

Perspektivy dalšího snižování cholesterolu pomocí blokády PCSK9

Vladimír Bláha

III. interní gerontometabolická klinika, LF UK a FN Hradec Králové

Proprotein konvertáza subtilisin kexin-9 (PCSK9) je nově objevený protein, který se účastní intracelulární a extracelulární regulace exprese LDL receptoru. Jedná se o proteázu, která je přítomná v řadě tkání (játra, střevo, ledviny, nervový systém), predominantně v játrech, a která má významnou úlohu v metabolismu cholesterolu. PCSK9 je regulován obsahem cholesterolu v dietě a buňkách nejspíše prostřednictvím SREBP (sterol-responsive element binding protein) transkripčních faktorů. Mutace PCSK9 představují třetí formu ADH (autozomálně dominantní hypercholesterolemie). PCSK9 zcela jednoznačně a zásadně ovlivňuje koncentraci LDLR (LDL-receptoru). Předpokládáme, že hlavní funkcí PCSK9 je degradace LDLR. Proto může inhibice PCSK9 navodit zvýšení koncentrace LDLR, zvýšení vychytávání LDL v játrech a snížení plazmatické koncentrace LDL cholesterolu. Léčba inhibitory PCSK9 působí synergicky s léčbou statiny a vede ke zvýšení počtu LDLR v játrech. Inhibice PCSK9 představuje velice atraktivní nový způsob léčby vysokých koncentrací aterogenních lipoproteinů a posiluje snížení LDL cholesterolu při léčbě statiny. Publikované výsledky z klinických studií fáze II prokázaly účinnost a dobrou snášenlivost během tříměsíční léčby. V současné době probíhá několik dalších dlouhodobých klinických studií fáze III, které přinesou odpovědi na otázky významu, účinnosti a dlouhodobé bezpečnosti léčby inhibitory PCSK9, včetně zhodnocení vlivu na výskyt kardiovaskulárních onemocnění.

Klíčová slova: dyslipidemie, hypolipidemická terapie, kardiovaskulární riziko, ateroskleróza.

Perspectives of further reduction in cholesterol by means of PCSK9 blockade

Proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 (PCSK9) is a newly discovered member of the proprotein convertase family. Expression studies and human genetics have revealed an important role for PCSK9 in cholesterol metabolism. PCSK9 is regulated by dietary cholesterol and cellular cholesterol levels putatively via the SREBP (sterol-responsive element-binding protein) transcription factors. Mutations in PCSK9 are associated with the third locus implicated in ADH (autosomal dominant hypercholesterolemia). PCSK9 clearly plays an important role in controlling LDLR levels. If the true function of PCSK9 is to degrade the LDLR, inhibitors of PCSK9 may act to increase LDLR levels, enhance LDL uptake by the liver, and decrease plasma LDL cholesterol levels. Furthermore, such inhibitors would be synergistic with statin drugs in raising hepatic LDLR levels. PCSK9 inhibition is undoubtedly the most attractive new approach to decrease levels of atherogenic lipoproteins and to enhance the LDL-C-lowering efficacy of statins. Published phase II data have shown that monoclonal antibodies are effective and well tolerated at 3 months. The most advanced monoclonal antibodies are currently in phase III to determine the long-term safety, tolerability and efficacy profile, including the effect on cardiovascular disease.

Key words: dyslipidemia, hypolipidemic treatment, cardiovascular risk, atherosclerosis.

Klin Farmakol Farm 2013; 27(3–4): 114–118

Úvod

Hyperlipoproteinémie a dyslipidemie představují jedny z nejvýznamnějších rizikových faktorů aterosklerózy. Zvýšené koncentrace

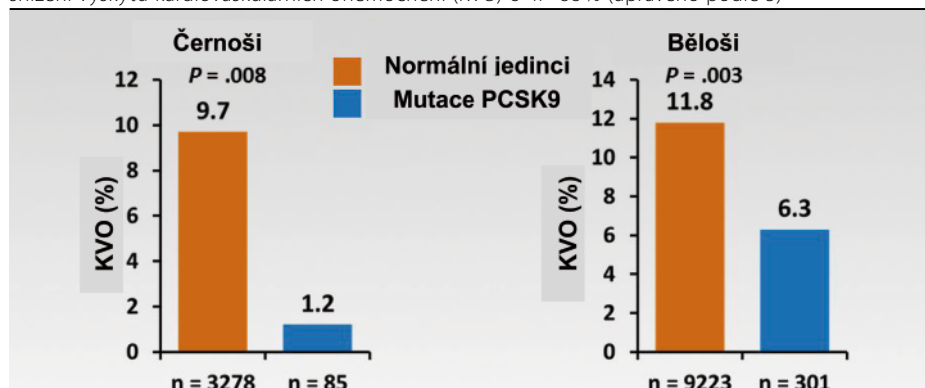
LDL cholesterolu jsou přitom zásadním patogenetickým momentem aterosklerotických kardiovaskulárních onemocnění (KVO). Proto je problematice farmakoterapie elevace LDL

cholesterolu věnována v domácí i zahraniční literatuře značná pozornost a klasická či nově vyvíjená hypolipidemika, ať již v monoterapii, či v synergicky působících kombinacích,

