



**CONSENSUS SULL'IMPIEGO  
DEGLI ANTICORPI ANTI-PCSK9  
NELLA GESTIONE DEL CONTROLLO  
LIPIDICO DEI PAZIENTI CON DIABETE MELLITO**

*Gruppo di Lavoro intersocietario AMD - SID - SISA*

## Consensus sull'impiego degli anticorpi anti-PCSK9 nella gestione del controllo lipidico dei pazienti con diabete mellito

### Gruppo di Lavoro intersocietario AMD – SID - SISA

Baroni MG<sup>1</sup>, Masulli M<sup>2</sup>, Russo G<sup>3</sup>, Sartore G<sup>4</sup>, Zambon A<sup>4</sup>, Zambon S<sup>4</sup>.

<sup>1</sup>Dipartimento di Medicina Sperimentale, Università Sapienza di Roma

<sup>2</sup>Dipartimento di Medicina Clinica e Chirurgia, Università Federico II di Napoli

<sup>3</sup>Dipartimento di Medicina Clinica e Sperimentale, Università di Messina

<sup>4</sup>Dipartimento di Medicina - DIMED, Università di Padova

#### DIABETE E ATEROSCLEROSI: ASPETTI FISOPATOLOGICI E CLINICO-EPIDEMIOLOGICI

##### 1) Aspetti fisiopatologici (G. Russo)

L'aterosclerosi è un processo progressivo e complesso nel quale, in risposta agli insulti subiti dall'endotelio vasale, viene attivata una risposta infiammatoria che lentamente progredisce verso la formazione della placca, la sua eventuale destabilizzazione e quindi rottura (Russell R, 1999; Raggi P, et al. 2018).

In questo lungo sviluppo, la disfunzione endoteliale rappresenta un evento precoce che altera l'omeostasi vasale, attivando il rilascio di citochine pro-infiammatorie e di numerose molecole che promuovono l'adesione dei monociti e delle cellule T all'endotelio e la loro infiltrazione nello spazio subendoteliale, dove i macrofagi, internalizzando le LDL ossidate (oxLDL), si trasformano in cellule schiumose, portando alla formazione della stria lipidica; la seguente attivazione delle metalloproteinasi, la degradazione del collagene e la proliferazione delle cellule muscolari lisce contribuiscono poi alla formazione della placca (Forbes JM, et al. 2017).

Questo processo è particolarmente aggressivo nei pazienti affetti da diabete mellito (DM), dove diversi "insulti" aterogeni, tra cui l'iperglicemia e l'insulino-resistenza, seppur con meccanismi differenti, sono in grado di alterare la normale funzionalità vascolare, promuovendo così il danno endoteliale (DeFronzo RA, 2010). La placca dei pazienti diabetici è inoltre particolarmente prona alla rottura, presentando un cappuccio più sottile con un core più ampio ed infarcito di lipidi e di cellule del sistema immunitario. Una volta rotta, inoltre, va difficilmente incontro a riparazione, il che espone i pazienti diabetici a un elevatissimo rischio di morbilità e mortalità per le patologie cardiovascolari (Virmani R, et al. 2006; Lindsey JB, et al. 2009; Burke AP, et al. 2004; Fadini GP, et al. 2010; Rigato M, et al. 2016).

L'iperglicemia gioca un ruolo preminente nel promuovere l'aterosclerosi. Grazie all'attivazione della via dei polioli, delle esosamine, della "protein chinasi C" (PKC), alla produzione di prodotti terminali della glicosilazione avanzata ("advanced glycation end-products", AGE) ed alla loro interazione con specifici recettori (RAGE), l'iperglicemia alimenta la produzione di radicali liberi dell'ossigeno (ROS) ed uno stato pro-infiammatorio, attiva vie di segnale come JAK/STAT (janus kinase/signal transducers and activators of transcription) ed extracellular signal-regulated kinase (ERK) ed il nuclear factor-kB (NF-kB), modulando così la trascrizione genica di citochine e molecole di adesione (Brownlee M, 2001; Yan SF, et al. 2003; Shah MS, et al. 2016; Forrester SJ, et al. 2018; Hink U, et al. 2001; Brownlee M, 2000; Morigi M, et al. 1998; Recio C, et al. 2014). Inoltre, nel DM, è ben documentata sia *in vitro* che *in vivo* l'alterazione della vasodilatazione endotelio-indotta causata da un deficit del rilascio dell'ossido nitrico (NO) (Johnstone MT, et al. 1993; Federici M, et al. 2002; Calver A, et al. 1992; Makimattila S, et al. 1999; Loader J, et al. 2015). Nella patogenesi del danno ateromasico nel DM sembrano intervenire però anche altri meccanismi, quali la NETosi (NET: neutrophil extracellular traps) e

le variazioni del microbioma intestinale (Joshi MB, et al. 2013; Fadini GP, et al. 2016; Brandsma E, et al. 2015; Tilg H, et al. 2014; Griffin JL, et al. 2015); anche la suscettibilità genetica e le modifiche epigenetiche, così come la presenza di microRNAs, contribuiscono, a diversi livelli, ad influenzare il rischio ateromasico nel DM (Ma RC, 2016; Beltrami C, et al. 2015; Keating ST, et al. 2016).

Al di là dell'iperglicemia, un'ampia mole di dati sperimentali e clinici sostiene il ruolo sostanziale delle alterazioni del metabolismo lipidico ed in particolar modo dell'ipercolesterolemia nel determinare il fenotipo aterogeno ed aumentare il rischio di eventi cardiovascolari nel DM. L'ipercolesterolemia gioca infatti un ruolo cruciale nello sviluppo della malattia aterosclerotica, ed il rischio di progressione dell'aterosclerosi aumenta progressivamente all'aumentare dei livelli di colesterolo totale (TC) ed associato alle low-density lipoproteins (LDL-C), seppur spaziando in un ampio *range* di valori (FERENCE BA, et al. 2017; Lacy M, et al. 2019).

Nel DM, però, le alterazioni del profilo lipidico sono più complesse, coinvolgendo anche le dimensioni e la composizione delle lipoproteine. La presenza di LDL piccole e dense (small dense LDL, sdLDL) è infatti un tratto caratteristico della dislipidemia nel DM e rende conto dell'aumentata aterogenicità delle LDL anche per livelli circolanti nel *range* della normalità (Gerber PA, et al. 2017; Xiao C, et al. 2016; Taskinen MR, Borén J. 2015). Le sdLDL sono particolarmente suscettibili all'ossidazione, hanno ridotta affinità per il recettore delle LDL (LDL-R), il che prolunga il loro tempo di residenza in circolo e le loro modificazioni in senso proaterogeno (glicazione, acetilazione, ossidazione). Le sdLDL trasportano inoltre lipidi e proteine coinvolte nell'infiammazione e nella trombosi (Gerber PA, et al. 2017; Xiao C, et al. 2016; Taskinen MR, Borén J. 2015), ed è stato dimostrato come, rispetto alle LDL di maggiori dimensioni, le sdLDL abbiano una diversa composizione (Difenderfer MR, Schaefer EJ. 2014) e come queste siano associate con il rischio cardiovascolare (Austin MA, et al. 1988; Vakkilainen J, et al. 2003; Gardner CD, et al. 1996).

Al di là del colesterolo associato alle LDL, elevati livelli di trigliceridi, l'iperlipemia post-prandiale, bassi livelli di colesterolo HDL (HDL-C), la presenza di sdLDL, così come alterazioni più fini nella composizione e nel metabolismo dei lipidi, sono i tratti caratteristici della dislipidemia "aterogena" tipicamente associata all'insulino-resistenza, e sono considerati fattori di rischio cardiovascolare indipendenti. Tutte queste alterazioni, inclusa la presenza delle sdLDL, sono da ricondursi all'alterazione del metabolismo delle lipoproteine ricche in TG (triglyceride-rich lipoprotein, TRL), quali chilomicroni (CM), lipoproteine a bassissima densità (VLDL) e di quel che resta del loro catabolismo (*remnants*). Nel DM, l'ipertrigliceridemia è sostenuta da una aumentata produzione epatica di VLDL in presenza di un eccesso di acidi grassi liberi provenienti dal tessuto adiposo, ma soprattutto da un deficit della lipolisi e clearance di queste particelle, secondario ad un deficit relativo o assoluto di azione insulinica, un processo in cui un ruolo sempre maggiore viene riconosciuto agli elevati livelli di apolipoproteina CIII, che inibiscono il normale catabolismo dei trigliceridi (Xiao C, et al. 2016; Taskinen MR, Borén J. 2015; Vergès B, 2010).

La spiccata aterogenicità delle TRL, dei loro *remnants* e di specifici markers del loro metabolismo, come i livelli di ApoCIII, è ormai sostenuta da diverse evidenze epidemiologiche e sperimentali (Schwartz GG, et al. 2015; Hodis HN, 1999; Wyler von Ballmoos MC, et al. 2015; Do R, et al. 2013; Rosenson RS, et al. 2014). Il contenuto di colesterolo delle TRL è il principale responsabile dell'azione aterogena di queste particelle, che, al pari delle LDL, penetrano l'intima vasale, potendo così essere captate dai macrofagi *scavenger*, senza che siano necessarie ulteriori modificazioni ossidative, con la formazione di *foam cells* e della placca ateromasica. I prodotti della lipolisi delle TRL, come gli acidi grassi ossidati, sono inoltre in grado di attivare *pathways* pro-infiammatorie e pro-trombotiche, aumentando l'espressione di citochine infiammatorie, di molecole di adesione e l'attivazione di monociti e macrofagi (Pitas RE, et al. 1983; Wang L, et al. 2009; Doi H, et al. 2000; Alipour A, et al. 2008). I *remnants* delle TRL aumentano anche la produzione di ROS, che ulteriormente contribuiscono a peggiorare la permeabilità endoteliale promuovendo la formazione della placca, e oltre a stimolare l'aggregazione piastrinica, aumentando l'espressione di PAI-1 e di tissue factor (Shin HK, et al. 2004; Olufadi R, Byrne CD. 2006; Steffel J, et al. 2006).

Anche i bassi livelli di HDL-C così come la loro alterata composizione costituiscono un fattore di rischio indipendente per le malattie cardiovascolari, anche nel DM (Asztalos BF, Schaefer EJ. 2003; Rosenson RS, et al. Nat Rev Cardiol 2018). Evidenze recenti suggeriscono inoltre come le HDL divengano disfunzionali in caso di diabete, che le rende meno efficienti nel trasporto inverso del colesterolo (reverse cholesterol transport,

RCT) e altera le loro capacità antiossidanti ed antiinfiammatorie (Aprò J, et al. 2016; Srivastava RAK, 2018; Lemmers RFH, et al. 2017), divenendo così meno ateroprotettive.

## 2) Prevalenza della dislipidemia nel diabete in Italia, raggiungimento dei target terapeutici e percentuale di pazienti in trattamento farmacologico (G Sartore)

I dati mondiali di prevalenza della dislipidemia nel DM disponibili in letteratura appartengono a studi spesso datati e riportano percentuali variabili dal 15% al 50% (Chehade JM, et al 2013), peraltro non diversi da quelli delle persone senza DM.

L'analisi dei dati italiani, pur con le difficoltà di confronto a causa delle differenze nella metodologia di raccolta o nella tipologia della popolazione studiata studi clinici, interviste telefoniche o analisi di database amministrativi (Tabella 1), permette di considerare la dimensione del problema ed evidenza delle differenze rispetto agli altri paesi. Già relativamente alla popolazione generale italiana, dall'indagine epidemiologica del Progetto Cuore (<http://www.cuore.iss.it/fattori/colesterolemiaTot.asp>), la prevalenza di ipercolesterolemia, definita come livelli di colesterolo totale  $\geq 240$  mg/dl o colesterolo LDL  $\geq 115$  mg/dl, risulta essere rispettivamente del 34.3% e del 68% nella popolazione maschile, del 36.6% e del 67.3 % nella popolazione femminile.

I dati provenienti dallo Studio DAI (Lombardo F, et al. 2007) riferiti al DM permettono una prima considerazione e cioè che in questa popolazione la prevalenza di ipercolesterolemia (definita come colesterolo totale  $\geq 200$  mg/dL e/o trattamento con farmaci ipolipemizzanti) risulta più elevata rispetto alla popolazione generale, sia negli uomini (60%) che nelle donne (72%), con valori leggermente più bassi al Sud rispetto al resto dell'Italia. Se consideriamo anche le alterazioni dei valori dei trigliceridi e/o del colesterolo HDL, questa percentuale sale al 75% per gli uomini e all'87% per le donne. Un dato importante è che la percentuale di pazienti ipercolesterolemici trattati farmacologicamente è risultata molto bassa in entrambi i sessi (22% negli uomini e 26% nelle donne) ed in tutte le aree geografiche.

In contrasto con questi dati, lo Studio QUADRI (Aprile V, et al. 2007) (indagine trasversale sulla Qualità dell'Assistenza alle persone Diabetiche nelle Regioni Italiane) rileva come soltanto il 44% degli intervistati abbia dichiarato di avere il colesterolo elevato; la frequenza è apparsa maggiore nelle donne (47%) rispetto agli uomini (42%). Anche il Sistema di sorveglianza PASSI (<http://www.epicentro.iss.it/passi/rapporto2012/diabete.asp>) ha messo in evidenza come solo il 45% dei pazienti affetti da DM riconosca di aver avuto una diagnosi di ipercolesterolemia. E' bene ricordare che entrambe le raccolte dati risalgono ormai a dieci anni fa e sono state effettuate tramite interviste ai pazienti. La prevalenza appare, pertanto, certamente sottostimata.

