

MECCANISMI DI MALATTIA

INTERAZIONI TRA PCSK9 ED EMOSTASI

Interactions between PCSK9 and hemostasis

FRANCESCO PACIULLO, STEFANIA MOMI, PAOLO GRESELE*Dipartimento di Medicina, Sezione di Medicina Interna e Cardiovascolare, Università di Perugia***SUMMARY**

Genetic and epidemiological studies confirm the causal role of low-density lipoproteins (LDL) in the pathogenesis of atherosclerotic cardiovascular disease. Therefore, the reduction of plasma levels of cholesterol contained in this lipoprotein fraction (LDL cholesterol) represents a therapeutic goal of fundamental importance in primary and secondary cardiovascular prevention. A significant step forward in lipid-lowering treatment was the introduction in clinical use of the inhibitors of proprotein convertase subtilisin/kexin 9 (PCSK9), the enzyme that promotes the intracellular degradation of the hepatic receptor for LDL (LDLR). Recent studies suggest that PCSK9 inhibitors, in addition to having a significant cholesterol-lowering action, are also able to exert anti-thrombotic effects. These effects seem, at least in part, to be due to the ability of PCSK9 to interact with some important mechanisms of hemostasis. The addition of recombinant PCSK9 to human platelets *in vitro* produced an enhancement of platelet reactivity to stimuli. In mice, the PCSK9 gene deletion produced a protective effect against venous and arterial thrombosis. A direct correlation was observed between plasma PCSK9 levels and platelet reactivity in patients with acute coronary syndromes, and between plasma levels of PCSK9 and urinary 11-dehydro-thromboxane B2, an *in vivo* platelet activation marker in patients with atrial fibrillation. Finally, intervention studies suggest a possible protective action of PCSK9 inhibitors against venous thromboembolic events.

This review aims to discuss the interactions between PCSK9 and the hemostatic system and to examine the current evidence on the potential anti-thrombotic effects of PCSK9 inhibition.

Keywords: *PCSK9 inhibitors, antithrombotic effects, platelets, atherosclerosis.*

PCSK9, metabolismo lipidico e rischio cardiovascolare

PCSK9 svolge un ruolo determinante nella regolazione del metabolismo lipoproteico (1, 2) principalmente modulan-

do l'espressione del recettore delle LDL (*low-density lipoprotein receptor, LDLR*) sulla superficie epatocitaria. In particolare, PCSK9 blocca LDLR nel complesso lisosomiale all'interno dell'epatocita e ne promuove la successiva degradazione autofagolisomica, impedendo così il riciclo di LDLR alla superficie dell'epatocita stesso (1, 2). Questa attività di PCSK9 determina una ridotta disponibilità di LDLR sulla superficie epatocitaria generando così una ridotta rimozione delle LDL dal circolo con conseguente incremento dei

Indirizzo per la corrispondenza

Paolo Gresele, MD, PhD
Division of Internal and Cardiovascular Medicine
Department of Medicine and Surgery
University of Perugia
Strada Vicinale Via delle Corse, 06126 Perugia
E-mail: paolo.gresele@unipg.it

livelli plasmatici di colesterolo LDL (1,2). PCSK9 però non regola solo LDLR, ma è anche capace di modulare l'espressione di altri recettori che condividono analogie strutturali con LDLR, tra i quali *very low-density lipoprotein receptor* (VLDLR), CD36, e *LDL-related protein 1* (LRP-1) (3). La capacità di PCSK9 di ridurre l'espressione cellulare di questi recettori sembra essere determinante nella regolazione della clearance delle lipoproteine ricche in trigliceridi (3).

Alla luce di queste conoscenze, nell'ultimo decennio la ricerca lipidologica si è concentrata sullo sviluppo di molecole in grado di ridurre la colesterolemia LDL attraverso l'inibizione di PCSK9, arrivando allo sviluppo e all'approvazione per l'uso clinico degli anticorpi monoclonali inibitori di PCSK9 (4, 5). I risultati di studi clinici di fase III hanno infatti confermato l'efficacia e la sicurezza di due anticorpi monoclonali anti-PCSK9, evolocumab ed alirocumab. Tali farmaci hanno successivamente ricevuto l'approvazione da parte di Food and Drug Administration (FDA) ed European Medicines Agency (EMA) come farmaci per il trattamento dell'ipercolesterolemia e per la prevenzione cardiovascolare nelle forme gravi di ipercolesterolemia primitiva e nei pazienti con malattia vascolare aterosclerotica sintomatica che non riescono a raggiungere i livelli raccomandati di colesterolo LDL nonostante l'uso di terapia ipocolesterolemizzante convenzionale (6, 7).