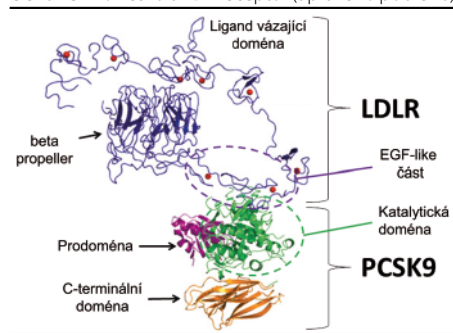
Tabulka 1. Postupy, které lze využít k inhibici PCSK9 u pacientů s hypercholesterolemií s cílem navodit snížení LDL cholesterolémie (upraveno podle 17)

Firma	Název látky	Mechanismus	Indikace	Fáze
Sanofi/ Regeneron	SAR236553/REGN727 (SAR236553)	Lidská monoklonální protilátka	Hypercholesterolemie	2
Amgen	AMG-145	Lidská monoklonální protilátka	Hypercholesterolemie	2
Novartis	LGT-209	Lidská monoklonální protilátka	Hypercholesterolemie	2
Pfizer/Rinat	RN316 (PF-04950615)	Monoklonální protilátka	Hypercholesterolemie	2
Genentech	MPSK3169A, RG7652	Monoklonální protilátka	Hypercholesterolemie	2
Alnylam Pharmaceuticals	ALN-PCS02	siRNA oligonukleotid	Hypercholesterolemie	1
Adnex Therapeutics / Bristol Myers Squibb	BMS-962476	Fúzní proteins s využitím adnectinové technologie	Kardiovaskulární onemocnění	Preklinická
Idera Pharmaceuticals	TBD	Antisense oligonukleotid	Hypercholesterolemie	Preklinická
Serometrix	SX-PC9	Peptidově mimetikum – antagonist LDL receptoru	Hypercholesterolemie	Preklinická
Shifa Biomedical Corp.	TBD	PCSK9 modulátor (malá molekula)	Metabolické onemocnění	Preklinická

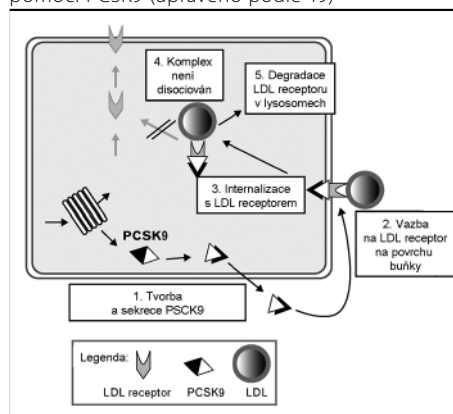
Obrázek 1. Mutace v genu pro PCSK9 vede ke snížení koncentrace LDL cholesterolu o 15–40 % a ke snížení výskytu kardiovaskulárních onemocnění (KVO) o 47–88 % (upraveno podle 5)



Obrázek 2. PCSK9 a LDL receptor (upraveno podle 18)



Obrázek 3. Regulace metabolismu LDL receptoru pomocí PCSK9 (upraveno podle 19)



představují jednu z rychle se vyvíjejících oblastí farmakoterapie aterosklerózy.

Geneticky podmíněné hypercholesterolemie se vyskytují jako autozomálně dominantní (autosomal dominant hypercholesterolemia – ADH) a autozomálně recesivní (autosomal recessive hypercholesterolemia – ARH). ADH představuje heterogenní skupinu onemocnění. Nejčastější formou je klasická familiární hypercholesterolemie (FH) s frekvencí výskytu 1:300 u heterozygotů (navíc jsou odchylky v různých populacích – francouzští Kanadčané 1:270, Libanon 1:170, 1:67 u Ashkenazi Židů, 1:100 u Jižní Afriky) a 1:1 milionu u homozygotů. FH je způsobena mutací v genu, který kóduje tvorbu LDL receptoru. Je charakterizována selektivním zvýšením LDL cholesterolu v plazmě, vznikem šlachových a kožních xanto-

mů, arcus lipoides corneae a předčasnou a progresivní aterosklerózou, KVO a mortalitou. Druhou formou ADH, která je odpovědná za 5–10% případů s FH, je familiární defekt apo B-100 (FDB) způsobený mutací genu pro apolipoprotein B, který je ligandem pro LDL receptor. FH však vykazuje daleko širší genetickou heterogenitu, než jsme dosud předpokládali. V roce 2003 byl v několika francouzských rodinách s FH, u kterých nebyla hypercholesterolemie podmíněna ani mutací v genu pro LDL receptor, ani v genu pro apolipoprotein B, prokázán třetí typ geneticky podmíněné mutace, vyvolávající ADH: mutace genu pro proprotein konvertázu subtilisin kexin-9 (PCSK9) (1). Jednalo se o mutaci typu p.F216L ve 4. exonu. Proband zemřel ve 49 letech na infarkt myokardu, jeho celkový cholesterol byl 11,5 mmol/l a LDL cholesterol 9,2 mmol/l. Stejná mutace byla prokázána u dvou hypercholesterolemických dětí probanda. Pozorování bylo poté potvrzeno u dalších hypercholesterolemických rodin v Utahu, Norsku, Anglii a Novém Zélandu. Objev PCSK9 znamená významný krok při výzkumu faktorů ovlivňujících homeostázu cholesterolu a již od počátku představuje slibný faktor s velkým potenciálem k využití v terapii zvýšení LDL cholesterolu.

