

# DECOUVERTE DES HYPOCHOLESTÉROLEMIANTS

MICROBIOLOGIE, GENETIQUE et DECOUVERTE des MEDICAMENTS HYPOCHOLESTEROLEMIANTS  
*Charles Oliver (Marseille)*

## INTRODUCTION

Les études épidémiologiques des années 1960 et 1970 ont établi le lien entre l'augmentation du cholestérol et en particulier du *low density lipoprotéin* LDL)-cholestérol (LDL-C) ( *le mauvais cholestérol*), l'athérosclérose et les complications cardiovasculaires, notamment les maladies coronariennes. La médecine a été longtemps peu efficace dans la prise en charge de l'hypercholestérolémie : le régime hypo lipidique est nécessaire, mais d'efficacité modérée et les médecins n'ont eu pendant longtemps que la cholestyramine, souvent mal tolérée au point de vue intestinale, l'acide nicotinique et les fibrates peu efficaces. A partir des années 1980, des médicaments efficaces ont été disponibles : les statines, puis les inhibiteurs du PCSK9. Un microbiologiste japonais, des chercheurs des laboratoires de génétique médicale de l'University of Texas SouthWestern (UTSW).Dallas sont à l'origine de la découverte de ces médicaments.

## LA DECOUVERTE DES STATINES.

### *Découverte du premier inhibiteur de l'HMG CoA reductase : la mévastatine*

C'est à Tokyo, en 1973, que le biochimiste japonais **Akira Endo** identifia, dans les extraits d'un champignon, la première statine, la mévastatine.



Akira Endo était né en novembre 1933 dans une famille d'agriculteurs à Hagishiyuri, sur l'île de Honshu, au Japon. Il fut influencé dans son enfance par son grand-père, qui lui transmit son propre intérêt pour la science et la médecine ; dès l'âge de huit ans, Akira rêvait de devenir un scientifique. Il fut aussi influencé par la lecture d'une biographie d'Alexander Fleming, dont la découverte de la pénicilline sauva d'innombrables vies, et par le travail d'Hideyo Noguchi, un scientifique japonais qui étudia aux États-Unis la syphilis et la fièvre jaune. Après des études secondaires à Akita, Akira Endo étudia la chimie organique, la biochimie et l'agronomie à l'école d'agriculture de l'université de Tohoku à Sendai. A cette époque, le Dr Konrad Bloch élucidait les voies biochimiques impliquées dans la synthèse du cholestérol et pl montrait en particulier l'importance de l'HMG-CoA réductase ( 3-hydroxy-3-méthylglutaryl coenzyme A réductase), enzyme responsable de la conversion de l'HMG-CoA en mévalonate, une étape critique et limitante de la biosynthèse du cholestérol. Ces travaux devaient jeter les bases d'interventions thérapeutiques ultérieures ciblant cette enzyme. Après avoir obtenu un doctorat en biochimie à l'école d'agronomie de l'université de Tokohu en 1957, Akira Endo fut recruté par la compagnie pharmaceutique Sankyo à Tokyo pour développer un système enzymatique capable d'éliminer les pectines qui contaminaient le vin et le cidre. Un succès, et la société le récompensa en lui accordant deux années sabbatiques dans un laboratoire aux Etats Unis. Akira Endo demanda, sans succès, au Dr Bloch de l'accueillir pour un stage postdoctoral dans son laboratoire à l'université de Harvard. Sans succès, et c'est dans le Département de Biologie Moléculaire de Bernard Horecker au Albert Einstein Médical College à New York qu' Akira Endo effectua son stage. Bernard Horecker était un spécialiste de la régulation enzymatique du métabolisme des glucides. Akira A. Endo acquit dans son laboratoire une solide expérience dans la purification des enzymes (1). Son séjour à New York lui permit d'observer la prévalence des personnes en surpoids et la fréquence des maladies cardiovasculaires, une situation qu'il n'avait pas connu au Japon. *Mon expérience de la vie à New York m'a fait prendre conscience de l'importance de développer un traitement hypocholestérolémiant efficace a-t-il déclaré lors du discours qu'il prononça à la remise du prix Lasker-DeBakey en 2008 pour ses travaux sur les statines , si je n'étais pas resté étudier à New York, je n'aurais jamais découvert les statines ». Pendant la cette période,1966-68, J'ai été assez surpris par le grand nombre de personnes âgées et en surpoids, ainsi que par le régime alimentaire plutôt riche.de personnes âgées et en surpoids, ainsi que les habitudes alimentaires plutôt riches des Américains par rapport aux Japonais* (2).