La sottostima è confermata dai risultati del MIND-IT (Vaccaro O, et al. 2008), uno studio condotto nel 2004-2006 su un'ampia coorte di pazienti con DM tipo 2, seguiti presso centri specialistici per la cura del DM. Il 71% presentava valori di LDL-C  $> 160$  mg/dl, valori cioè francamente indicativi di un quadro di ipercolesterolemia. Da sottolineare come, in questo studio, solo il 30% risultasse in terapia ipolipemizzante, in accordo con i dati provenienti dallo studio DAI (Lombardo F, et al. 2007).

Confortante è l'importante incremento della percentuale di persone con DM in terapia con farmaci ipolipemizzanti (49.5%) negli ultimi anni, come documentato dall'Osservatorio ARNO (Osservatorio ARNO Diabete, 2007), sistema che integra i dati provenienti da vari database amministrativi (prescrizione farmaci e prestazioni erogati dal SSN, SDO, prescrizione dispositivi per automonitoraggio della glicemia) con i dati anagrafici e socio-demografici, su un campione di 550.000 pazienti con DM.

Questa tendenza viene confermata dagli Annali AMD 2018 (Arcangeli A, et al. 2011), che raccolgono ed elaborano gli indicatori di qualità dell'assistenza al DM in Italia relativi all'anno 2016. Viene infatti riportato come la metà dei pazienti presenti valori di colesterolo LDL  $< 100$  mg/dl, e solo il 12% dei DM1 e il 22% dei DM2 a valori di LDL  $< 70$  mg/dl. Questi ultimi dati, considerate le complicanze cardiovascolari presenti certamente con percentuali più elevate, dovrebbero indurre gli specialisti diabetologi a ricercare un ulteriore miglioramento. L'altra faccia della medaglia mostra inoltre come ancora il 16.8% dei pazienti con DM1 ed il 14.8% con DM2 presenti valori di LDL-C superiori a 130 mg/dl, lontani cioè dai livelli raccomandati. Dall'analisi emerge anche che oltre i due terzi di questi pazienti con DM1 (68.3%) ed oltre la metà (52%) dei pazienti con DM2 non è in trattamento con ipolipemizzanti. Il segnale positivo è la percentuale dei soggetti a target,

aumentata progressivamente dal 2004 ad oggi. Dal 2012 al 2016 in particolare, si è registrato un incremento del 10% di soggetti che ha raggiunto il target di LDL-C  $< 100$  mg/dl. Questo miglioramento è associato all'incremento del 10% del numero di pazienti in terapia ipolipemizzante.

Anche le evidenze più recenti del Full Data Circle (FCD) (Manicardi V, et al. 2018), elaborate dai dati provenienti da Centri Diabetologici in grado di garantire completezza e qualità delle informazioni, confermano il progressivo miglioramento dell'approccio terapeutico alla dislipidemia, con il 62.8% di soggetti in trattamento con terapia ipolipemizzante, statine nel 92,7% dei casi. Dal FCD emerge che oltre il 60% dei pazienti presenta valori di LDL-C  $< 100$  mg/dl. Una nota meno positiva è rappresentata dal 24.9% di soggetti con LDL-C tra 100 e 130 mg/dl, vicini al valore ideale, ma non abbastanza da soddisfare i migliori standard di cura, e la percentuale del 16.8% con valori di LDL-C  $> 130$  mg/dl, con una quota pur minima del 3,6% con livelli superiori a 160 mg/dl.

Anche dati recenti emersi dallo studio TOSCA.IT (Vaccaro O et al. Lancet Diabetes Endocrinol. 2017) evidenziano un aumento dell'utilizzo dei farmaci ipolipemizzanti, tuttavia ancora insufficiente rispetto alla necessità di trattamento.

**Tabella 1. Prevalenza della dislipidemia, utilizzo dei farmaci e raggiungimento dei target nei soggetti con diabete mellito in Italia**

| STUDIO                                    | Prevalenza pazienti con colesterolemia $> 200$ mg/dl) | Prevalenza pazienti in terapia ipo-lipemizzante | Prevalenza pazienti che raggiungono l'obiettivo | Prevalenza pazienti con LDL-C $\geq 100$ mg/dl | Prevalenza pazienti con LDL-C $> 160$ mg/dl non trattati | Prevalenza pazienti con LDL-C $\geq 160$ mg/dl |
|---|---|---|---|--|--|--|
| DAI 2007 (Lombardo F, 2007)               | 60% ♂<br>72% ♀  | 22% ♂<br>26% ♀                                  | —   | —  | —  | —  |
| QUADRI 2007 (Aprile V et al. 2007)        | 42% ♂<br>47% ♀  | —   | —   | —  | —  | —  |
| MIND-IT 2008 (Vaccaro O, 2008)            | —   | 30%   | —   | 81% ♂<br>85% ♀                                 | 71%  | —  |
| PASSI 2012 (Passi)                        | 45%   | —   | —   | —  | —  | —  |
| ARNO 2017 (Osservatorio ARNO Diabete)     | —   | 49.5%   | —   | —  | —  | —  |
| Annali AMD 2018                           | —   | —   | 50% ( $< 100$ mg/dl)                            | 15% ( $> 130$ mg/dl)                           | —  | —  |
| Full Data Circle 2017 (Manicardi V, 2018) | —   | 62.8%   | 60% ( $< 100$ mg/dl)                            | 40%  | —  | 3.6%   |
| TOSCA (Vaccaro O, 2017)                   | —   | 58 %  | —   | —  | —  | —  |

I dati sono rappresentati come %.

## PCSK9 e inibitori di PCSK9: ASPETTI GENERALI (A. Zambon e S. Zambon)

Più della metà del colesterolo del corpo umano deriva dalla biosintesi cellulare specie nel fegato attraverso l'azione dell'enzima idrossimetilglutaril-CoA (HMG-CoA) reductasi. Questo colesterolo viene trasportato nel sangue soprattutto attraverso le lipoproteine a bassa densità o LDL, che vengono rimosse dal circolo ad opera del recettore specifico per le LDL. Ogni recettore delle LDL lega una particella LDL e il complesso così composto viene internalizzato nella cellula per essere catabolizzato. All'interno dei lisosomi il complesso LDL/recettore si dissocia, e mentre le LDL vengono degradate nei lisosomi e il colesterolo viene depositato all'interno della cellula oppure usato per le attività cellulari, il recettore delle LDL viene riciclato sulla membrana cellulare per riprendere nuovamente a svolgere le sue funzioni. L'attività del recettore delle LDL è regolata a livello trascrizionale dalla sterol regulatory element binding protein -2 (SREBP-2) e a livello post-trascrizionale dalla proproteina convertasi subtilisina kexina 9 (PCSK9) (Yadav K, et al. 2016; Rosenson RS, et al. J Am Coll Cardiol 2018; Pirillo A, Catapano AL. 2018).

Il percorso che ha portato dalla scoperta di PCSK9 ed alla identificazione della stessa come un obiettivo terapeutico validato è durato pochi anni, così come è stato rapido il progresso che ha condotto dalle scoperte genetiche relative alla funzione di PCSK9 allo sviluppo del farmaco diretto verso questa proteina (Yadav K, et al. 2016).

PCSK9 è una proteasi serinica che svolge un ruolo chiave nel ciclo biologico del recettore delle LDL, che a sua volta rappresenta il principale regolatore dell'uptake cellulare delle LDL e dei livelli di colesterolo nel plasma. Il legame di PCSK9 con uno specifico dominio del recettore delle LDL produce un cambiamento nella conformazione del recettore delle LDL che lo rende più vulnerabile alla degradazione da parte dei lisosomi. Come risultato si ha una ridotta espressione dei recettori delle LDL sulla superficie cellulare, un ridotto uptake delle LDL e di conseguenza un aumento dei livelli plasmatici di colesterolo delle LDL (Pirillo A, Catapano AL. 2018). La rilevanza di PCSK9 come importante regolatore dei livelli plasmatici di colesterolo deriva dall'osservazione di varianti genetiche di PCSK9 associate con un guadagno o una perdita della funzione di questa proteina risultante in più alti o più bassi livelli di LDL-C rispettivamente. Nel 2003 vennero descritte delle famiglie con elevati livelli di LDL-C e diagnosi di ipercolesterolemia autosomica dominante senza però riuscire a rilevare mutazioni dei geni codificanti per il recettore delle LDL o per l'apoproteina B, cioè le mutazioni note di ipercolesterolemia familiare, facendo sospettare una possibile terza causa. Nei soggetti portatori di mutazioni con guadagno di funzione del gene di PCSK9 sono stati osservati più alti livelli di LDL-C associati ad un aumentato rischio di malattie cardiovascolari precoci (Abifadel M, et al. 2003). Al contrario, nei soggetti portatori di mutazioni con perdita di funzione del gene di PCSK9, sono stati osservati più bassi livelli di LDL-C associati a una protezione nei confronti delle malattie cardiovascolari (Cohen JC, et al. 2006; Cohen J, et al. 2005; Kathiresan S. 2008). Queste osservazioni suggerirono che PCSK9 potesse rappresentare un utile "target" farmacologico per il controllo dell'ipercolesterolemia e condussero allo sviluppo di due anticorpi monoclonali, sottotipi IgG completamente umani nella struttura, diretti contro PCSK9 circolante, che legano con un rapporto stechiometrico 1:1. Le molecole approvate e disponibili nel trattamento dell'ipercolesterolemia sono evolocumab e alirocumab. L'iniezione sottocute di 75 o 150 mg di alirocumab oppure di 140 o 420 mg di evolocumab provoca entro poche ore il legame di tutta PCSK9 circolante e nei giorni successivi all'iniezione l'inibizione anche di PCSK9 di nuova sintesi (Yadav K, et al. 2016; Rosenson RS, et al. J Am Coll Cardiol 2018; Pirillo A, Catapano AL. 2018).

Bisogna anche ricordare che PCSK9 è espressa non solo nel fegato, ma anche in tessuti extraepatici come il rene, il pancreas e il cervello. Questo suggerisce che la sicurezza dell'inibizione di PCSK9 andrà monitorata anche per quanto riguarda potenziali effetti su tessuti extraepatici, anche se al momento non pare esservi nessun segnale in tal senso.

L'efficacia e la sicurezza sia di evolocumab che di alirocumab sono state valutate in numerosi studi clinici in diverse tipologie di soggetti ipercolesterolemici e/o ad elevato rischio cardiovascolare (Pirillo A, Catapano AL. 2018).

Gli inibitori di PCSK9 sono stati studiati in numerosi studi di fase 2 e 3 della durata di 12-24 settimane somministrati sia in monoterapia (Koren MJ, et al. 2012; Koren MJ, et al. 2014; Roth EM, McKenney JM. 2015)

che in aggiunta o "add-on" a terapia ipolipemizzante con statina a media ed elevata efficacia, in associazione o meno con ezetimibe (sia evolocumab che alirocumab), alla dose di 140 mg sc ogni 2 settimane o 420 mg sc ogni 4 settimane per evolocumab e 75 o 150 mg sc per alirocumab, ottenendo una ulteriore significativa riduzione dei livelli di LDL-C del 55-65% (Giugliano RP, et al. Lancet 2012; Robinson JG, et al. 2014; McKenney JM, et al. 2012; Farnier M, et al. 2016). Questa importante riduzione del LDL-C ha permesso di raggiungere in oltre il 90% dei soggetti trattati l'obiettivo terapeutico di LDL-C <70 mg/dl. Gli inibitori di PCSK9 riducono anche i livelli di trigliceridi del 10-15% e aumentano i livelli di HDL-C del 5-10% (Rosenson RS, et al. J Am Coll Cardiol 2018). Di notevole rilevanza anche il fatto che sia evolocumab che alirocumab abbiano dimostrato la capacità di ridurre significativamente i livelli di lipoproteina(a) del 20-30%. Gli stessi risultati sono stati riprodotti in studi a più lungo termine, della durata da 6 mesi a 2 anni, confermando sia l'efficacia che la sicurezza degli inibitori di PCSK9, cioè la magnitudo e la persistenza della riduzione dei livelli di LDL-C e l'assenza di effetti collaterali di rilievo (Blom DJ, et al. 2014; Kereiakes DJ, et al. 2015; Cannon CP, et al. 2015; Bays H, et al. 2015).

Entrambi gli inibitori di PCSK9 sono anche stati valutati in studi disegnati per studiarne l'efficacia nei soggetti affetti da ipercolesterolemia familiare eterozigote, il Rutherford e il Rutherford 2 (Raal F, et al. 2012; Raal FJ, Stein EA, et al. 2015) per quanto riguarda evolocumab e gli Odyssey FH I e FH II (Kastelein JJ, et al. 2015) per quanto riguarda alirocumab. Anche in questi pazienti, che sottoposti alla massima terapia ipolipemizzante tollerata, cioè con statina ad elevata efficacia in associazione con ezetimibe, presentavano ancora livelli di LDL-C scarsamente controllati, gli anticorpi monoclonali anti PCSK9 sono stati in grado di ridurre ulteriormente i livelli di LDL-C del 60%, permettendo quindi il raggiungimento degli opportuni obiettivi terapeutici in percentuali considerevoli di soggetti 70-75%, quando invece i livelli ottimali di LDL-C si ottengono nel 10-15% dei pazienti in sola terapia massimale. Evolocumab è stato anche testato in soggetti portatori di ipercolesterolemia familiare omozigote con una riduzione del LDL-C del 30% nei soggetti portatori di mutazioni genetiche a carico del gene del recettore delle LDL con ancora attività residua dello stesso (cosiddetti difettivi), mentre non risultano efficaci nei soggetti portatori di mutazioni senza attività residua del recettore delle LDL (Raal FJ, Honarpour N, et al. 2015, Raal FJ, et al. 2017).

