipídes no meio plasmático. É possível categorizar as lipoproteínas, levando-se em consideração o tamanho das partículas, e sua densidade. O grupo de lipoproteínas constituído por maior quantidade de triglicerídeos, com maior diâmetro e menos densas, são representadas pelos quilomícrons e proteínas de muito baixa densidade denominada “Very Low Density Lipoprotein” (VLDL). O grupo de lipoproteínas, cuja constituição é rica em colesterol, e com partículas de menor tamanho e maior densidade, correspondem às lipoproteínas de alta e de baixa densidade, respectivamente “High Density Lipoprotein” (HDL) e “Low Density Lipoprotein” (LDL). Menciona-se ainda a lipoproteína de densidade intermediária, denominada “Intermediate Density Lipoprotein” (IDL), e Lipoproteína (a) - Lp(a) que corresponde à ligação covalente entre LDL e Apolipoproteína a (apo a), cuja função fisiológica não está totalmente elucidada, mas estudos tem demonstrado a relação desta lipoproteína com a instalação e progressão da doença aterosclerótica ^{1,3-5}.

1.1 Dislipidemias como fator de risco cardiovascular

Segundo a Organização Panamericana da Saúde, em 2012, cerca de 17,5 milhões de pessoas morreram por doenças cardiovasculares, o que corresponde a 31% dos óbitos em nível mundial. ⁶

Os eventos cardiovasculares acometem coração e vasos sanguíneos, e incluem as doenças: coronária, cerebrovascular, arterial periférica e insuficiência cardíaca ⁶.

Com o objetivo de estimar a gravidade da doença cardiovascular, são empregados escores para a avaliação do risco associado a estas, por meio da aplicação de algoritmos como o escore de risco de Framingham, escore de risco de Reynolds, escore de risco global, e o risco pelo tempo de vida. Cada uma destes algoritmos apresenta peculiaridades na classificação dos riscos, sendo que a combinação dos escores obtidos conduz a uma aproximação mais confiável quanto ao risco cardiovascular ³.

Desta forma, os pacientes podem ser classificados de acordo com a estratificação do risco cardiovascular. Os pacientes considerados de baixo risco são aqueles cuja probabilidade de evento cardiovasculares é menor do que 5% em 10 anos. Os pacientes estratificados como risco intermediário, apresentam o risco de ocorrência de algum dos eventos cardiovasculares maior ou igual a 5% e menor ou igual a 20% para homens, e maior ou igual a 5% e menor ou igual a 10% para mulheres, além daqueles classificados como baixo risco, porém com histórico familiar de doença vascular prematura. Os pacientes com risco calculado maior do que 20% para homens e 10% para mulheres, são classificados como de alto risco. O percentual de risco é calculado através da aplicação do algoritmo do Escore de Risco Global ³.

Inúmeros fatores compõem os algoritmos para escore de risco cardiovascular, como tabagismo, diabetes, obesidade e sobrepeso, sedentarismo, etilismo, hipertensão e dislipidemias ⁶. As dislipidemias são apontadas como uma importante causa para a ocorrência de eventos cardíacos e cerebrovasculares, sendo que a associação entre este distúrbio e a doença aterosclerótica é consenso nos estudos relativos à prevenção de risco cardiovascular ³.

A aterosclerose resulta de respostas celulares e moleculares, tendo uma evolução lenta e progressiva, sendo de característica multifatorial. O desequilíbrio no metabolismo dos lípidos, associado à resposta inflamatória e imunológica, conduz à lesão endotelial desencadeada pelo acúmulo de LDL nas paredes dos vasos. Níveis alterados da LDL constituem em fator crítico para a formação da placa aterogênica, uma vez que estas lipoproteínas, por apresentarem dimensões reduzidas comparativamente às de outras lipoproteínas, apresentam maior facilidade em atravessar a parede dos vasos sanguíneos, desencadeando a formação de ânions superóxido pelo endotélio vascular. Estes ânions

desencadeiam alterações na estrutura da LDL, gerando a LDL modificada (LDLm), que se infiltra na camada íntima, e sob ação de enzimas oxidantes gera a LDL oxidada (LDLox), responsável pela indução de respostas inflamatória e imunológicas, que culminam na formação das células espumosas seguida da amplificação da resposta inflamatória local. A associação destes eventos é responsável pela formação da placa aterosclerótica, fator relevante para o desencadeamento de evento cardiovascular maior (ECM) ^{1,3,7}.

Estudos evidenciam a relevância do controle dos níveis plasmáticos de LDLC como fator de intervenção na redução do risco cardiovascular. Estudos indicam uma relação direta entre baixos níveis de colesterol, particularmente LDLC, e redução de desfechos cardiovasculares. O controle do nível de LDLC precoce conduz a redução do risco de ocorrência de eventos cardiovasculares, comparativamente à intervenção tardia nos níveis de lípidos. A redução de eventos cardiovasculares se relacionada de forma direta à baixos níveis de LDLC. Achados sugerem que reduções de 77 a 116 mg/dL nos níveis de LDLC, independente dos níveis basais, reduzem a probabilidade de ocorrência de eventos cardiovasculares em 40 a 50%. Portanto, para pacientes com alto risco de eventos vasculares oclusivos, a redução do colesterol LDLC deve ser estabelecida como meta ^{1,3,8-10}. Diante do exposto, o controle dos níveis séricos da LDL é reconhecido atualmente, como principal estratégia para redução da ocorrência de ECM ^{1,3,11-14}.

Fisiologicamente, os níveis séricos desta lipoproteína, estão relacionados à interação com receptores de LDL (LDLR), presentes em células hepáticas e órgãos alvo. As estatinas, constituem na principal terapia farmacológica preconizada atualmente, e atuam por inibição da Hidroximetilglutaril Coenzima A redutase (HMG-CoA redutase), enzima que possui um papel chave na síntese do colesterol endógeno. Com a inibição da atividade da enzima, a síntese do colesterol endógeno é inibida, desencadeando a expressão dos LDLR, objetivando a captação e aumento do clearance de LDL, VLDL e IDL séricos.

Dados demonstram que 76% dos pacientes com alto risco cardiovascular, não atingem níveis de LDL menores do que 70mg/dL, 80% dos pacientes intolerantes à terapia com estatinas e 79% dos pacientes com hipercolestolemia familiar (HFHe) não atingem níveis de LDL menores do que 100mg/dL ¹⁵⁻¹⁷

Recentemente, com a descoberta do papel da Pró-proteína Convertase Subtilisina/Kexina Tipo 9 (PCSK9) no controle da expressão dos LDLR, um novo alvo terapêutico se apresenta para o controle da hipercolesterolemia, em especial para os pacientes intolerantes e refratários à terapia convencional com estatinas ^{1,3,18}

Considerando os diversos estudos conduzidos nas últimas décadas, é possível observar que a doença cardiovascular continua a ser a principal causa de morbidade e mortalidade na população mundial, que os fatores envolvidos no incremento do risco cardiovascular estejam bem determinados ^{19,20}. Os principais fatores de risco para a doença cardiovascular incluem a hipertensão, a hiperlipidemia, o tabagismo e o diabetes mellitus (DM). A hiperlipidemia está associada à doença coronariana em 50% dos casos, estando os níveis plasmáticos de colesterol total, LDLC e triglicérides (TG) diretamente relacionados com a formação das placas ateroscleróticas ²¹.

A redução do LDLC consiste em uma das medidas mais importantes no controle da doença aterosclerótica e na redução de risco cardiovascular, visto que sua concentração plasmática é considerada um preditor independente de Infarto Agudo do Miocárdio (IAM) A redução dos níveis da concentração de LDLC tem sido apoiada por resultados obtidos em ensaios clínicos, conduzindo a respostas eficazes relacionadas a cardio-proteção, redução do risco de complicações, como IAM e AVE ^{9,22,23}.

Considerando as atuais evidências, a avaliação dos níveis plasmáticos do LDLC configura um alvo para o controle das dislipidemias, sendo a recomendação para pacientes de alto risco cardiovascular reduzir o LDLC a níveis menores do que 100 mg/dL para os pacientes estratificados como risco cardiovascular intermediário, e a níveis menores do que 70mg/dL, para pacientes de alto risco cardiovascular ^{3,23-25}.

Segundo a Atualização da Diretriz Brasileira de Dislipidemia e Prevenção da Aterosclerose – 2017, os valores referenciais para acompanhamento do perfil lipídico associado ao risco cardiovascular estão descritos na Tabela 1 ^{1,3}.

Com a finalidade de controle dos níveis de LDLC, as estatinas são consideradas a terapia de primeira linha para pacientes com maior risco de desenvolvimento de doença aterosclerótica, tanto para a prevenção do

desenvolvimento da placa aterosclerótica, quanto no controle da progressão da doença coronária ^{22,23,26}.

Alguns pacientes dislipidêmicos, em tratamento com estatinas, não atingem os níveis estabelecidos de LDLC, mesmo quando se aplica tratamento intensivo com estatinas ou a associação de medicamentos para redução do LDLC. Além da resposta terapêutica inadequada, estima-se que 10 a 20% dos pacientes não toleram os efeitos adversos relacionados às estatinas, especialmente a miopatia, que possui um amplo espectro clínico, podendo variar desde mialgia até a rabdomiólise ^{22,23,26}.

Tabela 1: Valores referenciais do perfil lipídico e de alvo terapêutico, conforme avaliação de risco cardiovascular, para adultos com mais de 20 anos.

Lípides	Com Jejum (mg/dL)	Sem Jejum (mg/dL)	Categoria referencial
Colesterol total	<190	<190	Desejável
HDLC	> 40	>40	Desejável
Triglicéides	<150	<175	Desejável
Categoria de Risco			
LDLC	<130	<130	Baixo
	<100	<100	Intermediário
	<70	<70	Alto
	<50	<50	Muito Alto
Não HDLC	<160	<160	Baixo
	<130	<130	Intermediário
	<100	<100	Alto
	<80	<80	Muito Alto

Fonte: Atualização da Diretriz Brasileira de Dislipidemia e Prevenção da Aterosclerose – 2017³

1.2 Pró-proteína convertase Subtilisina/Kexin Tipo 9 (PCSK9)

Uma alternativa para o controle dos níveis de LDLC, para os pacientes não responsivos ou mesmo intolerantes à terapia com estatinas, passou a ser investigada a partir da descoberta da relação dos níveis da pró-proteína convertase Subtilisina/Kexin Tipo 9 (PCSK9) com a expressão dos receptores de LDL (LDLR) ^{26–28}.

A Pró-proteína Convertase Subtilisina/Kexina Tipo 9 (PCSK9), codificada nos seres humanos pelo gene PCSK9(1), pertencente à subfamília proteinase K

da família subtilase secretora. Sugere-se que a PCSK9 apresenta função na regeneração hepática e na diferenciação de neurônios corticais, e atua na homeostase do LDLC ²⁹⁻³⁵. Esta é sintetizada na forma inativa (proPCSK9), em seguida este precursor é clivado por autocatálise formando um heterodímero estável. A autocatálise ocorre no retículo endoplasmático, liberando a forma ativa da enzima. O processo de clivagem é essencial tanto para a ativação quanto para a liberação do retículo endoplasmático. A forma ativa da enzima se liga aos LDLR, permitindo que o complexo LDL/LDLR seja internalizado para posterior degradação lisossomal. Ao reduzir a quantidade de LDLR na superfície dos hepatócitos e promover a “down regulation” destes, a PCSK9 aumenta os níveis plasmáticos da LDL. Desta forma, a PCSK9 atua na regulação da homeostase do colesterol ^{30,32,36}.

A regulação dos LDLR depende da ligação da PCSK9 ao fator de crescimento epidérmico de repetição do domínio A (EGF-A) do LDLR. A figura 1 apresenta o modelo do domínio EGFa do receptor LDL, necessário para a reciclagem do LDLR. O domínio EGFa pode conter um sinal de classificação que interage com uma proteína endossomal, direcionando o receptor LDL de volta à superfície celular em endosomas de reciclagem. A ligação da PCSK9 pode interferir com esse sinal, impedindo o retorno do LDLR à membrana celular. A PCSK9 sinaliza de forma alternativa, resultando no direcionamento do complexo PCSK9-LDLR para os lisossomas ³³.

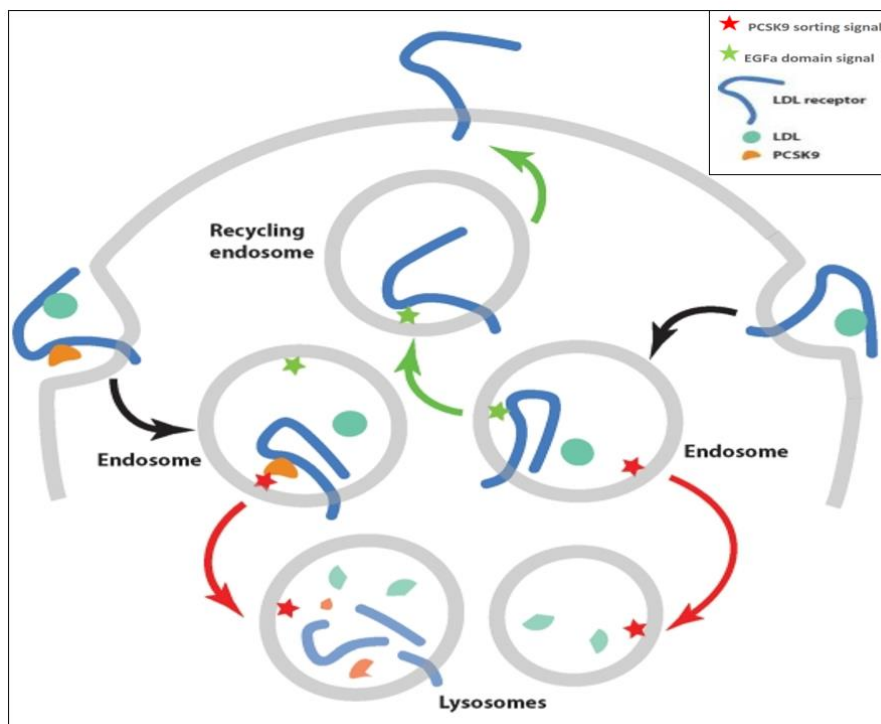


Figura 1: Modelo de classificação mediada por PCSK9 LDLR aos lisossomos. Adaptado de Peterson et al ³³.

Com a redução do número de receptores, a depuração das lipoproteínas, especialmente LDL, é reduzida, conseqüentemente levando a hipercolesterolemia e aumentando a susceptibilidade à doença coronária ^{29,35,37-39}.

O marco inicial dos estudos da relação da PCSK9 com a depuração da LDLC ocorreu em 2003, quando Abifadel et al. detectaram três famílias na França, acometidas por hipercolesterolemia familiar associada ao aumento da expressão e função da PCSK9, devido à mutação do gene que a uma forma agressiva de hipercolesterolemia familiar (HF) autossômica dominante. Vale ressaltar que o estudo em questão descartou como causas para a HF, mutações no LDLR e na Apolipoproteína B (ApoB) ^{32,35}.

Em estudos referentes à avaliação do risco de aterosclerose, Cohen et al. relacionaram mutação com perda de função da PCSK9 com níveis extremamente reduzidos de LDLC, em função do aumento da disponibilidade de LDLR, convergindo para a proteção contra doença cardíaca coronária. Sumarizando, mutações que levam ao incremento da expressão e da função da PCSK9 se relacionam com a redução dos níveis de LDLR no fígado, o que conduz ao aumento do LDLC circulante, e conseqüentemente, ao maior risco cardiovascular. Em oposição ao descrito, mutações que levam à redução

expressão da PCSK9 se relacionam ao aumento dos níveis do LDLR, redução do LDLC, resultando em redução do risco cardiovascular. A diminuição da função da PCSK9 não demonstra correlação com outras respostas adversas^{30,31,33-35}. Além da função regulatória sobre os LDLR exercida pela PCSK9, estudos demonstram que os níveis de mRNA de PCSK9 respondem aos níveis de colesterol celular através do fator de transcrição SREBP-2^{40,41}.

Uma vez estabelecida a relação entre a HF autossômica dominante e o ganho de função na PCSK9, o objetivo dos estudos passou à identificação de mutações relacionadas a atividade da enzima. Foram apontados os domínios D374Y e S127R como relevantes no estudo da atividade da enzima³³.

A mutação no domínio D374Y aumenta a afinidade da PCSK9 pelo LDLR, apresentando correlação com a potência da enzima na redução dos receptores. Já, estudos bioquímicos da mutação no domínio S127R revelaram pouco impacto na afinidade da PCSK9 com o LDLR. No entanto, o mutante S127R também reduz potencialmente os números dos receptores de LDL^{33,42}.

Desta forma, os estudos se direcionaram no sentido de explorar a PCSK9 como um potencial alvo terapêutico para o controle da hipercolesterolemia³⁰⁻³⁵.

1.3 Inibição da PCSK9 como alternativa terapêutica

Na busca por alternativas terapêuticas para o controle da hipercolesterolemia, foram consideradas o bloqueio da síntese da PCSK9 e a inibição da enzima, trazendo como consequência o aumento do nível dos LDLR. Desta forma, são considerados os seguintes mecanismos de inibição: pequenos interferentes de ácido ribonucleico (siRNA) e pequenos inibidores moleculares, que constituem em mecanismos intracelulares de inibição da PCSK9. Por outro lado, peptídeos miméticos e anticorpos monoclonais (mAb), exercem inibição extracelular da PCSK9. A Figura 2, apresenta a descrição dos mecanismos envolvidos com a Inibição da PCSK9^{43,44}.

