

Uniwersytet Jagielloński
Collegium Medicum
Wydział Lekarski

Przemysław Kaczmarek

**Wpływ simwastatyny na parametry stanu zapalnego u chorych na przewlekłą
obturacyjną chorobę płuc**

Praca doktorska

Promotor: Prof. dr hab. Krzysztof Sładek

Pracę wykonano w II Katedrze Chorób Wewnętrznych CM UJ
Kierownik Katedry: Prof. dr hab. Andrzej Szczeklik

Kraków 2008

*Promotorowi,
Panu Profesorowi Krzysztofowi Śładkowi
składam serdeczne podziękowania za nieocenioną
pomoc w realizacji badania i pisaniu pracy.*

*Panu Profesorowi Andrzejowi Szczeklikowi dziękuję
za wsparcie naukowe w czasie prowadzenia badania.*

*Pani Profesor Anecie Undas pragnę podziękować za
życzliwość oraz cenne rady przy projektowaniu
badania.*

*Panu doktorowi Wojciechowi Skusze dziękuję za
pomoc w rekrutacji pacjentów do badania.*

*Koleżankom i kolegom z II Katedry Chorób
Wewnętrznych dziękuję za pomoc przy realizacji
pracy.*

Wykaz używanych skrótów

ACE-I	inhibitor enzymu konwertującego angiotensynę
ALAT	aminotransferaza alaninowa
ARB	antagonista receptora angiotensyny
ASA	kwas acetylosalicylowy
BAL	płukanie oskrzelowo-pęcherzykowe
BOLD	obciążenia społeczne i ekonomiczne wywołane przez przewlekłą obturacyjną chorobę płuc (Burden of Obstructive Lung Disease)
CCS	Canadian Cardiovascular Society, skala nasilenia dolegliwości stenokardialnych
CK	kinaza kreatynowa
CRP	białko C-reaktywne
DNA	kwas dezoksyrybonukleinowy
FEV1	natężona objętość wydechowa pierwszosekundowa
FVC	natężona pojemność życiowa
GOLD	Światowa Inicjatywa Zwalczania Przewlekłej Obturacyjnej Choroby Płuc (Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease)
HDL	lipoproteiny wysokiej gęstości
HMG-CoA	3-hydroksy 3-metylo glutarylo koenzym A
ICAM	cząsteczka przylegania międzykomórkowego
IL	interleukina
LDL	lipoproteiny niskiej gęstości
MCP-1	białko chemotaktyczne dla monocytów
MEF	maksymalny przepływ wydechowy
MMP	metaloproteinaza macierzy międzykomórkowej

NHANES	National Health and Nutrition Examination Survey
NOS	syntaza tlenku azotu
PAI-1	inhibitor aktywatora plazminogenu
PDGF	płytkopochodny czynnik wzrostowy
POChP	przewlekła obturacyjna choroba płuc
RZS	reumatoidalne zapalenie stawów
SLE	układowy toczeń trzewny
TNF-alfa	czynnik martwicy nowotworów typu alfa
VEGF	czynnik wzrostu komórek śródbłonna naczyń
VLDL	lipoproteiny bardzo niskiej gęstości
WOSCOPS	West of Scotland Coronary Prevention Study

Spis treści

1.	Wstęp.....	7
1.1.	Definicja POChP	7
1.2.	Epidemiologia	7
1.3.	Etiopatogeneza POChP.....	8
1.3.1.	Czynniki etiologiczne oraz czynniki ryzyka POChP	8
1.3.1.1.	Dym tytoniowy.....	8
1.3.1.2.	Uwarunkowania genetyczne.....	8
1.3.1.3.	Inne szkodliwe pyły i gazy	9
1.3.1.4.	Stres oksydacyjny	9
1.3.1.5.	Inne czynniki ryzyka	10
1.3.2.	Patogeneza	10
1.4.	POChP a ryzyko chorób układu sercowo-naczyniowego.....	12
1.5.	Statyny.....	13
1.6.	Statyny a POChP.....	14
1.7.	Polimorfizm genu interleukiny-6	15
2.	Założenia i cele pracy	17
3.	Badani.....	18
4.	Metody.....	19
4.1.	Przebieg badania	19
4.2.	Badania spirometryczne	19
4.3.	Oznaczenia laboratoryjne.....	19
4.3.1.	Parametry biochemiczne	20
4.3.2.	Markery stanu zapalnego	20
4.3.3.	Ocena polimorfizmu genu IL-6	21
4.3.3.1.	Izolacja DNA.....	21
4.3.3.2.	Genotypowanie polimorfizmu IL-6.....	21
5.	Analiza statystyczna	22
6.	Wyniki	23
6.1.	Charakterystyka grup.....	23
6.2.	Parametry stanu zapalnego	25
6.2.1.	Fibrynogen	25
6.2.2.	Białko C – reaktywne	25
6.2.3.	TNF-alfa	26
6.2.4.	Interleukina-6	27
6.2.5.	Metaloproteinaza-9	27
6.3.	Parametry spirometryczne	29

6.4.	Parametry stanu zapalnego a stopień ciężkości POChP	30
6.5.	Parametry stanu zapalnego a polimorfizm genu dla IL-6 (174 C/G).....	34
7.	Dyskusja	40
7.1.	Omówienie doboru chorych	40
7.2.	Omówienie wyników badań.....	41
7.2.1.	Parametry stanu zapalnego	41
7.2.2.	Polimorfizm genu interleukiny-6 (174 G/C).....	44
8.	Wnioski.....	47
9.	Streszczenie	48
10.	Summary	50
11.	Piśmiennictwo	52
12.	Wykaz tabel.....	65
13.	Wykaz rycin	66

1. Wstęp

1.1. Definicja POChP

Przewlekła obturacyjna choroba płuc (POChP) jest schorzeniem, w przebiegu którego dochodzi do rozwoju patologicznych zmian w obrębie oskrzeli, mięszu płuc, naczyń płucnych, a także zmian pozapłucnych. U jego podłoża leży nieprawidłowa reakcja zapalna płuc na szkodliwe pyły i gazy, wśród których najpowszechniejszym jest dym tytoniowy. Przebudowa i zwężenie drobnych oskrzeli oraz zniszczenie mięszu płucnego manifestuje się klinicznie jako postępujące, niecałkowicie odwracalne ograniczenie przepływu powietrza w drogach oddechowych i przyczynia się od obniżenia komfortu i długości życia [1,2].

1.2. Epidemiologia

POChP stanowi poważny problem medyczny i społeczny. Na podstawie danych z badania Global Burden of Disease Study oceniono, że POChP była w latach 90-tych szóstą przyczyną zgonów na świecie i szacuje się, że do roku 2020 przesunie się na miejsce trzecie [3,4]. Uważa się jednak, że częstość występowania POChP na świecie jest niedoszacowana. Dane epidemiologiczne pochodzą głównie z krajów rozwiniętych, jednak i wśród tych danych istnieją duże rozbieżności wynikające ze zmieniających się definicji choroby, różnych kryteriów rozpoznania (objawy kliniczne, rozpoznanie postawione przez lekarza, badanie spirometryczne) oraz różnych metod analizy danych [5,6]. We wszystkich badaniach stwierdzono jednak, że występowanie POChP koreluje z wiekiem (zwłaszcza powyżej 40 roku życia) oraz częstością palenia tytoniu, zarówno aktualnie jak i w przeszłości [5,7,8].

W opublikowanym w 2007 roku raporcie z projektu BOLD (Burden of Obstructive Lung Disease) dotyczącym częstości występowania POChP w Małopolsce wykazano, że choroba ta występuje u 22,1% badanej populacji, z czego 10,9% stanowią chorzy z co najmniej II stadium zaawansowania choroby (wg GOLD). Choroba częściej dotyczy mężczyzn, a jej występowanie koreluje z wiekiem, narażeniem na dym tytoniowy i jest odwrotnie zależne od stopnia wykształcenia. Wśród chorych w tej

populacji 36% mężczyzn oraz 22% kobiet było aktualnymi palaczami, a 43% mężczyzn i 21% kobiet paliło papierosy w przeszłości. 29% osób niepalących było biernie narażonych na działanie dymu tytoniowego [9]. Analiza przeprowadzona na populacji małopolskiej potwierdza szerokie rozpowszechnienie POChP oraz bardzo silny związek pomiędzy narażeniem na dym tytoniowy a rozwojem choroby.

1.3. Etiopatogeneza POChP

1.3.1. Czynniki etiologiczne oraz czynniki ryzyka POChP

Zachorowanie na POChP wiąże się nie tylko z przewlekłym narażeniem na szkodliwe czynniki, ale także z osobniczą predyspozycją, która decyduje o rozwoju choroby.

1.3.1.1. Dym tytoniowy

Dym tytoniowy jest najczęstszym czynnikiem prowadzącym do rozwoju POChP. Ryzyko rozwoju choroby jest związane z ilością wypalonych papierosów (wyrażonych w paczko-latach), wiekiem rozpoczęcia palenia oraz aktualnym paleniem [10,11]. Także bierne narażenie na dym tytoniowy może wywołać wystąpienie choroby [12,13]. Zaobserwowano, że narażenie na dym tytoniowy przyspiesza fizjologiczny, związany z wiekiem spadek nasilonej objętości wydechowej pierwszosekundowej (FEV1), natomiast rzucenie palenia w każdym wieku powoduje spowolnienie tempa tego spadku do takiego jak u osób niepalących [14].

1.3.1.2. Uwarunkowania genetyczne

Występowanie choroby tylko u części osób narażonych jest związane z predyspozycją genetyczną. Uważa się, że ma ona charakter wielogenowy [15], jednak jedynym do tej pory udokumentowanym zaburzeniem genetycznym, które wpływa na rozwój POChP, jest ciężki wrodzony niedobór alfa1-antytrypsyny [16], inhibitora proteaz serynowych. Niedobór tego białka, występujący najczęściej w populacji

Północnej Europy [17], powoduje rozwój rozedmy obejmującej całe zraziki płuc, a w połączeniu z paleniem tytoniu znacznie ten rozwój przyspiesza. Inną przesłanką mogącą świadczyć o wpływie czynników genetycznych jest zaobserwowane częstsze występowanie POChP u rodzeństwa chorych [18] w porównaniu do występowania u współmałżonków.

1.3.1.3. Inne szkodliwe pyły i gazy

Ekspozycja na organiczne i nieorganiczne pyły oraz opary chemiczne (np.: w miejscu pracy) [19,20], a także zanieczyszczenia powietrza powstałe w wyniku spalania tzw. biomasy (węgiel, drewno, odchody zwierzęce) wewnątrz źle wentylowanych pomieszczeń (szeroko stosowane do gotowania i ogrzewania w krajach biednych lub rozwijających się) mogą przyczyniać się do rozwoju choroby [21,22,23]. W dużym badaniu populacyjnym NHANES III przeprowadzonym w USA oceniono, że narażenie na szkodliwe pyły i gazy w miejscu pracy może odpowiadać za około 19,2% przypadków POChP, w tym 31,1% u osób nigdy niepalących [24].

1.3.1.4. Stres oksydacyjny

Dym tytoniowy a także inne szkodliwe pyły i gazy zawierają w sobie substancje utleniające (m.in. wolne rodniki tlenowe), odpowiedzialne za bezpośrednie uszkodzenie nabłonka dróg oddechowych, a także powodujące wzrost syntezy i uwalniania endogennych substancji utleniających w drogach oddechowych przez komórki nabłonka oddechowego i makrofagi płucne [25]. Szacuje się, że w jednej porcji wdychanego dymu tytoniowego znajduje się 10^{17} cząstek utleniających. Zaburzenie równowagi pomiędzy substancjami utleniającymi a antyutleniającymi na korzyść tych pierwszych wywołuje tzw. stres oksydacyjny. Poza bezpośrednim uszkodzeniem nabłonka dróg oddechowych, wpływa on na zwiększenie sekrecji śluzu [26], inaktywację substancji antyutleniających, oraz aktywację komórek stanu zapalnego poprzez czynniki transkrypcyjne wrażliwe na oksydację [27,28]. Uważa się również, że stres oksydacyjny jest odpowiedzialny za tzw. objawy ogólne POChP tj. spadek siły mięśniowej i spadek masy ciała [29].

Nasilenie stresu oksydacyjnego można oceniać m.in. poprzez pomiar stężeń substancji utleniających np.: nadtlenu wodoru w popłuczynach oskrzelowo-pęcherzykowych (BAL), nadtlenu wodoru i tlenku azotu w kondensacie powietrza wydechowego, jak również poprzez ocenę produktów utleniania [30,31,32]. Dobrym wskaźnikiem peroksydacji lipidów są izoprostany obecne we krwi, w moczu oraz w powietrzu wydechowym. Ich stężenie u chorych na POChP koreluje ze stopniem obturacji dróg oddechowych [33,34,35].

W kilku dużych badaniach populacyjnych wykazano związek pomiędzy obecnością substancji antyutleniających w diecie (witamin C i E, beta karotenu i flawonoidów) a stopniem obturacji drzewa oskrzelowego wyrażonym wartością FEV1 [36,37,38,39].

1.3.1.5. Inne czynniki ryzyka

Rozwój POChP może być związany również z wieloma innymi czynnikami ryzyka. Zaburzenia w rozwoju płuc w trakcie życia płodowego (związane np.: z niską masą urodzeniową lub paleniem tytoniu przez matkę w czasie ciąży) oraz w dzieciństwie i okresie dojrzewania mogą zwiększać ryzyko wystąpienia POChP w wieku dorosłym [40]. Zaburzenia w rozwoju płuc wiążą się z częstszym występowaniem infekcji dróg oddechowych, które również zwiększają ryzyko POChP oraz odgrywają rolę w zaostrzeniach choroby [41]. Nadreaktywność oskrzeli oraz astma oskrzelowa także zwiększają ryzyko wystąpienia POChP [42,43]. Choroba ta występuje częściej u osób o niższym statusie społeczno-ekonomicznym [44].

1.3.2. Patogeneza

U podłoża powstania POChP leży długotrwałe narażenie dróg oddechowych na działanie dymu tytoniowego oraz innych szkodliwych pyłów i gazów. Substancje te, poprzez bezpośrednie uszkodzenie nabłonka oddechowego, powodują uruchomienie fizjologicznej odpowiedzi zapalnej mającej na celu przywrócenie prawidłowej budowy i funkcji uszkodzonych tkanek [45]. Miejscowa reakcja zapalna u osób predysponowanych do rozwoju POChP jest bardziej nasiloną i po pewnym czasie

przybiera postać ogólnoustrojową, toczy się niezależnie od działania czynnika drażniącego i powoduje nieodwracalne uszkodzenie i przebudowę dróg oddechowych. Rozrost komórek gruczołowych z nadmierną produkcją śluzu w dużych oskrzelach, metaplazja płaskonabłonkowa i włóknienie ścian drobnych oskrzeli, a także uszkodzenie mięszu płucnego i rozwój rozedmy, klinicznie manifestują się ograniczeniem przepływu powietrza w drogach oddechowych oraz tzw. pułapką powietrzną, prowadzącymi z czasem do zaburzeń wymiany gazowej i przewlekłej niewydolności oddechowej [46,47,48]. Poza zmianami w mięszu płuc, proces zapalny toczy się także w naczyniach płucnych. Przerost błony wewnętrznej i mięśniowej ściany naczyń wraz z upośledzeniem funkcji śródbłonka prowadzi do rozwoju nadciśnienia płucnego [49,50,51]. Przewlekły stan zapalny powoduje także zmiany ogólnoustrojowe, takie jak wyniszczenie, spadek siły mięśniowej, osteoporozę, depresję, a także zwiększa ryzyko rozwoju chorób układu sercowo-naczyniowego.

Podstawowymi komórkami biorącymi udział w tym procesie są makrofagi płucne, neutrofile, limfocyty T CD8+ oraz komórki nabłonka dróg oddechowych [52,53,54]. Makrofagi oraz komórki nabłonka dróg oddechowych, pod wpływem bezpośredniego drażnienia przez dym tytoniowy, produkują i uwalniają czynniki chemotaktyczne: interleukinę-8 (IL-8) oraz leukotrien B4 (LTB4) powodujące aktywację i migrację neutrofilów do pęcherzyków płucnych. Uwalniają także cytokiny prozapalne: czynnik martwicy nowotworów typu alfa (TNF-alfa), IL-1 i IL-6, nasilające reakcję zapalną [55,56]. Aktywowane neutrofile wydzielają proteiny (m.in. elastazę neutrofilową, katepsyny, proteinazę 3, metaloproteinazy macierzy międzykomórkowej 8, 9 i 12) oraz produkują wolne rodniki tlenowe uszkadzające tkankę płucną oraz inaktywujące antyproteiny m.in. alfa 1 antytrypsynę, alfa 1 antychymotrypsynę, tkankowe inhibitory metaloproteinaz 1-4, prowadząc do upośledzenia mechanizmów ochronnych tkanki płucnej [57,58]. Innym niekorzystnym efektem nasilonego stanu zapalnego jest zmniejszenie aktywności deacetylazy histonów w komórkach tkanki płucnej, co prowadzi do dalszego nasilenia ekspresji genów kodujących białka prozapalne oraz odpowiada za osłabienie działania przeciwzapalnego kortykosteroidów [59].

1.4. POChP a ryzyko chorób układu sercowo-naczyniowego

Istnieje wiele prac ukazujących związek pomiędzy POChP a chorobami układu sercowo-naczyniowego. Już sama obecność objawów przewlekłego zapalenia oskrzeli (utrzymujących się co najmniej przez 3 miesiące w roku) zwiększa w stopniu istotnym statystycznie ryzyko wystąpienia choroby niedokrwiennej serca oraz zwiększa śmiertelność z jej powodu, niezależnie od obecności klasycznych czynników ryzyka [60,61]. Wykazano także związek pomiędzy obniżeniem FEV1 a zwiększeniem prędkości fali tętna, która odzwierciedla stopień sztywności tętnic obwodowych [62]. Ponadto obniżenie zarówno FEV1, jak również FEV1/FVC, a także szybkość obniżania się FEV1 w wieloletniej obserwacji zwiększa w sposób istotny statystycznie częstość zgonów z powodu chorób układu sercowo-naczyniowego [63,64,65,66]. Obecność obturacji dróg oddechowych wraz z podwyższeniem poziomu białka C-reaktywnego (CRP) w surowicy wiąże się ze wzrostem częstości występowania zmian niedokrwienych w Ekg oraz ryzyka wystąpienia zawału mięśnia sercowego w przyszłości (określanego wg skali Cardiac Infarction Injury Score) [67].

