

Antiinflamatorní účinek statinů

MUDr. Peter Riško, doc. MUDr. Pavel Kraml Ph.D., Bc. Jana Potočková, MUDr. Jana Střížová

II. interní klinika FNKV, Praha

Statiny jsou značně předepisovány pro jejich schopnost snižovat cholesterol a pozitivní vliv na kardiovaskulární onemocnění. V posledních letech přibývá důkazů ohledně jejich pleiotropních účinků – antioxidační, antitrombotické, antiinflamatorní, imunomodulační účinky, možný anti-foam cell efekt a zlepšení endotelové dysfunkce. V tomto přehledu je načrtnut možný mechanismus antiinflamatorního a imunomodulačního působení statinu.

Klíčová slova: statin, prenylace, malé GTP proteiny, imunita.

Antiinflammatory properties of statins

Statins have been extensively prescribed for its ability to reduce blood cholesterol level and positive impact on cardiovascular diseases. In recent years, increased evidence of its pleiotropic effects – antioxidant, antithrombotic, anti-inflammatory, immunomodulatory effect, possible anti-foam cell effect and improving of endothelial dysfunction. In this review, is outlined possible mechanism of anti-inflammatory and immunomodulatory effect of statins.

Key words: statin, prenylation, small GTP proteins, immunity.

Kardiovaskulární onemocnění jsou v celosvětovém měřítku stále na prvním místě v mortalitě a morbiditě. Dle WHO až jedna třetina populace umírá na kardiovaskulární příhodu. V roce 2008 zemřelo 17,3 milionů lidí na kardiovaskulární onemocnění, což představuje 30 % z celkové mortality. Z toho 7,3 mil. zemřelo na onemocnění koronárního řečiště a 6,2 mil. na mozkovou příhodu (1). Když se podíváme na statistiku WHO z roku 2004, na KVO zemřelo 17,1 milionu lidí (29 % celkové mortality), z toho 7,2 mil. na onemocnění koronárního řečiště a 5,7 mil. na mozkovou příhodu. Při srovnání vidíme jen mírný nárůst úmrtí z koronárních příčin, zatímco nárůst úmrtí na mozkovou příhodu je výrazně vyšší.

Podkladem rozvoje kardiovaskulárního onemocnění je rozvoj a progresse aterosklerotických změn. Jejím základním rysem je hromadění tuků a cholesterolu ve stěně velkých a středních artérií, neoddělitelnou součástí je probíhající chronický zánět. Tyto dva procesy navzájem kooperují. V iniciálních stádiích dochází k průniku a kumulaci aterogenních lipoproteinů obsahujících apo B částice ve stěně artérie, hlavně v oblasti jejího větvení. Zároveň dochází k aktivaci endotelu a postupné modifikaci LDL částic na oxLDL (2). Oxidované LDL částice mají výrazný proaterogenní účinek. Jak se ukázalo, oxLDL dokáží indukovat sekreci MCP-1 aktivovaným endotelem (3). MCP-1 (monocyte chemoattractant protein-1) se svým výrazným chemotaktickým působením spolu s endotelem, který na svém povrchu exprimuje řadu adhezivních molekul, působí v oblasti rolling a diapedezu monocytů

