

Farmakoterapia zameraná na znižovanie LDL cholesterolu. Statíny, kombinácia hypolipidemík a čo ďalej?

Fábryová Ľ

Metabol KLINIK s.r.o., Bratislava, Slovenská republika

Fábryová Ľ. **Pharmacotherapy aimed at reducing LDL-Cholesterol. Statins, combined hypolipidemic therapy and what next?** Cardiology Lett 2012;21(5):420–427

Abstract. Strategies for preventing complications of atherosclerotic vascular disease have emphasized risk factor modification using treatment approaches supported by evidence-based medicine (aspirin and/or clopidogrel, β -adrenergic blockers, angiotensin-converting enzyme inhibitors and statins). Despite the intensive management conventional risk factors (also with higher doses of statins or combined hypolipidemic therapy) residual cardiovascular and cerebrovascular risks remain high.

There is the prospect that developing novel hypolipidemic therapies that target the atherogenic lipoproteins – squalene synthase inhibitors, microsomal transfer protein inhibitors, antisense oligonucleotides to apo B, anti PCSK9 monoclonal antibodies will provide incremental benefit for the high risk cardiovascular disease patient. In Slovakia there are ongoing or planned clinical studies with these new classes of lipid-lowering agents, which for many of us means important clinical experience. Fig 4, Ref. 31 Online full text (Free, PDF) www.cardiology.sk

Key words: squalene synthase inhibitors – MTP inhibitors – antisense oligonucleotides to apo B – anti PCSK9 monoclonal antibodies

Fábryová Ľ. **Farmakoterapia zameraná na znižovanie LDL cholesterolu. Statíny, kombinácia hypolipidemík a čo ďalej?** Cardiology Lett 2012;21(5):420–427

Abstrakt. Prevencia aterotrombotických komplikácií je zameraná na modifikáciu rizikových faktorov aterotrombózy prostredníctvom liekov podporovaných EBM (evidence based medicine) – aspirín/a alebo klopidogrel, betablokátory, ACE inhibítory a statíny. Avšak napriek intenzívnemu manažmentu konvenčných rizikových faktorov aterosklerózy (aj s využitím vysokých dávok statínov alebo kombinovanej hypolipidemickej liečby) ostáva reziduálne kardiovaskulárne a cerebrovaskulárne riziko stále vysoké.

Toto všetko vedie k ďalšej snahe ovplyvniť prognózu vysokorizikových pacientov vývojom nových hypolipidemík, ktoré sú zamerané na ďalšie ovplyvnenie aterogénnych lipoproteínov. Vo vývoji sú v súčasnosti inhibítory squalén syntázy, inhibítory mikrozomálneho proteínu transferujúceho triacylglyceroly, anti-sense oligonukleotidy pre apo B a anti-PCSK9 monoklonálne protilátky.

Na Slovensku v súčasnosti prebiehajú alebo sa plánujú klinické štúdie s „novými“ skupinami hypolipidemík, čo pre mnohých z nás bude znamenať dôležitú klinickú „predskúsenosť“. Obr. 4, Lit. 31, Online full text (Free, PDF) www.cardiology.sk

Kľúčové slová: inhibítory squalén syntázy – MTP inhibítory – anti-sense oligonukleotidy pre apo B – anti-PCSK9 monoklonálne protilátky

Súčasná stratégia na prevenciu aterotrombotických komplikácií sú zamerané na modifikáciu rizikových faktorov aterotrombózy prostredníctvom liekov podporovaných

EBM (evidence based medicine) – aspirín/a alebo klopidogrel, betablokátory, ACE inhibítory a statíny (1). Avšak u mnohých pacientov s diagnostikovanými komplikáciami

Z Metabol KLINIK s.r.o., Ambulancia pre diabetológiu, poruchy látkovej premeny a výživy, Špecializovaná lipidologická ambulancia, MED PED centrum v Bratislave, Slovenská republika

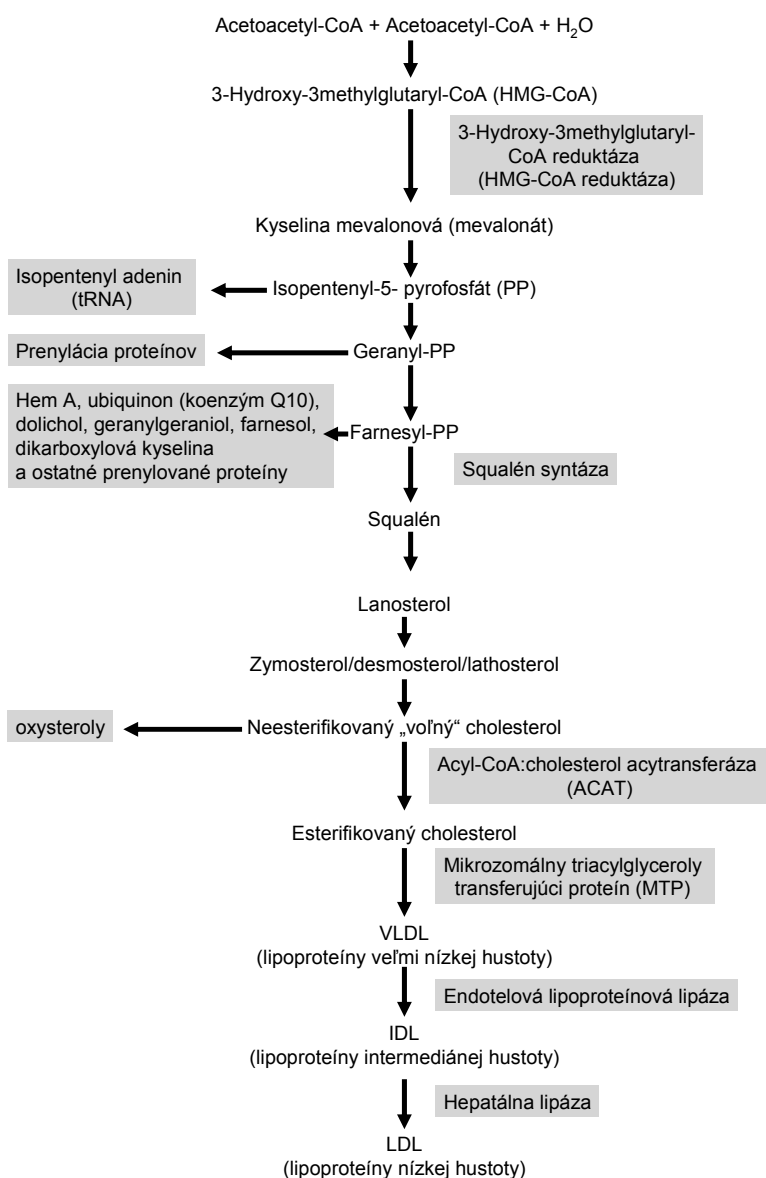
Do redakcie došlo dňa 30. marca 2012; prijaté dňa 2. mája 2012