Związek pomiędzy POChP a chorobami układu sercowo-naczyniowego próbuje się tłumaczyć ogólnoustrojową reakcją zapalną, jaka rozwija się w wyniku przewlekłego narażenia na dym tytoniowy i inne zanieczyszczenia powietrza u osób predysponowanych. Poza wspomnianym wcześniej bezpośrednim działaniem na nabłonek dróg oddechowych, dochodzi również do mobilizacji szpiku kostnego i uwalniania niedojrzałych neutrofilów, mających szczególne powinowactwo do kapilar płucnych [68,69]. Uwalniane są także monocyty, które w pęcherzykach płucnych przekształcają się w makrofagi i uwalniają, pod wpływem dymu tytoniowego, m.in. prozapalne białko chemotaktyczne monocytów typu 1 (MCP-1) odpowiedzialne za podtrzymywanie reakcji zapalnej w tkance płucnej [70]. Ogólnoustrojowy stan zapalny manifestuje się także podwyższonymi stężeniami białek ostrej fazy: fibrynogenu, CRP, IL-6 i IL-8 [55,71], które wraz z TNF-alfa i IL-1, uwalnianymi przez makrofagi płucne i nabłonek dróg oddechowych [72], są odpowiedzialne za aktywację i uszkodzenie śródbłonna naczyń, aktywację płytek krwi i układu krzepnięcia. Prowadzi to do rozwoju i postępu miażdżycy oraz występowania incydentów zakrzepowo-zatorowych [73,74,75,76]. W badaniach eksperymentalnych na zwierzętach wykazano, iż odkładanie się w płucach drobnych cząstek obecnych w dymie tytoniowym, ale także w

zanieczyszczonym powietrzu oraz spalinach z silników diesla, wywołuje aktywację układu krzepnięcia i płytek krwi. W innym badaniu, przeprowadzonym na królikach inhalowanych przez 4 tygodnie zanieczyszczonym powietrzem, zaobserwowano nasilenie miejscowej i ogólnoustrojowej reakcji zapalnej, pobudzenie szpiku kostnego oraz progresję zmian miażdżycowych w aortalnej i tętnicach wieńcowych, a w ocenie histologicznej stwierdzono zmiany morfologiczne charakterystyczne dla tzw. niestabilnych blaszek miażdżycowych [77,78]. Obserwacje te mogą tłumaczyć związek narażenia na zanieczyszczenia powietrza z częstością incydentów sercowo-naczyniowych, zwłaszcza u chorych na POChP [79,80].

1.5. Statyny

Simwastatyna jest przedstawicielem grupy leków, inhibitorów reduktazy HMG-CoA, zwanych potocznie statynami, które poprzez zahamowanie szlaku syntezy cholesterolu w wątrobie zwiększają ekspresję receptorów dla LDL i w ten sposób obniżają jego poziom w surowicy [81]. Dodatkowo blokując szlak syntezy cholesterolu hamują one powstawanie izoprenoidów, pochodnych kwasu mewalonowego, regulujących aktywację wielu komórkowych szlaków sygnałowych. Dzięki temu statyny posiadają własności przeciwzapalne, poprzez hamowanie syntezy molekuł adhezyjnych (selektyny-P oraz ICAM-1) na powierzchni komórek śródbłonna, hamowanie ekspresji integryny CD11b/CD18 na monocytach i związanej z nią adhezji monocytów do powierzchni śródbłonna, a także hamowanie syntezy TNF-alfa i IL-6 w monocytach prowadzące do obniżenia poziomu białek ostrej fazy m.in. CRP i fibrynogenu [82,83,84,85,86]. Statyny mają także własności fibrynolityczne i przeciwwakrzepowe poprzez zwiększenie ekspresji tkankowego aktywatora plazminogenu (tPA), syntazy tlenku azotu (NOS), zmniejszenie ekspresji inhibitora aktywatora plazminogenu typu 1 (PAI-1) oraz ekspresji czynnika tkankowego w komórkach śródbłonna [87,88,89,90].

Te wszystkie korzystne właściwości statyn, określane mianem plejotropowych, znalazły odzwierciedlenie w wielu dużych badaniach klinicznych. Wykazano w nich, że stosowanie statyn wiąże się z istotnym zmniejszeniem ryzyka wystąpienia incydentów sercowo-naczyniowych oraz zmniejszeniem śmiertelności

ogólnej i z przyczyn sercowo-naczyniowych, zarówno w prewencji pierwotnej jak i wtórnej [91,92,93,94,95,96].

1.6. Statyny a POChP

W badaniach eksperymentalnych na szczurach, których układ oddechowy został poddany działaniu dymu tytoniowego zaobserwowano, że podawanie simwastatyny hamowało uszkodzenie mięszu płucnego, powodowało zmniejszenie migracji komórek stanu zapalnego w okolicę oskrzelików i naczyń płucnych, ograniczało rozwój nadciśnienia płucnego, przebudowę błony wewnętrznej i środkowej naczyń płucnych oraz prowadziło do zmniejszenia aktywności metaloproteinazy-9 (MMP-9) w tkance płucnej [97]. W innym badaniu, w którym szczury hodowano przez 14 dni w warunkach hipoksji (10% stężenie tlenu we wdychanym powietrzu) zaobserwowano, że stosowanie simwastatyny hamowało rozwój nadciśnienia płucnego, przerost mięśnia sercowego, wzrost hematokrytu oraz przebudowę błony mięśniowej drobnych naczyń płucnych. Zaobserwowano także, że zahamowanie wzrostu ciśnienia płucnego nie było związane z nasileniem ekspresji genu NOS w komórkach śródbłonna naczyń płucnych [98]. Ponadto stwierdzono, że podanie simwastatyny po dwóch tygodniach takiej hodowli spowodowało regresję nadciśnienia płucnego, zmniejszenie przerostu prawej komory i mięśniówki naczyń płucnych powstałych pod wpływem hipoksji [99]. Podobny korzystny wpływ simwastatyny obserwowano u szczurów poddanych działaniu monokrotaliny, alkaloidu uszkadzającego śródbłonek naczyń płucnych i prowadzącego do rozwoju nadciśnienia płucnego [100,101].

Poza badaniami eksperymentalnymi także w kilku badaniach populacyjnych wykazano korzystny wpływ stosowania statyn u chorych na POChP. W przeprowadzonej w Japonii retrospektywnej analizie częstości zgonów z różnych przyczyn oraz ilości sprzedawanych preparatów statyn u osób po 65 roku życia wykazano istotną statystycznie zależność pomiędzy ilością sprzedawanych preparatów statyn a zmniejszeniem śmiertelności z powodu chorób układu sercowo-naczyniowego ale także z powodu POChP, zapalenia płuc i śmiertelności ogólnej [102]. W badaniu przeprowadzonym w Norwegii na grupie chorych hospitalizowanych z powodu zaostrzenia POChP, których poddano następnie około 2 letniej obserwacji, wykazano

wyższą przeżywalność wśród chorych przyjmujących statyny. Przeżywalność była jeszcze lepsza w grupie osób leczonych statynami w skojarzeniu z kortykosteroidami wziewnymi [103]. Podobny korzystny wpływ działania statyn wykazano w retrospektywnej analizie danych pochodzących z rejestru chorych miasta Quebec w Kanadzie. W analizie tej oceniono wpływ leków mających udowodnione działanie w redukcji ryzyka sercowo-naczyniowego, tj. statyn, inhibitorów konwertazy angiotensyny (ACE-I) oraz blokerów receptora angiotensyny (ARB), na częstość hospitalizacji z powodu zaostrzenia POChP. Korzystne działanie statyn wykazano zarówno w grupie wysokiego jak i niskiego ryzyka chorób układu sercowo-naczyniowego, niezależnie od przyjmowanych u tych chorych kortykosteroidów wziewnych [104]. W innym badaniu oceniającym śmiertelność z powodu grypy, zapalenia płuc oraz POChP w populacji stanu Nowy Meksyk także stwierdzono istotne zmniejszenie ryzyka zgonu u osób stosujących statyny [105]. Wyniki tych badań wskazują na potrzebę prospektywnej analizy wpływu statyn na przebieg POChP [106].

1.7. Polimorfizm genu interleukiny-6

Interleukina-6 jest cytokiną prozapalną uwalnianą przez wiele typów komórek, m.in. przez pobudzone monocyty, makrofagi, komórki śródbłonna, fibroblasty, limfocyty B i T, neutrofile, mastocyty, eozynofile, komórki mięśniówki gładkiej oraz adipocyty [107]. Syntezę i uwalnianie IL-6 pobudzają TNF-alfa, IL-1, PDGF, ale także endotoksyny bakteryjne. W zależności od miejsca powstawania może ona także sama pobudzać lub hamować własną syntezę. Głównym działaniem IL-6 jest pobudzenie hepatocytów do syntezy białek ostrej fazy; CRP, fibrynogenu i osoczowego amyloidu A [108]. O ile w ostrej fazie zapalenia rola tych białek jest korzystna, to jednak przedłużająca się ekspozycja organizmu na ich działanie niesie wiele niekorzystnych konsekwencji, czego dowodem może być np. związek stężenia CRP z ryzykiem niekorzystnych zdarzeń sercowo-naczyniowych [109,110].

Istnieją sprzeczne doniesienia dotyczące wpływu odkrytych polimorfizmów genu IL-6 na przebieg procesu zapalnego, stężenia cytokin prozapalnych oraz efekty stosowanego leczenia. Zależności te zostały najszerszej przebadane w chorobach układu sercowo-naczyniowego i dotyczyły polimorfizmu w pozycji 174 części promotorowej genu. W prospektywnym badaniu przeprowadzonym przez Humphries i wsp. na

populacji zdrowych mężczyzn zaobserwowano, że u nosicieli allele C, zwłaszcza palących papierosy, istnieje statystycznie większe ryzyko zgonu w porównaniu do niepalących homozygot GG, niezależnie od innych czynników ryzyka. Ponadto zaobserwowano istotnie wyższe wartości ciśnienia tętniczego u nosicieli allele C [111]. W badaniu Antonicelli i wsp. stwierdzono, że u chorych po ostrym incydencie wieńcowym obecność genotypu GG, zwiększała istotnie ryzyko zgonu z przyczyn sercowych w rocznej obserwacji [112]. Z kolei w badaniu Lieb i wsp. na populacji osób po przebytym zawale serca nie wykazano zależności pomiędzy genotypem IL-6 a czynnikami ryzyka sercowo-naczyniowego, parametrami budowy i czynności serca, poziomem IL-6 we krwi, a także nie stwierdzono różnic w częstości występowania poszczególnych genotypów w porównaniu ze zdrową populacją. Zaobserwowano natomiast wpływ przyjmowania statyn na obniżenie poziomu IL-6 we krwi [113]. Podobnych obserwacji dokonano na podstawie analizy populacji badania West of Scotland Coronary Prevention Study (WOSCOPS), oceniającego działanie prawastatyny w pierwotnej prewencji choroby niedokrwiennej serca. W grupie placebo nie stwierdzono wpływu polimorfizmu genu IL-6 na ryzyko sercowe, natomiast w grupie przyjmującej prawastatynę obecność genotypu CC wiązała się z istotnie mniejszym ryzykiem, w porównaniu do osób z genotypem GC i GG z grupy placebo. Mogło to być związane z obserwowaną większą redukcją poziomu LDL w tej podgrupie, ponieważ nie stwierdzono różnic w stężeniach IL-6, CRP czy fibrynogeny pomiędzy grupami [114].

Polimorfizm genu IL-6 badano także w innych chorobach, w których ta cytokina może odgrywać znaczącą rolę. U chorych z miażdżycą tętnic szyjnych wykazano istotny wpływ genotypu GG na grubość kompleksu intima-media mierzoną w badaniu ultrasonograficznym [115]. W badaniu populacji chorych na młodzieńcze reumatoidalne zapalenie stawów wykazano rzadsze występowanie genotypu CC, niż w zdrowej populacji [116]. W przeprowadzonej przez Cordoba-Lanus i wsp. ocenie częstości występowania polimorfizmów genu IL-6 nie wykazano różnic w rozkładzie genotypów polimorfizmu w pozycji 174 pomiędzy chorymi na POChP a palaczami i niepalącymi zdrowymi osobami [117]. W badaniu Eddahibi i wsp. wykazano natomiast, że genotyp GG u chorych na POChP wiąże się z wyższym poziomem IL-6 we krwi oraz wyższym średnim ciśnieniem płucnym, mierzonym inwazyjnie, niż u chorych z genotypem GC i CC [118].

2. Założenia i cele pracy

Statyny mają udowodnione korzystne działanie w chorobach układu sercowo-naczyniowego, niezależne od działania obniżającego cholesterol we krwi. Coraz liczniejsze doniesienia mówiące o redukcji śmiertelności wśród chorych na POChP przyjmujących statyny, a także wyniki prac eksperymentalnych na zwierzętach pozwalają przypuszczać, że zastosowanie simwastatyny w tej grupie chorych może obniżyć poziom markerów stanu zapalnego obecnych we krwi.

Celami pracy były:

- ocena wpływu simwastatyny na parametry stanu zapalnego:
 - fibrynogen
 - CRP
 - TNF-alfa
 - IL-6
 - MMP-9

- ocena polimorfizmu genu IL-6 w badanej grupie chorych na POChP i jego wpływu na badane parametry stanu zapalnego oraz wpływu na działanie simwastatyny.

3. *Badani*

Do badania włączono 62 chorych (56 mężczyzn) w wieku od 44 do 80 lat, leczonych w Poradni Pulmonologicznej Szpitala Rejonowego w Proszowicach z powodu POChP, rozpoznanej na podstawie badania spirometrycznego wg kryteriów GOLD (FEV1/FVC <0,7 po inhalacji leku rozszerzającego oskrzela). Ponadto osoby włączane do badania musiały spełniać następujące kryteria:

- stabilny okres choroby, bez zaostrzeń w ciągu ostatniego miesiąca
- nie stosowanie statyn w ciągu ostatnich 3 miesięcy
- nie stosowanie kortykosteroidów systemowych

Kryteria wykluczające udział w badaniu stanowiły:

- niestabilna choroba niedokrwienna serca, zawał mięśnia sercowego przebyty < 6 miesięcy,
- choroba niedokrwienna serca w klasie CCS III
- przebyty, udokumentowany udar mózgu
- cukrzyca
- choroby autoimmunologiczne (SLE, RZS, itp.)
- cechy uszkodzenia i/lub niewydolności wątroby
- ciężki stan ogólny
- choroby nowotworowe
- brak współpracy uczestnika w trakcie badania

Po udzieleniu wyczerpującej informacji na temat badania i podawanego leku, oraz uzyskaniu pisemnej zgody na udział w badaniu, chorych przydzielano do grupy badanej lub do grupy kontrolnej losowo, na podstawie listy wygenerowanej przez komputer (1:1).

4. Metody

4.1. Przebieg badania

U wszystkich chorych wyjściowo zebrano wywiad na podstawie przygotowanej wcześniej ankiety i przeprowadzono badanie fizykalne. Następnie wykonano badanie spirometryczne, badanie ekg i badanie echokardiograficzne oraz pobrano próbki krwi w celu oznaczenia następujących parametrów: CK, ALAT, kreatynina, glukoza, lipidogram oraz markerów stanu zapalnego takich jak: fibrynogen, CRP, TNF-alfa, IL-6, MMP-9. Pobrano także próbkę krwi w celu oznaczenia polimorfizmu genu IL-6 (174 G/C). Następnie chorzy zostali losowo przydzieleni do grupy badanej lub grupy kontrolnej. Grupa badana otrzymała simwastatynę (ZOCOR) w dawce 40 mg na dobę przez 3 miesiące, natomiast grupa kontrolna nie przyjmowała leku. Kontrolne pobrania krwi w celu wyżej wymienionych oznaczeń miały miejsce po 2 tygodniach i 3 miesiącach. Po 3 miesiącach u wszystkich chorych wykonano także kontrolne badanie spirometryczne.

4.2. Badania spirometryczne

U wszystkich uczestników badania wykonano wyjściowo oraz po trzech miesiącach badanie spirometryczne. Z uwagi na rozpoznaną u wszystkich badanych przewlekłą obturacyjną chorobę płuc przed włączeniem do badania, wykonywano badanie podstawowe, nie badano natomiast badania odwracalności obturacji po leku rozkurczowym.

4.3. Oznaczenia laboratoryjne

Krew do badań laboratoryjnych pobierano rano, na czczo, z wykorzystaniem systemu próżniowego firmy Becton-Dickinson, do probówek z wersenianem sodowym (badania genetyczne), 3,2 % roztworem cytrynianu sodu (w stosunku 9 objętości krwi do 1 objętości antykoagulantu) oraz na skrzep. Pobrana krew była następnie wirowana (3500 obrotów/10 minut) i przewożona do Laboratorium II Katedry Chorób

Wewnętrznych, gdzie uzyskane osocze oraz surowicę porcjowano na próbki o mniejszej objętości (300 µl) i przechowywano w -80°C do wykonania oznaczeń. Jedynie podstawowe parametry biochemiczne oznaczano w dniu pobrania krwi.

4.3.1. Parametry biochemiczne

Stężenia glukozy, kreatyniny, cholesterolu całkowitego, trójglicerydów, frakcji HDL oraz LDL cholesterolu w surowicy oznaczono metodami kolorymetrycznymi, z wykorzystaniem analizatora VITROS-250 (Johnson&Johnson, USA). Aktywność enzymów ALAT i CPK w surowicy oznaczono metodami enzymatycznymi z wykorzystaniem analizatora VITROS-250 (Johnson&Johnson, USA).

4.3.2. Markery stanu zapalnego

Fibrynogen w osoczu oznaczano metodą koagulometryczną (m. Claussa) przy pomocy zestawu Multifibren U, na aparacie BCT (Behring Coagulation Tirem, Dade-Behring, Niemcy); zakres wartości prawidłowych 1,8 – 3,5 g/l.

Białko C-reaktywne w surowicy oznaczano metodą nefelometryczną (Dade-Behring, Niemcy); zakres wartości prawidłowych 0 – 3 mg/l.

Do oznaczeń TNF-alfa, IL-6 oraz MMP-9 w surowicy zastosowano metodę immunoenzymatyczną, wykorzystując gotowe, dostępne w sprzedaży, zestawy: Human TNF- α /TNFSF1A (R&D Systems, Wielka Brytania), Human IL-6 (R&D Systems, Wielka Brytania) oraz Human MMP-9(Total) (R&D Systems, Wielka Brytania). Do pomiaru absorbancji użyto czytnika mikropłytek ELx800 (BIO-Tek Instruments, USA).