Una meta-analisi di numerosi studi osservazionali ha mostrato un'associazione diretta significativa, ancorchè modesta, tra i livelli plasmatici di PCSK9 e il rischio di eventi cardiovascolari futuri. Nello specifico, alti livelli di PCSK9 sono risultati essere associati ad un rischio del 23% più elevato di eventi cardiovascolari futuri rispetto a bassi livelli di PCSK9 (8). Il ruolo cruciale che ha PCSK9 nel regolare le

concentrazioni plasmatiche di colesterolo LDL è considerato il meccanismo principale che spiega l'associazione tra PCSK9 e rischio cardiovascolare. Tuttavia, negli ultimi anni sono emerse numerose osservazioni precliniche e cliniche che suggeriscono che i meccanismi attraverso cui PCSK9 interviene nella patogenesi del danno vascolare aterosclerotico possano coinvolgere anche mediatori diversi dai lipidi (9).

Una di queste può essere ritrovata in una recente meta-analisi di trials clinici randomizzati controllati che ha dimostrato che la riduzione del rischio di eventi cardiovascolari maggiori prodotta dal trattamento con inibitori di PCSK9 è più elevata rispetto a quella ottenuta con le statine a parità di riduzione del colesterolo LDL (OR 0,49 [IC 95%, 0,34-0,71] vs 0,61 [IC 95%, 0,58-0,65]) (10). Ciò ha fatto ipotizzare che gli inibitori di PCSK9 potessero esercitare un effetto favorevole sul rischio cardiovascolare con ulteriori meccanismi oltre la loro azione ipolipemizzante. Tra i possibili meccanismi colesterolo-indipendenti in grado di spiegare gli effetti protettivi degli inibitori di PCSK9 sul sistema cardiovascolare vi è una loro possibile azione sul sistema emostatico.

PCSK9: un potenziale mediatore della trombosi arteriosa e venosa

La trombosi rappresenta l'evoluzione patologica di un meccanismo naturale di difesa, l'emostasi, teso a garantire l'integrità del sistema circolatorio (11, 12). L'emostasi ha inizio nella sede di un danno vascolare con la vasocostrizione, prosegue con l'adesione e l'aggregazione piastrinica, si amplifica con l'attivazione della cascata coagulativa ed infine arriva alla stabilizzazione del trombo attraverso la generazione di fibrina e al suo consolidamento.

Quando il processo emostatico si estende al di là delle necessità fisiologiche ed arriva ad occludere il vaso nel quale si è innescato si produce la trombosi. La trombosi può coinvolgere sia il distretto venoso che quello arterioso, seppur con meccanismi parzialmente diversi dovuti alle differenti caratteristiche strutturali ed emoreologiche dei due distretti. In particolare, mentre le piastrine svolgono un ruolo primario nelle manifestazioni trombotiche del distretto arterioso, la fase plasmatica della coagulazione è di importanza centrale nella trombosi venosa, anche se esistono significative sovrapposizioni tra i due fenomeni (11, 12).

Il ruolo pro-trombotico del colesterolo LDL nel distretto arterioso è stato storicamente attribuito alla sua capacità di infiltrarsi nella parete arteriosa e di indurre disfunzione e danno endoteliale, promuovendo l'accumulo di cellule infiammatorie e la formazione e progressione della placca aterosclerotica (13). Tuttavia studi recenti suggeriscono che la capacità dei lipidi circolanti di indurre disfunzione e danno endoteliale può svolgere un ruolo pro-trombotico anche nel distretto venoso (12, 14). Inoltre, si è visto che alcune frazioni lipidiche plasmatiche sono capaci di interagire in maniera diretta con alcuni recettori delle piastrine influenzando la reattività di queste ultime (*Tabella 1*). In particolare, due recettori espressi sulle piastrine, CD36 e lectin-like oxidized LDL receptor-1 (LOX-1), sono in grado di legare i lipidi ossidati (15, 16), ed in particolare le LDL ossidate (ox-LDL), innescando una serie di reazioni a cascata che attivano il recettore piastrinico glicoproteina (GP) IIb/IIIa portando alla aggregazione piastrinica (*Figura 1*). Questa capacità delle ox-LDL contribuisce a spiegare come la rottura di placca, con la conseguente esposizione del suo nucleo lipidico ricco

Tabella 1 - Effetto di alcuni lipidi nella regolazione della funzione piastrinica.

Componente lipidica	Effetti sulla funzione piastrinica	Recettore piastrinico
Ox-LDL	Attivazione	CD-36; LOX-1
Fosfolipidi ossidati	Attivazione	TLR-2
Lp(a)	Attivazione	?
HDL	Inibizione	ApoER2; SRBI