Adresa pre korešpondenciu: MUDr. Ľubomíra Fábryová, PhD., Metabol KLINIK s.r.o. Ambulancia pre diabetológiu, poruchy látkovej premeny a výživy, Špecializovaná lipidologická ambulancia, MED PED centrum, Cukrová 3, 811 08 Bratislava, e-mail: lfabryova@metabolklunik.sk

aterotrombózy [(ischemická choroba srdca (ICHS), infarkt myokardu (IM), tranzitórny ischemický atak (TIA), náhla cievna mozgová príhoda (NCMP), periférne arteriálne ochorenie (PAO)] alebo mnohopočetnými rizikovými faktormi aterotrombózy, ktorí sú liečení vyššie uvedenými liekmi podporenými EBM, jednoročné riziko prekonania kardiovaskulárnej príhody (fatálny a nefatálny IM, NCMP alebo hospitalizácia pre aterotrombotickú príhodu) varíruje od 5,31 % (pacienti s mnohopočetnými rizikovými faktormi) do 12,58 % pre pacientov so symptomatickým aterosklerotickým postihnutím v jednej lokalizácii (2). Recidíva kardiovaskulárnej príhody sa vyskytuje u pacientov s akútnym koronárnym

syndrómom od 14,7 % do 22,4 % v období 2 – 2,5 roka od prvej príhody, napriek statínovej liečbe (3).

Napriek intenzívnemu manažmentu konvenčných rizikových faktorov (liečba vyššími dávkami statínov alebo kombinovaná hypolipidemická liečba) ostáva reziduálne riziko pre kardiovaskulárne príhody stále vysoké. Reziduálne kardiovaskulárne riziko v užšom slova zmysle predstavuje riziko vzniku kardiovaskulárnych a cerebrovaskulárnych príhod u vysokorizikových pacientov, ktorí dosahujú metabolickú kompenzáciu diabetes mellitus, cieľového hodnoty pre krvný tlak, ako aj v súčasnosti akceptované a platné cieľové hodnoty pre LDL cholesterol (LDL-C) (4).



Obrázok 1 Hepatálna syntéza cholesterolu a lipoproteínov (modifikované podľa 5)

Figure 1 Hepatic synthesis of cholesterol and lipoproteins (modified according to 5)

Snaha ovplyvniť prognózu vysokorizikových pacientov vedie k vývoju nových hypolipidemík ovplyvňujúcich aterogénny LDL cholesterol. V rôznych štádiách klinického skúšania máme k dispozícii v súčasnosti inhibítory squalén syntázy, MTP inhibítory, anti-sense oligonukleotidy pre apo B a anti-PCSK9 monoklonálne protilátky (5, 6).

Inhibítory squalén syntázy

Inhibítory HMGCoA reduktázy (statíny) sú v súčasnosti najlepšie preskúmanými a najznámejšími hypolipidemikami s najrozsiahlejšou EBM. HMG-CoA (3-hydroxy-3-metylglutaryl-koenzým A) reduktáza je enzým, ktorý konvertuje HMG-CoA na kyselinu mevalonovú (mevalonát). Konverzia je dôležitým stupňom v syntéze cholesterolu, ako aj jeho intermediárnych produktov. Ďalším medzistupňom medzi HMG-CoA reduktázou a ukončením syntézy cholesterolu je tvorba squalénu prostredníctvom squalén syntázy (SS) (**obrázok 1**).

V ostatných rokoch sa vývoj nových hypolipidemík sústredil aj na inhibítory squalén syntázy (SSI) (7). Hlavným dôvodom je predpoklad, že intolerancia statínov môže bezprostredne súvisieť s redukciou látok derivovaných z mevalonátu. SSI neovplyvňujú syntézu týchto látok (zabraňujú blokáde prenylácie proteínov indukovanej statínmi), čím by mohli mať teoretickú výhodu u pacientov s intoleranciou statínov alebo s rizikom intolerance liečby statínmi. Kombinovaná liečba statín s SSI (tolerovaná dávka statínu a lapaquistat) by mohla mať svoje opodostatnenie u pacientov netolerujúcich vysoké dávky statínov. Takáto kombinácia by mohla viesť k dosiahnutiu rovnakého, respektíve aj väčšieho poklesu LDL-C ako pri použití vysokých dávok statínov (8).

Effekt inhibitorov SS na bunkové jadrové receptory ostáva ešte stále nejasný. Pečeňové X (liver X – LXRs) receptory môžu byť pozitívne alebo negatívne ovplyvňované metabolitmi vznikajúcimi na metabolickej ceste medzi enzýmami HMGCoA reduktázou a squalén syntázou, čo môže viesť k ovplyvneniu metabolizmu glukózy a lipidov. Z klinickej perspektívy aktivácia LXR je jedným z možných mechanizmov, pomocou ktorých môžu napríklad sekvestranty žlčových kyselín znižovať glykémiu.

