Oligonucleotídeos antisense para hipercolesterolemia e hipertrigliceridemia

Marcio Hiroshi Miname[1]

Rev Soc Cardiol Estado de São Paulo. 2014;24(4):30-34
RSCESP (72594)-2148

A hipercolesterolemia representa um dos principais fatores de risco para doença cardiovascular. Atualmente, as estatinas constituem a principal terapia farmacológica para seu tratamento. Contudo, existe um nicho de pacientes que motivaram a busca por novas terapias hipolipemiantes: os intolerantes a estatinas e os pacientes com dislipidemias genéticas graves, sendo esse último grupo representado principalmente pela hipercolesterolemia familiar. Os oligonucleotídeos antisense são pequenas sequências de ácido nucleico de fita única que se ligam via hibridização de Watson-Crick no seu RNA complementar, levando à inibição da síntese da proteína que seria codificada por essa região do RNA. Atualmente, essa tecnologia está sendo utilizada para tratamento de diferentes doenças, inclusive das dislipidemias. A inibição da síntese da apolipoproteína B com uso de oligonucleotídeo antisense (mipomersen) é uma realidade hoje em dia. Seu efeito se traduz na redução significativa do LDL-colesterol. O mipomersen faz parte do arsenal terapêutico aprovado pelo FDA para tratamento da hipercolesterolemia familiar homozigótica. Outras regiões proteicas das lipoproteínas, como apolipoproteína CIII e apolipoproteína(a), também são alvos de oligonucleotídeos antisense e podem representar novas medicações no combate a doença cardiovascular.

Descritores: hipercolesterolemia, hipolipemiantes, LDL-colesterol, tratamento.

Antisense oligonucleotide for hypercholesterolemia and hypertriglyceridemia

Hypercholesterolemia is a major risk factor for cardiovascular disease. Currently statins are the main pharmacological therapy for its treatment. However, there is a subgroup of patients who motivated the search for new lipid-lowering therapies: intolerant to statins and patients with severe genetic dyslipidemias, this last group represented primarily by familial hypercholesterolemia. Antisense oligonucleotides are short sequences of single-stranded nucleic acids which bind via Watson-Crick hybridization to its complementary RNA, leading to protein synthesis inhibition that would be encoded by this region of RNA. Currently this technology is used to treat various diseases including dyslipidemias. The inhibition of synthesis of apolipoprotein B with use of antisense oligonucleotide (mipomersen) is a reality today. Its effect is reflected in significant reduction of LDL-cholesterol. The mipomersen is a medication approved by FDA for treatment of homozygous familial hypercholesterolemia. Other protein regions of lipoproteins such as apolipoprotein CIII and apolipoprotein(a) are also targets of antisense oligonucleotides and may represent new medications to reduce cardiovascular disease.

Descriptors: cholesterol, hypercholesterolemia, hypolipidemic agents, LDL, treatment.

[1] Instituto do Coração da Faculdade de Medicina da USP, São Paulo, SP, Brasil.
Endereço para correspondência:
Marcio Hiroshi Miname. Instituto do Coração do HCFMUSP. Av. Dr. Enéas de Carvalho Aguiar, nº 44, bloco 2, sala 4,. São Paulo - SP. Brasil. CEP: 05403-000.
E-mail: marcio.miname@incor.usp.br

O LDL-colesterol é um elemento muito importante no processo de aterogênese. A sua redução reflete em redução de eventos coronários. Atualmente, a principal terapêutica farmacológica para hipercolesterolemia constitui a classe das estatinas. De fato, a meta-análise do CTT já demostrava que para cada 38 mg/dL de redução do LDL-colesterol ocorreu redução de 10% na mortalidade total e 20% na redução de morte coronária[1]. Existem diferentes estatinas disponíveis no mercado, com diferentes potências[2], sendo de forma geral bem toleradas e com baixo risco de efeitos colaterais mais graves, como rabdomiólise ou elevação importante de enzimas hepáticas[1]. A grande maioria dos pacientes podem ser tratados com estatinas com resposta satisfatória e boa tolerabilidade. Contudo, existe um nicho de pacientes que motivaram a busca por novas terapias hipolipemiantes: os intolerantes a estatinas e os pacientes com dislipidemias genéticas graves, sendo esse último grupo representado principalmente pela hipercolesterolemia familiar (HF). A HF é uma doença genética com herança autossômica dominante, caracterizada por níveis muito elevados de LDL-colesterol e doença coronária precoce[3]. A sua forma heterozigótica apresenta prevalência em torno de 1:500 na população geral e o nível de LDL-colesterol fica ao redor de 200 a 400 mg/dL. A forma homozigótica é mais rara, sendo caracterizada por LDL-colesterol acima de 500 mg/dL e desenvolvimento de xantomas cutâneos já na infância[3]. A HF homozigótica apresenta evolução com doença coronária extremamente precoce se não tratada precocemente. Uma das classificações da mutação refere-se ao grau da atividade do receptor de LDL-c, sendo dividido em receptor-defeituoso (grau de atividade do receptor de 2-25%) e receptor-nulo (grau de atividade do receptor < 2%).

