

# Wpływ leczenia simwastatyną na stężenie surowiczych metaloproteinaz

Effect of Simvastatin therapy on serum concentration of matrix metalloproteinases

Iwona Patyk,<sup>1</sup> Cezary Rybacki,<sup>1</sup> Agnieszka Rzeszotarska<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Oddział Kliniczny Pulmonologii i Alergologii 10. Wojskowego Szpitala Klinicznego w Bydgoszczy; kierownik: dr n. med. Cezary Rybacki

<sup>2</sup> Zakład Transfuzjologii Klinicznej CSK MON WIM w Warszawie; kierownik: dr hab. n. med. Jolanta Korsak

**Streszczenie.** Statyny wywierają ochronny wpływ na płuca, co może wynikać z hamowania indukcji prozapalnych metaloproteinaz (*matrix metalloproteinase* – MMP), istotnych w patogenezie przewlekłej obturacyjnej choroby płuc (POChP). Cel. Ocena wpływu trzymiesięcznego leczenia simwastatyną na stężenia wybranych surowiczych MMPs, funkcję płuc oraz parametry kliniczne u chorych na stabilną POChP. Materiał i metoda. Badanie prospektywne jednośrodkowe u 39 mężczyzn i 11 kobiet (47–80 lat) przydzielonych losowo do grupy badanej – leczonej simwastatyną (Zocor 40 mg) i kontrolnej – nieotrzymującej leku. Wyniki. Badanie ukończyło 26 chorych w grupie statyny i 24 z grupy kontrolnej. Nie stwierdzono istotnych różnic w zakresie wyników mMRC ( $p = 0,6458$ ), parametrów spirometrycznych mierzonych FEV<sub>1</sub>%N, FVC% N, FEV%FVC oraz zmian stężeń MMP-1 ( $p=0,6468$ ), MMP-9 ( $p=0,0651$ ) i MMP-12 ( $p=0,3309$ ) pomiędzy grupami. Zastosowane leczenie wpłynęło korzystnie ( $p=0,0053$ ) na przebieg kliniczny POChP mierzony testem CAT. Istotne zmniejszenie stężenia MMP-1 w grupie statyny w porównaniu z grupą nieleczonych chorych wykazano tylko w podgrupie pacjentów z FEV<sub>1</sub> <50%N ( $p=0,0454$ ). Wnioski. Leczenie simwastatyną u chorych ze stabilną POChP nie wpływa znacząco na surowicze stężenia swoistych MMP-1, MMP-9 i MMP-12 istotnych w patogenezie choroby.

**Słowa kluczowe:** przewlekła obturacyjna choroba płuc, metaloproteiny, statyny

**Abstract.** Statins exert a protective effect on lungs, inhibiting the proinflammatory MMPs induction crucial in the COPD pathogenesis. Objective. The aim of this study was to assess the effect of three-month simvastatin treatment on selected MMPs concentration in blood serum, on lung function and clinical parameters in patients with stable COPD. Material and method. A prospective single-center study was conducted in 39 males and 11 females (aged from 47 to 80) randomly allocated to two groups: the study group – receiving simvastatin (Zocor 40 mg) and the control group – not receiving the drug. Results. Finally, 26 patients in the statin group and 24 in the control group completed the study. No significant differences were found between the study group and control group in respect of mMRC results ( $p=0.6458$ ), spirometry parameters measured with FEV<sub>1</sub>%N, FVC% N and FEV%FVC and in concentration changes of MMP-1 ( $p=0.6468$ ), MMP-9 ( $p=0.0651$ ) and MMP-12 ( $p=0.3309$ ). The treatment had a positive effect ( $p=0.0053$ ) on the CAT results of COPD clinical course. Significant decrease in MMP-1 concentration ( $p=0.0454$ ) in the statin group in comparison with the control group was shown only in the subgroup of patients with FEV<sub>1</sub><50%N. Conclusions. In stable COPD, Simvastatin treatment has no significant effect on decrease in serum concentration of specific MMP-1, MMP-9 and MMP-12 crucial in the disease pathogenesis.

**Key words:** chronic obstructive pulmonary disease, metalloproteinases, statins

Nadesłano: 25.01.2017. Przyjęto do druku: 22.05.2017

Nie zgłoszono sprzeczności interesów.

Lek. Wojsk., 2017; 95 (3): 251–258

Copyright by Wojskowy Instytut Medyczny

**Adres do korespondencji**

dr Iwona Patyk

ul. Powstańców Warszawy 5, 85-915 Bydgoszcz

tel. +48 261 417 046

e-mail: iwonapatyk@yahoo.fr

## Wstęp

Przewlekła obturacyjna choroba płuc (POChP) jest złożoną, postępującą chorobą, stanowiącą istotny problem zdrowotny, społeczny i ekonomiczny. Przewlekły proces

zapalny będący jej podłożem wywołuje nie tylko zmiany miejscowe w obrębie układu oddechowego, ale skutkuje również zmianami ogólnoustrojowymi i wpływa na przebieg chorób współistniejących.

Od wielu lat spirometria pozostaje podstawowym i najszerzej stosowanym badaniem oceny ciężkości oraz postępu choroby, mimo że słabo koreluje z objawami klinicznymi i innymi wykładnikami jakości życia (*quality of life* – QL) [1]. Wciąż poszukuje się nowych biomarkerów dobrze określających chorobę, umożliwiających jej stratyfikację oraz monitorowanie przebiegu i skuteczności leczenia. W ostatnich latach podkreśla się szczególnie rolę metaloproteinaz w patogenezie POChP. Ich nadmierne miejscowe działanie przyczynia się do promocji zmian destrukcyjnych, co uruchamia mechanizmy naprawcze doprowadzające do powstania zmian rozedmowych. Obserwowany znaczny wzrost ich stężeń wykazuje zwizek z pogorszeniem czynności płuc, natomiast w płucach zdrowych osób są praktycznie niebywalne [2]

U chorych na POChP w porównaniu z objawowymi i „zdrowymi” palaczami wykazano najwyższy stopień degradacji elastyny, korelujący z nadmiernym wydzielaniem MMP-9 przez makrofagi [3] oraz stopniem uszkodzenia funkcjonalnego płuc [4,5] który wzrastał dodatkowo w okresie zaostrzeń [6].

