

PRZEMYSŁAW J. KOTYLA

**PLEJOTROPOWE DZIAŁANIE INHIBITORÓW
3-HYDROKSY-3-METYLO-GLUTARYLO-KOENZYMU A (STATYN).
POTENCJAŁ LECZNICZY W UKŁADOWYCH CHOROBYCH TKANKI ŁĄCZNEJ***

**PLEIOTROPIC ACTIVITY OF 3-HYDROXY-3-METHYL-GLUTARYL-COENZYME
A INHIBITORS (STATINS). THERAPEUTIC POTENTIAL IN CONNECTIVE
TISSUE DISEASES**

Katedra i Klinika Chorób Wewnętrznych i Reumatologii Śląskiego Uniwersytetu Medycznego w Katowicach
ul. Ziołowa 45/47, 40-635 Katowice
Kierownik: prof. dr hab. n. med. *Eugeniusz Kucharz*

Summary

3-Hydroxy-3-Methyl-Glutaryl-Coenzyme A reductase inhibitors, known as statins, form a group of chemical compounds that are characterized by the ability to inhibit cholesterol synthesis. Statins have proved their efficacy as potent drugs in the primary and secondary prevention of cardiovascular events. It has also been shown that the therapeutic effects of statins go beyond reduction of cholesterol level. These properties, which are separate from the influence on cholesterol synthesis, are sometimes called the pleiotropic effect. This effect comprises immunomodulation, an anti-inflammatory effect, and endothelial function recovery.

Key words: statins – immunomodulatory activity – pleiotropic effect.

Streszczenie

Inhibitory 3-hydroksy-3-metylo-glutarylo-koenzymu A, zwane statynami, stanowią grupę związków chemicznych charakteryzujących się zdolnością do zahamowania syntezy cholesterolu. Statyny wykazały swoją skuteczność w prewencji pierwotnej i wtórnej chorób układu sercowo-naczyniowego. Wykazano jednakże, że działanie statyn wykracza poza zdolność do zmniejszania stężenia cholesterolu. Właściwości te, które nie zależą od wpływu statyn

na syntezę cholesterolu, nazywa się niekiedy efektem plejotropowym. Działanie te obejmuje takie zjawiska, jak: immunomodulację, działanie przeciwzapalne oraz restytucję czynności śródbłonna.

Hasła: statyny – czynność immunomodulacyjna – działanie plejotropowe.

Budowa i znaczenie biologiczne statyn

Inhibitory 3-hydroksy-3-metylo-glutarylo-koenzymu A (HMG-CoA), zwane powszechnie statynami, to grupa związków o różnej budowie chemicznej, której wspólną cechą jest zdolność do blokowania reduktazy HMG-CoA, kluczowego enzymu na szlaku syntezy cholesterolu. Zahamowanie aktywności reduktazy HMG-CoA doprowadza do zablokowania wytwarzania mewalonianu, podstawowego substratu do wytwarzania cholesterolu [1].

Po wprowadzeniu na rynek farmaceutyczny statyny szybko stały się podstawową grupą leków w leczeniu zaburzeń gospodarki lipidowej, a ich powszechne zastosowanie spowodowało terapeutyczną rewolucję, przynosząc poprawę rokowania w schorzeniach układu sercowo-naczyniowego, potwierdzoną w licznych badaniach klinicznych [2]. Ten korzystny efekt leczniczy wiązano początkowo z samym obniżeniem cholesterolu i normalizacją struktury jego frakcji. Z czasem zaobserwowano jednak, że korzystny efekt

* Praca została sfinansowana ze środków na rozwój nauki w latach 2009–2012 jako grant badawczy nr NN 402 2671 36.

leczniczy nie daje się wytłumaczyć tylko i wyłącznie eliminacją jednego czynnika ryzyka – cholesterolu. Co więcej, korzystne działanie lecznicze wyprzedza obserwowane znacznie później zmniejszenie stężenia cholesterolu [3].

Zahamowanie aktywności reduktazy HMG-CoA doprowadza do zmniejszenia syntezy cholesterolu w wątrobie. Dla przywrócenia homeostazy cholesterolu, komórki, a zwłaszcza hepatocyty, zwiększają ekspresję receptorów dla cząsteczek lipoprotein o małej gęstości (LDL) na swojej powierzchni. Doprowadza to do wzrostu wchłaniania cząsteczek LDL przez wątrobę i zmniejszenia stężenia cholesterolu w organizmie. Równocześnie dochodzi do zmian w stężeniu innych klas lipoprotein, zwiększenia stężenia lipoprotein o dużej gęstości (HDL), zmniejszenia stężenia triglicerydów oraz zmian w stężeniu apolipoprotein. Zmniejszenie stężenia LDL w osoczu powoduje zahamowanie postępu miażdżycy, a w niektórych sytuacjach prowadzi nawet do regresji zmian miażdżycowych. Obniżenie stężenia cholesterolu jest więc bez wątpienia jednym z podstawowych mechanizmów leczniczego działania statyn [4]. Zmniejszenie stężenia cholesterolu nie tłumaczy jednak wszystkich terapeutycznych skutków działania leku. Liczne dowody kliniczne zgromadzone w ostatnich latach podkreślają istotne rozbieżności pomiędzy nieznaczną regresją zmian miażdżycowych w ścianach tętnic a niewspółmiernie dużą poprawą kliniczną, charakteryzującą się wyraźną redukcją częstości występowania incydentów sercowo-naczyniowych [5]. Ponadto, poprawa kliniczna w następstwie stosowania statyn pojawia się względnie szybko, a stopień zmniejszenia częstości występowania incydentów naczyniowych jest niewspółmiernie duży w porównaniu do obserwowanego niekiedy umiarkowanego wpływu na stężenie cholesterolu. Wskazuje to na występowanie innych, niezależnych od zmian stężenia cholesterolu, mechanizmów działania statyn. To zróżnicowane, wielokierunkowe działanie statyn nazywane jest niekiedy efektem plejotropowym [6]. Nazwa ta jest nieco kontrowersyjna, ponieważ zwłaszcza w modelach *in vivo* trudno jest oszacować, w jakim stopniu dany efekt kliniczny zależny jest od zmian stężenia cholesterolu, a w jakim od innych mechanizmów, jako że samo zmniejszenie stężenia cholesterolu przynosi wiele patofizjologicznych następstw.

