ВЛИЯНИЕ НА ПОЛИМОРФНИТЕ ВАРИАНТИ В ГЕНА ЗА ПРОПРОТЕИН КОНВЕРТАЗА СУБТИЛИЗИН КЕКСИН ТИП 9 (PCSK9) ВЪРХУ НИВАТА НА ХОЛЕСТЕРОЛ И РИСКА ОТ ИСХЕМИЧНА БОЛЕСТ НА СЪРЦЕТО

Г. Найденова[1], Р. Цвеова[2,3], Г. Начев[4], В. Митев[2,3] и Р. Канева[2,3]

[1]Втора катедра по кардиология, Университетска многопрофилна болница за активно лечение „Д-р Георги Странски“ – Плевен

[2]Център по молекулна медицина, Медицински университет – София

[3]Катедра по медицинска химия и биохимия, Медицински университет – София

[4]Университетска многопрофилна болница за активно лечение на сърдечно-съдови заболявания „Св. Екатерина“ – София

THE EFFECT OF POLYMORPHISMS IN PCSK 9 GENE ON CHOLESTEROL LEVELS AND THE RISK OF CORONARY ARTERY DISEASE

G. Naydenova[1], R. Tzveova[2,3], G. Nachev[4], V. Mitev[2,3] and R. Kaneva[2,3]

[1]Second Department of Cardiology, the Dr Georgi Stranski University Multiprofile Hospital for Active Treatment – Pleven

[2]Center of Molecular Medicine, Medical University – Sofia

[3]Department of Medical Chemistry and Biochemistry, Medical University – Sofia

[4]Sveta Ekaterina University Multiprofile Hospital for Active Treatment of Cardiovascular Diseases – Sofia

Резюме. *Конвертазата за пропротеин субтилизин кексин 9 (PCSK9) представлява член на субтилизиновото суперсемейство, който при човека се кодира от гена PCSK9. Този протеин играе съществена роля в холестероловата хомеостаза. Основната му функция е свързана с разграждането на рецепторите за липопротеините с ниска плътност (LDLR). LDLR отстранява циркулиращия LDL холестерол в кръвта. Повишената функционална активност на PCSK9 води до натрупване на холестерол в кръвта, което представлява високорисков фактор за сърдечно-съдови заболявания. Съществуват множество генетични варианти в гена за PCSK9, които оказват модулиращо въздействие върху плазмените нива на холестерол в положителна или отрицателна посока, като по този начин влияят и върху риска от атеросклероза. Познанията за тези варианти могат да имат клинична значимост главно по отношение на отговора към определена лекарствена терапия.*

Ключови думи: *PCSK9, LDLR, сърдечно-съдови заболявания, лекарствена терапия*

Summary. *Proprotein convertase subtilisin kexin type 9 (PCSK9) is a member of subtilase superfamily which is encoded by PCSK9 gene in human. This protein plays a significant regulatory role in cholesterol homeostasis. The mainly function of this enzyme is associated with the degradation of Low Density Lipoprotein Receptor (LDLR). LDLR removes circulating LDL-cholesterol in the blood. Increased functional activity of PCSK9 leads to an accumulation of cholesterol in the blood, which is a high-risk factor for cardiovascular diseases. There are many genetic variants in PCSK9 gene that probably modulate plasma cholesterol levels positively or negatively and in this way influencing the risk of atherosclerosis. The knowledge of these variants may have clinical implication mainly in the response to a drug therapy.*

Key words: *PCSK9, LDLR, cardiovascular diseases, drug therapy*

Въведение

Конвертазата за пропротеин субтилизин кексин 9 (PCSK9), първоначално наречена "Neural Apoptosis-Regulated Convertase 1" (NARC1), е член на субтилизиновото суперсемейство при бозайници. Открита е за първи път през 2003 г., като функцията ù се свързва с разграждането на рецептора за липопротеините с ниска плътност (LDL-R). Повишената функционална активност на PCSK9 води до натрупване на холестерол и образуване на холестеролови плаки в кръвоносните съдове, което от своя страна е високорисков фактор за сърдечно-съдови заболявания.