O tratamento dos pacientes intolerantes a estatinas, principalmente por miopatia ou dor muscular, é um desafio na prática clínica, cuja estratégia vai desde trocas de estatinas, redução de dose ou uso de outros hipolipemiantes, como inibidor de absorção intestinal (ezetimibe). A miopatia por estatina pode ocorrer sem ou com elevação da enzima muscular creatinofosfoquinase, sendo a expressão mais grave o desenvolvimento de rabdomiólise, que, felizmente, trata-se de quadro muito raro. O tratamento da população com HF é baseado em uso de estatina potente em dose máxima, porém, muitas vezes, é necessária a combinação de medicação como ezetimibe e ácido nicotínico, pois alguns pacientes partem de níveis muito elevados de LDL-colesterol, como os heterozigotos graves ou os homozigotos.

Atualmente, existem três classes de medicações que configuram os novos hipolipemiantes: mipomersen (oligonucleotídeo antisense), inibidor da MTP (proteína microssomal transferidora de triglicérides) e o inibidor do PCSK9[4]. Os dois primeiros foram aprovados pelo FDA para tratamento da HF homozigótica. No presente artigo, abordaremos aspectos relacionados aos oligonucleotídeos antisense no tratamento das dislipidemias.

Oligonucleotídeos antisense

Os oligonucleotídeos antisense são pequenas sequências de ácido nucleico de fita única que se ligam via hibridização de Watson-Crick no seu RNA complementar, levando a dois possíveis caminhos: a ocupação e consequente interrupção na translação ou a uma desestabilização, que é reconhecida e degradada pela ribonuclease[5]. Em ambos os casos, ocorre a inibição da proteína que seria codificada por essa região do RNA mensageiro. Atualmente, essa tecnologia está sendo utilizada para tratamento de diferentes doenças, inclusive das dislipidemias.

Apolipoproteína B e mipomersen

A apolipoproteína B é a parte proteica das lipoproteínas consideradas aterogênicas: VLDL, IDL e LDL. Existem duas formas de apolipoproteína B: apo B-49, que é sintetizada nos enterócitos e está presente nos quilomicrons, e apoB-100, que é sintetizada nos hepatócitos e está presente na VLDL e, consequentemente, na IDL e LDL. O estudo AMORIS verificou o papel das apolipoproteínas B e AI e níveis de LDL-c e HDL-c na predição de morte por infarto do miocárdio[6]. O estudo mostrou que, na análise multivariada, apo B foi mais forte preditor de evento do que LDL-c em ambos os sexos[6]. No entanto, o estudo *Emerging Risk Factors Collaboration* mostrou que a reclassificação de risco fornecida pela adição de apo B e apo AI é mínima (1,1%)[7]. Algumas diretrizes, como a diretriz Canadense[8] e a europeia[9] de dislipidemias, colocam de forma opcional a meta de apo B como alvo de tratamento.

A mutação na apo B que leva à redução na sua síntese, como na hipobetalipoproteinemia, também acarreta redução nos níveis de LDL-c. Dessa forma, a inibição na síntese de apoB poderia ser um alvo terapêutico para redução do LDL-c. O mipomersen é um oligonucleotídeo antisense de segunda geração que se liga ao RNA mensageiro que codifica a apoB 100, dessa forma, reduzindo sua produção. A aplicação dessa medicação é por injeção subcutânea administrada uma vez por semana. Após a aplicação, o mipomersen é rapidamente absorvido e distribuído aos tecidos. Os estudos pré-clínicos mostram maior concentração da droga nos rins e fígado[4].

