

# NOVOSTI PRI ZDRAVLJENJU POVIŠANEGA HOLESTEROLA

## NOVEL TREATMENT APPROACHES AGAINST ELEVATED LEVELS OF CHOLESTEROL

AVTOR / AUTHOR:

prof. dr. Borut Štrukelj, mag. farm.

*Univerza v Ljubljani, Fakulteta za farmacijo,  
Aškerčeva 7, 1000 Ljubljana*

NASLOV ZA DOPISOVANJE / CORRESPONDENCE:

E-mail: borut.strukelj@ffa.uni-lj.si

## 1 UVOD

Srčno-žilne bolezni, predvsem hiperholesterolemija in dislipidemija, so med najpogostejše diagnosticiranimi boleznimi odraslih v razvitem svetu. Svetovna zdravstvena organizacija ocenjuje, da zaradi srčno-žilnih bolezni umre vsako leto 17,3 milijona ljudi, kar je dobra tretjina smrti zaradi kroničnih bolezni. Številne klinične raziskave, metaanalize in ugotavljanje vzrokov smrti zaradi srčno-žilnih bolezni kažejo na to, da je poleg hipertenzije poglaviti vzročni dejavnik povišan holesterol v lipoproteinu majhne gostote (LDL-holesterol) (1, 2).

## POVZETEK

Holesterol v lipoproteinih majhne gostote (LDL-holesterol) je eden od najpomembnejših vzročnih dejavnikov nastanka srčno-žilnih bolezni. Poleg že uveljavljenega zdravljenja s statini in ezetimibom je zadnje desetletje namenjeno razvoju in uporabi zaviralcev proteina PCSK-9, ki z vezavo na receptor LDL pospeši njegovo razgradnjo in s tem viša vrednosti LDL-holesterola. V ta namen uporabljamo dve humani monoklonski protitelesi evolokumab in alirokumab, še večjo revolucijo v zdravljenju pa predstavlja majhna dvovijačna interferenčna RNA (siRNA), imenovana inklisiran. Delovanje inklisirana je povezano z vezavo in razgradnjo mRNA za PCSK-9, kar vodi do večjega privzema in metabolizma LDL-holesterola v hepatocitih in posledično njegovega zmanjšanja v plazmi.

## KLJUČNE BESEDE:

inklisiran, LDL-holesterol, monoklonska protitelesa, zaviralci PCSK-9

## ABSTRACT

Low-density lipoprotein cholesterol (LDL-cholesterol) is one of the most important causal factors associated with cardiovascular diseases. Among established therapies with statins and ezetimib, the last decade has been focused in the development and use of PCSK-9 inhibitors. The PCSK-9 protein binds to an LDL receptor and accelerates its degradation and increases levels of LDL-cholesterol. Two human monoclonal antibodies, evolocumab and alirocumab, are used as PCSK-9 inhibitors, while an even more revolutionary approach has been reached by a small two-stranded interfering RNA (siRNA), known as inclisiran. Inclisiran binds to mRNA for PCSK-9 and triggers its degradation, which results in increased uptake and metabolism of LDL-cholesterol in hepatocytes, and a decrease of LDL-cholesterol plasma levels.

## KEY WORDS:

inclisiran, LDL-cholesterol, monoclonal antibodies, PCSK-9 inhibitors

Osnova zdravljenja temelji na znižanju serumske vrednosti LDL-holesterola. Doktrina zdravljenja temelji na uporabi statinov različnih generacij in ezetimiba, manj pogosto pa pred-



pisujejo fibrate. Zmanjšanje vrednosti LDL-holesterola le za 1 mmol/L zmanjša tveganje za kardiovaskularne bolezni za 4,1 % (pri bolnikih, mlajših od 70 let) oziroma za 3,9 % (pri bolnikih od 70–79 let), kar pa velja predvsem za statinsko terapijo ali kombinirano terapijo statinov z ezetimibom (3). Raziskave namreč kažejo, da kljub rahlemu znižanju koncentracije holesterola z nestatinskimi zdravili (fenofibrat, torcetrapid, laropirant/niacin) ni pričakovanega učinka zmanjšanja incidence srčno-žilnih dogodkov. Bistveno izboljšanje zdravljenja z nižjo incidenco srčno-žilnih dogodkov opažamo šele pri uporabi zaviralcev encima PCSK9, v monoterapiji ali v kombinaciji s statini in ezetimibom (4, 5).