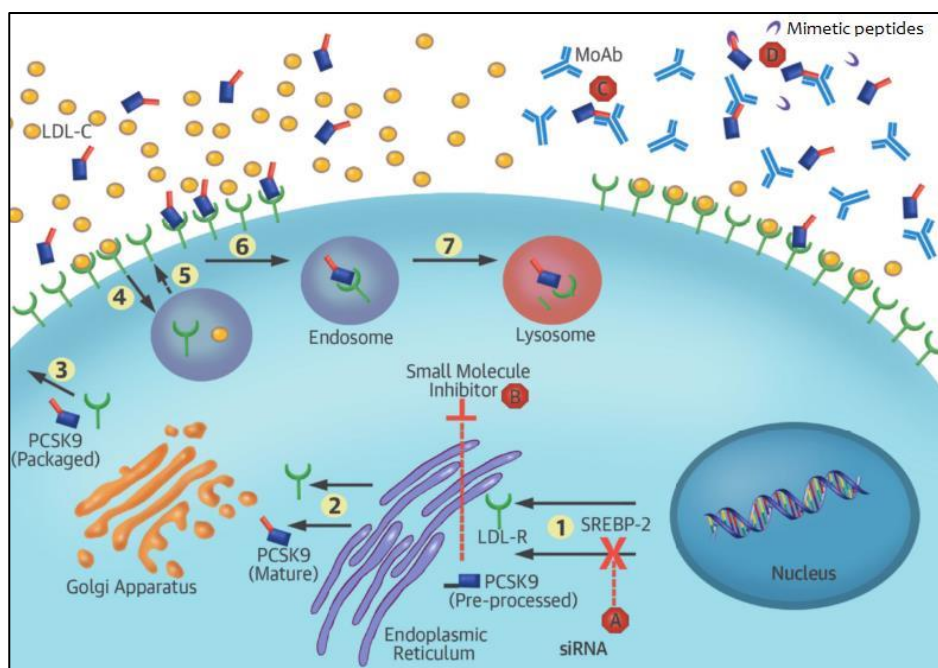


Figura 2 adaptada de Giugliano et al., 2015. Mecanismos de inibição da PCSK9. Etapa 1: Regulação da transcrição de diversos lípidos e proteínas como LDLR e PCSK9. Etapa 2: processamento da PCSK9 no retículo endoplasmático. Etapa 3: passagem pelo complexo de Golgi. Etapa 4: Ligação do LDLC aos LDLRs e internalização do em endossomas. Etapa 5: LDLR retorna para a superfície celular. Etapa 6: PCSK9 regula o nível de LDLRs. Etapa 7: Destruição dos LDLRs no lisossoma. Mecanismos de inibição da PCSK9 octógono vermelho (A): pequenos interferentes de RNA (siRNAs) podem bloquear a transcrição do RNA mensageiro da PCSK9. (B) Pequenos inibidores moleculares podem interromper o processamento de PCSK9. (C) Inibição da função extracelular da PCSK9 por anticorpos monoclonais. (D) Peptídeos miméticos que impedem a ligação da PCSK9 com o LDLR ⁴³.

Considerando as possibilidades de inibição da PCSK9, até o presente momento, a inibição extracelular por mAb anti-PCSK9 tem se mostrado mais promissora ^{43,44}.

Anticorpos monoclonais (mAb) quando empregados com finalidade terapêutica, são denominados de fármacos biológicos. Correspondem à glicoproteínas do grupo das imunoglobulinas, produzidas por um único clone de um único linfócito B parental, que é clonado e imortalizado. Apresentam similaridade em estrutura, propriedades físico-químicas, biológicas, especificidade e afinidade, ligando-se ao mesmo epítipo no antígeno. Os avanços alcançados nas técnicas de desenvolvimentos de fármacos de origem biológica, permitiu a evolução dos mAb, no que se refere à constituição dos mesmos, assim como às técnicas de obtenção. Inicialmente, estes eram do tipo murino (Sufixo -omAb), passando a quiméricos (Sufixo -ximAb), humanizados (Sufixo -zumAb) e por fins humanos (Sufixo -umAb) ^{45,46}.

Em 2009 o primeiro anticorpo monoclonal humano direcionado a inibição da PCSK9 foi submetido a ensaios clínicos. Os anticorpos monoclonais humanos, em comparação aos humanizados e quiméricos, apresentaram menor incidência de efeitos adversos. Em 2012, resultados positivos na redução dos níveis do LDLC foram publicados, consolidando a inibição por anticorpos monoclonais da PCSK9 como uma alternativa terapêutica no controle das dislipidemias ^{28,47}

Considerando, que apesar da terapia com estatinas ser validada por estudos clínicos para redução da incidência de eventos cardiovasculares, os resultados previstos não são atingidos de 10 a 20% dos casos. Neste sentido, a inibição da pró-proteína PCSK9 para controle de hiperlipidemia passou a ser explorada como opção terapêutica para os referidos casos ^{26,28,31}.

Estudos com mAb, capazes de bloquear a interação do PCSK9 com o LDLR, demonstraram uma redução significativa dos níveis de LDLC e bom perfil de segurança em curto prazo. Estudos clínicos de Fases I, II e III demonstraram uma redução proporcional na incidência de doença coronária e em eventos cardiovasculares, bem como, um maior percentual de pacientes que atingiram níveis de LDLC menores de 70 mg/dl em uma população de alto risco, comparativamente aos pacientes em tratamento com estatina em monoterapia ²⁸.

O emprego de terapia com mAb anti PCSK9 demonstraram eficácia e tolerabilidade consistentes, além de efeitos positivos em outros parâmetros do perfil lipídico, tais como colesterol total, triglicérides, HDLC, Apolipoproteína B e Lp (a) ²⁸.

Recentemente, dois anticorpos monoclonais inibidores da PCSK9, totalmente humanos, foram aprovados para comercialização no Brasil, o AlirocumAbe ⁴⁸ e EvolocumAbe ⁴⁹. Esta classe farmacológica é indicada especificamente para o tratamento de pacientes com alto risco cardiovascular, em tratamento otimizado em monoterapia com estatina na maior dose tolerada, ou associada a ezetimiba, que não obtiveram êxito em relação ao nível de LDLC ^{50,51}.

Tabela 2: Diferentes mAb inibidores da PCSK9 em estudo.

Fármaco/ fármaco em desenvolvimento	Agente	Indicação	Fase de estudo	Patrocinador
Alirocumab	mAb totalmente humano	hipercolesterolemia	Aprovado	Sanofi / Regeneron
Evolucumab	mAb totalmente humano	hipercolesterolemia	Aprovado	Amgen
Bococizumab	mAb humanizado	hipercolesterolemia	Fase III (estudo descontinuado)	Pfizer
LGT-209	mAb	hipercolesterolemia	Fase II	Novartis
LY3015014	mAb	hipercolesterolemia	Fase II	Eli Lilly
ID-05Ig ₂	mAb	hipercolesterolemia	Fase II	Merck
1B20	mAb	hipercolesterolemia	Fase II	Merck

Fonte: adaptado de Banerjee *et al.*, 2016 ⁵²

Tanto o EvolocumAbe quanto AlirocumAbe, foram aprovados na União Européia, indicados para uso em pacientes com hipercolesterolemia familiar e não familiar e em pacientes com dislipidemia mista, já em monoterapia com estatina ou outra medicação hiperlipidêmica, mas que não tenham atingindo níveis de LDLC alvo ^{50,51}.

Os ensaios clínicos do BococizumAbe, foram interrompidos antecipadamente durante a fase III, pelo patrocinador do estudo, em decorrência das taxas de anticorpo antidroga detectadas ⁵³.

Revisões sistemáticas anteriores e metanálises relataram benefícios significativos para resultados cardiovasculares ao comparar regimes de doses múltiplas de inibidores de PCSK9 para placebo ou terapias de redução de LDLC padrão ^{28,30}.

No entanto, existe a necessidade de avaliação dos resultados terapêuticos relativos às populações de alto risco, para qual esta terapia é indicada.

1.4 Justificativa

O controle dos níveis séricos de lípidos constitui no principal alvo na prevenção de doença cardiovascular, especialmente no que se refere ao LDLC, por ser a lipoproteína aterogênica primária. Dentre o arsenal farmacoterapêutico, as estatinas, atualmente se apresentam como os agentes de maior efetividade

na redução do LDLC. Para os pacientes com alto risco cardiovascular, recomenda-se a prescrição de terapia com estatina de alta intensidade. Estudos demonstram que apesar do emprego da terapia recomendada, alguns pacientes de alto risco cardiovascular, não atingem os níveis estabelecidos para LDLC, quer por intolerância às estatinas, ou ainda devido aos níveis basais muito elevados, como o que se observa na HF. A associação de terapia com ezetimiba, para tais pacientes, mostra reduções limitadas nos níveis de LDLC ⁵⁴⁻⁵⁶

Neste cenário, a descoberta do papel da PCSK9, na regulação dos LDLR, e o desenvolvimento de anticorpos monoclonais da referida proteína, configuram em uma alternativa promissora para o controle dos níveis de LDLC em pacientes de alto risco e intolerantes ou refratários à terapia usual.

1.5 Objetivo

O objetivo deste estudo foi realizar uma revisão sistemática e metanálise de ensaios clínicos randomizados controlados, para fornecer uma avaliação confiável dos principais benefícios da inibição de PCSK9 com foco em pacientes de alto risco. Além da avaliação do efeito da terapia sobre os níveis plasmáticos de LDLC, Lipo (a), HDLC, TG, Apo B, não HDL-C e colesterol total, o presente estudo avaliou o efeito da terapia sobre desfechos clínicos

2.MÉTODOS

Esta revisão sistemática de literatura foi conduzida segundo diretrizes da Cochrane para o desenvolvimento de metanálise, e os dados reportados de acordo com PRISMA (Preferred Reporting Items for Systematic reviews and Meta-Analysis).

O levantamento foi realizado em bases de dados eletrônicas (Medline-Pubmed, Embase, Cochrane Library, CINAHL, Web of Science, Scopus, Scielo, LILACS), sendo empregados termos de acordo com Medical Subject Headings (MeSH). Foram considerados estudos de coorte, ensaios randomizados e casos controle, sendo empregados termos relativos à população, tipos de intervenção, comparação entre diferentes terapias e desfechos. Os termos empregados na busca das publicações estão descritos no Quadro 1.

População	Adults OR familial hypercholesterolemia OR human OR statin intolerance OR hypercholesterolemia OR Heterozygote OR Homozygote
Intervenção	Proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 OR PCSK9 protein, human [Supplementary Concept] OR PCSK9 OR biomarker OR Proprotein Convertases/antagonists & inhibitors OR Hypercholesterolemia/drug therapy OR Antibodies, Monoclonal OR REGN727 monoclonal antibody OR Proprotein Convertases OR PCSK9 protein, human OR Anticholesteremic Agents/therapeutic use OR Dyslipidemias/drug therapy OR AMG 145 OR Anticholesteremic Agents OR Serine Endopeptidases OR Proprotein Convertases/immunology OR Dyslipidemias/drug therapy OR SAR236553/REGN727 OR serine proteases or PCSK9 antibody OR evolocumab OR Alirocumab OR bococizumab
Comparações	Genetic Therapy/methods OR Dyslipidemias/drug therapy OR Hydroxymethylglutaryl-CoA Reductase Inhibitors OR Hypercholesterolemia/drug therapy OR Cholesterol, LDL/antagonists & inhibitors OR Immunoglobulin G OR Azetidines/therapeutic use OR Hydroxymethylglutaryl-CoA Reductase Inhibitors/therapeutic use OR ezetimibe OR Hypolipidemic Agents OR Apolipoproteins B/blood OR atorvastatin OR apolipoprotein-B OR statin OR Cholesterol-lowering drugs
Desfecho	Low-density lipoprotein cholesterol OR coronary heart disease OR Treatment Outcome OR Cholesterol, LDL/blood OR Cholesterol, HDL/blood OR Dyslipidemias/blood OR Lipoprotein(a)/blood OR low-density lipoprotein cholestero OR LDL-C OR hypercolesterolemia OR dyslipidemia OR lipids
Tipo de Estudo	Clinical Trial[pt] OR Randomized Controlled Trial[pt] OR controlled clinical trial [pt] OR randomized [tiab] OR placebo [tiab] OR randomly [tiab] OR trial [tiab] OR groups [tiab] OR Comparative Study[pt] OR Compar*[tiab] OR Clinical Trial*[tiab] OR Evaluation Studies[pt] OR Evaluat*[tiab] OR Effectiv*[tiab] OR utilit*[tiab] OR Validation Studies[pt] OR Validat*[tiab] OR reliab*[tiab] OR relevan*[tiab] OR Multicenter Study OR Double-Blind Method OR Cohort Studies OR Dose-Response Relationship, Drug OR Drug Therapy, Combination OR Drug Synergism

Quadro 1: Descritores para busca e seleção dos artigos.

Fonte: Os autores, 2017

2.1 Seleção estudo

A análise dos títulos, resumos e textos completos, em consonância com os critérios de seleção previamente estabelecidos, foi realizada por dois revisores independentes, que trabalharam em conjunto.

Foram incluídos estudos clínicos controlados randomizados (fase II e III), onde os critérios de inclusão indicavam claramente que apenas pacientes de alto

risco cardiovascular (hipercolesterolemia familiar heterozigóticos, e equivalentes de risco de doença arterial coronária) foram recrutados. Foram excluídos os estudos envolvendo modelos animais e com desenho observacional. Também foram excluídos os resultados dos participantes com hipercolesterolemia familiar homozigótica. Os estudos selecionados estão apresentados na Tabela 3.

Tabela 3: Estudos que atenderam os critérios de seleção incluídos na metanálise

Estudo	Controle	Droga	dose 1 (mg)	População	Idade baseline (DP)	Seguimento (semanas)
Rutherford I	placebo	Evolocumabe	350	HF heterozigota	49,3 (11,3)	12
Yukawa	placebo	Evolocumabe	70	não HF + HF heterozigota	61,5 (9,7)	12
Yukawa	placebo	Evolocumabe	280	não HF + HF heterozigota	61,5 (9,7)	12
Rutherford II	placebo	Evolocumabe	140	HF heterozigota	51,1 (14,2)	12
Rutherford II	placebo	Evolocumabe	420	HF heterozigota	48,8 (12,1)	12
Odyssey Combo I	placebo	Alirocumabe	75	não HF	63 (8,8)	60
Odyssey Combo II	ezetimiba	Alirocumabe	75	não HF	61,3 (9,2)	104
Odyssey Long Term	placebo	Alirocumabe	150	não HF + HF heterozigota	60,6 (10,4)	86
Odyssey Options I	ezetimiba	Alirocumabe	75	não HF	65,7 (9)	32
Odyssey Options II	ezetimiba	Alirocumabe	75	não HF	64,4 (10,4)	32
Odyssey High FH	placebo	Alirocumabe	150	HF heterozigota	52,1 (11,2)	78
Odyssey FH I e FH II	placebo	Alirocumabe	75	HF heterozigota	51,7 (12,3)	78
Spire I	placebo	Bococizumabe	150	evento CV prévio	63,3 (9,2)	31
Spire II	placebo	Bococizumabe	150	evento CV prévio	62,6 (9,5)	54
Fourier	placebo	Evolocumabe	140	evento CV prévio	62,5 (8,9)	119

Fonte: 18–27,57,58

2.2 Extração dos dados e qualidade de avaliação

Os dados relacionados aos objetivos do presente estudo, foram extraídos, devidamente codificados, e registrados em formulário de abstração de dados pré-desenhado. Para tanto, dois revisores extraíram, de forma independente,

informações sobre características dos estudos e participantes, grupos intervenção e controle, resultados, análise e conclusões. As características dos estudos registradas incluíram: autor, ano de publicação, origem geográfica e configuração do estudo, desenho do estudo e fonte de financiamento, gênero dos participantes, etnia, idade, duração da intervenção, residência, tratamento medicamentoso, co-morbidades, critérios de inclusão e exclusão, via de administração e posologia no grupo intervenção, qualidade e análise por intenção de tratar (intention to treat). Para variáveis contínuas, foram registradas as medições pré e pós-intervenção em ambos os grupos. Para resultados binários, foram registrados o tamanho da amostra e o número de eventos em cada grupo conforme relatado em estudos primários. Foram definidos os resultados binários de interesse como eventos cardiovasculares maiores (ECM), óbitos por doenças cardíacas coronárias, acidente vascular cerebral fatal e não fatal, infarto do miocárdio não fatal e eventos coronários (definidos como óbitos por doenças coronárias e infarto do miocárdio não fatal). Os possíveis vieses em estudos individuais foram avaliados de acordo com a Ferramenta Cochrane de Avaliação de Bias ⁵⁹. Os vieses de publicação foram examinados por meio de avaliação qualitativa da assimetria de diagramas de funil (funnel plots asymmetry).

2.3 Análise estatística

A metanálise foi conduzida por meio de um software estatístico, denominado STATA, o qual dispõe de vários métodos metanalíticos.