O primeiro estudo do mipomersen em humanos incluiu 36 voluntários de 18 a 65 anos com colesterol total abaixo de 300 mg/dL[10]. Foi um estudo duplo cego, placebo-controlado, com randomização de 4:1 para droga:placebo. O efeito colateral mais comum foi eritema no local de aplicação. A apo B foi reduzida em um máximo de 50% (p = 0,002) na coorte que recebeu 200 mg da medicação[10]. O LDL-c foi reduzido a um máximo de 35% (p = 0,001). Os níveis de apo B e LDL-c permaneceram abaixo do nível basal em até 3 meses após a última aplicação.

Posteriormente, foram realizados três estudos fase 2 em pacientes com hipercolesterolemia leve a moderada, duplo-cego, placebo controlado, os quais demostraram eficácia do mipomersen na redução de LDL-colesterol e apolipoproteína

B, sendo a maior redução observada nos grupos que receberam doses mais elevadas[11-13]. O efeito colateral mais comum foi reação local no sítio de injeção da medicação.

O mipomersen foi testado em pacientes portadores de hipercolesterolemia familiar homozigótica em um estudo duplo-cego, placebo-controlado que incluiu indivíduos de ambos os sexos com mais de 12 anos de idade[14]. A dose utilizada foi de 200 mg por semana. Trinta e quatro pacientes foram alocados para o grupo mipomersen e 17 para o placebo. Contudo, 45 pacientes concluíram as 26 semanas de tratamento (28 mipomersen e 17 placebo). As causas para abandono no grupo mipomersen foram: reação no sítio de injeção (n = 2), *rash* cutâneo (n = 1), aumento de enzima hepática (n = 1), não aderência (n = 1) e retirada de consentimento (n = 1). A média do LDL-colesterol no *baseline* foi de 433 mg/dL no grupo mipomersen de 395 mg/dL no grupo placebo. A redução de LDL-c foi significativamente maior no grupo mipomersen comparado ao placebo (-24,7% *versus* -3,3%, $p = 0,0003$)[14]. A apo B foi reduzida em 27%, a lipoproteína (a) em 32%, o triglicérides em 17,4% e o VLDL-c em 17,4% (todos com $p < 0,05$, comparado com *baseline*). Outro dado interessante foi que a resposta individual ao mipomersen variou bastante, independentemente do nível basal de LDL-c, idade, raça e sexo. Não foi possível uma análise de genotipagem sobre a influência na redução do LDL-c, pois não havia poder para tanto. O principal efeito colateral foi reação local no sítio de injeção: 26 (76%) no grupo mipomersen *versus* 4 (24%) no grupo placebo. Quatro pacientes (12%) apresentaram elevação de enzima hepática TGP três vezes acima o limite superior da normalidade *versus* nenhum no grupo placebo. Não houve casos de lesão hepática induzida por droga segundo a lei de Hy.

Após esse estudo em HF homozigótico, foram publicados mais 3 estudos estudos fase 3[15-17], que mostram uma redução de LDL-colesterol, que variou de -28% a -36%; apoB, de -26% a -36%; colesterol não HDL, de -25% a -34% e lipoproteína (a); de -21% a -33%.

O comportamento do mipomersen a longo prazo foi avaliado em um estudo de extensão após completado o estudo índice fase 3[18]. Nesse estudo aberto, foram incluídos 141 pacientes portadores de HF, sendo o tempo de exposição médio à medicação de 18,8 meses (mediana de 18,2 meses)[18]. A redução do LDL-colesterol (-28%) e apo B (-31%) foi mantida estável ao final da semana 104. A maior parte dos efeitos colaterais foram relacionados à reação local no sítio de injeção (98% dos pacientes tiveram pelo menos um episódio) e aos sintomas semelhantes a quadro gripal (65% dos pacientes tiveram pelo menos um episódio). Os sintomas gripais do mipomersen podem ser secundários a uma ativação pro-inflamatória após sua administração, apesar de não ser detectada elevação de PCR significativa. Dos 141 pacientes, 77 (55%) interromperam tratamento em até 2 anos, sendo 61 (43%) por evento adverso do tratamento e 16 (11%) por outra razão, como início de LDL-aférese ou desistência do investigador ou paciente. Em relação a dados de segurança hepática, houve elevação de enzimas hepáticas e aumento do teor de gordura hepática inicialmente; porém, houve tendência a retornar ao *baseline* durante o seguimento[18]. A elevação de enzima hepática com mipomersen é reduzida com suspensão da medicação. Ainda é desconhecido o efeito a longo prazo da esteatose hepática induzida por essa medicação.