Akira Endo n'avait pas oublié les travaux de Bloch et à son retour chez Sankyo, il entreprit la recherche d'un inhibiteur de l'HMG CoA réductase l'enzyme qui régule l'étape limitant la vitesse de la biosynthèse du cholestérol, pensant qu'un inhibiteur de l'HMG CoA réductase serait utile dans le traitement de l'hypercholestérolémie.

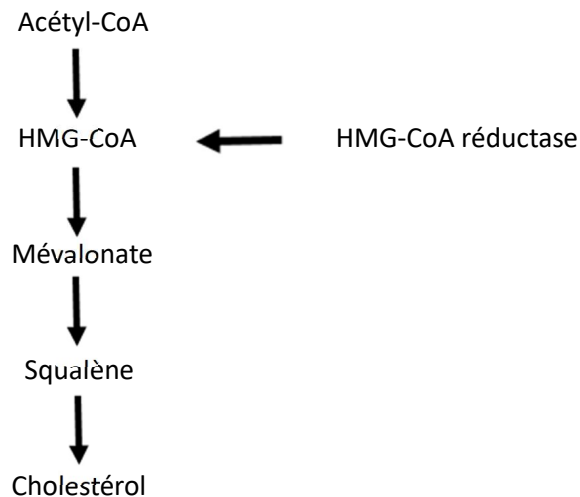
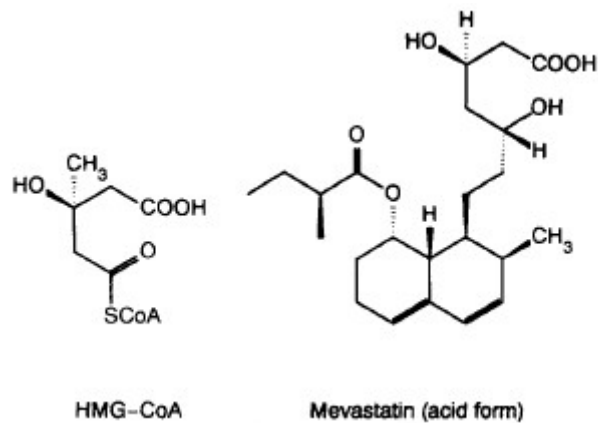


Figure 1. Schéma de la biosynthèse du cholestérol)

En 1971, il émit l'hypothèse que des microbes pouvaient lutter contre les attaques d'autres microbes en sécrétant des inhibiteurs de cette enzyme afin de réduire la synthèse du cholestérol indispensable à leurs survies. Il réalisa ses travaux avec l'aide du Dr Masao Kuroda ; l'activité HMG CoA réductase était dosée par la mesure de l'incorporation de l'acétate  $^{14}\text{C}$  radioactif dans le cholestérol  $^{14}\text{C}$  dans des homogénats de foie de rat. Sur une période de deux ans, la vaste collection de Sankyo, environ 6 000 souches microbiennes furent testées pour leur capacité à bloquer la synthèse du cholestérol. C'est ainsi qu'Akira Endo découvrit qu'une souche de *Penicillium citrinum*, un champignon bleu-vert, produisait un composé actif. Pour l'isoler, 600 litres de filtrat de culture furent extraits avec des solvants organiques et soumis à une chromatographie sur gel de silice, suivie d'une cristallisation. Akira Endo obtint ainsi 23 mg de mévastatine (initialement appelée ML-236B). Fin 1973, la structure de la mévastatine fut déterminée par une combinaison de méthodes spectroscopiques, chimiques et cristallographiques aux rayons X. La mévastatine comprend dans sa structure chimique une séquence dont la conformation spatiale reproduit celle de l'HMG-CoA lui permettant d'inhiber l'HMG-CoA de façon compétitive. Cette séquence est présente dans toutes les statines ultérieurement obtenues (3).