Zmniejszenie stężenia mewalonianu w następstwie zablokowania reduktazy HMG-CoA powoduje zahamowanie wytwarzania nie tylko cholesterolu, ale także innych związków pośrednich na szlaku jego syntezy. Obserwuje się m.in. znaczne zmniejszenie stężenia pośrednich substratów dla syntezy cholesterolu – pirofosforanu farnezyli oraz pirofosforanu geranyli [7]. Związki te uczestniczą w procesie izoprenylacji wewnątrzkomórkowych białek sygnałowych (białek G), odpowiadających za takie procesy fizjologiczne, jak: wzrost, różnicowanie komórek, sygnalizacja międzykomórkowa i apoptoza. Procesowi prenylacji podlega ponad 100 różnych białek i związków. Wśród nich istotną rolę odgrywa izoprenylacja 40 białek sygnałowych G. Białka te są małymi monomerycznymi GTP-azami wiążącymi guaninę. Regulacja czynności białek G

polega na przyłączaniu reszt izoprenylowych pochodzących z pirofosforanu farnezyli i geranylogeranyli pirofosforanu. Wzbogacenie białek G o resztę izoprenylową umożliwia im zakotwiczenie w błonie komórkowej i przeniesienie sygnału regulatorowego do wnętrza komórki. Obecnie znanych jest 8 podrodziny białek regulatorowych G. Pośród nich najlepiej zbadane i zapewne najważniejsze są GTP-azy należące do rodzin Ras i Rho [8]. Wśród białek należących do podrodziny Rho najlepiej scharakteryzowano dotychczas białka Rho, Rac oraz Cdc42. Białka te uczestniczą w takich procesach, jak: regulacja aktywności cytoszkieletu, polaryzacja komórkowa, czynność i aktywność mikrotubul komórkowych oraz regulacja cyklu komórkowego.

Potranslacyjna aktywacja białek Ras polega na przyłączeniu reszty farnezylowej do gotowej proteiny. Białka Ras są niezbędne do transmisji i transdukcji do jądra komórkowego sygnałów pochodzących od pobudzanych przez czynniki wzrostu receptorów kinaz tyrozynowych. Sygnały komórkowe przenoszone są przez białka Ras i powodując aktywację kinazy proteinowej aktywowanej miogenem (MAPK), umożliwiają regulację tak ważnych zjawisk fizjologicznych, jak proliferacja i różnicowanie komórek mięśni gładkich [9]. Białka Ras uczestniczą ponadto w takich procesach, jak: organizacja cytoszkieletu komórkowego, nadawanie kształtu komórce, migracja, wydzielanie i namnażanie komórek.

Odmienne do białek Ras białka Rho do swej aktywacji wymagają przyłączenia geranylogeranyli trójfosforanu. W komórkach mięśni gładkich aktywacja białek Rho uwrażliwia mięśnie ścian naczyniowych na działanie jonów wapnia, wzmacniając skurcz naczyń, oraz nasila fosforylację łańcuchów lekkich miozyny, co doprowadza do wytworzenia miejscowych kompleksów adhezyjnych. Działając wspólnie, białka Rho i Rac uczestniczą w przenoszeniu sygnałów proliferacyjnych aktywowanych płytkowym czynnikiem wzrostu (PDGF). Działanie PDGF na mięśnie gładkie doprowadza do ich pobudzenia i namnażania. W białkach Rho podlegających działaniu inhibitorów HMG-CoA zablokowany jest proces izoprenylacji, w efekcie czego uniemożliwiony jest ich ruch do błony komórkowej. Zachodzi więc kumulacja białek Rho, które łączą się ze swoją efektorową kinazą ROCK1. Kompleks RhoA–kinaza ROCK1 pozostaje we wnętrzu cytozolu, kinaza ROCK1 nadal pozostaje nieaktywna, gdyż do jej uczynienia potrzebną jest związana z błoną kaspaza-3 [10]. W warunkach działania inhibitorów HMG-CoA unieruchomienie kinazy ROCK1 we wnętrzu cytozolu zapobiega jej aktywacji przez kaspazę. Aktywacja białek Rac powoduje następową aktywację oksydazy dwunukleotydu nikotynoadeninowego NADPH, będącej podstawowym źródłem wolnych rodników tlenowych w ścianie naczyniowej [11]. Wolne rodniki tlenowe doprowadzają do uszkodzenia czynności śródbłonna naczyniowego. Zwiększenie produkcji wolnych rodników w ścianie naczyniowej jest obok proliferacji mięśni gładkich pod wpływem PDGF jednym z mechanizmów powstawania zmian miażdżycowych.

Zjawiska immunologiczne w czasie leczenia statynami

Przeprowadzone w ostatnich latach badania kliniczne i eksperymentalne wykazały, że terapeutyczny potencjał statyn wykracza poza ramy zmian biochemicznych i czynnościowych komórek. Uważa się od niedawna, że statyny wykazują działanie modulujące i przeciwzapalne, które można wykorzystać w leczeniu chorób autoimmunizacyjnych.

Anergia limfocytów T

Jednym ze sposobów uzyskania tolerancji immunologicznej jest wywołanie anergii limfocytów T, a więc pozabawienie ich aktywności immunologicznej. Uzyskanie anergii może być zrealizowane m.in. poprzez zablokowanie klonalnej ekspansji limfocytów i zablokowanie sygnałów kostymulujących.