di ox-LDL, scateni una violenta reazione di attivazione piastrinica e la trombosi. Anche la lipoproteina(a) [Lp(a)], una lipoproteina fortemente aterogena dal ruolo ancora in parte sconosciuto, può esercitare effetti pro-trombotici promuovendo l'attivazione piastrinica attraverso meccanismi ancora largamente sconosciuti ed inibendo il plasminogeno, quindi con un effetto anti-fibrinolitico (17). I meccanismi attraverso cui la Lp(a) facilita l'attivazione piastrinica si ipotizza possano essere sia diretti, anche se non è ancora stato identificato uno specifico recettore per la Lp(a) sulla superficie piastrinica, sia indiretti attraverso il legame dei fosfolipidi ossidati in essa contenuti al recettore piastrinico TLR-2 (18). A contrastare i meccanismi sopra descritti di facilitazione dell'attivazione piastrinica entrano in gioco le *high-density lipoproteins* (HDL) che, da un lato, inibiscono direttamente l'attivazione piastrinica legandosi ai recettori piastrinici ApoER2 e scavenger receptor class B type 1 (SRB1) e, dall'altro, promuovono l'efflusso di colesterolo dalla membrana piastrinica (19).

Recenti studi in modelli animali e nell'uomo suggeriscono che PCSK9 potrebbe stimolare l'emostasi primaria e secondaria facilitando così la trombosi arteriosa e venosa sia indirettamente, attraverso i suoi effetti sul metabolismo lipoproteico (aumento dei livelli circolanti di LDL ed Lp(a) e riduzione dei livelli circolanti di HDL),

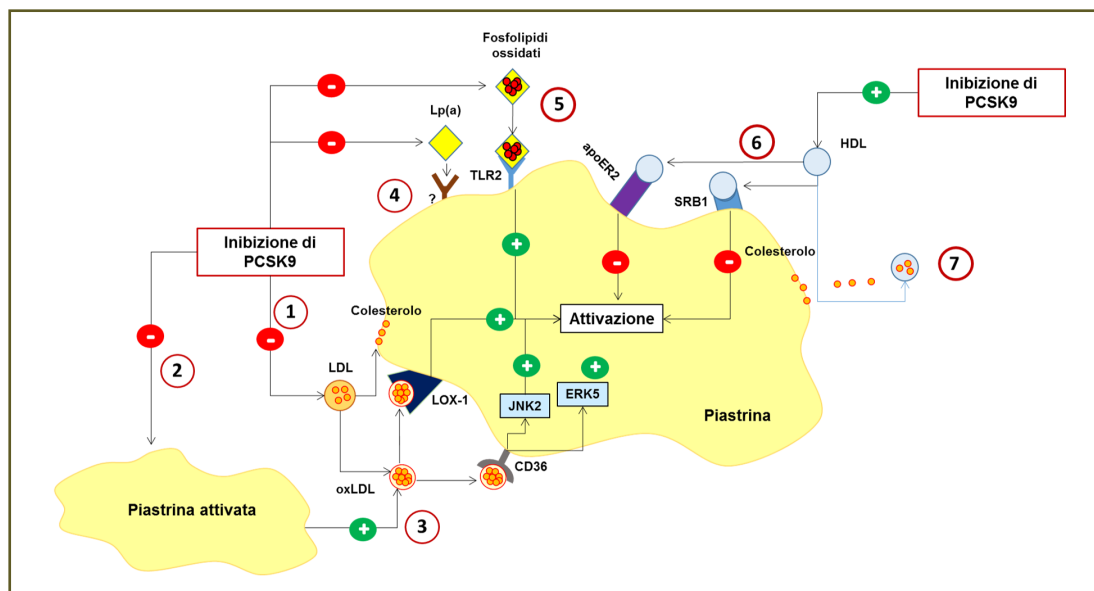


Figura 1 - Possibili effetti dell'inibizione di PCSK9 sull'attivazione piastrinica (1). L'inibizione di PCSK9, attraverso la sua azione ipocolesterolemizzante, può determinare una riduzione del contenuto di colesterolo delle membrane piastriniche, limitando di conseguenza la reattività piastrinica (2). L'inibizione di PCSK9 può prevenire la capacità delle piastrine attivate di ossidare le LDL limitando così l'effetto stimolante delle ox-LDL sui recettori CD36 e LOX-1 delle piastrine (3). L'inibizione di PCSK9 riduce i livelli circolanti di Lp(a), il principale trasportatore di fosfolipidi ossidati, in questo modo attenuando la capacità di Lp(a) di facilitare l'attivazione piastrinica direttamente (4) o tramite il recettore dei fosfolipidi ossidati (TRL-2) (5). L'inibizione di PCSK9 aumenta i livelli circolanti di HDL che riducono l'attivazione piastrinica agendo sui recettori apoER2 e SRB1 (6) e facilita l'efflusso di colesterolo dalla membrana piastrinica riducendone la reattività (7).

sia direttamente influenzando la reattività piastrinica. Tali studi verranno dettagliatamente discussi nei prossimi paragrafi.