Pendant qu'A. Endo isolait la mévastatine, un groupe de la Beecham Pharmaceutical Company en Angleterre isolait la même molécule à partir d'une souche différente de *Penicillium* appelée *Penicillium brevicompactum*. Le groupe nomma cette substance compactine et la testa chez le rat. Sans succès, pas d'effet hypocholestérolémiant, le projet fut abandonné (4). A. Endo et ses collaborateurs testèrent aussi la mévastatine chez le rat. Sans succès. Heureusement, ils la testèrent aussi chez d'autres espèces animales, poulets, chiens, singes. Avec succès, une réduction significative de la cholestérolémie. Les échecs de la mévastatine et de la compactine chez le rat sont expliqués par leurs mécanismes d'action..

### **Mécanismes d'action des statines**

Ils ont été élucidés dans une collaboration entre Akira Endo et deux chercheurs du laboratoire de génétique médicale de l'UTSW Medical School de Dallas , Michael Brown et Joseph Goldstein qui avaient mis en évidence le rôle des récepteurs au LDL-C. dans le métabolisme du cholestérol. Ils avaient montré sur des cultures de fibroblastes obtenus par prélèvement de peau que le cholestérol pénétrait dans les fibroblastes grâce aux récepteurs au LDL-C, les LDL-R ( les patients atteints d'hypercholestérolémie familiale homozygote n'avaient pas de LDL-R). Les études in vitro sur des cultures de fibroblastes et in vivo chez le chien montrèrent que les statines réduisaient significativement l'activité HMG CoA réductase et la synthèse de cholestérol et que la diminution du cholestérol intracellulaire stimulait la synthèse des récepteurs au LDL-C et leur nombre au niveau des membranes cellulaires, facilitant ainsi la clairance du cholestérol circulant (5).

Chez le rat, contrairement à la plupart des autres animaux, la majeure partie du cholestérol circulant est liée au *high density lipoprotein* (HDL) (le bon cholestérol). Or, les statines stimulent la synthèse des récepteurs au LDL ; dans

la mesure où l'HDL-C ne se lie pas au récepteur du LDL-C, sa clairance n'est pas affectée et il n'y a pas de diminution du cholestérol circulant.

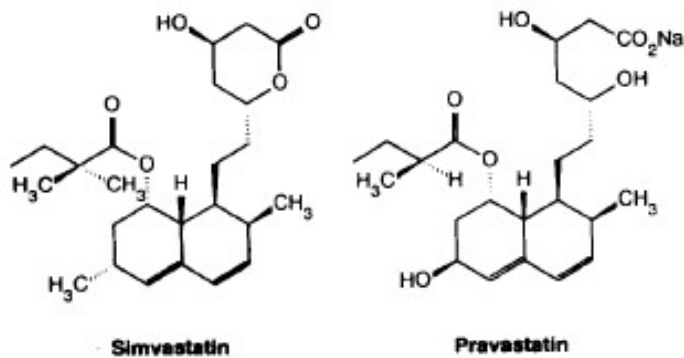
### ***Les études cliniques avec les statines***

Après des études concluantes chez les animaux, plusieurs essais cliniques limités à moins de dix patients furent réalisés avec la mévastatine, 30 ou 60 mg/jour, le LDL-C diminua de 20 à 30 %, la plus forte réduction de la cholestérolémie jamais observée avec un médicament. Les essais cliniques furent interrompus par Sankyo après la constatation de lésions gastriques chez des chiens soumis à de fortes doses de mévastatine, une suspicion de cancer qui sera ensuite démentie. La compagnie Sankyo ne reprit pas d'études cliniques.