## 2 PROTEIN PCSK-9

Encim propeptidne konvertaze subtilizin-keksinskega tipa 9 (PCSK-9) je v plazmi prisoten protein, ki ga sintetizirajo in izločajo hepatociti. Leta 2003 je raziskovalec dr. Nabil Seidah odkril novo proproteinsko konvertazo, ki je kodirana z genom za PCSK9, ki je lociran na humanem kromosomu 1 in pripada peptidazni družini S8 (6).

Pri nekaterih posameznikih so odkrili značilni genski polimorfizem, povezan z večjim tveganjem za srčno-žilne bolezni. Sestavljen je iz štirih bistvenih delov v obliki preproteina: iz signalnega zaporedja, N-terminalnega zaporedja, katalitične domene (med aminokislinami 153-425) in C-terminalnega dela. Po aktivaciji s proproteinskim konvertaznim delom postane aktiven protein. Njegova funkcija je uravnavanje receptorja LDL (LDLR) na površini hepatocitov, približno 10 % encima PCSK-9 pa najdemo tudi v nadledvični žlezi, možganih in v zelo majhni količini tudi v drugih tkivih (6).

LDLR je receptor, odgovoren za vezavo konglomerata molekul LDL-holesterola, povezanih z apolipoproteinom B (ApoB). Po vezavi LDL-holesterolnega konglomerata na površino receptorja LDLR se kompleks internalizira v hepatocite, kjer se LDL-holesterol metabolizira do žolčnih kislin, LDLR pa ponovno preide celično membrano in veže nov LDL-holesterolni konglomerat. Na ta način močno upade koncentracija LDL-holesterola v plazmi in vzpostavlja se dinamično ravnotežje med LDL- in HDL-holesterolom (1).

Ko se encim PCSK-9 veže na receptor LDLR, prepreči sproščanje receptorja LDLR in povzroči znotrajcelično lizosomsko razgradnjo receptorja LDLR, s čimer je onemogočena njegova funkcija ponovnega privzema LDL-hole-

sterolnega konglomerata na površini hepatocitov. Posledično se koncentracija LDL-holesterola v plazmi poviša, kar negativno vpliva na razmerje LDL- in HDL-holesterola, obnem pa se ustvarijo pogoji nastanka aterosklerotičnih plakov (7).

Odkritje PCSK-9 in fiziološka vloga je bila v zadnjem desetletju tarča mnogih bazičnih in aplikativnih raziskav. Znanstveniki so ugotovili, da bi z zaviranjem nastanka PCSK-9, vezave in njegovega delovanja na receptorje LDLR lahko bistveno zmanjšali količino LDL-holesterola v plazmi, ki se v obliki konglomerata, sestavljenega iz 3000 do 6000 molekul LDL-holesterola, povezanega z ApoB proteini, veže na receptor LDLR. To odkritje je še posebej pomembno zaradi dejstva, da nekateri bolniki ne odreagirajo na zdravljenje s statini ali kombinacijo statinov in ezetimiba, ali pa sčasoma zaradi neželenih učinkov, predvsem pojava miopatij, ne sodelujejo tvorno in vztrajno pri zdravljenju (5).

Na osnovi napredka pri razvoju in uporabi monoklonskih protiteles so razvili prve specifične zaviralce oz. vezalce encima PCSK-9, ki pripadajo skupini monoklonskih protiteles, še večjo revolucijo v selektivnem zdravljenju pa pomeni razvoj majhne interferenčne dvovijačne molekule RNA, ki prepreči nastanek encima PCSK-9 na translacijskem nivoju z mehanizmom razgradnje interferenčne RNA. Končni učinek, najsi bo uporaba monoklonskih protiteles proti PCSK-9 ali razgradnja njegove informacijske RNA (mRNA), vodi do zmanjšane koncentracije aktivne oblike PCSK-9 na površini hepatocitov in v plazmi, s čimer je omogočena večja razgradnja LDL-holesterola (8, 9).

## 3 ZAVIRANJE DELOVANJA PROTEINA PCSK-9 Z MONOKLONSKIMI PROTITELES

Monoklonska protitelesa (mAb), ki se s svojim hipervariabilnim delom na koncu fragmenta FAB vežejo na aktivni protein PCSK-9, so bila v zadnjem desetletju tarča raziskav učinkovitosti pri bolnikih s hiperholesterolemijo, kot zdravljenje le z mAb ali v kombinaciji s statini ali ezetimibom (10).