Studi in vitro e in modelli animali

La dimostrazione della rilevanza fisiopatologica di PCSK9 è stata ottenuta anche grazie ad osservazioni effettuate su topi resi geneticamente deficienti del gene di PCSK9, i quali mostrano una riduzione dei livelli plasmatici di colesterolo totale del 40% e di LDL circolanti dell'80% rispetto ai rispettivi topi esponenti normalmente PCSK9 (wild-type) ed un aumento dell'espressione di LDL-R negli epatociti (20-22). PCSK9 è prodotta principalmente, anche se non esclusivamente, a livello epa-

tico. In effetti, la delezione selettiva dell'espressione di PCSK9 a livello epatico determina una riduzione dei livelli circolanti di colesterolo del 27% rispetto ai topi di controllo, quindi inferiore a quella che si osserva nel modello animale "knock-out" (-42% di colesterolo totale), ad indicare che la secrezione extraepatica di PCSK9 svolge un ruolo nell'omeostasi del colesterolo (21).

In topi transgenici iperespressanti la proteina PCSK9 umana si osservano al contrario elevati livelli circolanti di colesterolo LDL associati ad una riduzione di LDL-R negli epatociti (23). Queste osservazioni ricalcano quanto osservato negli uomini con un aumento o una riduzione di PCSK9 geneticamente determinate e sug-

geriscono quindi che il modello murino è in grado di rispecchiare fedelmente i meccanismi fisiopatologici regolati da PCSK9. Nel modello murino sono state effettuate alcune interessanti osservazioni sulle interazioni tra PCSK9 e sistema emostatico. In un recente studio volto a valutare gli effetti di PCSK9 nella sepsi, si è visto che i topi iperesprimenti questa proteina sono caratterizzati da ipercoagulabilità, con un aumento del complesso trombina-antitrombina (TAT) e una riduzione della proteina C nel plasma, suggerendo un ruolo di PCSK9 nell'attivazione della coagulazione (24). In accordo con questa osservazione, un successivo studio condotto in topi PCSK9^{-/-} sottoposti a legatura parziale della vena cava inferiore ha mostrato che gli animali deficienti in PCSK9 sviluppano trombi significativamente più piccoli rispetto ai topi *wild type* (25). Nello stesso modello la P-selettina solubile circolante, un marcatore di attivazione piastrinica ed endoteliale (26, 27), aumentava significativamente nel topo *wild type* in seguito alla legatura della vena cava inferiore mentre nei topi PCSK9^{-/-} non si modificava (25), suggerendo che PCSK9 possa influenzare anche l'attivazione piastrinica. In effetti si è visto che i topi PCSK9^{-/-} sono protetti dalla trombosi arteriosa in un modello di danno dell'arteria carotide, un modello in cui la trombosi che si sviluppa è fortemente dipendente dalle piastrine. In questi topi si osservano trombi instabili e non occludenti il lume vascolare oltre ad una ridotta attivazione delle piastrine dimostrata da bassi livelli di espressione di GPIIb/IIIa attivata, P-selettina piastrinica e aggregati piastrine/leucociti (28). Recentemente è stata dimostrata la presenza di PCSK9 nei megacariociti, i precursori midollari delle piastrine (29), e in una frazione delle piastrine circolanti di soggetti sani. Questa frazione è significativamente

più alta nei pazienti con diabete mellito di tipo 2 e ancora maggiore nei diabetici con angina instabile, osservazioni che suggeriscono che l'espressione della proteina nelle piastrine sia regolata dalle condizioni infiammatorie. In questi ultimi pazienti si osserva una iperreattività delle piastrine, dimostrata dall'aumentata espressione di P-selettina, GPIIb/IIIa attivata e fattore tissutale (FT), che correla con l'aumentata espressione piastrinica di PCSK9, un ulteriore indizio che PCSK9 possa stimolare la reattività delle piastrine, in particolare in condizioni patologiche. In un lavoro successivo in pazienti con fibrillazione atriale è stato osservato che l'attivazione piastrinica *in vivo* ed *ex vivo* (valutata misurando aggregazione piastrinica, reclutamento piastrinico, formazione di trombosano B2 e livelli solubili di P-selettina) è significativamente maggiore in quei soggetti che presentano più elevate concentrazioni plasmatiche di PCSK9 (30). Inoltre l'incubazione con PCSK9 delle piastrine dei soggetti arruolati nello studio ne aumentava la reattività agli stimoli, un effetto bloccato dall'inibizione dei recettori CD36 e NOX2, suggerendo che PCSK9 attiva le piastrine interagendo con uno dei due recettori menzionati (30). È in effetti recentissima l'osservazione che PCSK9 è in grado di legarsi direttamente a CD36 piastrinico e, così facendo, di attivare le piastrine attraverso un meccanismo che coinvolge Src, ERK5 e JNK, vie di segnalazione a valle di CD36, cui fa seguito la generazione di TXA₂ mediata da p38MAPK e la conseguente attivazione di α IIB β 3 (31). Nello stesso lavoro si dimostra in un modello murino che l'attivazione di CD36 piastrinico da parte di PCSK9 ha un effetto trombotico favorendo l'infarto del miocardio (31).