Struktura a funkce PCSK9

Preprotein konvertáza subtilisin kexin-9 je protein, který se účastní intracelulární a extracelulární regulace exprese LDL receptoru. Jedná se o proteázu, která je přítomná v řadě tkání (játra, střeva, ledviny, nervový systém), predominantně v játrech (2). Tento enzym je součástí skupiny savčích serinových proprotein konvertáz, které řídí tvorbu sekrečních proteinů včetně neuropeptidů, prohormonů, cytokinů, růstových faktorů, receptorů, sérových proteinů a proteinů buněčných membrán. Protein PCSK9 byl dříve nazýván konvertáza 1 regulující apoptózu neuronů (neural apoptosis regulated convertase 1, NARC-1), a byl objeven při výzkumu primárních cerebelárních neuronů. Až do roku 2003

byla známa jen ojedinělá onemocnění v souvislosti s proprotein konvertázami – heterozygotní forma v genu PC1 (PCSK1) vede k obezitě a endokrinnímu onemocnění z důvodu poruchy tvorby prohormonů. V současné době je známo již přes 70 variant mutací v genu pro PCSK9. Krátce po objevu tzv. gain-of-function mutace v genu pro PCSK9, vyvolávající hypercholesterolemii, popsal Cohen et al. (3) jiný typ mutace v genu pro PCSK9, která je spojena naopak s hypocholesteremií a se sníženým výskytem KVO, tzv. loss-of-function mutací. Cohen et al. hledal mutace PCSK9 u jedinců s nízkými hladinami LDL cholesterolu (méně jak 1,5 mmol/l) v rámci Dallas Heart Study – multietnické populaci v texaském Dallasu (52% afroameričané, 29% evroameričané, 17% hispánci a 2% další etnika). Zjistil, že v USA má 1 z 50 afroameričanů nonsense mutaci PCSK9, která je spojena se signifikantně nižší (o 28%) koncentrací celkového cholesterolu a LDL cholesterolu v plazmě; ne všichni jedinci měli ale hypocholesterolemii. Jejich koncentrace LDL cholesterolu byla v 1.–5. percentilu po adjustaci na věk a pohlaví. Podobné mutace byly poté prokázány také v Nigérii a u afrických žen v Zimbabwe, kde byly spojeny se snížením LDL cholesterolu o 27 % (4). Následně Cohen et al. porovnával incidenci KVO (infarkt myokardu, fatální KVO nebo koronární revaskularizace) během 15 let sledování ve studii ARIC (Atherosclerosis Risk in Communities) v závislosti na přítomnosti či absenci mutací genu pro PCSK9 a prokázal, že snížení plazmatické koncentrace LDL cholesterolu v důsledku mutace vede ke snížení výskytu KVO (5) (obrázek 1). Dosud neuzavřenou otázkou je, proč je pokles KVO tak výrazný, když snížení cholesterolu tak dramatických hodnot nedosahuje.

PCSK9 snižuje počet LDL receptorů na povrchu buněk. Strukturu PCSK9 tvoří signální peptid – prodoména, katalytická doména a C-terminální doména (obrázek 2). Funkčně se vlastně jedná o chaperon (tj. protein, který kontroluje a zabezpečuje správnou prostorovou strukturu proteinů a brání vzniku nesprávných vazeb), nikoliv jen enzym – proteázu. Na povrchu buňky PCSK9 interaguje s EGF (epidermal growth factor) doménou LDL-receptoru. Komplex PCSK9/LDL-receptor je internalizován v endozomu, a afinitu mezi LDL-receptorem a PCSK9 oslabuje pokles pH. Z pohledu vývoje inhibitorů PCSK9 má velký význam zjištění, že protilátky proti C-terminální doméně PCSK9 nemají vliv na vazbu s LDL receptorem na povrchu buňky, ale signifikantně inhibují internalizaci komplexu PCSK9-LDL receptor. Interakce PCSK9-LDL receptor brání po endocytóze otevření konformace LDL receptoru. Tím pádem nemůže dojít k normální recyklaci a uvolnění zpět k plazmatické membráně, naopak dochází k degradaci

Obrázek 4. Léčba statiny zvyšuje koncentraci PCSK9 v plazmě a naopak snížení PCSK9 zesiluje hypolipidemický účinek statinů (upraveno podle 20)



LDL receptoru v lysozomech (obrázek 3). Mutace v genu pro PCSK9 navozují hypercholesterolemii právě zesílením molekulární interakce mezi PCSK9 a LDL receptorem. Např. mutace PCSK9-D374Y (gain-of-function) zesiluje vazbu PCSK9 na LDL receptor 6 až 30krát (6).

