

<https://doi.org/10.29296/25877305-2021-04-05>

## Основные группы ингибиторов пропротеиновой конвертазы субтилизин-кексинового типа 9: механизмы действия и клиническая эффективность. Ч. 2

А.М. Чаулин<sup>1, 2</sup>,  
Н.А. Свечков<sup>1, 2</sup>,  
С.Л. Волкова<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Самарский областной клинический кардиологический диспансер, Самара

<sup>2</sup>Самарский государственный медицинский университет Минздрава России

E-mail: alekseymikhailovich22976@gmail.com

*Пропотеиновая конвертаза субтилизин-кексинового типа 9 (PCSK9) рассматривается в качестве многообещающей терапевтической мишени для разработки новых групп лекарственных препаратов, направленных на лечение и профилактику дислипидемий и сердечно-сосудистых заболеваний. Настоящая статья является продолжением ранее начатого обсуждения основных групп ингибиторов PCSK9<sup>1</sup>. В статье подробно рассматриваются механизмы действия и клиническая эффективность следующих групп препаратов: низкомолекулярных ингибиторов PCSK9, миметических пептидов и вакцин против PCSK9.*

**Ключевые слова:** кардиология, пропротеиновая конвертаза субтилизин-кексинового типа 9, атеросклероз, холестерин, липопротеиды низкой плотности, рецепторы липопротеидов низкой плотности, сердечно-сосудистые заболевания, ингибиторы PCSK9, миметические пептиды, вакцина.

**Для цитирования:** Чаулин А.М., Свечков Н.А., Волкова С.Л. Основные группы ингибиторов пропротеиновой конвертазы субтилизин-кексинового типа 9: механизмы действия и клиническая эффективность. Ч. 2. *Врач.* 2021; 32 (4): 31–37. <https://doi.org/10.29296/25877305-2021-04-05>

Нарушения обмена липидов занимают одно из ключевых мест в патофизиологии сердечно-сосудистых заболеваний (ССЗ), в связи с чем важным направлением современных исследований является поиск новых молекул, которые принимают участие в регуляции метаболизма жиров. Одной из таких важных регуляторных молекул является открытая в 2003 г. белковая молекула, обладающая ферментативной ак-

<sup>1</sup>Чаулин А.М., Свечков Н.А., Волкова С.Л. Основные группы ингибиторов пропротеиновой конвертазы субтилизин-кексинового типа 9: механизмы действия и клиническая эффективность. Ч. 1. *Врач.* 2021; 32 (3): 21–6 [Chaulin A., Svecchkov N., Volkova S. Main groups of proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 inhibitors: mechanisms of action and clinical efficacy. Part 1. *Vrach.* 2021; 32 (3): 21–6 (in Russ.)]. <https://doi.org/10.29296/25877305-2021-03-04>

тивностью — пропротеиновая конвертаза субтилизин-кексинового типа 9 (PCSK9) [1, 2]. Помимо важного терапевтического значения, заключающегося в возможностях использования ингибиторов PCSK9 в качестве лечебно-профилактических препаратов для ведения пациентов с ССЗ, PCSK9 также имеет и огромную диагностическую ценность в качестве раннего биомаркера атеросклероза [3] и прогнозирования течения ряда острых ССЗ, включая острый инфаркт миокарда [4, 5].

В перспективе использование ингибиторов PCSK9 имеет важное значение не только для лечения и профилактики ССЗ, но и для ряда других патологических состояний, в патогенезе которых PCSK9 также принимает весомое участие, в частности, воспалительных (сепсис), онкологических и нейродегенеративных заболеваний [6]. Учитывая сказанное, трудно переоценить значимость изучения и разработки данных препаратов для практического здравоохранения. В настоящее время создано большое количество препаратов, ингибирующих PCSK9 на разных уровнях, в частности, препараты, подавляющие ранние этапы биосинтеза (транскрипции и трансляции) PCSK9, средства, угнетающие секрецию PCSK9 в кровотоке, соединения, блокирующие взаимодействие PCSK9 с рецепторами липопротеидов низкой плотности (рЛПНП) и ряд других. Препараты, ингибирующие PCSK9, различаются как по механизму действия, так и по химическому строению, на основании чего их можно систематизировать в отдельные группы. В первой части статьи нами рассмотрены: анти-PCSK9 моноклональные антитела (МАТ), инактивирующие фермент PCSK9; антисмысловые олигонуклеотиды; малые интерферирующие рибонуклеиновые кислоты (миРНК), специфически ингибирующие экспрессию гена, кодирующего PCSK9 [7]. В данной статье мы рассмотрим следующие группы препаратов: низкомолекулярные ингибиторы PCSK9; миметические пептиды; вакцины против PCSK9. При обсуждении групп препаратов основное внимание уделяется механизмам действия и клинической эффективности.

### НИЗКОМОЛЕКУЛЯРНЫЕ ИНГИБИТОРЫ PCSK9

В зависимости от механизма действия низкомолекулярные ингибиторы PCSK9 условно можно разделить на следующие группы:

- ингибирующие функцию PCSK9;
- блокирующие биосинтез PCSK9;
- угнетающие секрецию PCSK9.