LDL-R e LRP1 sono anche implicati nella regolazione dei livelli circolanti del FVIII della coagulazione (FVIII-c) contri-

buendo alla sua rimozione dal circolo. Il Fattore VIII è composto da una catena pesante e da una catena leggera, quest'ultima contenente il sito di legame per LRP1, sito normalmente coperto dal fattore di von Willebrand (VWF) (32). Pertanto, il FVIII circolante non legato al VWF, che rappresenta circa il 5% del totale, viene rapidamente riconosciuto da LRP1 epatico, rimosso dal circolo e successivamente degradato (33). La trombosi venosa è fortemente influenzata dai livelli di FVIII-c (34, 35) e la riduzione della trombosi indotta da legatura della vena cava osservata nel topo PCSK9^{-/-} potrebbe essere in parte dovuta da una riduzione dei livelli circolanti del fattore FVIII.

In effetti, nostre osservazioni preliminari dimostrano che alirocumab, uno degli anticorpi monoclonali anti PCSK9 utilizzati nell'uso clinico, riduce i livelli circolanti di FVIII aumentando simultaneamente l'espressione di LRP1 (36). Dal momento che elevati livelli di FVIII-c rappresentano un fattore di rischio cardiovascolare (37), si può ipotizzare che gli inibitori di PCSK9 esercitino un'attività protettiva contro gli eventi cardiovascolari non solo legata all'abbassamento del colesterolo, ma anche alla riduzione del FVIII-c (36, 38, 39).

Studi clinici

Numerosi studi clinici suggeriscono che PCSK9 eserciti un ruolo determinante nella patogenesi della trombosi arteriosa e venosa e che l'inibizione farmacologica di PCSK9 possa svolgere un effetto anti-trombotico (*Tabella 2*).

A supportare il ruolo di PCSK9 come potenziale attivatore piastrinico nell'uomo vi sono i risultati di alcuni studi clinici osservazionali che hanno valutato l'associazione tra livelli plasmatici di PCSK9 e reattività piastrinica mettendoli in correlazione con il rischio cardiovascolare. Nello studio prospettico PCSK9-REACT condotto in pazienti con sindrome coronarica acuta sottoposti ad angioplastica e trattati con prasugrel o ticagrelor, è stata osservata una correlazione significativa tra i livelli circolanti di PCSK9 e la reattività piastrinica residua (40). Nello stesso studio inoltre elevati livelli circolanti di PCSK9 all'arruolamento erano in grado di predire l'incidenza di eventi cardiovascolari maggiori al follow-up (40). In un secondo studio prospettico condotto in pazienti con fibrillazione atriale in trattamento con antagonisti della vitamina K è stata osservata un'associazione diretta significativa tra i livelli plasmatici di PCSK9 e l'incidenza di eventi cardiovascolari maggiori (41). In questo studio i livelli plasmatici di PCSK9 correlavano con i livelli urinari di 11-deidro-trombossano B2, un marcatore di attivazione piastrinica a sua volta associato ad un incremento del rischio di eventi cardiovascolari (42). Questi risultati suggeriscono che la relazione tra PCSK9 e il rischio cardiovascolare possa essere mediata in parte dall'iperreattività piastrinica indotta da PCSK9.

Per ciò che concerne il tromboembolismo venoso, i dati più significativi a favore di un ruolo di PCSK9 derivano da

Tabella 2 - Meccanismi pro-trombotici ipotizzabili di PCSK9.

Tessuti/cellule target	Possibile meccanismo	Possibile effetto dell'inibizione di PCSK9
Megacariociti	<ul style="list-style-type: none"> - Modulazione CD36 e LOX-1 - Regolazione efflusso del colesterolo 	<ul style="list-style-type: none"> - Generazione di piastrine meno reattive
Piastrine	<ul style="list-style-type: none"> - Modulazione dell'attivazione ox-LDL-mediata 	<ul style="list-style-type: none"> - Inibizione dell'attivazione piastrinica
Coagulazione	<ul style="list-style-type: none"> - Modulazione dei livelli circolanti di Lp(a) 	<ul style="list-style-type: none"> - Riduzione dei livelli di Lp(a)