Tvorba jak PCSK9, tak LDL receptoru je řízena na úrovni transkripce intracelulární koncentrace cholesterolu prostřednictvím proteinu SREBP2 (sterol-responsive element binding protein 2). Při léčbě statiny dochází proto ke koindukci. Léčba statiny zvyšuje koncentraci PCSK9 v plazmě a naopak snížení PCSK9 zesiluje hypolipidemický účinek statinů (obrázek 4). Denní dávka 20 mg rosuvastatinu ve studii JUPITER (Justification for the Use of statins in Prevention: an Intervention Trial Evaluating Rosuvastatin) zvýšila plazmatické koncentrace PCSK9 u mužů o 28 % a u žen o 35 % (7). Konkomitantní upregulace PCSK9 i LDL receptoru má velký klinický význam. Inhibice PCSK9 může významně potencionovat LDL cholesterol snižující účinek statinů, a tím synergicky posílit vliv statinů na další snížení LDL cholesterolu a s tím spojeného rizika KVO.

Klinika zcela jistě zajímá otázka bezpečnosti farmakologicky navozené inhibice PCSK9. Mutace PCSK9 typu 'loss-of-function' byly popsány v homozygotní formě a byly spojeny s velmi nízkou koncentrací LDL cholesterolu (méně jak 0,4 mmol/l). Postižené ženy byly zdravé i fertilní, ačkoliv vykazovaly neměřitelné hodnoty PCSK9 (8). Na rozdíl od jiných vrozených těžkých hypocholesterolemií – např. abetalipoproteinemie nebo homozygotní hypobetalipoproteinemie, které jsou spojeny s malnutricí, steatorrheou, steatózou jater a s klinicky manifestním deficitem lipofilních vitaminů (noční slepota, defekty vibračního a propriocepčního čítí) se jeví hypocholesterolemie v důsledku deficitu PCSK9 jako benigní. U heterozygotů s mutací PCSK9 nedochází ke kumulaci triglyceridů v játrech jako u heterozygotů hypobetalipoproteinemie v důsledku odlišného původu hypocholesterolemie. Genetické defekty v apolipoproteinu B nebo microsomal triglyceride transfer proteinu brání tvorbě chylomikronů, a tím i snižují absorpci lipofilních vitaminů a sekreci prekurzorů LDL lipoproteinu – tj. VLDL (very-low-density lipoprotein). Hypocholesterolemie

při deficitu PCSK9 je primárně nejspíše vyvolána zvýšením clearance LDL a nikoliv snížením tvorby lipoproteinů. Zdá se, že PCSK9 není z klinického pohledu esenciálním proteinem a že jeho jedinou fyziologicky signifikantní úlohou je interakce s LDL receptorem. V experimentu na myších vede blok účinku PCSK9 k hypertrofii adipocytů a hromadění tuku s cytotoxickým poškozením beta-buněk pankreatu a s následným zhoršením glukózové tolerance (9). Protože PCSK9 také podporuje degradaci epiteliálního sodíkového kanálu ENaC, nelze zcela vyloučit, že inhibicí PCSK9 může dojít ke zvýšení renální absorpce sodíku, a tudíž ke zvýšení rizika hypertenze (10).

Inhibice PCSK9

K inhibici PCSK9 u pacientů s hypercholesterolemií s cílem navodit snížení LDL cholesterolu lze použít řadu postupů. Vzhledem k nesmírně rychlému vývoji problematiky však níže uvedený aktuální seznam v době publikace článku již nemusí být kompletní.

- Jedná se o následující strategie (tabulka 1):
- tzv. malé molekuly – *blokuji PCSK9 intracelulárně*,
 - interference s mRNA – *blok produkce PCSK9*,
 - anti sense technologie – *zásah do exprese genu*,
 - mimetické peptidy, adnectiny – *peptidy, které napodobují EGFA doménu LDL receptoru a které interagují s PCSK9, nebo které napodobují C-terminální doménu PCSK9*,
 - monoklonální protilátky: jsou zaměřené proti cirkulujícímu PCSK9 a v současné době představují jednoznačně nejrozvinutější a nejslibnější strategii.

Monoklonální protilátky v inhibici PCSK9

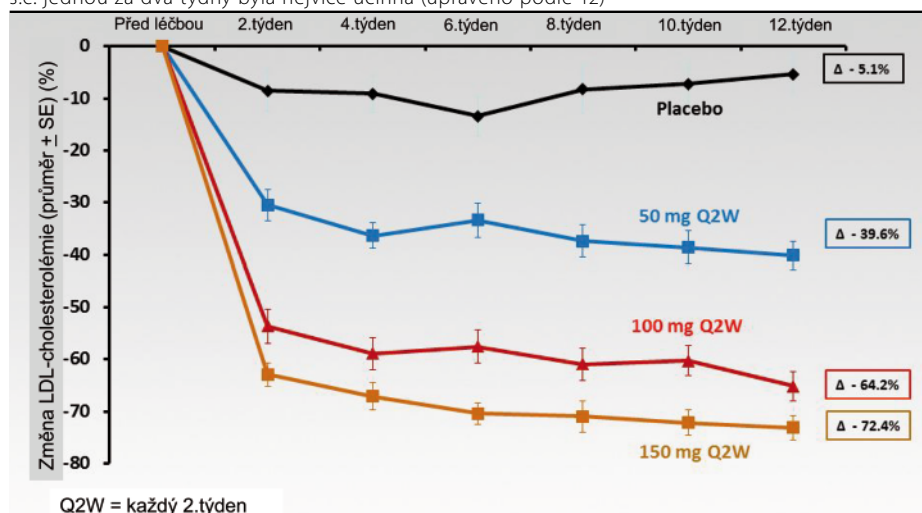
Ve vývoji je v současné době testováno několik protilátek proti PCSK9, které narušují interakci PCSK9-LDLR nebo inhibují internalizaci PCSK9. Data z humánních studií byla publikována pro tři takové protilátky: SAR236553/REGN727, AMG145 a RN316/PF04950615 (jsou vyvíjeny firmami Sanofi/Regeneron, resp. Amgen a Pfizer/Rinat). Další společnosti, které testují molekuly ve fázi I a II klinických zkoušek, jsou Novartis (LGT209), Roche/Genentech (RG7652) a Eli Lilly (LY3015014).