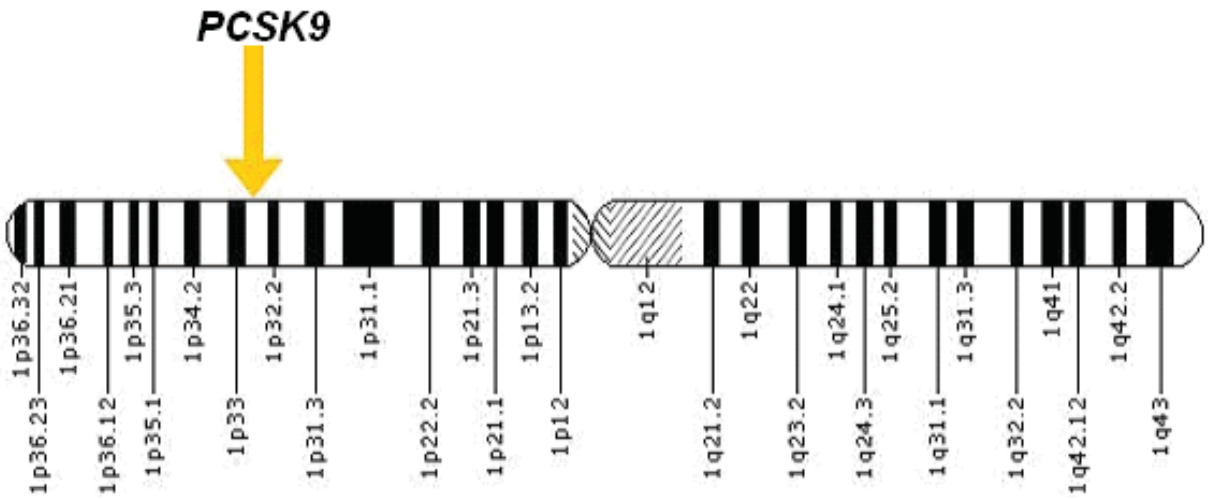
През последните няколко години са установени голям брой генетични варианти в гена, кодиращ PCSK9, които имат отношение към модулирането на плазмените нива на холестерола в положителна или отрицателна посока, следователно влияещи и върху риска от развитие на атеросклероза. Част от тези полиморфни варианти вероятно могат да имат клинична значимост за оценка на тежестта на заболяването, прогнозата или отговора към специфично лечение с липидопонижаващи медикаменти. Експресията на протеина PCSK9, както и секрецията и плазмените му нива биха могли да се повлияят от естествени инхибитори (като анексин А2), както и от липидопонижаващи агенти, като статини, фибрати, езетимиб и берберин. Понастоящем основната цел на лечението на дислипидемиите включва неутрализиране на антитела, антисенс олигонуклеотиди като фосфоротиоати, РНК интерференция, както и малки молекулни инхибитори. Кой от всички тези подходи ще бъде клинично приложим в практиката, ще зависи изцяло от дългосрочните ефекти от приложеното лечение, цената на метода и възможността за неговото лесно и достъпно приложение.

Исхемичната болест на сърцето (ИБС) е мултифакторно заболяване – проявлението ù зависи от сложното взаимодействие между влиянието на средата и множество генетични компоненти. Към рисковите фактори за развитие на ИБС се отнасят: повишено съдържание на холестерол в кръвта, артериална хипертония, тютюнопушене, наднормено тегло, обездвижване, захарен диабет. Особено опасно е съчетаването на два и повече рискови фактора. Тогава вероятността за развитие на ИБС нараства повече от четирикратно [24].

Повишените плазмени нива на липопротеините с ниска плътност (LDLs) и пренасяните в хидрофобната им сърцевина холестерол и холестеролови естери (LDL-C) са рисков фактор за развитие на атеросклерозата и сърдечно-съдовите заболявания (ССЗ), като инфаркт на миокарда (ИМ) и мозъчен инсулт (МИ). При здрави хора в различните тъкани и главно по повърхността на хепатоцитите в черния дроб има специални рецептори за LDLs, напр. рецептори за липопротеини с ниска плътност (LDLRs). Те улавят и свързват LDLs, разпознавайки специфичния за тях белтък аполипопротеин В 100 (ApoB 100). Чрез рецепторно насочвана ендоцитоза цялостният комплекс, състоящ се от LDL и LDLR, навлиза във вътрешността на клетката и се слива с лизозомите. Лизозомите съдържат множество различни хидролазни ензими, разграждащи белтъците, а холестеролови естери на линоловата киселина се разграждат от кисела, лизозомна липаза. Освободеният по този начин холестерол може да бъде използван за изграждане на мембрани или да се преестерифицира с олеинова или палмитинова киселина за запасяване в клетката [1].

Пропротеин конвертаза субтилизин/кексин тип 9 (PCSK9) е ключов протеин в метаболизма на LDL-C и играе основна роля в разграждането (деградацията) на LDLR. Полиморфните варианти в гена PCSK9 имат комплексно отношение към патофизиологията и регулацията на ИБС при рискови пациенти [36].

Генът, кодиращ PCSK9, е локализиран върху късото рамо на хромозома 1 в позиция 32.3 (1p32.3) [2].



Фиг. 1. *Локализация на гена PSCK9 върху късото рамо на първа хромозома [2]*

Протеинът, кодиран от този ген, участва в регулацията на количеството на холестерола в кръвта. Изглежда, че въпросният протеин контролира броя на LDLRs, които са разположени на повърхността на клетките. Тези рецептори играят важна роля в регулирането на нивата на холестерола в кръвта. В най-голямо количество LDL-Rs се откриват в черния дроб – органът, отговорен за премахване на излишния холестерол от организма. Броят на LDL-R на повърхността на клетките на черния дроб определя колко бързо холестеролът (под формата на LDLs) се отстранява от кръвния поток. Редица проучвания в тази насока показват, че PCSK9 помага за контролиране нивото на холестерола в кръвта чрез деградиране на LDLRs, преди те да достигнат повърхността на клетката [9].

Предполага се, че протеинът PCSK9 действа както чрез ендогенни, така и посредством екзогенни механизми. Екзогенно циркулиращите PCSK9 протеини се свързват към LDLR. Веднъж попаднал в черно-дробните клетки, PCSK9 насочва LDLR към лизозомите за разграждане. Ендогенните PCSK9 протеини се секретират от апарата на Голджи. Те се свързват към LDLR, преди рецептора да достигне до повърхността на клетката и го насочват към лизозомната му деградация. Въпреки това точните механизми, по които работи вътрешният път на деградация на LDLRs, са все още неясни [7].