V klinických štúdiách u zdravých dobrovoľníkov došlo k rýchlej absorpcii lapaquistatu (TAK 475) z tráviaceho traktu, ako aj rýchlej konverzii na aktívne metabolity s vylučovaním najmä biliárnou cestou a stolicou (0,2 % renálna exkrécia). Hoci sa lapaquistat významnou mierou metabolizuje cez cytochróm P 450 (CYP) 3A4, nevyskytli sa štatisticky významné interakcie so statínmi (atorvastatín) metabolizovanými cez rovnaký enzymatický systém (9, 10).

Monoterapia lapaquistatom viedla k štatisticky významnému zníženiu (v závislosti od dávky 25 mg, 50 mg, 100 mg) LDL-C (-15,8 %; -18,4 %; -26,3 %), apo B (-13,8 %; -15,3 %;

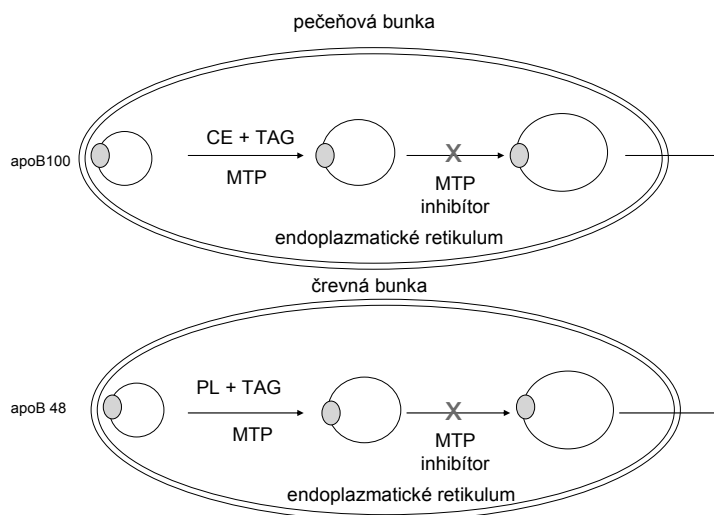
-19,6 %) a TAG (0 %; -17,2 %; -14,1 %) a zvýšeniu HDL-C (1,1 %; 7,7 %; 6,3 %). Veľmi podobný efekt na lipidové spektrum sa prejavuje aj po pridání lapaquistatu k stabilnej dávke statínu (údaje sú dostupné z prác s atorvastatínom v dávke 10 a 20 mg) (7). Lapaquistat znižuje C reaktívny proteín (hs CRP) tak v monoterapii, ako aj v kombinácii so statínmi. Zo širokej analýzy dostupných údajov venovaných bezpečnosti lapaquistatu bol zaznamenaný vzostup hepatálnych transamináz pri dávke 100 mg. Vývoj lapaquistatu bol na základe týchto údajov pozastavený a ďalší osud tohto hypolipidemika závisí od nových údajov týkajúcich sa účinnosti a bezpečnosti dávok nižších ako 100 mg/deň (11 – 13).

Inhibítory mikrozomálneho proteínu transferujúceho triacylglyceroly

Tvorbu apo B obsahujúcich lipoproteínov (VLDL častíc v pečeni alebo chylomikrónov v čreve) sprostredkováva MTP (mikrozomálnym triacylglyceroly transferujúcim proteínom), ktorý sa nachádza v endoplazmatickom retikule hepatocytov a enterocytov (**obrázok 2**). MTP prenáša triacylglyceroly (TAG), estery cholesterolu (EC) a fosfatidylcholín do VLDL a chylomikrónov. Zvýšená produkcia chylomikrónov vedie k postprandiálnej hypertriacylglycerolémii, zvýšená produkcia VLDL častíc vedie k zvýšeniu TAG nalačno, k zvýšeniu aterogénnych lipoproteínových častíc a zvýšeniu non-HDL cholesterolu, ktoré majú vzťah k zvýšenému kardiovaskulárnemu riziku. LDL častice a cholesterol prenášaný v LDL časticích pochádza taktiež z VLDL, čiže zníženie produkcie VLDL prostredníctvom ovplyvnenia prenosu lipidov do VLDL častíc (napríklad inhibíciou MTP) by mohlo byť dobrou cestou redukcie tak cholesterolu, ako aj TAG (14).

Absencia MTP, ktorá sa vyskytuje u vzácného genetického autozomálne recesívneho ochorenia – abetalipoproteinémie, vedie k nízkym hodnotám celkového cholesterolu a TAG, k steatorei, malnutricii, oftalmologickým, neurologickým, hematologickým problémom a svalovým abnormalitám. Abetalipoproteinémia sa spája aj so steatózou pečene. U pacientov s parciálnym deficitom MTP (familiárna hypobetalipoproteinémia – autozomálne dominantné ochorenie) bývajú hodnoty celkového cholesterolu asi 2,0 mmol/l, LDL-C asi 0,5 mmol/l, TAG približne 0,8 mmol/l. Pacienti majú mierne zvýšené hepatálne enzýmy a prítomnú steatózu pečene (14).

Povzbudzujúce výsledky predklinického skúšania na zvieracích modeloch viedli k inicializácii štúdie s lomitapidom (AEGR-733, BMS-201038) u šiestich pacientov s homozygotnou formou familiárnej hypercholesterolémie. V snahe predísť steatorei boli pacienti na nízkotukovej diéte (10 % z kalorického denného príjmu). Lomitapid v dávke 0,03 mg/kg/deň počas štyroch týždňov viedol k 25 % poklesu LDL-C, po zvýšení dávky na 1,0 mg/kg/deň počas



Obrázok 2 MTP sprostredkovaná inkorporácia esterov cholesterolu, triacylglycerolov a fosfolipidov do apo B obsahujúcich častíc. Inhibícia MTP vedie k redukcii počtu častíc obsahujúcich apoB v cirkulácii (modifikované podľa 14)

Figure 2 MTP incorporates cholesteryl esters and triglycerides into the growing particle within the endoplasmic reticulum. Inhibition of MTP reduces the number of apo-B-containing particles in the plasma (modified according to 14)