MMP-12 jest nie tylko bezpośrednią przyczyną destrukcji mięszu płuc, wykazuje również właściwości prozapalne poprzez wpływ na uwalnianie TNF-alfa z makrofagów [7] oraz syntezę i uwalnianie IL-8 z komórek nabłonka oskrzelowego. Powstające w wyniku proteolizy fragmenty macierzy zewnątrzkomórkowej (*extracellular matrix* – ECM) mają zdolność chemotaksji komórek zapalnych [8]. U transgenicznych myszy z wyłączonym genem kodującym MMP-12 nie dochodziło do powstania zmian rozedmowych mimo narażenia na dym tytoniowy [9], co zapoczątkowało badania nad możliwością wykorzystania inhibicji MMPs w terapii i prewencji POChP.

Wzmocniona ekspresja ludzkiego genu MMP-1 w płucach transgenicznych myszy wiązała się z rozwojem rozedmy w krótkim czasie po urodzeniu [10]. W ludzkich komórkach nabłonka oskrzelowego stwierdzano jej nadekspresję u palaczy i chorych na POChP [11].

Wyniki badań eksperymentalnych i klinicznych wykazują udowodniony związek MMP-1, MMP-9 oraz MMP-12 z obecnością rozedmy i patogenezą POChP.

Statyny wywierają ochronny wpływ na płuca, hamując powstawanie rozedmy wywołanej eksperymentalnie, co może wynikać z blokowania indukcji prozapalnych MMPs [12] czy bezpośredniego wpływu na fibroblasty [13]. Poprzez hamowanie wydzielania IL-8 oraz czynnika stymulującego tworzenie kolonii granulocytów i makrofagów (*granulocyte-macrophage colony-stimulating factor* – GM-CSF) z komórek nabłonka oskrzelowego statyny ograniczają zapalenie neutrofilowe [14] wywierając protekcyjny wpływ na rozwój zmian rozedmowych spowodowanych działaniem elastazy i innych proteaz [12].

## Cel

Głównym celem pracy była ocena wpływu trzymiesięcznego leczenia simwastatyną na stężenia wybranych MMPs oznaczane w surowicy krwi. Dodatkowo podjęto się próby oceny ich użyteczności w ocenie stopnia ciężkości choroby oraz efektywności zastosowanego leczenia.

## Materiał i metoda

Badanie prowadzono od czerwca 2010 do kwietnia 2014 roku u pacjentów z rozpoznaną POChP, objętych opieką Oddziału Klinicznego Pulmonologii i Alergologii 10. Wojskowego Szpitala Klinicznego z Polikliniką lub Poradni Pulmonologicznej, w stabilnym okresie choroby. Protokół badania został zatwierdzony przez Komisję Bioetyczną Wojskowego Instytutu Medycznego w Warszawie. Każdy pacjent podpisał formularz świadomej zgody po uzyskaniu szczegółowej informacji dotyczącej celu i zakresu badania przed rozpoczęciem procedur badawczych. Do badania włączono 68 chorych na POChP, aktualnych lub byłych palaczy z historią palenia co najmniej 10 paczkalet, bez wywiadu zaostrzenia w ciągu ostatnich 6 tygodni przed podpisaniem zgody. Ostatecznie zakwalifikowano 50 pacjentów, których przydzielono losowo do 2 grup. Pierwsza (n=26), zwana badaną, otrzymywała simwastatynę (Zocor, MSD) w dawce 40 mg/d przez 3 miesiące, druga (n=24), zwana kontrolną, nie otrzymywała leku. W analizowanej grupie było 11 (22,0%) kobiet i 39 (78,0) mężczyzn w wieku 47–80 lat. Średni wiek kobiet wynosił  $61,9 \pm 4,9$  roku i nie różnił się istotnie od wieku mężczyzn, wynoszącego  $62,0 \pm 8,8$  roku ( $p=0,9814$ ).

Rozpoznanie POChP ustalano na podstawie wyników badań spirometrycznych, kryteriów GOLD oraz wywiadu. Ze względu na niewielką liczebność grupy chorych z łagodną ( $FEV_1 \geq 80\%$ ) i bardzo ciężką obturacją ( $FEV_1 < 30\%$ ) w dalszej analizie dokonano podziału chorych na dwie podgrupy ciężkości choroby, której kryterium podziału stanowiła odsetkowa wielkość  $FEV_1$  50%N. Chorzy z ciężką i bardzo ciężką obturacją ( $FEV_1 < 50\%$ ) stanowili podgrupę pierwszą, zaś z łagodną i umiarkowaną ( $FEV_1 \geq 50\%$ ) podgrupę drugą.