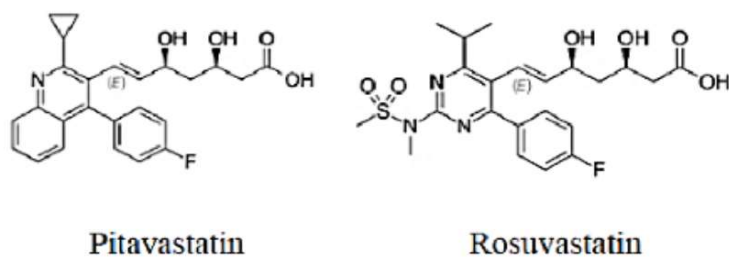
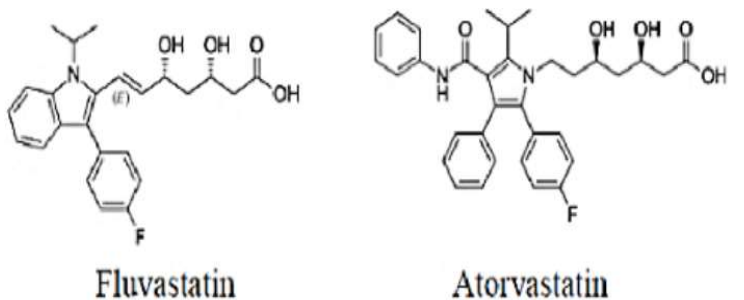
Celles-ci seront reprises par les laboratoires Merck. En effet, la découverte d'Akira Endo suscita l'intérêt des laboratoires Merck, New Jersey, USA qui mirent en place un groupe chargé de la recherche de nouvelles statines naturelles dans des extraits microbiens. La lovastatine fut ainsi isolée à partir d'un champignon, *Aspergillus terreus*. La même année, Akira Endo isolait également la lovastatine à partir de *Monascus ruber*. La lovastatine a aussi été retrouvée dans une variété de champignons et dans la levure de riz rouge. La lovastatine est un peu plus active que la mévastatine pour inhiber l'HMG-CoA.

Malheureusement, les essais cliniques ne furent pas immédiats : il y avait la suspicion d'une toxicité avec les fortes doses de statines chez l'animal, nous l'avons indiqué plus haut et aussi un conflit d'intérêt entre les laboratoires Merck et Sankyo sur la paternité de la lovastatine. Les études cliniques furent reprises quatre ans plus tard, en 1982, avec la lovastatine dans une étude incluant 1200 patients, un traitement efficace et bien toléré. En 1987, la lovastatine (Mevacor®), fut la première statine approuvée par la Food and Drug Administration (FDA) des États-Unis pour l'utilisation chez l'homme.

Les compagnies pharmaceutiques développèrent ensuite de nouvelles statines en modifiant chimiquement la structure des statines naturelles : **la simvastatine et la pravastatine.**



Elles préparèrent ensuite des statines totalement synthétiques : **la fluvastatine, l'atorvastatine, la pivalastatine et la rosuvastatine.**



La preuve définitive de l'efficacité des statines fut apportée par de grands essais cliniques, notamment l'étude 4S, Scandinavian Simvastatine, Survival Study, conduite pendant cinq ans chez 4 444 patients avec coronaropathie et hypercholestérolémie (valeurs moyennes du LDL-C à 1,90g/l). La prise de Simvastatine, 20 à 40 mg/jour diminua de 30% la mortalité globale et de 42% la mortalité coronarienne. De très nombreuses études cliniques ont été ensuite réalisées avec les différentes statines avec de bons résultats. . Actuellement, plus de 200 millions de patients prennent tous les jours une statine. Les statines sont dans l'ensemble bien tolérées, toutefois des douleurs musculaires sont observées chez 5 à 10 % des patients et le traitement doit être interrompu.