Innym mechanizmem ograniczenia czynności limfocytów T jest zahamowanie ich migracji i zdolności przenikania do ogniska zapalnego. Przyjmuje się powszechnie, że zmniejszenie migracji limfocytów zachodzić może za sprawą zaburzeń integralności cytoszkieletu i aktywności mikrotubul wewnątrzcytoplazmatycznych, których prawidłowe działanie regulowane jest przez izoprenylowane białka G. Zdolność rozpoznania antygeny przez limfocyt T spowodowana jest utworzeniem synapsy pomiędzy receptorem limfocyta T (TCR) a antygenem prezentowanym w kontekście molekuly MHC klasy II. Wykazano, że zahamowanie izoprenylacji białek G (Ras i Rac) zaburza szlak przekazywania sygnału pochodzącego z TCR do wnętrza komórki i w efekcie hamuje aktywację komórki T [12]. Zmiany w czynności białek G prowadzą także do innych głębokich przekształceń układu immunologicznego. Białka Ras kontrolują dojrzewanie i rearanżację łańcuchów receptora TCR, podczas gdy białko Cdc42 odgrywa kluczową rolę w polaryzacji komórek T do komórek prezentujących antygen, uczestnicząc równocześnie w migracji limfocytów wywoływanej chemokinami. Przedłużone stosowanie statyn doprowadza ponadto do zmian w składzie lipidowym błony komórkowej, swoistej płaszczyzny, w której zawieszony są przekaźnikowe i regulatorowe molekuly. Zmiany te doprowadzają do wadliwej czynności bądź do niewłaściwego pozycjonowania tych molekul, co w istotny sposób zmienia ich stan funkcjonalny.

Modulacja odpowiedzi Th1 i Th2

Limfocyty T pomocnicze można podzielić, w zależności od profilu cytokinowego, na dwie grupy. Limfocyty Th1 wydzielają głównie czynnik martwicy nowotworu (TNF- α) oraz interferon gamma (IFN- γ) i są odpowiedzialne za reakcje odporności typu komórkowego. W odróżnieniu od nich limfocyty Th2 wydzielają głównie interleukinę 4 (IL-4), IL-5, IL-10 i odpowiadają za stymulowanie komórek B do produkcji specyficznych przeciwciał. Różnicowanie komórek T pomocniczych zachodzi pod wpływem szeregu cytokin. W zależności od środowiska cytokinowego, możliwe jest

dojrzewanie limfocytów Th w kierunku populacji Th1 lub Th2 [13]. W następstwie działania statyn zaobserwowano wyraźny wzrost sekrecji przeciwzapalnie działających cytokin IL-4, IL-5 oraz IL-10 oraz przesunięcie różnicowania komórek T w kierunku odpowiedzi Th2 zależnej [14, 15]. Zmianom w sekrecji cytokin towarzyszy równoczesne zwiększenie fosforylacji (aktywacji) sygnałowego przekaźnika aktywacji transkrypcji 6 (STAT-6), który uczestniczy w zależnej od IL-4 transformacji komórek Th do limfocytów Th2. Równocześnie obserwuje się zahamowanie fosforylacji innego przekaźnika – STAT-4, koniecznego do wywołanej przez IL-12 transformacji limfocytów pomocniczych w kierunku odpowiedzi Th1. Powoduje to następowy spadek syntezy i wydzielania typowych cytokin pozapalnych TNF- α , IL-2, IL-12 oraz INF γ . Efektem zmian profilu cytokinowego jest przełączenie odpowiedzi Th1 do Th2 [16, 17]. Stosowanie statyn powoduje równoczesne zwiększanie ekspresji łączącej się z białkiem GATA proteiny-3 (*GATA binding protein-3*) – czynnika transkrypcyjnego zaangażowanego w różnicowanie komórek Th2 [18]. Efekt ten jest dodatkowo wzmacniany poprzez supresję czynnika jądrowego kappa B (*NF- κ B*) oraz *T bet*, silnych czynników uczestniczących w transformacji limfocytów do odpowiedzi Th1 zależnej [19].

Nie wszystkie statyny posiadają zdolność do zmiany profilu limfocytów T. W badaniu przeprowadzonym przez *Leung i wsp.* w modelu zapalenia stawu indukowanym kolagenem wykazano, że symwastatyna hamuje odpowiedź Th1 zależną, nie nasilając przy tym odpowiedzi Th2 [20]. Co więcej, część statyn w ogóle nie wywołuje efektu leczniczego, co wykazano, porównując działanie symwastatyny, atorwastatyny i rosuwastatyny w innym modelu eksperymentalnego zapalenia stawów wywoływanym przez kolagen. Nie jest do końca jasne, dlaczego atorwastatyna i rosuwastatyna pozbawione są korzystnego działania w tym modelu zapalenia stawów. Rozbieżności w zmianie profilu limfocytów T pomocniczych wykazano także w innych modelach zapalenia. W doświadczalnym modelu zapalenia tęczy i siatkówki lowastatyna oraz atorwastatyna korzystnie ograniczały stan zapalny, zmniejszając proliferację i naciek z komórek T, nie powodując przy tym zmiany profilu limfocytów T pomocniczych do Th2 [21]. W modelu toczniowego zapalenia nerek u myszy w zależności od dawki i drogi podania atorwastatyna zmniejszała aktywność choroby lub pozostawała bez wpływu na nią [22]. Jednakże nawet w przypadku braku leczniczego działania obserwowano zmianę profilu cytokinowego charakterystycznego dla odpowiedzi Th2 zależnej.

Cząsteczki adhezyjne leukocytów

Przyjmuje się, że śródbłonek naczyniowy odgrywa istotną rolę w procesach zapalnych i pośredniczy w szeregu zjawisk o podłożu autoimmunizacyjnym. Interakcja pomiędzy śródbłonkiem a komórkami odpornościowymi zaczyna się od zbliżenia, a następnie przylegania leukocyta do ściany naczyniowej. Proces ten regulowany jest poprzez precyzyjną ekspresję molekul adhezyjnych na powierzchni