Kryteriami wyłączenia z badania były:

- obecność dużych pęcherzy rozedmowych lub rozstrzeni oskrzeli w badaniach radiologicznych,
- istotne wady budowy klatki piersiowej,
- przewlekła niewydolność krążenia NYHA III i wyżej bądź cechy jej zaostrzenia,
- ostre zespoły wieńcowe,
- zawał serca lub niestabilna choroba wieńcowa w ciągu 6 miesięcy przed podpisaniem zgody,

**Tabela 1. Wstępna charakterystyka chorych**  
**Table 1. Baseline characteristics of patients**

	grupa badana N=26		grupa kontrolna N=24		p
	średnia ±SD	*mediana (Q1-Q3)	średnia ±SD	*mediana (Q1-Q3)	
wiek (lata)	61,3 ±8,3		61,3 ±8,3		0,5584
mężczyźni (%)	69,2		87,5		0,1110
aktualni palacze (%)	26,9		29,2		0,8756
mMRC punkty	1,62 ±0,70		1,83 ±0,76		0,2519
CAT punkty	16,35 ±6,18		16,50 ±6,23		0,9306
FEV <sub>1</sub> (%)	58,9 ±18,8		57,0 ±18,7		0,7233
FVC (%)	95,3 ±16,5		96,2 ±17,1		0,8594
FEV/FVC (%)	50,0 ±13,6		47,0 ±14,4		0,4585
CHL (mmol/l)	5,56 ±1,36		5,68 ±1,20		0,7518
LDL (mmol/l)	3,75 ±1,22		3,80 ±1,08		0,8894
HDL (mmol/l)	1,32 ±0,35		1,51 ±0,46		0,1058
TG (mmol/l)	1,89 ±0,88		1,52 ±0,46		0,0762

CAT (COPD Assessment Test) – kwestionariusz oceny samopoczucia pacjenta z POCHP, FEV<sub>1</sub> (*forced expiratory volume in one second*) – natężona objętość wydechową 1-sekundowa, FVC (*forced vital capacity*) – natężona pojemność życiowa, HDL (*high-density lipoprotein*) – lipoproteiny o dużej gęstości, LDL (*low-density lipoprotein*) – lipoproteiny o małej gęstości, mMRC (modified questionnaire of the Medical Research Council) – zmodyfikowany kwestionariusz Medical Research Council, SD (*standard deviation*) – odchylenie standardowe, TG (*triglycerides*) – triglicerydy

**Tabela 2. Stężenia metaloproteinaz w analizowanych grupach**  
**Table 2. Concentrations of matrix metalloproteinases in analyzed groups**

metalo-proteinazy (pg/ml)	grupa badana		grupa kontrolna		p
	mediana	Q1-Q3	mediana	Q1-Q3	
MMP-1	98,1	29,8–228,3	69,9	27,8–133,8	0,4736
MMP-9	637,5	289,1–1495,0	453,2	98,8–913,7	0,2262

- przebyta przezskórna interwencja wieńcowa lub postawienie aortalno-wieńcowe w ciągu roku przed badaniem,
- niewydolność innych narządów,
- choroba nowotworowa,
- zaburzenia krzepnięcia,
- wczesny okres pooperacyjny lub przebyty niedawno (w ciągu ostatnich 3 miesięcy) poważny uraz,
- BMI <20.

Wszyscy chorzy zostali poddani badaniu podmiotowemu z uwzględnieniem badań ankietowych: zmodyfikowanego kwestionariusza Medical Research Council (mMRC) [15], kwestionariusza oceny samopoczucia pacjenta z POChP (COPD Assessment Test – CAT) oraz badaniu przedmiotowemu. Następnie u każdego chorego wykonywano spirometrię, EKG, i badanie

echokardiograficzne oraz pobrano próbki krwi żyłnej w celu oznaczeń laboratoryjnych. Krew pobierano rano na czczo za pomocą zestawów próbek próżniowych Greiner Bio-one. W surowicy oznaczano profil lipidowy i podstawowe badania laboratoryjne, resztę surowicy krwi zamrażano w temperaturze -80°C i przechowywano w celu wykonania oznaczeń MMPs. Do oznaczenia stężenia MMP-1, MMP-9 i MMP-12 wykorzystano zestawy Procarta Immunoassays firmy Affymetrix oparte na technologii xMAP, wykorzystującej wybarwione fluorescencyjnie mikrosfery oraz aparat Luminex 100.

Badania spirometryczne wykonywano aparatem MasterScope (JLAB wersja 5.21) firmy Jaeger przed oraz 20 minut po inhalacji 40 µg salbutamolu. Po 3 miesiącach wszyscy chorzy zostali poddani tym samym procedurom badawczym.

**Tabela 3. Zmiana mMRC i CAT składowych badania spirometrycznego w analizowanych grupach**  
**Table 3. Changing mMRC, CAT and spirometry components in analyzed groups**

zmiana parametru	grupa badana N=26	grupa kontrolna N=24	p
	średnia ±SD	średnia ±SD	
Δ mMRC (pkt)	-0,08 ±0,39	0,13 ±0,34	0,6458
Δ CAT (pkt)	-1,80 ±2,29	0,25 ±2,61	0,0053
Δ FEV <sub>1</sub> (l)	0,05 ±0,18	0,06 ±0,16	0,8631
Δ FEV <sub>1</sub> (%)	1,9 ±5,7	1,8 ±5,1	0,9557
Δ FVC(MAX) (l)	0,11 ±0,40	0,08 ±0,33	0,7611
Δ FVC (%)	-2,5 ±9,1	2,9 ±8,0	0,8792
Δ FEV/FVC (%)	2,5 ±14,6	0,2 ±5,5	0,3930

CAT (COPD Assessment Test) – kwestionariusz oceny samopoczucia pacjenta z POChP, FEV<sub>1</sub> (*forced expiratory volume in one second*) – natężona objętość wydechową 1-sekundowa, FVC (*forced vital capacity*) – natężona pojemność życiowa, mMRC (modified questionnaire of the Medical Research Council) – zmodyfikowany kwestionariusz Medical Research Council, SD (*standard deviation*) – odchylenie standardowe