### ***Akira Endo, après la compagnie Sankyo***

En 1978, Akira Endo quitta la compagnie Sankyo pour devenir professeur à l'Université d'Agriculture et de Technologie de Tokyo (TUAT jusqu'à sa retraite en 1997. Il y travailla avec Keiji Hasumi, professeur dans le Département des Sciences Biologiques Appliquées dans cette université. Hasumi résume ainsi leur activité *mais bien que nous ayons découvert plusieurs molécules intéressantes au cours de plus de 10 ans de recherche, aucune n'a été développée plus avant. Entre-temps, nous avons également exploré une approche pour découvrir un nouveau médicament qui contrôle directement la maladie thromboembolique.* Voici son appréciation sur Akira Endo « *Il était plein de ressources et très rigoureux. Il disait souvent que nous devrions apprendre de la nature. Il était un homme sérieux, Il ne souriait pas facilement... mais il était attentionné et soucieux des autres* ». Après sa retraite, Akira Endo devint Président de Biopharm Research Laboratories.

Il décéda en 2024.

### ***Conclusion***

La découverte **d'Akira Endo** a révolutionné la prise en charge de l'hypercholestérolémie et de la pathologie cardiovasculaire. Il n'eut pas le prix Nobel qui fut attribué à Michael Brown et Jérôme Goldstein pour leurs travaux sur les récepteurs au LDL-C. Akira Endo reçut le prix Lasker-De Bakey Clinical Medical Research en 2008. Les études des deux équipes de Tokyo et de Dallas nous ont permis de comprendre le double mécanisme d'action des statines : la diminution de la synthèse du cholestérol intra-cellulaire et l'augmentation de la

clairance du cholestérol circulant par les récepteurs au LDL-C à la surface des membranes cellulaires. Brown et Goldstein ont rendu hommage à Akira Endo de son décès, l'appelant le père de la « pénicilline du cœur » lui dont l'approche expérimentale rappelle celle de Alexander Fleming

## **ANNEXE**

### ***Michael Brown and Joseph Goldstein***



J. Goldstein (à gauche)  
and M. Brown (à droite)  
lors de la remise du prix  
Nobel en 1985 .

Ils ont décrit en 1974 le rôle majeur des **récepteurs cellulaires au LDL-C** dans le métabolisme du cholestérol et les mécanismes de leur stimulation par les statines. Après des études de médecine et de chimie à l'UTSW, Dallas pour Goldstein et à l'université de Pennsylvanie pour Brown, ils font leur internat en médecine au Massachusetts General Hospital de Boston, puis un stage de recherche au National Institutes of Health à Bethesda dans des laboratoires d'enzymologie pour Brown et de génétique pour Goldstein. Ils intègrent ensuite l'UTSW à Dallas où ils dirigent le Département de Génétique Moléculaire. Ils reçoivent le prix Nobel de Physiologie et Médecine en 1985.

# LA DECOUVERTE DES INHIBITEURS DE PCSK9

L'utilisation thérapeutique des inhibiteurs de PCSK 9 ou Proprotein Convertase Subtilisin/Kexin type 9 est un exemple de recherche translationnelle accélérée : en 2003 découverte de la PCSK9 ; 2 ans plus tard, mise en évidence de l'effet hypocholestérolémiant du déficit en PCSK9 et 9 ans plus tard , premiers essais thérapeutiques avec des anticorps monoclonaux anti-PCSK9.