4.3.3. Ocena polimorfizmu genu IL-6

4.3.3.1. Izolacja DNA

DNA izolowano z krwi pełnej mrożonej, przy użyciu zestawu Blood Mini (A&A Biotechnology, Gdynia). Zestaw opiera się na zdolności wiązania się DNA do ziół krzemionkowych w wysokich stężeniach soli chaotropowych i proteazy (Proteinaza K). W tych warunkach dochodzi do lizy komórek i degradacji białek. Oczyszczone DNA wymywane jest z kolumny niskojonowymi buforami i nadaje się do bezpośredniego wykorzystania bez konieczności precypitacji.

4.3.3.2. Genotypowanie polimorfizmu IL-6.

Wyizolowane tą metodą DNA poddawano amplifikacji metodą polimerazowej reakcji łańcuchowej (PCR). Polimorfizm genu IL-6 (174G/C) wykrywano przy użyciu odpowiedniej pary starterów o sekwencji; IL-6 Up: 5'-TGA CTT CAG CTT TAC TCT TTG T-3'; IL-6 Low: 5'-CTG ATT GGA AAC CTT ATT AAG-3' (TIB Molbiol, Poznań). Produkty amplifikacji o długości 198 par zasad trawiono enzymem restrykcyjnym NlaIII (Fermantas), następnie rozdzielano elektroforetycznie na 6% żelu poliakrylamidowym z wykorzystaniem laserowej analizy fluorescencji (ALFexpress DNA Sequencer, Pharmacia Biotech).

Przeprowadzono analizę długości fragmentów restrykcyjnych (RFLP) polimorfizmu – 174G/C genu IL-6. Osoby o genotypie G/G charakteryzowały się obecnością dwóch fragmentów restrykcyjnych 167 i 31 par zasad, heterozygoty posiadały cztery fragmenty o długości 167, 122, 45 i 31 par zasad, a homozygoty o genotypie –174C/C wykazywały obecność trzech fragmentów o długości 122, 45 i 31 par zasad.

5. Analiza statystyczna

W pierwszym etapie analizy statystycznej dokonano porównania grupy kontrolnej z grupą badaną pod względem danych demograficznych, objawów klinicznych, chorób współistniejących, stosowanej terapii oraz parametrów spirometrycznych i oznaczeń laboratoryjnych. W analizie wykorzystano test t dla zmiennych niezależnych (ilościowych) oraz test Chi-kwadrat Pearsona dla zmiennych jakościowych (skategoryzowanych).

W kolejnym etapie badaniom poddano wyniki pomiarów parametrów stanu zapalnego otrzymane podczas trzech wizyt dla każdej grupy osobno, z zastosowaniem analizy wariancji (ANOVA) wykorzystującej testy t. Analizie parametrów stanu zapalnego poddano także podgrupy wydzielone z grupy badanej i kontrolnej na podstawie wartości FEV1 (kryterium podziału na podgrupy była wartość FEV1 równa 50%). Oceniono także częstość występowania polimorfizmu genu IL-6 (174 C/G) w badanej populacji. Następnie na podstawie polimorfizmu tego genu grupę badaną i kontrolną podzielono na trzy podgrupy (GG, CG i CC) i poddano analizie parametry stanu zapalnego pomiędzy tymi podgrupami.

Dla wszystkich badań i analiz przyjęto poziom istotności równy 0,05. Obliczenia wykonano przy użyciu programu STATISTICA w wersji 6.0.

6. Wyniki

6.1. Charakterystyka grup

Do badania włączono 62 chorych (56 mężczyzn), w wieku od 44 do 80 lat, których podzielono na grupę badaną i grupę kontrolną, na podstawie listy wygenerowanej losowo przez komputer. Dwóch chorych nie zgłosiło się na kontrolną wizytę, u jednego wystąpiło zaostrzenie choroby w trakcie obserwacji, jedna osoba została wyłączona z badania z powodu kryteriów spirometrycznych, a kolejne dwie z powodu niekompletnych wyników badań. Ostatecznej analizie zostało poddanych 56 chorych. Obie grupy nie różniły się istotnie statystycznie pod względem danych demograficznych. Spośród chorób współistniejących jedynie nadciśnienie tętnicze istotnie częściej występowało w grupie badanej (32,14% vs 17,86%, p=0,032).

Tabela 1. Porównanie grupy badanej i kontrolnej pod względem danych demograficznych i chorób współistniejących. Wyniki przedstawiono jako średnie z odchyleniami standardowymi lub wartości bezwzględne z odsetkami.

		Grupa badana	Grupa kontrolna	p
Liczebność	n (%)	28 (50%)	28 (50%)	NS
Wiek	$\bar{x}\pm SD$	66,10 \pm 11,42	63,82 \pm 8,37	NS
Płeć męska	n (%)	25 (44,64%)	26 (46,43%)	NS
Nadciśnienie tętnicze	n (%)	18 (32,14%)	10 (17,86%)	0,032
Cukrzyca	n (%)	0	0	NS
Miażdżycy kończyn dolnych	n (%)	0	0	NS
Choroba niedokrwienna serca	n (%)	9 (16,07%)	4 (7,14%)	NS
Przeżyty zawał serca	n (%)	2 (3,57%)	2 (3,57%)	NS

Nie zaobserwowano istotnych różnic pomiędzy grupami pod względem objawów klinicznych, stosowanych leków oraz profilu lipidowego.

Tabela 2. Porównanie grupy badanej i kontrolnej pod względem objawów klinicznych POChP. Wyniki przedstawiono jako wartości bezwzględne z odsetkami.

		Grupa badana	Grupa kontrolna	p
Duszność	n (%)	25 (44,64%)	23 (41,07%)	NS
Kaszel	n (%)	24 (42,86%)	21 (37,50%)	NS
Wydzielina	n (%)	30 (35,71%)	18 (32,71%)	NS

Tabela 3. Porównanie grupy badanej i kontrolnej pod względem stosowanych leków. Wyniki przedstawiono jako wartości bezwzględne z odsetkami.

		Grupa badana	Grupa kontrolna	p
Beta mimetyki krótko działające	n (%)	3 (5,45%)	1 (1,82%)	NS
Beta mimetyki długo działające	n (%)	26 (47,27%)	24 (43,64%)	NS
Cholinolityki krótko działające	n (%)	23 (41,82%)	19 (34,55%)	NS
Cholinolityki długo działające		0	0	NS
Steroidy wziewne	n (%)	15 (27,27%)	15 (27,27%)	NS
Teofilina	n (%)	7 (12,73%)	10 (18,18%)	NS
ASA	n (%)	2 (3,57%)	4 (7,14%)	NS
ACE-I	n (%)	5 (8,93%)	9 (16,07%)	NS
Diuretyki	n (%)	5 (8,93%)	4 (7,14%)	NS
Beta adrenolityki	n (%)	3 (5,36%)	4 (7,14%)	NS

Tabela 4. Porównanie grupy badanej i kontrolnej pod względem wyjściowego profilu lipidowego. Wyniki przedstawiono jako średnie z odchyleniami standardowymi.

		Grupa badana	Grupa kontrolna	p
Cholesterol całkowity	$x \pm SD$	5,69 \pm 1,39	5,60 \pm 1,05	NS
LDL cholesterol	$x \pm SD$	3,47 \pm 0,99	3,56 \pm 0,80	NS
HDL cholesterol	$x \pm SD$	1,43 \pm 0,31	1,32 \pm 0,30	NS
Trójglicerydy	$x \pm SD$	1,64 \pm 1,33	1,70 \pm 0,96	NS

Nie stwierdzono również istotnych różnic pod względem wyjściowych parametrów spirometrycznych.

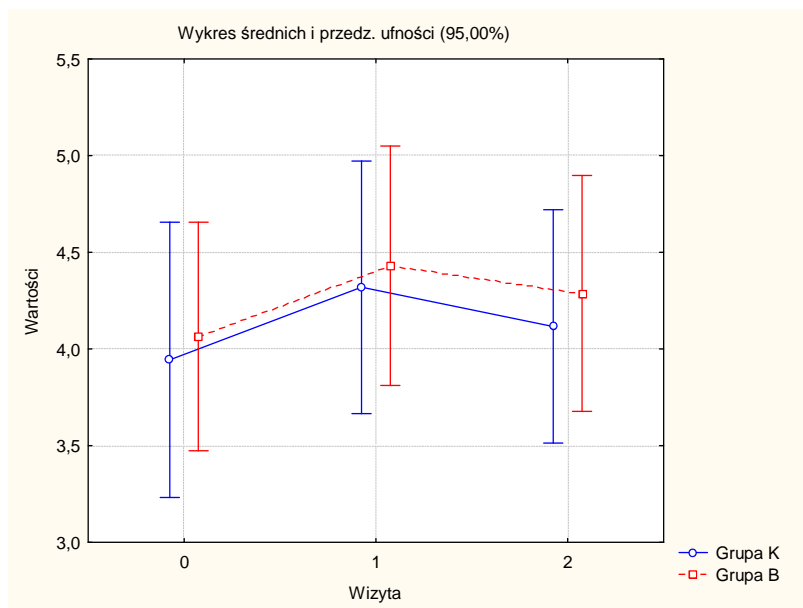
Tabela 5. Porównanie grupy badanej i kontrolnej pod względem parametrów spirometrycznych. Wyniki przedstawiono jako średnie z odchyleniami standardowymi.

		Grupa badana	Grupa kontrolna	p
FEV1 (%)	$x \pm SD$	56,25 \pm 16,27	53,18 \pm 15,66	NS
FEV1/FVC (%)	$x \pm SD$	57,60 \pm 11,58	57,48 \pm 10,23	NS
MEF25 (%)	$x \pm SD$	33,21 \pm 15,9	29,0 \pm 13,07	NS
MEF50 (%)	$x \pm SD$	30,04 \pm 15,37	28,73 \pm 14,19	NS
MEF75 (%)	$x \pm SD$	39,43 \pm 21,84	35,70 \pm 21,80	NS

6.2. Parametry stanu zapalnego

6.2.1. Fibrynogen

W trakcie 3 miesięcznej obserwacji nie zaobserwowano istotnych statystycznie zmian w stężeniach fibrynogenu we krwi w obu grupach.

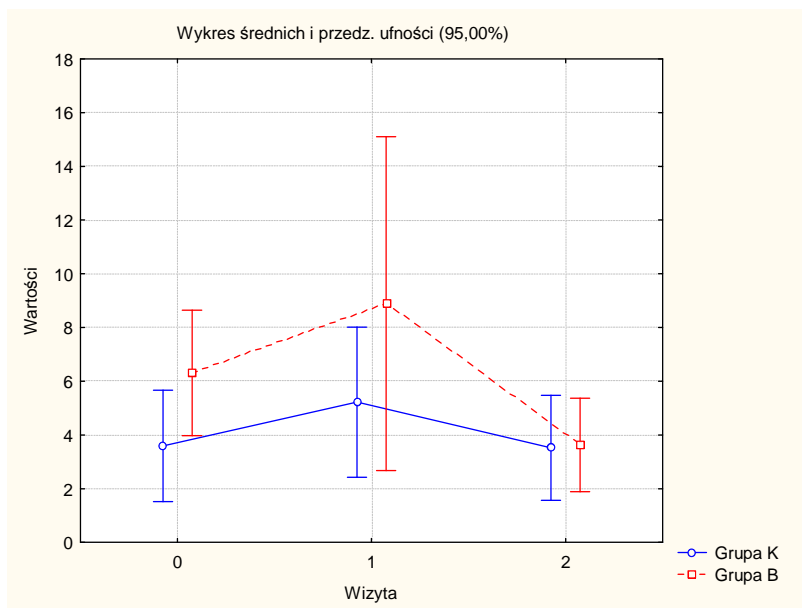


	p
Grupa K	0,71
Grupa B	0,68

Rycina 1. Stężenia fibrynogenu [g/l] w grupie badanej (Grupa B) i grupie kontrolnej (Grupa K) podczas kolejnych wizyt.

6.2.2. Białko C – reaktywne

W trakcie 3 miesięcznej obserwacji nie zaobserwowano istotnych statystycznie różnic w stężeniach białka C – reaktywnego we krwi w obu grupach. W grupie badanej można jednak zauważyć spadek stężenia tego białka po trzech miesiącach, w porównaniu z poziomem wyjściowym, jednak nie osiągnął on znamienności statystycznej.

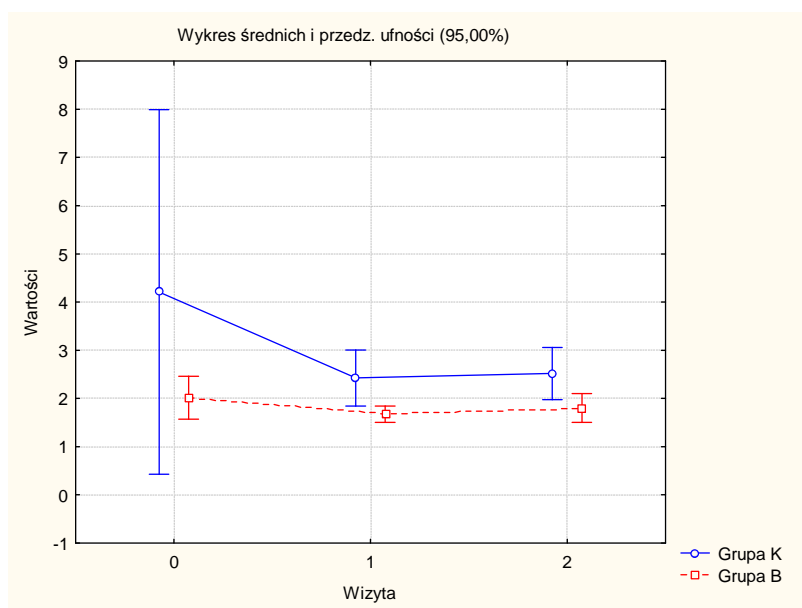


	p
Grupa K	0,48
Grupa B	0,16

Rycina 2. Stężenia białka C-reaktywnego [mg/l] w grupie badanej (Grupa B) i grupie kontrolnej (Grupa K) podczas kolejnych wizyt.

6.2.3. *TNF-alfa*

W trakcie 3 miesięcznej obserwacji nie zaobserwowano istotnych statystycznie różnic w stężeniach TNF-alfa we krwi w obu grupach.

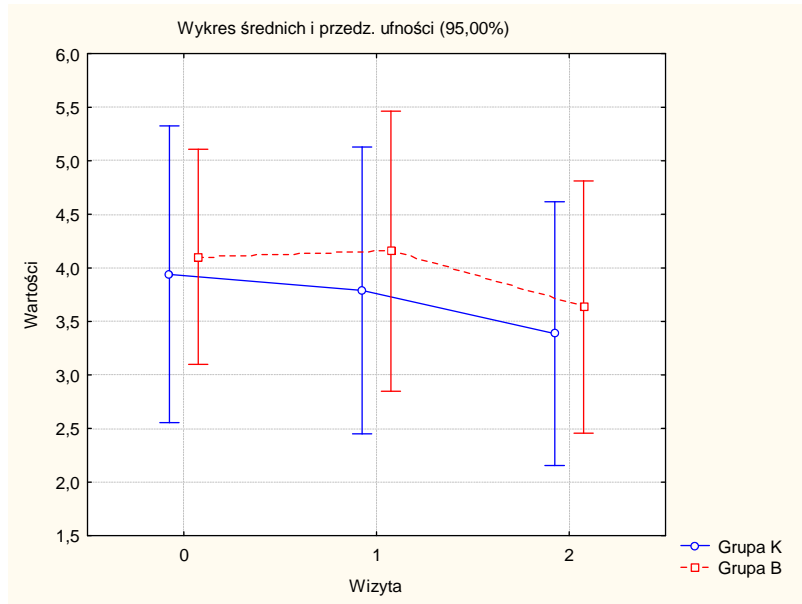


	p
Grupa K	0,44
Grupa B	0,29

Rycina 3. Stężenia TNF-alfa [pg/ml] w grupie badanej (Grupa B) i grupie kontrolnej (Grupa K) podczas kolejnych wizyt.

6.2.4. Interleukina-6

W trakcie 3 miesięcznej obserwacji nie zaobserwowano istotnych statystycznie różnic w stężeniach interleukiny-6 we krwi w obu grupach.

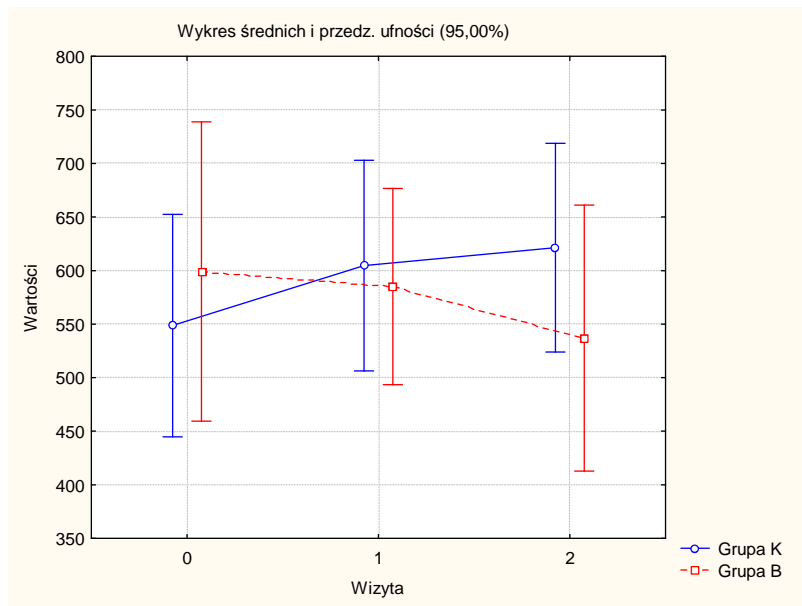


	P
Grupa K	0,81
Grupa B	0,77

Rycina 4. Stężenia interleukiny-6 [pg/ml] w grupie badanej (Grupa B) i grupie kontrolnej (Grupa K) podczas kolejnych wizyt.

6.2.5. Metaloproteinaza-9

W trakcie 3 miesięcznej obserwacji nie zaobserwowano istotnych statystycznie różnic w stężeniach metaloproteinazy-9 we krwi w obu grupach. Można natomiast zaobserwować niewielką tendencję spadkową w grupie badanej.