MTP – mikrozomálny proteín transferujúci triacylglyceroly (microsomal transfer protein), CE – estery cholesterolu (cholesteryl ester), TAG – triacylglyceroly (triglycerides), PL – fosfolipidy (phospholipids)

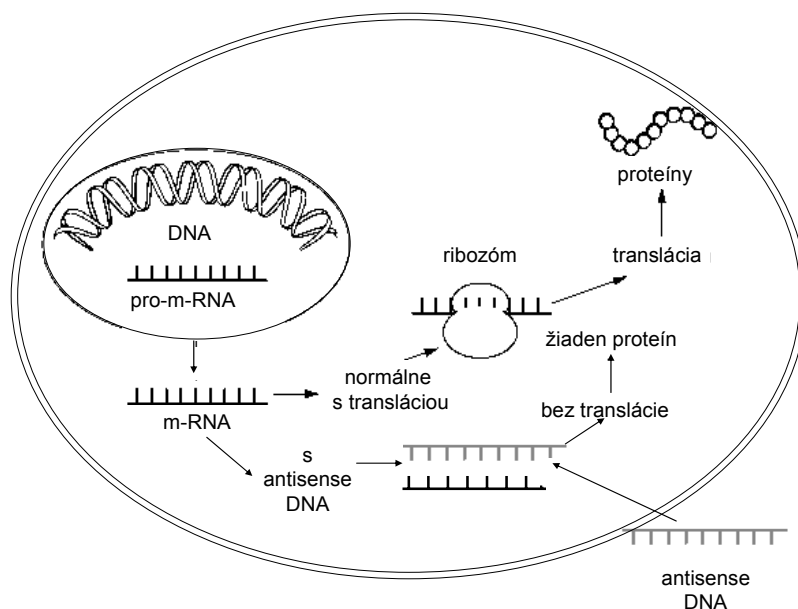
ďalších štyroch týždňov bol pokles LDL-C o 50 %. Pokles apo B a TAG bol na maximálnej dávke 50 a 65 %. Väčšina pacientov mala vyšší počet stolíc (išlo o pacientov s vyšším ako 10 % príjmom tukov), štyria pacienti mali vyššie hodnoty aminotransferáz a všetci pacienti mali zvýšený obsah hepatálneho tuku (pri MRI vyšetrení) oproti vstupu do štúdie (15). Následná štúdia u 84 pacientov s hypercholesterolemiou sa uskutočnila s nižšími dávkami lomitapidu a testovala hypotézu, či nižšie dávky inhibítora MTP budú viesť k podobnému zníženiu lipidového spektra a súčasne k nižšiemu výskytu vedľajších účinkov. Účastníci klinického skúšania mali odporúčanú nízкотukovú diétu (< 20 % tukov a < 7 % nasýtených mastných kyselín). Boli rozdelení do troch skupín (prvá skupina dostávala ezetimib 10 mg vs placebo, druhá skupina dostávala lomitapid – postupne každý týždeň vo zvyšujúcej sa dávke – (5,0 mg, 7,5 a 10 mg denne), tretia skupina dostávala liečbu ako druhá skupina, avšak v kombinácii s ezetimibom, všetko počas 12 týždňov. Výsledky týkajúce sa ovplyvnenia lipidového spektra boli klinicky zaujímavé [dokonca bol zaznamenaný aj 16 % pokles Lp(a)]. Menej priaznivý bol pokles HDL-C. 18 % pacientov prerušilo klinické skúšanie pre zvýšenie pečeňových testov (obsah tuku v pečeni sa v štúdiu neskúmal). Najčastejšie vyskytujúcim sa nežiaducim účinkom boli hnačky, zápcha a nechutenstvo (16). Pre neakceptovateľnú steatózu pečene so zvýšenými hepatálnymi enzýmami, ako aj príznaky črevnej malabsorpcie tukov pri vysokých dávkach MTP inhibítorov bol ich vývoj pozastavený (17).

Anti-sense oligonukleotidy pre apolipoproteín B

Vychytávanie LDL častíc z plazmy je kľúčové v metabolizme LDL a je sprostredkované väzbou apo B na LDL receptor (LDLR) s následnou internalizáciou a metabolizovaním komplexu v pečeni. Mutácie v géne pre apo B (najčastejšie sa vyskytujúca mutácia R 3500Q) zapríčínujú familiárne defektný apo B a vedú k zvýšeniu LDL-C, ako aj k zvýšeniu kardiovaskulárneho rizika. Niektoré mutácie v géne pre apo B zasa naopak môžu viesť k zníženiu hladín apo B a LDL-C, čo sa spája so znížením rizika rozvoja aterosklerózy. Tieto genetické abnormality potvrdzujú, že apo B môže byť efektívnym cieľom pre redukciiu LDL-C. Ďalšou možnosťou, ako znížiť LDL-C je ovplyvnenie génovej expresie apolipoproteínových zložiek aterogénnych lipoproteínov (18).

DNA je dvojvláknová závitnica, pričom jedno vlákno reprezentuje „sense“ genetickú kódovú sekvenciu, kým druhé vlákno (komplementárne purínové/pyrimidínové bázy) reprezentuje „antisense“ genetickú kódovú sekvenciu. Počas transkripcie pri oddelení „sense a antisense“ vlákna, „antisense“ DNA slúži ako predloha na vytvorenie jednoreťazovej „sense“ mRNA, ktorá migruje z jadra do cytozolu, kde ribozómy „preložia“ túto informáciu do tvorby proteínov (obrázok 3).

