

PCSK9, мікросомальний тригліцеридтранспортний протеїн і ген ANGPTL3 як причини дисліпопротеїнемій та нова мішень їх лікування

Ю.М. Панчишин, к.м.н., доцент,
О.Й. Комариця, к.м.н., доцент,
кафедра внутрішньої медицини № 2

Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького

Отримані знання про метаболізм ліпідів дають підстави для розуміння складних процесів в організмі людини, з якими пов'язаний обмін не тільки холестеролу (ХС), але й холестеролу ліпопротеїнів низької густини (ХС-ЛНГ), ліпопротеїнів дуже низької густини (ЛДНГ), тригліцеридів (ТГ), апопротеїнів (апо). Незважаючи на численні багаторічні дослідження гіперхолестеролемії (гіперХС) – важливого чинника розвитку атеросклерозу – виникають нові питання, відповіді на які потребують детального вивчення, часто на генетичному рівні. Це стосується реакції на лікування у пацієнтів із гіперХС, неефективності відомих гіполіпідемічних препаратів, визначення прогностичних ознак перебігу хвороб при високому та низькому рівнях холестеролу крові.

Продовжується вивчення гіпохолестеролемії (гіпоХС), яка ускладнює перебіг не тільки ішемічної хвороби серця та серцевої недостатності [1], але й малярії, туберкульозу [2, 3]; патології шлунка і дванадцятипалої кишки, пов'язаної з гелікобактерною інфекцією [1]; тяжкої пневмонії та хронічних обструктивних захворювань легень [1]; ревматизму [1]; метаболічного синдрому; хвороб нирок [4].

До чинників, що мають суттєвий вплив на розвиток гіперХС та гіпоХС, абета- та гіпобеталіпопротеїнемій, належать мікросомальний тригліцеридтранспортний протеїн (МТТП), пропротеїн конвертаза субтилізин/кексин типу 9 (proprotein convertase subtilisin/kexin 9 – PCSK9) та мутації гена ангіопоетин-подібного білка 3 (angiotensin-like 3 protein – ANGPTL3).

Первинна гіпохолестеролемія асоціюється з генетичними мутаціями, що впливають на шляхи абсорбції, біосинтезу чи метаболізму ХС, спричинюючи абеталіпопротеїнемію та гіпобеталіпопротеїнемію (ГБЛП), хворобу Tangier, хворобу нагромадження хіломікронів та спадкові порушення біосинтезу холестеролу [5]. **Первинна ГБЛП** є наслідком мутації генів, які відповідають за синтез апопротеїнів В (апоВ), PCSK9, МТТП, SARA2 чи інших, ще не ідентифікованих генів [7].

Анемія, гіпертиреозидизм, злоякісні пухлини, хвороби печінки, критичні стани, тяжкі стреси, мальабсорбція,

гостра чи хронічна інфекція, хронічне запалення, вживання деяких ліків супроводжуються **вторинною гіпоХС** [5], сприяти розвитку якої можуть вегетаріанська дієта, хвороби, статинотерапія у високих дозах та інші чинники [6]. Родинна ГБЛП характеризується низькими концентраціями загального ХС, ХС-ЛНГ та апоВ [6]. Гетерозиготна родинна ГБЛП часто є безсимптомною, а концентрації ХС-ЛНГ і апоВ в плазмі становлять 1/3-1/4 від нормальних величин [6].

Мутації гена ANGPTL3 асоційовані з новою формою первинної ГБЛП, яка характеризується низькими рівнями загального ХС і ХС ліпопротеїнів високої густини [8, 9]. Ген ANGPTL3 пригнічує активність ліпопротеїнліпази та ендотеліальної ліпази і таким чином впливає на метаболізм ліпідів [10]. Повна втрата активності ANGPTL3 при його мутації loss-of-function (втрата функції) асоціюється з рецесивною гіполіпідемією (зниження вмісту апопротеїну В та апоА1-вмісних ліпопротеїнів, зміна субкласів ліпопротеїнів високої густини). Частковий дефіцит ANGPTL3 асоціюється тільки з помірним зниженням ЛНГ [10].

К. Brusgaard et al. описали раніше невідомі мутації гена апоВ із вкороченням плеча хромосоми та новими місенс-мутаціями [11], що асоціюються з родинною ГБЛП.