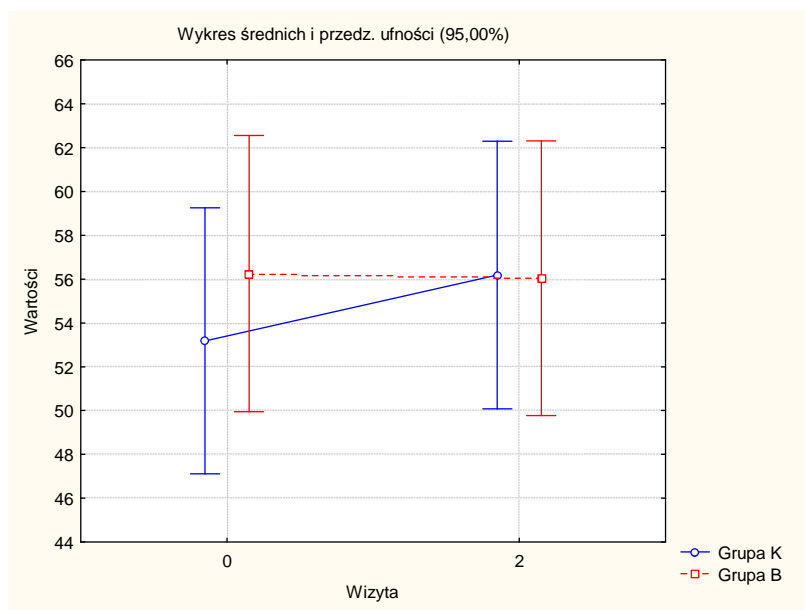


	P
Grupa K	0,54
Grupa B	0,73

Rycina 5. Stężenia metaloproteinazy-9 [ng/ml] w grupie badanej (Grupa B) i grupie kontrolnej (Grupa K) podczas kolejnych wizyt.

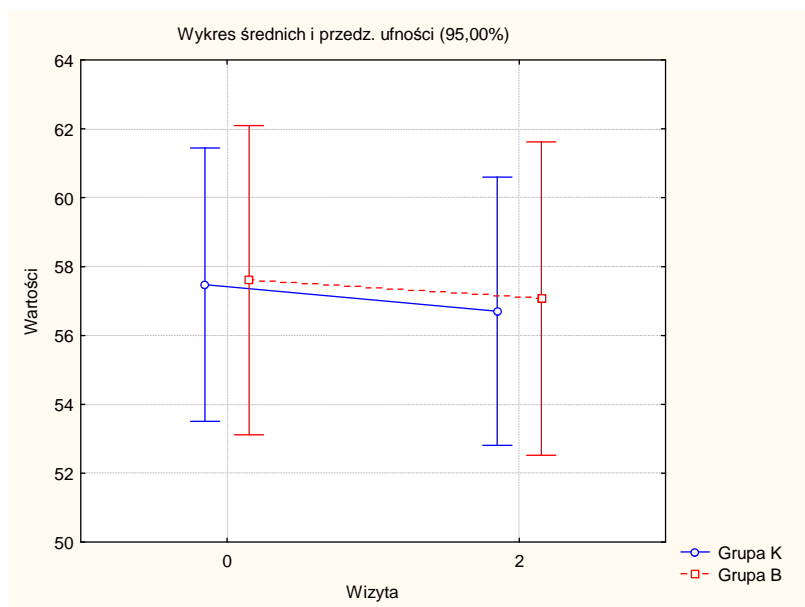
6.3. Parametry spirometryczne

W porównaniu z wyjściowym badaniem spirometrycznym nie zaobserwowano istotnych statystycznie różnic w parametrach spirometrycznych uzyskanych w kontrolnym badaniu po trzech miesiącach.



	p
Grupa K	0,47
Grupa B	0,96

Rycina 6. Wartości FEV1 [% wartości należnej] w grupie badanej i grupie kontrolnej wyjściowo i po zakończeniu badania.



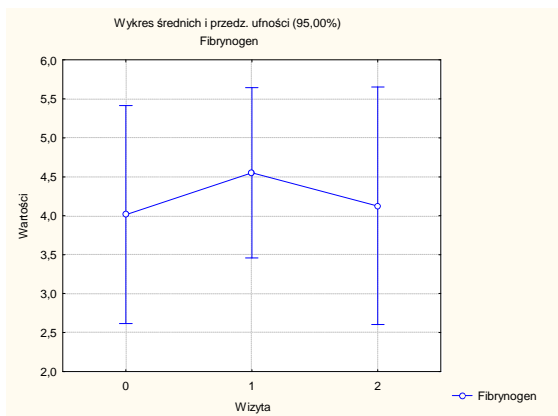
	p
Grupa K	0,77
Grupa B	0,86

Rycina 7. Wartości FEV1/FVC [% wartości należnej] w grupie badanej (Grupa B) i grupie kontrolnej (Grupa K) wyjściowo i po zakończeniu badania.

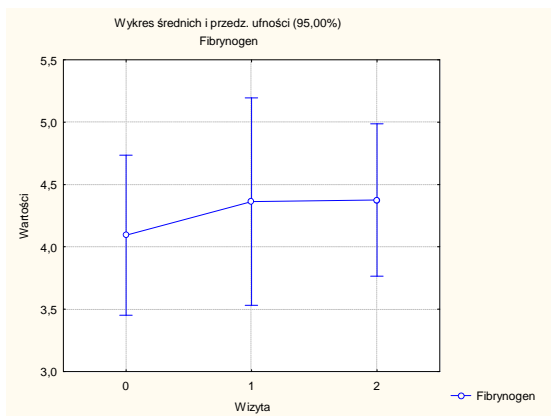
6.4. Parametry stanu zapalnego a stopień ciężkości POChP

Grupę badaną i grupę kontrolną podzielono na dwie podgrupy: podgrupę chorych, u których FEV1 wynosiła >50% (czyli chorych z I i II stopniem ciężkości POChP wg GOLD) oraz podgrupę chorych, u których FEV1 wynosiła <50% (czyli chorych z III i IV stopniem ciężkości POChP). Podział taki został zastosowany z uwagi na małe liczebności grup oraz małą liczbę pacjentów w stadium I i IV POChP co uniemożliwiłoby wiarygodną analizę statystyczną przy podziale na cztery grupy. Podział taki ma także wymiar praktyczny, albowiem u chorych z FEV1 <50% zaleca się stosowanie kortykosteroidów wziewnych, gdyż udowodniono korzystne działanie takiego leczenia w zmniejszeniu ilości zaostrzeń choroby. Wśród badanych większość chorych z FEV1 <50% przyjmowała takie leczenie.

Po przeanalizowaniu danych nie stwierdzono istotnych statystycznie różnic w wyjściowych poziomach badanych markerów stanu zapalnego pomiędzy podgrupami. Po trzech miesiącach obserwacji także nie obserwowano istotnych różnic w stężeniach oznaczanych markerów, z wyjątkiem IL-6, której stężenie w grupie badanej było istotnie niższe w podgrupie chorych z łagodną i umiarkowaną POChP ($p=0,016$). Nie stwierdzono także istotnych zmian stężeń badanych markerów pomiędzy poszczególnymi wizytami w obrębie podgrup. Można jednak zauważyć nieznamienny spadek stężeń CRP i IL-6 w podgrupie chorych z łagodną i umiarkowaną POChP. Na poniższych rycinach przedstawiono w formie graficznej wyniki stężeń markerów stanu zapalnego dla grupy badanej podczas kolejnych wizyt. Przedstawiono także porównanie stężeń IL-6 w podgrupach FEV1<50% i FEV1>50% grupy badanej w trakcie wizyty 2.

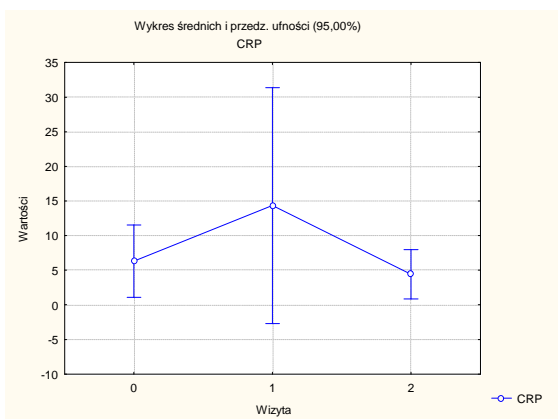


	p
FEV1<50%	0,80

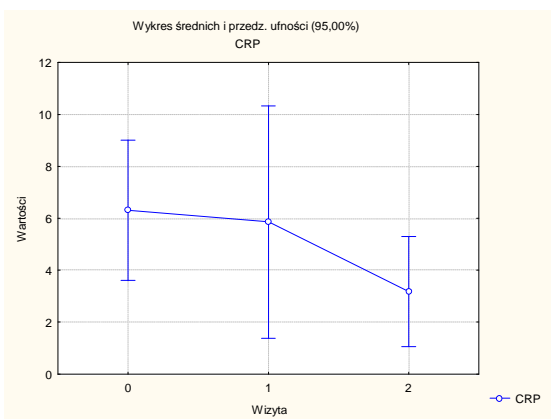


	p
FEV1>50%	0,79

Rycina 8. Stężenia fibrynogenu w podgrupach FEV1<50% i FEV1>50% grupy badanej podczas kolejnych wizyt.

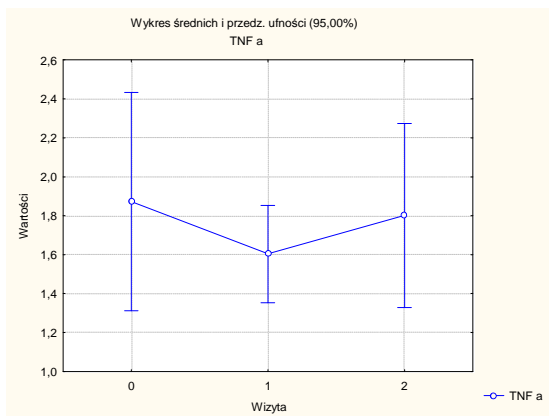
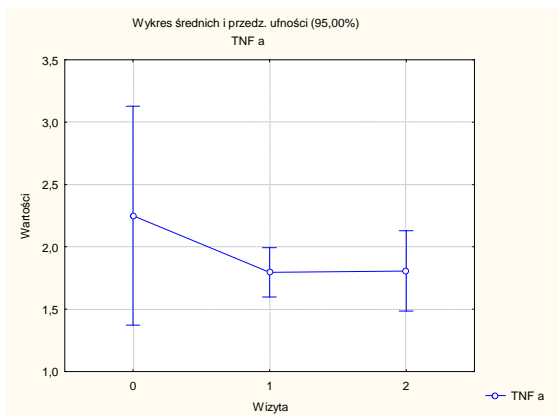


	p
FEV1<50%	0,29



	p
FEV1>50%	0,30

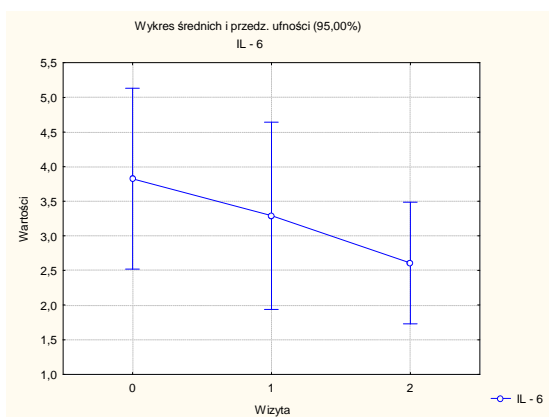
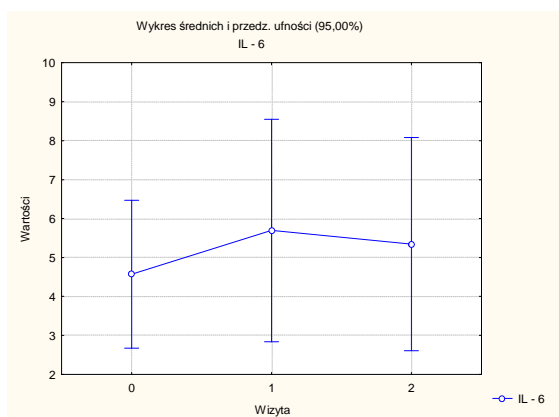
Rycina 9. Stężenia białka C-reaktywnego w podgrupach FEV1<50% i FEV1>50% grupy badanej podczas kolejnych wizyt.



	p
FEV1<50%	0,32

	p
FEV1>50%	0,63

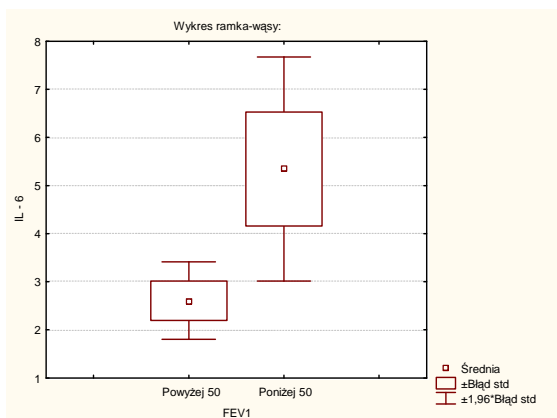
Rycina 10. Stężenia TNF-alfa w podgrupach FEV1<50% i FEV1>50% grupy badanej podczas kolejnych wizyt.



	p
FEV1<50%	0,76

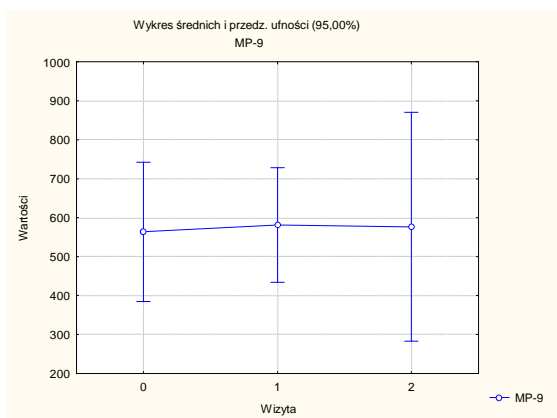
	p
FEV1>50%	0,32

Rycina 11. Stężenia interleukiny-6 w podgrupach FEV1<50% i FEV1>50% grupy badanej podczas kolejnych wizyt.

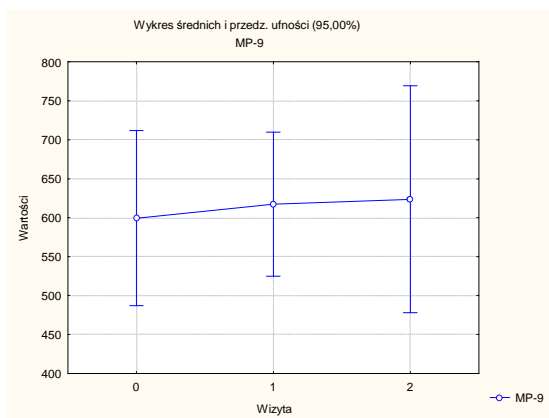


	Średnia FEV1>50%	Średnia FEV1<50%	P
IL - 6	2,6080	5,3444	0,016

Rycina 12. Stężenia interleukiny-6 w podgrupach FEV1<50% i FEV1>50% grupy badanej podczas wizyty 2.



	p
FEV1<50%	0,99



	p
FEV1>50%	0,95

Rycina 13. Stężenia metaloproteiny-9 w podgrupach FEV1<50% i FEV1>50% grupy badanej podczas kolejnych wizyt.

6.5. Parametry stanu zapalnego a polimorfizm genu dla IL-6 (174 C/G)

Obie grupy zostały poddane badaniu polimorfizmu genu interleukiny-6 w pozycji 174 (C/G). Częstość występowania poszczególnych genotypów w każdej z grup przedstawiono w poniższej tabeli.

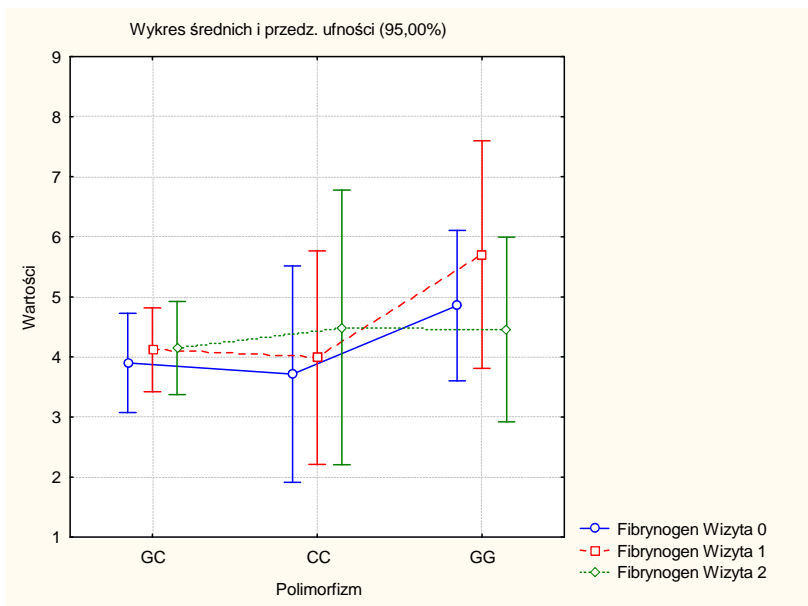
Tabela 6. Częstość występowania poszczególnych par alleli genu IL-6 w grupie badanej i grupie kontrolnej.

