

Статья поступила в редакцию 17.09.2019 г.

Чаулин А.М., Александров А.Г., Александрова О.С., Дупляков Д.В.
 ФГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет» Минздрава России,
 ГБУЗ «Самарский областной клинический кардиологический диспансер»,
 ООО «Инвитро-Самара»,
 ГБУЗ СО «Самарская Медико-санитарная часть № 5 Кировского района»,
 г. Самара, Россия

РОЛЬ ПРОПРОТЕИН-КОНВЕРТАЗЫ СУБТИЛИЗИН/КЕКСИН ТИПА 9 (PCSK9) В ПАТОФИЗИОЛОГИИ АТЕРОСКЛЕРОЗА

Повышенная концентрация липопротеинов низкой плотности (ЛПНП) в сыворотке крови, бесспорно, является важнейшим фактором риска возникновения сердечно-сосудистых заболеваний. В настоящее время статины являются наиболее широко используемыми препаратами для лечения пациентов с гиперхолестеринемией, однако у некоторых пациентов резидуальный сердечно-сосудистый риск остается высоким даже после проведения статинотерапии максимальными дозами. Относительно недавно обнаруженная белковая молекула – пропротеин-конвертаза субтилизин/кексин типа 9 (PCSK9) стала новой терапевтической мишенью для снижения сывороточных уровней ЛПНП. PCSK9 усиливает деградацию рецепторов липопротеинов низкой плотности (рЛПНП), из-за чего снижается элиминация частиц ЛПНП из кровотока, что приводит к гиперлипидемии и возникновению атеросклероза. Помимо липидных эффектов, PCSK9 обладает также нелипидными функциями, среди которых усиление воспалительных реакций имеет наибольшее значение для патофизиологии атеросклероза. В обзоре также обсуждается возможность использования PCSK9 в качестве диагностического маркера сердечно-сосудистых заболеваний.

Ключевые слова: пропротеин-конвертаза субтилизин/кексин типа 9 (PCSK9); атеросклероз; липопротеины низкой плотности (ЛПНП); рецепторы липопротеинов низкой плотности (рЛПНП); воспаление

Chaulin A.M., Aleksandrov A.G., Aleksandrova O.S., Duplyakov D.V.

Samara State Medical University,
 Samara Regional Clinical Cardiology Dispensary,
 LLC Invitro Samara,
 Samara Health Unit N 5 of the Kirov District, Samara, Russia

THE ROLE OF THE PROPROTEIN CONVERTASE SUBTILISIN / KEXIN TYPE 9 (PCSK9) IN THE PATHOPHYSIOLOGY OF ATHEROSCLEROSIS

Increased serum low-density lipoprotein (LDL) concentrations are clearly the most important risk factors for cardiovascular diseases. Currently, statins are the most widely used drugs for treating patients with hypercholesterolemia, however, in some patients, the residual cardiovascular risk remains high even after the statin therapy is given with the maximum tolerated dose. A relatively recently discovered protein molecule, the proprotein convertase subtilisin / kexin type 9 (PCSK9), has become a new therapeutic target for lowering serum LDL levels. PCSK9 increases the degradation of low-density lipoprotein receptors (rLDL), which reduces the elimination of LDL particles from the bloodstream, leading to hyperlipidemia and the occurrence of atherosclerosis. In addition to the lipid effects, PCSK9 also has non-lipid functions, among which, the enhancement of inflammatory reactions is of greatest importance for the pathophysiology of atherosclerosis. The review also discusses the possibility of using PCSK9 as a diagnostic marker of cardiovascular diseases.

Key words: proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 (PCSK9); atherosclerosis; low-density lipoproteins (LDL); low-density lipoprotein receptors (rLDL); inflammation

ВВЕДЕНИЕ. ИСТОРИЯ ОТКРЫТИЯ И ИЗУЧЕНИЯ PCSK9

В результате экспериментальных работ на кроликах русские исследователи А.И. Игнатовский и Н.Н. Аничков (1908-1913 гг.) доказали, что атеросклеротическое поражение артерий

развивается вследствие гиперхолестеринемии. Однако, далеко не все ученые поначалу признавали липидную теорию ввиду определенных причин. Так, некоторые исследователи в своих экспериментах на других животных не зафиксировали поражения сосудов в ответ на липидную диету, так как в то время еще не было известно о метаболических особенностях обмена холестерина отдельных видов животных.

Еще одна значимая причина заключалась в преобладающей тогда фаталистической точке зрения, согласно которой атеросклероз у человека является неизбежным следствием старения и не подлежит модификации [1]

Корреспонденцию адресовать:

ЧАУЛИН Алексей Михайлович,
 ФГБОУ ВО СамГМУ Минздрава России,
 443001, г. Самара, ул. Чапаевская, д. 89.
 Тел: +7-927-770-25-87
 E-mail: alekseymichailovich22976@gmail.com

Всемирное признание липидная теория возникновения атеросклероза получила только в 1984 г., после того как Национальный Институт Сердца завершил крупное рандомизированное 7-летнее исследование. Было окончательно доказано, что уменьшение концентрации холестерина в крови приводит к значимому снижению риска возникновения инфаркта миокарда.

Американские исследователи Goldstein J.L. и Brown M.S. изучали регуляцию метаболизма холестерина в организме пациентов, страдающих семейной гиперхолестеринемией (СГХС), для которой характерно рефрактерное к терапии увеличение уровней общего холестерина, липопротеинов низкой плотности (ЛПНП) и смерть в молодом возрасте от инфаркта или инсульта. В 1973 г. данные ученые обнаружили рецепторы липопротеинов низкой плотности (рЛПНП) на поверхности фибробластов, полученных при помощи метода культивирования тканей. В 1984 г. они установили нуклеотидную последовательность гена, кодирующего рЛПНП, а также описали несколько генетических мутаций у больных с СГХС. Изучив молекулярные механизмы регуляции обмена холестерина, исследователи сделали вывод, что скорость синтеза рЛПНП в гепатоцитах, а в последующем плотность рЛПНП на поверхности гепатоцитов зависит от внутриклеточной концентрации холестерина: при снижении интраклеточного холестерина активируется синтез рЛПНП, а при повышении холестерина – замедляется. За эти важнейшие открытия в 1985 г. ученые были удостоены Нобелевской премии [2].

Тем не менее, механизмы элиминации уже синтезированных рЛПНП с поверхности мембраны гепатоцитов по-прежнему оставались неизвестными.

В 2003 году канадский ученый Seidah N.G. обнаружил белок пропротеин-конвертазу субтилизин/кексин типа 9 (PCSK9). Данное название было дано ввиду принадлежности данного белка к семейству пропротеиновых конвертаз млекопитающих – ферменты, отвечающие за посттрансляционные созревания белков. Другое название PCSK9 – конвертаза 1, регулирующая апоптоз нейронов (NARC-1), используется реже и было дано вследствие участия данного белка в инициации апоптоза в нейрональных клетках [3, 4].

Poirier S. с коллегами (2006) сообщили о том, что PCSK9 (NARC-1) играет важную роль в развитии ЦНС. Специфическое нокаутирование PCSK9 у мышей и рыбок Данио вызывало общую дезорганизацию нейронов ЦНС и гибель эмбрионов через 96 ч от момента оплодотворения [5].

Abifadel M. с соавт (2003), при помощи метода секвенирования, обнаружили 2 миссенс-мутации в гене, кодирующем PCSK9 (S127R, F216L) в французских семьях, страдающих СГХС [6]. В результате этой находки ген PCSK9 стали считать еще одним геном, причастным к возникновению СГХС (третьим по распространенности – после мутаций в гене рЛПНП и в гене атерогенного аполипопротеина В).