### Analiza statystyczna

Otrzymane wyniki badań poddano analizie statystycznej. Do sprawdzenia zgodności rozkładu zmiennych z rozkładem normalnym zastosowano test Lillieforsa. W przypadku prób o rozkładzie zbliżonym do normalnego obliczono średnią arytmetyczną i odchylenie standardowe (*standard deviation* – SD), a do porównania średnich wykorzystano test t-studenta dla zmiennych niezależnych i zmiennych zależnych. Jednorodność wariancji oceniano testem Levene’a. Gdy rozkład różnił się istotnie od rozkładu normalnego, obliczono medianę oraz kwartył pierwszy i trzeci, a istotność różnic między grupami sprawdzano, stosując test nieparametryczny

U Manna-Whitneya oraz test Wilcozona. Proporcje w grupach oceniano za pomocą testu chi-kwadrat ( $\chi^2$ ). Zależność między zmiennymi oceniano za pomocą współczynnika korelacji R Spearmana. Za granicę znaczeniowości statystycznej przyjęto poziom  $p=0,05$ . Obliczeń dokonano za pomocą programu komputerowego Statistica 7.1.

### Wyniki

Wstępną charakterystykę chorych przedstawiono w tabeli 1.

Grupa badana składała się z 18 (69,2%) mężczyzn i 8 (30,8%) kobiet, grupa kontrolna zaś z 21 (87,5%) mężczyzn i 3 (12,5%) kobiet. Średnia liczba paczkołat wynosiła  $39,3 \pm 15,9$  w grupie badanej i  $41,8 \pm 16,4$  w grupie kontrolnej.

Wydzielone grupy chorych nie różniły się istotnie pod względem danych demograficznych, konsumpcji tytoniu, leczenia POChP i chorób współistniejących, wyjściowych parametrów spirometrycznych oraz składowych lipidogramu. Wyniki przedstawiono w tabeli 2.

### Wyniki po okresie leczenia

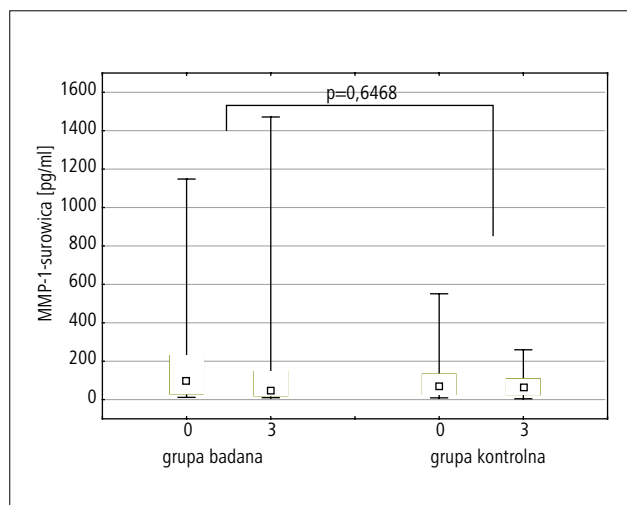
#### Przebieg kliniczny

Zastosowane leczenie wpłynęło istotnie ( $p=0,0053$ ) na przebieg kliniczny POChP mierzony testem CAT. W grupie badanej obserwowano znamienne ( $p=0,0006$ ) zmniejszenie wartości punktowej o  $1,80 \pm 2,29$ , w grupie kontrolnej obserwowano zaś nieistotne ( $p=0,6431$ ) zwiększenie wartości o  $0,25 \pm 2,61$  punktu. Nie stwierdzono znamionnego wpływu leczenia statyną na punktację m MRC. Wyniki przedstawiono w tabeli 3.

Po 3-miesięcznym okresie leczenia w grupie badanej stwierdzono istotne zmniejszenie stężenia cholesterolu całkowitego ( $p < 0,0001$ ), LDL ( $p < 0,0001$ ) i triglicerydów ( $p=0,0030$ ).

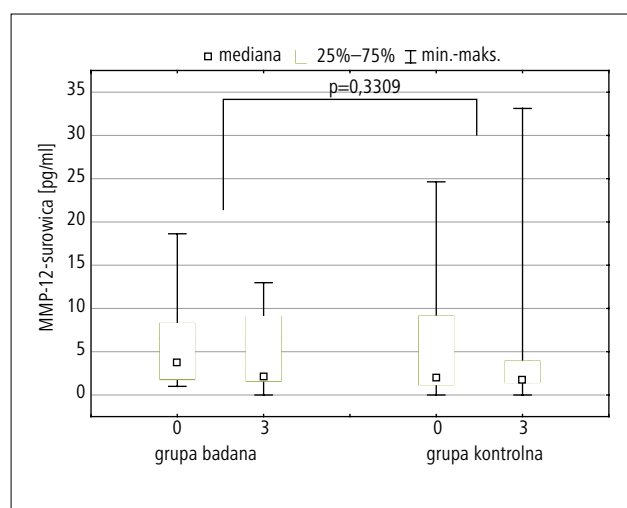
**Tabela 4. Stężenie metaloproteinaz w analizowanych grupach**  
**Table 4. Concentration of matrix metalloproteinases in analyzed groups**

metaloproteinazy (pg/ml)	grupa badana		p	grupa kontrolna		p
	na początku badania	po 3 mies. leczenia		na początku badania	po 3 mies. leczenia	
	mediana Q1–Q3	mediana Q1–Q3		mediana Q1–Q3	mediana Q1–Q3	
MMP-1	98,1 29,8–228,3	46,5 19,7–145,6	0,1618	69,9 27,8–133,8	64,1 26,7–109,1	0,0291
MMP-9	637,5 289,1–1495	480,9 198,0–987,7	0,0163	453,2 98,8–913,7	458,2 99,0–897,2	0,4140
MMP-12	3,76 1,80–8,26	2,17 1,60–9,04	0,1060	2,00 1,20–9,11	1,80 1,45–3,91	0,8137