O mipomersen foi aprovado para tratamento da dislipidemia em pacientes portadores de HF homozigótico, bastando o diagnóstico clínico. Dessa forma, torna-se uma ferramenta a mais para agregar no tratamento da HF homozigótica, apesar do custo elevado e dos efeitos colaterais relacionados principalmente à reação local no sítio de injeção e ao quadro gripal.

PCSK9

O PCSK9 (proproteína convertase subtilisina/kexina-9) é uma proteína expressa predominantemente no fígado, rins e intestino. A sua elevação leva a maior degradação dos receptores de LDL-colesterol. A mutação no gene do PCSK9, que leva a seu ganho de função, resulta em quadro de hipercolesterolemia familiar e consequente aumento na incidência de doença coronária[19]. Por outro lado, mutações que causam sua perda de função, levam à redução do LDL-colesterol e na incidência de doença coronária[20]. Atualmente, o PCSK9 é um alvo terapêutico no tratamento da hipercolesterolemia. Uma das medicações é baseada na produção de anticorpos contra o PCSK9, levando a uma redução em seus níveis e no LDL-colesterol, mesmo em pacientes com uso de estatina dose elevada[21].

Outra forma de reduzir os níveis de PCSK9 foi com uso de oligonucleotídeos antisense contra o PCSK9. Estudo feito em ratos alimentados com dieta aterogênica mostrou redução de 43% no LDL-c na dose utilizada de 20 mg/Kg/injeção[22]. Outro estudo realizado em primatas não humanos demonstrou redução de 50% no LDL-c com uso de oligonucleotídeo antisense com PCSK9 como alvo terapêutico[23].

Apolipoproteína CIII

A apolipoproteína CIII é sintetizada principalmente no fígado. Na circulação está presente nas partículas ricas em triglicérides, como quilomicrons e VLDL. A apolipoproteína CIII tem um papel importante na homeostasia do triglicérides: inibe a lípase lipoproteica e a lípase hepática, além de facilitar a produção e secreção da VLDL no fígado. Estudo prévio mostrou a correlação entre mutação de perda de função de apolipoproteína CIII com redução de risco de doença coronária[24]. Isso torna também a apolipoproteína CIII como alvo de redução de triglicérides e redução de doença cardiovascular.

Um estudo fase 1 testou um oligonucleotídeo antisense na redução de apolipoproteína CIII e triglicérides em voluntários saudáveis[25]. A medicação foi administrada por injeção subcutânea. Foram testadas doses de 50 mg, 100 mg, 200 mg e 400 mg, com 3 indivíduos em cada grupo. Houve

redução respectivamente de triglicérides em -19,5%, -25%, -43,1% e -43,8%. A medicação foi bem tolerada e não houve relato de efeito colateral grave[25].

Lipoproteína (a)

A lipoproteína(a) é uma lipoproteína semelhante a LDL, porém com uma apolipoproteína (a) ligado a apoB via ponte de dissulfeto. A lipoproteína(a) tem propriedades pro-aterogênicas e protrombóticas[26,27]. Essa última propriedade se deve a sua semelhança com plasminogênio e consequente inibição da fibrinólise, além de aumentar a agregação plaquetária. Alguns estudos relacionaram níveis elevados de lipoproteína(a) com aumento de risco cardiovascular, principalmente em pacientes portadores de HF[28]. O mipomersen, ácido nicotínico[14,29] e o anticorpo anti PCSK9[30] reduzem níveis de lipoproteína(a). Estudo de Merki et al.[31] avaliou o uso de oligonucleotídeo antisense contra a produção de apolipoproteína(a) em modelo de ratos transgênicos. Ocorreu redução da lipoproteína(a) em 24,8% em um dos modelos de rato[31]. Dessa forma, a tecnologia do oligonucleotídeo antisense também poderia ser utilizada na redução de lipoproteína(a). Ainda falta estudo em humanos com o oligonucleotídeo antisense contra a lipoproteína(a) e futuramente estudo mostrando redução de risco cardiovascular com a redução da lipoproteína(a).