	Grupa K	Grupa B	Wiersz
GC	13	16	29
% ogółu	23,64%	29,09%	52,73%
CC	5	6	11
% ogółu	9,09%	10,91%	20,00%
GG	9	6	15
% ogółu	16,36%	10,91%	27,27%
Ogółem	27	28	55
% ogółu	49,09%	50,91%	100,00%

	Chi-kwadr.	df	p
Chi kwadrat Pearsona	,9833972	df=2	p=0,61
Chi² NW	,9878181	df=2	p=0,61

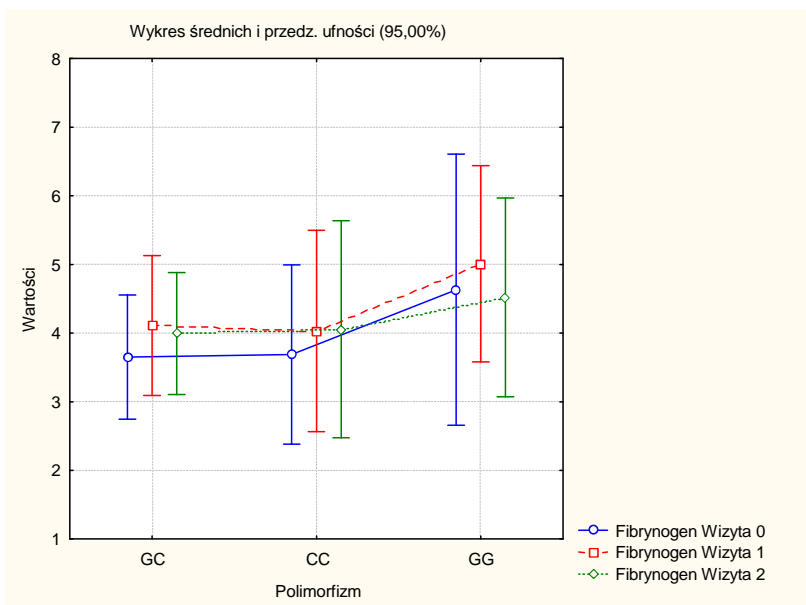
Nie stwierdzono istotnych różnic w częstości występowania polimorfizmu pomiędzy oboma grupami. Następnie w obu grupach wydzielono podgrupy osób z genotypem CC, GC i GG i poddano ocenie parametry stanu zapalnego w obrębie tych podgrup. Analizowano osobno grupę badaną i grupę kontrolną porównując poziomy wszystkich badanych parametrów stanu zapalnego pomiędzy podgrupami w kolejnych wizytach.

Na podstawie przeprowadzonej analizy nie wykryto istotnych statystycznie różnic w stężeniach badanych markerów stanu zapalnego pomiędzy podgrupami z poszczególnymi typami polimorfizmu genu IL-6. Nie wykazano także istotnych różnic w oznaczeniach z kolejnych wizyt w obrębie tej samej podgrupy. Zwraca uwagę nieznamienne wyższe stężenie IL-6 w podgrupie GG, aczkolwiek w grupie badanej wyjściowe stężenie było blisko granicy istotności statystycznej ($p=0,065$). Można także zauważyć nieznaczny spadek stężenia IL-6 w tej podgrupie w kolejnych oznaczeniach. Nie zaobserwowano istotnego wpływu polimorfizmu na działanie simwastatyny w grupie badanej. Wyniki w formie graficznej przedstawiono na poniższych rycinach.



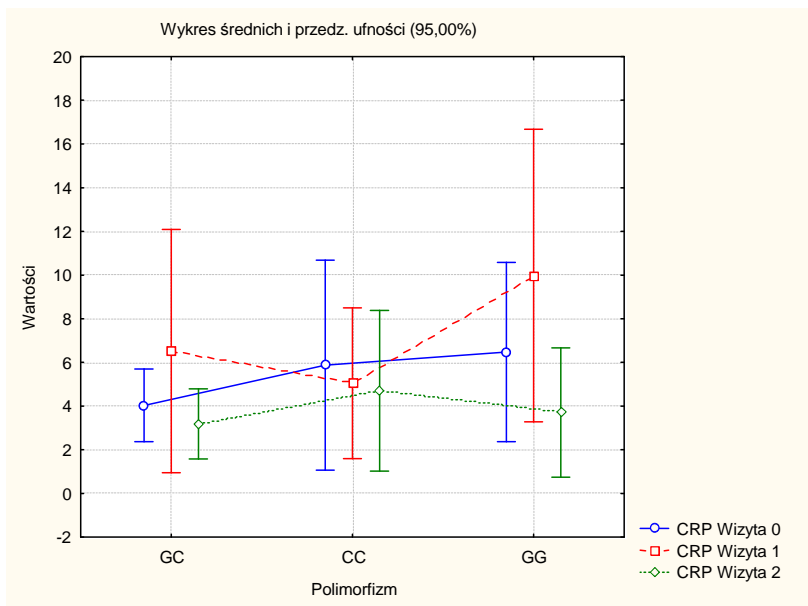
	p
Wizyta 0	0,36
Wizyta 1	0,08
Wizyta 2	0,86

Rycina 14. Stężenia fibrynogenu w podgrupach GC, CC i GG grupy badanej podczas kolejnych wizyt.



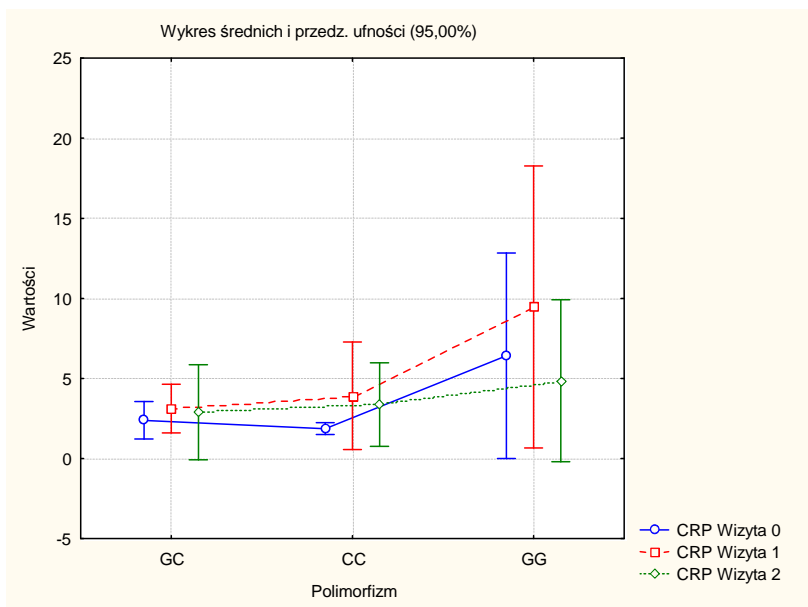
	p
Wizyta 0	0,45
Wizyta 1	0,41
Wizyta 2	0,73

Rycina 15. Stężenia fibrynogenu w podgrupach GC, CC i GG grupy kontrolnej podczas kolejnych wizyt.



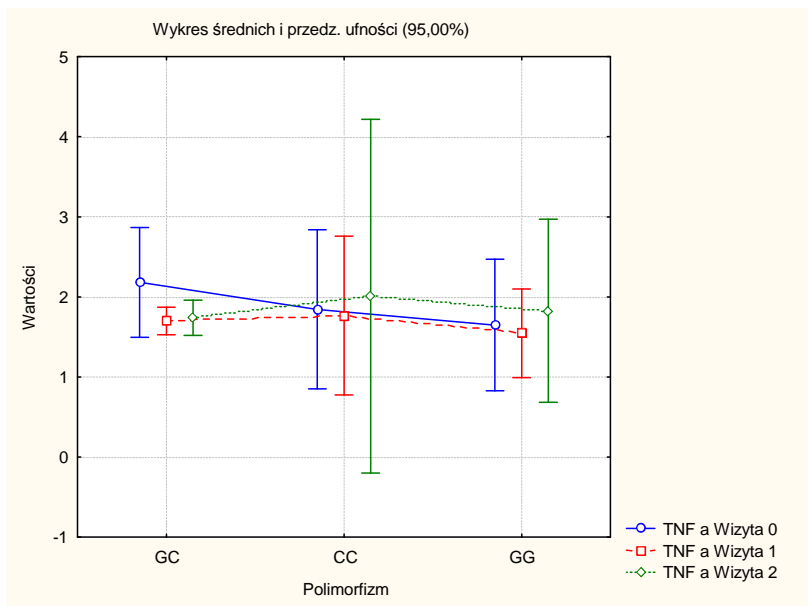
	p
Wizyta 0	0,56
Wizyta 1	0,87
Wizyta 2	0,33

Rycina 16. Stężenia białka C-reaktywnego w podgrupach GC, CC i GG grupy badanej podczas kolejnych wizyt.



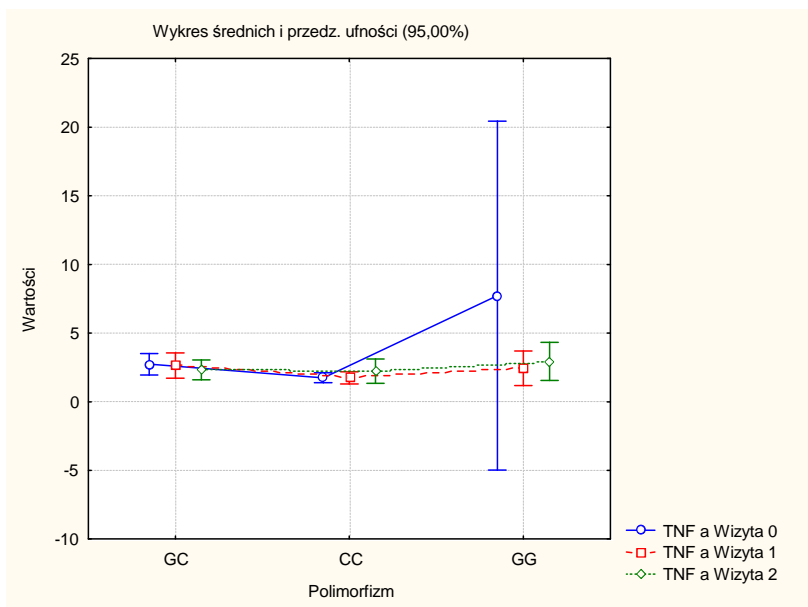
	p
Wizyta 0	0,16
Wizyta 1	0,11
Wizyta 2	0,68

Rycina 17. Stężenia białka C-reaktywnego w podgrupach GC, CC i GG grupy kontrolnej podczas kolejnych wizyt.



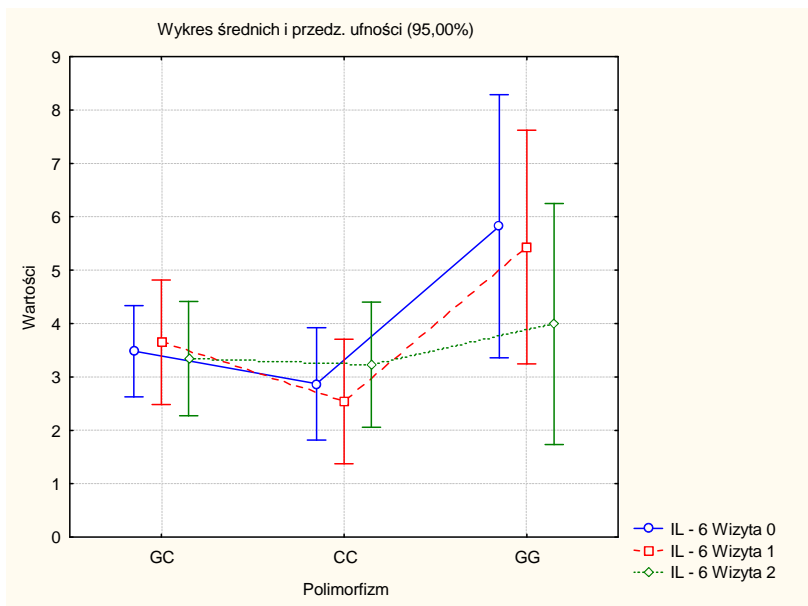
	p
Wizyta 0	0,60
Wizyta 1	0,67
Wizyta 2	0,80

Rycina 18. Stężenia TNF-alfa w podgrupach GC, CC i GG grupy badanej podczas kolejnych wizyt.



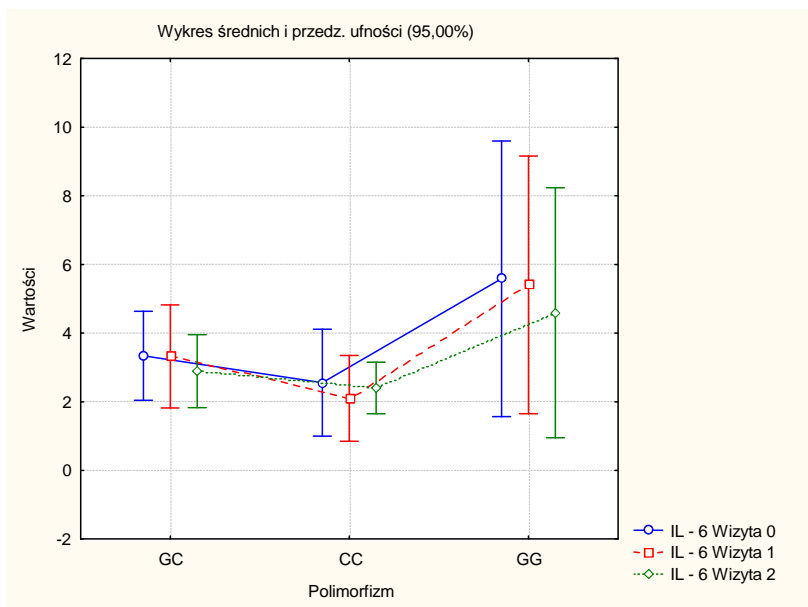
	p
Wizyta 0	0,40
Wizyta 1	0,56
Wizyta 2	0,50

Rycina 19. Stężenia TNF-alfa w podgrupach GC, CC i GG grupy kontrolnej podczas kolejnych wizyt.



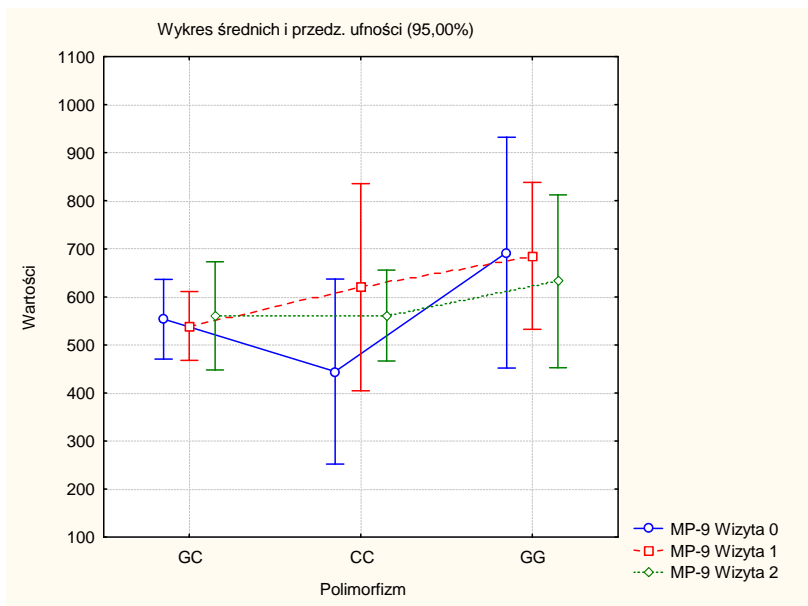
	p
Wizyta 0	0,06
Wizyta 1	0,45
Wizyta 2	0,77

Rycina 20. Stężenia interleukiny-6 w podgrupach GC, CC i GG grupy badanej podczas kolejnych wizyt.



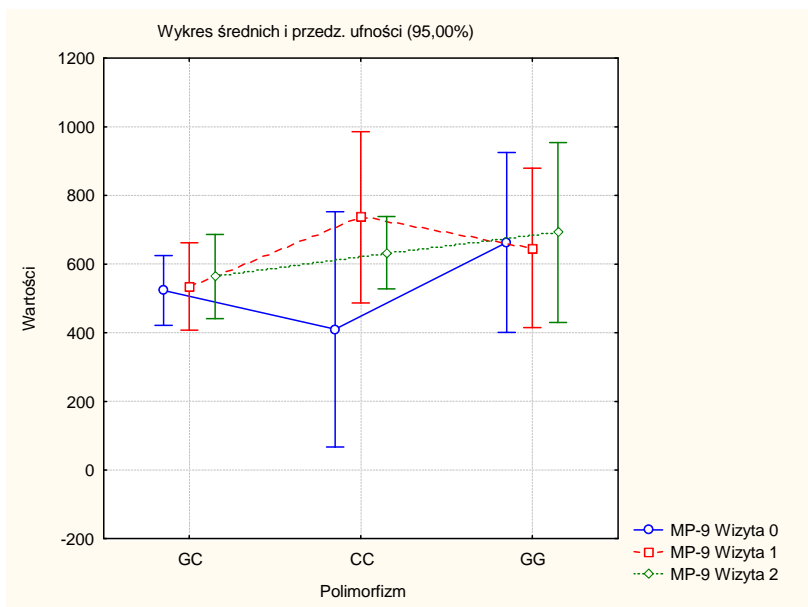
	p
Wizyta 0	0,21
Wizyta 1	0,19
Wizyta 2	0,33

Rycina 21. Stężenia interleukiny-6 w podgrupach GC, CC i GG grupy kontrolnej podczas kolejnych wizyt.



	p
Wizyta 0	0,50
Wizyta 1	0,12
Wizyta 2	0,87

Rycina 22. Stężenia metaloproteiny-9 w podgrupach GC, CC i GG grupy badanej podczas kolejnych wizyt.



	p
Wizyta 0	0,20
Wizyta 1	0,29
Wizyta 2	0,50

Rycina 23. Stężenia metaloproteiny-9 w podgrupach GC, CC i GG grupy kontrolnej podczas kolejnych wizyt.

7. Dyskusja

W niniejszym badaniu podjęto próbę oceny wpływu simwastatyny na proces zapalny jaki toczy się u chorych na POChP, na podstawie pomiarów stężeń kilku wybranych parametrów stanu zapalnego we krwi. Wyniki badań eksperymentalnych na zwierzętach oraz obserwacje pochodzące z badań populacyjnych ukazują potencjalny korzystny wpływ statyn na przebieg tej choroby.

7.1. Omówienie doboru chorych

Do obserwacji włączono 62 osoby z rozpoznaną wcześniej POChP, w postaci stabilnej w momencie rekrutacji. Stopień ciężkości choroby oceniano badaniem spirometrycznym według kryteriów GOLD. Szczególną uwagę zwrócono na inne współistniejące choroby, które mogłyby mieć ewentualny wpływ na badane parametry. Za kryteria wykluczające udział w badaniu przyjęto zaostrzenie choroby podstawowej w ciągu miesiąca poprzedzającego włączenie do badania, a także niestabilną chorobę niedokrwinną serca, udokumentowaną miażdżycę tętnic obwodowych, cukrzycę, ostre infekcje, przewlekłe choroby zapalne oraz choroby nowotworowe. Ponadto u wszystkich rekrutowanych chorych wykonano spoczynkowe badanie elektrokardiograficzne w celu wykluczenia niedokrwienia mięśnia sercowego oraz przezklatkowe badanie echokardiograficzne w celu oceny czynności lewej i prawej komory oraz wykluczenia ewentualnego kardiologicznego tła duszności.