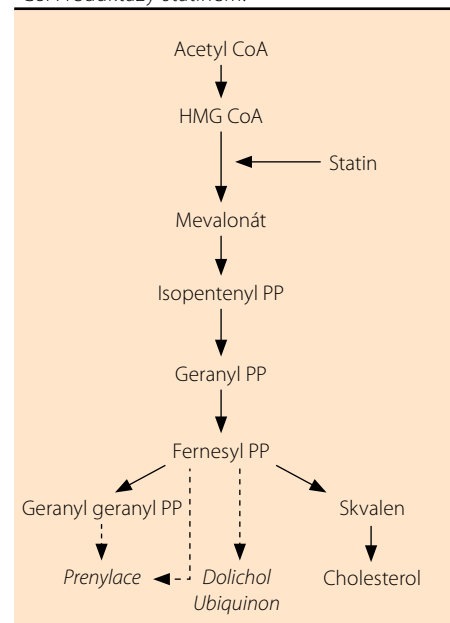
do intimy. MCP-1 není jediný faktor působící na rozvoj léze. V oblasti zánětu nacházíme množství cytokinů, jako např. IL-1, IL-8, INF- γ , TNF- α a další. Vlivem cytokinů dochází k diferenciaci monocytů v makrofágy, přičemž dle typu cytokinu může nastat diferenciace v M1 nebo M2 typ (2). Když v lézi převládá M1 typ, dochází k progresi zánětu a postupné kumulaci lipidů v makrofágu s jeho přeměnou na pěnovou buňku. Část makrofágů v lézi podléhá apoptóze. Secernované cytokiny a makrofágy stimuluje diferenciaci, proliferaci a prostup hladkého svalstva do intimy. Působením těchto procesů dochází k rozvoji nekrotického jádra plátu a vytvoření vazivové „čepičky“ (fibrotic cap) aterosklerotické léze. Buňky hladkého svalstva produkují extracelulární matrix, který obsahuje vlákna kolagenu a elastinu (4). Makrofágy s vysokou aktivitou naproti tomu zvyšují degradaci „fibrotic cap“ prostřednictvím MMPs (matrix metalloproteinases), proteas a katepsinů. Převaha syntézy či degradace extracelulární matrix určuje stabilitu aterosklerotického plátu.

V rámci komplexního ovlivnění všech rizikových faktorů představují velmi účinný nástroj ke snižování kardiovaskulární morbidity a mortality statiny. Jejich éra se datuje do sedmdesátých let, kdy Akira Endo a jeho výzkumný tým začal pracovat na léku, který dokáže snížit hladinu cholesterolu. Prvním preparátem byl mevastatin, izolovaný z *Penicillium citrinum*. Pro řadu závažných vedlejších účinků se nedostal do lékařské praxe. Pak nastoupil lovastatin, izolovaný z *Aspergillus terreus*, lék používaný dodnes. V současné době již máme celou řadu statinů

přírodního (lovastatin, pravastatin, mevastatin) a syntetického (fluvastatin, atorvastatin, rosuvastatin) původu.

Statiny jsou inhibitory HMG-CoA reduktázy (obrázek 1). Jejich schopnost redukovat LDL cholesterol úplně nevysvětluje jejich terapeutický efekt, jako například v CARE, LIPID a HPS studii, kde pozorovaný pokles v hladině LDL úplně nekoreluje s dosaženým benefitem terapie (5). To podporuje myšlenku dalších (přídavných) vlastností, hovoří se o pleiotropním účinku statinů. K všeobecně známému efektu, kromě snížení LDL, patří i mírný pokles TAG a nárůst HDL. Přibývá také důkazů o antioxidačních a anti-

Obrázek 1. Syntéza cholesterolu a inhibice HMG-CoA reduktázy statinem.



trombotických vlastnostech (2, 4, 6, 7, 8). Objevily se práce, v kterých při terapii statinem dochází ke zlepšení endotelové dysfunkce u mladých normocholesterolemických kuřáků (9). Dále přibývá řada studií svědčících pro antiinflatorní, imunomodulační účinky a možný anti-foam cell efekt statinů (2, 4, 6, 7, 8, 10, 11).

Pro objasnění těchto vlastností je důležité pochopení mechanismu působení statinu. Jak bylo zmíněno dříve, statiny jsou specifickým inhibitory HMG-CoA reduktázy, regulačního enzymu v syntéze cholesterolu. Po vstřebání statinu nastává kompetitivní inhibice, inhibitor soutěží o vazbu na aktivní místo enzymu s HMG-CoA. Tím dochází ke snížení produkce intracelulární koncentrace cholesterolu. Nízká koncentrace cholesterolu vede k aktivaci transkripce genů pro LDL receptor, který se ve zvýšené míře exprimuje na povrchu buňky. To vede ke zvýšené internalizaci LDL molekul z krevního oběhu. Tímto mechanismem dochází ke snížení hladiny LDL.