Мікросомальний тригліцеридтранспортний протеїн – великий клітинний протеїн, який бере участь у транспорті ліпідів, локалізується в просвіті ендоплазматичної сітки [12]. Він задіяний у синтезі апоВ-вмісних багатих на ТГ ліпопротеїнів, відіграє певну роль у біосинтезі CD1, гліколіпідпрезентуючих молекул та ефірів ХС [12]. МТТП експресується в яєчниках, яєчках, нирках, печінці і тонкій кишці [13]. Абеталіпопротеїнемія – рецесивна генетична хвороба людини, основою якої є дефекти мікросомального тригліцеридтранспортного протеїну, що призводять до відсутності в плазмі апоВ та апоВ-вмісних ліпопротеїнів [13].

Описані дві нові мутації в гені, що кодує МТТП, які призводять до втрати функції транспортування тригліцеридів [14].

Детально вивчена роль МТТП у процесах збирання й дозрівання вірусу гепатиту С (HCV) [15]. HCVcore-

білок, зменшуючи активність цього протеїну, порушує синтез ЛДНГ, сприяє їх екзоцитозу з клітин печінки у позапечінковий простір, спричиняє розвиток стеатозу гепатоцитів, підтримує персистенцію HCV [16, 17]. При збереженій здатності печінки до синтезу apoA1 блокада мікросомального тригліцеридтранспортного білка нівелюється і ЛДНГ у комплексі з HCV виділяються в кров. При недостатності apoA в гепатоцитах розвивається стеатоз [16].

Ми знайшли лише одну роботу, присвячену порушенням метаболізму аполіпопротеїнів та інфекції вірусом гепатиту В, в якій вказано на те, що цей вірус гальмує експресію аполіпопротеїнів В через пригнічення активності МТТП [18].

Поліморфізм МТТП може бути предиктором розвитку діабету незалежно від інсулінорезистентності в загальній популяції [19]. Автори дослідження вказують, що незалежно від інсулінорезистентності, рівня ліпідів натще, вмісту адипокінів і харчових звичок особи з GG-генотипом МТТП мали більш виражену β-клітинну дисфункцію підшлункової залози, вищі рівні ТГ [19].

В основі розвитку неалкогольної жирової хвороби печінки лежать зміни секреції ліпопротеїнів, яка опосередковується apoB100 і МТТП [20]. З розвитком неалкогольної жирової хвороби печінки пов'язаний -493 G/T поліморфізм гена МТТП. Гомозиготи з GG-генотипом мають більш виражений атерогенний профіль ліпідів, ніж особи з іншими генотипами [21]. Деякі варіанти генотипів МТТП частіше трапляються серед дітей з надмірною вагою та неалкогольним стеатогепатитом [22].

Пропроутеїн конвертаза субтилізин/кексин типу 9 – член родини серинових пропротеїн конвертаз ссавців, які необхідні для утворення нейропептидів, прогормонів, цитокінів, факторів росту, рецепторів білків клітинної поверхні [23, 24]. Пропроутеїн конвертаза експресується в печінці, товстій кишці, мезенхімальних клітинах нирки, кишковому епітелії, нейронах. Кількість її зростає під час регенерації гепатоцитів і диференціації нервових клітин [24]. Надекспресія гена PCSK9 внаслідок мутації веде до значного зростання apoB-рецепторів на поверхні клітини та гіпоХС [25], до збільшення ХС-ЛНГ [26].

H. Lan et al. [27] дослідили, що PCSK9 стимулює регуляцію генів, які відповідають за біосинтез ХС. У цьому дослідженні встановлено ще кілька процесів, які регулюються PCSK9: ліквідація пошкоджених білків, метаболізм ксенобіотиків, клітинний цикл, запалення і відповідь на стрес [27].

За даними Z. Awan et al. [28], середній рівень PCSK9 вищий у жінок, ніж у чоловіків. Концентрації apoB-вмісних ліпопротеїнів і циркулюючого PCSK9 нижчі, коли вміст ендогенних естрогенів вищий [29]. Рівень PCSK9 в плазмі позитивно корелює із концентрацією загального ХС і ХС-ЛНГ в чоловіків, а для жінок така кореляція не є характерною [30].

Мутації гена PCSK9 асоціюються як з гіпо-, так і гіперХС. Родинна гіперХС є результатом мутацій генів ЛНГ-рецепторів, apoB, PCSK9, apoE [31]. Мутації гена PCSK9, які пов'язані з підвищеною функцією конвертази, можуть призвести до автосомно-домінантної родин-

ної гіперліпідемії. Мутації з втратою функції, які супроводжуються збільшеною кількістю ЛНГ-рецепторів та більшим кліренсом циркулюючих ліпопротеїнів, сприяють виникненню гіпоХС.

Особі з мутаціями loss-of-function PCSK9 через низьку концентрацію ХС-ЛНГ мають менший ризик розвитку коронарної хвороби серця [32, 33]. За даними N. Ferri [34], PCSK9 секретується клітинами гладких м'язів, здатна зменшувати експресію apoB-рецепторів у макрофагах, можливо, бере участь у формуванні пінистих клітин та атерогенезі.