Para as variáveis contínuas o efeito global da intervenção foi sumarizado pela determinação da média ponderada entre pré e pós intervenção, medida em cada ensaio.

Para os desfechos binários, os valores de razão de risco (RR) com intervalo de confiança de 95% de cada estudo foram combinados, originando uma estimativa global do efeito do tratamento. O tamanho das amostras e a ocorrência de resultados foram extraídos do formulário de abstração de dados, construído no decorrer deste estudo.

Foi empregado o método de DerSimonian e Laird, que pressupõe um modelo de efeito randomizado, com um IC de 95% ⁶⁰ para realizar a metanálise. A heterogeneidade dos dados foi avaliada através do teste de inconsistência (I^2),

que determinou o quanto da diferença entre os estudos avaliados foi devida a heterogeneidade ⁶¹.

3. DISCUSSÃO

Esta revisão sistemática combinou 12 estudos únicos que avaliaram pacientes de alto risco cardiovascular, com HFHe, hipercolesterolemia não familiar e ambos. O estudo envolveu 60674 participantes, dos quais 31050 pacientes receberam inibidores de PCSK9 (alirocumabe ou evolucumabe ou Bococizumabe) e 29624 indivíduos integraram grupos controle, recebendo terapia padrão para controle da hipercolesterolemia.

Dentre os principais achados, destaca-se que os pacientes que receberam a terapia com inibidores de PCSK9 apresentaram melhora no perfil lipídico, especialmente devido à redução de LDLC. Também, apresentaram redução do risco de eventos cardiovasculares maiores, com destaque para acidente vascular encefálico fatal e não fatal, e infarto do miocárdio não fatal, em comparação aos pacientes submetidos à terapia padrão.

Os anticorpos monoclonais inibidores da PCSK9 emergiram como uma estratégia atrativa para a redução de lipídes na hipercolesterolemia, em pacientes incapazes de atingir os níveis recomendados de LDLC ^{21,62}, com eficácia favorável e perfil de segurança mostrados por vários estudos de fase II e III ^{28,63}

No presente estudo, o percentual de redução dos níveis de LDLC foi de 52% para pacientes que receberam tratamento com inibidores da PCSK9, semelhante ao reportado em outros estudos de metanálise, que avaliaram os resultados da referida terapia em outras populações ^{28,30,56}

Melhorar outros componentes do perfil lipídico em paralelo com a redução do LDLC pode contribuir significativamente para maximizar a proteção cardiovascular e reduzir os eventos cardiovasculares ateroscleróticos e a mortalidade em pacientes com alto risco cardiovascular, conforme sugerido por Navarese et al ²⁸, que estima uma redução média de 25% em Lp (a) ao comparar a terapia com inibidores de PCSK9 com placebo ou ezetimiba. Uma metanálise realizada com 20 estudos, envolvendo 9880 participantes hipercolesterolêmicos, relacionou a terapia com inibidores de PCKS9 com a redução dos níveis de

LDLC, colesterol total, apo-B e Lp (a), e com o aumento de HDLC e Apolipoproteína (a) – Apo (a)⁵⁶.

Os efeitos benéficos dos inibidores de PCSK9 no perfil lipídico, especialmente como redução de LDLC, estão bem documentados, mas apenas alguns estudos avaliaram seu impacto na redução do risco cardiovascular e aumento da sobrevida ^{28,56}

Considerando a análise dos eventos cardiovasculares maiores o RR de 0,88, e para AVE fatal e não fatal o RR de 0,76, sugere que a terapia com inibidores de PCSK9 reduz o risco de ocorrência dos referidos eventos. Vale ressaltar que o nível de heterogeneidade entre os estudos foi nulo nas avaliações referentes ao risco de evento cardiovascular maior e de AVE fatal e não fatal.

Em relação ao IM o RR para este evento foi de 0,77, com heterogeneidade moderada entre os estudos incluídos, sendo a análise conduzida por modelo de efeitos aleatórios. Os resultados para este desfecho apontam para um risco diminuído entre os pacientes que receberam terapia com inibidores de PCSK9, comparativamente aos pacientes do grupo controle, que permaneceram com a terapia usual.

Esses resultados estão de acordo com resultados obtidos por Navarese et al., que demonstrou redução no IM e angina instável em 51% e 39%, respectivamente, e de forma semelhante ao presente estudo, não encontraram significância em relação à mortalidade cardiovascular ²⁸.

Um subgrupo de pacientes de alto risco que merece maior atenção é o de pacientes com HFHe, uma doença genética associada comumente à doença cardiovascular de início precoce. Diversos estudos, conduzidos em diferentes localidades, com o objetivo de avaliar a eficácia da terapia hipolipidêmica nesta população, demonstram claramente o desafio na obtenção de redução adequada do LDLC com as terapias atuais^{17,64}. O estudo observacional SAFEHEART, desenvolvido na Espanha, incluindo 1262 pacientes com HF heterozigótica, informou que apenas 3,5% dos pacientes conseguiram alcançar os valores estipulados de LDLC, mesmo que metade dos pacientes estivesse em terapia intensiva com estatinas ⁶⁵. Outro estudo, conduzido na Holanda com 1249 pacientes, portadores da HF heterozigótica, comprovada por testes moleculares, mostrou que 79% não atingiram níveis recomendados de LDLC,

apesar de 27% dos pacientes estudados já estavam em uso de doses máximas de estatina associadas a ezetimiba ¹⁷

Um relatório em francês demonstrou resultados semelhantes: 89,6% dos pacientes com HFHe foram detectados com altos níveis de LDLC e 29,4% estavam tomando estatina de dose máxima associada a outra droga hipolipemiante. Além disso, apenas 25% dos pacientes apresentaram níveis de LDLC <100 mg/dL no subgrupo com doença cardiovascular estabelecida³⁴. Um estudo multicêntrico recentemente publicado com 4778 pacientes com HFHe que apresentaram histórico prévio de eventos coronários agudos, mostrou que apenas 37,2% apresentavam níveis de LDLC <100mg / dL e 4,6% níveis de LDLC <70mg /dL, no primeiro ano de seguimento ³⁵.

Um resultado interessante observado foi a influência na redução de LDLC por duas variáveis independentes: idade e níveis basais de LDLC. Estes achados sugerem que pacientes mais jovens podem ter um maior potencial para reduzir os níveis de LDLC enquanto utilizam terapia por inibidores de PCSK9. Além disso, os valores basais de LDLC aparentemente influenciaram a eficácia dos inibidores de PCSK9. Um possível mecanismo para justificar essas descobertas é a reciclagem de cada LDLR até 150 vezes, indicando que pequenas alterações no LDLR disponíveis pela degradação induzida por PCSK9 podem influenciar a captação hepática de LDL ⁶⁶, ressaltando que a terapia com inibidores de PCSK9 pode ser especialmente efetiva em cenários clínicos de pacientes com maior risco cardiovascular, em quem as reduções LDLC plasmáticas são urgentemente necessárias.

Este estudo conta com algumas limitações, como a análise realizada a partir de dados publicados, e não a partir de análise individualizada de cada paciente, evitando a comparação de subgrupos. O número de eventos cardiovasculares e óbitos nos estudos selecionados não projetados para fins clínicos podem reduzir a precisão dos achados, desta e de outras metanálises recentemente publicadas. Publicações relataram dados referentes a eventos adversos e esta análise considerou estudos realizados por alguns autores. Não houve estudos de acompanhamento a longo prazo disponíveis para avaliar melhor os desfechos clínicos e os efeitos colaterais dos inibidores de PCSK9. Por fim, as amostras foram heterogêneas em relação à variabilidade genética (HH heterozigótica e hipercolesterolemia não familiar) e terapias prévias

(ezetimibe, estatina ou nenhum tratamento). Assim, os dados devem ser interpretados com cuidado e estudos adicionais são necessários para determinar com precisão a eficácia a longo prazo dos inibidores de PCSK9 para tratamento com dislipidemia e resultados clínicos de pacientes com alto risco cardiovascular.

CAPÍTULO 2

EFFICACY OF ANTI-PCSK-9 MONOCLONAL ANTIBODIES IN HIGH-RISK PATIENTS: SYSTEMATIC REVIEW AND META-ANALYSIS

Cynthia França Wolanski Bordin¹, Marcelly Gimenes Bonatto¹, Ana Beatriz Affonso da Costa¹, Andrei Carvalho Sposito², Raul Dias dos Santos Filho³, José Rocha Faria Neto¹

1 Center for Clinical and Epidemiological Research (EpiCenter) of the School of Medicine, Pontifícia Universidade Católica do Paraná (PUCPR) , Curitiba , PR , Brazil

2 Cardiology Department, State University of Campinas, SP, Brazil

3 Lipid Clinic Heart Institute (InCor), University of Sao Paulo Medical School Hospital and Preventive Medicine Center and Cardiology Program, Hospital Israelita Albert Einstein, Sao Paulo, Brazil

Corresponding author: José Rocha Faria Neto

Address: R Imaculada Conceição, 1155, Prado Velho. 80215-901 Curitiba, PR, Brasil. E-mail: jose.faria@pucpr.br

Phone: +55(41)3024-3045

Key words: Proprotein Convertases, Lipoproteins, LDL, Receptors, LDL, Coronary Disease, Systematic Review.

Word count: 2726

ABSTRACT

Background - Recent evidence shows that multiple dose regimens of PCSK9 inhibitors are effective in lowering LDL cholesterol in general populations however evidence is lacking in high cardiovascular risk populations. Our aim was to evaluate the efficacy of anti-PCSK9 antibodies in randomized controlled trials focusing on high risk profile populations.

Methods: Electronic searches in MEDLINE/ PubMed, Embase, The Cochrane Library, CINAHL, Web of Science, Scopus, SciELO and LILACS and recent conferences were conducted. Working in pairs we included randomized clinical controlled trials reporting data on anti-PCSK9 antibodies versus placebo or current therapy in high-risk patients (heterozygous FH, established and CHD risk-equivalent). We pooled rates of common adverse events and percentages of LDLC lowering as other lipid changes from baseline. Random effects were used to summarize pooled data.

Results: Twelve studies were eligible to our systematic review involving 60674 high CVD risk participants. Mean percent change from baseline (95% CI) for LDLC, Lp(a), HDLC, APO B Lipo(a), triglycerides, non HDLC, and total cholesterol were -52.38 (-55.18; -49.57), 6.97 (5.86;9.09) %, -41,11 (-46,36; -35,86) %, -29.02 (-34.10; -23.94)%, -13.13(-15.77; -10.50)%, -43.75 (-47.03;-40.47)%, -32.70(-35.21;-30.19)%, respectively. Summarized RR (95%) for MACE 0.8 (0.83;0.93), $I^2=0$ % ($p = 0.905$), CHD deaths was 0.88 (0.67;1.16), $I^2=0$ % ($p = 0.347$), and for all cause death were 0.88 (0.72, 1.19), $I^2=47.8$ % ($p = 0.053$) comparing PCSK9 inhibitors to placebo or any other therapy. We did not find significant results for other adverse events.

Conclusion: PCSK9 inhibitors are effective in improving plasma lipids but most importantly CHD mortality and coronary events in high risk populations.

INTRODUCTION

High plasma LDLCholesterol (LDLC) is a cause of atherosclerotic cardiovascular disease²¹. Reduction in LDLC concentration has been strongly supported by multiple

clinical trials as an effective intervention to provide cardio protection, reducing the risk for ischemic cardiovascular complications, such as myocardial infarction, stroke and mortality^{9,22,23}. Current guidelines recommend intensive LDLC lowering in high risk patients, as those with established coronary heart disease (CHD), CHD risk equivalent and familial hypercholesterolemia (FH)²³⁻²⁵. Statins are the first-line therapy for these high-risk patients. However, many patients fail to achieve recommended LDLC reductions despite intensive use of those medications. Moreover, 10-20% of patients have poor tolerability to any statin or a high-intensity treatment, especially due to statin-associated muscle symptoms^{9,22,23,26}.

Proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 (PCSK9) is a serine protease that regulates hepatic LDL receptor (LDLR) activity²¹. It is synthesized in the liver and acts by binding to LDLR in the hepatocyte surface allowing the LDL, LDL-R and PCSK9 complex to be internalized. Subsequently the LDLR is subjected to lysosomal degradation. By reducing the amount of LDLR at the hepatocytes' surface and down-regulating LDLR activity, PCSK9 increases LDLC plasma levels²¹. Individuals with loss-of-function mutations in PCSK9 have lower LDLC levels and lower incidence of coronary heart disease (CHD) in comparison to controls, with no offsetting complications or morbidities^{21,31,62}. Moreover, important evidence from clinical trials has emerged supporting PCSK9 inhibition as an attractive therapeutic target for hypercholesterolemia. Blocking PCSK9 binding to the LDLR with monoclonal antibodies is the current most advanced form to inhibit PCSK9 activity. By blocking the LDLR allosteric site, antibodies prevent PCSK9-LDLR coupling, thus increasing LDLR recycling and consequently reducing LDLC plasma levels^{28,66}.

Several studies have shown antibodies' consistent efficacy and tolerability and also revealed beneficial effects on other lipid profile parameters, such as total cholesterol, triglycerides, HDL Cholesterol (HDL) , Apolipoprotein (Apo) B, and lipoprotein(a) [Lp(a)]²⁸. Recently, the FDA has approved alirocumab (Praluent, Sanofi/Regeneron)^{48 13} and evolocumab (Repatha, Amgen)⁴⁹ to be used in patients with familial hypercholesterolemia and in patients classified as high-risk for cardiovascular disease not achieving adequate LDLC levels despite statin monotherapy. Alirocumab and Evolocumab have already been approved in the Europe to be used in patients with familiar and non-familiar hypercholesterolemia and in patients with mixed dyslipidemia

already on statin or other hypolipidemic medication but not reaching LDLC target levels. The trials with Bococizumab were stopped earlier, because, in part, to the development of high rates of antidrug antibodies^{50,51,53}.

Previous systematic reviews and meta-analyses have reported significant benefits for cardiovascular outcomes when comparing multiple dose regimens of PCSK9 inhibitors to placebo or standard LDLC lowering therapies^{28,66}. However, none of the previous studies focused specifically on the high-risk populations for whom these medications have been approved so far. Therefore, the purpose of this study is to perform a systematic review and meta-analysis of available randomized controlled trials to provide a reliable assessment of the major benefits of PCSK9 inhibition focusing on high-risk patients, as well the reduction of death of any cause risk.

METHODS

This systematic review was conducted according to the PRISMA (Preferred Reporting Items for Systematic reviews and Meta-Analyses) statement. The review protocol was not registered. The search was conducted in electronic databases MEDLINE/ PubMed, Embase, The Cochrane Library, CINAHL, Web of Science, Scopus, SciELO and LILACS, using terms from the medical Subject Headings (MeSH) and free words, considering the population characteristics, intervention, studies types, comparison between the intervention and outcomes. Details about the search strategy are presented in Appendix 1.

Study Selection

We included only randomized clinical controlled trials (phase II and III) where the inclusion criteria clearly stated that only high-risk patients (heterozygous FH, established and CHD risk-equivalent) were enrolled. The exclusion criteria were studies involving animal models and observational design. We also excluded results from homozygous FH participants.

Two independent reviewers worked together to screen the titles and abstracts and to analyze the full texts of studies that met the selection criteria. Two independent authors extracted data. We used a predesigned data abstraction form to extract relevant

information. This included questions on study size, baseline population, cardiovascular risk such as age, sex, smoking status, blood lipids, hypertension, coronary disease, diabetes, statin or ezetimibe use, run in period, follow-up, intervention doses and frequency and side effects.

Data extraction and quality assessment

Two authors independently extracted information on study and participant characteristics, comparison groups, outcomes, analysis and conclusions. Study characteristics recorded included: author, year of publication, geographic origin and setting of the study, design and funding source, gender of participants, ethnicity, age, duration of intervention, residence, drug treatment, co morbidities, inclusion and exclusion criteria, type and delivery of intervention, quality and intention to treat analysis. For continuous variables we recorded the pre-and post-intervention measurements in both groups. For binary outcomes we recorded the sample size and the number of events in each group as reported in primary studies. We defined binary outcomes of interest as major cardiovascular events (MACE), deaths from coronary heart diseases, fatal and non-fatal stroke, non-fatal myocardial infarction and coronary events (defined as deaths from coronary heart diseases and non-fatal myocardial infarction) and death for any cause. Two independent reviewers evaluated possible bias in individual studies according to the Cochrane Tool for Bias Assessment⁵⁹. Potential publication biases were examined by funnel plots asymmetry.

Statistical Analysis

For continuous variables the net effect sizes were summarized as weighted mean difference between post- and pre-intervention measurements in each trial⁶¹. For binary outcomes, Relative Risk (RR) with 95% confidence intervals (CI) were combined and then weighted to produce a pooled estimate. Sample sizes and outcomes occurrence were extracted from the reported results table from the included studies. We employed Der Simonian and Laird random effect models with a 95% CI²⁰ to perform the meta-analysis. A random-effects model was chosen to conservatively deal with potential heterogeneity among the included studies. Heterogeneity among studies was measured with I-squared⁶¹.