Chorych przydzielono następnie losowo do grupy badanej i grupy kontrolnej. Z uwagi na badanie tylko parametrów stanu zapalnego, bez oceny kryteriów klinicznych, zrezygnowano z zaślepienia grup. Poza porównaniem grupy badanej z grupą kontrolną, w dalszej analizie dokonano podziału grup pod względem ciężkości choroby ocenianej wartością FEV1. Ze względu na niewielką liczbę chorych z FEV1>80% oraz FEV1<30%, chorych podzielono na dwie podgrupy; podgrupę FEV1>50% (czyli chorych z łagodną i umiarkowaną POChP) oraz podgrupę FEV1<50% (czyli chorych z ciężką i bardzo ciężką POChP wg kryteriów GOLD). W celu potwierdzenia przyjmowania simwastatyny przez chorych z grupy badanej oceniono lipidogram wyjściowo oraz po zakończeniu badania stwierdzając znamienne statystycznie obniżenie stężenia cholesterolu całkowitego (z 5,68 mmol/l do 4,71 mmol/l; p=0,0075)

oraz frakcji LDL cholesterolu (z 3,46 mmol/l do 2,47 mmol/l; $p=0,00002$). W trakcie badania monitorowano także stężenie CK i ALAT w surowicy, w celu oceny bezpieczeństwa stosowanego leku. U żadnej z badanych osób nie stwierdzono podwyższenia stężenia w/w parametrów zmuszającego do odstawienia preparatu i wykluczenia z badania.

7.2. Omówienie wyników badań

7.2.1. Parametry stanu zapalnego

Jest to jedno z pierwszych badań oceniających wpływ terapii statyną na zmniejszenie stanu zapalnego u chorych na POChP. Wyjściowe stężenia parametrów stanu zapalnego były porównywalne w obu grupach. Stężenia CRP, IL-6 miały podobne wartości jak w badaniu Garrod'a i wsp. [119], a w metaanalizie Gan'a i wsp. uzyskano zbliżone wartości CRP i fibrynogenu [120]. W trakcie 3 miesięcznej terapii simwastatyną nie zaobserwowano istotnej zmiany stężeń badanych parametrów. Jedynie stężenie CRP obniżyło się w trakcie leczenia, jednak nie było to istotne statystycznie. Zaobserwowano także nieznamienny spadek stężenia IL-6 wśród chorych z łagodną i umiarkowaną POChP w grupie badanej oraz istotnie niższe stężenie IL-6 w tej podgrupie w porównaniu do podgrupy chorych z ciężką i bardzo ciężką POChP po trzech miesiącach obserwacji. Wyniki te nie są zgodne z pracą Lee i wsp., którzy wykazali istotne obniżenie poziomu CRP i IL-6 z towarzyszącym zwiększeniem tolerancji wysiłku, mierzonym testem 6 minutowego marszu, u chorych na POChP leczonych prawastatyną [121]. Jednak badanie to trwało 6 miesięcy, obserwowane grupy były znacznie większe, jak również w badaniu tym zastosowano inną statynę. Ponadto chorzy mieli znacznie wyższe wyjściowe wartości IL-6, a istotna redukcja stężenia CRP dotyczyła tylko chorych u których było ono podwyższone przed leczeniem. W niniejszym badaniu obserwowany nieistotny spadek stężenia CRP dotyczył głównie chorych z $FEV_1 > 50\%$.

Uzyskane wyniki, w konfrontacji z danymi z badań retrospektywnych, dotyczących korzyści płynących ze stosowania statyn w POChP, mogą świadczyć o złożoności mechanizmów odpowiedzialnych za patogenezę tej choroby. W chorobie niedokrwiennej serca korzystne działanie statyn, zarówno pod względem redukcji

ryzyka zawału serca, jak i wpływu na parametry stanu zapalnego mierzone we krwi, jest wynikiem działania leku na niestabilne blaszki miażdżycowe, pobudzony śródbłonek naczyń i krążące we krwi komórki zapalne. Można więc stwierdzić, że parametry stanu zapalnego oznaczane we krwi, są mierzone w tej chorobie niejako *in situ*. Ocena stanu zapalnego, ograniczona w niniejszym badaniu jedynie do pomiarów stężeń badanych parametrów we krwi, ma charakter bardzo wycinkowy. Pomimo ogólnoustrojowego charakteru choroby głównym miejscem toczącego się procesu zapalnego jest układ oddechowy. Dlatego wydaje się, że ocena stanu zapalnego w materiale pobranym bezpośrednio z dróg oddechowych, np. w kondensacie powietrza wydechowego lub indukowanej plwocinie, które można uzyskać w prosty i nieinwazyjny sposób, mogłaby być bardziej pomocna w określeniu roli statyn w POChP.

Poza kwestią lokalizacji procesu zapalnego w POChP, powinien być także brany pod uwagę inny możliwy mechanizm działania statyn w tej chorobie. W wielu badaniach eksperymentalnych wykazano, że działanie to wykracza poza wpływ na uwalnianie cytokin zapalnych. Statyny odgrywają również rolę w regulacji układu krzepnięcia [88], a także w aktywacji i regulacji układu immunologicznego, w tym m.in. migracji komórek do miejsca procesu zapalnego [122]. We wspomnianej już chorobie niedokrwiennej serca, wpływ statyn na redukcję ryzyka ostrych epizodów wieńcowych, a w konsekwencji na redukcję śmiertelności, wynika nie tylko z tzw. stabilizacji blaszek miażdżycowych, ale także z działania antyagregacyjnego oraz hamującego aktywację układu krzepnięcia. Można więc stwierdzić, że redukcja ryzyka dotyczy osób zagrożonych, u których procesy te są nasilone. Takie nasilenie w/w procesów ma również miejsce w trakcie zaostrzeń POChP. Polosa i wsp. wykazali, że u chorych w trakcie zaostrzenia POChP dochodzi do nasilenia procesu zapalnego, mierzonego stężeniem IL-6, aktywacji komórek śródbłonna ze zwiększeniem ekspresji czynnika von Willebranda oraz aktywacji układu krzepnięcia i fibrynolizy ocenianych stężeniami fragmentów F1+2 protrombiny oraz D-dimerów. Wzrost stężeń oznaczanych markerów był istotny statystycznie w porównaniu do ich stężeń w stabilnym okresie choroby [123]. Natomiast w przeprowadzonej przez Blamoun i wsp. rocznej obserwacji chorych po epizodzie zaostrzenia POChP wykazano, że u osób przyjmujących statynę przed włączeniem do badania znacznie rzadziej występowały kolejne zaostrzenia choroby oraz związana z nimi konieczność intubacji [124]. W niniejszym badaniu nie wykazano istotnych różnic na poziomie markerów zapalnych, w tym także w zależności

od stopnia ciężkości choroby, jednak wyniki powyższych badań pozwalają przypuszczać, że ocena tych parametrów w okresie zaostrzenia choroby i porównanie ich z okresem stabilnym pozwoliłyby uzyskać znamienne wyniki.

Wspomniano już, że zarówno w POChP jak i w chorobach układu krążenia dużą rolę odgrywa związana ze stanem zapalnym aktywacja układu krzepnięcia. Związki te, u chorych na POChP, potwierdzili Alessandri i wsp. [125] jak również Ferroni i wsp. [126]. Korzystna rola statyn w naturalnym przebiegu tych chorób może więc także wynikać z modyfikacji aktywności tego układu. Dowodem na to mogą być wyniki badania przeprowadzonego przez Undas i wsp. [praca w trakcie publikacji] na tym samym materiale chorych co niniejsza praca. W badaniu tym wykazano, że uzyskiwane *in vitro* skrzepy fibrynowe u chorych na POChP mają bardziej gęstą strukturę i są bardziej odporne na fibrylizę w porównaniu do skrzepów uzyskiwanych w grupie kontrolnej zdrowych osób. Gęstość skrzepu oraz oporność na fibrylizę korelowała ze stężeniem CRP. Można więc wysunąć hipotezę, że u chorych w czasie zaostrzenia, u których stężenie CRP jest podwyższone, także układ krzepnięcia ulega aktywacji, co wiąże się ze zwiększonym ryzykiem powikłań zakrzepowo-zatorowych mogących wpływać na rokowanie u tych chorych. W badaniu tym wykazano także, że w grupie przyjmującej statynę struktura skrzepu oraz podatność na fibrylizę ulegała poprawie, więc być może ten mechanizm odgrywa rolę w poprawie rokowania u chorych na POChP przyjmujących statyny.

Voelkel i wsp. wskazują na istotną rolę uszkodzenia śródbłonna naczyń płucnych w rozwoju nadciśnienia płucnego i rozedmy płuc u chorych na POChP [127]. Zwracają oni uwagę na kluczową rolę czynnika wzrostu komórek śródbłonna naczyń (VEGF) w prawidłowej funkcji śródbłonna naczyń płucnych, jak również otaczającej je tkanki płucnej. Jego niedobór może prowadzić do dysfunkcji śródbłonna naczyń płucnych poprzez zmniejszenie syntezy prostacykliny i tlenku azotu. Może także odpowiadać za uszkodzenie miąższu płucnego i rozwój rozedmy poprzez zmniejszenie syntezy dysmutazy nadtlenkowej w komórkach śródbłonna oraz nasilenie apoptozy komórek nabłonka oraz śródbłonna naczyń przegrod pęcherzykowych [128]. Nishimoto-Hazuku i wsp. opisali niedawno wpływ simwastatyny na zwiększenie syntezy VEGF w komórkach śródbłonna, więc może jest to kolejny mechanizm współodpowiedzialny za korzystne działanie statyn w POChP, w tym także za opisywane przez Girgis i wsp. hamowanie rozwoju nadciśnienia płucnego u szczurów hodowanych w warunkach

hipoksji [98].

7.2.2. *Polimorfizm genu interleukiny-6 (174 G/C)*

Poza niewątpliwym czynnikiem etiologicznym POChP, jakim jest narażenie na dym tytoniowy, istotną rolę w rozwoju tej choroby odgrywa predyspozycja genetyczna. Potwierdza to fakt występowania tej choroby tylko u części nałogowych palaczy, jak również, choć rzadko, u osób niepalących. W licznych badaniach próbowano ustalić wpływ polimorfizmów różnych genów na ryzyko rozwoju lub przebieg POChP. Uznany defektem genetycznym jest niedobór alfa 1 antytrypsyny, prowadzący do rozwoju rozedmy płuc.

W niniejszym badaniu poddano ocenie polimorfizm genu interleukiny-6 w pozycji 174 (C/G) odcinka promotora. Istnieje bowiem wiele badań, zarówno wśród chorych na POChP jak również na choroby układu sercowo-naczyniowego oraz przewlekłe choroby zapalne, które ukazują zależne od genotypu różnice w poziomie markerów stanu zapalnego, przebiegu naturalnym choroby, czy w skuteczności stosowanego leczenia.

Częstość występowania genotypu GG w badanej populacji wynosiła 27,3%, genotypu CC 20%, a genotypu GC 52,7%. Rozkład polimorfizmu był podobny jak w badaniu Cordoba-Lanus i wsp. przeprowadzonym u chorych na POChP mieszkańców Teneryfy [117]. Zbliżony rozkład polimorfizmu wykazano także w kilku badaniach u chorych z chorobą niedokrwienną serca [113,114,130], jak również u chorych z miażdżycą tętnic szyjnych [115]. Z kolei inny rozkład, ze znacznie większą częstością występowania genotypu GG, wykazali Potaczek i wsp. u chorych z hipercholesterolemią [131], Antonicelli i wsp. w grupie starszych chorych po zawale serca [112], a także Humphries i wsp. w grupie zdrowych mężczyzn [111].

W niniejszym badaniu nie wykazano istotnego statystycznie wpływu badanego polimorfizmu na stężenia parametrów stanu zapalnego. Można jednak zauważyć w podgrupie z genotypem GG wyższe stężenie interleukiny-6, które w grupie badanej było wyjściowo na granicy istotności statystycznej ($p=0,06$) i w trakcie stosowania simwastatyny ulegało stopniowemu, choć nieznamiennemu obniżeniu. Podobny związek stężenia IL-6 z genotypem GG u chorych na POChP opisali Eddahibi i wsp. [118]. Wykazali oni także podwyższone średnie ciśnienie płucne u osób z tym

genotypem w porównaniu do osób z genotypem GC i CC. Także u osób zdrowych Fernandez-Real i wsp. zaobserwowali nieznamiennie wyższe stężenie IL-6 wśród osób z genotypem GG, czemu towarzyszyły podwyższone stężenia trójglicerydów, frakcji VLDL cholesterolu oraz obniżone stężenie frakcji HDL cholesterolu, w porównaniu z nosicielami allele C [132]. U osób z miażdżycą tętnic szyjnych, opisanych przez Rauramaa i wsp., stężenia IL-6 i fibrynogenu również były nieznacznie podwyższone w grupie z genotypem GG, ponadto u osób z tym genotypem stwierdzono znamienne grubszy kompleks intima-media [115]. Antonicelli i wsp. wykazali natomiast związek genotypu GG ze zwiększonym ryzykiem zgonu w rocznej obserwacji chorych po zawale serca, pomimo braku różnic w stężeniu CRP między grupami z poszczególnymi genotypami [112]. Inne wyniki uzyskali Basso i wsp. w analizie populacji uczestników badania WOSCOPS [114]. Stężenia CRP, fibrynogenu i IL-6 nie różniły się istotnie pomiędzy grupami, były natomiast nieznacznie wyższe w grupie z genotypem CC. Ponadto grupa ta charakteryzowała się niższym ryzykiem wystąpienia choroby niedokrwiennej serca przy stosowaniu prawastatyny, co mogło być związane z największą redukcją LDL cholesterolu w tej grupie. Z kolei Humphries i wsp. wykazali zwiększone ryzyko wystąpienia choroby wieńcowej w grupie zdrowych mężczyzn z genotypem GC, co wiązali z wyższym skurczowym i rozkurczowym ciśnieniem tętniczym w tej grupie, natomiast nie wykazali związku polimorfizmu ze stężeniem fibrynogenu i CRP [111]. W badaniu przeprowadzonym na grupie osób z hipercholesterolemią, Potaczek i wsp. wykazali niższe stężenia CRP i IL-6 w grupie z genotypem GG, jak również istotne obniżenie stężeń CRP i IL-6 po leczeniu simwastatyną i fenofibratem. Nosicielstwo allele C wiązało się z większą redukcją stężenia IL-6 po zastosowaniu fenofibratu. Polimorfizm ten nie wpływał na różnice w redukcji stężenia CRP i IL-6 po leczeniu simwastatyną [131]. W innym badaniu u chorych na chorobę niedokrwinną serca Potaczek i wsp. również nie wykazali związku w/w polimorfizmu z redukcją stężeń CRP i interleukiny-6 uzyskaną po leczeniu atorwastatyną i inhibitorem konwertazy angiotensyny [130]. Brak związku polimorfizmu genu interleukiny-6 (174 G/C) z klasycznymi czynnikami ryzyka chorób układu sercowo-naczyniowego, jak również z wystąpieniem zawału serca, opisali Lieb i wsp. na podstawie analizy populacji dwóch dużych miast w Bawarii [113].

Wyniki powyższych badań ukazują, że polimorfizm ten może odgrywać rolę w przebiegu stanu zapalnego, zarówno w POChP jak i w chorobach układu sercowo-

naczyniowego, jednak rola ta nie jest do końca wyjaśniona. Poszczególne badania były przeprowadzone na różnych populacjach, zarówno pod względem wywiadu chorobowego, jak i liczebności, stąd uzyskiwane wyniki mogły być rozbieżne, lub czasem nawet sprzeczne. Ponadto biorąc pod uwagę złożoność procesu zapalnego oraz fakt, że mutacja ta nie upośledza istotnie działania tej cytokiny, trudno oczekiwać by mogła ona mieć znaczący wpływ na stan zapalny, lub na rozwój i przebieg poszczególnych jednostek chorobowych.

Negatywne wyniki uzyskane w niniejszym badaniu nie wykluczają możliwych korzyści płynących ze stosowania statyn u chorych na POChP. Badanie to miało kilka ograniczeń, które mogły mieć wpływ na uzyskane wyniki. W badaniu uczestniczyła niejednorodna i niezbyt liczna grupa chorych, a czas obserwacji był stosunkowo krótki. W odniesieniu do publikacji ukazujących korzyści kliniczne jakie niesie stosowanie statyn, powyższe wyniki ukazują złożoność procesu zapalnego w tej chorobie, jak również sugerują możliwe inne mechanizmy działania statyn. Dlatego konieczne jest zaprojektowanie dużych prospektywnych badań, o dłuższym, przynajmniej 6 miesięcznym czasie obserwacji, oceniających wpływ statyn na parametry kliniczne ale również biochemiczne. Ocena parametrów stanu zapalnego powinna obejmować także materiał uzyskany z dróg oddechowych np. kondensat powietrza wydechowego lub indukowaną plwocinę i powinna dotyczyć zarówno stabilnego okresu choroby jak również okresu zaostrzeń.

8. *Wnioski*

1. U chorych na POChP nie zaobserwowano istotnego statystycznie wpływu stosowania simwastatyny na oznaczane parametry stanu zapalnego, w stabilnym okresie choroby.
2. Zaobserwowano nieistotne zmniejszenie stężenia białka C-reaktywnego w grupie badanej, zwłaszcza w podgrupie chorych z łagodną i umiarkowaną POChP.
3. Stwierdzono nieznamienne spadek stężenia IL-6, wśród chorych z łagodną i umiarkowaną POChP w grupie badanej, oraz istotnie niższe stężenie IL-6 w tej podgrupie po trzech miesiącach obserwacji.
4. Nie stwierdzono istotnego wpływu polimorfizmu genu interleukiny-6 (174 C/G) na stężenia badanych parametrów, zaobserwowano natomiast nieznamienne wyższe stężenia w podgrupie z genotypem GG
5. Wyjściowe stężenie IL-6 w podgrupie z genotypem GG grupy badanej było wyższe niż w podgrupach z genotypami CC i CG; różnica ta była bliska istotności statystycznej ($p=0,06$)
6. W podgrupie tej zaobserwowano stopniowe, choć nieistotne statystycznie obniżenie stężenia IL-6, tendencji tej nie obserwowano w pozostałych podgrupach grupy badanej oraz w grupie kontrolnej.