Kromě snížené hladiny intracelulárního cholesterolu dochází k poklesu koncentrace mevalonátu a následných meziproductů, což má řadu důsledků. Například snížená hladina mevalonátu, který působí jako inhibitor fosfatidylinositol 3-kinázy, vede ke zvýšené aktivitě PI3-K a následně k aktivaci proteinkinázy Akt v endoteliích s následnou zvýšenou syntézou NO a zlepšením endotelární funkce (12). Zvýšená produkce NO má preventivní účinek při stimulaci chemotaxe u leukocytů, snižuje adhezi leukocytů a jejich migraci do arteriální stěny (11).

K jednomu z nejdůležitějších meziproductů patří farnesylpyrofosfát a geranylgeranylpyrofosfát. Tyto molekuly hrají významnou roli v prenylaci (izoprenylaci). Jedná se o posttranskripční úpravu proteinů přidáním izoprenoidu k proteinu. Prenylace probíhá na karboxylové části proteinu v oblasti CAAX, kde se izoprenoid váže na cystein (C-cystein, A-alifatická aminokyselina, X-jakákoliv aminokyselina). Prenylace probíhá na malých GTP proteinech ze skupiny Rho (Cdc42, Rac, RhoA), Ras, Rab, Ran, Sar1/Arf (13). Reakce je katalyzována farnesyltransferázou-1 a geranylgeranyltransferázou-1,2. Prenylované malé proteiny cyklují mezi inaktivním GDP a aktivním GTP. Například, po prenylaci RAS dochází k jeho aktivaci a prenylace usměrňuje RAS protein na vnitřní stranu buněčné membrány (obrázek 2).

Navázaná prenylová skupina je lipofilní a tím umožňuje uchycení proteinu k buněčné membráně, což je základní požadavek pro správnou biologickou funkci proteinů. Prenylace může

dále probíhat na proteinech, které místo CAAX vazebného místa obsahují CC nebo CXC sekven- ci (katalyzováno geranylgeranyltransferázou-2). Jedná se o celou řadu Rab proteinů (skupina Ras příbuzných G proteinů) (13). Rab proteiny plní důležitou úlohu v kontrole buněčné diferenciace a proliferace (13).

V posledních letech se pozornost také upíná k KLFs (Krüppel-like Factors), skupině 16 faktorů ovlivňujících buněčnou proliferaci, diferenciaci a imunitní odpověď. Opakovaně se prokázal stimulační vliv statinu na expresi KLF-2, ale také KLF-3 a 4 (10, 14, 15). Efekt statinu na KLF-2 je závislý na schopnosti ovlivňovat aktivitu Rho (15). Zdá se, že KLF-2 reguluje zánětlivou odpověď monocytů a přisuzuje se mu protizánětlivá úloha – snižuje produkci cytokinů, schopnost fagocytovat (14). Kromě monocytů, KLF-2 působí hlavně v endoteliích, kde ovlivňuje hemostatické vlastnosti, tonus cév – prostřednictvím eNOS a expresi adhezivních molekul (15).