## *Qu'est-ce que la PCSK9 ?*

La PCSK9, initialement dénommée NARC-1 (Neural Apoptosis-RegulatConvertase-1), a été clonée, en 2003, par le groupe de Nabil Seidah de Montréal à partir d'une banque d'ADNc issue de cultures primaires de neurones en apoptose (6). PCSK9 est le 9e membre de la famille des proconvertases (PCs) qui sont des protéases impliquées dans la maturation des peptides. Les PCs agissent sur les précurseurs de nombreux substrats tels les hormones ou les neuropeptides...) en les clivant pour former l'hormone ou le neuropeptide ; ainsi la proconvertase1, PC1 clive la proinsuline en insuline.

## *Apport de la génétique*

C'est la recherche de mutations du gène de la PCSK9 qui a relié cette enzyme et le métabolisme du cholestérol. En effet, la même année, l'implication de la PCSK9 dans la régulation du métabolisme du cholestérol était devenue évidente, avec l'identification par l'équipe de Catherine Boileau, de deux mutations de gain de fonction de la PCSK9, dans deux familles françaises atteintes d'hypercholestérolémie familiale, sans mutation détectable dans les gènes du récepteur au LDL-C et de l'apoB100 (7). Les mutations du gène de la PCSK9 sont une cause peu fréquente de l'hypercholestérolémie familiale, 0,7% vs 73,9% pour les mutations du gène du récepteur au LDL-C et 6,6% pour celui de l'ApoB100). À l'inverse, des mutations de perte de fonction de la PCSK9 ont été rapportées deux ans plus tard par le groupe d'Helen Hobbs à Dallas. Ces mutations Y142X et C679X chez les Afro-Américains étaient associées à une réduction de 28 % du LDL-C et de 88 % du risque de maladie coronarienne ; la mutation R46L chez les Caucasiens était associée à une réduction de 15 % du LDL-C et de 47 % du risque de maladie coronarienne (8). Une diminution de

l'activité PCSK9 était donc associée à une baisse de la cholestérolémie et à une diminution du risque cardiovasculaire.

Ces résultats furent à l'origine de travaux expérimentaux sur les animaux et d'études biochimiques pour connaître les mécanismes d'action de la PCSK9 sur le métabolisme du cholestérol. Ces résultats furent aussi à l'origine du développement d'un médicament anti-PCSK9 pouvant être utile dans le traitement de l'hypercholestérolémie (9).

### ***PCSK9 et métabolisme du cholestérol***

La PCSK9 joue un rôle très important dans la régulation du métabolisme du cholestérol. Nous avons vu qu'une étape clé de l'homéostasie du cholestérol implique l'absorption des particules de LDL-C circulantes par le foie après interaction avec les récepteurs de LDL exprimés à la surface de l'hépatocyte. Dans l'hépatocyte, les LDL se dissocient de leur récepteur et subissent une dégradation A. Endosomale, tandis que le récepteur est recyclé à la surface de la cellule où il capte le LDL circulant. Des études biochimiques ont démontré que PCSK9 se lie au complexe internalisé LDL-C/ LDL-R et empêche leur dissociation dans l'hépatocyte. Il en résulte une dégradation du complexe, ce qui empêche le retour du récepteur à la surface de la cellule et limite l'absorption hépatique des particules de LDL-C (10).