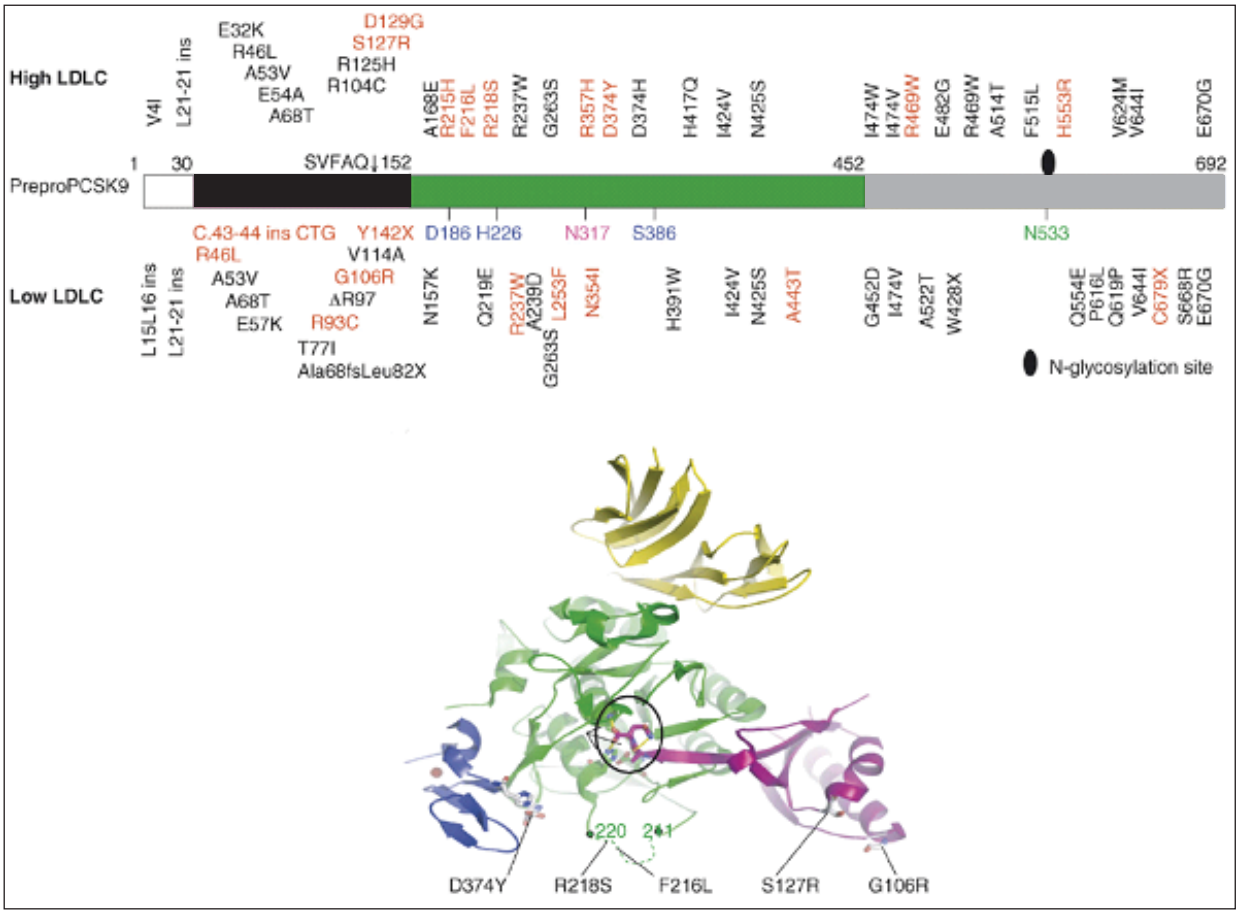
Откриване на PCSK9

Фамилната хиперхолестеролемия (ФХ) е автозомно-доминантна форма на дислипидемия, характеризираща се с повишени плазмени нива на LDL-C [4]. Отделно от патогномоничните клинични признаци, като ксантоми и пресенилна корнеална дъга, хетерозиготните пациенти с ФХ са изложени на повишен риск от ССЗ, което обикновено става ясно през четвъртата или петата декада [16]. Молекулните дефекти в гена, който кодира LDLR, са идентифицирани при пациенти с ФХ [40]. При приблизително 5-10% от лицата с ФХ са открити мутации в лиганд-свързващия домейн на ApoB – компонент на LDL частицата, която взаимодейства с LDLR [40].

През 2003 г. Abifadel и съавт. идентифицират мутации в гена, кодиращ PCSK9, в две френски семейства с автозомно-доминантна форма на ФХ [3]. Други мутации в същия този ген впоследствие са идентифицирани при пациенти с ФХ от Юта (САЩ), Норвегия и Обединеното кралство [29]. Като цяло мутациите в гена за PCSK9 се срещат значително по-рядко в сравнение с дефектите в *LDLR* и *ApoB* [17]. В едно от последните проучвания, докладвани в научната литература, се доказва връзката между риска от ИБС и редкия D374Y вариант в PCSK9 [5, 25].

Последните няколко години в световен мащаб са предприети големи кохортни проучвания с цел изясняване ролята на PCSK9 относно промените в липидния метаболизъм и риска от ИБС при високорискови пациенти. През 2005 г. е установена асоциация между мутации в *PCSK9* и ниските плазмени нива на LDL-C [8]. При лица, които са носители на мутации PCSK9-679X или PCSK9-142X, нивата на LDL-C са 100 ± 45 mg/dl в сравнение с 138 ± 42 mg/dl при хора, при които тези мутации липсват. Този факт е съпроводен с редукция от 88% на глобалния риск от ИБС [8].