SAR236553/REGN727

Molekula SAR236553/REGN727 byla podávána ve studiích fáze I zdravým dobrovolníkům a byli léčeni i pacienti s hypercholesterolemií (11). Látka SAR236553/REGN727 byla podávána buďto i.v. (40 zdravých dobrovolníků), nebo s.c. (32 zdravých dobrovolníků). Aplikace SAR236553/REGN727 snížila LDL cholesterol v závislosti na dávce o 28–65 % při i.v. aplikaci (0,3–12,0 mg/kg) a o 32–46 % při s.c. aplikaci (50–250 mg). Při placebem kontrolované studii byla molekula SAR236553/REGN727 podávána s.c. v dávkách 50, 100 nebo 150 mg ve dnech 1, 29 a 43 dospělým pacientům s heterozygotní FH nebo nonfamiliární hypercholesterolemií při současně léčbě atorvastatinem a LDL cholesterolu více jak 2,6 mmol/l v dávce 150 mg. SAR236553/REGN727 signifikantně snížil LDL cholesterol o 38–65 % u pacientů léčených atorvastatinem a o 57 % u pacientů bez léčby atorvastatinem. Ke snížení LDL cholesterolu došlo při podávání SAR236553/REGN727 již za dva týdny. Ve studiích nebyly pozorovány nežádoucí účinky léčby, žádný z pacientů léčbu nepřerušil z důvodu nežádoucího účinku. Trvání účinku podané látky bylo delší u jedinců, kteří nebyli současně léčeni atorvastatinem, a proto se zdá, že statinem stimulovaná produkce PCSK9 může ovlivnit trvání terapeutického účinku monoklonální protilátky. U pěti pacientů došlo ke zvýšení kreatinkinázy více jak 3× nad horní limit. Dále byla efektivita a bezpečnost léčby SAR236553/REGN727 sledována ve třech klinických studiích fáze II, randomizovaných a dvojitě zaslepených, placebem kontrolovaných.

Během 12 týdnů bylo úspěšně léčeno celkem 183 pacientů s LDL cholesterolu nad 2,6 mmol/l, při současně terapii atorvastatinem v dávce 10, 20 nebo 40 mg (12). V závislosti na dávce došlo při léčbě dávkou 150 mg jednou za dva týdny (tato dávka byla nejvíce účinná) ke snížení LDL cholesterolu o 72 % (obrázek 5). Na snížení LDL cholesterolu neměla vliv dávka současně podávaného atorvastatinu. Došlo také k signifikantnímu snížení apoB, non-HDL-cholesterolu, triglyceridů a lipoproteinu (a). Tolerance SAR236553/REGN727 byla uspokojivá, kromě nevýznamných přechodných lokálních reakcí po aplikaci s.c. injekce. U jednoho pacienta došlo po aplikaci SAR236553/REGN727 v dávce 1× za 4 týdny – nejspíše v kauzální souvislosti s léčbou – ke vzniku leukocytoklastické vaskulitidy, která rychle ustoupila po přerušení léčby a aplikaci kortikoidů. V další studii fáze II bylo léčeno celkem 77 heterozygotů FH, na stabilní dávce statinu (s i bez ezetimibu) a LDL-C nejméně 2,6 mmol/l v pěti skupinách (13): SAR236553/REGN727 v závislosti na dávce snížil LDL cholesterol o 29–43 % při dávce 150–300 mg jednou za 4 týdny a o 68 %