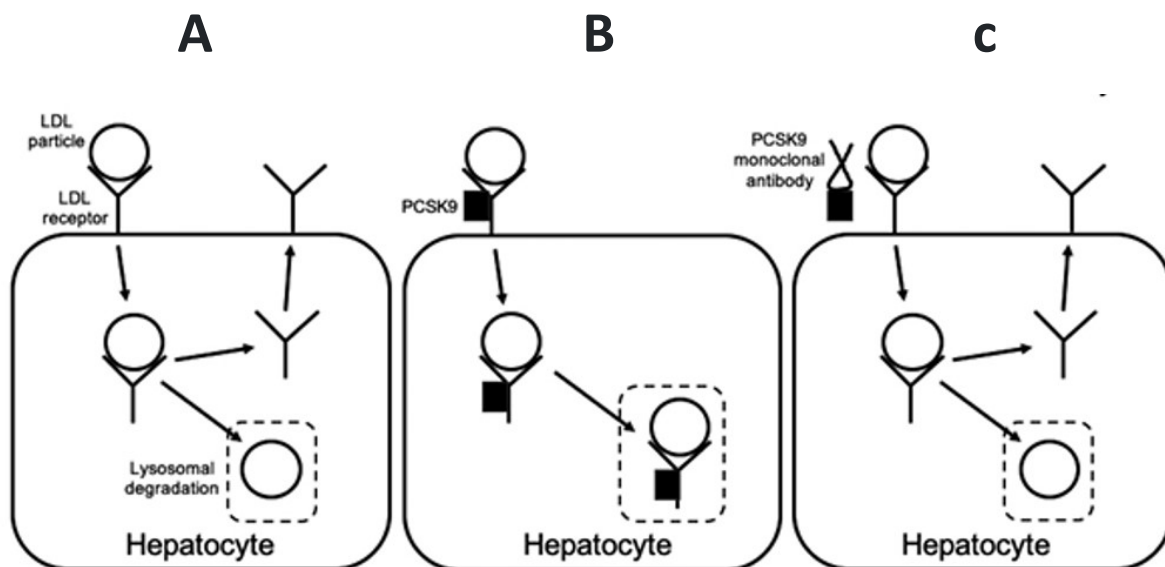


Figure 2. Schéma de l'absorption des lipoprotéines de basse densité (LDL) par les hépatocytes (A) et de l'impact de PCSK9 (B) et des anticorps monoclonaux inhibiteurs (C) ( figure issue de la référence 10)..

- A. la liaison du LDL-C à son récepteur à la surface de la cellule hépatique et l'internalisation du complexe, suivie de sa dissociation et du recyclage du récepteur pour capter d'autres molécules de LDL-C .
- B. la liaison de la PCSK9 au complexe formé par le LDL-C et son récepteur, empêche sa dissociation intracellulaire et entraîne sa dégradation.
- C. les anticorps monoclonaux anti-PCSK9 bloquent ce processus, ce qui permet la dissociation du complexe entre le LDL-C et son récepteur et le recyclage de ce récepteur..

### ***Développement d'anticorps monoclonaux anti-PCSK9.***

Le développement rapide d'anticorps monoclonaux anti- PCSK9 a été facilité par l'évolution de la technologie des anticorps monoclonaux de la génération murine à la génération entièrement humaine, avec une bonne tolérance et un risque faible de développer d' anticorps neutralisants. En France, deux anticorps monoclonaux sont utilisés : alirocumab (Praluent, Sanofi) et evolocumab (Repatha, Amgen). Les premières études cliniques de ces anticorps monoclonaux ont démontré une réduction dose-dépendante du cholestérol LDL-C allant jusqu'à 70 % lorsqu'ils sont administrés par injection sous-cutanée toutes les deux semaines ou une fois par mois. Le traitement est bien toléré. Ces effets hypocholestérolémiantes ont été observés en monothérapie ou en association avec une statine. L'utilité clinique de ces agents a également été démontrée chez les patients atteints d'hypercholestérolémie familiale hétérozygote et chez ceux qui présentent une intolérance avérée aux statines.

Dans l'hypercholestérolémie familiale homozygote, les inhibiteurs de PCSK9 diminuent la cholestérolémie jusqu'à 30 % et réduisent la fréquence des séances d'aphérèse des LDL circulants.

Au total, un traitement plus efficace que les statines avec une diminution du LDL-C à 50-70 % vs 25-35% pour les statines, un traitement toujours bien toléré, mais un traitement injectable (certes 1 à 4 injections par mois) et surtout beaucoup plus onéreux. Les indications des anti- PCSK9 seront-elles limitées aux patients intolérants aux statines à cause de douleurs musculaires ?