В результате дальнейших исследований удалось установить, что мутации гена PCSK9, сопровождающиеся усилением активности фермента PCSK9, вызывают повышение концентрации холестерина, ЛПНП и увеличивают риск развития атеросклероза. А мутации гена PCSK9, вызывающие снижение активности PCSK9, сопровождались уменьшением сывороточных уровней ЛПНП и снижением риска атеросклеротического поражения. К настоящему времени уже известно более 50 мутаций и полиморфизмов гена PCSK9, оказывающих значимое влияние на уровни ЛПНП [7, 8].

Распространенность, клинико-функциональные и лабораторные признаки большинства известных мутаций и полиморфизмов PCSK9 сильно различаются и определяются региональными, расовыми и популяционными особенностями. Один из полиморфизмов гена PCSK9 (1420G>A), вызывающий усиление активности белка PCSK9, у жителей Японии был связан с повышенными концентрациями ЛПНП, тогда как в большинстве остальных популяций этот полиморфизм не ассоциировался с изменениями уровней ЛПНП [9]. Другим примером служит полиморфизм гена PCSK9 (23968A>G), сопровождающийся усилением функции: в итальянском регионе наблюдалась положительная ассоциация с уровнем ЛПНП, повышенным риском развития ишемической болезни сердца (ИБС) и толщиной интима-медиа общей сонной артерии, однако у жителей Тайваня данный полиморфизм не был связан с повышенными уровнями ЛПНП и риском возникновения ИБС [10, 11].

Cohen J. с коллегами обнаружили 2 мутации, которые сопровождались ослаблением активности PCSK9 и примерно 40 % снижением уровней ЛПНП. Примечательно, что обе мутации гораздо чаще встречались у «темнокожих» афроамериканцев (2 %), по сравнению с «белыми» европейскими американцами (0,1 %) [12].

В крупном генетическом исследовании обнаружено: из 3363 обследованных «темнокожих» пациентов 2,6 % имели мутации в гене PCSK9, которые были связаны с 28 %-ным снижением концентрации ЛПНП и 88 %-ным снижением риска развития

Сведения об авторах:

ЧАУЛИН Алексей Михайлович, ассистент, кафедра гистологии и эмбриологии, ФГБОУ ВО СамГМУ Минздрава России; врач клинической лабораторной диагностики, ГБУЗ «СОККД», г. Самара, Россия. E-mail: alekseymichailovich22976@gmail.com

АЛЕКСАНДРОВ Артем Геннадьевич, врач клинической лабораторной диагностики, ООО «ИНВИТРО-Самара», г. Самара, Россия.

АЛЕКСАНДРОВА Ольга Сергеевна, врач клинической лабораторной диагностики, ГБУЗ СО МСЧ № 5, г. Самара, Россия.

ДУПЛЯКОВ Дмитрий Викторович, доктор мед. наук, профессор, кафедра кардиологии и сердечно-сосудистой хирургии, ФГБОУ ВО СамГМУ Минздрава России; зам. гл. врача по мед. части, ГБУЗ «СОККД», г. Самара, Россия.

ИБС. Из 9524 обследованных «белых» пациентов 3,2 % имели мутацию PCSK9, которая ассоциировалась с 15 %-ным снижением сывороточных уровней ЛПНП и 47 %-ным снижением риска ИБС [13].

Актуальность более детального изучения обнаруженной молекулы PCSK9 была вызвана необходимостью совершенствования терапии при атеросклерозе и создания новой группы гиполипидемических препаратов. Наиболее используемые препараты – статины – во многих случаях не эффективны для достижения целевых уровней общего холестерина и ЛПНП. Использование максимально переносимых дозировок статинов у некоторых пациентов не приводит к снижению резидуального сердечно-сосудистого риска и, в то же время, может сопровождаться осложнениями, преимущественно со стороны скелетных мышц и печени. Кроме того, статины практически бессильны в отношении СГХС [14, 15].

В экспериментальных исследованиях на животных моделях и изолированных человеческих гепатоцитах изучались механизмы регуляции активности PCSK9. Maxwell K.N. с соавт. [16] сообщили, что высокохолестериновая диета приводит к снижению экспрессии PCSK9 в печени мышей. При снижении внутриклеточного холестерина происходит активация 3-х факторов транскрипции, обозначаемых как SREBP-1a, -1c, -2 (Sterol Regulatory Element Binding Proteins, белки, связывающие стерол-регуляторный элемент), которые, в свою очередь, активируют гены ферментов, катализирующих реакции биосинтеза и метаболизма холестерина: β-гидрокси-β-метилглутарил-КоА-синтаза (ГМГ-КоА-синтаза), 3-гидрокси-3-метилглутарил-КоА-редуктаза (ГМГ-КоА-редуктаза), PCSK9 (рис. 1).

Dubuc G. с коллегами [17] исследовали влияние статинов (ингибиторов ГМГ-КоА-редуктазы) на экспрессию гена PCSK9 в культивируемых гепатоцитах человека. Исследователи выявили сильное дозозависимое повышение уровней мРНК PCSK9 под

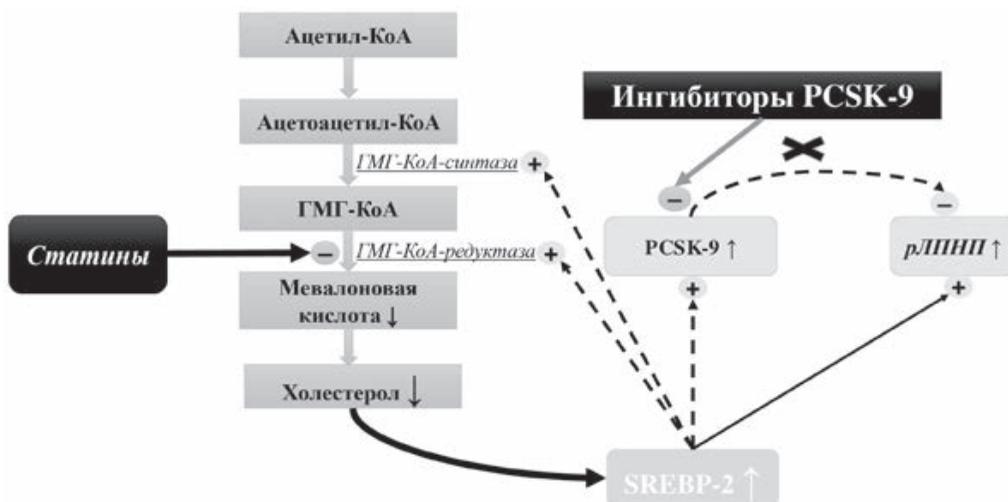
действием статинов. Добавление мевалоновой кислоты (предшественника биосинтеза холестерина) уменьшало статин-индуцированную экспрессию PCSK9. Механизм статин-индуцированного повышения PCSK9 авторы связывают с развитием внутриклеточной гипохолестеринемии, активацией в данных условиях фактора транскрипции SREBP-2, который усиливает экспрессию PCSK9 (рис. 1).