una recentissima sotto-analisi degli studi FOURIER (Further Cardiovascular Outcomes Research with PCSK9 Inhibition in Subjects with Elevated Risk) e ODYSSEY OUTCOMES (Evaluation of Cardiovascular Outcomes After an Acute Coronary Syndrome During Treatment with Alirocumab) (43), i due studi clinici randomizzati e controllati che hanno valutato l'efficacia rispettivamente di evolocumab ed alirocumab nel ridurre gli eventi cardiovascolari nei pazienti con ipercolesterolemia non controllata dalle statine. Da questa analisi cumulativa emerge che la terapia con anti-PCSK9 si associa ad una riduzione del 31%, altamente significativa, dell'incidenza di tromboembolismo venoso (trombosi venosa profonda e/o embolia polmonare). Una possibile spiegazione di questo effetto suggerita dagli autori potrebbe essere la capacità di tali farmaci di ridurre i livelli circolanti di Lp(a). Infatti, la maggior riduzione del rischio di tromboembolismo venoso è stata osservata nei pazienti che presentavano all'arruolamento livelli plasmatici di Lp(a) più elevati e nei quali si è pertanto ottenuta la maggiore riduzione di Lp(a) con il trattamento. L'effetto favorente il tromboembolismo venoso della Lp(a) è suggerito da numerosi studi sperimentali e clinici. Una recente meta-analisi (10 studi con un totale di 13.542 pazienti) ha confermato che elevati livelli di Lp(a) si associano ad un incremento significativo dell'incidenza di tromboembolismo venoso (Rapporto di

Probabilità [OR]: 1,56, IC 95%: 1,36-1,79) (44). Queste osservazioni sono particolarmente interessanti se si considera che attualmente gli inibitori di PCSK9 sono una delle pochissime strategie farmacologiche capaci di ridurre i livelli circolanti di Lp(a) (45). Tuttavia, oltre al possibile ruolo della riduzione di Lp(a) indotta dagli inibitori di PCSK9 nel dimostrato effetto di inibizione del tromboembolismo venoso, non va dimenticato l'effetto potenziale di questi farmaci sui livelli circolanti di FVIII.

Considerazioni conclusive e prospettive future

Numerose evidenze suggeriscono che PCSK9 possa svolgere un ruolo importante nella patogenesi delle complicazioni trombotiche sia venose che arteriose indipendente dai suoi effetti sul metabolismo lipidico attraverso meccanismi che modulano l'emostasi primaria e secondaria sia indirettamente, attraverso gli effetti sul metabolismo lipoproteico, sia direttamente influenzando la reattività piastrinica e i livelli circolanti di FVIII. Pertanto, l'inibizione farmacologica di PCSK9 potrebbe risultare utile anche come profilassi anti-trombotica. Sono tuttavia necessari ulteriori studi per chiarire il ruolo che gli inibitori di PCSK9 possono avere nella prevenzione e nel trattamento della malattia arteriosa ischemica e nel tromboembolismo venoso.

RIASSUNTO

Studi genetici ed epidemiologici confermano il ruolo causale delle lipoproteine a bassa densità (*low-density lipoproteins*, LDL) nella patogenesi delle malattie cardiovascolari su base aterosclerotica. Pertanto, la riduzione dei livelli plasmatici del colesterolo contenuto in questa frazione lipoproteica (colesterolo LDL) rappresenta un obiettivo terapeutico di importanza fondamentale nella prevenzione cardiovascolare primaria e secondaria. Un significativo passo in avanti nel trattamento ipolipemizzante è stato l'introduzione nell'uso clinico degli inibitori della proproteina convertasi subtilixina/kexina 9 (PCSK9), l'enzima che promuove la degradazione intracellulare del recettore epatico per le LDL (LDLR).

Studi recenti suggeriscono che gli inibitori di PCSK9, oltre ad avere una significativa azione ipocolesterolemizzante, sono in grado di esercitare anche effetti anti-trombotici. Tali effetti sembrano, almeno in parte, riconducibili alla capacità di PCSK9 di interagire con alcuni importanti meccanismi dell'emostasi. L'aggiunta di PCSK9 ricombinante a piastrine umane in vitro ha prodotto un potenziamento della reattività piastrinica agli stimoli. Nel topo la delezione genica di *PCSK9* ha prodotto un effetto protettivo contro la trombosi venosa e arteriosa. È stata osservata una correlazione diretta tra i livelli plasmatici di PCSK9 e la reattività piastrinica nei pazienti con sindrome coronarica acuta, e tra i livelli plasmatici di PCSK9 e quelli di 11-deidro-trombossano B2 urinario, un marcatore di attivazione piastrinica in vivo nei pazienti con fibrillazione atriale. Infine studi di intervento suggeriscono una possibile azione protettiva degli inibitori di PCSK9 nei confronti di eventi tromboembolici venosi.

Questa rassegna si propone di discutere le interazioni tra PCSK9 e sistema emostatico e di esaminare le attuali evidenze sui potenziali effetti anti-trombotici dell'inibizione di PCSK9.