**Низкомолекулярные ингибиторы, блокирующие функцию PCSK9** (нарушающие взаимодействие PCSK9 с рЛПНП). Группа низкомолекулярных ингибиторов по сравнению с анти-PCSK9 МАТ имеет свои преимущества и недостатки. По сравнению с МАТ, являющимися белковыми, то есть крупномолекулярными соединениями, производство низкомолекулярных химических со-

единений относительно недорого. Кроме того, основным путем введения низкомолекулярных соединений является пероральный способ, в связи с чем разработка подобных химических агентов, специфически ингибирующих PCSK9, является весьма многообещающей стратегией для предотвращения взаимодействия PCSK9 и рЛПНП. Однако этот подход остается проблематичным, поскольку сложно сконструировать небольшие молекулы, которые будут специфически связываться с местом взаимодействия между каталитической субъединицей PCSK9 и EGF-A-подобным доменом рЛПНП [8, 9]. Кроме того, небольшие молекулы обычно имеют низкую стабильность, селективность и эффективность. К числу недостатков следует также отнести меньшую специфичность низкомолекулярных ингибиторов PCSK9 по сравнению с МАТ против PCSK9, что увеличивает риск развития побочных лекарственных реакций и аллостерических эффектов на различные внутриклеточные функции PCSK9 [1, 9].

Несмотря на указанные недостатки, недавно создана небольшая биологическая молекула (около 22 кДа) для подкожного введения – DS-9001a (Daiichi Sankyo, Япония / Pieris Pharmaceuticals, США). DS-9001a состоит из связывающего альбумин домена, соединенного с искусственным липокалиновым мутеином. Структура липокалина обеспечивает высокую структурную пластичность места связывания и обеспечивает эффективное и специфическое распознавание целевого белка PCSK9 [10]. Согласно результатам экспериментальных исследований DS-9001a сильно ингибирует связывание PCSK9 с рЛПНП и ослабляет деградацию рЛПНП. Так, однократная инъекция препарата DS-9001a привела к снижению на 62% концентрации ЛПНП; эффект сохранялся до 21 дня у яванских макак [11].

Препарат DS-9001a можно производить с использованием бактериальной экспрессирующей системы, что значительно снижает стоимость производства. Кроме того, малый размер и высокая растворимость DS-9001a позволяют вводить повышенные концентрации препарата при меньших объемах, чем у МАТ [12]. В одном из исследований показана высокая безопасность и переносимость DS-9001a на здоровых добровольцах. При этом фармакокинетический / фармакодинамический анализ выявил дозозависимое снижение уровней свободного PCSK9 и ЛПНП в сыворотке крови. Эффективный период полувыведения DS-9001a составляет примерно 12,5 сут [13]. Таким образом, препарат DS-9001a может быть перспективным терапевтическим вариантом и альтернативой терапии анти-PCSK9 МАТ (алирокумаб, эволокумаб). Последующие клинические исследования на более крупных контингентах пациентов позволят уточнить данные об эффективности и безопасности DS-9001a.

**Низкомолекулярные ингибиторы, блокирующие биосинтез PCSK9.** Механизм действия данной группы низ-

комолекулярных ингибиторов основан на подавлении биосинтеза PCSK9 в гепатоцитах на этапах экспрессии гена (транскрипции) и трансляции матричной РНК (мРНК) PCSK9 на рибосомах. В настоящее время основное внимание исследователей сосредоточено на нескольких препаратах данной подгруппы.

Механизм действия одного из препаратов связан с функционированием белка-переносчика сложных эфиров холестерина – СЕТР. В нормальных физиологических условиях СЕТР передает эквивалентное количество триглицеридов липопротеидам высокой плотности (ЛПВП) и способствует транспорту сложного эфира холестерина от ЛПВП к липопротеидам, содержащим аполипопротеин В, таким как липопротеиды очень низкой плотности (ЛПОНП) и ЛПНП [14]. Следовательно, ингибитор СЕТР увеличивает уровни холестерина ЛПВП и снижает уровни холестерина ЛПНП. К-312 – один из недавно разработанных ингибиторов СЕТР (Kowa Company, Япония), он снижает экспрессию PCSK9 в гепатоцитах за счет уменьшения активных форм белков, связывающих стерол-регуляторный элемент (SREBP-1 и SREBP-2), которые регулируют активность промотора PCSK9 [15]. В естественных условиях лабораторным кроликам, получавшим холестерин, вводили К-312 в течение 2 нед, что привело к снижению на 63% уровней мРНК PCSK9 в печени, достоверному уменьшению уровней ЛПНП по сравнению с группой животных, не получающих данный препарат (соответственно  $193,0 \pm 36,5$  мг/дл и  $272,5 \pm 42,2$  мг/дл) и значимому повышению уровней ЛПВП (соответственно  $93,3 \pm 14,7$  мг/дл и  $29,9 \pm 3,7$  мг/дл). По мнению исследователей, препарат К-312 может снижать не только уровни холестерина ЛПНП, но и экспрессию PCSK9 посредством механизма, независимого от ингибирования СЕТР. Следовательно, это соединение может служить новым эффективным средством лечения гиперхолестеринемии и, возможно, профилактики ССЗ.

Другой препарат из данной подгруппы – PF-06446846 (Pfizer, США) представляет собой активную небольшую молекулу, которая прямо и избирательно ингибирует трансляцию мРНК PCSK9 на рибосоме. Ее активность зависит от аминокислотной последовательности растущей цепи внутри рибосомы. При пероральном введении PF-06446846 снижает уровни PCSK9 и ЛПНП в плазме крови без симптомов токсичности для печени [16]. Этот многообещающий подход ингибирования биосинтеза PCSK9 может стать эффективным терапевтическим средством для лечения и профилактики ССЗ [17].