В ряде клинических исследований также установлено значимое дозозависимое влияние статинов на уровни PCSK9, а это является одним из механизмов, который вызывает ослабление восприимчивости к статинотерапии. Увеличение дозы статина в два раза не сопровождается пропорциональным (удвоенным) снижением сывороточных уровней ЛПНП. Так, например, в исследовании Careskey H.E. с соавт. (2008) каждое удвоение дозы приводило к снижению концентрации ЛПНП только на 6 %: 10 мг аторвастатина снижали уровни ЛПНП на 30 %, а при использовании 20 мг и 40 мг аторвастатина концентрация ЛПНП уменьшалась на 36 % и 42 %, соответственно [18].

Остальные эндогенные факторы, влияющие на биосинтез PCSK9 и имеющие потенциальное практическое значение, рассматриваются нами чуть позже.

Новые гиполипидемические препараты - ингибиторы PCSK9, в силу своей способности угнетать статин-индуцированное повышение активности PCSK9, могут использоваться совместно со статинами, т.е. являются синергистами. В 2015 г. в США и странах Европы после успешного прохождения клинических испытаний для практического использования одобрены 2 препарата, которые являются моноклональными антителами против PCSK9: алирокумаб (Regeneron/Sanofi), эволокумаб (Amgen). В 2016 г. эти препараты разрешены в Российской Федерации. Они могут использоваться как в виде монотерапии (дополнение к диете), так и в виде

Рисунок 1
Статин-индуцированное повышение PCSK9
Picture 1
Statin-induced PCSK9 enhancement



комплексной липидснижающей терапии (в дополнение к статинам/фибратам) [19-22].

ЭТАПЫ БИОСИНТЕЗА PCSK9

По химическому строению PCSK9 относится к сложным белкам – гликопротеинам, поэтому стадии биосинтеза такие же, как у любого другого белка: 1) транскрипция, 2) посттранскрипционные модификации (процессинг), 3) трансляция, 4) посттрансляционные модификации (рис. 2).

Ген PCSK9 состоит из 12 экзонов (кодирующих участков) и 11 интронов; располагается на коротком плече 1 хромосомы в позиции 1p.32.3. Экспрессия данного гена запускается фактором транскрипции – SREBP2. Еще одним активатором транскрипции PCSK9, как правило, характерным для печени, является ядерный фактор гепатоцитов-1 альфа (HNF-1α)

Продуктом транскрипции гена PCSK9 является пре-матричная РНК (пре-мРНК) PCSK9. Затем в процессе посттранскрипционных модификаций,

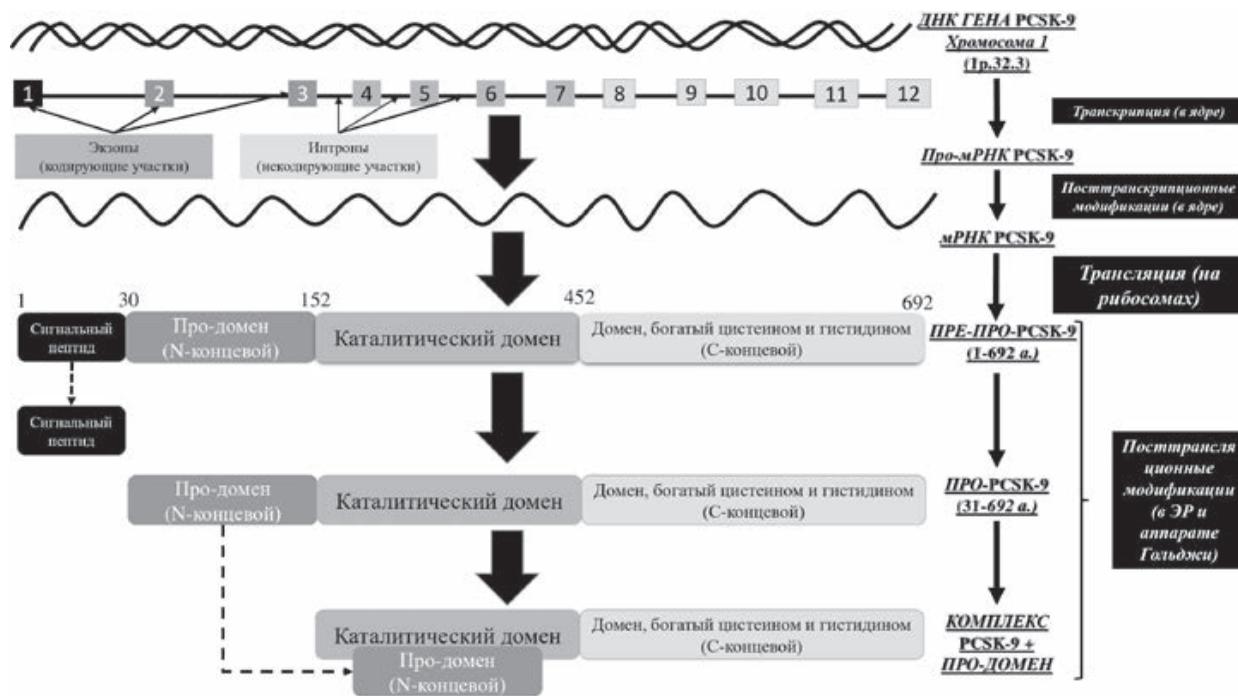
важнейшим из которых является сплайсинг, происходит вырезание некодирующих последовательностей (интронов) и сшивание экзонов, в результате чего образуется матричная РНК (мРНК) PCSK9 (рис. 2).

Следующий этап – трансляция – заключается в переводе последовательности нуклеотидов мРНК PCSK9 в аминокислотную последовательность (белковую молекулу). В конце данного этапа образуется незрелый белковый предшественник – пре-про-PCSK9, который имеет молекулярную массу 74 кДа и состоит из 4 доменов (участков): сигнальный пептид, продомен (N-концевой домен), каталитический домен и домен, богатый цистеином и гистидином (С-концевой) [23].

Посттрансляционные модификации включают несколько важнейших событий: фолдинг (сворачивание), частичный протеолиз, гликозилирование, которые происходят в эндоплазматической сети и комплексе Гольджи и заканчиваются формированием зрелого белка-фермента PCSK9.

Изучение этапов образования PCSK9 имеет не только теоретическую ценность, но и важнейшее

Рисунок 2
Стадии биосинтеза PCSK9
Figure 2
PCSK9 biosynthesis steps



Information about authors:

CHAULIN Aleksey Michailovich, assistant, department of histology and embryology, Samara State Medical University; doctor of clinical laboratory diagnostics, Samara Regional Clinical Cardiology Dispensary, Samara, Russia. E-mail: alekseymichailovich22976@gmail.com

ALEKSANDROV Artem Gennadievich, doctor of clinical laboratory diagnostics, LLC Invitro-Samara, Samara, Russian Federation.

ALEKSANDROVA Olga Sergeevna, doctor of clinical laboratory diagnostics, Samara Health Unit N 5 of the Kirov District, Samara, Russia.

DUPLYAKOV Dmitry Victorovich, doctor of medical sciences, professor, department of cardiology and cardiovascular surgery, Samara State Medical University; deputy chief doctor for the medical part, Samara Regional Clinical Cardiology Dispensary, Samara, Russia.

практическое значение, необходимое для поиска и изучения потенциальных мишеней для таргетной терапии. Так, на данный момент на стадии доклинических и клинических испытаний находятся группы препаратов, ингибирующие биосинтез PCSK9 на этапах транскрипции и посттранскрипционных модификаций: антисмысловые нуклеотиды, малые интерферирующие РНК (миРНК) [24].