**Rycina 1.** Zmiana stężenia MMP-1 po leczeniu w grupie badanej i kontrolnej

**Figure 1.** Changing concentration of MMP-1 after treatment in study and control subgroups



**Rycina 2.** Zmiana stężenia MMP-9 po leczeniu w grupie badanej i kontrolnej

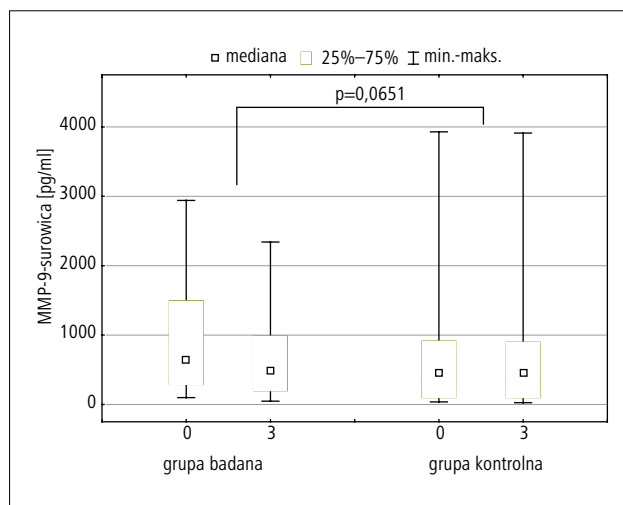
**Figure 2.** Changing concentration of MMP-9 in study and control subgroups after treatment

### Metaloproteiny

Zastosowane leczenie w różny sposób wpłynęło na stężenia analizowanych metaloproteinaz. Wyniki przedstawiono w tabeli 4. oraz na rycinach 1.–3.

Uzyskano nieistotne ( $p=0,6468$ ) zmniejszenie stężenia surowiczej MMP-1 o 19,15 pg/ml w grupie badanej i o 10,89 p/ml w grupie kontrolnej.

W zakresie stężenia MMP-9 po trzymiesięcznej terapii stwierdzono istotne ( $p=0,0163$ ) zmniejszenie stężenia w grupie badanej o 175,6 pg/ml. Nie obserwowano



**Rycina 3.** Zmiana stężenia MMP-12 po leczeniu w grupie badanej i kontrolnej

**Figure 3.** Changing concentration of MMP-12 in study and control groups after treatment

istotnej różnicy zmian ( $p=0,0651$ ) pomiędzy analizowanymi grupami.

Wykazano nieistotne zmniejszenie o 0,620 pg/ml stężenia MMP-12 w grupie badanej, bez zmian w grupie kontrolnej. Nie wykazano istotnych różnic zmian pomiędzy grupami ( $p=0,3309$ ).

### Wyniki leczenia w zależności od stopnia ciężkości obturacji

#### Przebieg kliniczny mierzony skalą mMRC i CAT

Trzymiesięczny okres leczenia przyczynił się do istotnej poprawy wartości punktowej CAT w podgrupie drugiej oraz nieistotnej w podgrupie pierwszej.

Stopień odczuwanej duszności mierzonej wg skali mMRC uległ nieistotnemu zmniejszeniu w obu podgrupach. Wyniki zestawiono w tabeli 5.

#### Profil lipidowy

W obu podgrupach odnotowano znamienne zmniejszenie stężenia cholesterolu całkowitego oraz frakcji LDL cholesterolu, bez istotnej statystycznie różnicy pomiędzy podgrupami. Wyniki przedstawiono w tabeli 6.

#### Metaloproteiny

Obserwowano istotną różnicę ( $p=0,0454$ ) zmian stężeń MMP-1 pomiędzy wydzielonymi podgrupami: stężenie MMP-1 uległo istotnemu zmniejszeniu o 20,8 pg/ml u chorych z podgrupy drugiej i nieistotnemu zwiększeniu o 5,3 pg/ml w podgrupie pierwszej. Stężenia pozostałych MMPs nie uległy istotnym zmianom. Wyniki przedstawiono w tabeli 7.

**Tabela 5. Zmiana mMRC i CAT po okresie leczenia w podgrupach chorych**  
**Table 5. Changing mMRC and CAT after treatment in both subgroups**

testy (punkt)	podgrupa pierwsza (FEV <50%)			podgrupa druga (FEV ≥50%)		
	grupa badana N=9	grupa kontrolna N=10	p	grupa badana N=17	grupa kontrolna N=14	p
	średnia ±SD	średnia ±SD		średnia ±SD	średnia ±SD	
Δ MRC	0,00±0,50	-0,30±0,48	0,2012	-0,12±0,33	0,00±0,00	0,1967
Δ CAT	-0,89±2,47	0,50±2,42	0,2326	-2,31±2,09	0,07±2,81	0,0129

CAT (COPD Assessment Test) – kwestionariusz oceny samopoczucia pacjenta z POChP, MRC (questionnaire of the Medical Research Council) – kwestionariusz Medical Research Council, SD (*standard deviation*) – odchylenie standardowe

**Tabela 6. Zmiana stężenia składowych profilu lipidowego w analizowanych podgrupach chorych**  
**Table 6. Changing concentration of lipid profile components in both subgroups**

składowe profilu lipidowego (mmol/l)	podgrupa pierwsza (FEV <50%)			podgrupa druga (FEV ≥50%)		
	grupa badana N=9	grupa kontrolna N=10	p	grupa badana N=17	grupa kontrolna N=14	p
	średnia ±SD	średnia ±SD		średnia ±SD	średnia ±SD	
Δ CHL	-1,32 ±0,79	0,01 ±0,25	0,0001	-1,51 ±0,81	-0,12 ±0,26	<0,0001
Δ LDL	-1,34 ±0,67	0,07 ±0,34	<0,0001	-1,48 ±0,69	0,01 ±0,24	<0,0001
Δ HDL	-0,01 ±0,22	-0,02 ±0,12	0,9077	0,10 ±0,34	-0,19 ±0,18	0,0072
Δ TG	-0,14±0,33	0,07±0,63	0,3860	-0,44±0,58	0,24±0,62	0,0039