Ugotovili so, da monoklonska protitelesa v večini primerov značilno znižujejo LDL-holesterol. V letu 2020 so v ugledni znanstveni reviji *Nature* objavili, da zaviralci PCSK-9 (tako monoklonska protitelesa kot inkliširan) povečajo pglavitne histokompatibilne proteine skupine I (MHC1) na površini rakavih celic na mišjih živalskih modelih, kar poveča delovanje zaviralcev kontrolnih točk (anti-PD1 zdravljenje z mo-

noklonskimi protitelesi) in s tem povečajo učinek zdravljenja nekaterih rakavih bolezni (11).

Trenutno sta komercialno dostopna popolnoma humana mAb evolokumab (odobren leta 2015) in alirokumab (odobren leta 2015), razvoj bokokizumaba, ki je sicer humanizirano monoklonsko protitelo, pa je bil ustavljen leta 2016, zaradi povišanih vrednosti jetrnih transaminaz (12). Indikacija je primarna in heterozigotna družinska hiperholesterolemija. Le evolokumab pa so registrirali tudi kot zdravilno učinkovino za zmanjševanje neželenih učinkov pri homozigotni družinski hiperholesterolemiji, ki pa je relativno redka genska bolezen (13). Klinični pomen evolokumaba in alirokumaba je v zmanjšanju pojavov resnih neželenih učinkov na srčno-žilni sistem, kot so nenadni srčni dogodki, infarkt, možganska kap ter nestabilna angina pectoris. Drugi neželeni učinki so blagi, predvsem rdečina in bolečina na mestu vboda, zmanjšanje aktivne oblike PCSK-9 pa ne vpliva na kognitivne ali glikemične neželene učinke, čeprav so prisotnost PCSK-9 dokazali v možganih in drugih tkivih (14, 15).

## 4 INKLISIRAN: UČINKOVITA RAZGRADNJA mRNA ZA PCSK-9 S TEHNOLOGIJO INTERFERENČNE RNA

Inklisiran pomeni revolucionarno novo pot zaviranja povišanega holesterola LDL s pomočjo mehanizma majhne interferenčne RNA (siRNA). Decembra leta 2020 je Evropska agencija za zdravila odobrila dovoljenje za promet za dve osnovni indikaciji: primarna hiperholesterolemija in mešana dislipidemija. Inklisiran je dvovijačna molekula RNA, na katero je vezan trimer N-acetilgalaktozamina, ki je vezalec molekule na asialoglikoproteinski receptor (ASGPR). Za večjo stabilnost so namesto fosfodiestrskih vezi med mononukleotidi v molekuli RNA le te nadomestili s fosforotio-natno vezjo, prav tako pa je delno modificirana tudi ribozna podenota. Na ta način pridobimo stabilno dvovijačno RNA, ki lahko po internalizaciji dolgo kroži in deluje v citoplazmi (16).

Ko se inklisiran veže na površino hepatocitov, se internalizira, trimer N-acetil galaktozamina se razgradi, dvovijačna interferenčna RNA pa aktivira nukleazno-proteinski kompleks RISC, ki razpre dvovijačno RNA, del, ki kodira za mRNA za PCSK (»potnik« RNA) se razgradi, del, ki je komplementaren mRNA za PCSK-9 (»vodnik« RNA) pa se veže na mRNA za PCSK-9 in sproži njeno nukleazno razgradnjo. Proces se ponavlja toliko časa, dokler se ne razgradi večina

mRNA, ki kodira za PCSK-9, kar posledično vodi do bistveno zmanjšane sinteze encima PCSK-9. Tako ostane več receptorjev LDLR aktivnih in več konglomeratov LDL- holesterola se razgradi v jetrih (17).

Sodelovanje bolnikov je zelo dobro, saj sta dovolj dva odmerka letno (torej en odmerek s. c. na šest mesecev), učinek pa je dolgotrajen. Ker ne gre za klasično sintezno molekulo, ampak mimetik naravno prisotne spojine, se inklisiran metabolizira z jetrnimi nukleazami in tako ne interferira s citokromskimi encimi in ima manj interakcij z drugimi zdravilnimi učinkovinami. Prav tako ni potrebno odmerka individualno titrirati, saj je primeren za vse komorbidne bolnike s pridruženimi jetrnimi ali ledvičnimi boleznimi (18, 19).

## 5 SKLEP

Odkritje pomembnega tarčnega encima, propetidne konvertaze subtilizin-keksinskega tipa 9 (PCSK-9) je pomenilo nov, sodoben pristop k razvoju specifičnih in selektivnih zdravilnih učinkovin, saj je zaviranje encima PCSK-9 oz. njegove mRNA ključno za zmanjševanje LDL-cholesterola. Na voljo sta dve monoklonski protitelesi (evolokumab in alirokumab) in majhna, interferenčna molekula dvovijačne RNA (inklisiran), ki bistveno zmanjšajo povišane koncentracije LDL-cholesterola ter izboljšajo razmerje med LDL-cholesterolom in HDL-cholesterolom, s čimer povečujejo kakovost življenja bolnikov s hiperholesterolemijo in dislipidemijo.