Пре-про-PCSK9 превращается в про-PCSK9 в результате отщепления сигнального пептида (30 аминокислотных остатков, мол. масса = 2 кДа), которое происходит в эндоплазматической сети. После чего от про-PCSK9 аутокаталитически отщепляется продомен, однако затем он нековалентно связывается с каталитическим доменом, образуя комплекс PCSK9-продомен. Продомен при этом действует в качестве помощника, блокируя ферментативную активность PCSK9, а также обеспечивает правильное формирование пространственной структуры белка (фолдинг), а это является необходимым условием для транспорта PCSK9 из эндоплазматической сети в комплекс Гольджи.

Benjannet S. с соавт. сообщили, что из-за мутации С679Х возникает потеря части продомена, что приводит к нарушению фолдинга и транспортировки PCSK9 из эндоплазматической сети [25]. Нарушение фолдинга и снижение секреции PCSK9 зафиксировано также при мутации S462P [26].

Strom T.V. с коллегами (2014) установили, что в эндоплазматической сети частицы про-PCSK9 взаимодействуют с белковыми молекулами рЛПНП, которые также после синтеза на рибосомах находятся на стадии посттрансляционных модификаций. При этом рЛПНП способствуют аутокаталитическому отщеплению продомена от про-PCSK9, а аутокаталитически расщепленный PCSK9 действует как шаперон для нормального фолдинга белковых молекул рЛПНП [27].

Из эндоплазматической сети комплекс PCSK9-продомен транспортируется в аппарат Гольджи, при этом продомен, присоединенный к каталитическому домену, блокирует присоединение других белковых молекул, ингибирует ферментативную активность и защищает PCSK9 от расщепляющего действия других ферментов, в частности от фурина. Обнаружено, что в результате двух мутаций (A443T и С679Х) устойчивость молекулы PCSK9 к действию фурина снижается, что приводит к укорочению продолжительности жизни PCSK9. При этом концентрация рЛПНП в сыворотке крови и риск возникновения атеросклероза снижены. Отсюда исследователи считают, что препараты, модулирующие действие фурина, могут оказаться полезными для терапии гиперлипидемии [25].

Еще одним важным участником транспорта PCSK9 считается белок SEC24A, который обеспечивает формирование транспортных везикул. Chen X.W. с соавт. (2013) в эксперименте показали, что мыши с дефицитом белка SEC24A имеют заметно сниженные сывороточные уровни ЛПНП.

Опираясь на эти сведения, авторы считают, что разработка ингибиторов SEC24A может стать полезным терапевтическим подходом [28].

Окончательное отсоединение про-домена, а также гликозилирование PCSK9 происходит в комплексе Гольджи, в результате чего образуется зрелый белок PCSK9. В комплексе Гольджи с PCSK9 взаимодействует белок сортилин. Gustafsen C. с соавт. (2014) считают, что сортилин необходим для транспортировки PCSK9 к клеточной мембране и последующей секреции в кровь. Основанием для подобного мнения послужило наличие тесной корреляции между плазменными уровнями PCSK9 и сортилина. Кроме того, у экспериментальных мышей с нокаутом гена сортилина SORT1 плазменные концентрации PCSK9 были снижены, в то время как при гиперэкспрессии SORT1 концентрация PCSK9 в плазме крови повышалась. Принимая во внимание корреляцию между PCSK9 и сортилином, авторы считают, что сортилин может также использоваться в качестве биомаркера [29].

Использование ингибиторов сортилина у мышей с гиперхолестеринемией, а также нокаутирование гена SORT1, у подопытных животных сопровождалось снижением сывороточных уровней ЛПНП. Кроме того, у сортилин-дефицитных животных отмечалось снижение концентрации триглицеридов в печени и ослабление стеатоза. Таким образом, ингибиторы сортилина являются новым перспективным классом гиполипидемических средств, что нуждается в дальнейшем изучении и уточнении [30, 31].

МЕХАНИЗМ ДЕЙСТВИЯ PCSK9: ЛИПИДНЫЕ ЭФФЕКТЫ

Циркулирующие в крови ЛПНП, несущие в своем составе холестерин, связываются с рЛПНП на поверхности гепатоцитов, после чего холестерин используется на нужды клеток, а его излишки элиминируются по маршруту: гепатоцит, желчь, кишечник, кал.

Основная функция белка PCSK9 заключается в регуляции плотности (численности) рЛПНП на клеточной поверхности гепатоцитов [32]. Синтезированная молекула PCSK9 взаимодействует с рЛПНП на поверхности печеночных гепатоцитов с образованием комплекса PCSK9-рЛПНП, который в дальнейшем погружается внутрь гепатоцита посредством эндоцитоза. Затем этот комплекс захватывается лизосомами и подвергается деградации. Чем выше концентрация PCSK9, тем больше рЛПНП будет инактивировано (разрушено) и, соответственно, меньшее количество рЛПНП останется на клеточной мембране гепатоцитов.

В нескольких работах было показано, что PCSK9, помимо деградации зрелых рЛПНП, нарушает образование рЛПНП на уровне посттрансляционных модификаций (в эндоплазматической сети

и комплексе Гольджи) и на этапе транспортировки синтезированных рЛПНП к поверхности гепатоцита [33, 34].

Опосредованное PCSK9 снижение плотности рЛПНП на плазматической мембране гепатоцита сопровождается более длительной циркуляцией частиц ЛПНП в крови и возникновением гиперхолестеринемии. В таких условиях нарушается баланс между скоростью доставки холестерина в стенки сосудов и скоростью уборки макрофагами-сквенджерами, их перегрузке холестерином, а затем и трансформации в пенные клетки, что является одним из ключевых факторов развития и прогрессирования атеросклеротического поражения сосудов.

Помимо рЛПНП, мишенями для действия PCSK9 служат и другие рецепторы: рецептор липопротеинов очень низкой плотности (рЛПОНП) и лектиноподобный рецептор окисленных липопротеинов низкой плотности (LOX-1) [35-37].

PCSK9 способствует деградации рЛПОНП в гепатоцитах, фибробластах и нейрочитах. Roubtsova A. с соавт. (2011) исследовали роль PCSK9 в метаболизме жировой ткани. Мыши, нокаутированные по гену PCSK9, накапливали на 80 % больше жировой ткани, чем мыши дикого типа. Это свидетельствует о том, что PCSK9 регулирует уровни рЛПОНП в жировой ткани и ограничивает висцеральный адипогенез [35].

LOX-1 экспрессируется в моноцитах, сосудистых гладких миоцитах и играет важную роль в формировании пенных клеток и миграции гладких миоцитов. При воспалительном состоянии PCSK9 способствует активации LOX-1 и формированию атеросклероза [36]. Делеция (нокаут) LOX-1 у мышей уменьшает воспаление, снижает миграцию макрофагов и ослабляет атеросклероз [37].

НЕЛИПИДНЫЕ ЭФФЕКТЫ PCSK9

По мере накопления информации о PCSK9 стали появляться сообщения о нелипидных эффектах PCSK9, исходя из чего возникло мнение, что функции данной молекулы выходят за узкие рамки регуляции липидного обмена. Ряд исследователей направили свои усилия для изучения нелипидных эффектов, имеющих важное значение для генеза сердечно-сосудистой патологии.

Lan H. et al. (2010) одними из первых сообщили о новых функциях фермента PCSK9, которые не зависят от его влияния на метаболизм холестерина. Показано, что PCSK9 участвует в процессах убиквитирования белков, метаболизме ксенобиотиков, клеточном цикле, воспалении и стрессовой реакции [38].