В последнее время значительное внимание привлекают соединения, выделенные из растений. Берберин – это естественное соединение, снижающее уровень холестерина, изохинолиновый растительный алкалоид, выделенный из ряда растений (барбарис, корни Колумба), в настоящее время получаемый из кор-

ней культивируемого лекарственного растения *Coptis chinensis*. Берберин оказывает различные фармакологические и терапевтические эффекты на метаболизм углеводов и липидов, сахарный диабет, иммунную систему, эндотелий, сердечно-сосудистую систему и др. [18]. В нескольких исследованиях показано, что берберин усиливает экспрессию гена, кодирующего рЛПНП, независимо от внутриклеточного уровня холестерина и подавляет транскрипцию PCSK9. В исследовании W. Kong и соавт. продемонстрировано, что пероральный прием берберина снижает на 29% уровень общего холестерина в плазме, триглицеридов — на 35%, ЛПНП — на 25% [19]. Синтез PCSK9 контролируется на уровне транскрипции с помощью SREBP и ядерного фактора гепатоцитов-1 $\alpha$  (HNF-1 $\alpha$ ), которые функционируют совместно с SREBP-2 для трансактивации промотора PCSK9 [20]. Берберин одновременно снижает уровни HNF-1 $\alpha$  и SREBP-2, что приводит к сильному подавлению трансактивации PCSK9. Кроме того, *in vitro* берберин снижает уровни мРНК PCSK9 в зависимости от времени и дозы [21]. Этот механизм может отрицательно влиять на метаболизм ЛПНП, потому что белки SREBP-1 и -2 также важны для увеличения транскрипции рЛПНП; однако показано, что берберин повышает экспрессию рЛПНП независимо от SREBP через посттранскрипционный механизм, который стабилизирует мРНК рЛПНП *in vivo* [22]. Тем не менее, необходимы дальнейшие исследования для уточнения точного механизма ингибирования PCSK9 берберинем, прежде чем берберин сможет перейти на следующую стадию разработки лекарственных препаратов в качестве новой терапевтической молекулы для снижения уровней ЛПНП.

Олеаноловая кислота — это пентациклический три-терпеноид, встречающийся в природе и широко распространенный в растениях и лекарственных травах в виде свободной кислоты или сапонинового агликона [22]. Он оказывает противоопухолевое, гепатопротективное, гиполипидемическое [23], антиоксидантное, противовоспалительное [24, 25], эндотелиально-защитное действия [26]. Некоторые исследования демонстрируют, что использование олеаноловой кислоты снижает уровень общего холестерина в сыворотке крови, ЛПНП, триглицеридов и свободных жирных кислот у мышей. Кроме того, показано, что олеаноловая кислота снижает уровни мРНК PCSK9 *in vitro* в зависимости от времени и дозы [27]. Однако механизм ингибирования PCSK9 и его применимость в качестве ингибитора PCSK9 пока не изучены.

**Низкомолекулярные ингибиторы, блокирующие секрецию PCSK9.** После этапа биосинтеза (трансляции) PCSK9 транспортируется в эндоплазматический ретикулум и комплекс Гольджи, где молекула PCSK9 подвергается посттрансляционным модификациям, после чего секретируется в кровоток. Мутация с потерей функции в продомене приводит к ингибированию се-

креции PCSK9 вследствие нарушения переноса белков [28]. Ингибирование путей и соединений, которые являются основными медиаторами секреции PCSK9, может препятствовать достижению PCSK9 клеточной поверхности, что, в свою очередь, можно использовать для сохранения экспрессии рЛПНП в печени и последующего снижения уровней ЛПНП в плазме крови. На данный момент установлено, что важную роль в секреции PCSK9 играют белки сортилин и Sec24a.

Белок сортилин кодируется геном *SORT1*, который является высокоаффинным сортирующим рецептором PCSK9 и влияет на уровень холестерина. Он преимущественно локализуется с PCSK9 в транссети Гольджи. Сортилин способствует клеточной секреции PCSK9 на позднем секреторном пути от транссети Гольджи к плазматической мембране [29]. Наиболее сильное взаимодействие между сортилином и PCSK9 происходит при pH=6,5 и полностью исчезает при pH=5,5. Таким образом, сортилин связывает PCSK9 в транссети Гольджи (при pH=6,5) и высвобождает его в секреторных пузырьках (pH=5,5). Повышенные внутриклеточные уровни PCSK9 и сниженные уровни циркулирующего PCSK9 наблюдаются у лабораторных мышей с дефицитом сортилина. Эти эффекты повышают уровни рЛПНП в печени и снижают уровни ЛПНП в плазме крови. С другой стороны, сверхэкспрессия сортилина человека в печени увеличивает уровни циркулирующего PCSK9 и снижает уровни рЛПНП в печени, увеличивая уровни ЛПНП в плазме. Более того, в когортных исследованиях на людях наблюдается значимая положительная корреляция между сортилином и PCSK9, что позволяет предположить, что экспрессия сортилина влияет на циркулирующие уровни PCSK9 [29, 30]. Кроме того, сортилин связан не только с нарушением регуляции метаболизма липопротеидов, но также с развитием сахарного диабета типа 2 и прогрессированием атеросклероза. Эти данные свидетельствуют о том, что сортилин может быть потенциальной терапевтической мишенью для снижения риска развития атеросклероза и сахарного диабета. Однако сортилин также необходим для правильного функционирования нейронов нервной системы, поэтому следует соблюдать осторожность при рассмотрении возможности использования ингибиторов сортилина в качестве терапевтических средств [31, 32].

Sec24a — белок, который включен в покрытые оболочкой везикулы белкового комплекса II, необходимого для транспортировки молекулы PCSK9 из эндоплазматического ретикулума в аппарат Гольджи. У мышей с дефицитом Sec24a наблюдаются пониженные уровни PCSK9 в плазме и повышенные уровни PCSK9 в печени, что приводит к увеличению экспрессии рЛПНП на поверхности гепатоцитов. Кроме того, сверхэкспрессия Sec24a способствует секреции PCSK9 [33, 34]. Фармакологическое ингибирование функции

Sec24a может быть полезным альтернативным потенциальным подходом к ингибированию секреции PCSK9. Однако стоит отметить, что для предотвращения нецелевых побочных эффектов важно идентифицировать другие белки, которым Sec24a также необходим для секреции.