Entrambe le molecole evolocumab e alirocumab sono state studiate anche in soggetti con intolleranza alle statine, condizione che si associa ad eventi avversi specie a carico del muscolo in corso di terapia con diverse molecole, e che rende difficile il trattamento e il raggiungimento degli obiettivi terapeutici specie in pazienti a rischio cardiovascolare alto e molto alto. Gli studi GAUSS (Sullivan D, et al. 2012; Stroes E, et al. 2014; Nissen SE, et al. 2016) con evolocumab e ODISEY ALTERNATIVE (Moriarty PM, et al. 2015) con alirocumab hanno dimostrato sia l'efficacia sulla riduzione del LDL-C che un'ottima tollerabilità e sicurezza in soggetti con intolleranza alle statine, cioè assenza di effetti collaterali specie sintomi muscolari.

Nello studio FOURIER sono stati trattati con evolocumab alla dose di 140 mg sc ogni 2 settimane o 420 mg sc ogni 4 settimane vs terapia con statina ad elevata intensità 27564 soggetti, di età 40-85 anni, con malattia cardiovascolare stabile e LDL-C > 70 mg/dl (Figura 1). Nei pazienti randomizzati ad evolocumab è stata osservata una riduzione dei livelli di LDL-C del 59% con (56 mg/dl) con un mediana di LDL-C di 30 mg/dl rispetto a 90 mg/dl circa del gruppo in placebo (terapia massimale convenzionale) (Figura 2). Dopo un follow-up della durata di 2,2 anni (mediana) è stata osservata una riduzione dell'endpoint primario (morte cardiovascolare, infarto del miocardio, ictus, ospedalizzazione per angina instabile e rivascolarizzazioni coronariche) del 15% (HR 0,85; IC 0,79-0,92) (Figura 2) e dell'endpoint secondario (morte cardiovascolare, infarto del miocardio e ictus) del 20% (HR 0,80; IC 0,73-0,88) (Sabatine MS, et al. N Engl J Med 2017). Lo studio FOURIER e tutta una serie di studi ancillari hanno permesso di confermare il buon profilo di sicurezza di questa terapia, ove le segnalazioni di eventi avversi si limitavano per lo più a qualche caso di reazione cutanea nel sito di iniezione (<5%); non sono state osservate differenze in aumenti di CPK o transaminasi, cataratta e ictus emorragico, i sintomi muscolari erano presenti in ugual misura sia in terapia con evolocumab che in terapia ipolipemizzante standard, non sono state osservate differenze nelle funzioni cognitive in terapia con evolocumab vs terapia standard (Giugliano RP, et al. N Engl J Med 2017). Infine i dati sono risultati rassicuranti per quanto riguarda il raggiungimento di bassi livelli di LDL-C considerando che nello studio FOURIER 1 soggetto su 4 raggiungeva valori < 20 mg/dl (Giugliano RP, et al. Lancet 2017).

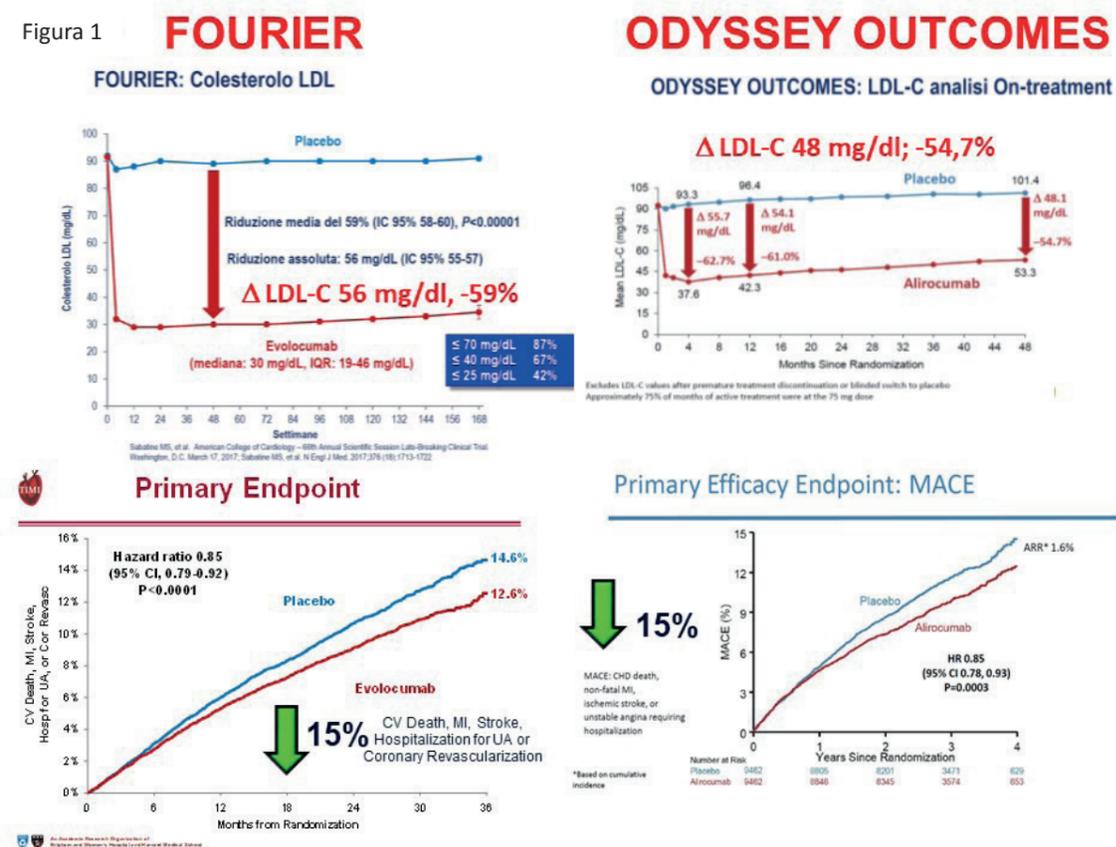
**Tabella 2: caratteristiche generali dei trials di outcomes cardiovascolare degli inibitori PCSK9**

|                              | <b>ODYSSEY OUTCOMES</b>   | <b>FOURIER</b>  |
|------------------------------|---|---|
| <b>Molecola studiata</b>     | Alirocumab  | Evolocumab  |
| <b>Criteri di inclusione</b> | Sindrome coronarica acuta entro le 4-52 settimane; LDL-C $\geq$ 70 mg/dl (con atorvastatina 40-80 mg oppure rosuvastatina 20-40 mg) | Infarto, ictus o arteriopatia periferica sintomatica + almeno 1 fattore di rischio maggiore oppure almeno 2 fattori di rischio minori; LDL-C $\geq$ 70 mg/dl (o non HDL-C $\geq$ 100 mg/dl) in terapia con atorvastatina 20-80 mg o equivalenti |
| <b>Numero di pazienti</b>    | Oltre 18000   | 27500   |
| <b>Endpoint primario</b>     | Morte CV, infarto, ictus, ospedalizzazione per angina instabile   | Morte CV, infarto, ictus, rivascolarizzazione coronarica, ospedalizzazione per angina instabile   |
| <b>Terapia background</b>    | Atorvastatina o rosuvastatina alla dose massima tollerata   | Atorvastatina: 20 mg (almeno), 40 mg (dove localmente approvata), 80 mg (o equivalenti)   |
| <b>Dosaggio</b>              | 75 mg fino a 150 mg ogni 2 settimane  | 140 mg ogni 2 settimane oppure 420 mg ogni 4 settimane  |

Nello studio ODYSSEY OUTCOMES sono stati trattati con alirocumab alla dose di 75 o 150 mg sc ogni 2 settimane vs terapia con statine ad elevata intensità, o alla massima dose tollerata, 18924 soggetti, di età 40 anni o oltre, con un episodio di sindrome coronarica acuta in un periodo compreso tra 1 e 12 mesi precedenti e con colesterolo delle LDL  $\geq$  70 mg/dl (Tabella 2). Dopo un follow-up della durata mediana di 2,8 anni, nel gruppo trattato con alirocumab è stata osservata una riduzione del LDL-C del 55% (48 mg/dl) (Figura 1) rispetto al gruppo in terapia massimale convenzionale associata ad una diminuzione degli eventi cardiovascolari dell'endpoint primario (morte cardiovascolare, infarto del miocardio, ictus o ospedalizzazione per angina instabile) del 15% (HR 0,85; IC 0,78-0,93) (figura 2), con un beneficio assoluto maggiore tra coloro che partivano al basale da valori di LDL-C > 100 mg/dl (Schwartz GG, et al. 2018).

Inoltre in un'analisi post-hoc di questo studio è emerso che alirocumab si associa ad una riduzione del rischio di morte per tutte le cause pari al 29%. La riduzione del tasso di mortalità per tutte le cause, una nuova rilevante scoperta per la terapia con anti-PCSK9, è stata ritenuta in parte attribuibile all'inclusione di pazienti con sindrome coronarica acuta (SCA) recente (Ray KK, et al. Diabetes 2018) piuttosto che malattia ischemica cronica stabile (Sabatine MS, et al. N Engl J Med 2017).

Figura 1



**INIBITORI DI PCSK9 NELLA GESTIONE DEL CONTROLLO LIPIDICO DEI PAZIENTI CON DIABETE MELLITO (MG Baroni e M Masulli)**

La malattia cardiovascolare (MCV) è la prima causa di morte nei pazienti con diabete mellito: nei pazienti con DM, rispetto a coloro senza la malattia, il rischio per cardiopatia ischemica è pari a 2.00, a 2.27 per ictus ischemico, a 1.56 per ictus emorragico e a 1.73 per morte cardiovascolare (CV), rispettivamente (Sattar et al 2013). Le persone con DM sono quindi ad alto rischio cardiovascolare e possono avere necessità di un ulteriore abbassamento dei livelli dei lipidi oltre quanto ottenuto con le statine. Gli inibitori di PCSK9 possono fornire questa riduzione aggiuntiva del LDL-C, diminuendo di conseguenza il rischio residuo del paziente con DM.

Recentemente, infatti, gli inibitori di PCSK9 hanno ricevuto notevole attenzione come nuove opzioni terapeutiche non-statiniche per la gestione dei disordini lipidici nei pazienti con elevato rischio cardiovascolare, inclusi quindi i pazienti con DM. Oltre al ruolo ben consolidato di PCSK9 nel metabolismo delle LDL, uno studio recente ha suggerito che PCSK9 potrebbe svolgere un ruolo significativo nel metabolismo delle lipoproteine ricche di trigliceridi anche attraverso l'interazione con il recettore delle LDL (Ooi TC et al. 2017). Quest'osservazione ha importanti implicazioni per le persone con DM2, e per quelli con DM1 con scarso controllo glicemico, che tipicamente hanno un pattern di anomalie lipidiche correlate all'insulino-resistenza, caratterizzato da una ridotta clearance epatica di lipoproteine ricche di trigliceridi, aumento della produzione epatica di lipoproteine a bassissima densità (VLDL), e aumento della produzione intestinale di chilomicroni (Verges B, 2015). Queste alterazioni lipidiche, definite dislipidemia diabetica (o mista), sono quindi rappresentate da elevati livelli di colesterolo non-HDL, trigliceridi e sLDL e bassi livelli di HDL-C (Verges B, 2015; Mooradian AD, 2009). Le lipoproteine ricche di trigliceridi, che includono quindi i chilomicroni, le VLDL e i loro remnants, hanno un aumentato potenziale aterogenico, ed è stato dimostrato il loro ruolo effettivo

e indipendente nel rischio cardiovascolare. Mentre il recettore delle LDL (LDLR) lega le LDL attraverso l'apoproteina B100 (apoB100), i remnants delle lipoproteine ricche di trigliceridi si legano al LDLR mediante l'interazione con l'apoproteina E (apoE) (Nakajima K, et al. 2011). Uno studio recente ha dimostrato che in individui portatori di una mutazione loss-of-function nel gene PCSK9 si osservano bassi livelli di trigliceridi a digiuno e post-prandiali, di apoB48 (un apoproteina presente nei remnants) e di apoB totale (un marcatore di apoB100), indicando un ruolo di PCSK9 anche nella riduzione dell'uptake di lipoproteine contenenti apoE, oltre alle LDL (Ooi TC et al. 2017). Nello studio FOURIER (Sabatine MS, et al. N Engl J Med 2017), il braccio con evolocumab ha anche mostrato una riduzione di non-HDL-C del 51%, di lipoproteina (a) del 27%, e dei trigliceridi del 16%, insieme ad un aumento del HDL-C del 8%.

Recenti studi di cinetica su soggetti sani hanno dimostrato che gli inibitori PCSK9 riducono il tasso di produzione di lipoproteine LDL e a densità intermedia (IDL), e aumentavano i tassi di clearance di VLDL, IDL e LDL, che possono riflettere un'espressione molto più elevata di LDL-R epatico rispetto al trattamento con statine (Watts GF, et al. 2017; Reyes-Soffer G, et al. 2017). E' quindi evidente come gli inibitori di PCSK9 possano essere particolarmente potenti nel trattamento della dislipidemia in pazienti con DM.