Obrázek 5. Během 12 týdnů bylo úspěšně léčeno SAR236553 celkem 183 pacientů s LDL cholesterolem nad 2,6 mmol/l, při současné terapii atorvastatinem v dávce 10, 20 nebo 40 mg. Dávka 150 mg s.c. jednou za dva týdny byla nejvíce účinná (upraveno podle 12)



při dávce 150 mg jednou za dva týdny. Ke snížení LDL cholesterolu došlo již za dva týdny léčby. Při dávce jednou za 4 týdny bylo patrné snížení efektivity, zatímco při léčbě dávkou 150 mg jednou za dva týdny bylo snížení LDL cholesterolu stabilní po celou 12týdenní dobu sledování. Při léčbě nejvíce účinnou dávkou a intervalem (150 mg jednou za dva týdny) dosáhlo více jak 80% pacientů snížení LDL cholesterolu na hodnoty méně jak 1,8 mmol/l, a dále došlo k signifikantnímu snížení apo-B a non-HDL-cholesterolu a zvýšení HDL-cholesterolu a apo-AI (tabulka 2). Léčba SAR236553/REGN727 byla tolerována velmi dobře, nebyly zaznamenány žádné závažné nežádoucí účinky ani laboratorní abnormality. Lokální reakce na s.c. injekce mělo 27–44% pacientů s aktivní léčbou (13% při léčbě placebem), a jeden pacient léčený vysokou dávkou 300 mg jednou za 4 týdny musel studii ukončit pro lokální reakce po injekcích a pruritus.

AMG145

Výsledky léčby AMG145 u pacientů s hypercholesteremií byly publikovány v několika pla-

cebem kontrolovaných studiích fáze II. AMG145 byl podáván s.c. po dobu 12 týdnů při současné stabilní dávce statinu a vedl k na dávce závislému snížení LDL cholesterolu o 41,8–66,1%. Při aplikaci každé 4 týdny bylo snížení LDL cholesterolu obdobné (cca 50%) při dávkách 350 mg a 420 mg. Aplikace po 4 týdnech na rozdíl od podávání po 2 týdnech navodila mírný rebound LDL cholesterolu. Nejvíce účinná byla léčba při dávce 140 mg jednou za dva týdny, a vedla nejen ke snížení LDL cholesterolu, ale také apoB, non-HDL-C a triglyceridů (tabulka 2) a více jak 90% pacientů dosáhlo cílových hodnot 1,8 mmol/l LDL cholesterolu, 2,6 mmol/l non-HDL-cholesterolu a 2,1 g/l apoB. Výskyt nežádoucích účinků byl srovnatelný při léčbě AMG145 i placebem, a byly zachyceny jen dva nežádoucí účinky spojené s přerušáním léčby dávkou 140 mg jednou za dva týdny (jeden pacient se symptomatickou elevací CPK >10krát nad horní limit normy, jeden pacient s rozvojem svalové slabosti). Ve studii MENDEL (Monoclonal Antipody Against PCSK9 to Reduce Elevated LDL-C in Patients Currently Not Receiving Drug Therapy

For Easing Lipid Levels) bylo léčeno 406 pacientů monoterapií AMG145 a snížení LDL cholesterolu bylo obdobné jako při léčbě ezetimibem (14). Proto se domníváme, že účinnost podávání AMG145 jednou za dva týdny bude při monoterapii méně efektivní než při současné léčbě statinem.

Účinnost léčby AMG145 jednou za 4 týdny byla dále sledována u heterozygotů FH v randomizované studii RUTHERFORD (The Reduction of LDL-C with PCSK9 Inhibition in Heterozygous Familial Hypercholesterolemia Disorder) (15) a u pacientů, kteří netolerovali léčbu statiny ve studii GAUSS (Goal Achievement after Utilizing an anti-PCSK9 antibody in Statin Intolerant Subjects) (16). V obou studiích vedla léčba AMG 420 mg jednou za 4 týdny ke snížení LDL cholesterolu o více jak 50%, se signifikantním snížením apoB, non-HDL-C a Lp (a) (tabulka 2). Kombinace AMG 145 s ezetimibem aditivně snížila LDL cholesterol o více jak 63%. Ve studii RUTHERFORD byly popsány dva závažné nežádoucí účinky bez vztahu k léčbě AMG145. Ve studii GAUSS byly popsány čtyři závažné nežádoucí účinky bez vztahu k léčbě AMG145. U pacientů netolerujících statiny byl nejčastějším nežádoucím účinkem výskyt myalgií, ale v nízké frekvenci (3% ve skupinách s placebem, AMG 350 mg a 420 mg; 20% ve skupině AMG 420 mg/ezetimibe); dva pacienti léčení AMG 350 mg měli elevaci CK větší jak 10násobek normy.

RN316/PF04950615

RN316 je humanizovaná protilátka s pH-senzitivní vazbou PCSK9 na tu doménu LDL receptoru, která se váže na EGF doménu (epidermal growth factor-like repeat A domain), a byla vyvíjena s cílem navodit déleodobější poločas v séru a tak i protrahované snížení LDL cholesterolu. V klinické studii fáze II došlo k signifikantnímu snížení LDL cholesterolu při léčbě dávkou 3,0 a 6,0 mg/kg RN316 podávané i.v. při současné léčbě vyšší až maximální dávkou statinu. Bylo

Tabulka 2. Vliv léčby monoklonálními protilátkami PCSK9 (SAR 150 mg 1 × za 2 týdny a AMG 140 mg 1 × za 2 týdny nebo 420 mg 1 × za 4 týdny) na koncentraci lipidů a lipoproteinů v plazmě v klinických studiích fáze II (upraveno podle 21)