RESULTS

From the initial 301 titles retrieved, 12 studies^{47,53,67-75,58} were eligible to our systematic review (Figure 1) involving 60674 participants. Our studied population involved 29624 participants in control groups and 31050 participants receiving PCSK9 inhibitors. Main characteristics of included populations across studies were as follows: mean age (SD) at baseline was 57 (\pm 5.8) years ranging from 48.8 to 65.7 years. The majority of participants were male 60.2% (\pm 8%) ranging from 42.9% to 75.6%. Mean follow-up was 49 (\pm 33) weeks ranging from 12 to 119 weeks. Mean LDLC level at baseline was 123.65 (\pm 34.85) mg/dL ranging from 91 to 201 mg/dL. Sample sizes in study groups varied greatly ranging from 35 to 13784 participants.

Cardiovascular events - MACE

Studies reported 2907 cardiovascular events, being 1834 observed in the intervention group. Pooled and summarized RR (95% CI) were 0.8 (0.83;0.93), $I^2 = 0$ % ($p = 0.905$) are shown in Figure 2.

CHD Deaths

Studies reported 201 events, being 97 events observed in the intervention group. Pooled and summarized RR (95% CI) were 0.88 (0.67;1.16), $I^2 = 0$ % ($p = 0.347$) are shown in Figure 3.

Fatal or non-fatal stroke

In total, studies reported 604 events, being 264 events observed in the intervention group. Pooled and summarized RR (95% CI) were 0.76 (0.65;0.89), $I^2 = 0$ % ($p = 0.439$), for cardiovascular outcomes are shown in Figure 4.

Non-fatal MI

Based on the 1557 reported non-fatal MI events, pooled and summarized RR (95% CI) are shown in Figure 5. The results for RR (95% CI) were 0.77 (0.70, 0.82), $I^2 = 0$ % ($p = 0.081$).

All cause death

When we pooled all cause deaths, 1631 events were summarized and RR (95% CI) of having death for any cause were 0.88 (0.72, 1.19), $I^2=47.8\%$ ($p = 0.053$) as shown in Figure 6.

LDL Cholesterol

We present LDLC effect size analysis on LDL reduction (95% CI), by random effects model, in Figure 7. Summarized effect sizes (95% CI) were -52.38 (-55.18; -49.57) % and heterogeneity across studies was very high ($I^2= 95.3\%$, $p=0.000$).

Subgroup meta-analysis by frequency of treatment (biweekly x monthly) did not show significant difference across groups ($p>0.05$) (data not-shown).

Lipoprotein(a)

Effect of PCSK9 monoclonal antibodies on Lp(a) levels as mean percent change from baseline according to available information in included studies is shown in Figure 8. Mean percent change (95%CI) from baseline was -29.02 (-34.10;-23.94)%.

HDL Cholesterol

Effect of PCSK9 monoclonal antibodies on HDLC levels as mean percent change from baseline according to available information in included studies is shown in Figure 9. Mean percent change from baseline was (95% CI) was 6.97 (5.86;9.09)%.

Triglycerides

Effect of PCSK9 monoclonal antibodies on triglyceride levels as mean percent change from baseline according to available information in included studies is shown in Figure 10. Mean percent decrease (95% CI) from baseline levels was -13.13(-15.77; -10.50)%.

Total cholesterol

Effect of PCSK9 monoclonal antibodies on total cholesterol levels as mean percent change from baseline according to available information in included studies is shown in Figure 11. Mean percent decrease (95%CI) from baseline levels was -32.70(-35.21;-30.19)%.

Non HDL cholesterol

Effect of PCSK9 monoclonal antibodies on non HDL cholesterol levels as mean percent change from baseline according to available information in included studies is shown in Figure 12. Mean percent decrease (95%CI) from baseline levels was -43.75 (-47.03;-40.47)%.

APO B

Effect of PCSK9 monoclonal antibodies on APO B levels as mean percent change from baseline according to available information in included studies is shown in Figure 13. Mean percent decrease (95%CI) from baseline levels was -41,11 (-46,36; -35,86) %.

Quality of included studies

Funnel plots for binary outcomes, represented in this study for analysis for MACE, no signs of asymmetry were found. Generally, studies were considered of high quality but risk of bias was considered unclear in studies that were available only as presentation slides rather than full reports (Figure 14).

In general, the studies were considered of high quality, but the risk of bias was considered unclear in studies that were only available in the form of presentation rather than publication of complete articles (Figure 15).

DISCUSSION

This systematic review combined 12 unique studies that evaluated high risk patients, with heterozygous FH, non-familial hypercholesterolemia and both. The study involved 60674 participants, in which 31050 patients received PCSK9 inhibitors (alirocumab or evolucumab or Bococizumab) and 29624 individuals were controls. Our

main findings were that patients who received PCSK9 inhibitors demonstrated better lipid profiles, especially due to LDLC reduction, and showed lower major cardiovascular events compared to those undergoing standard therapy.

PCSK9 monoclonal antibodies have emerged as an attractive lipid-lowering strategy for hypercholesterolemia in patients unable to achieve recommended LDLC levels^{21,62}, with favorable efficacy and safety profile shown by several phase II and III studies^{28,63}. In our study, LDLC levels reduction by 52% in patients taking PCSK9 inhibitor is similar to other reported series that evaluated the efficacy of these drugs^{28,63} in other populations. In addition, other lipid parameters that contribute to atherosclerotic plaque formation were evaluated and our analysis demonstrated superior results in favor of PCSK9 inhibitors: 29.2% reduction in Lp(a), 13.13% in triglycerides, 32.70% in total cholesterol and 6.97% increase in HDLC. Improving other lipid profile components in parallel to LDLC reduction may significantly contribute to maximize cardiovascular protection and reduce atherosclerotic cardiovascular events and mortality in patients at high cardiovascular risk. Indeed this was already suggested by Navarese *et al.*²⁸, in which meta-analysis it was estimated an average 25% reduction in Lp(a) when comparing PCSK9 to placebo or ezetimibe. A meta-analysis of 20 studies enrolling 9880 hypercholesterolemic participants also showed that PCSK9 inhibitor therapy not only reduced the levels of LDLC, total cholesterol, apo-B and Lp(a) but also increased HDLC and apolipoprotein-A1⁶³.

The beneficial effects of PCSK9 inhibitors in lipid profile, especially as a LDLC lowering, is well-documented, but only few studies assessed their impact in reducing cardiovascular risk and increasing survival^{28,63}.

Our systematic review aimed to analyze clinical outcomes, especially in high-risk for cardiovascular event patients. Overall, we detected a RR of 0.88 for major cardiovascular events and a RR of 0.76 for fatal and nonfatal stroke. These results suggest that therapy with PCSK9 inhibitors reduces the risk of such events. The heterogeneity between the studies was zero in the assessments regarding the risk of major cardiovascular event and fatal and non-fatal stroke

These results are in accordance with a recently published meta-analysis that demonstrated reduction in MI and unstable angina by 51% and 39%, respectively, as well as did not find significance in relation to cardiovascular mortality²⁸.

Regarding MI, the RR for this event was 0.77 was determined, with moderate heterogeneity was observed among the included studies, being the analysis conducted by random effects model. The results for this outcomes point to a decreased risk among patients receiving PCSK9 inhibitor therapy compared to patients in the control group who remained on standard therapy.

A subgroup of high-risk patients that deserves greater attention is that of patients with heterozygous FH, a common genetic disorder associated with early-onset cardiovascular disease. Many studies performed worldwide evaluating the effectiveness of hypolipidemic therapy on this population clearly demonstrate the challenge in obtaining adequate LDLC reduction with current therapies. The Spanish SAFEHEART observational study including 1262 patients with HeFH reported that only 3.5% of patients were able to reach LDLC target values, even though half of them were undergoing intensive therapy⁶⁵. One study performed in Holland with 1249 molecularly proven HeFH patients showed that 79% did not achieve recommended LDLC levels despite 27% of study patients were already in use of maximal statin dose associated with ezetimibe⁷⁶. A French report demonstrated similar results: 89.6% of HeFH patients were detected to have high LDLC levels and 29.4% were taking maximal dose statin associated with other hypolipidemic drug. Moreover, only 25% had LDLC levels <100mg/dL in the subgroup with established cardiovascular disease³⁵. A recently published multicenter Swiss study with 4778 HeFH patients presenting previous history of acute coronary event showed that only 37.2% had LDLC levels <100mg/dL and 4.6% had LDLC<70mg/dL in the first year of follow-up⁷⁷.

An interesting result we observed was that LDLC reduction was influenced by two independent variables: age and baseline LDLC levels. Our findings suggest that younger patients might have a greater potential to reduce LDLC levels while taking PCSK9 inhibitors. Moreover baseline LDLC values apparently influenced PCSK9 inhibitors efficacy. The explanation for that is not clear but a possible mechanism to justify these findings is the recycling of each LDLR up to 150 times, indicating that slight changes in LDLR availability by PCSK9-induced degradation might influence hepatic LDL uptake⁶⁶. Thus, implying that greater benefits could be detected in clinical scenarios of patients with a higher cardiovascular risk, in whom plasma LDL_C reductions are urgently required and statin therapy alone faces difficulty to control LDLC adequately. The

univariate metaregression analysis of LDL levels at baseline and the age and PCSK9 monoclonal antibody inhibitors effect sizes on LDL absolute reduction in mg/dL are shown on figure 16 and 17.

This study has several limitations. First, our analysis was performed through data from published articles rather than individualized analysis of each patient, preventing subgroup comparison. Second, the number of cardiovascular events and deaths in those studies not designed for clinical endpoints may reduce the accuracy of our findings as well as those findings from other meta-analysis recently published. Third few publications reported data on adverse events and our analysis consisted on studies conducted by a few authors. Fourth there were no available long-term follow-up studies to better evaluate clinical outcomes and side effects of these drugs. Lastly, the samples were heterogeneous in relation to genetic variability (heterozygous FH and non-familial hypercholesterolemia) and previous therapies (ezetimibe, statin or no treatment). Thus, data should be interpreted carefully and further studies are required to determine accurately the long-term efficacy of PCSK9 inhibitors for dyslipidemia treatment and clinical outcomes patients at high cardiovascular risk.

In conclusion, our findings suggest that PCSK9 inhibitors are effective in improving plasma lipids, and mainly related with the reduction in the risk of coronary death, cardiovascular events, and all-cause death. Considering that the present meta-analysis was conducted from the results of different clinical studies involving inhibitors of PCSK9 (alirocumabe, evolucumab and bococizumab) with a significant number of participants, it is possible to refer the results obtained in meta-analyzes already published. At this moment, the therapy with PCSK9 inhibitors are shown as an alternative for patients who do not obtain effective results with conventional therapies.

REFERENCES

1. Xavier, H. T. *et al.* V Diretriz Brasileira de Dislipidemias e Prevenção da Aterosclerose. *Arq. Bras. Cardiol.* **101**, 01–22 (2013).
2. Harvey, R. A. & Ferrier, D. R. *Bioquímica ilustrada.* (2015).
3. Faludi, A. A., M. C. O. Izar & Saraiva, J. F. K. Atualização da diretriz brasileira de dislipidemias e prevenção da aterosclerose - 2017. *Arq. Bras. Cardiol.* **109**, 1–76 (2017).

4. Nordestgaard, B. G. *et al.* Lipoprotein(a) as a cardiovascular risk factor: Current status. *Eur. Heart J.* **31**, 2844–2853 (2010).
5. Virani, S. S. *et al.* Associations between lipoprotein(a) levels and cardiovascular outcomes in black and white subjects: the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study. *Circulation* **125**, 241–249 (2012).
6. OPAS. Doenças Cardiovasculares.
http://www.paho.org/bra/index.php?option=com_content&view=article&id=5253:doencas-cardiovasculares&Itemid=839 (2016).
7. Ross, R. Atherosclerosis—an inflammatory disease. *N. Engl. J. Med.* **340**, 115–126 (1999).
8. Cannon, C. P. *et al.* Ezetimibe Added to Statin Therapy after Acute Coronary Syndromes. *N. Engl. J. Med.* **372**, 2387–2397 (2015).
9. Baigent, C., Keech, A., Kearney, P. M. & Blackwell, L. Efficacy and safety of cholesterol-lowering treatment: prospective meta-analysis of data from 90,056 patients in 14 randomized trials of statins. *Lancet* **366**, 1267–1278 (2005).
10. Ference, B. A. *et al.* Effect of long-term exposure to lower low-density lipoprotein cholesterol beginning early in life on the risk of coronary heart disease: A mendelian randomization analysis. *J. Am. Coll. Cardiol.* **60**, 2631–2639 (2012).
11. VanBruggen, N. & Ouyang, W. Th17 cells at the crossroads of autoimmunity, inflammation, and atherosclerosis. *Immunity* **40**, 10–12 (2014).
12. Pirillo, A., Norata, G. D. & Catapano, A. L. LOX-1, OxLDL, and Atherosclerosis. **2013**, (2013).
13. Platt, N. & Gordon, S. Is the class A macrophage scavenger receptor (SR-A) multifunctional? — The mouse's tale. *J. Clin. Investig.* **108**, 649–654 (2001).
14. Febbraio, M. *et al.* Targeted disruption of the class B scavenger receptor CD36 protects against atherosclerotic lesion development in mice. *J. Clin. Invest.* **105**, 1049–1056 (2000).
15. Pöss, J. *et al.* Cardiovascular disease and dyslipidemia: beyond LDL. *Curr. Pharm. Des.* **17**, 861–70 (2011).
16. Gazi, I. F., Daskalopoulou, S. S., Nair, D. R. & Mikhailidis, D. P. Effect of ezetimibe in patients who cannot tolerate statins or cannot get to the low density

- lipoprotein cholesterol target despite taking a statin. *Curr. Med. Res. Opin.* **23**, 2183–92 (2007).
17. Pijlman, A. H. *et al.* Evaluation of cholesterol lowering treatment of patients with familial hypercholesterolemia : A large cross-sectional study in The Netherlands. **209**, 189–194 (2010).
 18. Hammer, Gary D.; Mcphee, S. J. *Fisiopatologia da Doença.* (2015).
 19. Board, J. B. S. *Joint British Societies' consensus recommendations for the prevention of cardiovascular disease (JBS3).* *Heart* **100**, (2014).
 20. Pagidipati, N. J. & Gaziano, T. A. Estimating Deaths From Cardiovascular Disease: A Review of Global Methodologies of Mortality Measurement. *Circulation* **127**, 749–756 (2013).
 21. Lambert, G., Sjouke, B., Choque, B., Kastelein, J. J. P. & Hovingh, G. K. The PCSK9 decade. *J. Lipid Res.* **53**, 2515–2524 (2012).
 22. Grundy, S. M. *et al.* Implications of recent clinical trials for the National Cholesterol Education Program Adult Treatment Panel III guidelines. *Circulation* **110**, 227–239 (2004).
 23. Reiner, Ž. *et al.* ESC/EAS Guidelines for the management of dyslipidaemias. *Eur. Heart J.* **32**, 1769–1818 (2011).
 24. Smith, S. C. *et al.* AHA/ACCF secondary prevention and risk reduction therapy for patients with coronary and other atherosclerotic vascular disease: 2011 update: A guideline from the American Heart Association and American College of Cardiology Foundation. *Circulation* **124**, 2458–2473 (2011).
 25. Perk, J. *et al.* 'European Guidelines on cardiovascular disease prevention in clinical practice (version 2012)' The Fifth Joint Task Force of the European Society of Cardiology and Other Societies on Cardiovascular Disease Prevention in Clinical Practice (constituted by r. *Eur. Heart J.* **33**, 2126–2126 (2012).
 26. Zhao, Y., Zabriski, S. & Bertram, C. Associations between statin adherence level, health care costs, and utilization. *J. Manag. care Spec. Pharm.* **20**, 703–13 (2014).
 27. Shaharyar, S. *et al.* Obesity and metabolic phenotypes (metabolically healthy and unhealthy variants) are significantly associated with prevalence of elevated C-reactive protein and hepatic steatosis in a large healthy Brazilian population. *J*

- Obes* **2015**, 178526 (2015).
28. Navarese, E. P. *et al.* Effects of proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 antibodies in adults with hypercholesterolemia: A systematic review and meta-analysis. *Ann. Intern. Med.* **163**, 40–51 (2015).
 29. Seidah, N. G. *et al.* The secretory proprotein convertase neural apoptosis-regulated convertase 1 (NARC-1): Liver regeneration and neuronal differentiation. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **100**, 928–933 (2003).
 30. STEIN, E. A. & RAAL, F. Reduction of low-density lipoprotein cholesterol by monoclonal antibody inhibition of PCSK9. *Annual review of medicine* **65**, 417–431 (2014).
 31. Cohen, J. C., Boerwinkle, E., Mosley, T. H. & Hobbs, H. H. Sequence Variations in. *Hear. Dis.* 1264–1272 (2006).
 32. Corral, P. Back to basics: PCSK9 as a new target for the LDL receptor. *Arq. Bras. Cardiol.* **102**, e5-8 (2014).
 33. Peterson, A. S., Fong, L. G. & Young, S. G. PCSK9 function and physiology. *J. Lipid Res.* **49**, 1152–1156 (2008).
 34. Zhao, Z. *et al.* Molecular Characterization of Loss-of-Function Mutations in PCSK9 and Identification of a Compound Heterozygote. *Am. J. Hum. Genet.* **79**, 514–523 (2006).
 35. Abifadel, M. *et al.* Mutations in PCSK9 cause autosomal dominant hypercholesterolemia. *Nat. Genet.* **34**, 154–156 (2003).
 36. Horton, J. D., Cohen, J. C. & Hobbs, H. H. PCSK9: a convertase that coordinates LDL catabolism. *J. Lipid Res.* **50**, S172–S177 (2009).
 37. Dubuc, G. *et al.* Statins upregulate PCSK9, the gene encoding the proprotein convertase neural apoptosis-regulated convertase-1 implicated in familial hypercholesterolemia. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* **24**, 1454–1459 (2004).
 38. Horton, J. D., Cohen, J. C. & Hobbs, H. H. Molecular biology of PCSK9: its role in LDL metabolism. *Trends Biochem. Sci.* **32**, 71–77 (2007).
 39. Ferreira, C. E. dos S., Fonseca, F. A. H. & Manguiera, C. L. P. A PCSK9 e sua relevância clínica com os novos alvos terapêuticos contra a dislipidemia. *Einstein (16794508)* **10**, (2012).
 40. Jeong, H. J. *et al.* Sterol-dependent regulation of proprotein convertase