**Tabela 7. Zmiany stężeń biomarkerów zapalnych w podgrupie badanej i kontrolnej**  
**Table 7. Changes in concentration of inflammatory biomarkers in study and control subgroups**

metaloproteiny (stężenie)	podgrupa pierwsza (FEV <50%)			podgrupa druga (FEV ≥50%)		
	grupa badana N=9	grupa kontrolna N=10	p	grupa badana N=17	grupa kontrolna N=14	p
	mediana Q1÷Q3	mediana Q1÷Q3		mediana Q1÷Q3	mediana Q1÷Q3	
Δ MMP-1 (pg/ml)	5,3 -27,5÷131,6	-5,4 -26,6÷2,5	0,3284	-20,8 -181,9÷-7,6	-15,1 -33,8÷-6,2	0,04835
Δ MMP-9 (pg/ml)	-131,7 -733,9÷478,3	-8,4 -421,9÷34,6	0,7898	-175,6 477,4÷-20,4	-18,0 135,5÷35,1	0,0516
Δ MMP-12 (pg/ml)	-1,28 -3,25÷0,21	0,00 -2,50÷0,20	0,8590	-0,62 -2,74÷0,56	0,10 -0,15÷1,11	0,1798

## Dyskusja

W ostatnich latach podkreśla się znaczenie przewlekłego zapalenia systemowego w POChP, co znalazło odzwierciedlenie we współczesnej definicji choroby [16]. Utrzymujący się proces zapalny dróg oddechowych oraz zaburzenia równowagi proteazowo-antyproteazowej prowadzą do zwiększonego stężenia krążących markerów zapalenia i cytokin, takich jak Il-6, CRP, fibrynogen

i TNF-alfa [17], które odgrywają istotną rolę w powstawaniu objawów pozapłucnych oraz występowaniu chorób współistniejących, takich jak choroby sercowo-naczyniowe, zespół metaboliczny, osteoporoza czy wyniszczenie [18]. Wiąże się to także ze zwiększonym ryzykiem zgonu związanego z incydentami sercowo-naczyniowymi czy rakiem płuca [19]. W badaniu własnym podjęto się oznaczenia stężeń wybranych metaloproteinaz MMP-1, MMP-9 i MMP-12 jako potencjalnych nowych markerów

swoiście związanych z patogenezą choroby. Po 3 miesiącach leczenia simwastatyną nie obserwowano istotnych statystycznie zmian stężenia MMP-1 oraz MMP-12 w surowicy krwi w porównaniu z grupą nieleczonych chorych. W grupie badanej istotnie statystycznie zmniejszył się poziom MMP-9 (0,0163), natomiast różnica zmian w grupie badanej i kontrolnej była na poziomie tendencji statystycznej ( $p=0,0772$ ).

Większość dotychczasowych badań określających wpływ statyn na aktywność poszczególnych MMPs dotyczyła głównie ich oceny w materiale pochodzącym z miejsca toczącego się procesu patologicznego; z makrofagów [20], komórek nabłonka naczyniowego [21] czy mięśni gładkich naczyń [22], wskazując na korzystny efekt mierzony redukcją ich lokalnej ekspresji. Stosunkowo niewiele tych badań dotyczy wpływu inhibitorów reduktazy 3-hydroksy-3-metylo-glutarylo-CoA (HMG-CoA) na aktywność metaloproteinaz w POChP. Lee i wsp. wykazali, że simwastatyna stosowana systemowo łagodzi funkcjonalne i strukturalne uszkodzenie tkanki płucnej szczura wywołane 16-tygodniową ekspozycją na dym tytoniowy. Badacze koreańscy jako pierwsi zasugerowali, że istotny mechanizm protekcyjnego działania simwastatyny w rozedmie może wynikać z hamowania indukcji prozapalnej MMP-9 w płucach [12]. Hipotezę tę potwierdzili w kolejnych badaniach na izolowanych makrofagach szczura, w których uzyskali efekt hamowania indukcji MMP-9 wywołanej ekstraktem dymu tytoniowego (*cigarette smoke extract* – CSE). Kamio i wsp. wykazali, że statyny wykazują zdolność hamowania wydzielania MMPs z ludzkich fibroblastów płodowych (*human fetal lung fibroblast strain* – HFL-1). Autorzy sugerują, że w ten sposób leki te wpływają bezpośrednio na poprawę w zakresie remodelingu i zmniejszenia rozedmy [13]. W badaniu na modelu mysim Takahashi i wsp. wykazali, że simwastatyna odwracała zmiany rozedmowe wywołane elastazą poprzez hamowanie ekspresji m-RNA dla interferonu, TNF-alfa i MMP-12 [23].

Analizując związek MMPs z parametrami spirometrycznymi określającymi ciężkość choroby wykazano zaskakująco istotne zmniejszenie stężenia MMP-1 w grupie statyny tylko w podgrupie pacjentów z łagodną i umiarkowaną POChP. W dostępnym piśmiennictwie brak jest publikacji oceniających związek stężenia MMP-1 z funkcją płuc, trudno jest więc odnieść rezultaty własnych badań do innych. Jedynie w badaniach genetycznych Joos i wsp. wykazali, że ekspresja specyficznego allelu MMP-1 była związana z szybkim pogorszeniem funkcji płuc u palaczy i rozwojem rozedmy [24]. Można więc założyć, że zależność pomiędzy stężeniem MMP-1 a stopniem ciężkości obturacji dotyczy jedynie fenotypów POChP uwarunkowanych występowaniem polimorfizmów MMP-1, których w niniejszym badaniu nie oceniano.