Свръхекспресията на PCSK9 значително намалява броя на LDLRs на повърхността на клетките на черния дроб. Изследователите предполагат, че промененият протеин вероятно предизвика разграждането на LDLRs по-бързо от обичайното. С по-малко рецептори за премахване на липопротеини с ниска плътност от кръвта, хора с мутации от типа "gain-of-function" в гена *PCSK9* имат много високи нива на холестерол в кръвта. Излишният холестерол циркулира през кръвния поток, като се депозира в тъкани, като кожата, сухожилията и коронарните артерии, доставящи кръв към сърцето. Натрупването на холестерол в стените на коронарните артерии увеличава значително риска от остър миокарден инфаркт и сърдечно-съдови увреждания [21].



а) Препротеинът PCSK9 (препро-PCSK9) съдържа сигнален пептид (в бяло), про – домен (черно), каталитичен домен (в тъмно сиво) и С – краен домен (в светло сиво). Единични нуклеотидни полиморфизми могат да засегнат всеки един от домените на PCSK9. Полиморфните варианти, означени със сив цвят, се асоциират със значителни различия в плазмените нива на LDL в поне две независими популационни групи или с фамилна хиперхолестеролемия.

б) Кристална структура на протеина PCSK9.

Фиг. 2. *Секвенционни варианти, домени и кристална структура на PCSK9 [10]*

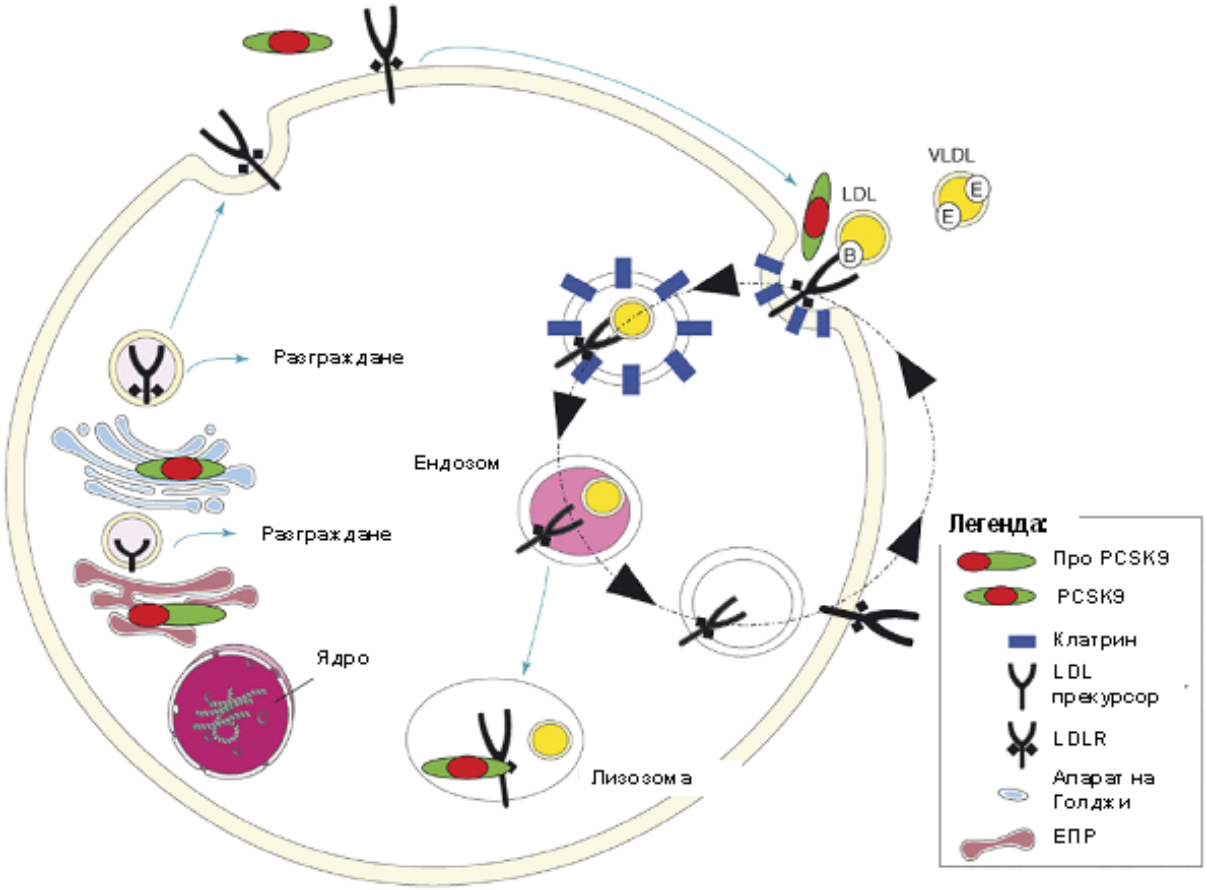
Други мутации в гена *PCSK9* водят до по-ниски нива на холестерол в кръвта (хипохолестеролемия). Тези генетични промени понижават активността на протеина PCSK9 или намаляват количеството му, произвеждано в клетките. Изследователите описват този тип мутация като „загуба на функция“. Мутации със загуба на функция в гена PCSK9, изглежда, се срещат по-често, отколкото мутации от типа “gain-of-function”, които са отговорни за хиперхолестеролемия [21].

Загуба на функционални мутации в гена *PCSK9* води до увеличаване броя на рецепторите на липопротеините с ниска плътност по повърхността на клетките на черния дроб. Допълнителните рецептори могат да премахнат липопротеините с ниска плътност от кръвта по-бързо от обикновено, което понижава количеството на холестерола, циркулиращ в кръвта. Проучванията показват, че хората с намалени нива на холестерол, причинени от *PCSK9* мутации, са със значително по-нисък от средния риск за развитие на сърдечно-съдови заболявания [21].