Китайские исследователи под руководством Li S. (2014) отметили ассоциацию между плазменными уровнями PCSK9 и количеством лейкоцитов ($r = 0,167$; $p = 0,008$) у пациентов ($n = 251$) со

стабильной ишемической болезнью сердца (ИБС). При помощи многовариантного регрессионного анализа показано, что концентрация PCSK9 в плазме достоверно и независимо связана как с количеством лейкоцитов ($\beta = 0,217$; $p < 0,001$), так и с их субпопуляциями (нейтрофилами – $\beta = 0,152$; $p < 0,05$; лимфоцитами – $\beta = 0,241$; $p < 0,001$). Примечательно, что при проведении анализа с учетом гендерных особенностей корреляция между PCSK9 и лейкоцитами, а также их разновидностями, оставалась значимой у мужчин, но не была значимой у женщин. На основании этого авторы выдвинули предположение, что PCSK9 участвует в развитии хронического воспаления у пациентов с ИБС, которое, вероятно, играет роль в прогрессировании атеросклероза [39].

Экспериментальные исследования Walley K.R. с соавт. [40-42] свидетельствуют об участии PCSK9 в регуляции воспалительных реакций. Лабораторным мышам внутрибрюшинно вводили эндотоксин кишечной палочки [липолисахарид (ЛПС)]. При этом в группе мышей, нокаутированных по гену PCSK9, плазменные концентрации воспалительных цитокинов [интерлейкина-6 (ИЛ-6), фактора некроза опухоли-альфа (ФНО- α), моноцитарного хемотаксического белка-1 (MCP-1)] были значительно ниже по сравнению с мышами дикого типа [40]. Введение мышам со смоделированным перитонитом (путем перевязки и прокола слепой кишки) ингибиторов PCSK9 ослабляло воспалительный ответ (уменьшало концентрацию цитокинов и эндотоксина) и улучшало выживаемость у данной группы мышей, по сравнению с теми животными, которые не получили ингибиторов PCSK9 [41]. Авторы выявили, что снижение функции PCSK9 приводит к увеличению элиминации патогенных липидов (ЛПС), снижению воспалительного ответа, улучшению клинических показателей и выживаемости у септических мышей. Увеличение элиминации связывают со свойством ЛПС адсорбироваться на частицах ЛПНП, которые затем транспортируются к печени, откуда попадают в желчь, кишечник и удаляются из организма. Избыточная активность PCSK9 в данном случае снижает клиренс ЛПС, способствуя эндотоксинемии. Отсюда исследователи полагают, что блокирование PCSK9 может стать полезной терапевтической стратегией у пациентов с сепсисом, что нуждается в дальнейшем изучении [42].

В другом экспериментальном исследовании, проведенном Dwivedi D.J. и соавт. (2016), изучено влияние PCSK9 на системное воспаление (сепсис) и систему гемостаза. Так, у мышей с гиперэкспрессией PCSK9 утяжелялась патология печени, почек, усиливалась воспалительная реакция (более высокие концентрации ИЛ-6) и гиперкоагуляция. В то же время мыши с дефицитом PCSK9 (нокаутированные по гену) отличались менее выраженными воспалением и нарушениями в системе коагуляции. Тем самым, результаты данного исследования свидетельствуют о том, что повышенная активность PCSK9 усугубляет патологию многих органов, тече-

ние воспалительных и гиперкоагуляционных состояний при сепсисе [43].

По данным Ueland T. et al. (2018), сывороточные концентрации PCSK9 у пациентов с инфарктом миокарда без подъема сегмента ST (NSTEMI) при поступлении значительно выше, чем в контрольной группе ($p < 0,001$). Уровни PCSK9 повышались во время острой фазы и ассоциировались с количеством нейтрофилов ($r = 0,24$; $p = 0,009$) и гиперхолестеринемией ($r = 0,019$; $p = 0,045$). Введение препарата тоцилизумаба, который содержит моноклональные антитела против рецептора важнейшего воспалительного цитокина ИЛ-6, способствовало снижению количества лейкоцитов и концентрации PCSK9 у пациентов с гиперхолестеринемией. Тем самым, авторы предполагают, что анти-ИЛ-6 терапия может быть полезной для терапии ишемической болезни сердца (ИБС) и острого коронарного синдрома (ОКС). По мнению исследователей, механизм снижения PCSK9 при действии тоцилизумаба связан с уменьшением числа активированных лейкоцитов, которые выделяют меньше воспалительных цитокинов, что приводит к меньшему выделению PCSK9 [44].

В исследовании Ferri N. с соавт. (2012) показано, что PCSK9 экспрессируется в сосудистых гладкомышечных клетках и атеросклеротических бляшках человека. PCSK9, секретлируемый гладкомышечными клетками, способен снижать экспрессию рЛПНП в макрофагах. Исследователи предположили наличие прямой роли (не связанной с регуляцией липидного обмена) PCSK9 в образовании пенных клеток и атерогенезе [45].

Принимая во внимание, что воспалительные цитокины (ИЛ-6, ФНО- α , MCP-1 и др.) играют важную роль в этиопатогенезе атеросклероза, а также наличие экспрессии PCSK9 в сосудистых клетках и атеросклеротической бляшке, можно предположить, что блокирование PCSK9 будет замедлять течение атеросклероза не только за счет улучшения липидного профиля, но и, возможно, за счет ограничения воспалительной реакции, что свидетельствует о наличии плейотропных эффектов у ингибиторов PCSK9. Тем не менее, вышеперечисленные исследования представляют только косвенные сведения об участии PCSK9 в патогенезе атеросклеротического воспаления.

Geneser B. с коллегами в крупном проспективном исследовании, включившем 2030 пациентов, установили, что концентрации PCSK9 связаны с концентрацией маркера острофазового воспаления (С-реактивного белка) и гиперхолестеринемией [46].

Прямое подтверждение участия PCSK9 в патогенезе атеросклеротического воспаления представлено в крупном исследовании ATHEROREMO-IVUS. В нем 581 пациенту, перенесшему коронарографию по поводу ОКС, проводилось внутрисосудистое ультразвуковое исследование с виртуальной гистологией и измерялась концентрация PCSK9 в сыворотке крови. Сывороточные уровни PCSK9, незави-

симо от сывороточных уровней холестерина, ЛПНП и использования пациентами статинов, оказались линейно связаны с фракцией и количеством ткани некротического ядра при атеросклерозе венечных сосудов. А это свидетельствует о том, что PCSK9, напрямую и независимо от параметров липидного спектра, участвует в усилении воспалительного процесса в атеросклеротической бляшке коронарных сосудов [47].

Отмечено, что повреждение митохондриальной ДНК (мтДНК) в стенках сосудов (гладкомышечных и эндотелиальных клетках) и циркулирующих клетках (лейкоцитах) связано с высоким риском развития атеросклероза [48]. При снижении повреждения мтДНК и усилении митохондриального дыхания уменьшается некротическое ядро бляшки и увеличивается площадь фиброзной покрышки, что может быть перспективной терапевтической стратегией при лечении атеросклероза [49].

В экспериментальном исследовании Ding Z. et al. (2016) показали, что PCSK9 высвобождается из гладких миоцитов сосудов в ответ на провоспалительный стимул. Затем PCSK9, полученный из сосудистых миоцитов, индуцирует повреждение мтДНК, а поврежденные фрагменты мтДНК, в свою очередь, стимулируют высвобождение PCSK9, замыкая тем самым порочный патогенетический круг при развитии атеросклероза [50].