### **Effetti degli inibitori di PCSK9 sui lipidi plasmatici nel diabete**

Come precedentemente detto, i trials clinici con alirocumab e evolocumab hanno chiaramente mostrato la loro efficacia nel ridurre fino al 60% i livelli di LDL-C in soggetti con ipercolesterolemia familiare ed in soggetti ad alto rischio cardiovascolare (Raal F, et al. 2012; Raal FJ, Stein EA, et al. 2015; Kastelein JJ, et al. 2015; Sabatine MS, et al. N Engl J Med. 2017)

Le sottoanalisi nelle popolazioni con DM negli studi di fase 3 con alirocumab e evolocumab sono riassunte in tabella 3 e hanno mostrato una riduzione significativa del LDL-C, che, in generale, è risultata simile alla riduzione osservata in soggetti senza DM (Cannon CP, et al. 2015; Kastelein JJ, et al. 2015; Kereiakes DJ, et al. 2015; Robinson JG, et al. 2015; Sattar N, et al. 2016; Leiter LA, et al. 2017; Ganda OP, et al. 2018; Ginsberg HN, et al. 2015; Sattar N, et al. 2017).

Anche nelle sottoanalisi pre-specificate dello studio FOURIER (tabella 2), che ha analizzato 11031 pazienti con DM vs. 16533 pazienti senza DM, i risultati erano consistenti con una riduzione del LDL-C: in confronto con il placebo, i livelli di LDL-C erano ridotti del 57% nei soggetti con-DM-e del 60% in soggetti senza D(Sabatine MS, et al. Lancet Diabetes Endocrinol 2017).

Altre sottoanalisi negli studi ODYSSEY e PROFICIO hanno confermato che le riduzioni in LDL-C erano simili in soggetti con e senza prediabete (Leiter LA, Muller-Wieland D, et al. 2018), soggetti con IFG (Impaired Fasting Glucose) e con sindrome metabolica (Blom DJ, et al. 2017).

Ulteriori informazioni sull'impatto di alirocumab in pazienti con DM è derivata dagli studi ODYSSEY DM-INSULIN (Cariou B, et al. 2017; Leiter LA, et al. 2017) e DM-DYSLIPIDEMIA (Muller-Wieland D, et al. 2017; Ray KK, et al. Diabetes Obes Metab 2018), che erano studi di fase 3b e 4 dedicati al diabete. Nello studio DM-INSULIN, in pazienti ad elevato rischio cardiovascolare con DM1 e DM2 in trattamento insulinico, la riduzione del LDL-C è stata del 48% nel DM1 e del 51% nel DM2 rispetto al placebo; nello studio DM-DYSLIPIDEMIA, in pazienti con DM2 e dislipidemia mista, in trattamento con statine, gli inibitori di PCSK9 hanno determinato una riduzione del 43% dei livelli di LDL-C rispetto al trattamento usuale (ezetimibe, fenofibrato, acidi grassi poliinsaturi omega-3, o acido nicotinic).

### **Effetti degli inibitori di PCSK9 sul rischio cardiovascolare nel diabete**

Per quanto riguarda la protezione cardiovascolare, l'end-point primario di efficacia di evolocumab dello studio FOURIER - morte cardiovascolare, infarto miocardico, ictus, ricovero ospedaliero per angina instabile o rivascolarizzazione coronarica - è stato ridotto in maniera simile in pazienti con e senza DM dopo un follow-up mediano di 2,2 anni, con hazard ratio di 0.83 ( IC 95% 0.75-0.93; p = 0,0008) in pazienti con DM e 0.87 (0.79-0.96; p = 0,0052) in quelli senza DM (Sabatine MS, et al. Lancet Diabetes Endocrinol. 2017). Nella sottoanalisi pre-specificata del DM di FOURIER erano compresi 11031 pazienti con DM versus 16533 pazienti senza, di cui 10344 con prediabete e 6189 normoglicemia. Inoltre, in ragione del loro elevato rischio cardiovascolare al basale, i pazienti con DM tendevano ad avere una maggiore riduzione del rischio assoluto con

evolocumab rispetto a quelli senza DM (2,7% [95% CI 0.7- 4.8] contro 1.6% [95 % CI 0.1- 3.2] di riduzione del end-point primario su 3 anni) (Sabatine MS, et al. Lancet Diabetes Endocrinol 2017).

Lo studio ODYSSEY OUTCOMES ha confermato i benefici della terapia con alirocumab nel ridurre il rischio cardiovascolare (Schwartz GG, et al. 2018). La riduzione del rischio di MACE (Major Cardiovascular Events) era del 15% (HR=0,85; CI: 0,78-0,93; p=0,0003), simile a quanto osservato nel FOURIER. Circa il 30% dei pazienti nello studio era affetto da diabete. Un'analisi pre-specificata nei pazienti diabetici in ODYSSEY OUTCOMES ha dimostrato che l'effetto di protezione cardiovascolare (riduzione del rischio assoluto MACE) di alirocumab è "amplificato" nei pazienti con DM con una maggiore riduzione assoluta dell'incidenza dell'end-point primario nei pazienti con diabete (2.3%, IC al 95% 0.4 a 4.2) rispetto a quelli con prediabete (1.2%, 0.0 a 2.4) o normoglicemia (1.2%, -0.3 a 2.7; p interazione di riduzione del rischio assoluto = 0 · 0019), con un NNT = 43 decisamente favorevole. Anche la riduzione del rischio relativo cardiovascolare (CVD) del 16% (0.84 CI 0.74 - 0.97) è della stessa grandezza di quanto osservato nella popolazione generale (-15%) e nei diabetici nello studio FOURIER (-17%). In conclusione, le sotto-analisi nelle popolazioni diabetiche di ODYSSEY OUTCOMES e quella di FOURIER appaiono sostanzialmente identiche, confermando l'efficacia degli anticorpi monoclonali anti-PCSK9 nella riduzione del rischio cardiovascolare nel DM.

### **Sicurezza degli inibitori di PCSK9 nei pazienti con diabete mellito, e impatto sul rischio di sviluppare diabete**

Nell'analisi di sicurezza di tutti gli studi di fase 3 condotti sulla popolazione generale di pazienti, l'incidenza di eventi avversi secondari al trattamento, degli eventi avversi gravi, delle interruzioni a causa di eventi avversi e dei decessi è stata simile con gli inibitori PCSK9 rispetto al placebo. Tra i pazienti trattati con alirocumab o evolocumab, le nasofaringiti, le reazioni al sito di iniezione e le infezioni del tratto respiratorio superiore sono stati gli eventi avversi più comuni (Sabatine MS, et al. Lancet Diabetes Endocrinol 2017; Toth PP, et al. 2017).

In coerenza con i dati nella popolazione generale di pazienti sopra menzionate, le sottoanalisi nei pazienti con DM hanno dimostrato che la sicurezza generale di alirocumab e evolocumab era paragonabile a quella dei soggetti di controllo (Toth PP, et al. 2017, Leiter LA, Tinahones FJ, et al. 2018).

Un elemento di possibile allarme deriva dall'aumentato rischio di sviluppare diabete in pazienti in trattamento con farmaci ipolipemizzanti. Dagli studi con statine è chiaramente emerso un aumento significativo del 11-12% del rischio di sviluppare DM (OR 1.12, 95% CI 1.06-1.18 in tutti i trials; 1.11, 95% CI 1.03-1.20 in trials controllati con placebo o standard care, e 1.12, 95% CI 1.04-1.22 in trials di confronto tra dose intensiva e moderata) (Swerdlow DI, et al 2015). Il meccanismo ipotizzato identifica nell'accumulo di colesterolo via LDL-R nelle beta-cellule l'elemento determinante. Qualsiasi intervento farmacologico o genetico che aumenti l'espressione dell'LDL-R nelle beta-cellule si associa quindi con un accumulo di colesterolo, con alterazioni nella secrezione insulinica e nel controllo glicemico. In linea con questi dati, recenti evidenze cliniche e sperimentali indicano che l'inattivazione genetica di PCSK9 è associata a un aumentato rischio di sviluppare DM2. Tre studi di randomizzazione mendeliana hanno tutti dimostrato che i pazienti portatori di varianti genetiche in PCSK9 con perdita di funzione hanno livelli di LDL-C inferiori, ma più elevati di glicemia, con un rischio maggiore di sviluppare DM (Lotta LA, et al. 2016; Schmidt AF, et al. 2017; Ference BA, et al. 2016). Sulla stessa linea, topi knock-out di PCSK9 presentano ridotta secrezione di insulina e intolleranza al glucosio (Mbikay M, et al. 2010). Questi effetti potrebbero essere spiegati dal fatto che la perdita sistemica di PCSK9 promuovendo l'up-regolazione di LDLR nelle beta-cellule, determina un conseguente accumulo di colesterolo, disfunzione cellulare e ridotta secrezione insulinica.

In contrasto con queste ipotesi, invece, i dati dagli studi clinici non sembrano suggerire un'associazione tra inibitori di PCSK9 e alterazioni del controllo glicemico, anche se bisogna tener presente che il follow-up di questi studi non è molto lungo. Una recente meta-analisi di 35 studi randomizzati (45539 pazienti seguiti per una media di 85.5 settimane) non ha individuato nessun effetto degli inibitori di PCSK9 su DM di nuova insorgenza o peggioramento del DM pre-esistente (Karatasakis A, et al. 2017). Inoltre, in un'analisi di 10 studi ODYSSEY (n = 4974, 24-104 settimane di durata), alirocumab non si associava a nessun effetto sull'incidenza di DM (Colhoun HM, et al. 2016). Anche i dati dei recenti studi FOURIER (Sabatine MS, et al. Lancet Diabetes

Endocrinol 2017) e ODISSEY OUTCOME (Ray KK, et al. Diabetes 2018) non hanno mostrato differenze nell'incidenza di DM neo-diagnosticato tra pazienti trattati con inibitori di PCSK9 o con placebo.

Una possibile spiegazione del perché non sia presente un aumentato rischio di nuovo DM—nei trials d'intervento con inibitori di PCSK9 può venire da un recentissimo studio (Da Dalt L, et al. 2018), in cui gli autori hanno dimostrato che nei topi Knock-out per PCSK9 erano presenti, come atteso, alterazioni morfologiche e funzionali delle beta-cellule, con aumento del LDLR, accumulo di colesterolo e alterata secrezioni insulinica. Tuttavia, la delezione specifica della sola PCSK9 di derivazione epatica non si associava ad alterazioni glicemiche, suggerendo che gli inibitori di PCSK9, inibendo principalmente PCSK9 di derivazione epatica, hanno un impatto limitato sull'espressione di LDLR nelle beta-cellule, senza quindi alterare la funzione beta-cellulare e il rischio di DM.

### Conclusioni

Le evidenze cliniche dimostrano che gli inibitori PCSK9, in aggiunta a terapia con statine, riducono in maniera significativa l'LDL-C in soggetti con iperlipidemia e diabete mellito, senza perdita del controllo glicemico o aumento del rischio di sviluppare diabete in soggetti senza diabete preesistente, e sono in grado di prevenire o ridurre significativamente ulteriori eventi cardiovascolari.

### EFFICACIA E LIMITI DELLE ATTUALI TERAPIE IPOLIPEMIZZANTI, E INDICAZIONI PRATICHE ALL'USO DEGLI INIBITORI DI PCSK9 NEL DIABETE

#### Expert Opinion

Da quanto discusso in precedenza emergono chiaramente alcuni aspetti rilevanti del trattamento dell'ipercolesterolemia nel DM: 1) solo il 60% dei pazienti è trattato, ma, ancora più importante, 2) solo il 60% dei pazienti trattati è a target, lasciando quindi una grossa fetta di pazienti con un trattamento insoddisfacente. Le cause sono molteplici, e vanno dall'inerzia terapeutica, all'intolleranza alle statine, all'insufficiente effetto ipocolesterolemizzante anche ai dosaggi massimi di statine. 3) Infine, va considerato il rischio residuo CVD che rimane anche al massimo livello di trattamento. Molti studi hanno infatti dimostrato che, sia con statine a media che ad alta potenza, sia con l'aggiunta di ezetimibe, una quota rilevante di pazienti avevano eventi CVD, ipotizzando quindi la necessità di una terapia aggiuntiva (CCT collaborators Lancet 2008). In quest'ottica si inserisce l'indicazione all'utilizzo terapeutico degli inibitori di PCSK9, come dimostrato chiaramente dalla revisione degli studi precedenti. L'ulteriore abbassamento dei livelli di LDL-C (fino a 25 mg/dl) permette infatti di ridurre il rischio relativo di eventi CVD nel paziente diabetico del 15% (con una riduzione rischio assoluto dell'1-2%).