Vo vývoji sú nové lieky, ktoré zasahujú do translačného procesu proteínov alebo špecificky blokujú patologické alebo patogénne proteíny („antisense“ agensy), s možnosťou ovplyvňovať metabolické (diabetes mellitus, dyslipidémia),



Obrázok 3 Blokáda translácie a inhibícia produkcie proteínov oligonukleotidmi (modifikované podľa 18)

Figure 3 Blockade translation and inhibition of protein production by antisense oligonucleotides (modified according to 18)

Pro-m-RNA (pro-messenger RNA), m-RNA (messenger RNA), DNA – deoxyribonukleová kyselina (deoxyribonucleic acid)

onkologické, kardiovaskulárne, vírusové ochorenia atď. V súčasnosti ich skúame v rôznych aplikačných formách (aerosól, klystír, intravenózna, intratekálna, subkutánna, intravitreálna, orálna a lokálna). Najčastejšou metodológiou je použité antisense oligonukleotidov (ASOs), ktoré majú špecifický vplyv na proteíny produkované počas translácie „sense“ mRNA. Včasné klinické štúdie poukazujú na toxicitu ASOs, na reakcie v mieste vpichu, miernu trombocytopeniu, hyperglykémiu, poškodenie koagulačnej kaskády, hypotenziu a od dávky závislú hepatocelulárnu degeneráciu.

ISIS 301012 (mipomersen) je ASO zameraný na apoB-100 (kritický proteín v syntéze aterogénnych lipoproteínov – LDL a VLDL). Mipomersen v predklinických štúdiách viedol k redukcii apoB-100, k redukcii cirkulujúcich zápalových cytokínov a k redukcii aterosklerotických plakov. Vo vývoji je jeho subkutánna forma. V prvej štvrtýždňovej humánnej štúdiu aplikácia jednorazovej dávky mipomersenu 200 mg subkutánne u 36 dobrovoľníkov s dyslipidémiou viedla k 50 % redukcii apoB, viac ako 35 % redukcii LDL-C, k viac ako 27 % redukcii TAG. Ďalšia redukcia sa zistila pri podaní 400 mg mipomersenu. Efekt na apoB a LDL-C pretrvával ďalšie tri mesiace po aplikácii poslednej dávky. Najčastejším vedľajším účinkom bolo začervenanie v mieste vpichu (21 z 29 subjektov). 14 % subjektov malo zvýšené hodnoty ALT. V 2. fáze klinického skúšania mipomersen aplikovaný subkutánne v monoterapii 13 týždňov redukoval LDL-C v rozmedzí od 12 do 70 %. Keď sa pridal do kombinácie so statínom u pacientov s perzistujúcou hypercholesterolémiou, mipomersen

v dávke od 30 do 400 mg/týždenne viedol k 4 – 47 % redukcii LDL-C. Neboli zaznamenané významné zmeny v hladine HDL-C. Najčastejším nežiaducim účinkom bolo začervenanie v mieste vpichu (90 % subjektov), niekoľko pacientov malo zvýšené hepatálne enzýmy. Na základe týchto údajov bude pravdepodobná iniciálna dávka v ďalších registračných štúdiách 200 – 300 mg/týždeň, udržiavacia dávka bude 100 – 200 mg/týždeň. V súčasnosti prebiehajú ďalšie štúdie, ktoré skúmajú účinnosť a bezpečnosť mipomersenu u pacientov s familiárnou hypercholesterolémiou. Veľkou výzvou je stanovenie krátkodobého a dlhodobého bezpečnostného profilu, ako aj vývoj perorálnej formy lieku. Klinická závažnosť zvýšenia hepatálnych enzýmov pri terapii mipomersenom je nejasná. Môže reprezentovať priamu pečennú toxicitu (biopsie pečene neboli počas doterajších štúdií vykonávané) alebo zhoršenie steatózy pečene (blokáda produkcie VLDL častí a tým blokáda transportu TAG z pečene do cirkulácie), respektíve predstavovať normálnu reakciu pečene na redukcii v pečeni dostupného apoB. Tieto závažné otázky musia byť zodpovedané pred schválením lieku pre široké klinické použitie (19, 20).

Inhibítory a monoklonálne protilátky proti PCSK9

Cholesterol transportovaný v LDL časticiach vychytáva pečeň, ktorá je zodpovedná za klírens a katabolizmus LDL častíc. Hepatocyty regulujú hladiny LDL-C prostredníctvom

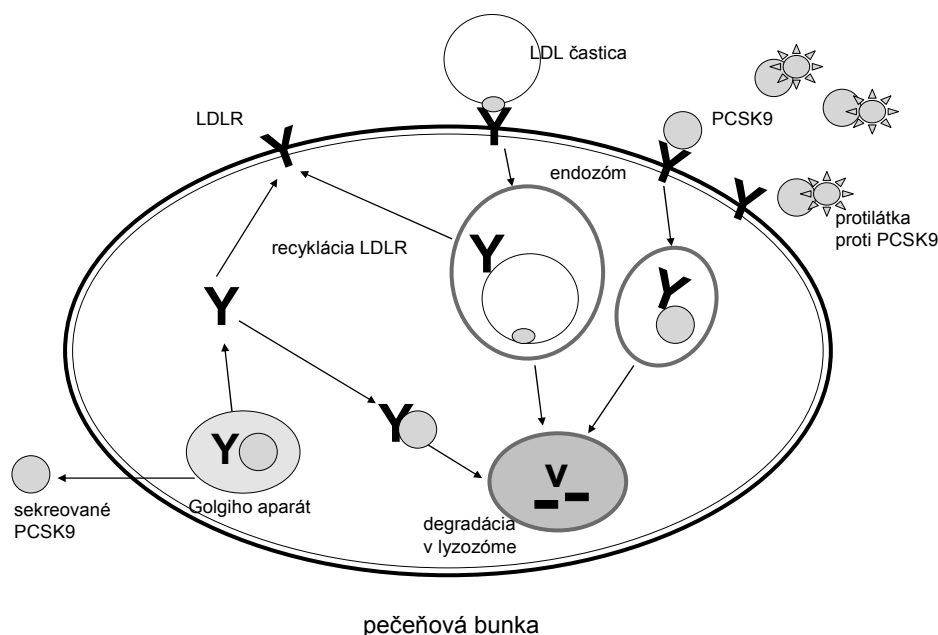
expresie LDL receptorov, ktoré viažu LDL častice. Po nadviazaní dochádza k internalizácii LDL/LDLR komplexu a následne k fúzii komplexu LDL/LDLR s endozómami. Kyslé prostredie endozómov urýchľuje disociáciu LDL/LDLR komplexu. Po disociácii LDL častice sa LDLR vracia späť na povrch hepatocytu, kde viaže ďalšie LDL častice, čo vedie k redukcii plazmatických hodnôt cholesterolu. Voľné LDL častice sú transportované do lyzozómov a degradované na lipidy, voľné mastné kyseliny (VMK) a aminokyseliny (AMK) (21).