śródbłonka. Jedną z ważniejszych cząsteczek adhezyjnych uczestniczących w procesie przylegania, a następnie przenikania przez ścianę naczyniową krwinek białych (a w szczególności limfocytów T) jest integryna b (LFA-1, CD11a-CD18) [23]. Prezentowana na powierzchni wszystkich krwinek białych LFA-1 przyłączając się do cząsteczki ICAM1 (CD54), prezentowanej na powierzchni śródbłonki, umożliwia przyleganie, a następnie przenikanie przez ścianę naczynia limfocytów T. Zjawisko to jest częścią prawidłowej odpowiedzi immunologicznej. Interakcja LFA-1/ICAM-1 odgrywa istotną rolę w takich zjawiskach o podłożu immunologicznym, jak łuszczyca, reumatoidalne zapalenie stawów czy odrzucanie przeszczepu [24]. Przyłączenie LFA-1 do cząsteczki ICAM-1 jest równocześnie źródłem bodźców kostymulacyjnych dla komórek T, niezależnych od cząsteczki CD28. W czasie ich aktywacji zmniejsza się ilość antygeny potrzebna do aktywacji komórki T. Patofizjologiczne znaczenie szlaku aktywacji LFA-1/ICAM-1 czyni z niego potencjalny cel interwencji terapeutycznych zmierzających do ograniczenia (wyeliminowania) procesu zapalnego lub autoimmunizacji [25]. Wśród licznych inhibitorów interakcji LFA-1/ICAM-1 znalazły się również statyny. Zjawisko blokowania czynności molekuly LFA-1 wykazano po raz pierwszy dla lowastatyny. Miejsce allosterycznej zmiany konformacji cząsteczki LFA-1 nazwano miejscem L (L-site) od nazwy pierwszej statyny – lowastatyny, która blokowała centrum aktywne receptora. Wkrótce właściwość blokowania cząsteczki LFA-1 potwierdzono także u innych inhibitorów HMG-CoA, poza prawastatyną [26].

Migracja leukocytów

Zjawisko zmniejszania ekspresji cząsteczek adhezyjnych wykazano także dla takich molekuł adhezyjnych, jak VCAM, ICAM-1, P i E selektyna. Mechanizmy działania statyn na wymienione cząsteczki adhezyjne nie są tak jednolite jak w przypadku LFA-1 i obejmują m.in. hamowanie aktywacji kinazy Rho, regulację stężenia tlenu azotu, czy zmniejszanie ekspresji genów kodujących wybrane cząsteczki adhezyjne. W przypadku VCAM-1 wykazano, że ekspresja cząsteczek na powierzchni śródbłonki naczyniowego mózgu regulowana jest przez zahamowanie kinazy 3 fosfatydyloinozytoli sprężonej z czynnikiem jądrowym NF- κ B. Zahamowanie tego szlaku powoduje wyraźne ograniczenie migracji monocytów przez barierę śródbłonki [27]. Zahamowanie czynności białek G w następstwie zastosowania statyn doprowadza do zmian strukturalnych i czynnościowych w zakresie aktyny i mikrotubul komórkowych, powodując zmiany w motoryce leukocytów. Upośledzeniu ulega zwłaszcza chemotaksja komórek, która regulowana jest m.in. przez szereg chemokin oraz białko CDc42. Blokada tego białka powoduje utratę ruchu leukocyta wzdłuż gradientu chemokinowego, w efekcie czego ruch leukocyta staje się nieskoordynowany i chaotyczny. Zablockowanie czynności innego białka – Rac doprowadza do całkowitego porażenia ruchu leukocyta. Innym poziomem działania statyn na migrację komórek układu odpornościowego

jest zmniejszenie ekspresji receptorów chemokinowych na powierzchni komórek B, limfocytów T i makrofagów.

Wpływ statyn na populacje limfocytów T

Działanie statyn nie ogranicza się wyłącznie do modulowania zależnej od izoprenylacji białek G regulacji czynności komórek immunokompetentnych. Dostępne wyniki badań laboratoryjnych wskazują na supresyjne działanie statyn na podgrupę limfocytów T uczestniczących w przewlekłych procesach zapalnych. Populacja komórek T CD4⁺CD28^{null} jako szczególnie podtyp limfocytów T znajdująca jest u chorych z przewlekłymi procesami zapalnymi, takimi jak: reumatoidalne zapalenie stawów, twardzina układowa czy stwardnienie rozsiane [28, 29]. Nadmierna ekspresja tej populacji powiązana jest z gorszym rokowaniem, związanym zwłaszcza z nasileniem procesów miażdżycowych i przedwczesną śmiertelnością sercowo-naczyniową. U chorych na reumatoidalne zapalenie stawów populacja limfocytów T CD4⁺CD28^{null} częściej występuje u chorych z aktywną, wielostawową postacią choroby oraz u chorych ze zmianami pozastawowymi. Równocześnie zaobserwowano, że statyny nasilając apoptozę limfocytów T CD4⁺CD28^{null}, powodują zmniejszenie populacji autoreaktywnych limfocytów T [30]. Działanie to zaobserwowano u chorych z niestabilną chorobą wieńcową. Znaczenie populacji limfocytów T CD4⁺CD28^{null} w rozwoju i podtrzymywaniu procesu zapalnego w przebiegu reumatoidalnego zapalenia stawów potwierdzono także u chorych leczonych inhibitorami TNF- α . W trakcie agresywnego leczenia choroby infiksimumem zaobserwowano zmniejszenie aktywności choroby, której towarzyszyła normalizacja ilości autoreaktywnych limfocytów [31].

W ostatnich latach w rozwoju schorzeń o podłożu autoimmunizacyjnym podnosi się także znaczenie innej populacji limfocytów T CD4⁺CD25⁺⁺, czyli tzw. limfocytów T regulatorowych (Treg). Limfocyty te charakteryzują się obecnością na swojej powierzchni łańcucha alfa receptora dla IL-2 (CD25) oraz transkrypcyjnego czynnika Foxp3, który z jednej strony reguluje czynność supresyjną limfocytów Treg, z drugiej natomiast uczestniczy w regulacji aktywności wielu genów, w tym dla IL-2, IFN- γ CD25, CTLA-4 [32]. W chorobach o podłożu autoimmunizacyjnym potwierdzono rolę defektu komórek regulatorowych, co sprzyja powstawaniu i rozwojowi schorzeń z autoagresji. Zastosowanie atorwastatyny u chorych z chorobą wieńcową powoduje zwiększenie populacji limfocytów Treg. Niewiele wiadomo o wpływie poszczególnych statyn na stan czynnościowy populacji T regulatorowej. Wyniki jedynej dostępnej dotychczas pracy z atorwastatyną wskazują na korzystny efekt leku stosowanego u chorych na reumatoidalne zapalenie stawów. W efekcie zastosowania statyny zaobserwowano restytucję czynności limfocytów Treg z równoczesnym zmniejszeniem aktywności procesu zapalnego [33].