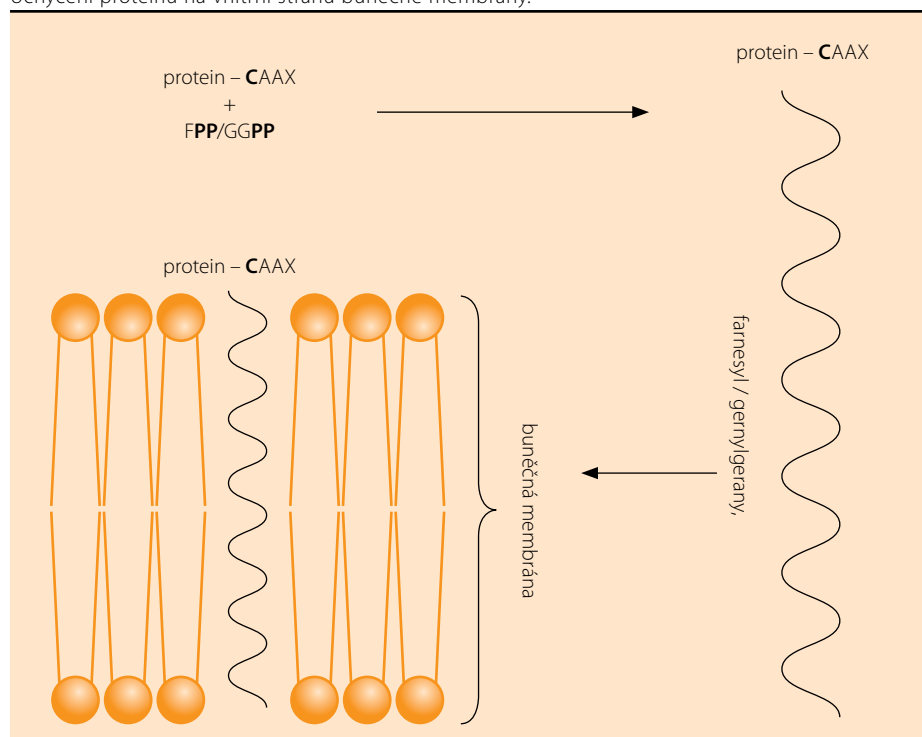
Právě adhezivní molekuly, zodpovědné za adhezi a následnou diapedézu leukocytů do místa zánětu, jsou na počátku imunitní odpovědi. Ovlivnění exprese závisí hlavně na schopnosti inhibice Rho (6,11). Hladina ICAM-1, VCAM-1 také závisí na zprostředkované schopnosti statinu snižovat hladinu cytokinů. Dále zvýšená exprese eNOS, KLF a inhibice NF-kappa B snižuje expresi adhezivních molekul. V této oblasti imunity můžeme popsat jediný přímý účinek statinů. Mechanismus spočívá ve vazbě

statinu na L-site (lovastatin vázící místo – poprvé popsán u lovastatinu) extracelulární domény LFA-I (7). LFA-I (Lymphocyte function-associated antigen 1) je exprimován na povrchu B i T lymfocytů, makrofágů a neutrofilů. Jeho funkce spočívá ve vazbě na ICAM-1 a také je důležitý ve vazbě T lymfocytu na antigen prezentující buňky. Blokadě těchto procesů je ovlivněna migrace leukocytů a aktivace T lymfocytů (6). Inhibice LFA-I je nezávislá na schopnosti statinu snižovat hladinu cholesterolu (7, 11).

Zdá se, že není jedno, jestli se jedná o prenylaci FPP nebo GGPP. A. Marcuzzi a spol. navodili model MKD (mevalonate kinase deficiency) v myších monocytech podáním lovastatinu a alandronátu (16). Po podání LPS došlo ke stimulaci sekrece IL-1 β . Po inkubaci s inhibitorem farnesyltransferázy byl pozorován signifikantní pokles hladiny IL-1 β , dále signifikantní pokles v sekreci IL-18 a TNF α (16).

V průběhu několika let bylo publikováno mnoho klinických studií, kde po podání statinu je pozorován pokles v hladině cytokinů. Možný mechanismus může být zprostředkovaný schopností statinu ovlivňovat genotyp Th buněk. To se děje několika procesy, například prostřednictvím fosforylace (aktivace) STAT6 a snížením aktivity STAT4. Důsledkem je zvýšená diferenciace protizánětlivých Th2 a snížení diferenciace prozánětlivých Th1 (11). Statiny ovlivňují značnou část JAK/STAT signalizačních drah. H. Xu a spol. pozoroval zvýšený stupeň fosforylace

Obrázek 2. Prenylace proteinu za pomoci FPP (farnesylpyrofosfát) a GGPP (geranylgeranylpyrofosfát). Uchycení proteinu na vnitřní stranu buněčné membrány.