- subtilisin/kexin type 9 expression by sterol-regulatory element binding protein-2. *J. Lipid Res.* **49**, 399–409 (2008).
41. Maxwell, K. N., Soccio, R. E., Duncan, E. M., Sehayek, E. & Breslow, J. L. Novel putative SREBP and LXR target genes identified by microarray analysis in liver of cholesterol-fed mice. *J. Lipid Res.* **44**, 2109–2119 (2003).
 42. Pandit, S. *et al.* Functional analysis of sites within PCSK9 responsible for hypercholesterolemia. *J. Lipid Res.* **49**, 1333–43 (2008).
 43. Giugliano, R. P. & Sabatine, M. S. Are PCSK9 Inhibitors the Next Breakthrough in the Cardiovascular Field? *J. Am. Coll. Cardiol.* **65**, 2638–2651 (2015).
 44. Ahn, C. H. & Choi, S. H. New drugs for treating dyslipidemia: Beyond statins. *Diabetes Metab. J.* **39**, 87–94 (2015).
 45. Buss, N. A. P. S., Henderson, S. J., McFarlane, M., Shenton, J. M. & De Haan, L. Monoclonal antibody therapeutics: History and future. *Curr. Opin. Pharmacol.* **12**, 615–622 (2012).
 46. Imai, K. & Takaoka, A. Comparing antibody and small-molecule therapies for cancer. *Nat. Rev. Cancer* **6**, 714–727 (2006).
 47. Raal, F. *et al.* 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 inhibiti. *Circulation* **126**, 2408–2417 (2012).
 48. United States Food and Drug Administration. FDA approves Praluent to treat certain patients with high cholesterol. 1 (2015).
 49. United States Food and Drug Administration. FDA approves Repatha to treat certain patients with high cholesterol. 1–3 (2015).
 50. Markham, A. Alirocumab: First Global Approval. *Drugs* **75**, 1699–1705 (2015).
 51. Wasserman, E. & Staton, T. Amgen Receives Positive CHMP Opinion For Use Of Repatha™(Evolocumab) For The Treatment Of High Cholesterol . (2015).
 52. Banerjee, Y., Santos, R. D., Al-Rasadi, K. & Rizzo, M. Targeting PCSK9 for therapeutic gains: Have we addressed all the concerns? *Atherosclerosis* **248**, 62–75 (2016).
 53. Ridker, P. M. *et al.* Cardiovascular Efficacy and Safety of Bococizumab in High-Risk Patients. *N. Engl. J. Med.* **376**, 1527–1539 (2017).

54. Cannon, C. P. *et al.* Meta-analysis of cardiovascular outcomes trials comparing intensive versus moderate statin therapy. *Rev. Port. Cardiol.* **25**, 865–868 (2006).
55. Rossebø, A. B. *et al.* Intensive Lipid Lowering with Simvastatin and Ezetimibe in Aortic Stenosis. *N. Engl. J. Med.* **359**, 1343–1356 (2008).
56. Li, C. *et al.* Efficiency and safety of proprotein convertase subtilisin/kexin 9 monoclonal antibody on hypercholesterolemia: a meta-analysis of 20 randomized controlled trials. *J. Am. Heart Assoc.* **4**, e001937 (2015).
57. Ridker, P. M. *et al.* Cardiovascular Efficacy and Safety of Bococizumab in High-Risk Patients. *N. Engl. J. Med.* **376**, 1527–1539 (2017).
58. Sabatine, M. S. *et al.* Evolocumab and Clinical Outcomes in Patients with Cardiovascular Disease. *N. Engl. J. Med.* **376**, 1713–1722 (2017).
59. Higgins, J. P. T. *et al.* The Cochrane Collaboration’s tool for assessing risk of bias in randomised trials. *Bmj* **343**, d5928–d5928 (2011).
60. DerSimonian, R. & Laird, N. Meta-analysis in clinical trials. *Control. Clin. Trials* **7**, 177–188 (1986).
61. Sterne, J. A. C., Egger, M. & Smith, G. D. Investigating and Dealing with Publication and Other Biases. *Syst. Rev. Heal. Care Meta-Analysis Context Second Ed.* **323**, 101 (2001).
62. Cohen, J. *et al.* Low LDL cholesterol in individuals of African descent resulting from frequent nonsense mutations in PCSK9. *Nat. Genet.* **37**, 161–165 (2005).
63. Rosales, C. *et al.* Apolipoprotein AI deficiency inhibits serum opacity factor activity against plasma high density lipoprotein via a stabilization mechanism. *Biochemistry* **54**, 2295–2302 (2015).
64. Neil, A. *et al.* Reductions in all-cause, cancer, and coronary mortality in statin-treated patients with heterozygous familial hypercholesterolaemia: A prospective registry study. *Eur. Heart J.* **29**, 2625–2633 (2008).
65. Mata, N. *et al.* Clinical characteristics and evaluation of LDL-cholesterol treatment of the Spanish Familial Hypercholesterolemia Longitudinal Cohort Study (SAFEHEART). *Lipids Health Dis.* **10**, 94 (2011).
66. Sahebkar, A., Simental-Mendía, L. E., Guerrero-Romero, F., Gollledge, J. & Watts, G. F. Effect of statin therapy on plasma proprotein convertase subtilisin kexin 9 (PCSK9) concentrations: a systematic review and meta-analysis of clinical trials.

- Diabetes, Obes. Metab.* **17**, 1042–1055 (2015).
67. Hirayama, A. *et al.* Effects of Evolocumab (AMG 145), a Monoclonal Antibody to PCSK9, in Hypercholesterolemic, Statin-Treated Japanese Patients at High Cardiovascular Risk. *Circ. J.* **78**, 1073–1082 (2014).
 68. Raal, F. J. *et al.* PCSK9 inhibition with evolocumab (AMG 145) in heterozygous familial hypercholesterolaemia (RUTHERFORD-2): a randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *The Lancet* **385**, 331–340 (2015).
 69. Kereiakes, D. J. *et al.* Efficacy and safety of the proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 inhibitor alirocumab among high cardiovascular risk patients on maximally tolerated statin therapy: The ODYSSEY COMBO i study. *Am. Heart J.* **169**, 906–915 (2015).
 70. Cannon, C. P. *et al.* Efficacy and safety of alirocumab in high cardiovascular risk patients with inadequately controlled hypercholesterolaemia on maximally tolerated doses of statins: The ODYSSEY COMBO II randomized controlled trial. *Eur. Heart J.* **36**, 1186–1194 (2015).
 71. Robinson, J. G. *et al.* Efficacy and Safety of Alirocumab in Reducing Lipids and Cardiovascular Events. *N. Engl. J. Med.* **372**, 1489–1499 (2015).
 72. Bays, H. *et al.* Alirocumab as add-on to atorvastatin versus other lipid treatment strategies: ODYSSEY OPTIONS I randomized trial. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **100**, 3140–3148 (2015).
 73. Farnier, M. *et al.* Efficacy and safety of adding alirocumab to rosuvastatin versus adding ezetimibe or doubling the rosuvastatin dose in high cardiovascular-risk patients: The ODYSSEY OPTIONS II randomized trial. *Atherosclerosis* **244**, 138–146 (2016).
 74. Ginsberg HN, Rader DJ, Raal FJ, *et al.* ODYSSEY HIGH FH: efficacy and safety of alirocumab in patients with severe heterozygous familial hypercholesterolemia. *Circulation* **130**, 2119 (2014).
 75. Kastelein, J. J. P. *et al.* Efficacy and safety of alirocumab in patients with heterozygous familial hypercholesterolemia not adequately controlled with current lipid-lowering therapy: Design and rationale of the ODYSSEY FH studies. *Cardiovasc. Drugs Ther.* **28**, 281–289 (2014).
 76. Pijlman, A. H. *et al.* Evaluation of cholesterol lowering treatment of patients

- with familial hypercholesterolemia: a large cross-sectional study in The Netherlands. *Atherosclerosis* **209**, 189–194 (2010).
77. Nanchen, D. *et al.* Prevalence and management of familial hypercholesterolaemia in patients with acute coronary syndromes. *Eur. Heart J.* **36**, 2438–2445 (2015).

APPENDIX

Figure 1 – Study flow diagram

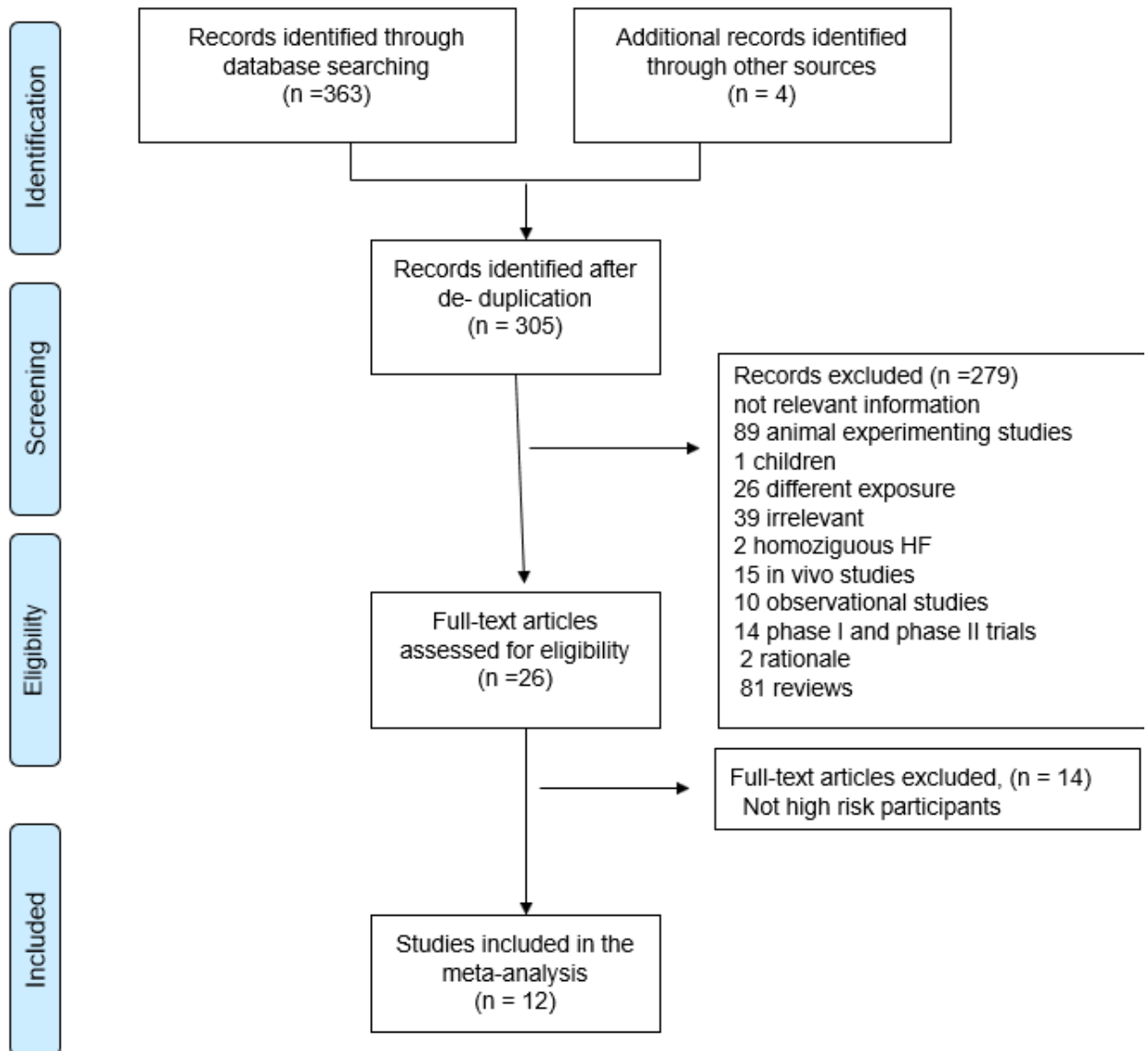


Figure 2: Major Cardiovascular Event - MACE

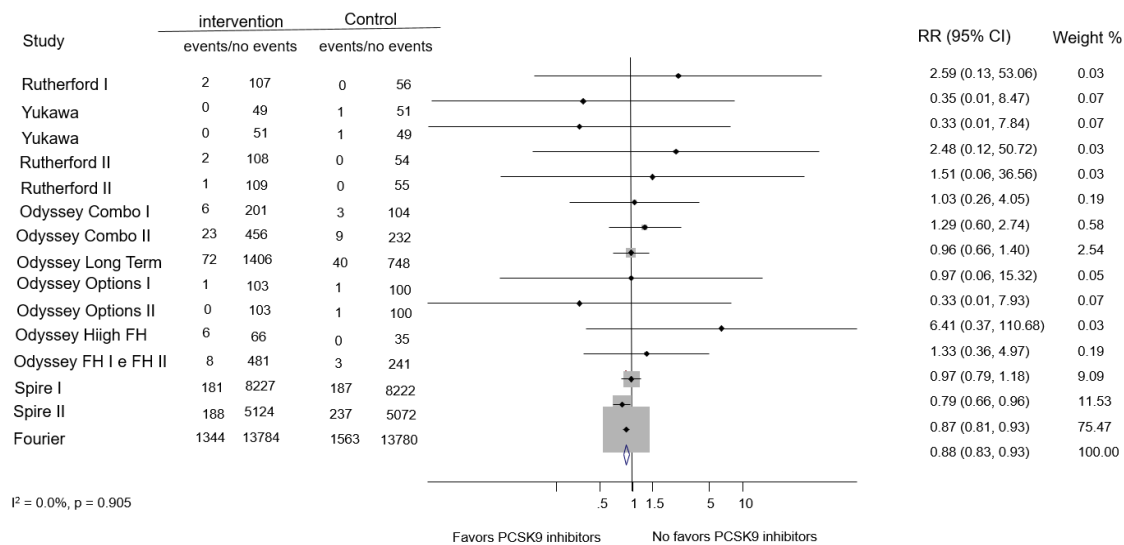


Figure 3: Coronary death

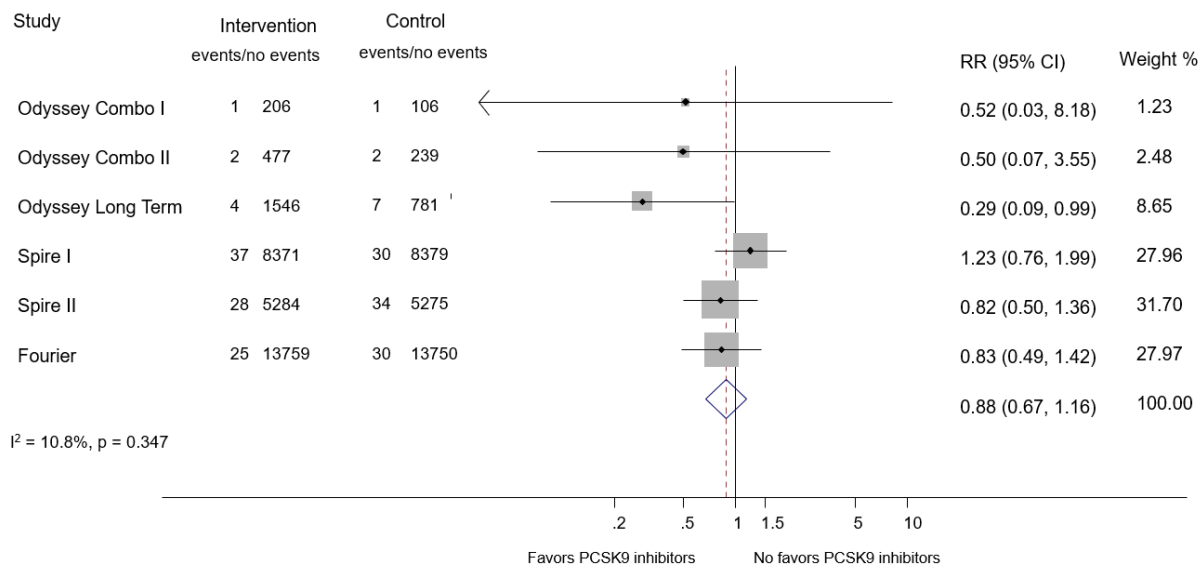


Figure 4: Fatal and non-fatal stroke

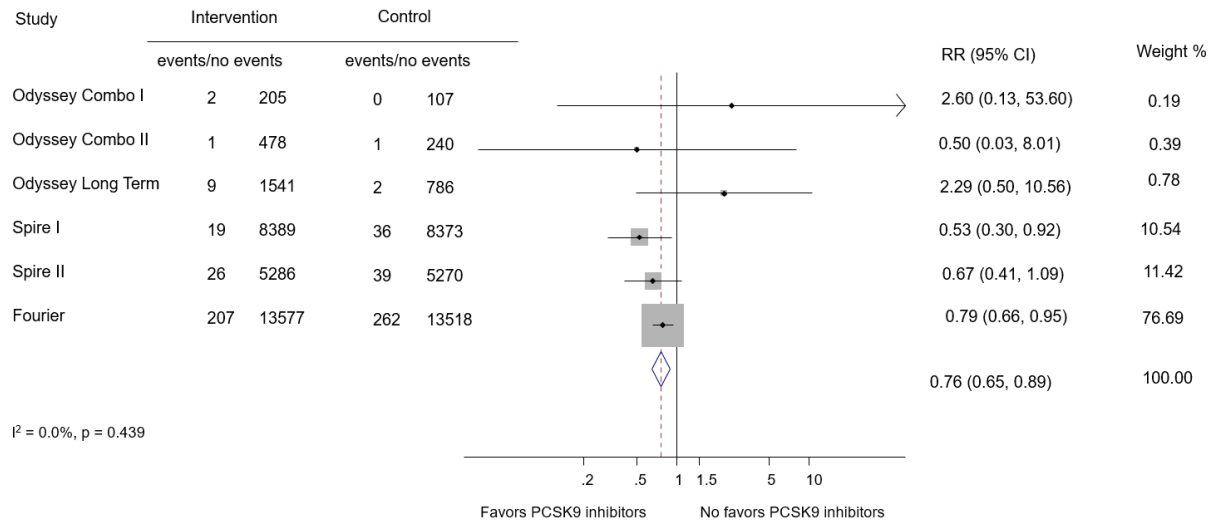


Figure 5: non fatal Myocardial Infarction (MI)