## 6 LITERATURA

1. Badimon L, Vilahur G. LDL-cholesterol versus HDL-cholesterol in the atherosclerotic plaque: inflammatory resolution versus thrombotic chaos. *Ann NY Acad Sci* 2012; 1254:18-32.
2. Hanžel J, Šabovič M. Novosti v zdravljenju hiperholesterolemije in arterijske hipertenzije. *Farm vest* 2016; 67: 134-140.
3. Laleman N, Henrard S, Vaes B et al. Time trends in statin use and incidence of recurrent cardiovascular events in secondary prevention between 1999 and 2013 a registry-based study. *BMC Cardiovasc Disorders* 2018; 18: 23-32.
4. Gryn SE, Hegele RA. Ezetimibe plus simvastatin for the treatment of hypercholesterolemia. *Exp Opin Pharmacother* 2015; 16: 1255-62. 14. Khorova A. Oligonucleotide



- Therapeutics-A New Class of Cholesterol-Lowering Drugs. N Engl J Med* 2017; 376:4-7.
5. Thomopoulos C, Skalis G, Michalopoulou H et al. Effects of low-density lipoprotein cholesterol lowering by ezetimibe/simvastatin on outcome incidence: overview, meta-analyses, and meta-regression analyses of randomized trials. *Clin Cardiol* 2015; 38:763-769.
  6. Blanchard V, Khantalini I, Ramin-Mangata S et al. PCSK9: from biology to clinical applications 2018; *Pathology* 51: 177-183.
  7. Giugliano RP, Sabatine MS. Are PCSK9 inhibitors the next breakthrough in the cardiovascular field? *J Am Coll Cardiol* 2015; 65:2638-2651.
  8. Rosenson RS, Hegele RA, Fazio S et al. The evolving future of PCSK9 inhibitors. *J Amer Coll Cardiol* 2018; 72: 314-329.
  9. Gallego-Colon E, Daum A, Yosefy C. Statins and PCSK9 inhibitors: A new lipid-lowering therapy. *Eu J Pharm* 2020; 878: 22-28.
  10. Descamps OS, Fraass U, Dent R et al. Anti-PCSK9 antibodies for hypercholesterolemia: overview of clinical data and implications for primary care. *In J Clin Pract* 2017; 71: e12979.
  11. Liu X, Bao X, HU M et al. PCSK9 inhibition potentiates cancer immune checkpoint therapy. *Nature* 2020; 588: 693-698.
  12. Thedrez a, Sjouke B, Passard M et al. Pro-protein convertase subtilisin kexin type 9 inhibition for autosomal recessive hypercholesterolemia: brief report. *Ater Thromb vasc Biol* 2016; 36:1647-1650.
  13. Lunven C, Paehler T, Poitiers F et al. A randomized study of the relative pharmacokinetics, pharmacodynamics, and safety of alirocumab, a fully human monoclonal antibody to PCSK9, after single subcutaneous administration at three different injection sites in healthy subjects. *Cardiovasc Ther* 2014; 32: 297-301.
  14. Blom DJ, Hala T, Bolognese M et al. A 52-week placebo-controlled trial (DESCARTES) of evolocumab in hyperlipidemia. *N Eng J Med* 2014; 370:1809-1819.
  15. Nissen SE, Stroes E, Dent-acosta RE et al. Efficacy and tolerability of evolocumab vs ezetimibe in patients with muscle-related statin intolerance. *J Am Med Assoc* 315: 1580-1590.
  16. Khorova A. Oligonucleotide Therapeutics-A New Class of Cholesterol-Lowering Drugs. *N Engl J Med* 2017; 376:4-7.
  17. German CA, Shapiro MD. Small interfering RNA therapeutics inclisiran: a new approach to targeting PCSK9. *BioDrugs* 2020; 34: 1-9.
  18. Ray KK, Landmesser U, Leiter LA et al. Inclisiran in patients at high cardiovascular risk with elevated LDL cholesterol. *N Engl J Med* 2017; 376: 1430-1440.
  19. Leiter LA, Teoh H, Kallend D et al. Inclisiran lowers LDL-C and PCSK9 irrespective of diabetes status: the ORION-1 randomized clinical trial. *Diabetes Care* 2019; 42: 173-176.