Conclusões

O oligonucleotídeo antisense é uma tecnologia que fornece a possibilidade de novas medicações no tratamento das dislipidemias. Apresenta outro mecanismo de tratamento distinto das estatinas e, por isso, poderia agregar ao tratamento habitual. O seu alto custo e os efeitos colaterais relacionados ao sítio de injeção e a síndrome *flu-like*, no caso do mipomersen, representam barreiras para seu uso mais amplo atualmente. Novos alvos terapêuticos dos oligonucleotídeos antisense como a lipoproteína(a) e a apolipoproteína CIII podem, futuramente, agregar valor no arsenal terapêutico de medicações que auxiliam na redução de risco cardiovascular.

Referências

1. Cholesterol Treatment Trialists' (CTT) Collaboration; Baigent C, Blackwell L, Emberson J, Holland LE, Reith C, Bhala N, et al. Efficacy and safety of more intensive lowering of LDL cholesterol: a meta-analysis of data from 170,000 participants in 26 randomised trials. Lancet. 2010;376(9753):1670-81. PMID: 21067804
2. Jones PH, Hunninghake DB, Ferdinand KC, Stein EA, Gold A, Caplan RJ, et al.; Statin Therapies for Elevated Lipid Levels Compared Across Doses to Rosuvastatin Study Group. Effects of rosuvastatin versus atorvastatin, simvastatin, and pravastatin on non-high-density lipoprotein cholesterol, apolipoproteins, and lipid ratios in patients with hypercholesterolemia: additional results from the STELLAR trial. Clin Ther. 2004;26(9):1388-99. DOI: http://dx.doi.org/10.1016/j.clinthera.2004.09.006
3. Civeira F; International Panel on Management of Familial Hypercholesterolemia. Guidelines for the diagnosis and management of heterozygous familial hypercholesterolemia. Atherosclerosis. 2004;173(1):55-68. PMID: 15177124 DOI: http://dx.doi.org/10.1016/j.atherosclerosis.2003.11.010
4. Rader DJ, Kastelein JJ. Lomitapide and mipomersen: two first-in-class drugs for reducing low-density lipoprotein cholesterol in patients with homozygous familial hypercholesterolemia. Circulation. 2014;129(9):1022-32. DOI: http://dx.doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.113.001292
5. Lee RG, Crosby J, Baker BF, Graham MJ, Crooke RM. Antisense technology: an emerging platform for cardiovascular disease therapeutics. J Cardiovasc Transl Res. 2013;6(6):969-80. DOI: http://dx.doi.org/10.1007/s12265-013-9495-7
6. Walldius G, Jungner I, Holme I, Aastveit AH, Kolar W, Steiner E. High apolipoprotein B, low apolipoprotein A-I, and improvement in the prediction of fatal myocardial infarction (AMORIS study): a prospective study. Lancet. 2001;358(9298):2026-33. PMID: 11755609 DOI: http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736(01)07098-2
7. Emerging Risk Factors Collaboration; Di Angelantonio E, Gao P, Pennells L, Kaptoge S, Caslake M, Thompson A, et al. Lipid-related markers and cardiovascular disease prediction. JAMA. 2012;307(23):2499-506. PMID: 22797450
8. Anderson TJ, Grégoire J, Hegele RA, Couture P, Mancini GB, McPherson R, et al. 2012 update of the Canadian Cardiovascular Society guidelines for the diagnosis and treatment of dyslipidemia for the prevention of cardiovascular disease in the adult. Can J Cardiol. 2013;29(2):151-67. DOI: http://dx.doi.org/10.1016/j.cjca.2012.11.032