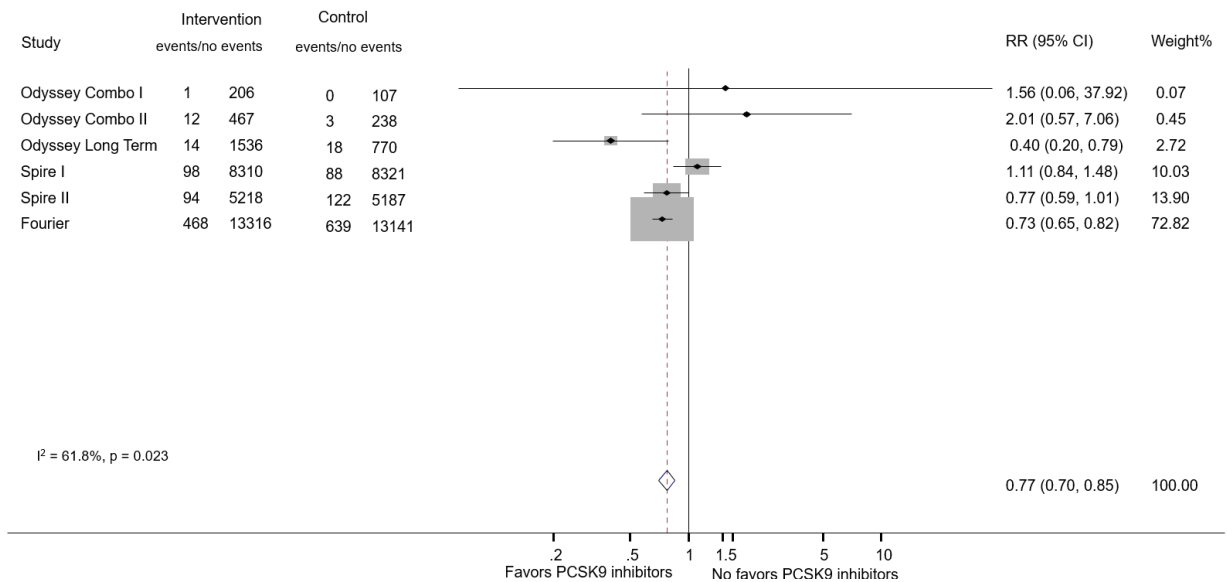


Figure 6: All causes death

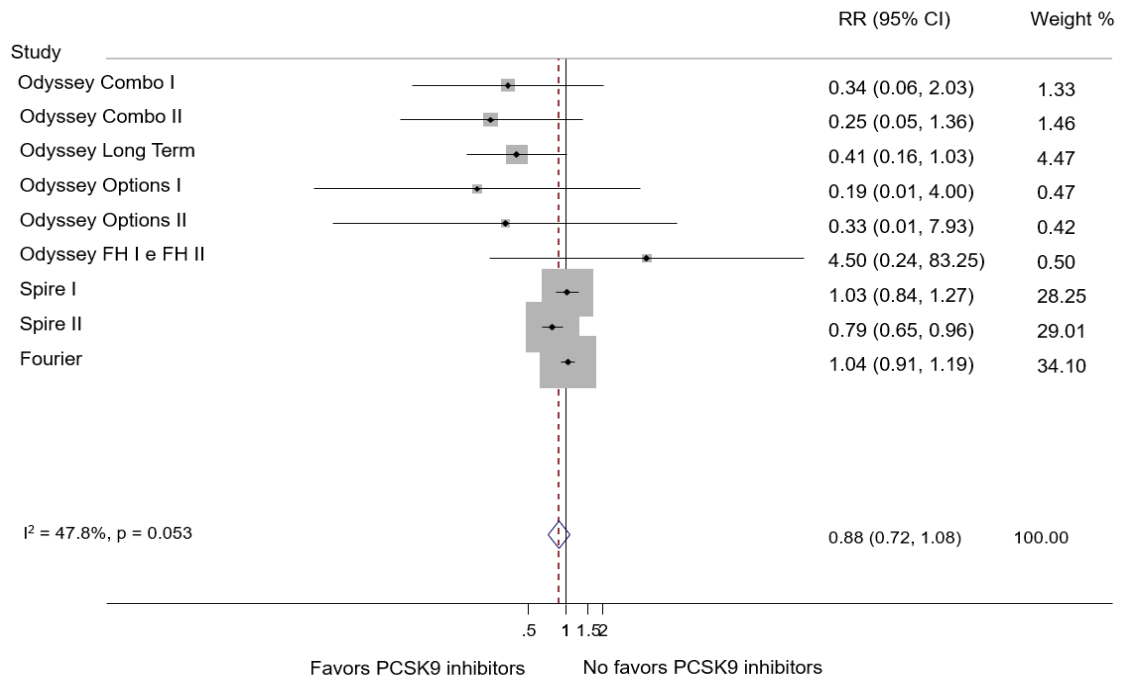
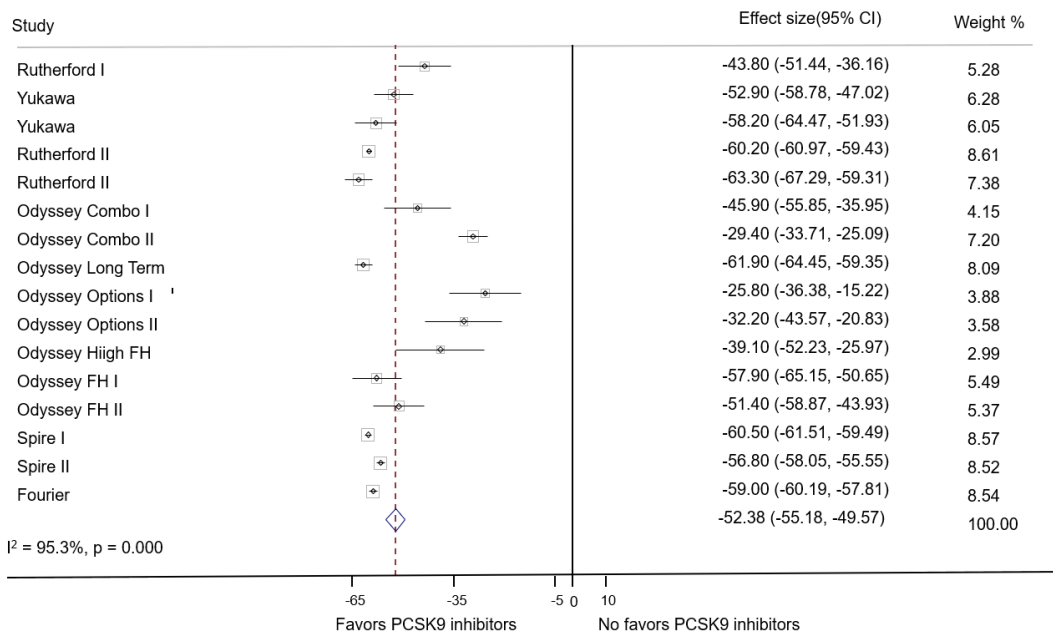
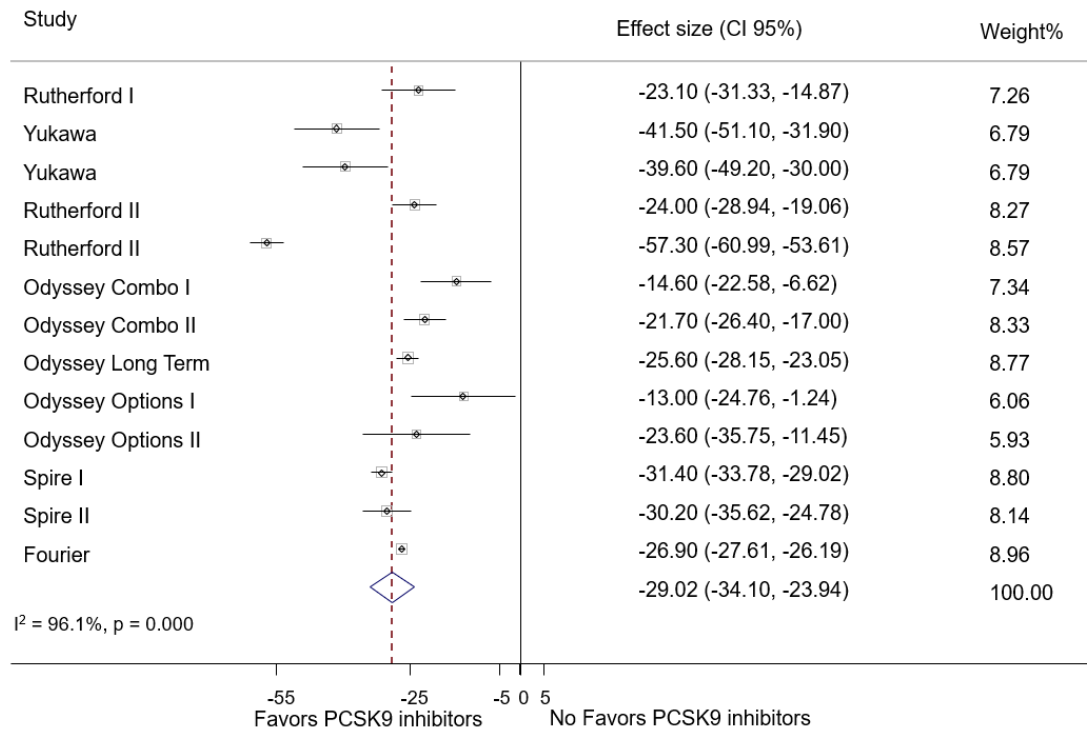


Figure 7: LDL % change



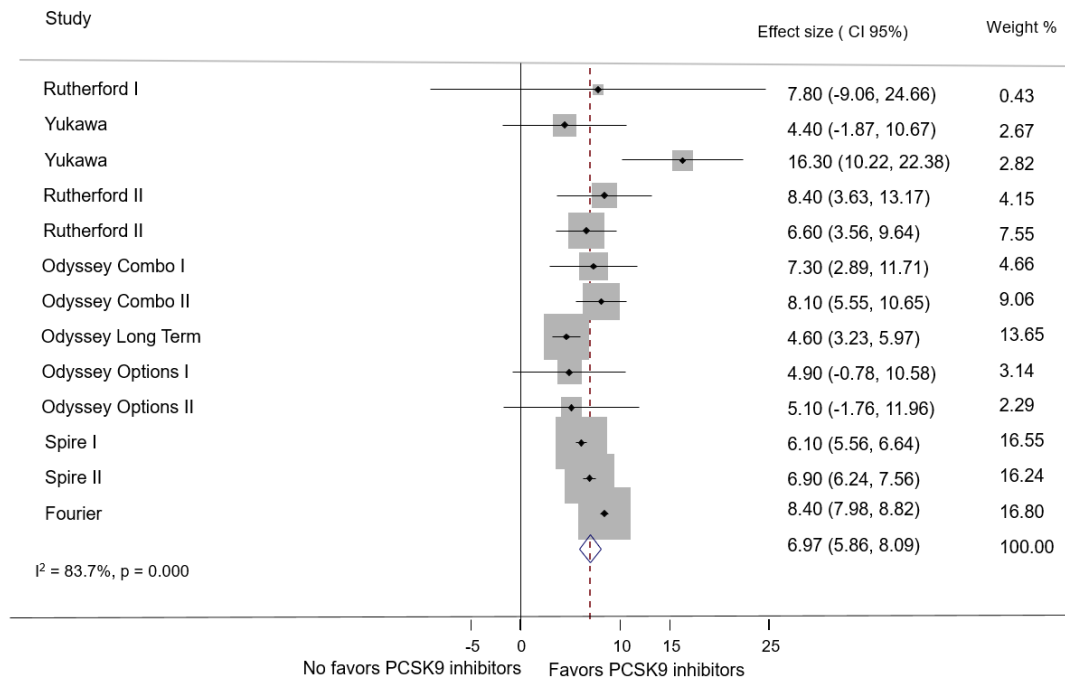
Note: weight of studies from random effects model

Figure 8: Lipo(a) % change



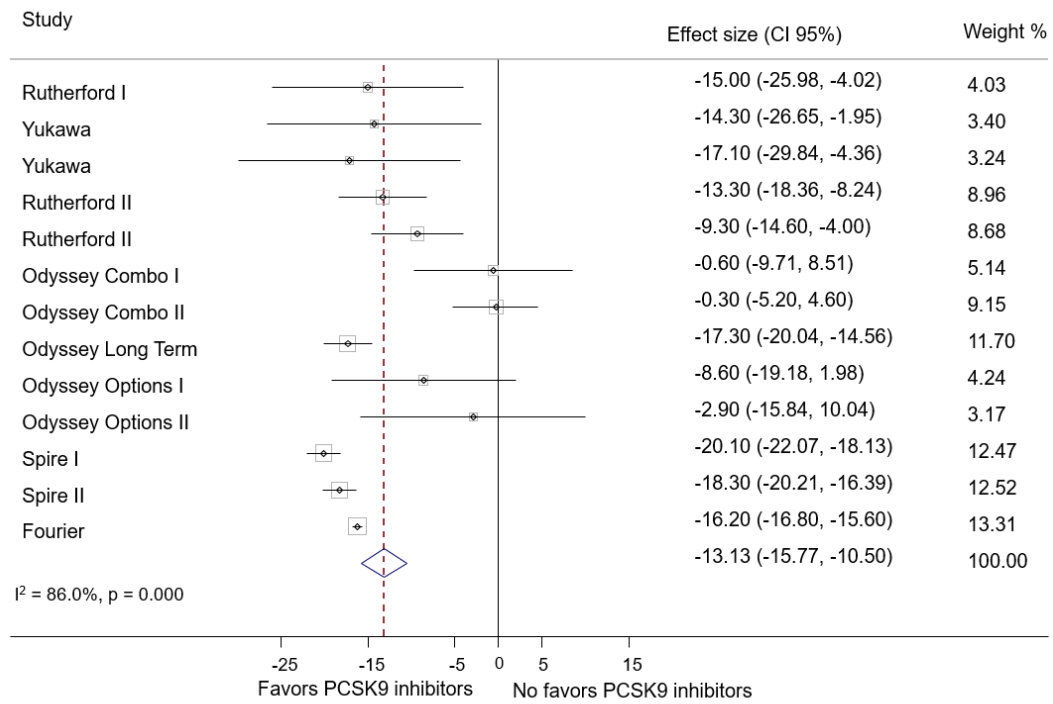
NOTE: Weights are from random effects analysis