Limfocyty Th17

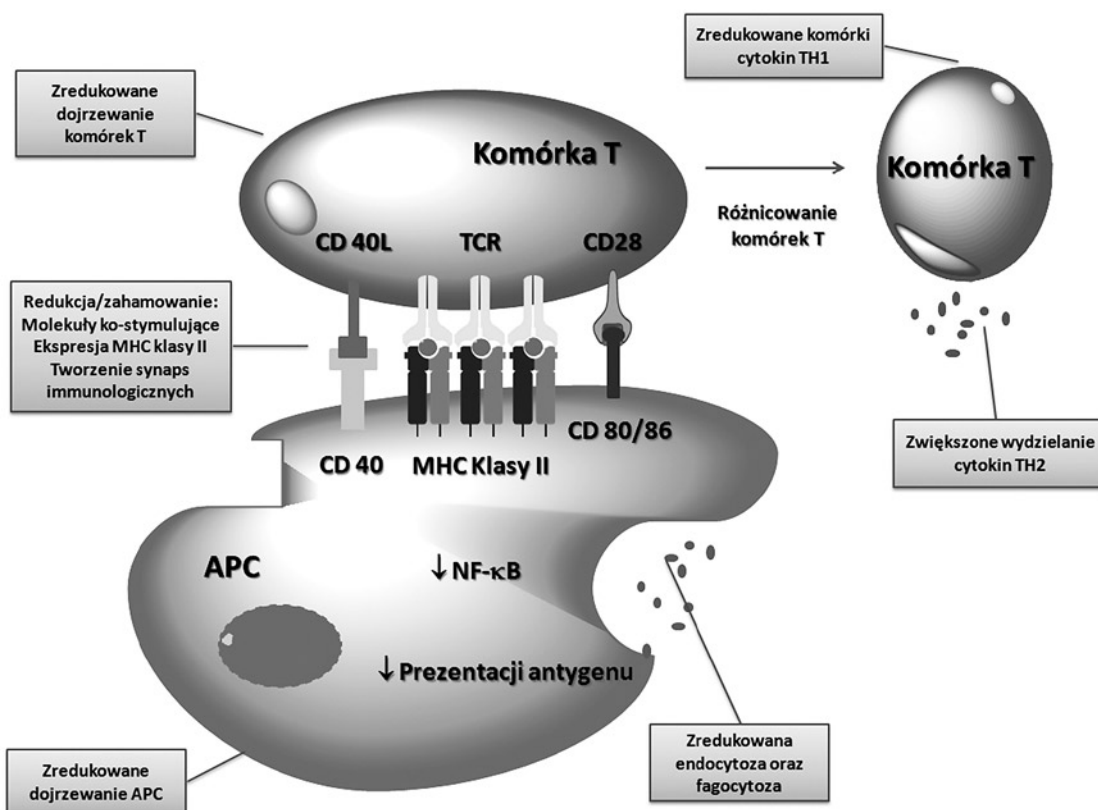
Opisanie na przełomie lat 80. i 90. ubiegłego wieku podziału odpowiedzi T komórkowej na odpowiedź Th1 i Th2

zależną nie objęło całego spektrum odpowiedzi cytokin w stanach zapalenia, chorób z autoagresji i obrony przed drobnoustrojami. Odkrycie trzeciej subpopulacji, charakteryzującej się zdolnością do syntezy i wydzielania 6 cytokin należących do rodziny interleukin 17 (IL-17 A-F), pomogło lepiej zrozumieć procesy zapalne zachodzące w organizmie, zwłaszcza te związane z przewlekłą odpowiedzią zapalną oraz zjawiskami o charakterze autoimmunizacji. Zahamowanie izoprenylacji białek G powoduje bowiem istotne zmiany w funkcjonowaniu populacji limfocytów Th17. W następstwie stosowania symwastatyny obserwuje się zahamowanie różnicowania limfocytów w kierunku komórek Th17 oraz nasilenie różnicowania subpopulacji komórek Treg [34]. Zjawiska te powodują zahamowanie procesów zapalnych i sprzyjają uzyskaniu immunotolerancji. Biorąc pod uwagę znaczenie, jakie obecnie przypisuje się limfocytom Th17 w sterowaniu procesami z autoagresji, takimi jak toczeń, twardzina układowa czy reumatoidalne zapalenie stawów, wskazuje to na poważny immunomodulujący potencjał statyn w leczeniu chorób o podłożu autoimmunizacyjnym [35].

Wpływ statyn na ekspresję antygenów MHC

Liczne badania *in vitro* wskazują na udział statyn w modulowaniu ekspresji antygenów głównego układu zgodności tkankowej I i II klasy (MHC I i MHC II). Biorąc pod uwagę zasadniczą rolę, jaką odgrywają te molekuly w procesie prezentacji antygeny, zmiana ich ekspresji pod wpływem statyn może powodować modulowanie

odpowiedzi pierwotnej i wtórnej. Statyny posiadają zdolność do hamowania indukowanej przez IFN- γ ekspresji cząsteczek MHC II na powierzchni komórek prezentujących antygen (APC), co zaburza prezentację antygeny komórkom CD4+. Jednym z mechanizmów zahamowania prezentacji MHC II na powierzchni komórki jest zmniejszenie aktywności indukowanego przez IFN- γ promotora IV (pIV) transaktywatora klasy II (CIITA) regulującego aktywność genów dla MHC II [36]. Aktywacja CIITA przez IFN- γ wymaga aktywacji również GTP-azy Rac1 – białka G, którego aktywność można zablokować statyną. Wkrótce po tym wykazano zdolność statyn do hamowania innego promotora ekspresji CIITA – promotora I (PI). Wskazuje to na potencjalne możliwości statyn do blokowania wszystkich indukowanych przez INF- γ promotorów MHC II. Stwierdzono równocześnie, że statyny posiadają zdolność do hamowania czynnika transkrypcyjnego STAT (*signal transducer and activator of transcription*), co powoduje zablokowanie transkrypcyjnego programu genu *CIITA* [37]. Supresyjny wpływ statyn na ekspresję MHC II ogranicza się jedynie do komórek, w których ekspresja antygenów MHC II indukowana jest przez czynniki zapalne – głównie INF- γ . Komórki, które prezentują MHC w sposób konstytutywny (niezależny od indukowania czynnikami zapalnymi), nie podlegają regulacji przez statyny. Inny postulowany mechanizm wpływu statyn na ekspresję antygenów MHC II polega na zmianie struktury powierzchni błony komórkowej, komórek posiadających na swej powierzchni antygeny MHC II. Zmiany