9. Catapano AL, Reiner Z, De Backer G, Graham I, Taskinen MR, Wiklund O, et al.; European Society of Cardiology (ESC); European Atherosclerosis Society (EAS). ESC/EAS Guidelines for the management of dyslipidaemias The Task Force for the management of dyslipidaemias of the European Society of Cardiology (ESC) and the European Atherosclerosis Society (EAS). Atherosclerosis. 2011;217(1):3-46. PMID: 21882396
10. Kastelein JJ, Wedel MK, Baker BF, Su J, Bradley JD, Yu RZ, et al. Potent reduction of apolipoprotein B and low-density lipoprotein cholesterol by short-term administration of an antisense inhibitor of apolipoprotein B. Circulation. 2006;114(16):1729-35. DOI: http://dx.doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.105.606442
11. Akdim F, Stroes ES, Sijbrands EJ, Tribble DL, Trip MD, Jukema JW, et al. Efficacy and safety of mipomersen, an antisense inhibitor of apolipoprotein B, in hypercholesterolemic subjects receiving stable statin therapy. J Am Coll Cardiol. 2010;55(15):1611-8. PMID: 20378080 DOI: http://dx.doi.org/10.1016/j.jacc.2009.11.069
12. Akdim F, Visser ME, Tribble DL, Baker BF, Stroes ES, Yu R, et al. Effect of mipomersen, an apolipoprotein B synthesis inhibitor, on low-density lipoprotein cholesterol in patients with familial hypercholesterolemia. Am J Cardiol. 2010;105(10):1413-9. DOI: http://dx.doi.org/10.1016/j.amjcard.2010.01.003
13. Akdim F, Tribble DL, Flaim JD, Yu R, Su J, Geary RS, et al. Efficacy of apolipoprotein B synthesis inhibition in subjects with mild-to-moderate hyperlipidaemia. Eur Heart J. 2011;32(21):2650-9. DOI: http://dx.doi.org/10.1093/eurheartj/ehr148
14. Raal FJ, Santos RD, Blom DJ, Marais AD, Charng MJ, Cromwell WC, et al. Mipomersen, an apolipoprotein B synthesis inhibitor, for lowering of LDL cholesterol concentrations in patients with homozygous familial hypercholesterolaemia: a randomised, double-blind, placebo-controlled trial. Lancet. 2010;375(9719):998-1006. PMID: 20227758 DOI: http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736(10)60284-X
15. Stein EA, Dufour R, Gagne C, Gaudet D, East C, Donovan JM, et al. Apolipoprotein B synthesis inhibition with mipomersen in heterozygous familial hypercholesterolemia: results of a randomized, double-blind, placebo-controlled trial to assess efficacy and safety as add-on therapy in patients with coronary artery disease. Circulation. 2012;126(19):2283-92. DOI: http://dx.doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.112.104125
16. McGowan MP, Tardif JC, Ceska R, Burgess LJ, Soran H, Gouni-Berthold I, et al. Randomized, placebo-controlled trial of mipomersen in patients with severe hypercholesterolemia receiving maximally tolerated lipid-lowering therapy. PLoS One. 2012;7(11):e49006. DOI: http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0049006
17. Thomas GS, Cromwell WC, Ali S, Chin W, Flaim JD, Davidson M. Mipomersen, an apolipoprotein B synthesis inhibitor, reduces atherogenic lipoproteins in patients with severe hypercholesterolemia at high cardiovascular risk: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. J Am Coll Cardiol. 2013;62(23):2178-84. DOI: http://dx.doi.org/10.1016/j.jacc.2013.07.081