#### Modalità di prescrizione

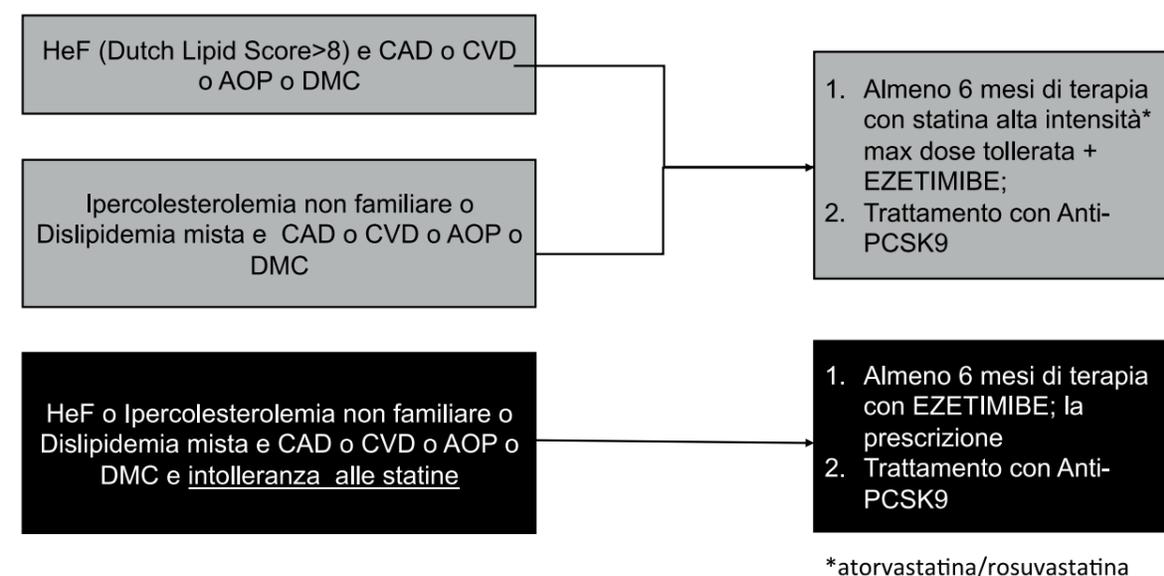
Dal marzo 2017 è autorizzata la prescrizione con rimborsabilità dal SSN di inibitori di PCSK9. In particolare, per gli inibitori di PCSK9i sono autorizzate e rimborsate dal SSN le seguenti indicazioni:

- In prevenzione primaria, in pazienti di età 18-80aa con ipercolesterolemia familiare eterozigote e livelli di LDL-C  $\geq 130$ mg/dl nonostante terapia da almeno 6 mesi con statina ad alta potenza (atorvastatina 40 o 80 mg e rosuvastatina 20 o 40 mg al giorno) alla massima dose tollerata + ezetimibe oppure con dimostrata intolleranza alle statine
- In prevenzione secondaria in pazienti di età 18-80aa con ipercolesterolemia familiare eterozigote o ipercolesterolemia non familiare o dislipidemia mista e livelli di LDL-C  $\geq 100$ mg/dl nonostante terapia da almeno 6 mesi con statina ad alta potenza alla massima dose tollerata + ezetimibe oppure con dimostrata intolleranza alle statine

La seconda autorizzazione riguarda quindi in maniera specifica i pazienti con diabete in prevenzione secondaria. Nel caso quindi di un paziente diabetico con colesterolo LDL  $>100$  mg/dl, in terapia con statine + ezetimibe da almeno 6 mesi (o intollerante alle statine), è previsto l'impegno di inibitori di PCSK9 per il controllo della dislipidemia e del rischio cardiovascolare (figura 2).

Figura 2

### Paziente prevenzione secondaria LDL $\geq 100$ , età $\leq 80$ aa, no ipercolest. secondaria, no GFR $< 30$ ml/min, no insuff. epatica



In particolare (figura 3), gli inibitori di PCSK9 sono utilizzabili in prevenzione secondaria nei seguenti pazienti con ipercolesterolemia non familiare o dislipidemia mista:

- **Malattia coronarica** (cardiopatía ischemica, IMA, bypass aortocoronarico, angioplastica, procedura di rivascolarizzazione **coronarica**) (CAD)
- **Malattia cerebrovascolare** (pregresso ictus o TIA, rivascolarizzazione carotidea) (CVD)
- **Arteriopatia periferica (AOP)**
- **Diabete mellito (DM):**

Complicato da danno d'organo associato ad altri fattori di rischio (ipertensione arteriosa, tabagismo)

Figura 3

**PCSK9-i nei pazienti in prevenzione secondaria:  
HeF, ipercolesterolemia non familiare o dislipidemia mista**

•**Malattia coronarica** (cardiopatía ischemica, IMA, bypass aortocoronarico, angioplastica, procedura di rivascolarizzazione **coronarica**) (CAD)

•**Malattia cerebrovascolare** (pregresso ictus o TIA, rivascolarizzazione carotidea) (CVD)

•**Arteriopatia periferica (AOP)**

•**Diabete mellito (DM):**

•Complicato da danno d'organo

•Associato ad altri fattori di rischio (ipertensione arteriosa, tabagismo)

**Suggerimenti per l'uso di PCSK9 nel diabete mellito**

Dal punto di vista pratico si possono immaginare 4 condizioni di utilizzo di PCSK9i nel paziente diabetico.

**1 caso:** Paziente con storia di ipercolesterolemia, in prevenzione secondaria, già in trattamento massimale con statine + ezetimibe, ma con LDL-C  $\geq 100$  mg/dl, eleggibile ad alirocumab o evolocumab. In questo caso è sufficiente raccogliere il dato anamnestico di 2 determinazioni di LDL-C, risalenti anche ad anni precedenti. L'ultima determinazione deve distare dalla data di compilazione della scheda di registro non più di 30 giorni. Il paziente è immediatamente trattabile con inibitori di PCSK9i (figura 4).

Figura 4

**1. Paziente con storia di ipercolesterolemia, in prevenzione secondaria, già in trattamento «ottimale» ma con Ldl-c  $\geq 100$  mg/dl, eleggibile a alirocumab o evolocumab,**

- E' sufficiente raccogliere 2 determinazioni che risalgano anche ad anni precedenti.
- L'ultima determinazione deve distare dalla data di compilazione della scheda di registro non più di 30gg.
- Paziente pronto ad iniziare il trattamento con PCSK9i

**2 caso:** Paziente con storia di ipercolesterolemia, in prevenzione secondaria, in trattamento con statina ad alta intensità alla massima dose tollerata ma senza ezetimibe e con LDL-C  $\geq 100$ mg/dl, è eleggibile a alirocumab o evolocumab se viene trattato per almeno 6 mesi con ezetimibe e tre determinazioni di LDL-C (basale, dopo 3 mesi e al sesto mese) risultino  $> 100$  mg/dl (figura 5).

Figura 5

**2. Paziente con storia di ipercolesterolemia, in prevenzione secondaria, in trattamento con statina ad alta intensità alla massima dose tollerata ma senza ezetimibe e con LDL-c  $\geq 100$ mg/dl, eleggibile a alirocumab o evolocumab:**

- Aggiungere ezetimibe e poi fare nuovo profilo lipidico (1°). Se LDL-c ancora  $\geq 100$ .....



- Fare 2° profilo lipidico....



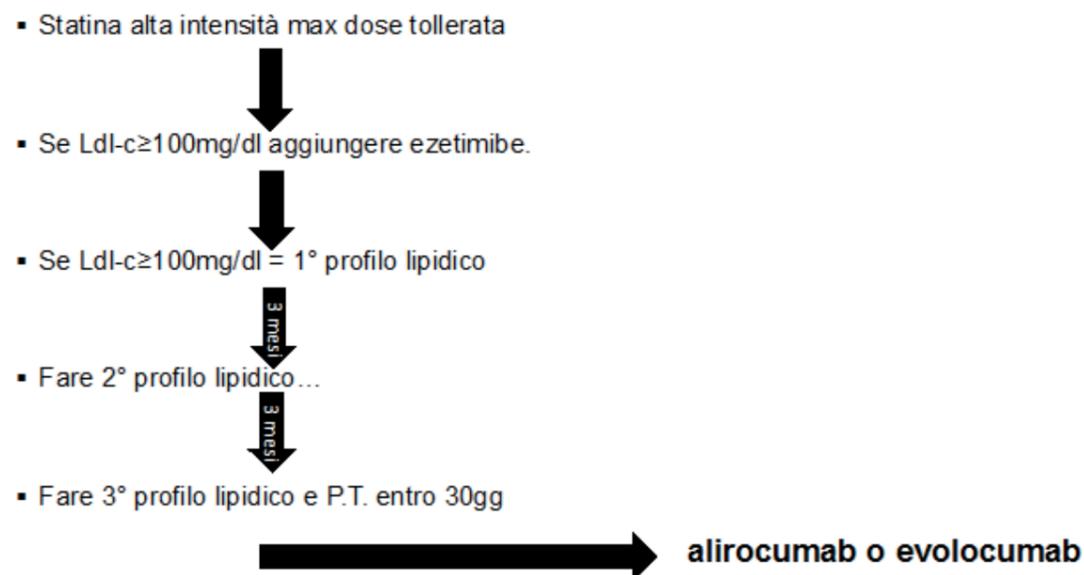
- Fare 3° profilo lipidico e P.T. entro 30gg.



**alirocumab o evolocumab**

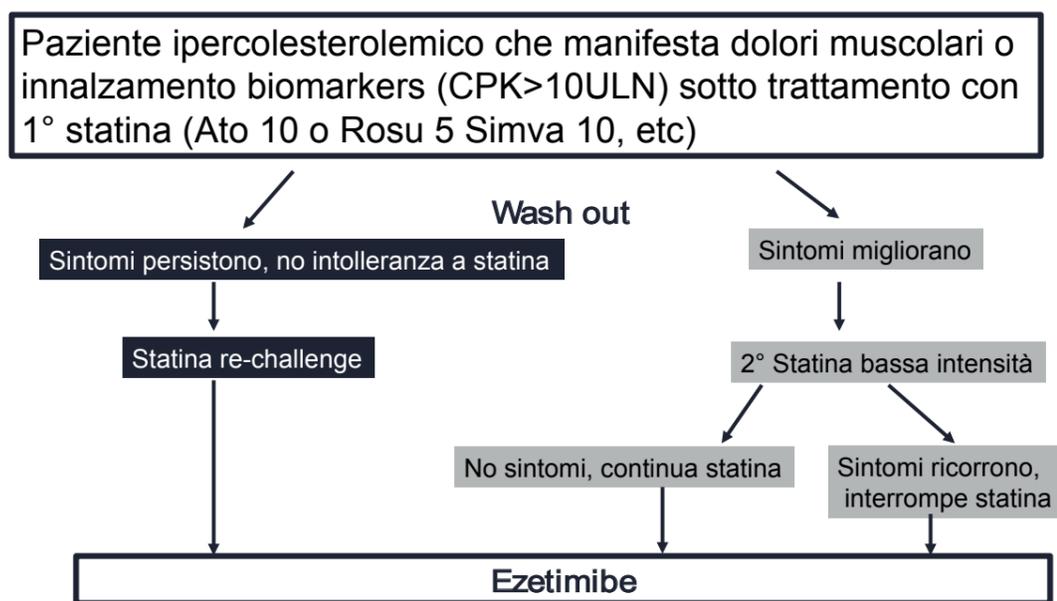
**3 caso:** Paziente *naive* ad un trattamento ipocolesterolemizzante, in prevenzione secondaria e con LDL-C  $\geq 100$  mg/dl. Il paziente deve essere trattato per almeno 6 mesi con terapia continuativa con statina + ezetimibe e avere 3 profili lipidici nel periodo  $\geq 100$  mg/dl. Se ancora non a target, potrà essere trattato con alirocumab o evolocumab (figura 6).

Figura 6 **3. Paziente naive ad un trattamento ipocolesterolemizzante, in prevenzione secondaria e con LDL-c $\geq 100$  :almeno 6 mesi terapia continuativa con statina + ezetimibe e 3 profili lipidici**



**4 caso:** Paziente con storia di ipercolesterolemia, in prevenzione secondaria, intollerante alle statine (intolleranza accertata secondo linee guida, figura 7). Il paziente deve essere in trattamento per almeno 6 mesi continuativi con ezetimibe. Vanno richiesti 3 profili lipidici con intervallo  $> 3$  mesi, di cui l'ultimo non antecedente ai 30 giorni dalla eventuale prescrizione di PCSK9i.

Figura 7



International Lipid Expert Panel-Position paper. Banach 2015

## Bibliografia

Abifadel M, Varret M, Rabes JP, Allard D, Ouguerram K, Devillers M, Cruaud C, Benjannet S, Wickham L, Erlich D, Derre A, Villegier L, Farnier M, Beucler I, Bruckert E, Chambaz J, Chanu B, Lecerf JM, Luc G, Moulin P, Weissenbach J, Prat A, Krempf M, Junien C, Seidah NG, Boileau C. Mutations in PCSK9 cause autosomal dominant hypercholesterolemia. *Nat Genet*. 2003, 34, (2), 154-156.

Alipour A, van Oostrom AJ, Izraeljan A, Verseyden C, Collins JM, Frayn KN, Plokker TW, Elte JW, Castro Cabezas M. Leukocyte activation by triglyceride-rich lipoproteins. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2008 Apr;28(4):792-7.

Aprile V, Baldissera S, D'Argenzio A, Lopresti S, Mingozi O, Scondotto S, BBinkin N, Giusti A, Maggini M, Perra A, Caffari B. Risultati nazionali dello studio QUADRI (QUAlita dell'Assistenza alle persone Diabetiche nelle Regioni Italiane); 2007, 66 p. Rapporti ISTISAN 07/10.

Apro J, Tietge UJ, Dikkers A, Parini P, Angelin B, Rudling M. Impaired Cholesterol Efflux Capacity of High-Density Lipoprotein Isolated From Interstitial Fluid in Type 2 Diabetes Mellitus-Brief Report. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2016 May;36(5):787-91.