ВОЗМОЖНОСТИ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ PCSK9 В КАЧЕСТВЕ ДИАГНОСТИЧЕСКОГО МАРКЕРА ПРИ АТЕРОСКЛЕРОТИЧЕСКОМ ПОРАЖЕНИИ

С учетом того, что повышенные концентрации PCSK9 связаны с гиперлипидемией, воспалением и более высоким количеством некротического компонента в атеросклеротической бляшке, некоторые исследователи предположили, что уровни циркулирующего белка PCSK9 могут использоваться в качестве маркера для диагностики и оценки степени тяжести сердечно-сосудистых заболеваний.

Ряд данных свидетельствует о взаимосвязи повышенных уровней PCSK9 в крови с частотой возникновения ИБС [51]. В крупном проспективном когортном исследовании, включившем 4232 пациента, концентрации PCSK9 в сыворотке были связаны с будущим риском сердечно-сосудистой патологии, даже после корректировки на установленные факторы риска [52].

Almontashiri N.A. et al. (2014) сообщили, что плазменные уровни PCSK9 у пациентов с острым инфарктом миокарда выше, чем у пациентов с ИБС, но без инфаркта ($363,5 \pm 140,0$ нг/мл против $302,0 \pm 91,3$ нг/мл, $p = 0,004$). Эти результаты свидетельствуют о том, что концентрация PCSK9 повышается либо перед инфарктом миокарда, либо во время инфаркта. Среди пациентов, которые не получали лечение статинами или фибра-

тами: более высокие уровни PCSK9 отмечены при наличии ИБС, в том числе ОКС, по сравнению с контрольной группой (без ангиографически подтвержденной ИБС) [53].

Cariou В. с коллегами (2017) в проспективном исследовании обнаружили, что у пациентов с ОКС (n = 174) сывороточные уровни PCSK9 связаны с тяжестью поражения коронарных артерий по шкале SYNTAX независимо от концентрации ЛПНП [54].

Данные других исследователей также подтверждают связь между уровнями PCSK9 и поражением сосудов. Вае К.Н. с соавт. (2018) провели ретроспективное исследование для оценки взаимосвязи между сывороточными концентрациями PCSK9 и данными коронарографии. В исследование вошли 121 человек, поступившие в отделение неотложной помощи с подозрением на ОКС. Пациенты с атеросклеротическим поражением венечных артерий по данным коронарографии имели более высокие концентрации PCSK9 по сравнению с пациентами без подтвержденного поражения венечных сосудов. Сывороточные уровни PCSK9 связаны с количеством пораженных коронарных артерий. Кроме того, при помощи многовариантной линейной регрессии показано, что концентрация PCSK9 в сыворотке крови положительно коррелировала с баллами по шкале SYNTAX и шкале GRACE [55].

Toth S. с соавт. (2017) установили, что плазменные уровни PCSK9 достоверно коррелируют с субклиническими сосудистыми изменениями сонной артерии по данным ультразвуковой диагностики: толщиной интима-медиа, скоростью пульсовой волны и индексом жесткости β . Отсюда исследователи полагают возможное использование

PCSK9 в качестве предиктора раннего сосудистого поражения до появления манифестного атеросклероза [56].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, PCSK9 играет важную роль в патофизиологии атеросклероза. Наиболее изученными эффектами PCSK9 является влияние на метаболизм липопротеинов низкой плотности за счет разрушения рЛПНП. Данные открытия способствовали созданию новой группы эффективных противолипидемических препаратов – ингибиторов PCSK9. Кроме того, в некоторых исследованиях доказано, что PCSK9 усиливает воспалительные реакции, что является еще одним важным звеном в патогенезе атеросклероза. PCSK9 также может использоваться в качестве биомаркера для диагностики и прогнозирования ИБС, оценке тяжести поражения коронарных артерий и выявлении субклинических атеросклеротических изменений в сосудах. Однако на данный момент подобные исследования немногочисленны и существует необходимость дальнейшего изучения и уточнения.

Информация о финансировании и конфликте интересов

Исследование не имело спонсорской поддержки. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES:

1. Buja LM, Nikolai N, Anitschkow and the lipid hypothesis of atherosclerosis. *Cardiovascular Pathology*. 2014; 23(3): 183-184. doi: 10.1016/j.carpath.2013.12.004
2. Goldstein JL, Brown MS. The LDL receptor. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*. 2009; 29: 431-438. doi: 10.1161/ATVBAHA.108.179564
3. Basak A. Inhibitors of proprotein convertases. *Journal of Molecular Medicine*. 2005; 83(11): 844-855. doi: 10.1007/s00109-005-0710-0
4. Seidah NG, Benjannet S, Wickham L, Marcinkiewicz J, Jasmin SB, Stifani S, et al. The secretory proprotein convertase neural apoptosis-regulated convertase 1 (NARC-1): liver regeneration and neuronal differentiation. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2003; 100(3): 928-933. doi: 10.1073/pnas.0335507100
5. Poirier S, Prat A, Marcinkiewicz E, Paquin J, Chitramuthu BP, Baranowski D, et al. Implication of the proprotein convertase NARC-1/PCSK9 in the development of the nervous system. *Journal of Neurochemistry*. 2006; 98(3): 838-850. doi:10.1111/j.1471-4159.2006.03928.x
6. Abifadel M, Varret M, Rabes JP, Allard D, Ouguerram K, Devillers M, et al. Mutations in PCSK9 cause autosomal dominant hypercholesterolemia. *Nature Genetics*. 2003; 34: 154-156. doi: 10.1038/ng1161
7. Abifadel M, Rabes JP, Devillers M, Munnich A, Erlich D, Junien C, et al. Mutations and polymorphisms in the proprotein convertase subtilisin kexin 9 (PCSK9) gene in cholesterol metabolism and disease. *Hum Mutat*. 2009; 30(4): 520-529. doi: 10.1002/humu.20882
8. Abifadel M, Guerin M, Benjannet S, Rabes JP, Le Goff W, Julia Z, et al. Identification and characterization of new gain-of-function mutations in the PCSK9 gene responsible for autosomal dominant hypercholesterolemia. *Atherosclerosis*. 2012; 223(2): 394-400. DOI: 10.1016/j.atherosclerosis.2012.04.006
9. Miyake Y, Kimura R, Kokubo Y, Okayama A, Tomoike H, Yamamura T, Miyata T. Genetic variants in PCSK9 in the Japanese population: rare genetic variants in PCSK9 might collectively contribute to plasma LDL cholesterol levels in the general population. *Atherosclerosis*. 2008; 196(1): 29-36. doi: 10.1016/j.atherosclerosis.2006.12.035