Ryc. 1. Wpływ statyn na ekspresję cząstek kostymulujących

stężenia cholesterolu, jednego z podstawowych składników błony komórkowej, doprowadzają do wystąpienia zakłóceń w obrębie mikrodomen związanych z MHC II. Ponadto, zmiany w składzie lipidowym błony komórkowej zaburzają procesy związane z transportem, prezentacją i degradacją białek MHC na powierzchni komórki.

Wpływ statyn na ekspresję MHC I klasy nie jest tak jednoznaczny, jak w przypadku MHC II. Dostępne wyniki badań wskazują zarówno na hamujący, jak i pobudzający wpływ statyn na ekspresję MHC I. Rozbieżności wyników spowodowane są najpewniej różnymi liniami komórkowymi użytymi do badań oraz zastosowaniem różnych stężeń leku. Nie można wykluczyć także odmiennego wpływu różnych statyn na ten parametr. Dla przykładu, atorwastatyna nie wykazuje wpływu na ekspresję MHC I klasy, podczas gdy symwastatyna redukuje zarówno indukowaną przez IFN- γ , jak i konstytutywną ekspresję MHC I.

Wpływ statyn na ekspresję cząsteczek kostymulujących

Uzyskanie efektywnej odpowiedzi immunologicznej wymaga wytworzenia synapsy immunologicznej pomiędzy receptorem komórki T z jednej strony a antygenem prezentowanym w kontekście molekuly MHC II na powierzchni komórki prezentującej antygen (APC) z drugiej. Pełna odpowiedź immunologiczna wymaga ponadto obecności dodatkowego sygnału wywołanego połączeniem molekuł kostymulujących na powierzchni limfocyta T i APC. Cząsteczka CD40 zlokalizowana na powierzchni APC, komórek śródbłonna, komórek B, łączy się ze swoim ligandem cząsteczką CD40L (CD154) prezentowaną na powierzchni limfocyta T. Połączenie to odgrywa istotną rolę we wzmacnianiu sygnałów przenoszonych przez receptor limfocyta T oraz nasila różnicowanie efektorowych komórek T. Dodatkowo stymulacja cząsteczki CD40 powoduje ekspresję cząsteczek adhezyjnych, metaloproteinaz (MMP), czynnika tkankowego (TF) oraz nasila syntezę i wydzielanie cytokin oraz chemokin. Zastosowanie statyn powoduje zmniejszenie ekspresji cząsteczki CD40 i ograniczenie wydzielania zależnych od stymulacji przez CD40L cytokin i chemokin. Udaje się przy tym zaobserwować dwa niezależne mechanizmy działania statyn na ekspresję cząsteczki CD40. Pierwszy z nich zależny jest od obecności l-mewalonianu, co wskazuje na udział białek G w tym procesie. Drugi, niezależny od mewalonianu, pirofosforanu farnezyli i geranylogeranylo pirofosforanu [38], ma polegać na blokowaniu nowego receptora integrynowego z następowym ograniczeniem syntezy czynnika regulatorowego interferonu (IRF), uczestniczącego w regulacji syntezy i ekspresji cząsteczki CD40 [39]. Zmniejszenie ekspresji cząsteczki CD40, obniżając skuteczność aktywacji i namnażania limfocytów T, ma poważne znaczenie kliniczne. Wykazano bowiem, że w modelach zwierzęcych chorób autoimmunizacyjnych podanie statyny zmniejsza odpowiedź T-komórkową. Zastosowanie statyn powoduje również obniżenie stężenia innych cząsteczek powierzchniowych komórek immunokompetentnych (CD83, CD86, HLA DR) [40].

Wpływ statyn na czynność układu immunologicznego nie ogranicza się wyłącznie do osób z hipercholesterolemią, a obecny jest również u chorych z układowymi chorobami tkanki łącznej oraz wszędzie tam, gdzie proces zapalny stanowi patofizjologiczne podłoże zmian chorobowych. Zastosowanie statyn wydaje się szczególnie zasadne u chorych reumatologicznych. Leki te wykazują korzystny wpływ na układ immunologiczny i ich zastosowanie powoduje wystąpienie łagodnej immunosupresji mogącej korzystnie oddziaływać na aktywność procesu zapalnego.

W większości zapalnych chorób układu ruchu poważnym wyzwaniem dla leczącego lekarza jest nie tylko zmniejszenie aktywności procesu chorobowego, ale wyeliminowanie bądź co najmniej ograniczenie odległych następstw, takich jak przyspieszona miażdżycza.