9. Streszczenie

Wstęp: Przewlekła obturacyjna choroba płuc (POChP) jest chorobą zapalną charakteryzującą się niecałkowicie odwracalnym ograniczeniem przepływu powietrza w drogach oddechowych. Głównym czynnikiem etiologicznym jest dym tytoniowy oraz w mniejszym stopniu inne pyły i gazy powodujące drażnienie nabłonka układu oddechowego i odczyn zapalny, z zaburzeniem równowagi pomiędzy utleniaczami i antyutleniaczami oraz pomiędzy proteinazami i antyproteinazami. Istnieją doniesienia, że POChP może być czynnikiem ryzyka choroby niedokrwiennej serca. Obecność objawów przewlekłego zapalenia oskrzeli a także cechy obturacji drzewa oskrzelowego w badaniu spirometrycznym zwiększają w stopniu istotnym statystycznie ryzyko wystąpienia choroby wieńcowej oraz śmiertelność z powodu choroby wieńcowej niezależnie od obecności klasycznych czynników ryzyka. Inhibitory reduktazy HMG-CoA (statyny) to grupa leków hipolipemizujących, które poprzez hamowanie syntezy izoprenoidów, regulują także wiele szlaków sygnałowych w komórce. To plejotropowe działanie statyn odpowiada za korzystne efekty w prewencji pierwotnej i wtórnej chorób układu sercowo-naczyniowego. W przeprowadzonych analizach retrospektywnych oraz badaniach obserwacyjnych stwierdzono również korzystny wpływ przyjmowania statyn na redukcję śmiertelności w grupie chorych na POChP. W badaniach eksperymentalnych na zwierzętach narażonych na dym tytoniowy lub przewlekłą hipoksję zaobserwowano, że podawanie simwastatyny zmniejsza nasilenie stanu zapalnego, uszkodzenie mięszu płucnego oraz rozwój nadciśnienia płucnego. W ostatnim czasie zaobserwowano związek polimorfizmu genu dla interleukiny-6 w pozycji 174 odcinka promotora (C/G) z poziomem markerów zapalnych (IL-6, białka C-reaktywnego), istnieją także doniesienia o wpływie tego polimorfizmu na profil lipidowy oraz ryzyko występowania chorób układu sercowo-naczyniowego.

Cele pracy: Celem pracy była ocena wpływu simwastatyny na parametry stanu zapalnego (CRP, fibrynogenu, TNF-alfa, IL-6 i MMP-9) mierzone we krwi u chorych na POChP w stabilnym okresie choroby, a także ocena polimorfizmu genu IL-6 w pozycji 174 (C/G) w tej grupie chorych i jego ewentualnego wpływu na badane parametry zapalne oraz działanie simwastatyny.

Metody: Do badania włączono 56 chorych na POChP, bez zaostrzeń w ciągu ostatniego

miesiąca i nie leczonych wcześniej statynami. Chorzy zostali losowo podzieleni na grupę badaną otrzymującą simwastatynę w dawce 40 mg przez 3 miesiące oraz grupę kontrolną nie otrzymującą leku. Próbki krwi zostały pobrane wyjściowo, po 2 tygodniach i po 3 miesiącach od rozpoczęcia badania. Stężenie fibrynogenu w osoczu oceniano metodą koagulometryczną, stężenie CRP w surowicy mierzono metodą nefelometryczną, natomiast stężenia TNF-alfa, IL-6 i MMP-9 w surowicy oceniano metodą immunoenzymatyczną. Polimorfizm genu IL-6 oceniano przy użyciu metody reakcji łańcuchowej polimerazy.

Wyniki: Po 3 miesiącach stosowania simwastatyny nie zaobserwowano istotnego statystycznie zmniejszenia stężeń badanych markerów stanu zapalnego. Stwierdzono natomiast nieznamiennie obniżenie stężenia CRP w grupie badanej. Obie grupy podzielono pod względem ciężkości POChP (ocenianym badaniem spirometrycznym) na podgrupę z $FEV1 > 50\%$ (chorzy z łagodną i umiarkowaną POChP) oraz $FEV1 < 50\%$ (chorzy z ciężką i bardzo ciężką POChP). W podgrupie chorych z $FEV1 > 50\%$ zaobserwowano nieistotne statystycznie zmniejszenie stężeń CRP i IL-6 w trakcie stosowania simwastatyny. Stwierdzono także znamienne niższe stężenie IL-6 w tej podgrupie, w porównaniu do podgrupy z $FEV1 < 50\%$ po 3 miesiącach obserwacji, różnica ta nie była jednak bezpośrednio związana z działaniem simwastatyny.

Nie stwierdzono istotnego wpływu polimorfizmu genu IL-6 na stężenia badanych parametrów, zaobserwowano jednakże nieznamiennie wyższe stężenia markerów zapalnych w podgrupie z genotypem GG, a wyjściowe stężenie IL-6 w tej podgrupie grupy badanej było wyższe na granicy istotności statystycznej ($p=0,06$). W podgrupie tej stwierdzono także nieistotny spadek stężenia IL-6 w trakcie obserwacji.

Wnioski: Pomimo doniesień o pozytywnym wpływie stosowania statyn na naturalny przebieg POChP nie stwierdzono wpływu simwastatyny na badane we krwi parametry stanu zapalnego w trakcie trzymiesięcznej obserwacji. Przyczyny takich wyników można upatrywać między innymi w krótkim czasie obserwacji, stosunkowo niewielkiej ilości badanych chorych oraz oceny stanu zapalnego tylko w stabilnym okresie choroby. Korzystny wpływ statyn na zmniejszenie śmiertelności w POChP może także wynikać z innych mechanizmów działania tych leków np.: immunomodulującego lub wpływu na układ krzepnięcia. Ocena działania simwastatyny także w trakcie zaostrzeń POChP oraz pomiar parametrów zapalnych bezpośrednio w drogach oddechowych np.: w kondensacie powietrza wydechowego mogłyby dać odmienne wyniki.

10. Summary

Background: Chronic obstructive pulmonary disease is a disorder of lower respiratory tract characterized by airflow limitation that is not fully reversible. Main etiologic factor is cigarette smoking, which provokes chronic airways inflammation, oxidative stress, proteases/antiproteases imbalance and lung damage in susceptible persons. There is a growing body of evidence that chronic obstructive pulmonary disease is a risk factor of coronary heart disease. Symptoms of chronic cough and signs of obstruction in spirometry may be associated with increased mortality rate from coronary heart disease. HMG CoA reductase inhibitors (statins) are hypolipemic drugs, which through inhibition of isoprenoids synthesis can also regulate cell signal pathways. This pleiotropic action of statins accounts for benefits in primary and secondary prevention from cardiovascular diseases. Recent studies suggest that statins may be useful in reduction of mortality in COPD. Experimental studies on animals exposed to cigarette smoke or exposed to hypoxia showed positive action of statins on airways inflammation, lung damage and pulmonary hypertension. There are some confusing data concerning association of interleukin-6 gene promoter polymorphism (174 C/G) with levels of inflammatory markers, lipid profile and strength of statin action as well as with cardiovascular risk.

Aims: The aim of the study was to evaluate the influence of simvastatin on inflammatory markers (CRP, fibrinogen, TNF-alpha, IL-6, MMP-9) measured in blood of patients with stable COPD. Another aim was the assessment of IL-6 gene promoter polymorphism (174 C/G) in this group of patients, and its potential impact on measured inflammatory markers and action of simvastatin.

Patients and methods: 56 patients with stable COPD, without prior statin treatment, were randomly assigned (1:1) on an open-label basis to experimental and control groups, which - respectively - received simvastatin 40 mg/d and remained without statin for 3 months. Blood samples were collected before, 2 weeks and 3 months after starting statin administration. Fibrinogen level in plasma and CRP, TNF-alpha, IL-6 and MMP-9 levels in serum were measured using standard laboratory methods. IL-6 gene promoter polymorphism (174 C/G) was assessed using polymerase chain reaction.

Results: After 3 months of simvastatin treatment no statistically significant reduction of any of studied inflammatory markers was observed. Non significant reduction of CRP in

simvastatin group was noticed. Both groups were further divided according to severity of COPD into two subgroups: FEV1>50% subgroup (mild and moderate COPD) and FEV1<50% subgroup (severe and very severe COPD). Non significant reduction of CRP and IL-6 was observed in subgroup with FEV1>50% during simvastatin treatment. Significantly lower level of IL-6 was observed in this subgroup comparing to the other one after 3 months. The difference was not directly associated with simvastatin action. The subgroup with GG interleukin 6 genotype had slightly higher concentrations of inflammatory markers, and the difference in level of IL-6 in this subgroup was of borderline significance ($p=0,06$). Only in GG subgroup decreasing trend of IL-6 concentration after simvastatin treatment was observed.

Conclusion: Despite clinical evidence of statin-associated reduction of mortality in COPD patients no significant changes in levels of inflammatory markers after 3 months of simvastatin administration were observed. The reason for such results may lie in short time of observation, relatively small number of participants and stable state of the disease. Beneficial influence of statins on mortality reduction in COPD may result from impact on coagulation or immune response. Assessment of inflammation also during exacerbations of COPD and measurements of inflammatory markers directly in respiratory tract by means of e.g. exhaled air condensate may give different results.

11. Piśmiennictwo

1. Global initiative for Chronic Obstructive Lung Disease. Global strategy for the diagnosis, management, and prevention of chronic obstructive pulmonary disease (2006)
2. Fletcher C, Peto R. The natural history of chronic airflow obstruction., 1977; I:1645-1658
3. Lopez AD, Shibuya K, Rao C, Mathers CD, Hansell AL, Held LS, Schmid V, Buist S.: Chronic obstructive pulmonary disease: current burden and future projections. *Eur Respir J.* 2006;27:397-412
4. Murray CJ, Lopez AD. Alternative projections of mortality and disability by cause 1990-2020: Global Burden of Disease Study. *Lancet.* 1997;349:1498-504
5. Halbert RJ, Natoli JL, Gano A, Badamgarav E, Buist AS, Mannino DM. Global burden of COPD: systematic review and meta-analysis. *Eur Respir J.* 2006; 28:523-32
6. Halbert RJ, Isonaka S, George D, Iqbal A. Interpreting COPD prevalence estimates: what is the true burden of disease? *Chest.* 2003;123:1684-92
7. Fukuchi Y, Nishimura M, Ichinose M, Adachi M, Nagai A, Kuriyama T, Takahashi K, Nishimura K, Ishioka S, Aizawa H, Zaher C. COPD in Japan: the Nippon COPD Epidemiology study. *Respirology.* 2004;9:458-65
8. Menezes AM, Perez-Padilla R, Jardim JR, Muiño A, Lopez MV, Valdivia G, Montes de Oca M, Talamo C, Hallal PC, Victora CG. Chronic obstructive pulmonary disease in five Latin American cities (the PLATINO study): a prevalence study. *Lancet.* 2005;366:1875-81
9. Nizankowska-Mogilnicka E, Mejza F, Buist S, Vollmer WM, Skucha W, Harat R, Pająk A, Gaşowski J, Frey J, Nastalek P, Twardowska M, Janicka J, Szczeklik A. Prevalence of COPD and tobacco smoking in Malopolska region – results from the BOLD study in Poland. *Pol Arch Med Wewn.* 2007; 117:402-409
10. Burrows B, Knudson RJ, Cline MG, Lebowitz MD. Quantitative relationships between cigarette smoking and ventilatory function. *Am. Rev. Respir. Dis.* 1977;115:195–205

11. Eagan TM, Gulsvik A, Eide GE, Bakke PS. Remission of respiratory symptoms by smoking and occupational exposure in a cohort study. *Eur. Respir. J.* 2004;23:589-594
12. The Health Consequences of Involuntary Exposure to Tobacco Smoke: A Report of the Surgeon General, Department of Health and Human Services. Washington, DC, US, 2006
13. Eisner MD, Balmes J, Katz BP, Trupin L, Yelin E, Blanc P. Lifetime environmental tobacco smoke exposure and the risk of chronic obstructive pulmonary disease. *Environ. Health Perspect.* 2005;4: 7–15
14. Viegi G, Pistelli F, Sherrill DL, Maio S, Baldacci S, Carozzi L. Definition, epidemiology and natural history of COPD. *Eur. Respir. J.* 2007;30:993-1013
15. Silverman EK, Palmer LJ, Mosley JD, Barth M, Senter JM, Brown A, et al. Genomewide linkage analysis of quantitative spirometric phenotypes in severe early-onset chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Hum Genet.* 2002;70:1229–1239
16. Stoller JK, Aboussouan LS. Alpha1-antitrypsin deficiency. *Lancet.* 2005; 365:2225–2236
17. Blanco I, de Serres FJ, Fernandez-Bustillo E, Lara B, Miravittles M. Estimated numbers and prevalence of PI*S and PI*Z alleles of alpha1-antitrypsin deficiency in European countries. *Eur Respir J.* 2006;27:77–84
18. McCloskey SC, Patel BD, Hinchliffe SJ, Reid ED, Wareham NJ, Lomas DA. Siblings of patients with severe chronic obstructive pulmonary disease have a significant risk of airflow obstruction. *Am J Respir Crit Care Med.* 2001;164: 1419–1424
19. Matheson MC, Benke G, Raven J, Sim MR, Kromhout H, Vermeulen R, et al. Biological dust exposure in the workplace is a risk factor for chronic obstructive pulmonary disease. *Thorax.* 2005;60:645–651
20. Hnizdo E, Sullivan PA, Bang KM, Wagner G. Airflow obstruction attributable to work in industry and occupation among US race/ethnic groups: a study of NHANES III data. *Am J Ind Med.* 2004;46:126–135
21. Warwick H, Doig A. Smoke the killer in the kitchen: Indoor air pollution in developing countries. ITDG Publishing, 103–105 Southampton Row, London WC1B HLD, UK 2004: URL: <http://www.itdgpublishing.org.uk>

22. Oroczo-Levi M, Garcia-Aymerich J, Villar J, Ramirez-Sarmiento A, Anto JM, Gea J: Wood smoke exposure and risk of chronic obstructive pulmonary disease. *Eur Respir J*. 2006;27:542–546
23. Sezer H, Akkurt I, Guler N, Marakoglu K, Berk S. A case-control study on the effect of exposure to different substances on the development of COPD. *Ann Epidemiol*. 2006;16:59–62
24. Hnizdo E, Sullivan PA, Bang KM, Wagner G. Association between chronic obstructive pulmonary disease and employment by industry and occupation in the US population: a study of data from the Third National Health and Nutrition Examination Survey. *Am J Epidemiol*. 2002;156:738–746
25. MacNee W. Pulmonary and systemic oxidant/antioxidant imbalance in chronic obstructive pulmonary disease. *Proc Am Thorac Soc*. 2005;2:50-60
26. Nadel JA. Role of epidermal growth factor receptor activation in regulating mucin synthesis. *Respir Res*. 2001;2:85–89
27. MacNee W, Rahman I. Is oxidative stress central to the pathogenesis of chronic obstructive pulmonary disease? *Trends Mol Med*. 2001;7:55–62
28. Di Stefano A, Caramori G, Oates T, Capelli A, Lusuardi M, Gnemmi I, Ioli F, Chung KF, Donner CF, Barnes PJ, et al. Increased expression of nuclear factor-kappaB in bronchial biopsies from smokers and patients with COPD. *Eur Respir J*. 2002;20:556–563
29. Agustí AG, Noguera A, Sauleda J, Sala E, Pons J, Busquets X. Systemic effects of chronic obstructive pulmonary disease. *Eur Respir J*. 2003;21:347-60
30. Dekhuijzen PN, Aben KK, Dekker I, Aarts LP, Wielders PL, van Herwaarden CL, Bast A. Increased exhalation of hydrogen peroxide in patients with stable and unstable chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med*. 1996;154:813–816
31. Maziak W, Loukides S, Culpitt S, Sullivan P, Kharitonov SA, Barnes PJ. Exhaled NO in chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med*. 1998;157:998–1002
32. Ichinose M, Sugiura H, Yamagata S, Koarai A, Shirato K. Increase in reactive nitrogen species production in chronic obstructive pulmonary disease airways. *Am J Respir Crit Care Med*. 2000;162:701–706

33. Morrow JD, Roberts LJ. The isoprostanes: unique bioactive products of lipid peroxidation. *Prog Lipid Res.* 1997;36:1–21
34. Montuschi P, Collins JV, Ciabattini G, Lazzeri N, Corradi M, Khari SA, Barnes PJ. Exhaled 8-isoprostane as an in vivo biomarker of lung oxidative stress in patients with COPD and healthy smokers. *Am J Respir Crit Care Med.* 2000;162:1175–1177
35. Pratico D, Basili S, Vieri M, Cordova C, Violi F, Fitzgerald GA. Chronic obstructive pulmonary disease is associated with an increase in urinary levels of isoprostane F₂alpha-III, an index of oxidant stress. *Am J Respir Crit Care Med.* 1998;158:1709–1714
36. Schwartz J, Weiss ST. Relationship between dietary vitamin C intake and pulmonary function in the First National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES I). *Am J Clin Nutr.* 1994;59:110–114
37. Schwartz J, Weiss ST. Dietary factors and their relation to respiratory symptoms: the Second National Health and Nutrition Examination Survey. *Am J Epidemiol.* 1990;132:67–76
38. Hu G, Cassano PA. Antioxidant nutrients and pulmonary function: the Third National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES III). *Am J Epidemiol.* 2000;151:975–981
39. Tabak C, Arts IC, Smit HA, Heederik D, Kromhout D. Chronic obstructive pulmonary disease and intake of catechins, flavonols, and flavones: the MORGEN study. *Am J Respir Crit Care Med.* 2001;164:61–64
40. Lawlor DA, Ebrahim S, Davey Smith G. Association of birth weight with adult lung function: findings from the British Women’s Heart and Health Study and a metaanalysis. *Thorax.* 2005; 60: 851–858
41. Barker DJ, Godfrey KM, Fall C, Osmond C, Winter PD, Shaheen SO. Relation of birth weight and childhood respiratory infection to adult lung function and death from chronic obstructive airways disease. *BMJ.* 1991;303: 671–675
42. Silva GE, Sherrill DL, Guerra S, Barbee RA. Asthma as a risk factor for COPD in a longitudinal study. *Chest.* 2004;126: 59–65
43. Vonk JM, Jongepier H, Panhuysen CI, Schouten JP, Bleecker ER, Postma DS. Risk factors associated with the presence of irreversible airflow limitation and