Голяма част от изследователите предполагат, че генетичните полиморфизми в гена *PCSK9* са отговорни за някои от разликите в нивата на холестерола в кръвта сред хората без наследствени заболявания на холестероловата обмяна. Целта на работата на голям брой изследователски групи от цял свят е да се определи кои полиморфни варианти в *PCSK9* са свързани с относително ниски нива на холестерол в кръвта и с намаляване на риска от сърдечно-съдови заболявания [10].

PCSK9 и ролята му в разграждането на LDLR

Действието на PCSK9 е свързано с намаляване броя на LDLRs по повърхността на хепатоцитите. За първи път това е установено при миши модели [6, 17, 19, 33] и потвърдено при човешки генетични проучвания [19].



Фиг. 3. *Механизъм на действие на PCSK9 [10]*

Какъв всъщност е механизмът на действие на въпросния протеин? PCSK9 се отделя от чернодробните клетки, циркулира в плазмата, свързва се с LDLR, като по този начин спомага за клетъчната деградация на рецептора [22]. PCSK9 представлява серин протеаза, кодирана от ген, състоящ се от 12 екзони. Генът е разположен в хромозомен локус 1p32.3. Протеинът се синтезира се главно в черния дроб, червата и бъбреците като протеин предшественик, съдържащ 692 аминокиселини (Мм ~ 75 kDa) [20]. Пропротеинът PCSK9 претърпява автокаталитична модификация в ендоплазмения ретикулум (ЕПР), преди да се формира функционално активен ензим (Мм ~ 62 kDa) [20]. Мутации в гена за PCSK9 предотвратяват протичането на автокаталитичния процес при зреенето на протеина, като по този начин се възпрепятства секрецията на PCSK9 [27]. Този патологичен процес се асоциира с 48% редукция в плазмените нива на LDL-C [26, 27].

LDLR се синтезира като протеин предшественик с Мм 120 kDa, който се гликозилира в апарата на Голджи до зрял, функционален протеин с Мм 160 kDa. На повърхността на клетката е разположен комплекс, включващ рецептора за липопротеини с ниска плътност (LDLR) и липопротеини, богати на ApoB или ApoE. Този комплекс навлиза в клетката посредством ендоцитоза в ямки, покрити с клатрин. Във вътрешността на ендозомата киселата среда вероятно индуцира освобождаването на липопротеините от комплекса и тяхното разграждане в лизозомите, докато рецепторът се рециклира на повърхността на клетката. Когато LDL-R не е свързан с PCSK9, рецепторът се възстановява на повърхността на клетката, където той продължава да премахва LDL холестерола от обращение в кръвта. Пропротеин конвертаза субтилизин кексин тип 9 (PCSK9) се експресира основно в черния дроб. PCSK9 е протеаза, която се синтезира като ензим предшественик. След автокаталитично срязване, PCSK9 мигрира към апарата на Голджи и се отделя. Продомейнът на протеина остава прикрепен към молекулата чрез нековалентни връзки, като най-вероятно възпрепятства достъпа на различни субстрати. На повърхността на хепатоцитите PCSK9 се свързва към екстрацелуларния домейн на LDLR като шаперон и така формирания комплекс навлиза в клетката посредством ендоцитоза и се насочва към лизозомите за разграждане, предотвратявайки по пози начин рециклирането на LDLR на повърхността на хепатоцитите. Свързаният с PCSK9 рецептор се насочва за разграждане в лизозомите и се предотвратява възстановяването му на клетъчната повърхност. Множество компании създават медикаменти, които потискат активността на PCSK9 или като блокират неговия синтез, или чрез инхибиране на свързването на PCSK9 към рецептора за LDL.

Някои аминокиселинни замени в протеина PCSK9 (напр. S127R и D374Y), в LDLR (напр. H306Y), които са свързани с ФХ, имат значение за молекулните взаимодействия в рамките на PCSK9–LDLR комплекса, като по този начин допринасят за повишаване на рецепторното разграждане и за увеличаване нивата на LDL-C сред носителите на мутации [12, 26, 30, 35]. Мутацията D374Y в PCSK9 води до изключително тежък фенотип на ФХ, който е особено труден за лечение със статини [29]. Носители на тази мутация са засегнати от ССЗ 10 години по-рано в сравнение с останалите пациенти с ФХ [29].

Ендогенна инактивация на PCSK9

Както вече беше споменато, PCSK9 се синтезира първоначално като препропротеин с Мм = 62 kDa, който впоследствие претърпява дефрагментация в резултат на откъсване на просегмент от молекулата. Това от своя страна води до формиране на неактивната форма на PCSK9 с Мм = 55 kDa. Въпросният процес е медииран в хепатоцитите от две пропротеин конвертази, а именно фурин и PC5/6A [18]. В съответствие с това мутацията R218S в PCSK9 е свързана с автозомно-доминантна форма на хиперхолестеролемия сред хетерозиготни носители [4]. Тези резултати показват, че липсата на инактивиране на PCSK9 от фурин и/или PC5/6A води до повишени плазмени нива на LDL-C.