	Popis studie	LDL-C (%)	ApoB (%)	Non-HDL-C (%)	TG (%)	Lp(a) (%)	HDL-C (%)
SAR 150 mg Q2W	Pacienti na stabilní dávce atorvastatinu	-67,3	-58,3	-60,3	-28,6	-28,6	6,5
	Pacienti při léčbě atorvastatin 10mg	-66,2	-54,4	-58,3	-4,0	-34,7	2,6
	Heterozygoti FH	-57,3	-43,8	-46,6	-5,7	-19,5	10,1
AMG 140 mg Q2W	Pacienti na stabilní dávce statinu	-66,1	-56,4	-61,4	-33,7	NA	8,1
	Pacienti s/bez statinu	-47,2	-44,2	-45,2	-12,0	-29,3	10,2
AMG 420 mg Q4W	Pacienti na stabilní dávce statinu	-50,3	-42,0	-47,6	-19,4	NA	4,5
	Heterozygoti FH	-56,4	-46,2	-53,5	-19,9	-31,5	6,8
	Pacienti s/bez statinu	-52,5	-42,5	-47,1	-3,3	-29,2	5,8
	Pacienti netolerující statiny	-50,7	-42,1	-48,6	-14,2	-23,6	7,4

Q2W – každé dva týdny; Q4W – každé čtyři týdny

pozorováno pouze několik málo nežádoucích účinků. Vývoj léku v současné době pokračuje do podoby s.c. injekcí a probíhá studie fáze IIb u pacientů léčených statinem.

Závěr

Z výsledků dosud provedených klinických studií máme k dispozici konzistentní důkazy o tom, že léčba inhibitory PCSK9 (zatím v podobě monoklonálních protilátek) vede k signifikantnímu snížení aterogenních lipoproteinů. Monoklonální protilátky účinně snižují LDL cholesterol, non-HDL-cholesterol a apoB, a mají dále pozitivní vliv na snížení Lp (a) a částečně i triglyceridů. Léčba inhibicí PCSK9 má u lidí jen omezený účinek na koncentraci HDL cholesterolu a apoA1. Efektivita léčby monoklonálními protilátkami proti PCSK9 byla dosud prokázána při aditivní léčbě se statiny u hypercholesterolemických pacientů s a bez FH, u pacientů netolerujících statiny a také v monoterapii. Byl pozorován aditivní účinek léčby inhibitory PCSK9 a ezetimibem u statin-intolerantních pacientů. Předpokládáme, že léčba monoklonálními protilátkami proti PCSK9 má méně nežádoucích účinků než léčba maximálními dávkami statinů. Terapie monoklonálními protilátkami proti PCSK9 se do současné doby ukazuje jako dobře tolerovaná, kromě lehkých lokálních reakcí na s.c. injekce, a není spojena s jinými klinicky závažnými účinky. Před dalším rozšířením léčby inhibitory PCSK9 je nutné vyřešit řadu problémů, zejména dlouhodobou bezpečnost a účinnost léčby. V současné době probíhá několik randomizovaných dlouhodobých klinických studií s monoklonálními protilátkami proti PCSK9. Očekáváme, že tyto studie přinesou odpovědi na problematiku možných vlivů léčby na imunitní systém a na tvorbu protilátek proti vyvíjeným léčivům. Dosavadní vynikající tolerabilitu, zejména nízký výskyt lokálních reakcí na injekce, je také nezbytným předpokladem dlouhodobé compliance pacientů. Také je třeba vyřešit otázku frekvence podávání (jednou za 1, 2 či více týdnů) ve vztahu k účinnosti a tolerabilitě. Kromě léčby monoklonálními protilátkami proti PCSK9 máme zatím jen velmi málo údajů o molekulách z jiných skupin s jinými mechanismy účinku. Dále bude třeba prokázat účinek léčby inhibitory PCSK9 na riziko KVO ve vztahu ke snížení LDL cholesterolu. I takové studie již byly zahájeny a probíhají mimo jiné na několika pracovištích i v České republice. Protože jsou tyto studie plánovány jako dlouhodobé, přinesou i odpovědi na otázky významu a dlouhodobé bezpečnosti velmi nízkých koncentrací LDL cholesterolu, i když předběžná data od pacientů – složených

heterozygotů nebo homozygotů při tzv. loss-of-function mutaci s velmi nízkými nebo nedetekovatelnými koncentracemi PCSK9 a velmi nízkými hodnotami LDL cholesterolu (cca 0,4 mmol/l) – ukazuje na významné snížení rizika KVO. Kromě již uvedeného bude třeba, aby budoucí klinické studie ozřejmily další podrobnosti o fyziologickém významu inhibice PCSK9 u nejrozličnějších skupin pacientů – např. u pacientů se smíšenou hyperlipidemií, metabolickým syndromem nebo diabetem (mimo jiné i proto, že byla publikována data o zhoršené toleranci glukózy u myší s deficitem PCSK9 a abnormalitami pankreatu) (9). Nevíme dosud také, jaký bude mít dopad léčba inhibitory PCSK9 u populace homozygotů FH nebo u vzácně se vyskytujících gain-of-function mutací v genu pro PCSK9, vyvolávající hypercholesterolemii. Hlavními kandidáty léčby inhibitory PCSK9 jsou v současné chvíli zejména heterozygoti FH, a to i proto, že vysoké procento z nich nedosahuje cílových hodnot LDL cholesterolu navzdory maximálně tolerovatelné léčbě dostupnými hypolipidemiky. Z dosud získaných dat lze reálně předpokládat, že prakticky všichni heterozygoti FH mohou cílové hodnoty LDL cholesterolu léčbou inhibitory PCSK9 docílit. Další cílovou skupinou budou pacienti s vysokým rizikem KVO, kteří nedosáhli cílových hodnot i při maximální tolerovatelné léčbě hypolipidemiky. Další důležitou otázkou při širším uplatnění bude cena léčby, která bude (pokud vycházíme z léčby jinými obdobnými přípravky charakteru biologické léčby) bezpochyby vysoká.