10. Norata GD, Garlaschelli K, Grigore L, Raselli S, Tramontana S, Meneghetti F, et al. Effects of PCSK9 variants on common carotid artery intima media thickness and relation to ApoE alleles. *Atherosclerosis*. 2010; 208(1): 177-182. doi: 10.1016/j.atherosclerosis.2009.06.023
11. Hsu LA, Teng MS, Ko YL, Chang CJ, Wu S, Wang CL, Hu CF. The PCSK9 gene E670G polymorphism affects low-density lipoprotein cholesterol levels but is not a risk factor for coronary artery disease in ethnic Chinese in Taiwan. *Clin Chem Lab Med*. 2009; 47(2): 154-158. doi: 10.1515/CCLM.2009.032
12. Cohen JC, Pertsemlidis A, Kotowski IK, Graham R, Garcia CK, Hobbs HH. Low LDL cholesterol in individuals of African descent resulting from frequent nonsense mutations in PCSK9. *Nature Genetics*. 2005; 37(2): 161-165. doi: 10.1038/ng1509
13. Cohen JC, Boerwinkle E, Mosley TH Jr, Hobbs HH. Sequence variations in PCSK9, low LDL, and protection against coronary heart disease. *The New England Journal of Medicine*. 2006; 354(12): 1264-1272.
14. Al-Mohaisen MA, Ignaszewski MJ, Frohlich J, Ignaszewski AP. Statin-associated muscle adverse events: update for clinicians. *Sultan Qaboos Univ Med J*. 2016; 16(4): e406-e415. doi: 10.18295/squmj.2016.16.04.002
15. Stroses ES, Thompson PD, Corsini A, Vladutiu GD, Raal FJ, Ray KK, et al. Statin-associated muscle symptoms: impact on statin therapy-European Atherosclerosis Society Consensus Panel Statement on Assessment, Aetiology and Management. *European Heart Journal*. 2015; 36(17): 1012-1022. doi: 10.1093/eurheartj/ehv043
16. Maxwell KN, Soccio RE, Duncan EM, Sehayek E, Breslow JL. Novel putative SREBP and LXR target genes identified by microarray analysis in liver of cholesterol-fed mice. *J Lipid Res*. 2003; 44: 2109-2119. doi: 10.1194/jlr.M300203-JLR200
17. Dubuc G, Chamberland A, Wassef H, Davignon J, Seidah NG, Bernier L, Prat A. Statins upregulate PCSK9, the gene encoding the proprotein convertase neural apoptosis-regulated convertase-1 implicated in familial hypercholesterolemia. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*. 2004; 24(8): 1454-1459. doi: 10.1161/01.ATV.0000134621.14315.43
18. Careskey HE, Davis RA, Alborn WE, Troutt JS, Cao G, Konrad RJ. Atorvastatin increases human serum levels of proprotein convertase subtilisin/kexin type 9. *J Lipid Res*. 2008; 49(2): 394-398. doi: 10.1194/jlr.M700437-JLR200
19. Koylan N, Mamedov MN. Opportunities of new lipid-lowering therapy: proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 inhibitors' clinical efficacy and safety profile. *International Journal of Heart and Vascular Diseases*. 2016; 4(11): 3-7. Russian (Koylan N., Мамедов М.Н. Перспективы новой тактики липидснижающей терапии: клиническая эффективность и профиль безопасности ингибиторов пропротеин/конвертазы субтилизин/кексина типа 9 // Междунар. журнал сердца и сосудистых заболеваний. 2016. Т. 4, № 11. С. 3-7.)
20. Pavlova TV, Duplyakov DV, Vorontsova SA, Guseva GN. Prospects for managing patients with stable atherosclerosis. *Cardiology: News, Opinions, Training*. 2018; 6(2): 9-14. Russian (Павлова Т.В., Дупляков Д.В., Воронцова С.А., Гусева Г.Н. Перспективы ведения пациентов со стабильным течением атеросклероза // Кардиология: новости, мнения, обучение. 2018. Т. 6, № 2. С. 9-14.)
21. Chaulin AM, Duplyakov DV. PCSK-9: modern views about biological role and possibilities of use as a diagnostic marker for cardiovascular diseases. Part 1. *Cardiology: News, Opinions, Training*. 2019; 7(2): 45-57. Russian (Чаулин А.М., Дупляков Д.В. PCSK-9: современные представления о биологической роли и возможности использования в качестве диагностического маркера сердечно-сосудистых заболеваний. Часть 1 // Кардиология: новости, мнения, обучение. 2019. Т. 7, № 2. С. 45-57.)
22. Chaulin AM, Mazaev AY, Aleksandrov AG. The role of proprotein convertase subtilisin/kexin of type 9 (pcsk-9) in cholesterol metabolism and new opportunities of lipid corrective therapy. *International Research Journal*. 2019; 4-1(82): 124-126. Russian (Чаулин А.М., Мазаев А.Ю., Александров А.Г. Роль пропротеин конвертазы субтилизин/кексин типа 9 (PCSK-9) в метаболизме холестерина и новые возможности липидкорректирующей терапии // Междунар. науч.-исслед. журнал. 2019. № 4-1(82). С. 124-126.)
23. Denis M, Marcinkiewicz J, Zaid A, Gauthier D, Poirier S, Lazure C, et al. Gene Inactivation of proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 reduces atherosclerosis in mice. *Circulation*. 2012; 125(7): 894-901. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.111.057406
24. Nishikido T, Ray KK. Non-antibody Approaches to Proprotein Convertase Subtilisin Kexin 9 Inhibition: siRNA, Antisense Oligonucleotides, Adnectins, Vaccination, and New Attempts at Small-Molecule Inhibitors Based on New Discoveries. *Front Cardiovasc Med*. 2019; 5: 199. doi: 10.3389/fcvm.2018.00199
25. Benjannet S, Rhoads D, Hamelin J, Nassoury N, Seidah NG. The proprotein convertase (PC) PCSK9 is inactivated by furin and/or PCS/6A: functional consequences of natural mutations and post-translational modifications. *J Biol Chem*. 2006; 281(41): 30561-30572. doi: 10.1074/jbc.M606495200
26. Cameron J, Holla OL, Laerdahl JK, Kulseth MA, Berge KE, Leren TP. Mutation S462P in the PCSK9 gene reduces secretion of mutant PCSK9 without affecting the autocatalytic cleavage. *Atherosclerosis*. 2009; 203(1): 161-165. doi: 10.1016/j.atherosclerosis.2008.10.007
27. Strom TB, Tveten K, Leren TP. PCSK9 acts as a chaperone for the LDL receptor in the endoplasmic reticulum. *Biochem J*. 2014; 457(1): 99-105. doi: 10.1042/BJ20130930
28. Chen XW, Wang H, Bajaj K, Zhang P, Meng ZX, Ma D. et al. SEC24A deficiency lowers plasma cholesterol through reduced PCSK9 secretion. *Elife*. 2013; 2: e00444. doi: 10.7554/eLife.00444
29. Gustafsen C, Kjolby M, Nyegaard M, Mattheisen M, Lundhede J, Buttenschon H, et al. The hypercholesterolemia-risk gene SORT1 facilitates PCSK9 secretion. *Cell Metab*. 2014; 19(2): 310-318. doi: 10.1016/j.cmet.2013.12.006