Arcangeli A, Cimino A, Di Bartolo P, Fava D, Lovagnini Scher A, Meloncelli I, Mulas MF, Nicolucci A, Pellegrini F, Rocca A, Rossi MC, Turco S, Vespasiani G. Livelli di controllo metabolico, pressorio e lipidico e utilizzo dei farmaci nel diabete di tipo 2. Gli Anni 2005-2009 a confronto. *Annali AMD* 2011.

Asztalos BF, Schaefer EJ. HDL in atherosclerosis: actor or bystander? *Atheroscler Suppl*. 2003 Mar;4(1):21-9.

Austin MA, Breslow JL, Hennekens CH, Buring JE, Willett WC, Krauss RM. Low-density lipoprotein subclass patterns and risk of myocardial infarction. *JAMA*. 1988 Oct 7;260(13):1917-21.

Bays H, Gaudet D, Weiss R, Ruiz JL, Watts GF, Gouni-Berthold I, Robinson J, Zhao J, Hanotin C, Donahue S. Alirocumab as add-on to atorvastatin versus other lipid treatment strategies: ODYSSEY OPTIONS I randomized trial. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*, 2015, 100, (8), 3140-3148.

Beltrami C, Angelini TG, Emanuelli C. Noncoding RNAs in diabetes vascular complications. *J Mol Cell Cardiol*. 2015 Dec;89(Pt A):42-50.

Blom DJ, Hala T, Bolognese M, Lillestol MJ, Toth PD, Burgess L, Ceska R, Roth E, Koren MJ, Ballantyne CM, Monsalvo ML, Tsirtsonis K, Kim JB, Scott R, Wasserman SM, Stein EA. A 52-week placebo-controlled trial of evolocumab in hyperlipidemia. *N Engl J Med*, 2014, 370, (19), 1809-1819.

Blom DJ, Koren MJ, Roth E, Monsalvo ML, Djedjos CS, Nelson P, Elliott M, Wasserman SM, Ballantyne CM, Holman RR. Evaluation of the efficacy, safety and glycaemic effects of evolocumab (AMG 145) in hypercholesterolaemic patients stratified by glycaemic status and metabolic syndrome. *Diabetes Obes Metab*. 2017;19:98-107.

Brandsma E, Houben T, Fu J, Shiri-Sverdlov R, Hofker MH. The immunity-diet-microbiota axis in the development of metabolic syndrome. *Curr Opin Lipidol*. 2015 Apr;26(2):73-81.

Brownlee M. Biochemistry and molecular cell biology of diabetic complications. *Nature*. 2001 Dec 13;414(6865):813-20.

Brownlee M. Negative consequences of glycation. *Metabolism*. 2000 Feb;49(2 Suppl 1):9-13.

Burke AP, Kolodgie FD, Zieske A, Fowler DR, Weber DK, Varghese PJ, Farb A, Virmani R. Morphologic findings of coronary atherosclerotic plaques in diabetics: a postmortem study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2004 Jul;24(7):1266-71.

Calver A, Collier J, Vallance P. Inhibition and stimulation of nitric oxide synthesis in the human forearm arterial bed of patients with insulin-dependent diabetes. *J Clin Invest*. 1992 Dec;90(6):2548-54.

Cannon CP, Cariou B, Blom D, McKenney JM, Lorenzato C, Pordy R, Chaudhari U, Colhoun HM. 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*, 2015, 36, (19), 1186-1194.

Cariou B, Leiter LA, Muller-Wieland D, Bigot G, Colhoun HM, Del Prato S, Henry RR, Tinahones FJ, Letierce A, Aurand L, Maroni J, Ray KK, Bujas-Bobanovic M. Efficacy and safety of alirocumab in insulin-treated patients with type 1 or type 2 diabetes and high cardiovascular risk: rationale and design of the ODYSSEY DM-INSULIN trial. *Diabetes Metab*. 2017;43:453–459.

Chehade JM, Gladysz M, Mooradian AD. Dyslipidemia in type 2 diabetes: prevalence, pathophysiology, and management. *Drugs*. 2013;73(4):327-39.

Cholesterol Treatment Trialists' (CTT) Collaborators . Efficacy of cholesterol-lowering therapy in 18 686 people with diabetes in 14 randomised trials of statins: a meta-analysis. *Lancet* 2008; 371: 117–25.

Cohen J, 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. *Nat Genet*, 2005, 37, (2), 161-165.

Cohen JC, Boerwinkle E, Mosley TH, Hobbs HH. Sequence variations in PCSK9, low LDL, and protection against coronary heart disease. *N Engl J Med*, 2006, 354, (12), 1264-1272.

Colhoun HM, Ginsberg HN, Robinson JG, Leiter LA, Muller-Wieland D, Henry RR, Cariou B, Baccara-Dinet MT, Pordy R, Merlet L, Eckel RH. No effect of PCSK9 inhibitor alirocumab on the incidence of diabetes in a pooled analysis from 10 ODYSSEY phase 3 studies. *Eur Heart J* 2016;37:2981–2989.

Da Dalt L, Ruscica M, Bonacina F, Balzarotti G, Dhyani A, Di Cairano E, Baragetti A, Arnaboldi L, De Metrio S, Pellegatta F, Grigore L, Botta M, Macchi C, Uboldi P, Perego C, Catapano AL, Norata GD. PCSK9 deficiency reduces insulin secretion and promotes glucose intolerance: the role of the low-density lipoprotein receptor. *Eur Heart J*. 2018 Jul 2. [Epub ahead of print]

DeFronzo RA. Insulin resistance, lipotoxicity, type 2 diabetes and atherosclerosis: the missing links. The Claude Bernard Lecture 2009. *Diabetologia*. 2010 Jul;53(7):1270-87.

Diffenderfer MR, Schaefer EJ. The composition and metabolism of large and small LDL. *Curr Opin Lipidol*. 2014 Jun;25(3):221-6.

Do R, Willer CJ, Schmidt EM, Sengupta S, Gao C, Peloso GM, Gustafsson S, et al. Common variants associated with plasma triglycerides and risk for coronary artery disease. *Nat Genet*. 2013 Nov;45(11):1345-52.

Doi H, Kugiyama K, Oka H, Sugiyama S, Ogata N, Koide SI, Nakamura SI, Yasue H. Remnant lipoproteins induce

proatherothrombogenic molecules in endothelial cells through a redox-sensitive mechanism. *Circulation*. 2000 Aug 8;102(6):670-6.

Fadini GP, Boscaro E, de Kreutzenberg S, Agostini C, Seeger F, Dimmeler S, Zeiher A, Tiengo A, Avogaro A. Time course and mechanisms of circulating progenitor cell reduction in the natural history of type 2 diabetes. *Diabetes Care*. 2010 May;33(5):1097-102.

Fadini GP, Menegazzo L, Scattolini V, Gintoli M, Albiero M, Avogaro A. A perspective on NETosis in diabetes and cardiometabolic disorders. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*. 2016 Jan;26(1):1-8.

Farnier M, Jones P, Severance R, Averna M, Steinhagen-Thiessen E, Colhoun HM, Du Y, Hanotin C, Donahue S. 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*, 2016, 244, 138-146.

Federici M, Menghini R, Mauriello A, Hribal ML, Ferrelli F, Lauro D, Sbraccia P, Spagnoli LG, Sesti G, Lauro R. Insulin-dependent activation of endothelial nitric oxide synthase is impaired by O-linked glycosylation modification of signaling proteins in human coronary endothelial cells. *Circulation*. 2002 Jul 23;106(4):466-72.

Ference BA, Ginsberg HN, Graham I, Ray KK, Packard CJ, Bruckert E, Hegele RA, Krauss RM, Raal FJ, Schunkert H, Watts GF, Borén J, Fazio S, Horton JD, Masana L, Nicholls SJ, Nordestgaard BG, van de Sluis B, Taskinen MR, Tokgözoğlu L, Landmesser U, Laufs U, Wiklund O, Stock JK, Chapman MJ, Catapano AL. Low-density lipoproteins cause atherosclerotic cardiovascular disease. 1. Evidence from genetic, epidemiologic, and clinical studies. A consensus statement from the European Atherosclerosis Society Consensus Panel. *Eur Heart J*. 2017 Aug 21;38(32):2459-2472.

Ference BA, Robinson JG, Brook RD, Catapano AL, Chapman MJ, Neff DR, Voros S, Giugliano RP, Davey Smith G, Fazio S, Sabatine MS. Variation in PCSK9 and HMGCR and risk of cardiovascular disease and diabetes. *N Engl J Med* 2016; 375:2144–2153.

Forbes JM, Fotheringham AK. Vascular complications in diabetes: old messages, new thoughts. *Diabetologia*. 2017 Nov;60(11):2129-2138.

Forrester SJ, Kikuchi DS, Hernandez MS, Xu Q, Griendling KK. Reactive Oxygen Species in Metabolic and Inflammatory Signaling. *Circ Res*. 2018 Mar 16;122(6):877-902.

Ganda OP, Plutzky J, Sanganalmath SK, Bujas-Bobanovic M, Koren A, Mandel J, Letierce A, Leiter LA. Efficacy and safety of alirocumab among individuals with diabetes mellitus and atherosclerotic cardiovascular disease in the ODYSSEY phase 3 trials. *Diabetes Obes Metab*. 2018 Oct;20(10):2389-2398

Gardner CD, Fortmann SP, Krauss RM. Association of small low-density lipoprotein particles with the incidence of coronary artery disease in men and women. *JAMA*. 1996 Sep 18;276(11):875-81.

Gerber PA, Nikolic D, Rizzo M. Small, dense LDL: an update. *Curr Opin Cardiol*. 2017 Jul;32(4):454-459.

Ginsberg HN, Farnier M, Robinson JG, Cannon CP, Sattar N, Baccara-Dinet MT, Lorenzato C, Bujas-Bobanovic M, Louie MJ, Colhoun HM. Efficacy and safety of alirocumab: pooled analyses of 1048 individuals with diabetes mellitus from five placebo-controlled Phase 3 studies of at least 52 weeks duration. *Circulation*. 2015;132:A17070.

Giugliano RP, Desai NR, Kohli P, Rogers WJ, Somaratne R, Huang F, Liu T, Mohanavelu S, Hoffman EB, McDon-

ald ST, Abrahamsen TE, Wasserman SM, Scott R, Sabatine MS. Efficacy, safety, and tolerability of a monoclonal antibody to proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 in combination with a statin in patients with hypercholesterolaemia (LAPLACE-TIMI 57): a randomised, placebo-controlled, dose-ranging, phase 2 study. *Lancet*. 2012, 380, (9858), 2007-2017.

Giugliano RP, Mach F, Zavitz K, Kurtz C, Im K, Kanevsky E, Schneider J, Wang H, Keech A, Pedersen TR, Sabatine MS, Sever PS, Robinson JG, Honarpour N, Wasserman SM, Ott BR; EBBINGHAUS Investigators. Cognitive Function in a Randomized Trial of Evolocumab. *N Engl J Med*. 2017 Aug 17;377(7):633-643.

Giugliano RP, Pedersen TR, Park JG, De Ferrari GM, Gaciong ZA, Ceska R, Toth K, Gouni-Berthold I, Lopez-Miranda J, Schiele F, Mach F, Ott BR, Kanevsky E, Pineda AL, Somaratne R, Wasserman SM, Keech AC, Sever PS, Sabatine MS; FOURIER Investigators. Clinical efficacy and safety of achieving very low LDL-cholesterol concentrations with the PCSK9 inhibitor evolocumab: a prespecified secondary analysis of the FOURIER trial. *Lancet*. 2017 Oct 28;390(10106):1962-1971.

Griffin JL, Wang X, Stanley E. Does our gut microbiome predict cardiovascular risk? A review of the evidence from metabolomics. *Circ Cardiovasc Genet*. 2015 Feb;8(1):187-91.

Hink U, Li H, Mollnau H, Oelze M, Matheis E, Hartmann M, Skatchkov M, Thaiss F, Stahl RA, Warnholtz A, Meinertz T, Griendling K, Harrison DG, Forstermann U, Munzel T. Mechanisms underlying endothelial dysfunction in diabetes mellitus. *Circ Res*. 2001 Feb 2;88(2):E14-22.

Hodis HN. Triglyceride-rich lipoprotein remnant particles and risk of atherosclerosis. *Circulation*. 1999 Jun 8;99(22):2852-4.

Johnstone MT, Creager SJ, Scales KM, Cusco JA, Lee BK, Creager MA. Impaired endothelium-dependent vasodilation in patients with insulin-dependent diabetes mellitus. *Circulation*. 1993 Dec;88(6):2510-6.

Joshi MB, Lad A, Bharath Prasad AS, Balakrishnan A, Ramachandra L, Satyamoorthy K. High glucose modulates IL-6 mediated immune homeostasis through impeding neutrophil extracellular trap formation. *FEBS Lett*. 2013 Jul 11;587(14):2241-6.

Karatasakis A, Danek BA, Karacsonyi J, Rangan BV, Roesle MK, Knickelbine T, Miedema MD, Khalili H, Ahmad Z, Abdullah S, Banerjee S, Brilakis ES. Effect of PCSK9 inhibitors on clinical outcomes in patients with hypercholesterolemia: A meta-analysis of 35 randomized controlled trials. *J Am Heart Assoc* 2017;6: e006910.