## **ANNEXES**

### ***Nabil Seidah***



Il a découvert la PCSK9 et participé à la mise en évidence de son rôle dans la pathologie cardiovasculaire. Après des études de chimie à l'Université de Giza au Caire de 1966 à 1969, il a obtenu un PhD en chimie à l'Université de Georgetown, Washington DC. En 1973, il rejoint le laboratoire de biochimie du Pr Michel Chrétien à l'Université de Montréal. Il dirige actuellement le Département de Biochimie et Médecine Moléculaire. Le Dr Nabil G. Seidah se consacre à l'étude d'une famille de 9 protéases, les protéines convertases (PCs), impliquées dans la maturation de précurseurs d'hormones, de facteurs de croissance, de récepteurs .....

## ***Catherine Boileau***



Catherine Boileau est une pharmacienne biologiste française spécialisée en génétique. Elle est assistante hospitalo-universitaire à l'hôpital Ambroise-Paré, à Boulogne- Billancourt avant d'intégrer en 1994, l'INSERM où elle dirige un groupe de génétique dans différentes unités de recherche. En 1996, elle crée une consultation multidisciplinaire à l'hôpital Bichat-Claude-Bernard pour le syndrome de Marfan, puis pour l'hypercholestérolémie familiale. En 2003, elle découvre avec son équipe un nouveau gène impliqué dans le métabolisme du cholestérol : *PCSK9*. Depuis 2014, elle est professeur des universités-praticien hospitalier au département de génétique de l'hôpital Bichat.

## ***Helen Hobbs***



Son équipe a décrit les mutations à l'origine de la perte de fonction de *PCSK9* et secondairement des anti-*PCSK9*. Après des études de médecine à l'Université Case Western Reserve de Cleveland, un internat en médecine interne au Columbia Presbyterian Medical Center de New York et un internat au Parkland Memorial Hospital de Dallas., elle effectue un stage postdoctoral dans le laboratoire de Brown et Goldstein. Elle crée le Centre de Génétique Humaine de l'UTSW Medical School de Dallas où elle étudie les déterminismes génétiques des pathologies cardiovasculaires et de la stéatose hépatique.

## REFERENCES

### ***Statines***

1. Cheshire M D, Akbar U A (August 30, 2024) Akira A. Endo: Father of Statins. *Cureus* 16(8): e68198. DOI 10.7759/cureus.68198
2. Watts G Akira A. Endo. *The Lancet* 2024 ; 404 : 332
3. A. Endo A. The discovery and development of HMG-CoA reductase inhibitors. *Journal of Lipid Research* 1992 ; 33 ; 1569-1582
4. Goldstein JL, Brown MS. Akira A. Endo, who discovered a "penicillin" for heart attacks (1933 to 2024). *PNAS* 2024 : 121 :
5. Brown MS, Goldstein JL. A receptor-mediated pathway for cholesterol homeostasis. *Science* ; 232 : 34-47.

### ***PCSK9***

6. Seidah NG, Benjannet S, Wickham L, Marcinkiewicz J, Jasmin SB, Stifani S, Basak A, Prat A, Chretien M. The secretory proprotein convertase neural apoptosis-regulated convertase 1 (NARC-1): liver regeneration and neuronal differentiation. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2003 ; 100 : 928-33
7. Abifadel M, Varret M, Rabès JP, Allard D, Ouguerram K, Devillers M, Cruaud C, Benjannet S, Wickham L, Erlich D, Derré A, Villéger 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 : 154-6.
8. Cohen JC, Boerwinkle E, Mosley TH Jr, Hobbs HH. Sequence variations in PCSK9, low LDL, and protection against coronary heart disease. *N Engl J Med*. 2006 ; ;354 :1264-72.
9. Hobbs HH, Cohen JC, Horton JD. PCSK9: From Nature's Loss to Patient's Gain. *Circulation*. 2024 Jan 16;149(3):171-173
10. Nicholls SJ. PCSK9 inhibitors and reduction in cardiovascular events: Current evidence and future perspectives. *Kardiol Pol*. 2023;81:115-122.