30. Chen C, Li J, Matye DJ, Wang Y, Li T. Hepatocyte sortilin 1 knockout and treatment with a sortilin 1 inhibitor reduced plasma cholesterol in Western diet-fed mice. *J Lipid Res.* 2019; 60(3): 539-549. doi: 10.1194/jlr.M089789
31. Gao A, Cayabyab FS, Chen X, Yang J, Wang L, Peng T, Lv Y. Implications of Sortilin in Lipid Metabolism and Lipid Disorder Diseases. *DNA Cell Biol.* 2017; 36(12): 1050-1061. doi: 10.1089/dna.2017.3853
32. Chaulin AM, Karslyan LS, Aleksandrov AG, Mazaev AYu, Grigorieva EV, Nurbaltaeva DA. The Role of Proprotein Convertase Subtilisin/Kexin Type 9 in Atherosclerosis Development. *Bulletin of Science and Practice.* 2019; 5(5): 112-120. Russian (Чаулин А.М., Карслян Л.С., Александров А.Г., Мазаев А.Ю., Григорьева Е.В., Нурбалтаева Д.А. Роль пропротеин конвертазы субтилизин/кексин типа 9 в развитии атеросклероза //Бюллетень науки и практики. 2019. Т. 5, № 5. С. 112-120.)
33. Park SW, Moon YA, Horton JD. Post-transcriptional regulation of low density lipoprotein receptor protein by proprotein convertase subtilisin/kexin type 9a in mouse liver. *The Journal of Biological Chemistry.* 2004; 279(48): 50630-50638. doi: 10.1074/jbc.M410077200
34. Maxwell KN, Fisher EA, Breslow JL. Overexpression of PCSK9 accelerates the degradation of the LDLR in a post-endoplasmic reticulum compartment. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2005; 102(6): 2069-2074. doi: 10.1073/pnas.0409736102
35. Roubtsova A, Munconda MN, Awan Z, Marcinkiewicz J, Chamberland A, Lazure C, et al. Circulating proprotein convertase subtilisin/kexin 9 (PCSK9) regulates VLDLR protein and triglyceride accumulation in visceral adipose tissue. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2011; 31(4): 785-791. doi: 10.1161/ATVBAHA.110.220988
36. Ding Z, Liu S, Wang X, Deng X, Fan Y, Shahanawaz J, et al. Cross-talk between LOX-1 and PCSK9 in vascular tissues. *Cardiovasc Res.* 2015; 107(4): 556-567. doi: 10.1093/cvr/cvv178
37. Ding Z, Mizeracki AM, Hu C, Mehta JL. LOX-1 deletion and macrophage trafficking in atherosclerosis. *Biochem Biophys Res Commun.* 2013; 440(2): 210-214. doi: 10.1016/j.bbrc.2013.09.020
38. Lan H, Pang L, Smith MM, Levitan D, Ding W, Liu L, et al. Proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 (PCSK9) affects gene expression pathways beyond cholesterol metabolism in liver cells. *J Cell Physiol.* 2010; 224(1): 273-281. doi: 10.1002/jcp.22130
39. Li S, Guo YL, Xu RX, Zhang Y, Zhu CG, Sun J, et al. Association of plasma PCSK9 levels with white blood cell count and its subsets in patients with stable coronary artery disease. *Atherosclerosis.* 2014; 234(2): 441-445. doi: 10.1016/j.atherosclerosis.2014.04.001
40. Walley KR, Francis GA, Opal SM, Stein EA, Russell JA, Boyd JH. The central role of Pcsk9 in septic pathogen lipid transport and clearance. *Am J Respir Crit Care Med.* 2015; 191(11): 1275-1286. doi: 10.1164 / rccm.201505-0876CI
41. Walley KR, Thain KR, Russell JA, Reilly MP, Meyer NJ, Ferguson JF, et al. Pcsk9 is a critical regulator of the innate immune response and septic shock outcome. *Sci Transl Med.* 2014; 6(258): 258ra143. doi: 10.1126 / sci-translmed.3008782
42. Walley KR. Role of lipoproteins and proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 in endotoxin clearance in sepsis. *Curr Opin Crit Care.* 2016; 22(5): 464-469. doi: 10.1097/MCC.0000000000000351
43. Dwivedi DJ, Grin PM, Khan M, Prat A, Zhou J, Fox-Robichaud AE, et al. Differential Expression of PCSK9 Modulates Infection, Inflammation, and Coagulation in a Murine Model of Sepsis. *Shock.* 2016; 46(6): 672-680. doi: 10.1097/SHK.0000000000000682
44. Ueland T, Kleveland O, Michelsen AE, Wiseth R, Damas JK, Aukrust P, et al. Serum PCSK9 is modified by interleukin-6 receptor antagonism in patients with hypercholesterolaemia following non-ST-elevation myocardial infarction. *Open Heart.* 2018; 5(2): e000765. doi: 10.1136/openhrt-2017-000765
45. Ferri N, Tibolla G, Pirillo A, Cipollone F, Mezzetti A, Pacia S, et al. Proprotein convertase subtilisin kexin type 9 (PCSK9) secreted by cultured smooth muscle cells reduces macrophages LDLR levels. *Atherosclerosis.* 2012; 220(2): 381-386. doi: 10.1016/j.atherosclerosis.2011.11.026
46. Gencer B, Montecucco F, Nanchen D, Carbone F, Klingenberg R, Vuilleumier N, et al. Prognostic value of PCSK9 levels in patients with acute coronary syndromes. *Eur Heart J.* 2016; 37(6): 546-553. doi: 10.1093/eurheartj/ehv637
47. Cheng JM, Oemrawsingh RM, Garcia-Garcia HM, Boersma E, van Geuns RJ, Serruys PW, et al. PCSK9 in relation to coronary plaque inflammation: Results of the ATHEROREMO-IVUS study. *Atherosclerosis.* 2016; 248: 117-122. doi: 10.1016/j.atherosclerosis.2016.03.010
48. Yu E, Calvert PA, Mercer JR, Harrison J, Baker L, Figg NL, et al. Mitochondrial DNA damage can promote atherosclerosis independently of reactive oxygen species through effects on smooth muscle cells and monocytes and correlates with higher-risk plaques in humans. *Circulation.* 2013; 128(7): 702-712. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.113.002271
49. Yu EPK, Reinhold J, Yu H, Starks L, Uryga AK, Foote K, et al. Mitochondrial Respiration Is Reduced in Atherosclerosis, Promoting Necrotic Core Formation and Reducing Relative Fibrous Cap Thickness. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2017; 37(12): 2322-2332. doi: 10.1161/ATVBAHA.117.310042
50. Ding Z, Liu S, Wang X, Mathur P, Dai Y, Theus S, et al. Cross-talk between PCSK9 and damaged mtDNA in vascular smooth muscle cells: role in apoptosis. *Antioxidants & Redox Signalling.* 2016; 25(18): 997-1008. doi: 10.1089 / ars.2016.6631
51. Seidah NG, Awan Z, Chretien M, Mbikay M. PCSK9: a key modulator of cardiovascular health. *Circ Res.* 2014; 114(6): 1022-1036. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.114.301621
52. Leander K, Malarstig A, Van't Hooft FM, Hyde C, Hellenius ML, Troutt JS, et al. Circulating proprotein convertase

- subtilisin/kexin type 9 (PCSK9) predicts future risk of cardiovascular events independently of established risk factors. *Circulation*. 2016; 133(13): 1230-1239. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.115.018531
53. Almontashiri NA, Vilmundarson RO, Ghasemzadeh N, Dandona S, Roberts R, Quyyumi AA, et al. Plasma PCSK9 levels are elevated with acute myocardial infarction in two independent retrospective angiographic studies. *PLoS One*. 2014; 9(9): e106294. doi: 10.1371/journal.pone.0106294
54. Cariou B, Guerin P, Le May C, Letocart V, Arnaud L, Guyomarch B, et al. Circulating PCSK9 levels in acute coronary syndrome: Results from the PC-SCA-9 prospective study. *Diabetes Metab*. 2017; 43(6): 529-535. doi: 10.1016/j.diabet.2017.07.009
55. Bae KH, Kim SW, Choi YK, Seo JB, Kim N, Kim CY, et al. Serum Levels of PCSK9 Are Associated with Coronary Angiographic Severity in Patients with Acute Coronary Syndrome. *Diabetes Metab J*. 2018; 42(3): 207-214. doi: 10.4093/dmj.2017.0081
56. Toth S, Fedacko J, Pekarova T, Hertelyova Z, Katz M, Mughees A, et al. Elevated Circulating PCSK9 Concentrations Predict Subclinical Atherosclerotic Changes in Low Risk Obese and Non-Obese Patients. *Cardiol Ther*. 2017; 6(2): 281-289. doi: 10.1007/s40119-017-0092-8