Kastelein JJ, Ginsberg HN, Langslet G, Hovingh GK, Ceska R, Dufour R, Blom D, Civeira F, Krempf M, Lorenzato C, Zhao J, Pordy R, Baccara-Dinet MT, Gipe DA, Geiger MJ, Farnier M. ODYSSEY FH I and FH II: 78 week results with alirocumab treatment in 735 patients with heterozygous familial hypercholesterolaemia. *Eur Heart J*, 2015, 36, (43), 2996-3003.

Kathiresan S. A PCSK9 missense variant associated with a reduced risk of early-onset myocardial infarction. *N Engl J Med*, 2008, 358, (21), 2299-2300.

Keating ST, Plutzky J, El-Osta A. Epigenetic Changes in Diabetes and Cardiovascular Risk. *Circ Res*. 2016 May 27;118(11):1706-22.

Kereiakes DJ, Robinson JG, Cannon CP, Lorenzato C, Pordy R, Chaudhari U, Colhoun HM. 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*. 2015;169:906-915.

Koren MJ, Lundqvist P, Bolognese M, Neutel JM, Monsalvo ML, Yang J, Kim JB, Scott R, Wasserman SM, Bays H. Anti-PCSK9 monotherapy for hypercholesterolemia: the MENDEL-2 randomized, controlled phase III clinical trial of evolocumab. *Journal of the American College of Cardiology*, 2014, 63, (23), 2531-2540.

Koren MJ, Scott R, Kim JB, Knusel B, Liu T, Lei L, Bolognese M, Wasserman SM. Efficacy, safety, and tolerability of a monoclonal antibody to proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 as monotherapy in patients with hypercholesterolaemia (MENDEL): a randomised, double-blind, placebo controlled, phase 2 study. *Lancet*, 2012, 380, (9858), 1995-2006.

Lacy M, Atzler D, Liu R, de Winther M, Weber C, Lutgens E. Interactions between dyslipidemia and the immune system and their relevance as putative therapeutic targets in atherosclerosis. *Pharmacol Ther*. 2019 Jan;193:50-62.

Leiter LA, Cariou B, Muller-Wieland D, Colhoun HM, Del Prato S, Tinahones FJ, Ray KK, Bujas-Bobanovic M, Domenger C, Mandel J, Samuel R, Henry RR. Efficacy and safety of alirocumab in insulin-treated individuals with type 1 or type 2 diabetes and high cardiovascular risk: the ODYSSEY DM-INSULIN randomized trial. *Diabetes Obes Metab*. 2017;19:1781-1792.

Leiter LA, Muller-Wieland D, Baccara-Dinet MT, Letierce A, Samuel R, Cariou B. Efficacy and safety of alirocumab in people with prediabetes vs those with normoglycaemia at baseline: a pooled analysis of 10 phase III ODYSSEY clinical trials. *Diabet Med*. 2018;35:121-130.

Leiter LA, Tinahones FJ, Karalis DG, Bujas-Bobanovic M, Letierce A, Mandel J, Samuel R, Jones PH. Alirocumab safety in people with and without diabetes mellitus: pooled data from 14 ODYSSEY trials. *Diabet Med*. 2018 Dec;35(12):1742-1751.

Leiter LA, Zamorano JL, Bujas-Bobanovic M, Louie MJ, Lecorps G, Cannon CP, Handelsman Y. Lipid-lowering efficacy and safety of alirocumab in patients with or without diabetes: a sub-analysis of ODYSSEY COMBO II. *Diabetes Obes Metab*. 2017;19:989-996.

Lemmers RFH, van Hoek M, Lieverse AG, Verhoeven AJM, Sijbrands EJG, Mulder MT. The anti-inflammatory function of high-density lipoprotein in type II diabetes: A systematic review. *J Clin Lipidol*. 2017 May - Jun;11(3):712-724.e5.

Lindsey JB, House JA, Kennedy KF, Marso SP. Diabetes duration is associated with increased thin-cap fibroatheroma detected by intravascular ultrasound with virtual histology. *Circ Cardiovasc Interv*. 2009 Dec;2(6):543-8.

Loader J, Montero D, Lorenzen C, Watts R, Méziat C, Reboul C, Stewart S, Walther G. Acute Hyperglycemia Impairs Vascular Function in Healthy and Cardiometabolic Diseased Subjects: Systematic Review and Meta-Analysis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2015 Sep;35(9):2060-72.

Lombardo F, Spila Alegiani S, Maggini M, Raschetti R, Avogaro A, Ferrannini E, Giorda C, Mannucci E, Sarli E, Turco S, Velussi M, per il gruppo di Studio DAI. Prevalenza e incidenza delle complicanze del diabete: studio DAI; 2007, 62 p. Rapporti ISTISAN 07/25.

Lotta LA, Sharp SJ, Burgess S, Perry JRB, Stewart ID, Willems SM, et al. Association between low-density lipoprotein cholesterol lowering genetic variants and risk of type 2 diabetes: A meta-analysis. *JAMA* 2016; 316:1383-1391.

Ma RC. Genetics of cardiovascular and renal complications in diabetes. *J Diabetes Investig*. 2016 Mar;7(2):139-54.

Mäkimattila S, Liu ML, Vakkilainen J, Schlenzka A, Lahdenperä S, Syväne M, Mäntysaari M, Summanen P, Bergholm R, Taskinen MR, Yki-Järvinen H. Impaired endothelium-dependent vasodilation in type 2 diabetes. Relation to LDL size, oxidized LDL, and antioxidants. *Diabetes Care*. 1999 Jun;22(6):973-81.

Manicardi V, Clemente G, DeCosmo S, Di Bartolo P, Fava D, Giorda BC, Manti R, Mazzucchelli C, Musacchio N, Nicolucci A, Pisanu P, Rocca A, Rossi MC, Vespasiani G. Le monografie degli annali AMD 2017. Focus su Full Data Circle Numero speciale JAMD ed. maggio 2018 Edizioni Idelson Gnocchi 1908 srl

Mbikay M, Sirois F, Mayne J, Wang GS, Chen A, Dewpura T, Prat A, Seidah NG, Chretien M, Scott FW. PCSK9-deficient mice exhibit impaired glucose tolerance and pancreatic islet abnormalities. *FEBS Lett* 2010;584:701-706.

McKenney JM, Koren MJ, Kereiakes DJ, Hanotin C, Ferrand AC, Stein EA. Safety and efficacy of a monoclonal antibody to proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 serine protease, SAR236553/REGN727, in patients with primary hypercholesterolemia receiving ongoing stable atorvastatin therapy. *Journal of the American College of Cardiology*, 2012, 59, (25), 2344-2353.

Mooradian AD. Dyslipidemia in type 2 diabetes mellitus. *Nat Clin Pract Endocrinol Metab*. 2009;5:150-159.

Moriarty PM, Thompson PD, Cannon CP, Guyton JR, Bergeron J, Zieve F, Bruckert E, Jacobson TA, Kopecky SL, Baccara-Dinet MT, Du L, Pordy R, Gipe D. Efficacy and safety of alirocumab vs ezetimibe in statin-intolerant patients, with a statin rechallenge arm: The ODYSSEY ALTERNATIVE randomized trial. *J Clin Lipidol*, 2015, 9, (6), 758-769.

Morigi M, Angioletti S, Imberti B, Donadelli R, Micheletti G, Figliuzzi M, Remuzzi A, Zoja C, Remuzzi G. Leukocyte-endothelial interaction is augmented by high glucose concentrations and hyperglycemia in a NF- $\kappa$ B-dependent fashion. *J Clin Invest*. 1998 May 1;101(9):1905-15.

Muller-Wieland D, Leiter LA, Cariou B, Letierce A, Colhoun HM, Del Prato S, Henry RR, Tinahones FJ, Aurand L, Maroni J, Ray KK, Bujas-Bobanovic M. Design and rationale of the ODYSSEY DM-DYSLIPIDEMIA trial: lipid-lowering efficacy and safety of alirocumab in individuals with type 2 diabetes and mixed dyslipidaemia at high cardiovascular risk. *Cardiovasc Diabetol*. 2017;16:70.

Nakajima K, Nakano T, Tokita Y, Nagamine T, Inazu A, Kobayashi J, Mabuchi H, Stanhope KL, Havel PJ, Okazaki M, Ai M, Tanaka A. Postprandial lipoprotein metabolism: VLDL vs chylomicrons. *Clin Chim Acta*. 2011;412:1306-1318.

Nissen SE, Stroes E, Dent-Acosta RE, Rosenson RS, Lehman SJ, Sattar N, Preiss D, Bruckert E, Ceska R, Lepor N, Ballantyne CM, Gouni-Berthold I, Elliott M, Brennan DM, Wasserman SM, Somaratne R, Scott R, Stein EA, Investigators G. Efficacy and Tolerability of Evolocumab vs Ezetimibe in Patients With Muscle-Related Statin Intolerance: The GAUSS-3 Randomized Clinical Trial. *Jama*, 2016, 315, (15), 1580-1590.

Olufadi R, Byrne CD. Effects of VLDL and remnant particles on platelets. *Pathophysiol Haemost Thromb*. 2006;35(3-4):281-91.

Ooi TC, Krysa JA, Chaker S, Abujrad H, Mayne J, Henry K, Cousins M, Raymond A, Favreau C, Taljaard M, Chretien M, Mbikay M, Proctor SD, Vine DF. The effect of PCSK9 loss-of-function variants on the postprandial lipid

and apolipoprotein response. *J Clin Endocrinol Metab*. 2017;102:3452-3460.

Osservatorio ARNO Diabete -Il profilo assistenziale della popolazione con diabete; Rapporto 2017 Volume XXX - Collana "Rapporti ARNO".

PASSI. La sorveglianza Passi- Rapporto nazionale Passi 2012: diabete <http://www.epicentro.iss.it/passi/rapporto2012/diabete.asp>.

Pirillo A, Catapano AL. Proprotein Convertase Subtilisin Kexin 9 Inhibitors. *Cardiol Clin*. 2018 May;36(2):241-256.

Pitas RE, Innerarity TL, Mahley RW. Foam cells in explants of atherosclerotic rabbit aortas have receptors for beta-very low density lipoproteins and modified low density lipoproteins. *Arteriosclerosis*. 1983 Jan-Feb;3(1):2-12.

Progetto Cuore. <http://www.cuore.iss.it/fattori/colesterolemiaTot.asp>

Raal F, Scott R, Somaratne R, Bridges I, Li G, Wasserman SM, Stein EA. Low-density lipoprotein cholesterol-lowering effects of AMG 145, a monoclonal antibody to proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 serine protease in patients with heterozygous familial hypercholesterolemia: the Reduction of LDL-C with PCSK9 Inhibition in Heterozygous Familial Hypercholesterolemia Disorder (RUTHERFORD) randomized trial. *Circulation*, 2012, 126, (20), 2408-2417.

Raal FJ, Honarpour N, Blom DJ, Hovingh GK, Xu F, Scott R, Wasserman SM, Stein EA; TESLA Investigators. Inhibition of PCSK9 with evolocumab in homozygous familial hypercholesterolemia (TESLA Part B): a randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *Lancet*. 2015 Jan 24;385(9965):341-50.

Raal FJ, Hovingh GK, Blom D, Santos RD, Harada-Shiba M, Bruckert E, Couture P, Soran H, Watts GF, Kurtz C, Honarpour N, Tang L, Kasichayanula S, Wasserman SM, Stein EA. Longterm treatment with evolocumab added to conventional drug therapy, with or without apheresis, in patients with homozygous familial hypercholesterolemia: an interim subset analysis of the open-label TAUSSIG study. *Lancet Diabetes Endocrinol*, 2017, 5, (4), 280-290.

Raal FJ, Stein EA, Dufour R, Turner T, Civeira F, Burgess L, Langslet G, Scott R, Olsson AG, Sullivan D, Hovingh GK, Cariou B, Gouni-Berthold I, Somaratne R, Bridges I, Wasserman SM, Gaudet D. PCSK9 inhibition with evolocumab (AMG 145) in heterozygous familial hypercholesterolemia (RUTHERFORD-2): a randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *Lancet*, 2015, 385, (9965), 331-340.

Raggi P, Genest J, Giles JT, Rayner KJ, Dwivedi G, Beanlands RS, Gupta M. Role of inflammation in the pathogenesis of atherosclerosis and therapeutic interventions. *Atherosclerosis*. 2018 Sep;276:98-108.

Ray KK, Colhoun HM, Szarek M, Baccara-Dinet M, Bhatt DL, Bittner VA, Budaj AJ, Diaz R, Goodman SG, Hanotin C, Harrington RA, Jukema JW, Loizeau V, Lopes RD, Moryusef A, Murin J, Pordy R, Ristic AD, Roe MT, Tuñón J, White HD, Zeiher AM, Schwartz GG, Steg PG; ODYSSEY OUTCOMES Committees and Investigators. Effects of alirocumab on cardiovascular and metabolic outcomes after acute coronary syndrome in patients with or without diabetes: a prespecified analysis of the ODYSSEY OUTCOMES randomised controlled trial. *Lancet Diabetes Endocrinol*. 2019 Aug;7(8):618-628.

Ray KK, Leiter LA, Müller-Wieland D, Cariou B, Colhoun HM, Henry RR, Tinahones FJ, Bujas-Bobanovic M, Domenger C, Letierce A, Samuel R, Del Prato S. Alirocumab vs usual lipid-lowering care as add-on to statin therapy in individuals with type 2 diabetes and mixed dyslipidaemia: the ODYSSEY DM-DYSLIPIDEMIA ran-

domized trial. *Diabetes Obes Metab.* 2018;20:1479–1489.