Parole chiave: *PCSK9 inibitori, effetti antitrombotici, piastrine, aterosclerosi.*

Bibliografia

1. Lagace TA. PCSK9 and LDLR degradation: regulatory mechanisms in circulation and in cells. *Curr Opin Lipidol.* 2014; 25: 387-393.
2. Lin XL, Xiao LL, Tang ZH, et al. Role of PCSK9 in lipid metabolism and atherosclerosis. *Biomed Pharmacother.* 2018; 104: 36-44.
3. Norata GD, Tavori H, Pirillo A, et al. Biology of proprotein convertase subtilisin kexin 9: beyond low-density lipoprotein cholesterol lowering. *Cardiovasc Res.* 2016; 112: 429-442.
4. Abifadel M, Varret M, Rabès JP, et al. Mutations in PCSK9 cause autosomal dominant hypercholesterolemia. *Nat Genet.* 2003; 34: 154-156.
5. Kent ST, Rosenson RS, Avery CL, et al. PCSK9 loss-of-function variants, low-density lipoprotein cholesterol, and risk of coronary heart disease and stroke: data from 9 studies of blacks and whites. *Circ Cardiovasc Genet.* 2017; 10: e001632.
6. Sabatine MS, Giugliano RP, Keech AC, et al. FOURIER Steering Committee and Investigators. Evolocumab and clinical outcomes in patients with cardiovascular disease. *N Engl J Med.* 2017; 376: 1713-1722.
7. Navarese EP, Kolodziejczak M, Schulze V, et al. Effects of proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 antibodies in adults with hypercholesterolemia: a systematic review and meta-analysis. *Ann Intern Med.* 2015; 163: 40-51.
8. Vlachopoulos C, Terentes-Printzios D, Georgiopoulou G, et al. Prediction of cardiovascular events with levels of proprotein convertase subtilisin/kexin type 9: A systematic review and meta-analysis. *Atherosclerosis.* 2016; 252: 50-60.
9. Cesaro A, Bianconi V, Gagnano F, et al. Beyond cholesterol metabolism: The pleiotropic effects of proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 (PCSK9). Genetics, mutations, expression, and perspective for long-term inhibition. *Biofactors.* 2020; 46: 367-380.
10. Silverman MG, Ference BA, Im K, et al. Association Between Lowering LDL-C and Cardiovascular Risk Reduction Among Different Therapeutic Interventions: A Systematic Review and Meta-analysis. *JAMA.* 2016; 316: 1289-1297.
11. Santos-Gallego CG, Picatoste B, Badimón JJ. Pathophysiology of acute coronary syndrome. *Curr Atheroscler Rep.* 2014; 16: 401-409.
12. Gresele P, Momi S, Migliacci R. Endothelium, venous thromboembolism and ischaemic cardiovascular events. *Thromb Haemost.* 2010; 103: 56-61.
13. Griffin JH, Fernández JA, Deguchi H. Plasma lipoproteins, hemostasis and thrombosis. *Thromb Haemost.* 2001; 86: 386-394.
14. Morelli VM, Lijfering WM, Bos MHA, et al. Lipid levels and risk of venous thrombosis: results from the MEGA-study. *Eur J Epidemiol.* 2017; 32: 669-681.
15. Chen K, Febbraio M, Li W, Silverstein RL. A specific CD36-dependent signaling pathway is required for platelet activation by oxidized low-density lipoprotein. *Circ Res.* 2008; 102: 1512-1519.
16. Hofmann A, Brunssen C, Morawietz H. Contribution of lectin-like oxidized low-density lipoprotein receptor-1 and LOX-1 modulating compounds to vascular diseases. *Vascul Pharmacol.* 2017.
17. Riches K, Porter KE. Lipoprotein(a): cellular effects and molecular mechanisms. *Cholesterol.* 2012; 2012: 923289.
18. Biswas S, Xin L, Panigrahi S, et al. Novel phosphatidylethanolamine derivatives accumulate in circulation in hyperlipidemic ApoE^{-/-} mice and activate platelets via TLR2. *Blood.* 2016; 127: 2618-2629.
19. Calkin AC, Drew BG, Ono A, et al. Reconstituted high-density lipoprotein attenuates platelet func-