JAK2, STAT1 a STAT3 po podání rosuvastatinu (17). Jiný „nepřímý“ způsob ovlivnění JAK/STAT je prostřednictvím suprese proinflammatorních cytokinů (10) a zabránění vazby na buněčný cytokinový receptor, který následně interaguje s JAK. Dále je popisována zvýšená exprese GATA3, transkripčního faktoru důležitého pro diferenciaci Th2 lymfocytů. Ten má také inhibiční vliv na aktivitu NF-kappa B a T-bet, faktorů podílejících se na diferenciaci Th1 lymfocytů. V pracích, které zkoumaly vliv statinů na diferenciaci Th buněk, byla po podání mevalonátu pozorována tendence k diferenciaci Th1 a snížená diferenciaci Th2 lymfocytů (11).

Výše zmíněný NF-kappa B a jeho inhibice je dalším významným faktorem. Jedná se o proteinový komplex kontrolující transkripci DNA, která je významná v regulaci imunitní odpovědi. Statin působí na snížení fosforylace a degradaci inhibitoru NF-kappa B, čímž se redukuje aktivita samotného faktoru (6, 11, 18). Daný mechanismus inhibice není jenom cestou IKK, ale taky ovlivněním podjednotek NF-kappa B (7). Naopak, po podání FPP a GGPP byla pozorována restituce aktivity faktoru (6).

Dalším často citovaným způsobem ovlivnění imunologické odpovědi organismu je působení na MHC systém. Jak lipofilní, tak hydrofilní statiny snižují expresi MHC II indukovanou INF- γ (7) a tím se zabraňuje prezentaci antigenu T lymfocytům (11). Nejpotentnějším statinem **v působení** je atorvastatin, **v porovnání s pravastatinem, lovastatinem**. Mechanismus působení je skrz CIITA, gen kódující MHC II.

Statiny mají vesměs stejný charakter působení na složky imunity, avšak i mezi jednotlivými statiny existují rozdíly. To může být zapříčiněno silou, jakou působí statin, jak bylo vzpomenuto výše u ovlivnění exprese MHC II.

Závislost účinku statinu na dávce není překvapivá. Limitem většiny studií je používání koncentrace statinu, která je o mnoho vyšší než plazmatická hladina u lidí léčených statinem – musíme brát v úvahu krátkodobé působení vyšší dávky na vyvolání pozorovaného efektu oproti dlouholeté terapii lidí, kde účinek statinu je postupný.

Statiny jsou efektivním lékem na snížení hladiny cholesterolu. V posledních letech se obje-

Tabulka 1. Antiinflatorní a imunomodulační účinky statinů

STATIN							
nepřímě							přímě
inhibice				stimulace			inhibice
NF-kappa B, T-bet	STAT4	exprese MHC II	sekrece cytokinů	STAT 1, 3, 6	GATA 3	KLF	LFA-I

vuje množství dat a prací ohledně jejich pleiotropních účinků. V tomto stručném přehledu je načrtnut možný mechanismus protizánětlivého a imunomodulačního působení (Tabulka 1). Ten spočívá v nepřímém a přímém ovlivnění jednotlivých imunitních odpovědí. Zatímco přímé působení statinu je známo jen prostřednictvím LFA-I, nepřímý účinek má široký a složitý podklad zprostředkovaný prostřednictvím prenylace, hlavně malých GTP proteinů. Není proto překvapením, že kromě množství prací popisujících protizánětlivý efekt se někdy objevují i práce, které tento mechanismus zpochybňují. Nic to ale nemění na skutečnosti, že statiny hrají klíčovou roli v sekundární i primární prevenci kardiovaskulárních onemocnění.