Кверцетин – фитохимическое соединение, которое преимущественно встречается в виде кверцетин-3-О-глюкозида в широком спектре фруктов и овощей. Показано, что пероральный прием кверцетин-3-О-глюкозида приводит к снижению уровня общего холестерина и ЛПНП [35, 36]. Изучение механизма, лежащего в основе данного гипополипидемического действия, показало, что кверцетин снижает секрецию PCSK9 и увеличивает экспрессию рЛПНП, что приводит к увеличению захвата ЛПНП гепатоцитами и, соответственно, снижению концентрации ЛПНП в плазме крови. Кроме того, сообщается, что кверцетин не влияет на экспрессию Sec24a, но значительно подавляет внутриклеточный уровень сортилина (на 50%) и уровень его мРНК (на 40%) [37]. Однако в другом исследовании показано, что кверцетин не влияет на экспрессию PCSK9 у мышей, получавших диету с низким содержанием холестерина. У мышей, получавших диету с высоким содержанием холестерина, наблюдалось снижение циркулирующего PCSK9 и соответствующее увеличение клеточных уровней рЛПНП в ответ на прием кверцетина [36]. Эти наблюдения предполагают, что добавление кверцетина к диете с высоким содержанием холестерина приводит к регуляции экспрессии и секреции PCSK9 путем ингибирования экспрессии сортилина. Ингибирование последнего приводит к клиренсу ЛПНП за счет увеличения рЛПНП в печени и обращения вспять гиперхолестеринемии, вызванной диетой. Дальнейшие исследования влияния кверцетина на метаболизм липидов могут способствовать улучшению тактики ведения пациентов, страдающих дислипидемией.

### МИМЕТИЧЕСКИЕ ПЕПТИДЫ

Миметические пептиды – это небольшие аминокислотные последовательности (фрагменты белка), разработанные для биологической имитации пептидной структуры целевого белка. Несколько пептидов, которые имитируют связывающие домены EGF-A или EGF-AB рЛПНП, были разработаны как конкурентные ингибиторы PCSK9. Они связываются с каталитическим доменом PCSK9 и ограничивают взаимодействие между PCSK9 и рЛПНП [38]. Показано, что синтетический пептид, имитирующий EGF-A домен рЛПНП, ингибирует PCSK9-опосредованную деградацию рЛПНП и поддерживает захват ЛПНП из крови в зависимости от дозы [39, 40]. Кроме того, недавно синтезирован усеченный аналог данного пептида, состоящий всего из 26 аминокислот, который также препятствует взаимодействию PCSK9

с рЛПНП, за счет чего происходит снижение концентрации ЛПНП в сыворотке крови [41]. Сообщается также о разработке миметического пептида, имитирующего EGF-A домен с мутацией H306Y, что способствует увеличению аффинности данного пептида к PCSK9 [42].

Препарат Пер2-8 также представляет собой небольшой пептид, который имитирует вторичные структурные элементы домена EGF-A, препятствуя взаимодействию между PCSK9 и рЛПНП [43]. В качестве альтернативы для создания миметических пептидов можно использовать структурные фрагменты, включающие каталитический домен, продомен или С-концевой домен PCSK9. В проведенных исследованиях [44, 45] продемонстрировано, что миметики, полученные из фрагментов PCSK9, уменьшают PCSK9-опосредованную деградацию рЛПНП *in vivo*.

В организме человека также обнаружены соединения, которые являются антагонистами PCSK9, и соответственно могут представлять интерес в плане создания лекарственных препаратов. Повышение их активности или разработка на основе их структуры миметических пептидов представляет значительный интерес в плане создания гипополипидемических препаратов.

Аннексин А2 (ANXA2) – внеклеточный эндогенный антагонист, который взаимодействует с С-концевым доменом PCSK9 и является естественным ингибитором связывания PCSK9 с рЛПНП [46, 47]. Высокие уровни ANXA2 присутствуют в тканях легких, поджелудочной железы, толстой кишки и надпочечников, тогда как низкие уровни этого антагониста отмечаются в печени, почках и селезенке. ANXA2 может специфически связываться с С-концевым доменом PCSK9 на поверхности клетки и ингибировать PCSK9-опосредованную деградацию рЛПНП. Согласно результатам экспериментального исследования, у мышей с нокаутом ANXA2 наблюдалось увеличение в 2 раза уровней циркулирующего PCSK9 и в 1,5 раза – уровней ЛПНП, в дополнение к снижению уровней белка рЛПНП на 50% во внепеченочных тканях. С другой стороны, сверхэкспрессия ANXA2 в печени приводит к увеличению уровня белка рЛПНП в основном во внепеченочных тканях [47]. Также разработан миметический пептид, имитирующий структуру ANXA2, который напрямую ингибирует взаимодействие между PCSK9 и рЛПНП [48]. Этот механизм может представлять собой потенциальный подход, направленный на ингибирование PCSK9.

### ВАКЦИНЫ ПРОТИВ PCSK9

В качестве альтернативной стратегии длительного ингибирования PCSK9 разработан новый терапевтический подход, заключающийся в вакцинации против PCSK9 на основе пептидов. Вакцина PCSK9 стимулирует иммунную систему к выработке высо-

коафинных антител, специфичных к PCSK9 и способных блокировать способность PCSK9 связываться с рЛПНП. Несмотря на то, что активная вакцинация оказывает такой же терапевтический эффект, как и пассивное введение МАТ против PCSK9, эффект от вакцинации может быть достигнут при меньшем количестве инъекций и более низкой дозе без возможности вызвать нейтрализующий лекарство иммунный ответ. Учитывая меньшее количество инъекций, данный способ возможно является более выгодным в экономическом плане по сравнению с использованием МАТ.