- tion in individuals with type 2 diabetes mellitus by promoting cholesterol efflux. *Circulation*. 2009; 120: 2095-2104.
20. Rashid S, Curtis DE, Garuti R, et al. Decreased plasma cholesterol and hypersensitivity to statins in mice lacking Pcsk9. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2005; 102: 5374-5379.
 21. Zaid A, Roubtsova A, Essalmani R, et al. Proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 (PCSK9): hepatocyte-specific low-density lipoprotein receptor degradation and critical role in mouse liver regeneration. *Hepatology*. 2008; 48: 646-654.
 22. Lagace TA, Curtis DE, Garuti R, et al. Secreted PCSK9 decreases the number of LDL receptors in hepatocytes and in livers of parabiotic mice. *J Clin Invest*. 2006; 116: 2995-3005.
 23. Machlus KR, Lin FC, Wolberg AS. Procoagulant activity induced by vascular injury determines contribution of elevated factor VIII to thrombosis and thrombus stability in mice. *Blood*. 2011; 118: 3960-3968.
 24. Dwivedi DJ, Grin PM, Khan M, et al. Differential expression of PCSK9 modulates infection, inflammation, and coagulation in a murine model of sepsis. *Shock*. 2016; 46: 672-680.
 25. Wang Q, Wang J, Guo C, Kleiman K, et al. Proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 (PCSK9) deficiency is protective against venous thrombosis in mice. *Sci Rep*. 2017; 7: 14360.
 26. Falcinelli E, Francisci D, Belfiori B, et al. In vivo platelet activation and platelet hyperreactivity in abacavir-treated HIV-infected patients. *Thromb Haemost*. 2013; 110: 349-357.
 27. Migliacci R, Becattini C, Pesavento R, et al. Endothelial dysfunction in patients with spontaneous venous thromboembolism. *Haematologica*. 2007; 92: 812-818.
 28. Camera, Rossetta L, Barbieri S, et al. PCSK9 as a Positive Modulator of Platelet Activation *J Am Coll Cardiol*. 2018; 71: 952-954.
 29. Rossetti L, Ferri N, Marchiano S, et al. PCSK9 beyond its role in cholesterol homeostasis: co-activator of platelet function. *Eur Heart J*. 2017; 38: 446-447.
 30. Cammisotto V, Pastori D, Nocella C, et al. PCSK9 Regulates Nox2-Mediated Platelet Activation via CD36 Receptor in Patients with Atrial Fibrillation. *Antioxidants (Basel)*. 2020; 9: 296.
 31. Qi Z, Hu L, Zhang J, et al. PCSK9 Enhances Platelet Activation, Thrombosis, and Myocardial Infarct Expansion by Binding to Platelet CD36. *Circulation*. 2020 Sep 29.
 32. Lenting PJ, Neels JG, van Den Berg BM, et al. The light chain of factor VIII comprises a binding site for low density lipoprotein receptor-related protein *J Biol Chem*. 1999; 274: 23734-23739.
 33. Saenko EL, Yakhyaev AV, Mikhailenko I, et al. Role of the low density lipoprotein-related protein receptor in mediation of factor VIII catabolism. *J Biol Chem*. 1999; 274: 37685-37692.
 34. Emmerechts J, Vanassche T, Loyen S, et al. Partial versus complete factor VIII inhibition in a mouse model of venous thrombosis. *Thromb Res*. 2012; 129: 514-519.
 35. Golder M, Mewburn J, Lillcrap D. In vitro and in vivo evaluation of the effect of elevated factor VIII on the thrombogenic process. *Thromb Haemost*. 2013; 109: 53-60.
 36. Paciullo F, Falcinelli E, Petito E, et al. Pleiotropic effects of PCSK9-inhibition on hemostasis: anti-PCSK9 inhibitors reduce FVIII levels by enhancing LRP1 expression. *Blood Transfus*. 2020; (Suppl.): XXVI SISET Congress - Abstract Book.
 37. Samuelson Bannow B, Recht M, Négrier C, et al. Factor VIII: Long-established role in haemophilia A and emerging evidence beyond haemostasis. *Blood Rev*. 2019; 35: 43-50.
 38. Paciullo F, Gresele P. Effect of statins on measures of coagulation: potential role of low-density lipoprotein receptors. *Eur Heart J*. 2019; 40: 392.
 39. Paciullo F, Falcinelli E, Petito E, et al. Pleiotropic Effects of PCSK9-inhibition on Hemostasis: Anti-PCSK9 Reduce FVIII Levels by Enhancing LRP1 Expression. *ISTH 2020 Congress*. ABSTRACT NUMBER: PB0346.
 40. Navarese EP, Kolodziejczak M, Winter MP, et al. Association of PCSK9 with platelet reactivity in patients with acute coronary syndrome treated with prasugrel or ticagrelor: the PCSK9- REACT study. *Int J Cardiol*. 2017; 227: 644-649.
 41. Pastori D, Nocella C, Farcomeni A, et al. ATHERO-AF Study Group. Relationship of PCSK9 and Urinary Thromboxane Excretion to Cardiovascular Events in Patients with Atrial Fibrillation. *J Am Coll Cardiol*. 2017; 70: 1455-1462.
 42. Pastori D, Pignatelli P, Farcomeni A, et al. Urinary 11-dehydro-thromboxane B2 is associated with cardiovascular events and mortality in patients with atrial fibrillation. *Am Heart J*. 2015; 170: 490-497.
 43. Marston NA, Gurmu Y, Melloni GEM, et al. The Effect of PCSK9 (Proprotein Convertase Subtilisin/Kexin Type 9) Inhibition on the Risk of Venous Thromboembolism. *Circulation*. 2020; 141: 1600-1607.
 44. Dentali F, Gessi V, Marcucci R, et al. Lipoprotein(a) as a Risk Factor for Venous Thromboembolism: A Systematic Review and Meta-analysis of the Literature. *Semin Thromb Hemost*. 2017; 43: 614-620.
 45. O'Donoghue ML, Fazio S, Giugliano RP, et al. Lipoprotein(a), PCSK9 Inhibition, and Cardiovascular Risk. *Circulation*. 2019; 139: 1483-1492.