Диетична и хормонална регулация на PCSK9

Експресията и плазмените нива на протеина PCSK9 се контролират от хормоналния статус в организма и от приетата храна. Екс-

пресията на чернодробната PCSK9 и нейните плазмени нива драстично се понижават при гладуване [9, 17, 31]. Циркулиращите плазмени нива на PCSK9 имат изразен денонощен ритъм паралелно на биосинтеза на холестерол при хората. Този ефект, изглежда, се медиира от промените в секрецията на растежния хормон. Следователно плазмените нива на PCSK9 трябва да се измерват в определен период от деня (напр. сутрин на гладно). Освен това плазмените нива на PCSK9 са повишени при момичетата и понижени при момчетата по време на пубертета [34]. В зряла възраст, нивата на PCSK9 са по-високи при жените, отколкото при мъжете [11].

Ключът за регулация на PCSK9 от стероли

Подобно на LDLR, експресията на PCSK9 е модулирана от нивата на интрацелуларния холестерол, а те от своя страна се медиират предимно от фактора за транскрипция на стероловия отговор-свързващ протеин 2 (SREBP2) [12, 14]. Доказано е, че хепатоцитният ядрен фактор 1a (HNF1a) е мощен стимулатор на генната експресия на PCSK9 [14, 37]. Лечението със статини повишава плазмените нива на PCSK9 и обратното, отслабването на функцията на PCSK9 увеличава хиполипемичните ефекти на статините [12]. Аторвастатин например повишава нивото на PCSK9 в циркулацията с 34% при 12 пациенти с дислипидемия, лекувани с 40 mg дневно в продължение на 16 седмици [12, 35], и с 47% при 74 нормолипемични лица без ИБС, лекувани с 80 mg в продължение на 16 седмици [30]. В съответствие с това, когато дозата на аторвастатин се увеличен от 5 mg до 80 mg дневно, плазмените нива на PCSK9 се увеличават средно с 30% при 53-ма пациенти с дислипидемия [18]. Наскоро беше доказано, че дневното лечение с 20 mg розувастатин увеличава плазмените нива на PCSK9 с 28% при мъжете и 35% при жените в голямото плацебо-контролирано клинично проучване JUPITER [34]. Поради едновременната регулация на PCSK9 и на LDLR, към тях има значителен клиничен интерес. Инхибирането на PCSK9 вероятно ще засили LDLC понижаващите ефекти на статините и по този начин може да бъде синергичен със статините за по-нататъшно намаляване на LDL-C нива и на риска от ИБС.

Инхибиране на PCSK9

Съвсем наскоро в научната литература са описани два случая на хомозиготни мутации в PCSK9. В случаите, при които напълно липсва PCSK9, се наблюдават много ниски нива на LDL-C (≤ 15 mg/dL). Това предполага, че фармакологични интервенции, които инхибират PCSK9, могат да са безопасни [19]. Понастоящем се тества фармакологичното инхибиране на PCSK9 при хора. Цели се генно потискане на двете PCSK9 в рамките на и извън клетъчната функция. Разработват се и други подходи, които не са достигнали предклинично развитие [37].

Генетична супресия

Подкожното приложение на PCSK9 олигонуклеотид (ASO), производство на Isis Pharmaceuticals, е доказано, че предизвиква двукратно повишаване на чернодробната експресия на LDLR и намаляване на циркулиращите нива на общия холестерол в 53% при мишки [14]. Интравенозното инжектиране на 13-мерна нуклеинова киселина (LNA) ASO, производство на Santaris Pharma, намалява нивата на PCSK9 mRNA с ~ 60% при мишки, като по този начин стимулира 2,5-3-кратно повишаване на нивата на чернодробните LDLR до 8 дни [15]. Това съединение също намалява циркулиращия PCSK9 до 50%, както и нивата на плазмените LDL-C и ApoB до 35% при животни. 14-mer LNA-ASO, специфична за човешкия PCSK9, последователно води до намаляване на нивата на LDL-C, но показва по-дълготраен ефект, свързан със значително намаляване на съдържанието на холестерол в черния дроб. 14-mer LNA-ASO не повлиява нивата на HDL холестерол (HDL-C) [23]. Ефектът на генетичната супресия на PCSK9 при мишки и маймуни е постигнат с помощта на RNA (siRNA), технология, разработена от Alnylam Pharmaceuticals. siRNA е включена в липидоидни наночастици, за да минимизира токсичността и интравенозната инфузия при плъхове, мишки и маймуни. Нивата на LDL-C са редуцирани с повече от 50% при маймуни, като ефектът има продължителност почти 21 дни [13].

Миметични пептиди

Пептидите, разработени да наподобяват домейн EGFA на LDLR, и които взаимодействат с PCSK9 на плазмената мембрана, могат да инхибират функцията на PCSK9 [38]. Пептидът EGFA H306Y се използва за ефективно блокиране на PCSK9 индуцираната LDLR. Смята се, че по-ефективен е вариант PCSK9 D374Y [15, 23]. Изолираният С-терминален домейн на PCSK9 инхибира деградацията на PCSK9 LDLR. Това се наблюдава отскоро in vitro и при мишки [13], което показва, че фармакологичното екстрацелуларно инхибиране на PCSK9, ще понижи циркулиращите нива на LDL-C in vivo.