Piśmiennictwo

1. Goldstein J.L., Brown M.S.: Regulation of the mevalonate pathway. *Nature*. 1990, 343 (6257), 425–430.
2. Downs J.R., Clearfield M., Tyroler H.A., Whitney E.J., Kruyer W., Langendorfer A. et al.: Air Force/Texas Coronary Atherosclerosis Prevention Study (AFCAPS/TECAPS): additional perspectives on tolerability of long-term treatment with lovastatin. *Am J Cardiol*. 2001, 87 (9), 1074–1079.
3. Tsiara S., Elisaf M., Mikhailidis D.P.: Early vascular benefits of statin therapy. *Curr Med Res Opin*. 2003, 19 (6), 540–556.
4. Watts G.F., Burke V.: Lipid-lowering trials in the primary and secondary prevention of coronary heart disease: new evidence, implications and outstanding issues. *Curr Opin Lipidol*. 1996, 7 (6), 341–355.
5. Superko H.R., Krauss R.M.: Coronary artery disease regression. Convincing evidence for the benefit of aggressive lipoprotein management. *Circulation*. 1994, 90 (2), 1056–1069.
6. Takemoto M., Liao J.K.: Pleiotropic effects of 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase inhibitors. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2001, 21 (11), 1712–1719.
7. Buhaescu I., Izzedine H.: Mevalonate pathway: a review of clinical and therapeutical implications. *Clin Biochem*. 2007, 40 (9–10), 575–584.
8. Takai Y., Sasaki T., Matozaki T.: Small GTP-binding proteins. *Physiol Rev*. 2001, 81 (1), 153–208.
9. Corsini A., Mazzotti M., Raiteri M., Soma M.R., Gabbiani G., Fumagalli R. et al.: Relationship between mevalonate pathway and arterial myocyte proliferation: in vitro studies with inhibitors of HMG-CoA reductase. *Atherosclerosis*. 1993, 101 (1), 117–125.
10. Negre-Aminou P., van E.M., van Leeuwen R.E., Collard J.G., Cohen L.H.: Differential effect of simvastatin on various signal transduction intermediates in cultured human smooth muscle cells. *Biochem Pharmacol*. 2001, 61 (8), 991–998.
11. Griendling K.K., Minieri C.A., Ollerenshaw J.D., Alexander R.W.: Angiotensin II stimulates NADH and NADPH oxidase activity in cultured vascular smooth muscle cells. *Circ Res*. 1994, 74 (6), 1141–1148.
12. Chapel H., Haeney M., Siraj M., Snowden N.: *Immunologia kliniczna*. Wyd. Czelej, Lublin 2011.
13. Goldman F., Hohl R.J., Crabtree J., Lewis-Tibesars K., Koretzky G.: Lovastatin inhibits T-cell antigen receptor signaling independent of its effects on ras. *Blood*. 1996, 88 (12), 4611–4619.
14. Grip O., Janciauskiene S., Lindgren S.: Pravastatin down-regulates inflammatory mediators in human monocytes in vitro. *Eur J Pharmacol*. 2000, 410 (1), 83–92.
15. Rosenson R.S., Tangney C.C., Casey L.C.: Inhibition of proinflammatory cytokine production by pravastatin. *Lancet*. 1999, 353 (9157), 983–984.

16. *Dunn S.E., Youssef S., Goldstein M.J., Prod'homme T., Weber M.S., Zamvil S.S. et al.*: Isoprenoids determine Th1/Th2 fate in pathogenic T cells, providing a mechanism of modulation of autoimmunity by atorvastatin. *J Exp Med.* 2006, 203 (2), 401–412.
17. *Youssef S., Stuve O., Patarroyo J.C., Ruiz P.J., Radosevich J.L., Hur E.M. et al.*: The HMG-CoA reductase inhibitor, atorvastatin, promotes a Th2 bias and reverses paralysis in central nervous system autoimmune disease. *Nature.* 2002, 420 (6911), 78–84.
18. *Murphy K.M., Reiner S.L.*: The lineage decisions of helper T cells. *Nat Rev Immunol.* 2002, 2 (12), 933–944.
19. *Robinson D.S., O'Garra A.*: Further checkpoints in Th1 development. *Immunity.* 2002, 16 (6), 755–758.
20. *Leung B.P., Sattar N., Crilly A., Prach M., McCarey D.W., Payne H. et al.*: A novel anti-inflammatory role for simvastatin in inflammatory arthritis. *J Immunol.* 2003, 170 (3), 1524–1530.
21. *Chow S.C.*: Immunomodulation by statins: mechanisms and potential impact on autoimmune diseases. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz).* 2009, 57 (4), 243–251.
22. *Lawman S., Mauri C., Jury E.C., Cook H.T., Ehrenstein M.R.*: Atorvastatin inhibits autoreactive B cell activation and delays lupus development in New Zealand black/white F1 mice. *J Immunol.* 2004, 173 (12), 7641–7646.
23. *Gahmberg C.G., Tolvanen M., Kotovuori P.*: Leukocyte adhesion – structure and function of human leukocyte beta2-integrins and their cellular ligands. *Eur J Biochem.* 1997, 245 (2), 215–232.
24. *Yusuf-Makagiansar H., Anderson M.E., Yakovleva T.V., Murray J.S., Siahaan T.J.*: Inhibition of LFA-1/ICAM-1 and VLA-4/VCAM-1 as a therapeutic approach to inflammation and autoimmune diseases. *Med Res Rev.* 2002, 22 (2), 146–167.
25. *Nishibori M., Takahashi H.K., Mori S.*: The regulation of ICAM-1 and LFA-1 interaction by autacoids and statins: a novel strategy for controlling inflammation and immune responses. *J Pharmacol Sci.* 2003, 92 (1), 7–12.
26. *Zimmerman T., Blanco F.J.*: Inhibitors targeting the LFA-1/ICAM-1 cell-adhesion interaction: design and mechanism of action. *Curr Pharm Des.* 2008, 14 (22), 2128–2139.
27. *Prasad R., Giri S., Nath N., Singh I., Singh A.K.*: Inhibition of phosphoinositide 3 kinase-Akt (protein kinase B)-nuclear factor-kappa B pathway by lovastatin limits endothelial-monocyte cell interaction. *J Neurochem.* 2005, 94 (1), 204–214.
28. *Thewissen M., Somers V., Hellings N., Fraussen J., Damoiseaux J., Stinissen P.*: CD4+CD28null T cells in autoimmune disease: pathogenic features and decreased susceptibility to immunoregulation. *J Immunol.* 2007, 179 (10), 6514–6523.
29. *Fasth A.E., Snir O., Johansson A.A., Nordmark B., Rahbar A., Klint E. et al.*: Skewed distribution of proinflammatory CD4+CD28null T cells in rheumatoid arthritis. *Arthritis Res Ther.* 2007, 9 (5), R87.
30. *Link A., Selejan S., Hewera L., Walter F., Nickenig G., Bohm M.*: Rosuvastatin induces apoptosis in CD4(+)CD28 (null) T cells in patients with acute coronary syndromes. *Clin Res Cardiol.* 2011, 100 (2), 147–158.
31. *Pawlik A., Ostank L., Brzosko I., Brzosko M., Masiuk M., Machaliński B. et al.*: Therapy with infliximab decreases the CD4+CD28- T cell compartment in peripheral blood in patients with rheumatoid arthritis. *Rheumatol Int.* 2004, 24 (6), 351–354.
32. *Hori S., Nomura T., Sakaguchi S.*: Control of regulatory T cell development by the transcription factor Foxp3. *Science.* 2003, 299 (5609), 1057–1061.
33. *Tang T.T., Song Y., Ding Y.J., Liao Y.H., Yuan J., Zhou Z.H. et al.*: Atorvastatin up-regulates regulatory T-cell and improves clinical disease activity in patients with rheumatoid arthritis. *J Lipid Res.* 2011, 52 (2), 1023–1032.
34. *Zhang X., Markovic-Plese S.*: Statins' immunomodulatory potential against Th17 cell-mediated autoimmune response. *Immunol Res.* 2008, 41 (3), 165–174.
35. *Hot A., Miossec P.*: Effects of interleukin (IL)-17A and IL-17F in human rheumatoid arthritis synovocytes. *Ann Rheum Dis.* 2011, 70 (5), 727–723.
36. *Reith W., LeibundGut-Landmann S., Waldburger J.M.*: Regulation of MHC class II gene expression by the class II transactivator. *Nat Rev Immunol.* 2005, 5 (10), 793–806.
37. *Lee S.J., Qin H., Benveniste E.N.*: The IFN-gamma-induced transcriptional program of the CIITA gene is inhibited by statins. *Eur J Immunol.* 2008, 38 (8), 2325–2336.
38. *Wagner A.H., Gebauer M., Guldenzoph B., Hecker M.*: 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase-independent inhibition of CD40 expression by atorvastatin in human endothelial cells. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2002, 22 (11), 1784–1789.
39. *Wagner A.H., Gebauer M., Pollok-Kopp B., Hecker M.*: Cytokine-inducible CD40 expression in human endothelial cells is mediated by interferon regulatory factor-1. *Blood.* 2002, 99 (2), 520–525.
40. *Yilmaz A., Reiss C., Tantawi O., Weng A., Stumpf C., Raaz D. et al.*: HMG-CoA reductase inhibitors suppress maturation of human dendritic cells: new implications for atherosclerosis. *Atherosclerosis.* 2004, 172 (1), 85–93.