PCSK9 (proproteín convertase subtilisin/kexin typ 9) je proteín (kódovaný génom PCSK9), ktorý reguluje expresiu LDLRs v pečeni. Hepatocyty produkujú prekursor PCSK9, ktorý je po štiepení v endoplazmatickom retikule sekreovaný do plazmy ako funkčný PCSK9. PCSK9 sa viaže na EGF-A (epidermal growth factor-like repeat A) doménu LDLR na povrchu hepatocytu a je internalizovaný spolu s LDL/LDLR komplexom. Po disociácii LDL častice, LDLR/PCSK9 komplex vstupuje do lyzozómu, kde prebieha jeho degradácia, čo zabráni recyklácii LDLR na povrch hepatocytu. PCSK9 redukuje koncentráciu LDLRs na povrchu hepatocytov, čo vedie ku zníženému vychytávaniu LDL častíc z plazmy, čím zohráva kritickú úlohu pri regulácii plazmatických hladín LDL-C (22 – 24) (obrázok 4).

V klinickej praxi rozoznávame dva typy mutácií v géne pre PCSK9 (mutácie so zvýšenou a mutácie so zníženou proteázovou aktivitou). Mutácie v géne PCSK9 so zvýše-

nou proteázovou aktivitou sú spojené so vzácnou formou autozomálne dominantnej familiárnej hypercholesterolémie. Mutácie so zníženou aktivitou PCSK9 (R46L, Y142X, C679X) sa vyskytujú asi v 1 – 3 % populácie a sú spojené s nízkymi plazmatickými koncentraciami LDL-C a nízkou incidenciou koronárnych príhod. Mutácie so stratou funkcie PCSK9 inhibujú interakciu medzi PCSK9 a LDLR, čo vedie k zníženiu hladín LDL-C (22). Práve táto skutočnosť viedla k uvažiam o možnostiach ovplyvnenia PCSK9. Vo vývoji sú tak inhibítory (ALN-PCS), ako aj monoklonálne protilátky (AMG 145, REGN727/SAR236553) proti PCSK9 (25 – 27).

Monoklonálne protilátky proti PCSK9 môžu viesť k zníženiu LDL-C tak, že sa naviažu priamo na PCSK9 a zablokujú interakciu PCSK9 s LDLR (obrázok 4). Blokáda interakcie PCSK9 a LDLR umožní internalizovaným LDLR spätný návrat na povrch hepatocytu (namiesto ich degradácie v lyzozómoch), výsledkom čoho je zvýšenie koncentrácie LDLR na povrchu hepatocytu so zvýšeným vychytávaním LDL častíc a znížením koncentrácií LDL-C. Koncentrácie cholesterolu v hepatocytoch sú regulované tak syntézou intracelulárneho cholesterolu, ako aj expresiou povrchových receptorov vychytávajúcich cholesterol z krvného obehu. Pokiaľ sú koncentrácie cholesterolu v hepatocytoch znížené (dôsledok nízkej syntézy alebo iných zmien v homeostáze cholesterolu) dochádza k expresii povrchových LDLR prostredníctvom upregulácie transkripčných faktorov SREBPs (regulatory element-binding



Obrázok 4 Mechanizmus účinku PCSK9 a inhibície PCSK 9 (modifikované podľa 24)

Figure 4 Mechanisms of PCSK9 action and inhibition of PCSK9 (modified according to 24)

LDL-R (LDL receptor), PCSK 9 (proprotein convertase subtilisin/kexin typ 9)

proteins). SREBPs vedú k zvýšeniu exprese PCSK9, čo zvyšuje degradáciu LDL-Rs a znižuje klírens LDL častíc z krvi. Protilátky proti PCSK9 môžu ďalej znižovať plazmatické hladiny LDL-C aj prostredníctvom tohto mechanizmu (25 – 27).

V roku 2011 na kongrese American Heart Association boli prvýkrát publikované výsledky I. fázy klinického skúšania s ľudskou monoklonálnou protilátkou proti PCSK9 u zdravých dobrovoľníkov – AMG 145. Randomizovaná, dvojito zaslepená, placebo kontrolovaná štúdia I. fázy klinického skúšania so zvyšujúcou sa jednotlivou dávkou AMG 145 sledovala bezpečnosť, tolerabilitu, účinnosť, farmakokinetiku a farmakodynamiku tejto liečby. Bolo vytvorených sedem skupín s rôznymi dávkami AMG 145 (každá s počtom osem zdravých dobrovoľníkov), s randomizáciou 3 : 1 (AMG 145 : placebo), v piatich skupinách sa AMG 145 podávalo subkutánne a v dvoch intravenózne. Zdraví dobrovoľníci boli vo veku 18 – 45 rokov, s LDL-C 2,6 – 5,0 mmol/l, BMI 18 – 32 kg/m², bez komedikácie 14 dní pred začatím štúdie. Jednotlivá dávka AMG 145, či už podávaná subkutánne alebo intravenózne, viedla u zdravých dobrovoľníkov ku redukcii LDL-C viac ako o 64 % oproti placebovej skupine (pokles závisel od dávky). Výsledky týkajúce sa zníženia apo B a celkového cholesterolu boli veľmi podobné poklesu LDL-C. AMG 145 potentne znižuje hladiny neviazaného PCSK9 v závislosti od dávky, čo veľmi dobre korelovalo so znižovaním hladín LDL-C, apo B a celkového cholesterolu. Podanie AMG 145 nevedlo k ovplyvneniu hladín TAG, HDL-C alebo apo A-I. Neboli zaznamenané žiadne závažné vedľajšie účinky a žiaden subjekt neukončil klinické skúšanie pre výskyt vedľajších účinkov. Incidencia vedľajších účinkov bola podobná u subjektov liečených AMG 145 a subjektov liečených placebo. Nebol zaznamenaný vzťah medzi incidenciou vedľajších účinkov a dávkou AMG 145 (28).