Prezentowana praca jest wedle dostępnego piśmiennictwa jedną z nielicznych oceniających przydatność

najważniejszych grup metaloproteinaz jako biomarkerów zapalenia systemowego u chorych na POChP. W badaniach klinicznych wykazywano, że duże stężenie surowiczych MMPs, zwłaszcza MMP-9, może odzwierciedlać nasilenie procesu remodelingu. Brajer i Batura [25], analizując stężenia MMP-9 chorych na umiarkowaną i ciężką postać POChP w porównaniu ze zdrowymi palaczami, wykazali, że u chorych na POChP stężenie MMP-9 było istotnie większe niż w grupie kontrolnej, a jego wartości wykazywały zmiany w zależności od ciężkości obturacji i ujemnie korelowały z wartościami FEV<sub>1</sub> oraz wskaźnikiem FEV<sub>1</sub>/FVC%. Podobnie w badaniu Omachi i wsp., w którym rocznej obserwacji poddano chorych ze stosunkowo jednolitym fenotypem POChP uwarunkowanym niedoborem alfa<sub>1</sub>-antytrypsyny, stwierdzono istotny dodatni związek pomiędzy stężeniem osocznego MMP-9, częstszymi zaostrzeniami POChP, przyspieszoną redukcją TLCO (*transfer factor for carbon monoxide*) oraz zmniejszoną gęstością mięszu płuc ocenianą w TK klatki piersiowej [26]. Dlatego też opierając się na przesłankach wynikających z cytowanych badań, oczekiwano zmniejszenia aktywności elastolitycznej osocza mierzonej stężeniem MMP-9, zwłaszcza w grupie ciężkiej POChP, co mogłoby przemawiać za korzystnym efektem leczniczym statyn w hamowaniu procesu remodelingu.

W aktualnym badaniu odnotowano istotne statystycznie zmniejszenie stężenia MMP-9 w wyniku leczenia statyną, jednak w porównaniu z grupą kontrolną zmiana ta nie była istotna. W badaniu Kaczmarka i Śladka [27] autorzy również nie zaobserwowali istotnej statystycznie różnicy stężeń MMP-9 w całej grupie leczonej ani związku MMP-9 z ciężkością choroby w analogicznie wydzielonych podgrupach ciężkości POChP. Podobnie John i Crockcroft [28] nie stwierdzali zmiany stężeń surowiczej MMP-9 po 6 tygodniach leczenia chorych ze stabilną POChP, jednak zarówno stosowana przez badaczy dawka leku, jak i okres interwencji były mniejsze i krótsze niż w badaniu własnym.

Rozbieżne wyniki z aktualnie dostępnych pojedynczych doniesień wymagają dalszych badań na obszerniejszym materiale klinicznym, z uwzględnieniem materiału reprezentującego środowisko lokalne (praca w przygotowaniu).

### Ograniczenia badania

Badanie miało kilka ograniczeń, z których zdecydowanie najistotniejszym była stosunkowo niewielka liczebność badanej populacji. Była ona jednak wystarczająca, by stwierdzić wyjściowy brak istotnych statystycznie różnic między grupą kontrolną a badaną pod względem parametrów demograficznych, stopnia zaawansowania choroby i badanych wskaźników stanu zapalnego. Innym istotnym ograniczeniem było wyodrębnienie stopni

ciężkości POChP opierających się tylko na parametrach spirometrycznych według wytycznych GOLD 2009, które obowiązywały w okresie planowania badania. Późniejsze modyfikacje z 2011 roku, uwzględniające również objawy kliniczne, zwłaszcza wywiad dotyczący zaostrzeń, pozwoliłyby zapewne uzyskać znamienne wyniki. Badanie było prowadzone metodą próby otwartej bez stosowania placebo, jednak w analizie skupiono się głównie na ocenie parametrów biochemicznych i spirometrycznych niezależnych od efektu placebo. Należy więc założyć, że wykazane zmiany ich wielkości zależały od zastosowanego leku. Pacjentów obserwowano przez 3 miesiące, przy czym badane parametry oznaczane były jedynie wyjściowo i na zakończenie badania. Wydłużenie obserwacji i ocena w dodatkowych punktach czasowych pozwoliłyby lepiej zbadać wpływ leczenia simwastatyną na biomarkery w surowicy i wykazać ewentualne zależności z parametrami klinicznymi oraz funkcji płuc.

## Wnioski

Trzymiesięczne leczenie statyną u chorych ze stabilną POChP nie wpływa istotnie na zmniejszenie surowiczego stężenia swoistych MMPs istotnych w patogenezie choroby. Odnotowano jedynie trend ( $p=0,0651$ ) obniżenia MMP-9 w wyniku leczenia. Istotne zmniejszenie stężenia MMP-1 w grupie statyny w porównaniu z grupą nieleczonych chorych wykazano tylko w podgrupie pacjentów z łagodną i umiarkowaną POChP. Można by na tej podstawie ostrożnie wnioskować o lepszym efekcie terapeutycznym simwastatyny mierzonym poziomem redukcji wydzielania MMP-1 u chorych z mniej zaawansowaną postacią choroby i mniejszym stopniem destrukcji płuc. Zasadniczym ograniczeniem w sformułowaniu ostatecznych wniosków jest mała liczebność badanych grup chorych oraz stosunkowo krótki czas prowadzonej obserwacji.