Моноклонални антитела

Използването на антитела за разпознаване на епитопи на PCSK9 в рамките на каталитичен домейн може да промени PCSK9 медииращия ефект на клетъчната повърхност на LDL [32]. По подобен начин интравенозната инфузия на mAb1 – моноклонални антитела (3 mg/kg), специфични за каталитичния домейн на PCSK9 (разработка на Amgen), води до намаляване на нивата на LDL-C в циркулацията още на 8-ия час след инжектиране при животни. Най-ниските нива на LDL-C (до 80%) се наблюдават на 10-ия ден след инфузията [32]. Други моноклонални антитела (1D05-IgG2), които имитират структурата на домейн EGFA на LDLR, са разработени от Merck. Една единствена инжекция (3 mg/kg) от 1D05-IgG2 може да антагонизира функцията на PCSK9 в Rhesus маймуни, като плазмените нива на LDL-C намаляват до 50% [32]. Pfizer-Rinat докладват за моноклонално антитяло J16, което е насочено директно срещу домейн LDLR-EGFA на PCSK9 [38]. Инжектираният интравенозно J16 в доза 3 mg/kg в дългоопашати макаци, води до редуциране на нивата на LDL-C до 70%, като този ефект трае 10 дни. Степента и продължителността на този ефект са по-изразени при маймуни, които са приемали храна с по-високо съдържание на мазнини. Когато тези животни са третирани със симвастатин 50 mg дневно и след това е въведен интравенозно J 16 в доза (3 mg/kg), се наблюдава допълнителна 65% редукция на нивата на LDL-C [28].

Няколко моноклонални антитела, насочени срещу PCSK9 в кръвообращението, се изпитват в клинични проучвания върху хора. Pfizer-Rinat RN316 в момента е във фаза II на проучване. AMG145 (Amgen) е във фаза I на проучване. Ефектите на AMG145 ще бъдат изследвани при пациенти с хиперхолестеролемия в LAPLACE-TIMI 57 (NCT01380730) [40]. Във фаза I са две проучвания на моноклонални антитела на Sanofi-Aventis/ Regeneron SAR236553/REGN727, като се установява асоциация със сигнификантна редукция на LDL-C ($P < 0,001$) при 33-46% след подкожно приложение (50-250 mg) и 28-65% при интравенозно приложение (0,3-12,0 mg/kg) [39]. Като допълнение към статиновата терапия, многократното подкожно приложение в дози 50-150 mg на SAR236553/ REGN727 ($P < 0,001$), се наблюдава значима редукция на нивата на холестерола при 41-58% от пациентите с ФХ и при 38-65% от пациентите с хиперхолестеролемия (нефамилна хиперхолестеролемия) [39].

Заключение

Инхибирането на PCSK9 е доста обещаваща възможност при лечението със статини, особено като се има предвид, че при голямата част от високорисковите пациенти не се постигат прицелни стойности за LDL-C въпреки максималните дози на наличните в момента липидопонижаващи средства. По данни от последните проучвания фармакологично индуцираното инхибиране на PCSK9 е ефективно за намаляване на нивата на LDL-C. Терапевтичната оценка в дългосрочен план ще определи благоприятните ефекти на PCSK9 за намаляване на нивата на LDL-C, което ще намери израз в директна редукция на риска от ИБС.

Библиография

1. Косекова, Г., А. Алексеев и Т. Николов. Лекции по биохимия, 2010, 249-251.
2. Genetics Home Reference http://ghr.nlm.nih.gov/gene/PCSK9.
3. Abifadel, M. et al. Mutations in PCSK9 cause autosomal dominant hypercholesterolemia. – Nature genetics, **34**, 2003, 154-156.
4. Allard, D. et al. Novel mutations of the PCSK9 gene cause variable phenotype of autosomal dominant hypercholesterolemia. – Human mutation, **26**, 2005, 497.
5. Benjannet, S. et al. Loss- and gain-of-function PCSK9 variants: cleavage specificity, dominant negative effects,