Ďalšia randomizovaná, dvojito zaslepená, placebo kontrolovaná štúdia, ktorej výsledky očakávame, sledovala bezpečnosť, tolerabilitu, účinnosť, farmakokinetiku a farmakodynamiku podávania vzostupných viacpočetných dávok AMG 145 u subjektov s hyperlipoproteinémiou na stabilnej dávke statínu. Pacienti dostávali päť rôznych viacpočetne subkutánne podávaných dávok AMG 145 alebo placebo. Cieľom štúdie je zistiť incidenciu od liečby závislých vedľajších účinkov, zmeny vo vitálnych funkciách, laboratórnych testoch a EKG.

Na základe uvedených údajov boli inicializované klinické štúdie II. fázy klinického skúšania, ktorých cieľom bude získať informácie o efekte AMG 145 alebo jeho kombinácie so statínmi u pacientov s hypercholesterolémiou (www.clinicaltrials.gov).

Koncom marca 2012 boli publikované tri štúdie I. fázy klinického skúšania, ktoré dokázali, že liečba špecifickou monoklonálnou protilátkou proti PCSK9 – REGN727 viedla k štatisticky významnej redukcii LDL-C v skupine zdravých dobrovoľníkov, ako aj v skupine pacientov liečených statínmi

s familiárnou a nefamiliárnou formou hypercholesterolémie (29, 30).

Ďalšie údaje o 73 % poklese LDL-C máme z II. fázy klinického skúšania, zo štúdie u pacientov liečených atorvastatínom 80 mg po pridaní REGN727 do liečby. McKenney a spol. uskutočnil 12-týždňovú štúdiu u 182 pacientov s LDL-C > 2,5 mmol/l na liečbe 10, 20 a 40 mg atorvastatínu. Týmto pacientom bola pridaná liečba subkutánnymi injekciami REGN727 v dávke 50, 100 a 150 mg každé dva týždne, ďalšie dve skupiny boli liečené subkutánnymi injekciami REGN727 v dávke 200 a 300 mg raz za štyri týždne. Pridanie REGN727 viedlo k štatisticky významnej redukcii LDL-C [v rozpätí od 39,6 % (REGN727 v dávke 50 mg) po 72,4 % (REGN727 v dávke 150 mg)]. Podávanie REGN727 v dvojtýždňových intervaloch viedlo k výraznejšej redukcii LDL-C ako podávanie vo štvortýždňových intervaloch. Po 12 týždňoch podávania 150 mg REGN727 100 % pacientov dosiahlo LDL-C < 1,8 mmol/l. Závažné nežiaduce príhody sa vyskytli u troch pacientov liečených REGN727 a u jedného pacienta na placebe. Liečbu ukončil jeden pacient na dávke 100 mg, jeden pacient na dávke 150 mg, traja pacienti na dávke 200 mg a jeden pacient na dávke 300 mg REGN727.

Do ďalšej štúdie II. fázy klinického skúšania boli zaradení pacienti s heterozygotnou formou familiárnej hypercholesterolémie s vysokými hodnotami cholesterolu pri terapii statínom s/alebo bez ezetimibu. Interim analýza poukázala, že po 12-týždňovej liečbe rôznymi dávkami REGN727 pacienti dosiahli redukciiu LDL-C od 30 do 65 %, v porovnaní s 10 % poklesom v placebovej skupine.

Cieľom štúdie u pacientov s primárnou hypercholesterolémiou so zvýšenými hodnotami cholesterolu na stabilnej dávke statínu (atorvastatín 10 mg) bolo porovnanie efektu zmeny LDL-C pri dávke atorvastatínu 80 mg vs kombinácii 80 mg atorvastatínu s REGN727. Po osemťýždňovej liečbe pacienti na kombinovanej liečbe dosiahli viac ako 65 % redukciiu LDL-C v porovnaní so 17 % v skupine pacientov na monoterapii atorvastatínom 80 mg (31).

Výsledky uvedených štúdií s rôznymi monoklonálnymi protilátkami proti PCSK9 sú veľmi povzbudivé pre iniciovanie vyšších fáz klinického skúšania (www.clinicaltrials.gov).

Záver

Napriek všetkým nepopierateľným doterajším úspechom dosiahnutým v ovplyvnení kardiovaskulárnej a cerebrovaskulárnej morbidity a mortality sa zdá, že ostávame akoby prešľapovať na jednom mieste. Do popredia sa dostáva problematika reziduálneho kardiovaskulárneho rizika pri dôslednej kontrole (nefarmakologickej i farmakologickej) najdôležitejších rizikových faktorov.

Príčin je samozrejme viac (nárast počtu obéznych pacientov s abdominálnou obezitou, nárast počtu diabetikov

2. typu, nárast aterogénnej dyslipidémie, starnutie populácie....). Jednou z možností ako ovplyvniť túto situáciu by bolo zavedenie nových potentnejších hypolipidémik. Avšak ako vyplýva z prehľadového článku, hľadanie rôznych ciest na zníženie aterogénneho profilu našich pacientov je „behom na dlhú trať“ (nielen čo sa týka účinnosti, ale najmä bezpečnosti ich použitia v bežnej klinickej praxi).

V momentálnej situácii nám ostáva vyťaženie doteraz známych a zavedených hypolipidémik, a to sa týka tak dávky, ako aj možností ich vzájomných kombinácií.