Figure 9: HDL % change



NOTE: Weights are from random effects analysis

Figure 10: Triglycerides % change



NOTE: Weights are from random effects analysis

Figure 11: Total cholesterol % change

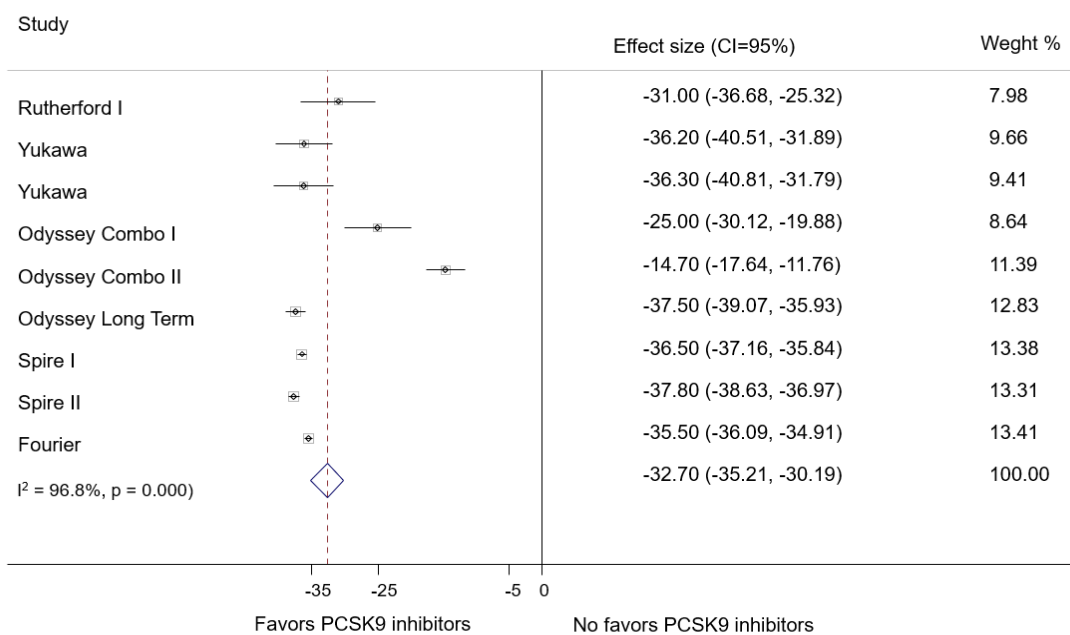


Figure 12: Non-HDL cholesterol % change

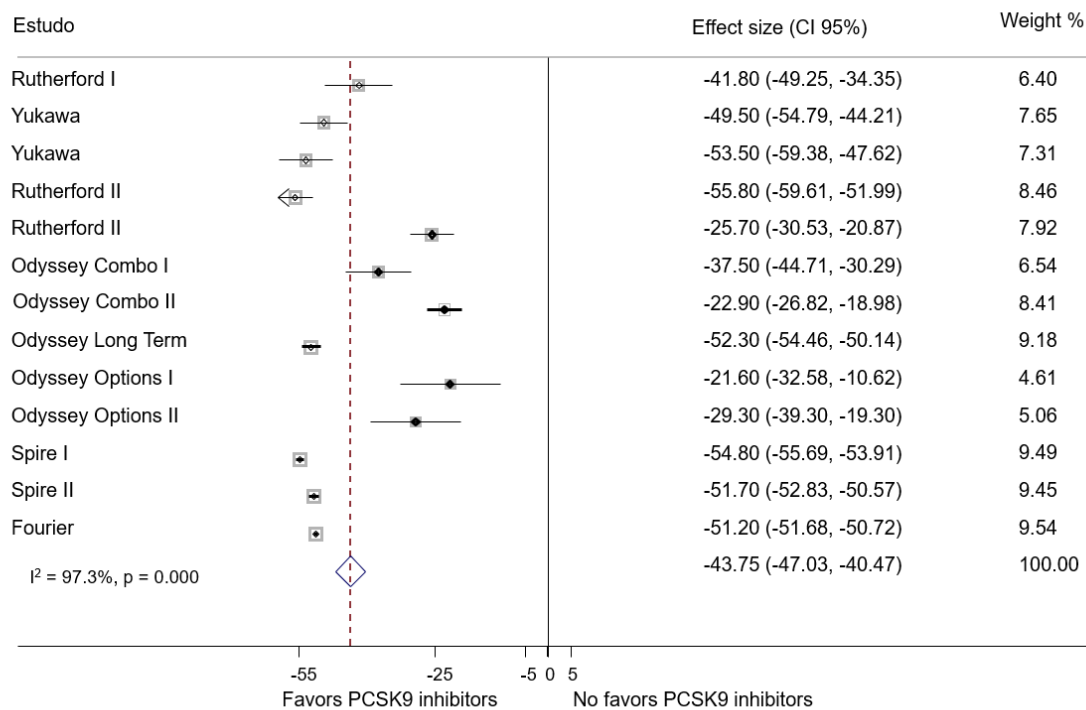
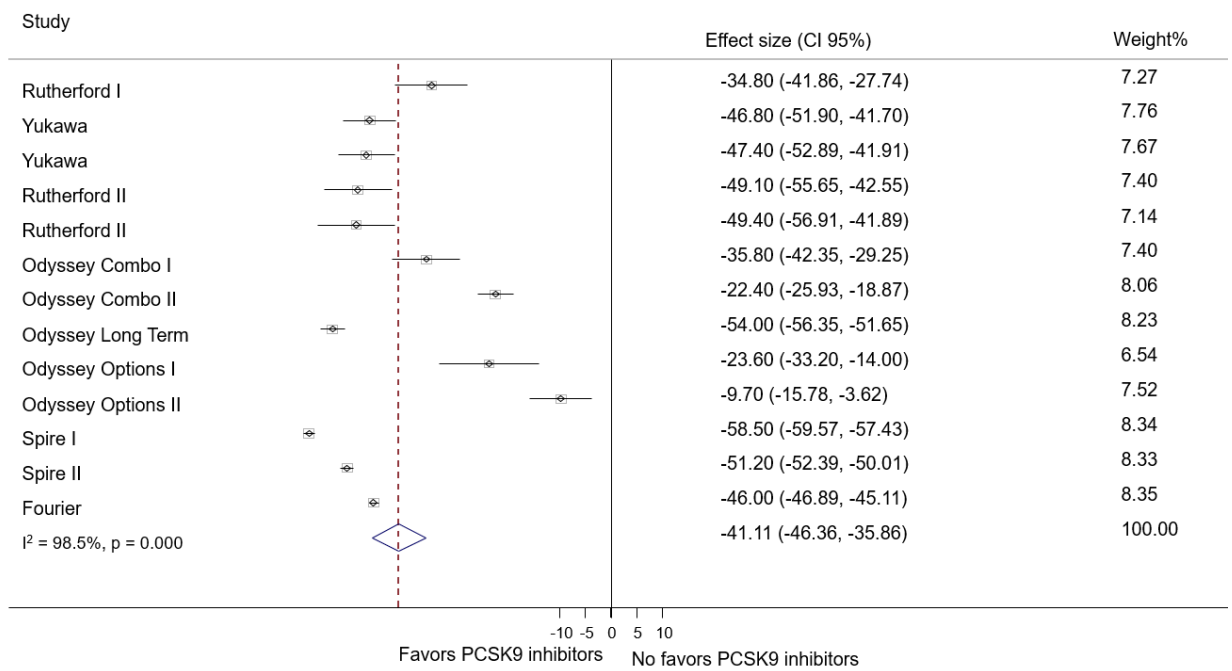


Figure 13: APOB % change



NOTE: Weights are from random effects analysis

Figure14: Funnel plot with pseudo 95% confidence limits for MACE

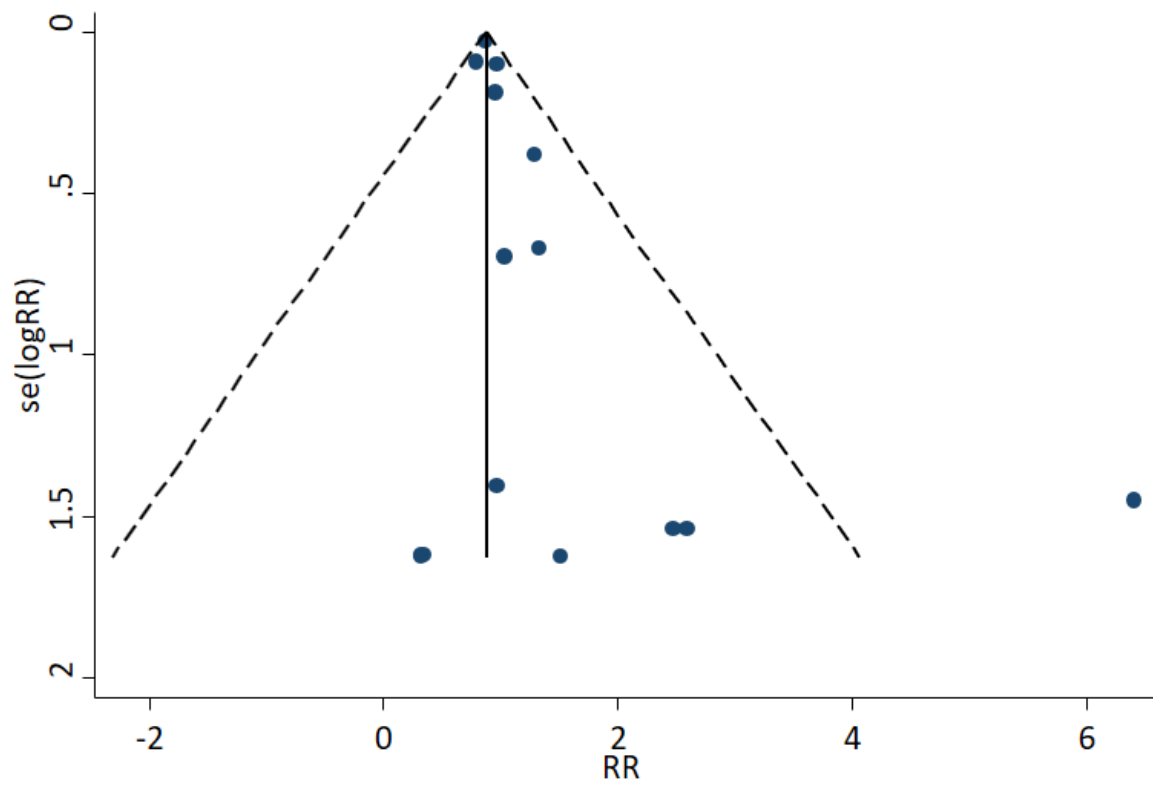


Figure 15: Quality of included studies

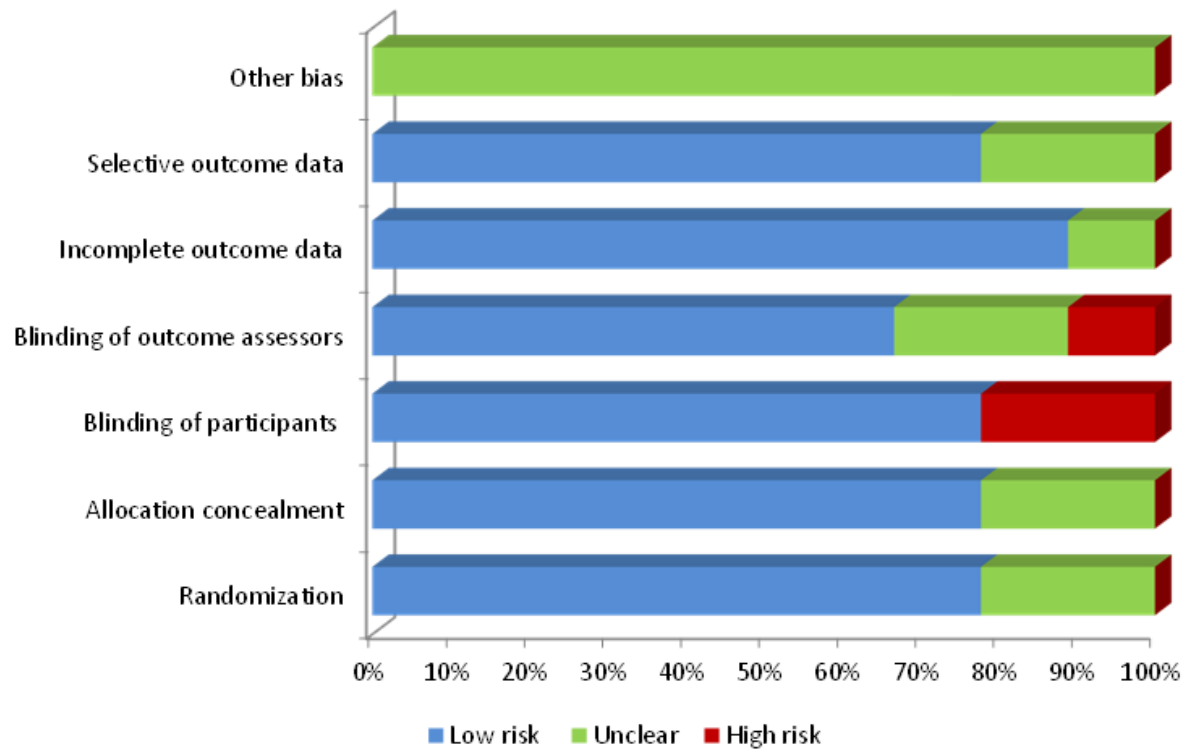
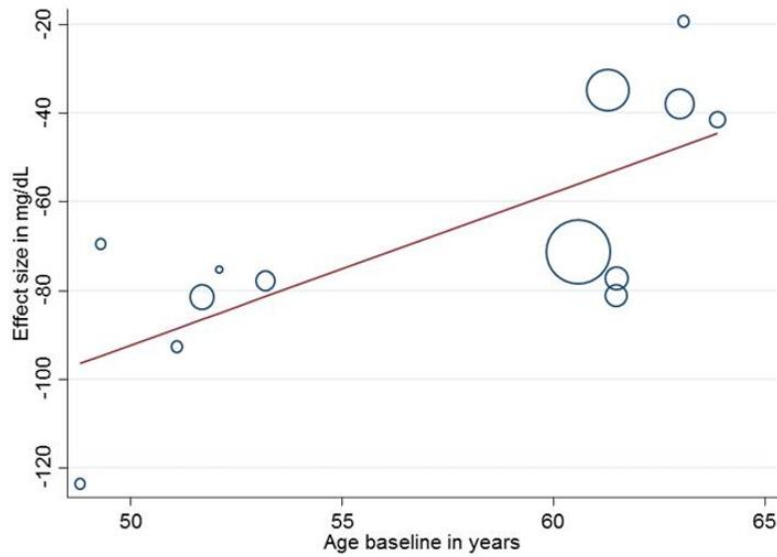
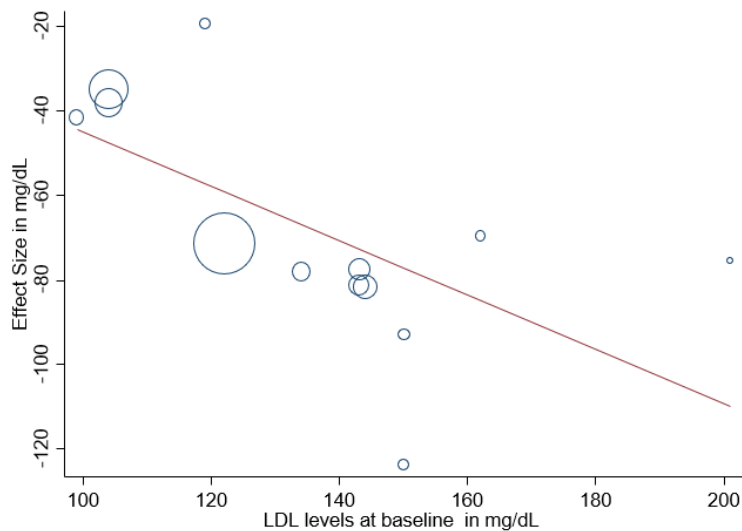


Figure 16 – Univariate metaregression of age at baseline and PCSK9 monoclonal antibody inhibitors effect sizes on LDL absolute reduction in mg/dL



Fonte: 18-27

Figure 17 – Univariate metaregression of LDL levels at baseline and PCSK9 monoclonal antibody inhibitors effect sizes on LDL absolute reduction in mg/dL



Fonte: 18-27

CAPÍTULO 3

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os achados do presente estudo sugerem que os inibidores da PCSK9 são eficazes na melhoria dos níveis de lípides plasmáticos, e principalmente sugerem a redução no risco de morte coronária, eventos cardiovasculares e morte atribuída por qualquer causa. Considerando que a presente metanálise foi conduzida a partir dos resultados de diferentes estudos clínicos envolvendo inibidores da PCSK9 (alirocumabe, evolucumabe e bococizumabe) com um número de expressivos de participantes, é possível referendar os resultados obtidos em metanálises já publicadas.

Os inibidores da PCSK9 evolucumabe e alirocumabe, foram aprovados pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), para comercialização no Brasil, configurando como opção para tratamento da hipercolesterolemia em adultos com hipercolesterolemia primária (familiar heterozigótica e não familiar) ou dislipidemia mista, e para pacientes incapazes de atingir os níveis alvos predefinidos para LDLC, mesmo com terapia preconizada pelas diretrizes em vigor.

O alirocumabe foi registrado na Anvisa pelo laboratório Sanofi Aventis, com a marca Praluent®, na apresentação de solução injetável para administração subcutânea, na concentração de 75mg/ml, com posologia recomendada de 75mg a 150mg a cada duas semanas.

O evolucumabe foi registrado pelo laboratório Amgen do Brasil com a marca Repatha®, na apresentação de solução injetável para administração subcutânea, na concentração de 140mg/ml, com posologia recomendada de 140mg a cada duas semanas ou 420mg mensal.