Индукция ответа антител против PCSK9 ограничена толерантностью В-клеток; однако эффективная активация аутореактивных В-клеток провоцируется присутствием чужеродных Т-хелперных эпитопов или поливалентностью антигена [49], которые приводят к образованию высоких титров аутоантител и, соответственно, вызывают устойчивый и длительный ответ аутоантител против чужеродных антигенов. Вакцина АТ04А (Affiris AG, Австрия) против PCSK9 на основе пептидов состоит из коротких пептидных фрагментов, имитирующих фрагменты зрелого человеческого белка PCSK9, конъюгированного с чужеродным белком-носителем (гемоцианин лимфы улитки), которые распознаются эпитопами Т-хелперных клеток [50]. Аминокислотная последовательность мимотоп-пептидов, используемых для вакцинации, отличается от нативной пептидной последовательности, на которую будет нацелена мишень, но эти пептиды все еще способны индуцировать иммунологический ответ и выработку антител с высокой специфичностью к PCSK9. Согласно полученным в ходе эксперимента данным, уровни общего холестерина и ЛПНП были снижены соответственно до 30 и 50% у мышей, иммунизированных против PCSK9. При использовании такого подхода отмечалось уменьшение на 64% атеросклеротического поражения сосудов. Кроме того, индуцированные вакциной антитела против PCSK9 имели период полужизни около 4 мес, что приводило к устойчивому значительному снижению уровней холестерина в течение по крайней мере 1 года у лабораторных мышей [51].

Один из дополнительных подходов для индукции более сильного иммунологического ответа антител против аутоантигенов включает представление аутоантигена в высокоплотном повторяющемся формате на поверхности вирусоподобных частиц (ВПЧ). ВПЧ образуются путем самосборки белка вируса без вирусной нуклеиновой кислоты, и используются для производства поливалентных вакцин. ВПЧ, представляющие PCSK9, вызывают у мышей специфичный к пептиду PCSK9 реактивный ответ с высоким титром антител. В экспериментальном исследовании установлено, что вакцина на основе ВПЧ, направленная на PCSK9, снижает уровни атерогенных ЛПНП на 30–40% у ла-

бораторных макак [52]. Эти данные свидетельствуют о том, что вакцинация против PCSK9 может быть многообещающей стратегией для достижения устойчивого снижения уровней атерогенных ЛПНП. Однако для любого препарата помимо его эффективности важным аспектом является безопасность применения в краткосрочной и долгосрочной перспективе. У исследователей существуют опасения, что активная иммунизация вызовет антителозависимую клеточно-опосредованную цитотоксичность или комплемент-зависимую цитотоксичность с неспецифическим разрушением клеток [53]. На данный момент продемонстрировано, что вакцина против PCSK9 хорошо переносится в краткосрочных экспериментах и активная иммунизация не вызывает каких-либо явных побочных эффектов [51]. Однако необходимы дальнейшие клинические исследования для определения оптимальной схемы иммунизации и оценки долгосрочной безопасности вакцин против PCSK9 [54].

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Рассмотренные группы ингибиторов PCSK9 (низкомолекулярные соединения, миметические пептиды и вакцины) имеют большие перспективы для внедрения в клиническую практику. Низкомолекулярные ингибиторы на основе различий в механизме действия можно условно подразделить на 3 подгруппы: ингибирующие функцию молекулы PCSK9; угнетающие биосинтез (этапы транскрипции и трансляции PCSK9); ингибиторы секреции PCSK9. Среди препаратов этой группы особенно стоит отметить DS-9001a и K-312, которые показали высокую эффективность и безопасность в экспериментальных исследованиях на животных и здоровых добровольцах. На данный момент наличие нецелевых побочных эффектов у данных препаратов малоизучено, что является предметом последующих исследований. Кроме того, немалую практическую ценность имеют низкомолекулярные ингибиторы растительного происхождения, в частности, берберин, олеаноловая кислота и кверцетин.

Миметические пептиды, имитирующие структуру доменов рЛПНП, по механизму действия являются конкурентными ингибиторами PCSK9. Разработка данных препаратов, основанных на конкурентном ингибировании активности фермента PCSK9, представляет как теоретическое, так и важное практическое значение.

Одной из самых перспективных стратегий для длительного ингибирования PCSK9 считаются вакцины. По механизму действия они аналогичны эффектам МАТ против PCSK9, однако в отличие от последних, создают длительный иммунологический ответ, в связи с чем требуют гораздо меньшего количества инъекций и являются более выгодными в экономическом плане. Одним из весомых недостатков рассмотренных препаратов является недостаточная изученность долгосроч-

ной безопасности. Однако практически не возникает сомнений в том, что в ближайшее время большинство из препаратов данных групп пополнит арсенал гиполлипидемических средств, направленных на лечение и профилактику ССЗ.

\* \* \*

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Исследование не имело спонсорской поддержки.