Komentarz

Dlaczego statyny powinny znaleźć zastosowanie w reumatologii?

Pomimo stale rosnącej liczby doniesień na temat plejotropowego działania statyn, klinicyści często podchodzą do nich nieufnie. W praktyce rzadko stosowane są również duże dawki, mimo wskazań do takiego leczenia. Autor powyższej pracy rzeczowo charakteryzuje wniośki z dostępnego piśmiennictwa na temat statyn i przybliża stosowane metody badań. W pracy zawarto przede wszystkim informacje na temat podstaw teoretycznych działania statyn. Stanowią one cenne źródło informacji dla lekarzy i mogą zachęcić do szerszego stosowania tych leków. Recenzowana praca jest głosem w dyskusji nad wielokierunkowym leczeniem chorych na choroby układowe tkanki łącznej.

Nie ulega wątpliwości, że statyny powinny być stosowane u chorych na dyslipidemie. Wśród nich chorzy na choroby reumatyczne stanowią szczególnie ważną grupę docelową dla takiego leczenia. W przebiegu wielu chorób reumatycznych istnieje znacznie podwyższone ryzyko wystąpienia incydentów sercowo-naczyniowych. Częste jest występowanie dyslipidemii, m.in. w związku z terapią glikokortykosteroidami. Choroba niedokrwienna serca (ChNS) jest najczęstszą przyczyną zgonów u chorych na reumatoidalne zapalenie stawów (RZS). W toczeniu rumieniowatym układowym (TRU) ChNS przebiega subklinicznie lub manifestuje się jako dusznica bolesna, zawał serca lub nagły zgon sercowy. Przyczyną zawału może być zakrzepica, niedokrwienie związane z zapaleniem naczyń. Miażdżycę w TRU przyspieszają uszkodzenie śródbłonna, wzmożona ekspresja białek adhezyjnych, aktywacja cytokin, metaloproteinaz i czynników krzepnięcia.

Mechanizm immunomodulującego działania statyn jest nie do końca poznany, jednak niezależny od wpływu na hamowanie syntezy cholesterolu. Znaczenie statyn wykracza jednak poza działania związane z normalizacją

gospodarki lipidowej. Czynniki ryzyka chorób sercowo-naczyniowych wśród chorych na choroby reumatyczne są również szersze niż tradycyjne, a wynikają także z charakteru chorób autoimmunologicznych i ich leczenia. Statyny poprzez swoje plejotropowe właściwości mogą korzystnie wpływać na mechanizmy związane z immunizacją u chorych na choroby reumatyczne oraz działają przeciwzapalnie. Dla przykładu, leczenie atorwastatyną w RZS obniżało wskaźnik DAS28 w porównaniu z grupą placebo, co wykazywano w niewielkich badaniach randomizowanych kontrolowanych placebo.

Jak podkreślono w omawianej pracy istnieją liczne dowody z badań *in vitro* na modelach zwierzęcych oraz badań obserwacyjnych i niewielkich badań randomizowanych na temat zalet statyn w chorobach reumatycznych. Należy jednak zaznaczyć, że stosowanie statyn jako leków immunomodulujących u chorych z prawidłowym profilem lipidowym nie ma do tej pory dostatecznego oparcia w wynikach przeprowadzonych badań.

dr n. med. *Marcin Milchert*
prof. dr hab. n. med. *Marek Brzosko*