and low density lipoprotein receptor (LDLR) degradation. – J. Biol. Chem., **287**, 33745-33755.
6. Benjannet, S. et al. The proprotein convertase (PC) PCSK9 is inactivated by furin and/or PC5/6A: functional consequences of natural mutations and post-translational modifications. – J. Biol. Chem., **281**, 2006, 30561-30572.
7. Brautbar, A. et C. M. Ballantyne. Pharmacological strategies for lowering LDL cholesterol: statins and beyond. – Nature Reviews, **8**, 2011, 253-265.
8. Cohen, J. et al. Low LDL cholesterol in individuals of African descent resulting from frequent nonsense mutations in PCSK9. – Nature Genetics, **37**, 2005, 161-165.
9. Costet, P. et al. Hepatic PCSK9 expression is regulated by nutritional status via insulin and sterol regulatory element-binding protein 1c. – J. Biol. Chem., **281**, 2006, 6211-6218.
10. Costet, P., M. Krempf et B. Cariou. PCSK9 and LDL cholesterol: unravelling the target to design the bullet. – Trends Biochem. Sci., **33**, 2008, 426-434.
11. Cui, Q. et al. Serum PCSK9 is associated with multiple metabolic factors in a large Han Chinese population. – Atherosclerosis, **213**, 2010, 632-636.
12. Essalmani, R. et al. In vivo evidence that furin from hepatocytes inactivates PCSK9. – J. Biol. Chem., **286**, 2011, 4257-4263.
13. Fisher, T. S. et al. Effects of pH and low density lipoprotein (LDL) on PCSK9-dependent LDL receptor regulation. – J. Biol. Chem., **282**, 2007, 20502-20512.
14. Frank-Kamenetsky, M. et al. Therapeutic RNAi targeting PCSK9 acutely lowers plasma cholesterol in rodents and LDL cholesterol in nonhuman primates. – Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, **105**, 2008, 11915-11920.
15. Graham, M. J. et al. Antisense inhibition of proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 reduces serum LDL in hyperlipidemic mice. – J. Lipid Res., **48**, 2007, 763-767.
16. Gupta, N. et al. A locked nucleic acid antisense oligonucleotide (LNA) silences PCSK9 and enhances LDLR expression in vitro and in vivo. – PloS one **5**, 2010, e10682.
17. Hobbs, H. H., M. S. Brown et J. L. Goldstein Molecular genetics of the LDL receptor gene in familial hypercholesterolemia. – Human Mutation, **1**, 1992, 445-466.
18. Hooper, A. J. et al. The C679X mutation in PCSK9 is present and lowers blood cholesterol in a Southern African population. – Atherosclerosis, **193**, 2007, 445-448.
19. Humphries, S. E. et al. Genetic causes of familial hypercholesterolaemia in patients in the UK: relation to plasma lipid levels and coronary heart disease risk. – J. Med. Gen., **43**, 2006, 943-949.
20. Lagace, T. A. et al. Secreted PCSK9 decreases the number of LDL receptors in hepatocytes and in livers of parabiotic mice. – J. Clin. Invest., **116**, 2006, 2995-3005.
21. Lambert, G. et al. Molecular basis of PCSK9 function. – Atherosclerosis, **203**, 2009, 1-7.
22. Lambert, G. et al. Fasting induces hyperlipidemia in mice overexpressing proprotein convertase subtilisin kexin type 9: lack of modulation of very-low-density lipoprotein hepatic output by the low-density lipoprotein receptor. – Endocrinology, **147**, 2006, 4985-4995.
23. Lambert, G. et al. The PCSK9 decade. – J. Lipid Res., **53**, 2012, 2515-2524.
24. Larose, E. et al. Characterization of human atherosclerotic plaques by intravascular magnetic resonance imaging. – Circulation, **112**, 2005, 2324-2331.
25. Levy, E. et al. PCSK9 plays a significant role in cholesterol homeostasis and lipid transport in intestinal epithelial cells. – Atherosclerosis, 2013.
26. Li, J. et al. Secreted PCSK9 promotes LDL receptor degradation independently of proteolytic activity. – Biochem. J., **406**, 2007, 203-207.
27. Liang, H. et al. Proprotein convertase substilisin/kexin type 9 antagonism reduces low-density lipoprotein cholesterol in statin-treated hypercholesterolemic nonhuman primates. – J. Pharmacol. Exp. Therap., **340**, 2012, 228-236.
28. Lindholm, M. W. et al. PCSK9 LNA antisense oligonucleotides induce sustained reduction of LDL cholesterol in nonhuman primates. – Mol. Ther., **20**, 2012, 376-381.
29. Maxwell, K. N. et al. Novel putative SREBP and LXR target genes identified by microarray analysis in liver of cholesterol-fed mice. – J. Lipid Res., **44**, 2013, 2109-2119.
30. Mayne, J. et al. Novel loss-of-function PCSK9 variant is associated with low plasma LDL cholesterol in a French-Canadian family and with impaired processing and secretion in cell culture. – Clin. Chem., **57**, 2011, 1415-1423.
31. Mayne, J. et al. Plasma PCSK9 levels correlate with cholesterol in men but not in women. – Biochem. and Biophys. Res. Commun., **361**, 2007, 451-456.
32. Naoumova, R. P. et al. Severe hypercholesterolemia in four British families with the D374Y mutation in the PCSK9 gene: long-term follow-up and treatment response. – Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology, **25**, 2005, 2654-2660.
33. Ni, Y. G. et al. A PCSK9-binding antibody that structurally mimics the EGF(A) domain of LDL-receptor reduces LDL cholesterol in vivo. – J. Lipid Res., **52**, 2001, 78-86.
34. Pandit, S. et al. Functional analysis of sites within PCSK9 responsible for hypercholesterolemia. – J. Lipid Res., **49**, 2008, 1333-1343.
35. Park, S. W., Y. A. Moon et J. D. Horton. Post-transcriptional regulation of low density lipoprotein receptor protein by proprotein convertase subtilisin/kexin type 9a in mouse liver. – J. Biol. Chem., **279**, 2004, 50630-50638.
36. Peterson, A. S., L. G. Fong et S. G. Young. PCSK9 function and physiology. – J. Lipid Res., **49**, 2008, 1595-1599.
37. Seidah, N. G. et al. The secretory proprotein convertase neural apoptosis-regulated convertase 1 (NARC-1): liver regeneration and neuronal differentiation. – Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, **100**, 2003, 928-933.
38. Seidah, N. G. et A. Prat. The biology and therapeutic targeting of the proprotein convertases. – Nat. Rev. Drug Discov., **11**, 2012, 367-383.
39. Shan, L. et al. PCSK9 binds to multiple receptors and can be functionally inhibited by an EGF-A peptide. – Biochem. and Biophys. Res. Communications, **375**, 2008, 69-73.
40. Watts, G. F., B. Lewis et D. R. Sullivan. Familial hypercholesterolemia: a missed opportunity in preventive medicine. – Nat. Clin. Pract., **4**, 2007, 404-405.

Постъпила - 08.10.2013 г.

✉ *Адрес за кореспонденция:*

Рени Цвеова
Център по молекулна медицина
Медицински университет
ул. „Св. Г. Софийски“ № 1
1431 София

✉ *Address for correspondence:*

Reni Tzveova
Molecular Medicine Center
Medical University
1 Sv. G. Sofiyski st.
Bg – 1431 Sofia