## Литература/Reference

1. Чаулин А.М., Дупляков Д.В. PCSK-9: современные представления о биологической роли и возможности использования в качестве диагностического маркера сердечно-сосудистых заболеваний. Часть 1. *Кардиология: новости, мнения, обучение*. 2019; 7 (2): 45–57 [Chaulin A.M., Duplyakov D.V. PCSK-9: modern views about biological role and possibilities of use as a diagnostic marker for cardiovascular diseases. Part 1. *Kardiologiya: novosti, mneniya, obuchenie = Cardiology: News, Opinions, Training*. 2019; 7 (2): 45–57 (in Russ.)]. DOI: 10.24411/2309-1908-2019-12005
2. Чаулин А.М., Дупляков Д.В. PCSK-9: современные представления о биологической роли и возможности использования в качестве диагностического маркера сердечно-сосудистых заболеваний. Часть 2. *Кардиология: новости, мнения, обучение*. 2019; 7 (4): 24–35 [Chaulin A.M., Duplyakov D.V. PCSK-9: modern views about biological role and possibilities of use as a diagnostic marker for cardiovascular diseases. Part 2. *Kardiologiya: novosti, mneniya, obuchenie = Cardiology: News, Opinions, Training*. 2019; 7 (4): 24–35 (in Russ.)]. DOI: 10.24411/2309-1908-2019-14004
3. Tóth Š., Fedačko J., Pekárová T. et al. Elevated Circulating PCSK9 Concentrations Predict Subclinical Atherosclerotic Changes in Low Risk Obese and Non-Obese Patients. *Cardiol Ther*. 2017; 6 (2): 281–9. DOI: 10.1007/s40119-017-0092-8
4. Чаулин А.М., Дупляков Д.В. Биомаркеры острого инфаркта миокарда: диагностическая и прогностическая ценность. Часть 2 (обзор литературы). *Клиническая практика*. 2020; 11 (4): 70–82 [Chaulin A.M., Duplyakov D.V. Biomarkers of Acute Myocardial Infarction: Diagnostic and Prognostic Value. Part 2 (Literature Review). *Journal of Clinical Practice*. 2020; 11 (4): 70–82 (in Russ.)]. DOI: 10.17816/clinpract48893
5. Bae K.H., Kim S.W., Choi Y.K. et al. Serum Levels of PCSK9 Are Associated with Coronary Angiographic Severity in Patients with Acute Coronary Syndrome. *Diabetes Metab J*. 2018; 42 (3): 207–14. DOI: 10.4093/dmj.2017.0081
6. Чаулин А.М., Дупляков Д.В. Роль PCSK9 в регуляции транспорта липопротеинов (обзор литературы). *Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии*. 2021; 24 (1): 42–5 [Chaulin A.M., Duplyakov D.V. The role of PCSK9 in the regulation of lipoprotein transport (literature review). *Problems of biological, medical and pharmaceutical chemistry*. 2021; 24 (1): 42–5 (in Russ.)]. DOI: 10.29296/25877313-2021-01-04
7. Чаулин А.М., Волкова С.Л., Свечков Н.А. Основные группы ингибиторов пропротеиновой конвертазы субтилизин-кексинового типа 9 (PCSK9): механизмы действия и клиническая эффективность. Ч. 1. *Врач*. 2021; 32 (3): 21–6 [Chaulin A.M., Volkova S. L., Svecchov N. A. Main groups of proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 (PCSK9) inhibitors: mechanisms of action and clinical efficacy. Part 1. *Vrach*. 2021; 32 (3): 21–6 (in Russ.)]. DOI: 10.29296/25877305-2021-03-04
8. Lo Surdo P., Bottomley M.J., Calzetta A. et al. Mechanistic implications for LDL receptor degradation from the PCSK9/LDLR structure at neutral pH. *EMBO Rep*. 2011; 12: 1300–5. DOI: 10.1038/embor.2011.205
9. Banerjee Y., Santos R.D., Al-Rasadi K. et al. Targeting PCSK9 for therapeutic gains: Have we addressed all the concerns? *Atherosclerosis*. 2016; 248: 62–75. DOI: 10.1016/j.atherosclerosis.2016.02.018
10. Rothe C., Skerra A. Anticalin(R) proteins as therapeutic agents in human diseases. *BioDrugs*. 2018; 32: 233–43. DOI: 10.1007/s40259-018-0278-1
11. Masuda Y., Yamaguchi S., Suzuki K. et al. Generation and characterization of a novel small biologic alternative to proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 (PCSK9) antibodies, DS-9001a, albumin binding domain-fused anticalin protein. *J Pharmacol Exp Ther*. 2018; 365: 368–78. DOI: 10.1124/jpet.117.246652
12. Gebauer M., Skerra A. Anticalins small engineered binding proteins based on the lipocalin scaffold. *Methods Enzymol*. 2012; 503: 157–88. DOI: 10.1016/B978-0-12-396962-0.00007-0
13. Seidah N.G., Prat A., Pirillo A. et al. Novel strategies to target proprotein convertase subtilisin kexin 9: beyond monoclonal antibodies. *Cardiovasc Res*. 2019; 115 (3): 510–8. DOI: 10.1093/cvr/cvz003
14. Inazu A., Brown M.L., Hesler C.B. et al. Increased high-density lipoprotein levels caused by a common cholesteryl-ester transfer protein gene mutation. *N Engl J Med*. 1990; 323: 1234–8. DOI: 10.1056/NEJM199011013231803
15. Miyosawa K., Watanabe Y., Murakami K. et al. New CETP inhibitor K-312 reduces PCSK9 expression: a potential effect on LDL cholesterol metabolism. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2015; 309: E177–190. DOI: 10.1152/ajpendo.00528.2014
16. Lintner N.G., McClure K.F., Petersen D. et al. Selective stalling of human translation through small-molecule engagement of the ribosome nascent chain. *PLoS Biol*. 2017; 15: e2001882. DOI: 10.1371/journal.pbio.2001882
17. Mullard A. Nine paths to PCSK9 inhibition. *Nat Rev Drug Discov*. 2017; 16: 299–301. DOI: 10.1038/nrd.2017.83
18. Imanshahidi M., Hosseinzadeh H. Pharmacological and therapeutic effects of Berberis vulgaris and its active constituent, berberine. *Phytother Res*. 2008; 22: 999–1012. DOI: 10.1002/ptr.2399
19. Kong W., Wei J., Abidi P. et al. Berberine is a novel cholesterol-lowering drug working through a unique mechanism distinct from statins. *Nat Med*. 2004; 10: 1344–51. DOI: 10.1038/nm1135
20. Li H., Dong B., Park S.W. et al. Hepatocyte nuclear factor 1alpha plays a critical role in PCSK9 gene transcription and regulation by the natural hypocholesterolemic compound berberine. *J Biol Chem*. 2009; 284: 28885–95. DOI: 10.1074/jbc.M109.052407
21. Cameron J., Ranheim T., Kulseth M.A. et al. Berberine decreases PCSK9 expression in HepG2 cells. *Atherosclerosis*. 2008; 201: 266–73. DOI: 10.1016/j.atherosclerosis.2008.02.004
22. Sultana N., Ata A. Oleanolic acid and related derivatives as medicinally important compounds. *J Enzyme Inhib Med Chem*. 2008; 23: 739–56. DOI: 10.1080/14756360701633187
23. Chen S., Wen X., Zhang W. et al. Hypolipidemic effect of oleanolic acid is mediated by the miR-98-5p/PGC-1beta axis in high-fat diet-induced hyperlipidemic mice. *FASEB J*. 2017; 31: 1085–96. DOI: 10.1096/fj.20161022R
24. Tsai S.J., Yin M.C. Antioxidative and anti-inflammatory protection of oleanolic acid and ursolic acid in PC12 cells. *J Food Sci*. 2008; 73: H174–178. DOI: 10.1111/j.1750-3841.2008.00864.x
25. Wang X., Liu R., Zhang W. et al. Oleanolic acid improves hepatic insulin resistance via antioxidant, hypolipidemic and anti-inflammatory effects. *Mol Cell Endocrinol*. 2013; 376: 70–80. DOI: 10.1016/j.mce.2013.06.014
26. Rodriguez-Rodriguez R., Stankevicius E., Herrera M.D. et al. Oleanolic acid induces relaxation and calcium-independent release of endothelium-derived nitric oxide. *Br J Pharmacol*. 2008; 155: 535–46. DOI: 10.1038/bjp.2008.289
27. He N.Y., Li Q., Wu C.Y. et al. Lowering serum lipids via PCSK9-targeting drugs: current advances and future perspectives. *Acta Pharmacol Sin*. 2017; 38: 301–11. DOI: 10.1038/aps.2016.134
28. Zhao Z., Tuakli-Wosornu Y., Lagace T.A. et al. Molecular characterization of loss-of-function mutations in PCSK9 and identification of a compound heterozygote. *Am J Hum Genet*. 2006; 79: 514–23. DOI: 10.1086/507488
29. Gustafsen C., Kjolby M., Nyegaard M. et al. The hypercholesterolemia-risk gene SORT1 facilitates PCSK9 secretion. *Cell Metab*. 2014; 19: 310–8. DOI: 10.1016/j.cmet.2013.12.006
30. Hu D., Yang Y., Peng D.Q. Increased sortilin and its independent effect on circulating proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 (PCSK9) in statin-naive patients with coronary artery disease. *Int J Cardiol*. 2017; 227: 61–5. DOI: 10.1016/j.ijcard.2016.11.064
31. Goettsch C., Kjolby M., Aikawa E. Sortilin and its multiple roles in cardiovascular and metabolic diseases. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2018; 38: 19–25. DOI: 10.1161/ATVBAHA.117.310292
32. Nykjaer A., Lee R., Teng K.K. et al. Sortilin is essential for proNGF-induced neuronal cell death. *Nature*. 2004; 427: 843–8. DOI: 10.1038/nature02319
33. Debose-Boyd R.A., Horton J.D. Opening up new fronts in the fight against cholesterol. *Elife*. 2013; 2: e00663. DOI: 10.7554/eLife.00663
34. Chen X.W., Wang H., Bajaj K. et al. SEC24A deficiency lowers plasma cholesterol through reduced PCSK9 secretion. *Elife*. 2013; 2: e00444. DOI: 10.7554/eLife.00444