Práce byla podpořena projekty IGA MZ ČR NT/12287–5 a PRVOUK P 37/12 LF UK Hradec Králové.

Literatura

1. 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: 154–156.
2. Seidah NG, Prat A. The biology and therapeutic targeting of the preprotein convertases. *Nat Rev Drug Discov* 2012; 11: 367–383.
3. Cohen J, Pertsemliadis 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: 161–165.
4. Hooper AJ, Marais AD, Tanyanyiwa DM, Burnett JR. The C679X mutation in PCSK9 is present and lowers blood cholesterol in a Southern African population. *Atherosclerosis* 2007; 193: 445–448.
5. 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: 1264–1272.
6. Bottomley MJ, Cirillo A, Orsatti L, et al. Structural and biochemical characterization of the wild type PCSK9-EGF (AB) complex and natural familial hypercholesterolemia mutants. *J Biol Chem* 2009; 284: 1313–1323.

7. Awan Z, Seidah NG, Macfadyen JG, et al. Rosuvastatin, preprotein convertase subtilisin/kexin type 9 concentrations, and LDL cholesterol response: the JUPITER Trial. *Clin Chem* 2012; 58: 183–189.
8. Zhao Z, Tuakli-Wosorny Y, Lagace TA, et al. Molecular characterization of loss-of-function mutations in PCSK9 and identification of a compound heterozygote. *Am J Hum Genet* 2006; 79: 514–523.
9. Mbikay M, Sirois F, Mayne J, et al. PCSK9-deficient mice exhibit impaired glucose tolerance and pancreatic islet abnormalities. *FEBS Lett* 2010; 584: 701–706.
10. Sharotri V, Collier DM, Olson DR, et al. Regulation of epithelial podium channel trafficking by proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 (PCSK9). *J Biol Chem* 2012; 287: 19266–19274.
11. Stein EA, Mellis S, Yancopoulos GD, et al. Effect of a monoclonal antibody to PCSK9 on LDL cholesterol. *N Engl J Med* 2012; 366: 1108–1118.
12. McKenney JM, Koren MJ, Kereiakes DJ, et al. 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. *J Am Coll Cardiol* 2012; 59: 2344–2353.
13. Stein EA, Gipe D, Bergeron J, et al. Effect of a monoclonal antibody to PCSK9, REG727/SAR236553, to reduce low-density lipoprotein cholesterol in patients with heterozygous familial hypercholesterolemia on stable statin dose with or without ezetimibe therapy: a phase 2 randomised controlled trial. *Lancet* 2012; 380: 29–36.
14. Koren MJ, Scott R, Kim JB, et al. Efficacy, safety, and tolerability of a monoclonal antibody to proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 as monotherapy in patients with hypercholesterolemia (MENDEL): a randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 2 study. *Lancet* 2012; 380: 1995–2006.
15. Raal F, Scott R, Somaratne R, et al. Low-density lipoprotein cholesterol lowering effects of AMG145, 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: 2408–2417.
16. Sullivan D, Olsson AG, Scott R, et al. Effect of a monoclonal antibody to PCSK9 on low-density lipoprotein cholesterol levels in statin-intolerant patients. The GAUSS randomized trial. *JAMA* 2012; 308: 2497–2506.
17. Farnier M. PCSK9 inhibitors. *Curr Opin Lipidol* 2013; 24: 251–258.
18. Piper DE, Jackson S, Liu Q, et al. The crystal structure of PCSK9: a regulator of plasma LDL-cholesterol. *Structure* 2007; 15: 545–552.
19. Soutar AK. Unexpected roles for PCSK9 in lipid metabolism. *Curr Opin Lipidol* 2011; 22: 192–196.
20. Maxwell KN, Breslow JL. Proprotein convertase subtilisin kexin 9: the third locus implicated in autosomal dominant hypercholesterolemia. *Curr Opin Lipidol* 16: 167–172.
21. Marais DA, Blom DJ, Petrides F, Gouëffic Y, Lambert G. Proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 inhibition. *Curr Opin Lipidol* 2012; 23(6): 511–517.

Článek přijat redakcí: 17. 7. 2013

Článek přijat k publikaci: 19. 9. 2013

prof. MUDr. Vladimír Bláha, CSc.

*III. interní gerontometabolická klinika LF UK a FN
Sokolská 581, 500 05 Hradec Králové
blaha@lfhk.cuni.cz*