## Piśmiennictwo

- Duvoix A, Dickens J, Haq I, et al. Blood fibrinogen as a biomarker of chronic obstructive pulmonary disease. *Thorax*. 2013; 68 (7): 670–676
- Holz O, Waschki B, Roepcke S, et al. Potential prognostic value of biomarkers in lavage, sputum and serum in a five year clinical follow-up of smokers with and without COPD. *BMC Pulmonary Med*. 2014; 14: 30
- Russell REK, Thorley A, Culpitt SV, et al. Alveolar macrophage-mediated elastolysis: roles of matrix metalloproteinases, cysteine, and serine proteases. *Am J Physiol Lung Cell Mo Physiol*. 2002; 283 (4): L867–873
- Vernooy JH, Lindeman JH, Jacobs JA, et al. Increased activity of matrix metalloproteinase-8 and matrix metalloproteinase-9 in induced sputum from patients with COPD. *Chest* 2004; 126:1802–1810
- Culpitt SV, Rogers DF, Traves SL, et al. Sputum matrix metalloproteinases: Comparison between chronic obstructive pulmonary disease and asthma. *Respir Med*. 2005; 99: 703–710
- Finlay GA, Russell KJ, McMahon KJ, et al. Elevated levels of matrix metalloproteinases in bronchoalveolar lavage fluid of emphysematous patients. *Thorax* 1997; 52 (6): 502–506
- Churg A, Wang RD, Tai H, et al. Macrophage metalloelastase mediates acute cigarette smoke-induced inflammation via tumor necrosis factor- $\alpha$  release. *Am J Respir Crit Care Med*. 2003; 167 (8): 1083–1089
- Hunninghake G, Davidson J, Rennard S, et al. Elastin fragments attract macrophage precursors to diseased sites in pulmonary emphysema. *Science*. 1981; 212 (4497): 925–927
- Hautamaki RD, Kobayashi DK, Senior RM, et al. Requirement for macrophage elastase for cigarette smoke-induced emphysema in mice. *Science*. 1997; 277: 2002–2004
- D'armiento J, Dalal SS, Okada Y, et al. Collagenase expression in the lungs of transgenic mice causes pulmonary emphysema. *Cell*. 1992; 71 (6): 955–961
- Mercer BA, Kolesnikova N, Sonett J, et al. Extracellular regulated kinase/mitogen activated protein kinase is up-regulated in pulmonary emphysema and mediates matrix metalloproteinase-1 induction by cigarette smoke. *J Biol Chem*. 2004; 279 (17): 17 690–17 696.
- Lee JH, Lee DS, Kim EK, et al. Simvastatin inhibits cigarette smoking-induced emphysema and pulmonary hypertension in rat lungs. *Am J Respir Crit Care Med*. 2005; 172: 987–993
- Kamio K, Liu XD, Sugiura H, et al. Statins inhibit matrix metalloproteinase release from human lung fibroblasts. *Eur Respir J*. 2010; 35: 637–646
- Maher BM, Ni Dhonnchu T, Burke JP, et al. Statins alter neutrophil migration by modulating cellular Rho activity – a potential mechanism for statins-mediated pleiotropic effects? *J Leukoc Biol*. 2009; 85: 186–193
- Mahler D, Wells C. Evaluation of clinical methods for rating dyspnea. *Chest*. 1988; 93: 580–586
- Rabe KF, Hurd S, Anzueto A, et al. Global strategy for the diagnosis, management, and prevention of chronic obstructive pulmonary disease: GOLD Executive Summary. *Am J Respir Crit Care Med*. 2007; 176: 532–555
- Barnes J, Celli BR. Systemic manifestations and comorbidities of COPD. *Eur Respir J*. 2009; 33: 1165–1185
- Zarir F, Rucha S. Statins and the lung: hope or hype? *Indian J Chest Dis Allied Sci*. 2011; 53: 79–80
- Sinden NJ, Stockley RA. Systemic inflammation and comorbidity in COPD: a result of 'overspill' of inflammatory mediators from the lungs? Review of the evidence. *Thorax*. 2010; 65: 930–936
- Bellosta S, Via D, Canavesi M, et al. HMG-CoA reductase inhibitors reduce MMP-9 secretion by macrophages. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 1998; 18: 1671–1678
- Ikeda U, Shimpo M, Ohki R, et al. Fluvastatin inhibits matrix metalloproteinase-1 expression in human vascular endothelial cells. *Hypertension*. 2000; 36: 325–329
- Luan Z, Chase AJ, Newby AC. Statins inhibit secretion of metalloproteinases-1, -2, -3, and -9 from vascular smooth muscle cells and macrophages. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2003; 23: 769–775
- Takahashi S, Nakamura H, Furuuchi M. Simvastatin suppresses the development of elastase-induced emphysema in mice (abstract). *Proc Am Thor Soc*. 2005; 2: A135
- Joos L, He JQ, Shepherdson MB, et al. The role of matrix metalloproteinase polymorphisms in the rate of decline in lung function. *Hum Mol Genet*. 2002; 11: 569–576
- Brajer B, Batura-Gabryel H, Nowicka A, et al. Concentration of matrix metalloproteinase-9 in serum of patients with chronic obstructive pulmonary disease and a degree of airway obstruction and disease progression. *J Physiol Pharmacol*. 2008; 59: 145–152
- Omachi TA, Omachi TA, Eisner MD, et al. Matrix metalloproteinase-9 predicts pulmonary status declines in  $\alpha$ 1-antitrypsin deficiency. *Respir Res*. 2010; 12: 35–35
- Kaczmarek P, Sladek K, Skucha W, et al. The influence of simvastatin on selected inflammatory markers in patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Pol Arch Med Wewn*. 2010; 120 (1-2): 11–17
- John ME, Cockcroft JR, McKeever TM, et al. Cardiovascular and inflammatory effects of simvastatin therapy in patients with COPD: A randomized controlled trial. *Int J COPD*. 2015; 10: 211–221