Участь PCSK9 в регуляції концентрації ХС-ЛНГ та розвитку коронарної хвороби у чоловіків довели також генетичні дослідження. На основі поєднаних даних автопсій та клінічної картини дослідники вказують на те, що ген PCSK9 асоціюється з ризиком розвитку атеросклерозу великих судин та інсульту на його фоні [35, 36]. M. Denis et al. [37] показали зв'язок між PCSK9 та атеросклерозом: надекспресія PCSK9 є проатерогенною, її відсутність – протективною. Інфекції періодонту збільшують ризик атеротромботичної патології. Концентрація PCSK9 у пацієнтів із цими хворобами є достовірно вищою, ніж в групі контролю [38].

Вчені показали антивірусний ефект циркулюючої в печінці PCSK9 на HCV у клітинах та зниження рівня експресії печінкових CD81 *in vivo* [39]. Дослідники припускають, що плазманий рівень і/чи активність PCSK9 можуть модулювати HCV-інфікованість у людей [39].

PCSK9 експресується в панкреатичних δ-клітинах [40]. Миші без PCSK9 мали більше apoB-рецепторів, гіпоінсулінемію, гіперглікемію та були менш толерантні до глюкози. Рівень PCSK9 в плазмі достовірно вищий:

- у пацієнтів із цукровим діабетом I типу, ніж у тих, хто страждає на цукровий діабет II типу;
- в осіб із діабетом, які вживали статини та тих, хто мав клінічні прояви ураження великих судин [41].

Рівень PCSK9 позитивно корелює з віком, індексом маси тіла, систолічним артеріальним тиском, рівнем гаммаглутамілтранспептидази [41]. B. Verges et al. [42] показали, що рівень PCSK9 і глікемія є незалежними чинниками, що впливають на катаболізм ЛНГ.

Ген, що кодує синтез PCSK9, розміщений на хромосомі 1p32 в осіб із родинною гіперХС і не пов'язаний з мутаціями генів ЛНГ-рецептора і apoB [43-45].

Детальніше значення PCSK9 і МТТП у розвитку дисліпопротеїнемій описано в раніше опублікованих оглядах Ю. Панчишин [46, 47], Ю. Панчишин і О. Комариці [48].

Розглядається багато нових терапевтичних засобів для лікування дисліпідемій:

- β-агоністи тиреоїдних рецепторів;
- стимулятори рецепторів, що активують проліферацію нових пероксисом;
- інгібітор діагліцерил-ацилтрансферази-1;
- міметичні пептиди;
- інгібітори ефірів холестеролу та фосфоліпази;
- генна терапія специфічних рідкісних хвороб [49];
- інгібітори МТТП;
- пропротеїн конвертаза субтилізин/кексин типу 9 і скваленсинтази та інші засоби [50].

Кандидатами для пригнічення PCSK9 є пацієнти з родинною гіперХС, високим ризиком кардіоваскулярних хвороб, неефективною статинотерапією, частковою чи повною резистентністю до статинів [51, 52].

В кількох дослідженнях показано, що *інгібітори PCSK9* збільшують гіполіпідемічний ефект статинів. Статини мають парадоксальний вплив на рівень PCSK9. З одного боку, вони збільшують активність ароВ-рецепторів, що сприяє зниженню ХС-ЛНГ, з другого – збільшують експресію PCSK9, що знижує кількість ароВ-рецепторів і таким чином перешкоджає зниженню ЛНГ [53, 56].

Антитіла, що блокують взаємодію PCSK9 та рецепторів до ЛНГ, можуть перешкоджати дії ендогенної PCSK9 [54]. Вони здатні руйнувати високоспоріднені взаємодії між PCSK9 з мутацією, що посилює функцію, та ЛНГ-рецептором у дослідженнях *in vitro* та *in vivo* [54].

Генероване нейтралізаційне антитіло anti-PCSK9 mAb1 *in vitro* пригнічує участь PCSK9 у побудові рецепторів до ЛНГ та опосередкованому нею зменшенні вмісту протеїну ароВ-рецепторів. Це призводить до збільшення рівня ЛНГ [55]. У мишей mAb1 збільшує кількість протеїну ЛДНГ-рецепторів та знижує рівень загального ХС. Цей ефект не виражений у ЛДНГ -/мишей [55]. J.C. Chan et al. [55] виявили значне зниження вмісту ХС-ЛНГ у мавп після інфузії mAb1. Автори вказують, що зниження концентрації ЛНГ чітко залежить від наявності печінкових ароВ-рецепторів, а інфузія mAb1 сприяє збільшенню експресії таких рецепторів. Миші з недостатньою кількістю PCSK9 гіперчутливі до статинів. Застосування комбінації статинів та інгібіторів PCSK9 дає можливість швидше досягти ідеальних рівнів ХС-ЛНГ у пацієнтів із високим ризиком [55]. Описаний вплив фенофібрату, який знижує PCSK9 та концентрацію ЛДНГ у осіб із цукровим діабетом, що лікувалися статинами [57].