18. Santos RD, Duell PB, East C, Guyton JR, Moriarty PM, Chin W, et al. Long-term efficacy and safety of mipomersen in patients with familial hypercholesterolaemia: 2-year interim results of an open-label extension. Eur Heart J. 2013. [Epub ahead of print] DOI: http://dx.doi.org/10.1093/eurheartj/eht549
19. Sniderman AD, Tsimikas S, Fazio S. The severe hypercholesterolemia phenotype: clinical diagnosis, management, and emerging therapies. J Am Coll Cardiol. 2014;63(19):1935-47. DOI: http://dx.doi.org/10.1016/j.jacc.2014.01.060
20. Kathiresan S; Myocardial Infarction Genetics Consortium. A PCSK9 missense variant associated with a reduced risk of early-onset myocardial infarction. N Engl J Med. 2008;358(21):2299-300. PMID: 18499582 DOI: http://dx.doi.org/10.1056/NEJMc0707445
21. Blom DJ, Hala T, Bolognese M, Lillestol MJ, Toth PD, Burgess L, et al.; DESCARTES Investigators. A 52-week placebo-controlled trial of evolocumab in hyperlipidemia. N Engl J Med. 2014;370(19):1809-19. DOI: http://dx.doi.org/10.1056/NEJMoa1316222
22. Yamamoto T, Harada-Shiba M, Nakatani M, Wada S, Yasuhara H, Narukawa K, et al. Cholesterol-lowering Action of BNA-based Antisense Oligonucleotides Targeting PCSK9 in Atherogenic Diet-induced Hypercholesterolemic Mice. Mol Ther Nucleic Acids. 2012;1:e22. DOI: http://dx.doi.org/10.1038/mtna.2012.16
23. Lindholm MW, Elmén J, Fisker N, Hansen HF, Persson R, Møller MR, et al. PCSK9 LNA antisense oligonucleotides induce sustained reduction of LDL cholesterol in nonhuman primates. Mol Ther. 2012;20(2):376-81. DOI: http://dx.doi.org/10.1038/mt.2011.260
24. TG and HDL Working Group of the Exome Sequencing Project, National Heart, Lung, and Blood Institute; Crosby J, Peloso GM, Auer PL, Crosslin DR, Stitziel NO, Lange LA, et al. Loss-of-function mutations in APOC3, triglycerides, and coronary disease. N Engl J Med. 2014;371(1):22-31. DOI: http://dx.doi.org/10.1056/NEJMoa1307095
25. Graham MJ, Lee RG, Bell TA 3rd, Fu W, Mullick AE, Alexander VJ, et al. Antisense oligonucleotide inhibition of apolipoprotein C-III reduces plasma triglycerides in rodents, nonhuman primates, and humans. Circ Res. 2013;112(11):1479-90. PMID: 23542898 DOI: http://dx.doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.111.300367
26. Anuurad E, Boffa MB, Koschinsky ML, Berglund L. Lipoprotein(a): a unique risk factor for cardiovascular disease. Clin Lab Med. 2006;26(4):751-72. PMID: 17110238 DOI: http://dx.doi.org/10.1016/j.cll.2006.07.002
27. Rand ML, Sangrar W, Hancock MA, Taylor DM, Marcovina SM, Packham MA, et al. Apolipoprotein(a) enhances platelet responses to the thrombin receptor-activating peptide SFLLRN. Arterioscler Thromb Vasc Biol. 1998;18(9):1393-9. PMID: 9743227 DOI: http://dx.doi.org/10.1161/01.ATV.18.9.1393
28. Alonso R, Andres E, Mata N, Fuentes-Jiménez F, Badimón L, López--Miranda J, et al.; SAFEHEART Investigators. Lipoprotein(a) levels in familial hypercholesterolemia: an important predictor of cardiovascular disease independent of the type of LDL receptor mutation. J Am Coll Cardiol. 2014;63(19):1982-9.
29. Seed M, O'Connor B, Perombelon N, O'Donnell M, Reaveley D, Knight BL. The effect of nicotinic acid and acipimox on lipoprotein(a) concentration and turnover. Atherosclerosis. 1993;101(1):61-8. PMID: 8216503 DOI: http://dx.doi.org/10.1016/0021-9150(93)90102-Z
30. Raal FJ, Giugliano RP, Sabatine MS, Koren MJ, Langslet G, Bays H, et al. Reduction in lipoprotein(a) with PCSK9 monoclonal antibody evolocumab (AMG 145): a pooled analysis of more than 1,300 patients in 4 phase II trials. J Am Coll Cardiol. 2014;63(13):1278-88. DOI: http://dx.doi.org/10.1016/j.jacc.2014.01.006
31. Merki E, Graham M, Taleb A, Leibundgut G, Yang X, Miller ER, et al. Antisense oligonucleotide lowers plasma levels of apolipoprotein (a) and lipoprotein (a) in transgenic mice. J Am Coll Cardiol. 2011;57(15):1611-21. PMID: 21474042 DOI: http://dx.doi.org/10.1016/j.jacc.2010.10.052