35. Jung C.H., Cho I., Ahn J. et al. Quercetin reduces high-fat diet-induced fat accumulation in the liver by regulating lipid metabolism genes. *Phytother Res.* 2013; 27: 139–43. DOI: 10.1002/ptr.4687
36. Mbikay M., Mayne J., Sirois F. et al. Mice fed a high-cholesterol diet supplemented with quercetin-3-glucoside show attenuated hyperlipidemia and hyperinsulinemia associated with differential regulation of PCSK9 and LDLR in their liver and pancreas. *Mol Nutr Food Res.* 2018; 62: e1700729. DOI: 10.1002/mnfr.201700729
37. Mbikay M., Sirois F., Simoes S. et al. Quercetin-3-glucoside increases low-density lipoprotein receptor (LDLR) expression, attenuates proprotein convertase subtilisin/kexin 9 (PCSK9) secretion, and stimulates LDL uptake by Huh7 human hepatocytes in culture. *FEBS Open Biol.* 2014; 4: 755–62. DOI: 10.1016/j.fob.2014.08.003
38. Craik D.J., Fairlie D.P., Liras S. et al. The future of peptide-based drugs. *Chem Biol Drug Des.* 2013; 81: 136–47. DOI: 10.1111/cbdd.12055
39. Zhang D.W., Lagace T.A., Garuti R. et al. Binding of proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 to epidermal growth factor-like repeat A of low density lipoprotein receptor decreases receptor recycling and increases degradation. *J Biol Chem.* 2007; 282: 18602–12. DOI: 10.1074/jbc.M702027200
40. Tveten K., Holla O.L., Cameron J. et al. Interaction between the ligand-binding domain of the LDL receptor and the C-terminal domain of PCSK9 is required for PCSK9 to remain bound to the LDL receptor during endosomal acidification. *Hum Mol Genet.* 2012; 21: 1402–9. DOI: 10.1093/hmg/ddr578
41. Schroeder C.I., Swedberg J.E., Withka J.M. et al. Design and synthesis of truncated EGF-A peptides that restore LDL-R recycling in the presence of PCSK9 in vitro. *Chem Biol.* 2014; 21: 284–94. DOI: 10.1016/j.chembiol.2013.11.014
42. McNutt M.C., Kwon H.J., Chen C. et al. Antagonism of secreted PCSK9 increases low density lipoprotein receptor expression in HepG2 cells. *J Biol Chem.* 2009; 284: 10561–70. DOI: 10.1074/jbc.M808802200
43. Zhang Y., Eigenbrot C., Zhou L. et al. Identification of a small peptide that inhibits PCSK9 protein binding to the low density lipoprotein receptor. *J Biol Chem.* 2014; 289: 942–55. DOI: 10.1074/jbc.M113.514067
44. Du F., Hui Y., Zhang M. et al. Novel domain interaction regulates secretion of proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 (PCSK9) protein. *J Biol Chem.* 2011; 286: 43054–61. DOI: 10.1074/jbc.M111.273474
45. Alghamdi R.H., O'Reilly P., Lu C. et al. LDL-R promoting activity of peptides derived from human PCSK9 catalytic domain (153–421): design, synthesis and biochemical evaluation. *Eur J Med Chem.* 2015; 92: 890–907. DOI: 10.1016/j.ejmech.2015.01.022
46. Mayer G., Poirier S., Seidah N.G. Annexin A2 is a C-terminal PCSK9-binding protein that regulates endogenous low density lipoprotein receptor levels. *J Biol Chem.* 2008; 283: 31791–801. DOI: 10.1074/jbc.m805971200
47. Seidah N.G., Poirier S., Denis M. et al. Annexin A2 is a natural extrahepatic inhibitor of the PCSK9-induced LDL receptor degradation. *PLoS One.* 2012; 7: e41865. DOI: 10.1371/journal.pone.0041865
48. Ly K., Saavedra Y.G., Canuel M. et al. Annexin A2 reduces PCSK9 protein levels via a translational mechanism and interacts with the M1 and M2 domains of PCSK9. *J Biol Chem.* 2014; 289: 17732–46. DOI: 10.1074/jbc.M113.541094
49. Chackerian B., Remaley A. Vaccine strategies for lowering LDL by immunization against proprotein convertase subtilisin/kexin type 9. *Curr Opin Lipidol.* 2016; 27: 345–50. DOI: 10.1097/mol.0000000000000312
50. Landlinger C., Pouwer M.G., Juno C. et al. The AT04A vaccine against proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 reduces total cholesterol, vascular inflammation, and atherosclerosis in APOE\*3Leiden.CETP mice. *Eur Heart J.* 2017; 38: 2499–507. DOI: 10.1093/eurheartj/ehx260
51. Galabova G., Brunner S., Winsauer G. et al. Peptide-based anti-PCSK9 vaccines - an approach for long-term LDLc management. *PLoS One.* 2014; 9: e114469. DOI: 10.1371/journal.pone.0114469
52. Crossey E., Amar M.J.A., Sampson M. et al. A cholesterol-lowering VLP vaccine that targets PCSK9. *Vaccine.* 2015; 33: 5747–55. DOI: 10.1016/j.vaccine.2015.09.044
53. Civeira F., Jarauta E. Vaccine against PCSK9: the natural strategy from passive to active immunization for the prevention of atherosclerosis. *J Thorac Dis.* 2017; 9: 4291–4. DOI: 10.21037/jtd.2017.10.18
54. Чаулин А.М., Мазаев А.Ю., Александров А.Г. Роль пропротеин конвертазы субтилизин/кексин типа 9 (pcsk-9) в метаболизме холестерина и новые возможности липидкорректирующей терапии. *Международный научно-исследовательский журнал.* 2019; 4–1 (82): 124–6 [Chaulin A.M., Mazaev A.Yu., Aleksandrov A.G. The role of proprotein convertase subtilisin/kexin of type 9 (pcsk-9) in cholesterol metabolism and new opportunities of lipid corrective therapy. *International Research Journal.* 2019; 4–1 (82): 124–6 (in Russ.)]. DOI: 10.23670/IRJ.2019.82.4.025