Recio C, Oguiza A, Lazaro I, Mallavia B, Egido J, Gomez-Guerrero C. Suppressor of cytokine signaling 1-derived peptide inhibits Janus kinase/signal transducers and activators of transcription pathway and improves inflammation and atherosclerosis in diabetic mice. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2014 Sep;34(9):1953-60.

Reyes-Soffer G, Pavlyha M, Ngai C, Thomas T, Holleran S, Ramakrishnan R, Karmally W, Nandakumar R, Fontanez N, Obunike J, Marcovina SM, Lichtenstein AH, Matthan NR, Matta J, Maroccia M, Becue F, Poitiers F, Swanson B, Cowan L, Sasiela WJ, Surks HK, Ginsberg HN. Effects of PCSK9 inhibition with alirocumab on lipoprotein metabolism in healthy humans. *Circulation.* 2017;135:352–362.

Rigato M, Avogaro A, Fadini GP. Levels of Circulating Progenitor Cells, Cardiovascular Outcomes and Death: A Meta-Analysis of Prospective Observational Studies. *Circ Res.* 2016 Jun 10;118(12):1930-9.

Robinson JG, Farnier M, Krempf M, Bergeron J, Luc G, Averna M, Stroes ES, Langslet G, Raal FJ, El Shahawy M, Koren MJ, Lepor NE, Lorenzato C, Pordy R, Chaudhari U, Kastelein JJ; ODYSSEY LONG TERM Investigators. Efficacy and safety of alirocumab in reducing lipids and cardiovascular events. *N Engl J Med.* 2015;372:1489–1499.

Robinson JG, Nedergaard BS, Rogers WJ, Fialkow J, Neutel JM, Ramstad D, Somaratne R, Legg JC, Nelson P, Scott R, Wasserman SM, Weiss R. Effect of evolocumab or ezetimibe added to moderate- or high-intensity statin therapy on LDL-C lowering in patients with hypercholesterolemia: the LAPLACE-2 randomized clinical trial. *Jama,* 2014, 311, (18), 1870-1882.

Rosenson RS, Brewer HB Jr, Barter PJ, Björkegren JLM, Chapman MJ, Gaudet D, Kim DS, Niesor E, Rye KA, Sacks FM, Tardif JC, Hegele RA. HDL and atherosclerotic cardiovascular disease: genetic insights into complex biology. *Nat Rev Cardiol.* 2018 Jan;15(1):9-19.

Rosenson RS, Davidson MH, Hirsh BJ, Kathiresan S, Gaudet D. Genetics and causality of triglyceride-rich lipoproteins in atherosclerotic cardiovascular disease. *J Am Coll Cardiol.* 2014 Dec 16;64(23):2525-40.

Rosenson RS, Hegele RA, Fazio S, Cannon CP. The Evolving Future of PCSK9 Inhibitors. *J Am Coll Cardiol.* 2018 Jul 17;72(3):314-329.

Roth EM, McKenney JM. ODYSSEY MONO: effect of alirocumab 75 mg subcutaneously every 2 weeks as monotherapy versus ezetimibe over 24 weeks. *Future Cardiol,* 2015, 11, (1), 27-37.

Russel R. Atherosclerosis-An Inflammatory Disease. *N Engl J Med.* *N Engl J Med* 1999; 340:115-126

Sabatine MS, Giugliano RP, Keech AC, Honarpour N, Wiviott SD, Murphy SA, Kuder JF, Wang H, Liu T, Wasserman SM, Sever PS, Pedersen TR; FOURIER Steering Committee and Investigators. Evolocumab and Clinical Outcomes in Patients with Cardiovascular Disease. *N Engl J Med.* 2017 May 4;376(18):1713-1722.

Sabatine MS, Leiter LA, Wiviott SD, Giugliano RP, Deedwania P, De Ferrari GM, Murphy SA, Kuder JF, Gouni-Berthold I, Lewis BS, Handelsman Y, Pineda AL, Honarpour N, Keech AC, Sever PS, Pedersen TR. Cardiovascular safety and efficacy of the PCSK9 inhibitor evolocumab in patients with and without diabetes and the effect of evolocumab on glycaemia and risk of new-onset diabetes: a prespecified analysis of the FOURIER randomised controlled trial. *Lancet Diabetes Endocrinol.* 2017 Dec;5(12):941-950.

Sattar N. Revisiting the links between glycaemia, diabetes and cardiovascular disease. *Diabetologia*

2013;56:686-95

Sattar N, Preiss D, Robinson JG, Djedjos CS, Elliott M, Somaratne R, Wasserman SM, Raal FJ. Lipid-lowering efficacy of the PCSK9 inhibitor evolocumab (AMG 145) in patients with type 2 diabetes: a meta-analysis of individual patient data. *Lancet Diabetes Endocrinol.* 2016;4:403–410.

Sattar N, Toth PP, Blom DJ, Koren MJ, Soran H, Uhart M, Elliott M, Cyrille M, Somaratne R, Preiss D. Effect of the proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 inhibitor evolocumab on glycemia, body weight, and new-onset diabetes mellitus. *Am J Cardiol.* 2017;120:1521–1527.

Schmidt AF, Swerdlow DI, Holmes MV, Patel RS, Fairhurst-Hunter Z, Lyall DM, Hartwig FP, Horta BL, Hypponen E, Power C, Moldovan M, van Iperen E, Hovingh GK, Demuth I, Norman K, Schwartz GG, Abt M, Bao W, DeM-icco D, Kallend D, Miller M, Mundl H, Olsson AG. Fasting triglycerides predict recurrent ischemic events in patients with acute coronary syndrome treated with statins. *J Am Coll Cardiol.* 2015 Jun 2;65(21):2267-75.

Schwartz GG, Steg PG, Szarek M, Bhatt DL, Bittner VA, Diaz R, Edelberg JM, Goodman SG, Hanotin C, Harrington RA, Jukema JW, Lecorps G, Mahaffey KW, Moryusef A, Pordy R, Quintero K, Roe MT, Sasiela WJ, Tamby JF, Tricoci P, White HD, Zeiher AM; ODYSSEY OUTCOMES Committees and Investigators. Alirocumab and Cardiovascular Outcomes after Acute Coronary Syndrome. *N Engl J Med.* 2018 Nov 29;379(22):2097-2107.

Shah MS, Brownlee M. Molecular and Cellular Mechanisms of Cardiovascular Disorders in Diabetes. *Circ Res.* 2016 May 27;118(11):1808-29.

Shin HK, Kim YK, Kim KY, Lee JH, Hong KW. Remnant lipoprotein particles induce apoptosis in endothelial cells by NAD(P)H oxidase-mediated production of superoxide and cytokines via lectin-like oxidized low-density lipoprotein receptor-1 activation: prevention by cilostazol. *Circulation.* 2004 Mar 2;109(8):1022-8.

Srivastava RAK. Dysfunctional HDL in diabetes mellitus and its role in the pathogenesis of cardiovascular disease. *Mol Cell Biochem.* 2018 Mar;440(1-2):167-187.

Steffel J, Lüscher TF, Tanner FC. Tissue factor in cardiovascular diseases: molecular mechanisms and clinical implications. *Circulation.* 2006 Feb 7;113(5):722-31.

Steinhagen-Thiessen E, Demuth J, Bertram L, Liu T, Coassin S, Willeit J, et al. PCSK9 genetic variants and risk of type 2 diabetes: A mendelian randomisation study. *Lancet Diabetes Endocrinol* 2017;5:97–105.

Stroes E, Colquhoun D, Sullivan D, Civeira F, Rosenson RS, Watts GF, Bruckert E, Cho L, Dent R, Knusel B, Xue A, Scott R, Wasserman SM, Rocco M. Anti-PCSK9 antibody effectively lowers cholesterol in patients with statin intolerance: the GAUSS-2 randomized, placebo-controlled phase 3 clinical trial of evolocumab. *Journal of the American College of Cardiology,* 2014, 63, (23), 2541-2548.

Sullivan D, Olsson AG, Scott R, Kim JB, Xue A, GebSKI V, Wasserman SM, Stein EA. Effect of a monoclonal antibody to PCSK9 on low-density lipoprotein cholesterol levels in statin-intolerant patients: the GAUSS randomized trial. *Jama,* 2012, 308, (23), 2497-2506.

Swerdlow DI, Preiss D, Kuchenbaecker KB, et al. HMG-coenzyme A reductase inhibition, type 2 diabetes, and bodyweight: evidence from genetic analysis and randomised trials. *Lancet* 2015; 385: 351–61.

Taskinen MR, Borén J. New insights into the pathophysiology of dyslipidemia in type 2 diabetes. *Atherosclerosis.* 2015 Apr;239(2):483-95.

Tilg H, Moschen AR. Microbiota and diabetes: an evolving relationship. *Gut*. 2014 Sep;63(9):1513-21.

Toth PP, Descamps O, Genest J, Sattar N, Preiss D, Dent R, Djedjos C, Wu Y, Geller M, Uhart M, Somaratne R, Wasserman SM; Proficio Investigators. Pooled safety analysis of evolocumab in over 6000 patients from double-blind and open-label extension studies. *Circulation*. 2017;135: 1819–1831.

Vaccaro O, Boemi M, Cavalot F, De Feo P, Miccoli R, Patti L, Rivellese AA, Trovati M, Ardigò D, Zavaroni I; MIND-IT Study Group. The clinical reality of guidelines for primary prevention of cardiovascular disease in type 2 diabetes in Italy. *Atherosclerosis*. 2008 Jun;198(2):396-402.

Vaccaro O, Masulli M, Nicolucci A, Bonora E, Del Prato S, Maggioni AP, Rivellese AA, Squatrito S, Giorda CB, Sesti G, Mocarelli P, Lucisano G, Sacco M, Signorini S, Cappellini F, Perriello G, Babini AC, Lapolla A, Gregori G, Giordano C, Corsi L, Buzzetti R, Clemente G, Di Cianni G, Iannarelli R, Cordera R, La Macchia O, Zamboni C, Scaranna C, Boemi M, Iovine C, Lauro D, Leotta S, Dall'Aglio E, Cannarsa E, Tonutti L, Pugliese G, Bossi AC, Anichini R, Dotta F, Di Benedetto A, Citro G, Antenucci D, Ricci L, Giorgino F, Santini C, Gnasso A, De Cosmo S, Zavaroni D, Vedovato M, Consoli A, Calabrese M, di Bartolo P, Fornengo P, Riccardi G; Thiazolidinediones Or Sulfonylureas Cardiovascular Accidents Intervention Trial (TOSCA.IT) study group; Italian Diabetes Society. Effects on the incidence of cardiovascular events of the addition of pioglitazone versus sulfonylureas in patients with type 2 diabetes inadequately controlled with metformin (TOSCA.IT): a randomised, multicentre trial. *Lancet Diabetes Endocrinol*. 2017 Nov;5(11):887-897.

Vakkilainen J, Steiner G, Ansquer JC, Aubin F, Rattier S, Foucher C, Hamsten A, Taskinen MR; DAIS Group. Relationships between low-density lipoprotein particle size, plasma lipoproteins, and progression of coronary artery disease: the Diabetes Atherosclerosis Intervention Study (DAIS). *Circulation*. 2003 Apr 8;107(13):1733-7.

Vergès B. Abnormal hepatic apolipoprotein B metabolism in type 2 diabetes. *Atherosclerosis*. 2010 Aug;211(2):353-60.

Verges B. Pathophysiology of diabetic dyslipidaemia: where are we? *Diabetologia*. 2015;58:886–899.

Virmani R, Burke AP, Kolodgie F. Morphological characteristics of coronary atherosclerosis in diabetes mellitus. *Can J Cardiol*. 2006 Feb;22 Suppl B:81B-84B.

Wang L, Gill R, Pedersen TL, Higgins LJ, Newman JW, Rutledge JC. Triglyceride-rich lipoprotein lipolysis releases neutral and oxidized FFAs that induce endothelial cell inflammation. *J Lipid Res*. 2009 Feb;50(2):204-13.

Watts GF, Chan DC, Dent R, Somaratne R, Wasserman SM, Scott R, Burrows S, Barrett PHR. Factorial effects of evolocumab and atorvastatin on lipoprotein metabolism. *Circulation*. 2017;135:338–351.

Watts GF, Chan DC, Somaratne R, Wasserman SM, Scott R, Marcovina SM, Barrett PHR. Controlled study of the effect of proprotein convertase subtilisin-kexin type 9 inhibition with evolocumab on lipoprotein(a) particle kinetics. *Eur Heart J*. 2018 Jul 14;39(27):2577-2585.

Wyer von Ballmoos MC, Haring B, Sacks FM. The risk of cardiovascular events with increased apolipoprotein CIII: A systematic review and meta-analysis. *J Clin Lipidol*. 2015 Jul-Aug;9(4):498-510.

Xiao C, Dash S, Morgantini C, Hegele RA, Lewis GF. Pharmacological Targeting of the Atherogenic Dyslipidemia Complex: The Next Frontier in CVD Prevention Beyond Lowering LDL Cholesterol. *Diabetes*. 2016 Jul;65(7):1767-78.

Yadav K, Sharma M, Ferdinand KC. Proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 (PCSK9) inhibitors: Present perspectives and future horizons. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*. 2016 Oct;26(10):853-62.

Yan SF, Ramasamy R, Naka Y, Schmidt AM. Glycation, inflammation, and RAGE: a scaffold for the macrovascular complications of diabetes and beyond. *Circ Res*. 2003 Dec 12;93(12):1159-69.