De forma semelhante ao que ocorre com medicamentos inovadores lançados no mercado, o custo do tratamento com os inibidores da PCSK9 encontra-se em patamares elevados, restringindo o acesso para grande parte da população.

A terapia padrão empregada há cerca de três décadas tanto no tratamento como na prevenção da hipercolesterolemia, está baseada no uso de estatinas, isoladas, em altas doses ou em associação com outras drogas hipolipemiantes.

Grande parte dos pacientes, responde favoravelmente à terapia preconizada, atingindo os níveis pré-estabelecidos de LDLC. Porém, existem pacientes refratários à terapia, como os portadores de HF, ou ainda, àqueles intolerantes aos efeitos adversos das estatinas. Para estas situações, uma alternativa terapêutica é desejável.

Diante do exposto, o controle da hipercolestolemia com inibidores da PCSK9 deve ser indicado, neste momento, para os pacientes que não obtém resultados efetivos com as terapias convencionais, em decorrência do alto custo dos novos medicamentos. Especialmente, no que concerne o Sistema Único de Saúde (SUS), o recurso público destinado à aquisição de medicamentos é finito, sendo fortemente desaconselhado o direcionamento não racional para o custeio de terapias de alto custo, e que atendam a um grupo restrito de pacientes.

Desta forma, mostra-se essencial o esclarecimento sobre qual o nicho de pacientes efetivamente beneficiados com a terapia com inibidores da PCSK9, evitando-se desta forma, a judicialização e desgaste do erário público, comprometendo o tratamento de um percentual considerável da população.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Xavier, H. T. *et al.* V Diretriz Brasileira de Dislipidemias e Prevenção da Aterosclerose. *Arq. Bras. Cardiol.* **101**, 01–22 (2013).
2. Harvey, R. A. & Ferrier, D. R. *Bioquímica ilustrada.* (2015).
3. Faludi, A. A., M. C. O. Izar & Saraiva, J. F. K. Atualização da diretriz brasileira de dislipidemias e prevenção da aterosclerose - 2017. *Arq. Bras. Cardiol.* **109**, 1–76 (2017).
4. Nordestgaard, B. G. *et al.* Lipoprotein(a) as a cardiovascular risk factor: Current status. *Eur. Heart J.* **31**, 2844–2853 (2010).
5. Virani, S. S. *et al.* Associations between lipoprotein(a) levels and cardiovascular outcomes in black and white subjects: the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study. *Circulation* **125**, 241–249 (2012).
6. OPAS. Doenças Cardiovasculares. http://www.paho.org/bra/index.php?option=com_content&view=article&id=5253:doencas-cardiovasculares&Itemid=839 (2016).
7. Ross, R. Atherosclerosis—an inflammatory disease. *N. Engl. J. Med.* **340**, 115–126 (1999).
8. Cannon, C. P. *et al.* Ezetimibe Added to Statin Therapy after Acute Coronary Syndromes. *N. Engl. J. Med.* **372**, 2387–2397 (2015).
9. Baigent, C., Keech, A., Kearney, P. M. & Blackwell, L. Efficacy and safety of cholesterol-lowering treatment: prospective meta-analysis of data from 90,056 patients in 14 randomized trials of statins. *Lancet* **366**, 1267–1278 (2005).
10. Ference, B. A. *et al.* Effect of long-term exposure to lower low-density lipoprotein cholesterol beginning early in life on the risk of coronary heart disease: A mendelian randomization analysis. *J. Am. Coll. Cardiol.* **60**, 2631–2639 (2012).
11. VanBruggen, N. & Ouyang, W. Th17 cells at the crossroads of autoimmunity, inflammation, and atherosclerosis. *Immunity* **40**, 10–12 (2014).
12. Pirillo, A., Norata, G. D. & Catapano, A. L. LOX-1 , OxLDL , and Atherosclerosis. **2013**, (2013).
13. Platt, N. & Gordon, S. Is the class A macrophage scavenger receptor (SR-A) multifunctional? — The mouse ' s tale. *J. Clin. Investig.* **108**, 649–654 (2001).
14. Febbraio, M. *et al.* Targeted disruption of the class B scavenger receptor CD36 protects against atherosclerotic lesion development in mice. *J. Clin. Invest.* **105**, 1049–1056 (2000).
15. Pöss, J. *et al.* Cardiovascular disease and dyslipidemia: beyond LDL. *Curr. Pharm. Des.* **17**, 861–70 (2011).
16. Gazi, I. F., Daskalopoulou, S. S., Nair, D. R. & Mikhailidis, D. P. Effect of ezetimibe in patients who cannot tolerate statins or cannot get to the low density lipoprotein cholesterol target despite taking a statin. *Curr. Med. Res. Opin.* **23**, 2183–92 (2007).
17. Pijlman, A. H. *et al.* Evaluation of cholesterol lowering treatment of patients with familial hypercholesterolemia : A large cross-sectional study in The Netherlands. **209**, 189–194 (2010).
18. Hammer, Gary D.; Mcphee, S. J. *Fisiopatologia da Doença.* (2015).

19. Board, J. B. S. *Joint British Societies' consensus recommendations for the prevention of cardiovascular disease (JBS3)*. *Heart* **100**, (2014).
20. Pagidipati, N. J. & Gaziano, T. A. Estimating Deaths From Cardiovascular Disease: A Review of Global Methodologies of Mortality Measurement. *Circulation* **127**, 749–756 (2013).
21. Lambert, G., Sjouke, B., Choque, B., Kastelein, J. J. P. & Hovingh, G. K. The PCSK9 decade. *J. Lipid Res.* **53**, 2515–2524 (2012).
22. Grundy, S. M. *et al.* Implications of recent clinical trials for the National Cholesterol Education Program Adult Treatment Panel III guidelines. *Circulation* **110**, 227–239 (2004).
23. Reiner, Ž. *et al.* ESC/EAS Guidelines for the management of dyslipidaemias. *Eur. Heart J.* **32**, 1769–1818 (2011).
24. Smith, S. C. *et al.* AHA/ACCF secondary prevention and risk reduction therapy for patients with coronary and other atherosclerotic vascular disease: 2011 update: A guideline from the American Heart Association and American College of Cardiology Foundation. *Circulation* **124**, 2458–2473 (2011).
25. Perk, J. *et al.* 'European Guidelines on cardiovascular disease prevention in clinical practice (version 2012)' The Fifth Joint Task Force of the European Society of Cardiology and Other Societies on Cardiovascular Disease Prevention in Clinical Practice (constituted by r. *Eur. Heart J.* **33**, 2126–2126 (2012).
26. Zhao, Y., Zabriski, S. & Bertram, C. Associations between statin adherence level, health care costs, and utilization. *J. Manag. care Spec. Pharm.* **20**, 703–13 (2014).
27. Shaharyar, S. *et al.* Obesity and metabolic phenotypes (metabolically healthy and unhealthy variants) are significantly associated with prevalence of elevated C-reactive protein and hepatic steatosis in a large healthy Brazilian population. *J. Obes* **2015**, 178526 (2015).
28. Navarese, E. P. *et al.* Effects of proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 antibodies in adults with hypercholesterolemia: A systematic review and meta-analysis. *Ann. Intern. Med.* **163**, 40–51 (2015).
29. Seidah, N. G. *et al.* The secretory proprotein convertase neural apoptosis-regulated convertase 1 (NARC-1): Liver regeneration and neuronal differentiation. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **100**, 928–933 (2003).
30. STEIN, E. A. & RAAL, F. Reduction of low-density lipoprotein cholesterol by monoclonal antibody inhibition of PCSK9. *Annual review of medicine* **65**, 417–431 (2014).
31. Cohen, J. C., Boerwinkle, E., Mosley, T. H. & Hobbs, H. H. Sequence Variations in. *Hear. Dis.* 1264–1272 (2006).
32. Corral, P. Back to basics: PCSK9 as a new target for the LDL receptor. *Arq. Bras. Cardiol.* **102**, e5-8 (2014).
33. Peterson, A. S., Fong, L. G. & Young, S. G. PCSK9 function and physiology. *J. Lipid Res.* **49**, 1152–1156 (2008).
34. Zhao, Z. *et al.* Molecular Characterization of Loss-of-Function Mutations in PCSK9 and Identification of a Compound Heterozygote. *Am. J. Hum. Genet.* **79**, 514–523 (2006).
35. Abifadel, M. *et al.* Mutations in PCSK9 cause autosomal dominant hypercholesterolemia. *Nat. Genet.* **34**, 154–156 (2003).

36. Horton, J. D., Cohen, J. C. & Hobbs, H. H. PCSK9: a convertase that coordinates LDL catabolism. *J. Lipid Res.* **50**, S172–S177 (2009).
37. Dubuc, G. *et al.* Statins upregulate PCSK9, the gene encoding the proprotein convertase neural apoptosis-regulated convertase-1 implicated in familial hypercholesterolemia. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* **24**, 1454–1459 (2004).
38. Horton, J. D., Cohen, J. C. & Hobbs, H. H. Molecular biology of PCSK9: its role in LDL metabolism. *Trends Biochem. Sci.* **32**, 71–77 (2007).
39. Ferreira, C. E. dos S., Fonseca, F. A. H. & Mangueira, C. L. P. A PCSK9 e sua relevância clínica com os novos alvos terapêuticos contra a dislipidemia. *Einstein (16794508)* **10**, (2012).
40. Jeong, H. J. *et al.* Sterol-dependent regulation of proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 expression by sterol-regulatory element binding protein-2. *J. Lipid Res.* **49**, 399–409 (2008).
41. Maxwell, K. N., Soccio, R. E., Duncan, E. M., Sehayek, E. & Breslow, J. L. Novel putative SREBP and LXR target genes identified by microarray analysis in liver of cholesterol-fed mice. *J. Lipid Res.* **44**, 2109–2119 (2003).
42. Pandit, S. *et al.* Functional analysis of sites within PCSK9 responsible for hypercholesterolemia. *J. Lipid Res.* **49**, 1333–43 (2008).
43. Giugliano, R. P. & Sabatine, M. S. Are PCSK9 Inhibitors the Next Breakthrough in the Cardiovascular Field? *J. Am. Coll. Cardiol.* **65**, 2638–2651 (2015).
44. Ahn, C. H. & Choi, S. H. New drugs for treating dyslipidemia: Beyond statins. *Diabetes Metab. J.* **39**, 87–94 (2015).
45. Buss, N. A. P. S., Henderson, S. J., McFarlane, M., Shenton, J. M. & De Haan, L. Monoclonal antibody therapeutics: History and future. *Curr. Opin. Pharmacol.* **12**, 615–622 (2012).
46. Imai, K. & Takaoka, A. Comparing antibody and small-molecule therapies for cancer. *Nat. Rev. Cancer* **6**, 714–727 (2006).
47. Raal, F. *et al.* 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 inhibiti. *Circulation* **126**, 2408–2417 (2012).
48. United States Food and Drug Administration. FDA approves Praluent to treat certain patients with high cholesterol. 1 (2015).
49. United States Food and Drug Administration. FDA approves Repatha to treat certain patients with high cholesterol. 1–3 (2015).
50. Markham, A. Alirocumab: First Global Approval. *Drugs* **75**, 1699–1705 (2015).
51. Wasserman, E. & Staton, T. Amgen Receives Positive CHMP Opinion For Use Of Repatha™(Evolocumab) For The Treatment Of High Cholesterol . (2015).
52. Banerjee, Y., Santos, R. D., Al-Rasadi, K. & Rizzo, M. Targeting PCSK9 for therapeutic gains: Have we addressed all the concerns? *Atherosclerosis* **248**, 62–75 (2016).
53. Ridker, P. M. *et al.* Cardiovascular Efficacy and Safety of Bococizumab in High-Risk Patients. *N. Engl. J. Med.* **376**, 1527–1539 (2017).

54. Cannon, C. P. *et al.* Meta-analysis of cardiovascular outcomes trials comparing intensive versus moderate statin therapy. *Rev. Port. Cardiol.* **25**, 865–868 (2006).
55. Rossebø, A. B. *et al.* Intensive Lipid Lowering with Simvastatin and Ezetimibe in Aortic Stenosis. *N. Engl. J. Med.* **359**, 1343–1356 (2008).
56. Li, C. *et al.* Efficiency and safety of proprotein convertase subtilisin/kexin 9 monoclonal antibody on hypercholesterolemia: a meta-analysis of 20 randomized controlled trials. *J. Am. Heart Assoc.* **4**, e001937 (2015).
57. Ridker, P. M. *et al.* Cardiovascular Efficacy and Safety of Bococizumab in High-Risk Patients. *N. Engl. J. Med.* **376**, 1527–1539 (2017).
58. Sabatine, M. S. *et al.* Evolocumab and Clinical Outcomes in Patients with Cardiovascular Disease. *N. Engl. J. Med.* **376**, 1713–1722 (2017).
59. Higgins, J. P. T. *et al.* The Cochrane Collaboration’s tool for assessing risk of bias in randomised trials. *Bmj* **343**, d5928–d5928 (2011).
60. DerSimonian, R. & Laird, N. Meta-analysis in clinical trials. *Control. Clin. Trials* **7**, 177–188 (1986).
61. Sterne, J. A. C., Egger, M. & Smith, G. D. Investigating and Dealing with Publication and Other Biases. *Syst. Rev. Heal. Care Meta-Analysis Context Second Ed.* **323**, 101 (2001).
62. Cohen, J. *et al.* Low LDL cholesterol in individuals of African descent resulting from frequent nonsense mutations in PCSK9. *Nat. Genet.* **37**, 161–165 (2005).
63. Rosales, C. *et al.* Apolipoprotein AI deficiency inhibits serum opacity factor activity against plasma high density lipoprotein via a stabilization mechanism. *Biochemistry* **54**, 2295–2302 (2015).
64. Neil, A. *et al.* Reductions in all-cause, cancer, and coronary mortality in statin-treated patients with heterozygous familial hypercholesterolaemia: A prospective registry study. *Eur. Heart J.* **29**, 2625–2633 (2008).
65. Mata, N. *et al.* Clinical characteristics and evaluation of LDL-cholesterol treatment of the Spanish Familial Hypercholesterolemia Longitudinal Cohort Study (SAFEHEART). *Lipids Health Dis.* **10**, 94 (2011).
66. Sahebkar, A., Simental-Mendía, L. E., Guerrero-Romero, F., Golledge, J. & Watts, G. F. Effect of statin therapy on plasma proprotein convertase subtilisin kexin 9 (PCSK9) concentrations: a systematic review and meta-analysis of clinical trials. *Diabetes, Obes. Metab.* **17**, 1042–1055 (2015).
67. Hirayama, A. *et al.* Effects of Evolocumab (AMG 145), a Monoclonal Antibody to PCSK9, in Hypercholesterolemic, Statin-Treated Japanese Patients at High Cardiovascular Risk. *Circ. J.* **78**, 1073–1082 (2014).
68. Raal, F. J. *et al.* PCSK9 inhibition with evolocumab (AMG 145) in heterozygous familial hypercholesterolaemia (RUTHERFORD-2): a randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *The Lancet* **385**, 331–340 (2015).
69. Kereiakes, D. J. *et al.* Efficacy and safety of the proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 inhibitor alirocumab among high cardiovascular risk patients on maximally tolerated statin therapy: The ODYSSEY COMBO i study. *Am. Heart J.* **169**, 906–915 (2015).
70. Cannon, C. P. *et al.* Efficacy and safety of alirocumab in high cardiovascular risk patients with inadequately controlled hypercholesterolaemia on maximally tolerated doses of statins: The

- ODYSSEY COMBO II randomized controlled trial. *Eur. Heart J.* **36**, 1186–1194 (2015).
71. Robinson, J. G. *et al.* Efficacy and Safety of Alirocumab in Reducing Lipids and Cardiovascular Events. *N. Engl. J. Med.* **372**, 1489–1499 (2015).
 72. Bays, H. *et al.* Alirocumab as add-on to atorvastatin versus other lipid treatment strategies: ODYSSEY OPTIONS I randomized trial. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **100**, 3140–3148 (2015).
 73. Farnier, M. *et al.* Efficacy and safety of adding alirocumab to rosuvastatin versus adding ezetimibe or doubling the rosuvastatin dose in high cardiovascular-risk patients: The ODYSSEY OPTIONS II randomized trial. *Atherosclerosis* **244**, 138–146 (2016).
 74. Ginsberg HN, Rader DJ, Raal FJ, *et al.* ODYSSEY HIGH FH: efficacy and safety of alirocumab in patients with severe heterozygous familial hypercholesterolemia. *Circulation* **130**, 2119 (2014).
 75. Kastelein, J. J. P. *et al.* Efficacy and safety of alirocumab in patients with heterozygous familial hypercholesterolemia not adequately controlled with current lipid-lowering therapy: Design and rationale of the ODYSSEY FH studies. *Cardiovasc. Drugs Ther.* **28**, 281–289 (2014).
 76. Pijlman, A. H. *et al.* Evaluation of cholesterol lowering treatment of patients with familial hypercholesterolemia: a large cross-sectional study in The Netherlands. *Atherosclerosis* **209**, 189–194 (2010).
 77. Nanchen, D. *et al.* Prevalence and management of familial hypercholesterolaemia in patients with acute coronary syndromes. *Eur. Heart J.* **36**, 2438–2445 (2015).