## MAIN GROUPS OF PROPROTEIN CONVERTASE SUBTILISIN/KEXIN TYPE 9 INHIBITORS: MECHANISMS OF ACTION AND CLINICAL EFFICACY. PART 2

A. Chaulin<sup>1,2</sup>, N. Svechkov<sup>1,2</sup>, S. Volkova<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Samara Regional Cardiology Dispensary, Samara

<sup>2</sup>Samara State Medical University

*The proprotein convertase subtilisin-kexin type 9 (PCSK9) is considered a promising therapeutic target for the development of new drug groups aimed at the treatment and prevention of dyslipidemia and cardiovascular diseases (CVD). This article is a continuation of the earlier discussion of the main groups of PCSK9 inhibitors. The article discusses in detail the mechanisms of action and clinical efficacy of the following groups of drugs: low-molecular-weight PCSK9 inhibitors, mimetic peptides, and PCSK9 vaccines.*

**Key words:** cardiology, proprotein convertase subtilisin-kexin type 9, atherosclerosis, cholesterol, low-density lipoproteins, low-density lipoprotein receptors, cardiovascular diseases, PCSK9 inhibitors, mimetic peptides, vaccine.

**For citation:** Chaulin A., Svechkov N., Volkova S. Main groups of proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 inhibitors: mechanisms of action and clinical efficacy. Part 2. *Vrach.* 2021; 32 (4): 31–37. <https://doi.org/10.29296/25877305-2021-04-05>

**Об авторах/About the authors:** Chaulin A.M. ORCID: 0000-0002-2712-0227; Svechkov N.A. ORCID: 0000-0001-6568-6136