Результати першої фази досліджень моноклонального антитіла до PCSK9 (REGN727/SAR236553 [REGN727]) показали, що воно достовірно знижує рівень ХС-ЛНГ у здорових волонтерів та осіб із родинною і неспадковою гіперХС [58]. За різними даними, від 10 до 20% пацієнтів є резистентними до терапії статинами. Триває перша фаза дослідження моноклонального антитіла до PCSK9 AMG145, яке добре переноситься хворими та знижує рівень ХС-ЛНГ [72]. Комбінація аторвастатину з моноклональним антитілом до PCSK9 сприяє значно більшому зниженню ХС-ЛНГ, ніж використання лише аторвастатину в дозі 80 мг [73].

Інгібітори МТТП розглядаються як нові препарати для зниження концентрації ліпідів крові [59, 20]. Деривати тріаміду з бензотіазоловим ядром розглядаються як потенційні інгібітори МТТП. Для зменшення токсичного впливу на печінку препарати оптимізовані для активності тільки в ентероцитах і мають обмежену здатність до акумуляції [60].

Експресія мРНК МТТП негативно регулюється інсуліном, який корелює з пригніченням секреції ароВ. Це є свідченням можливості інсуліну пригнічувати секрецію ароВ через МТТП-залежний механізм [61].

Терапія новим інгібітором МТТП – JTT-130 – дає можливість знизити рівень глікозильованого гемоглобіну, плазмові концентрації глюкози, ТГ, загального ХС, рівні ТГ і ХС у печінці, рівні мРНК глюкозо-6-фосфатази, фосфоенолпіруват-карбоксикінази та фруктозо-1,6-бісфосфатази в печінці. Препарат JTT-130 поліпшує метаболізм глюкози та ліпідів у піддослідних шурів і, очевидно, може використовуватися для профілактики цукрового діабету II типу [62].

Потенційний інгібітор МТТП – BMS-201038 – сприяє зменшенню секреції ЛДНГ та хіломікронів у печінці в лінії шурів Zucker. Такі зміни ліпідів можуть суттєво поліпшувати толерантність до глюкози та чутливість до інсуліну [63]. Показано, що пригнічення МТТП описаним препаратом достовірно знижує вираженість дисліпідемії, асоційованої з інсулінорезистентністю, та знижує кардіоваскулярний ризик [64].

Ще один препарат, який здатний пригнічувати секрецію МТТП в ентероцитах, описаний в роботі E. Kim et al. [65]. Перше покоління інгібіторів МТТП призначалося для пригнічення печінкового МТТП у процесі лікування дисліпідемії. Але вони спричинювали зростання активності печінкових ферментів та викликали стеатоз печінки у тварин і людини [65, 71]. Подвійні інгібітори фосфоліпід-транспортного протеїну та МТТП можуть знижувати секрецію тригліцеридів у гепатоцитах, зменшувати секрецію ароВ [66]. Печінкова індукція МТТП сприяла зниженню акумуляції ТГ у печінці, зростанню експорту ЛДНГ і зменшенню ознак неалкогольного стеатогепатиту та порушення толерантності до глюкози [67].

Клінічне застосування інгібіторів МТТП переважно полягало в монотерапії високими дозами для суттєвого зниження ХС-ЛНГ крові, особливо в осіб із гомозиготною родинною гіперХС [68]. Проте використання високих доз супроводжувалося значною кількістю побічних ефектів з боку шлунково-кишкового тракту та печінки. Селективне пригнічення активності МТТП може зменшувати рівень гіперліпідемії [69]. Висунуто гіпотезу про те, що саме зниження вмісту МТТП, а не пригнічення його активності, може сприяти нижчому рівню ліпідів [12].

Застосування інгібіторів МТТП показало багатообіцяючі результати для зниження вмісту холестерину, тригліцеридів та аполіпопротеїну В з невеликою частотою побічних ефектів [70].

Отже, нові дослідження, присвячені механізмам розвитку дисліпідемій, дають можливість синтезувати нові препарати для їх лікування.

Список літератури – в редакції