Literatura

1. World Health Organization <http://www.who.int/media-centre/factsheets/fs317/en/> (WHO).
2. McLaren JE, Michael DR, Ashlin TG, Ramji DP. Cytokines, macrophage lipid metabolism and foam cells: implications for cardiovascular disease therapy. *Prog Lipid Res* 2011; 50(4): 331–347.
3. Li AC, Glass CK. The macrophage foam cell as a target for therapeutic intervention. *Nat Med* 2002; 8: 1235–1242.
4. Mizuno Y, Jacob RF, Mason RP. Inflammation and the development of atherosclerosis. *J Atheroscler Thromb* 2011; 18(5): 351–358.
5. Zhang L, Liu HJ, Li TJ, Yang Y, Guo XL, Wu MC, et al. Lentiviral vector-mediated siRNA knock down of SR-PSOX inhibits foam cell formation in vitro. *Acta Pharmacol Sin* 2008; 29: 847–852.
6. Blanco-Colio LM, Tuñón J, Martín-Ventura JL, Egido J. Anti-inflammatory and immunomodulatory effects of statins. *Kidney Int* 2003; 63(1): 12–23.
7. Chow SC. Immunomodulation by statins: mechanisms and potential impact on autoimmune diseases. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz)* 2009; 57(4): 243–251.
8. Shovman O, Levy Y, Gilburd B, Shoenfeld Y. Antiinflammatory and immunomodulatory properties of statins. *Immunol Res* 2002; 25(3): 271–285.
9. Beckman JA, Liao JK, Hurley S, Garrett LA, Chui D, Mitra D, Creager MA. Atorvastatin restores endothelial function in normocholesterolemic smokers independent of

changes in low-density lipoprotein. *Circ Res* 2004; 95(2): 217–223.

10. Bu DX, Griffin G, Lichtman AH. Mechanisms for the anti-inflammatory effects of statins. *Curr Opin Lipidol* 2011; 22(3): 165–170.

11. Greenwood J, Steinman L, Zamvil SS. Statin therapy and autoimmune disease: from protein prenylation to immunomodulation. *Nat Rev Immunol* 2006; 6(5): 358–370.

12. Kureishi Y, Luo Z, Shiojima I, Bialik A, Fulton D, Lefer DJ, Sessa WC, Walsh K. The HMG-CoA reductase inhibitor simvastatin activates the protein kinase Akt and promotes angiogenesis in normocholesterolemic animals. *Nat Med* 2000; 6(9): 1004–1010.

13. Takai Y, Sasaki T, Matozaki T. Small GTP-binding proteins. *Physiol Rev* 2001; 81(1): 153–208.

14. Das H, Kumar A, Lin Z, Patino WD, Hwang PM, Feinberg MW et al. Kruppel-like factor 2 (KLF2) regulates proinflammatory activation of monocytes. *Proc Natl Acad Sci USA* 2006; 103: 6653–6658.

15. Tuomisto TT, Lumivuori H, Kansanen E, Häkkinen SK, Turunen MP, van Thienen JV, Horrevoets AJ, Levenon AL, Ylä-Herttuala S. Simvastatin has an anti-inflammatory effect on macrophages via upregulation of an atheroprotective transcription factor, Kruppel-like factor 2. *Cardiovasc Res* 2008; 78(1): 175–184.

16. Marcuzzi A, De Leo L, Decorti G, Crovella S, Tommasini A, Pontillo A. The farnesyltransferase inhibitors tipifarnib and lonafarnib inhibit cytokines secretion in a cellular model of mevalonate kinase deficiency. *Pediatr Res* 2011; 70(1): 78–82.

17. Xu H, Yang YJ, Qian HY, Tang YD, Wang H, Zhang Q. Rosuvastatin treatment activates JAK-STAT pathway and increases efficacy of allogeneic mesenchymal stem cell transplantation in infarcted hearts. *Circ J* 2011; 75(6): 1476–1485.

18. Hilgendorff A, Muth H, Parviz B, Staubitz A, Haberbosch W, Tillmanns H, Hölscherhmann H. Statins differ in their ability to block NF-kappaB activation in human blood monocytes. *Int J Clin Pharmacol Ther* 2003; 41(9): 397–401.

Článek přijat redakcí: 11. 4. 2012

Článek přijat k publikaci: 5. 7. 2012

MUDr. Peter Riško

II. interní klinika FNKV a 3. LF UK
Šrobárova 50, 100 34 Praha 10
Peter.Risko@fnkv.cz