Literatúra

- Smith SC, Allen J, Blair SN, et al. AHA/ACC guidelines for secondary prevention for patients with coronary and other atherosclerotic vascular disease: 2006 update endorsed by the NHLBI. *J Am Coll Cardiol* 2006;47:2130-2139.
- Steg PG, Bhatt DL, Wilson PW, et al. One-year cardiovascular event rates in outpatients with atherothrombosis. *JAMA* 2007;297:1197-1206.
- Cannon CP, Braunwald E, McCabe CK, et al. Intensive vs moderate lipid lowering with statins after acute coronary syndromes. *N Engl J Med* 2004;350:1495-1504.
- Dukát A. Reziduálne kardiiovaskulárne riziko – závažný problém, ktorý si bude vyžadovať nové liečbené prístupy. *Cardiol* 2008;17(6):229-233.
- Ballantyne CM. *Clinical Lipidology: a companion to Braunwald's heart disease*. Philadelphia: Saunders/Elsevier; 2009:584.
- Genest J, McPherson R, Frohlich J, et al. Canadian Cardiovascular Society/Canadian guidelines for the diagnosis and treatment of dyslipidemia and prevention of cardiovascular disease in the adult – 2009 recommendations. *Can J Cardiol* 2009;25:567-579.
- Charlton-Menys V, Durrington PN. Squalene synthase inhibitors: clinical pharmacology and cholesterol-lowering potential. *Drug* 2007;67:11-16.
- Davidson MH. Squalene synthase inhibition: A novel target for the management of dyslipidemia. *Curr Atheroscler Rep* 2007;9:78-80.
- Burnett JR. Drug evaluation: TAK 475 – an oral inhibitor of squalene synthase for hyperlipidemia. *Drug* 2006; 7:850-856.
- Karim A, Abeyrante A, Siebert F, et al. TAK-475, a squalene synthase inhibitor: mass balance and excretion study. *Clin Pharmacol Ther* 2007;91(Suppl 1):S114 (abstract).
- Bays HE, Weiss RJ, Rhyne JM, et al. Lapaquistat acetate monotherapy: effects of a novel squalene synthase inhibitor on LDL cholesterol. Levels and other lipid parameters in patients with primary hypercholesterolemia. Presented at American Heart Association conference, Orlando, FL, november 4-7, 2007 (abstract 682).
- Piper E, Price G, Munsak, et al. TAK-475, a squalene synthase inhibitor improves lipid profile in hyperlipidemic subjects. *Circulation* 2006;114(Suppl 18):II-228.
- Perez A, Kupfer S, Chen Y, et al. Addition of TAK-475 to atorvastatin provide incremental lipid benefits. *Circulation* 2006; 114(Suppl 18):II-113.
- Berriot-Varoqueaux N, Aggerbeck LP, Samson-Bouma M, et al. The role of microsomal triglyceride transfer protein in abetalipoproteinemia. *Ann Rev Nutr* 2000;20:663-697.
- Cuchel M. Inhibition of microsomal triglyceride transfer protein in familial hypercholesterolemia. *NEJM* 2007; 356:148-156.
- Samaha FF, McKenney J, Bloedon LT, et al. Inhibition of microsomal triglyceride transfer protein alone or with ezetimibe in patients with moderate hypercholesterolemia. *Nat Clin Pract Cardiovasc Med* 2008;5:497-505.
- Burnett JR, Watts GF. MTP inhibitor as treatment for dyslipidemias: time to deliver or empty promises. *Expert Opin Ther Targets* 2007;2:181-189.
- Kastelein JJ, Wedel MK, Baker BF, et al. Potent reduction of apolipoprotein B and low-density lipoprotein cholesterol by short-term administration of an antisense inhibitor of apolipoprotein B. *Circulation* 2008;114:1729-1735.
- Burnett JR. Drug evaluation: ISIS-301012, an antisense oligonucleotide for the treatment of hypercholesterolemia. *Curr Opin Mol Ther* 2006;8:461-467.
- Brookes L. Antisense drug ISIS 301012 lowers LDL cholesterol alone and in combination with statins. *Medscape Cardiology*, June 12, 2007.
- Goldstein JL, Brown MS. The LDL Receptor. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2009;29:431-438.
- Cohen JC, Boerwinkle E, Mosley TH, et al. Sequence Variations in PCSK9, Low LDL, and Protection against Coronary Heart Disease. *N Engl J Med* 2006;354:1264-1272.
- Mousavi SA, Berge KE, Leren TP. The unique role of proprotein convertase subtilisin/kexin 9 in cholesterol homeostasis. *J Intern Med* 2009;266:507-519.
- Kurreck J. Antisense technologies. Improvement through novel chemical modifications. *Eur J Biochem* 2003;270:1628-1644.
- Duff CJ, Hooper NM. PCSK9: an emerging target for treatment of hypercholesterolemia. *Expert Opin Ther Targets* 2011;15(2):157-168.
- Steinberg D, Witztum JL. Inhibition of PCSK9: a powerful weapon for achieving ideal LDL cholesterol levels. *Proc Natl Acad Sci USA* 2009;106:9546-9547.
- Horton JD, Cohen JC, Hobbs HH. PCSK9: a convertase that coordinates LDL catabolism. *J Lipid Res* 2009;50:S172-S177.
- Dias C, Shaywitz A, Smith B, et al. A Phase 1, Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled, Ascending Single Dose Study to Evaluate the Safety, Tolerability and Pharmacodynamics of AMG145. *Circulation* 2011;124:A10701.
- Swergold G, Biedermann S, Renard R, et al. Safety, lipid, and lipoprotein effects of REGN727/SAR236553, a fully-human proprotein convertase Subtilisin Kexin 9 (PCSK9) monoclonal antibody administered intravenously to healthy volunteers. *Circulation* 2010;122: Abstrakt 23251.
- 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.
- Crunkhorn S. Trial watch: PCSK9 antibody reduces LDL cholesterol. *Nat Rev Drug Discov*. 2012;11(1):11.