- reduced transfer coefficient in patients with asthma after 26 years of follow up. *Thorax*. 2003;58:322–327
44. Prescott E, Lange P, Vestbo J. Socioeconomic status, lung function and admission to hospital for COPD: results from the Copenhagen City Heart Study. *Eur Respir J*. 1999;13:1109–1114
 45. Rennard SI. Inflammation and repair processes in chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med*. 1999;160:S12-S16
 46. Wang H, Liu X, Umino T, Skold CM, Zhu Y, Kohyama T, Spurzem JR, Romberger DJ, Rennard SI. Cigarette smoke inhibits human bronchial epithelial cell repair processes. *Am J Respir Cell Mol Biol*. 2001;25:772-779
 47. Hogg JC. Pathophysiology of airflow limitation in chronic obstructive pulmonary disease. *Lancet*. 2004;364:709–721
 48. Saetta M, Turato G, Maestrelli P, Mapp CE, Fabbri LM. Cellular and structural bases of chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med*. 2001;163:1304–1309
 49. Peinado VI, Barbera JA, Ramirez J, Gomez FP, Roca J, Jover L, Gimferrer JM, Rodriguez-Roisin R. Endothelial dysfunction in pulmonary arteries of patients with mild COPD. *Am J Physiol*. 1998;274:908-13
 50. Barberà JA, Peinado VI, Santos S. Pulmonary hypertension in chronic obstructive pulmonary disease. *Eur Respir J*. 2003;21:892-905
 51. Wright JL, Levy RD, Churg A. Pulmonary hypertension in chronic obstructive pulmonary disease: current theories of pathogenesis and their implications for treatment. *Thorax*. 2005;60:605–609
 52. Barnes PJ, Shapiro SD, Pauwels RA. Chronic obstructive pulmonary disease: molecular and cellular mechanisms. *Eur. Respir. J*. 2003;22:672–688
 53. Stockley RA. Neutrophils and the pathogenesis of COPD. *Chest*. 2002;121: 151S–155S
 54. Barnes PJ. Macrophages as orchestrators of COPD. *J COPD*. 2004;1:59–70
 55. Chung KF. Cytokines in chronic obstructive pulmonary disease. *Eur Respir J*. 2001;18:50s–59
 56. Barnes PJ. Mediators of chronic obstructive pulmonary disease. *Pharmacol. Rev*. 2004;56:515–548

57. Noguera A, Batle S, Miralles C, Iglesias J, Busquets X, MacNee W, Agusti AG. Enhanced neutrophil response in chronic obstructive pulmonary disease. *Thorax*. 2001;56:432–437
58. Burnett D, Hill SL, Chamba A, et al. Neutrophils from subjects with chronic obstructive lung disease show enhanced chemotaxis and extracellular proteolysis. *Lancet*. 1987;ii:1043–6
59. Ito K, Ito M, Elliott WM, Cosio B, Caramori G, Kon OM, et al. Decreased histone deacetylase activity in chronic obstructive pulmonary disease. *N Engl J Med*. 2005;352:1967–1976
60. Jousilahti P, Vartiainen E, Tuomilehto J, Puska P. Symptoms of chronic bronchitis and the risk of coronary disease. *Lancet*. 1996;348:567–572
61. Rosengren A, Wilhelmsen L. Respiratory symptoms and long-term risk of death from cardiovascular disease, cancer and other causes in Swedish men. *Int J Epidemiol*. 1998;27:962–969
62. Zureik M, Benetos A, Neukirch C, Courbon D, Bean K, Thomas F, Ducimetiere P. Reduced pulmonary function is associated with central arterial stiffness in men. *Am J Respir Crit Care Med*. 2001;164:2181–2185
63. Higgins MW, Keller JB. Predictors of mortality in the adult population of Tecumseh. *Arch Environ Health*. 1970;21:418–424
64. Hole DJ, Watt GC, Davey-Smith G, Hart CL, Gillis CR, Hawthorne VM. Impaired lung function and mortality risk in men and women: findings from the Renfrew and Paisley prospective population study. *BMJ*. 1996;313:711–715
65. Schunemann HJ, Dorn J, Grant BJ, Winkelstein W Jr, Trevisan M. Pulmonary function is a long-term predictor of mortality in the general population: 29-year follow-up of the Buffalo Health Study. *Chest*. 2000;118:656–664
66. Engstrom G, Hedblad B, Janzon L, Valind S. Respiratory decline in smokers and ex-smokers—an independent risk factor for cardiovascular disease and death. *J Cardiovasc Risk*. 2000;7:267–272
67. Sin DD, Man SF. Why are patients with chronic obstructive pulmonary disease at increased risk of cardiovascular diseases? The potential role of systemic inflammation in chronic obstructive pulmonary disease. *Circulation*. 2003;107:1514–9

68. Terashima T, Wiggs B, English D, Hogg JC, Van Eeden SF. The effect of cigarette smoking on the bone marrow. *Am J Respir Crit Care Med.* 1997;155:1021–1026
69. Terashima T, Klut ME, English D, Hards J, Hogg JC, van Eeden SF. Chronic cigarette smoking causes sequestration of polymorphonuclear leukocytes released from the bone marrow in pulmonary capillaries. *Am J Respir Cell Mol Biol.* 1998;20:171–177
70. Shapiro SD. The macrophage in chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med.* 1999;160:S29–S32
71. Schols AM, Buurman WA, Staal-van den Brekel AJ, Dentener MA, Wouters EFM. Evidence for the relation between metabolic derangements and increased levels of inflammatory mediators in a subgroup of patients with COPD. *Thorax.* 1996;51:819–824
72. Gustafsson A, Asman B, Bergstrom K. Cigarette smoking as an aggravating factor in inflammatory tissue-destructive diseases: increase in tumor necrosis factor-alpha priming of peripheral neutrophils measured as generation of oxygen radicals. *Int J Clin Lab Res.* 2000;30:187–190
73. Heinrich J, Schulte H, Schonfeld R, Kohler E, Assmann G. Association of variables of coagulation, fibrinolysis and acute-phase with atherosclerosis in coronary and peripheral arteries and those arteries supplying the brain. *Thromb Haemost.* 1995;73:374–379
74. Haverkate F, Thompson SG, Pyke SD, Gallimore JR, Pepys MB. Production of C-reactive protein and risk of coronary events in stable and unstable angina: European Concerted Action on Thrombosis and Disabilities Angina Pectoris Study Group. *Lancet.* 1997;349:462–466
75. Liuzzo G, Biasucci LM, Gallimore JR, Grillo RL, Rebuffi AG, Pepys MB, Maseri A. The prognostic value of C-reactive protein and serum amyloid a protein in severe unstable angina. *N Engl J Med.* 1994;331:417–424
76. Blann AD, Farrell A, Picton A, McCollum CN. Relationship between endothelial cell markers and arterial stenosis in peripheral and carotid artery disease. *Thromb Res.* 2000;97:209–216

77. Ogami A, Quinlan K, Chu F, Hards J, Vincent R, van Eeden SF, Hogg JC. The effect of particulate air pollution on atherosclerosis in rabbits. *Am J Respir Crit Care Med.* 2000;161:A240
78. Suwa T, Hogg JC, Quinlan KB, Ohgami A, Vincent R, van Eeden SF. Particulate air pollution induces progression of atherosclerosis. *J Am Coll Cardiol.* 2002;39:935–942
79. Seaton A, MacNee W, Donald K. Particulate air pollution and acute health effects. *Lancet.* 1995;345:176–178
80. Peters A, Dockery DW, Muller JE, Mittleman MA. Increased particulate air pollution and the triggering of myocardial infarction. *Circulation.* 2001;103:2810–2815
81. Mantell G. Extended worldwide experience. HMG-CoA reductase inhibitors: lovastatin and simvastatin. *Therapie.* 1992;47:161-4
82. Arnaud C, Burger F, Steffens S, Veillard NR, Nguyen TH, Trono D, Mach F. Statins reduce interleukin-6-induced C-reactive protein in human hepatocytes: new evidence for direct antiinflammatory effects of statins. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2005;25:1231-6
83. Rezaie-Majd A, Maca T, Bucek RA, Valent P, Müller MR, Husslein P, Kashanipour A, Minar E, Baghestanian M. Simvastatin reduces expression of cytokines interleukin-6, interleukin-8, and monocyte chemoattractant protein-1 in circulating monocytes from hypercholesterolemic patients. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2002;22:1194-9
84. Ridker PM, Rifai N, Pfeffer MA, Sacks F, Braunwald E. Long-term effects of pravastatin on plasma concentration of C-reactive protein. The Cholesterol and Recurrent Events (CARE) Investigators. *Circulation.* 1999;100:230-5
85. Undas A, Brożek J, Musiał J. Anti-inflammatory and antithrombotic effects of statins in the management of coronary artery disease. *Clin Lab.* 2002;48:287-96
86. Musiał J, Undas A, Gajewski P, Jankowski M, Sydor W, Szczeklik A. Anti-inflammatory effects of simvastatin in subjects with hypercholesterolemia. *Int J Cardiol.* 2001;77:247-53
87. Szczeklik A, Undas A, Musiał J, Gajewski P, Swadźba J, Jankowski M. Antithrombotic actions of statins. *Med Sci Monit.* 2001;7:1381-5

88. Undas A, Brummel-Ziedins KE, Mann KG. Statins and blood coagulation. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2005;25:287-94
89. Landsberger M, Jantzen F, Konemann S, Felix SB. Blockade of geranylgeranylation by rosuvastatin upregulates eNOS expression in human venous endothelial cells. *Biochem Biophys Res Commun.* 2005;336:1005-1009
90. Jantzen F, Könemann S, Wolff B, Barth S, Staudt A, Kroemer HK, Dahm JB, Felix SB, Landsberger M. Isoprenoid depletion by statins antagonizes cytokine-induced down-regulation of endothelial nitric oxide expression and increases NO synthase activity in human umbilical vein endothelial cells. *J Physiol Pharmacol.* 2007;58:503-14
91. Shepherd J, Cobbe SM, Ford I, Isles CG, Lorimer AR, MacFarlane PW, McKillop JH, Packard CJ. Prevention of coronary heart disease with pravastatin in men with hypercholesterolemia. West of Scotland Coronary Prevention Study Group. *N Engl J Med.* 1995;333:1301–1307
92. Scandinavian Simvastatin Survival Study. Randomized trial of cholesterol lowering in 4,444 patients with coronary heart disease. *Lancet.* 1994; 244:1383–1389
93. Heart Protection Study Collaborative Group. MRC/BHF Heart Protection Study of cholesterol lowering with simvastatin in 20,536 high-risk individuals: a randomised placebo-controlled trial. *Lancet.* 2002;360:7–22
94. Heart Protection Study Collaborative Group. MRC/BHF Heart Protection Study of cholesterol-lowering with simvastatin in 5,953 people with diabetes: a randomized placebo-controlled trial. *Lancet.* 2003;361:2005–2016
95. Cannon CP, Braunwald E, McCabe CH, Rader DJ, Rouleau JL, Belder R, Joyal SV, Hill KA, Pfeffer MA, Skene AM. Pravastatin or Atorvastatin Evaluation and Infection Therapy-Thrombolysis in Myocardial Infarction 22 Investigators. Intensive versus moderate lipid lowering with statin after acute coronary syndromes. *N Engl J Med.* 2004;350:1485–1504
96. Sever PS, Dahlof B, Poulter NR, Wedel H, Beevers G, Caulfield M, Collins R, Kjeldsen SE, Kristinsson A, McInnes GT, et al., for the ASCOT Investigators. Prevention of coronary and stroke events with atorvastatin in hypertensive patients who have average or lower-than-average cholesterol concentrations, in

the Anglo-Scandinavian Cardiac Outcomes Trial–Lipid Lowering Arm (ASCOT-LLA): a multicentre randomised controlled trial. *Lancet*. 2004;361:1149–1158

97. Lee JH, Lee DS, Kim EK, Choe KH, Oh YM, Shim TS, Kim SE, Lee YS, Lee SD. Simvastatin inhibits cigarette smoking-induced emphysema and pulmonary hypertension in rat lungs. *Am J Respir Crit Care Med*. 2005;172:987-93
98. Girgis RE, Li D, Zhan X, Garcia JG, Tudor RM, Hassoun PM, Johns RA. Attenuation of chronic hypoxic pulmonary hypertension by simvastatin. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2003;285:H938-45
99. Girgis RE, Mozammel S, Champion HC, Li D, Peng X, Shimoda L, Tudor RM, Johns RA, Hassoun PM. Regression of chronic hypoxic pulmonary hypertension by simvastatin. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*. 2007;292:L1105-10
100. Nishimura T, Faul JL, Berry GJ, Vaszar LT, Qiu D, Pearl RG, Kao PN. Simvastatin attenuates smooth muscle neointimal proliferation and pulmonary hypertension in rats. *Am J Respir Crit Care Med*. 2002;166:1403-8
101. Nishimura T, Vaszar LT, Faul JL, Zhao G, Berry GJ, Shi L, Qiu D, Benson G, Pearl RG, Kao PN. Simvastatin rescues rats from fatal pulmonary hypertension by inducing apoptosis of neointimal smooth muscle cells. *Circulation*. 2003;108:1640-5
102. Ishida W, Kajiwara T, Ishii M, Fujiwara F, Taneichi H, Takebe N, Takahashi K, Kaneko Y, Segawa I, Inoue H, Satoh J. Decrease in mortality rate of chronic obstructive pulmonary disease (COPD) with statin use: a population-based analysis in Japan. *Tohoku J Exp Med*. 2007;212:265-73
103. Søyseth V, Brekke PH, Smith P, Omland T. Statin use is associated with reduced mortality in COPD. *Eur Respir J*. 2007;29:279-83
104. Mancini GB, Etminan M, Zhang B, Levesque LE, FitzGerald JM, Brophy JM. Reduction of morbidity and mortality by statins, angiotensin-converting enzyme inhibitors, and angiotensin receptor blockers in patients with chronic obstructive pulmonary disease. *J Am Coll Cardiol*. 2006;47:2554-60

105. Frost FJ, Petersen H, Tollestrup K, Skipper B. Influenza and COPD mortality protection as pleiotropic, dose-dependent effects of statins. *Chest*. 2007;131:1006-12
106. Mancini GB. Clarion call for trials assessing "cardiopulmonary" agents to reduce morbidity and mortality in inflammatory lung diseases. *Chest*. 2007;131:950-1
107. Heinrich PC, Castell JV, Andus T. Interleukin-6 and the acute phase response. *Biochem J*. 1990;265:621-36
108. Papanicolaou DA, Wilder RL, Manolagas SC, Chrousos GP. The pathophysiologic roles of interleukin-6 in human disease. *Ann Intern Med*. 1998;128:127-37
109. Blake GJ, Ridker PM. C-reactive protein and other inflammatory risk markers in acute coronary syndromes. *J Am Coll Cardiol*. 2003;41:37S-42S
110. Bansal S, Ridker PM. Comparison of characteristics of future myocardial infarctions in women with baseline high versus baseline low levels of high-sensitivity C-reactive protein. *Am J Cardiol*. 2007;99:1500-3
111. Humphries SE, Luong LA, Ogg MS, Hawe E, Miller GJ. The interleukin-6 -174 G/C promoter polymorphism is associated with risk of coronary heart disease and systolic blood pressure in healthy men. *Eur Heart J*. 2001;22:2243-52
112. Antonicelli R, Olivieri F, Bonafè M, Cavallone L, Spazzafumo L, Marchegiani F, Cardelli M, Recanatini A, Testarmata P, Boemi M, Parati G, Franceschi C. The interleukin-6 -174 G>C promoter polymorphism is associated with a higher risk of death after an acute coronary syndrome in male elderly patients. *Int J Cardiol*. 2005;103:266-71
113. Lieb W, Pavlik R, Erdmann J, Mayer B, Holmer SR, Fischer M, Baessler A, Hengstenberg C, Loewel H, Doering A, Riegger GA, Schunkert H. No association of interleukin-6 gene polymorphism (-174 G/C) with myocardial infarction or traditional cardiovascular risk factors. *Int J Cardiol*. 2004;97:205-12
114. Basso F, Lowe GD, Rumley A, McMahon AD, Humphries SE. Interleukin-6 -174G>C polymorphism and risk of coronary heart disease in West of Scotland coronary prevention study (WOSCOPS). *Arterioscler*

Thromb Vasc Biol. 2002;22:599-604

115. Rauramaa R, Väisänen SB, Luong LA, Schmidt-Trücksäss A, Penttilä IM, Bouchard C, Töyry J, Humphries SE. Stromelysin-1 and interleukin-6 gene promoter polymorphisms are determinants of asymptomatic carotid artery atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2000;20:2657-62
116. Fishman D, Faulds G, Jeffery R, Mohamed-Ali V, Yudkin JS, Humphries S, Woo P. The effect of novel polymorphisms in the interleukin-6 (IL-6) gene on IL-6 transcription and plasma IL-6 levels, and an association with systemic-onset juvenile chronic arthritis. *J Clin Invest.* 1998;102:1369-76
117. Córdoba-Lanús E, de-Torres JP, López-Aguilar C, Rodríguez-Pérez MC, Maca-Meyer N, Montejo-de-Garcini A, Aguirre-Jaime A, Pérez-Méndez L, Casanova C. Association of IL-6 gene polymorphisms and COPD in a Spanish population. *Respir Med.* 2008;102:1805-11
118. Eddahibi S, Chaouat A, Tu L, Chouaid C, Weitzenblum E, Housset B, Maitre B, Adnot S. Interleukin-6 gene polymorphism confers susceptibility to pulmonary hypertension in chronic obstructive pulmonary disease. *Proc Am Thorac Soc.* 2006;3:475-476
119. Garrod R, Marshall J, Barley E, Fredericks S, Hagan G. The relationship between inflammatory markers and disability in chronic obstructive pulmonary disease (COPD). *Prim Care Respir J.* 2007;16:236-40
120. Gan WQ, Man SF, Senthilselvan A, Sin DD. Association between chronic obstructive pulmonary disease and systemic inflammation: a systematic review and a meta-analysis. *Thorax.* 2004;59:574-80
121. Lee TM, Lin MS, Chang NC. Usefulness of C-reactive protein and interleukin-6 as predictors of outcomes in patients with chronic obstructive pulmonary disease receiving pravastatin. *Am J Cardiol.* 2008;101:530-5
122. Undas A, Celińska-Löwenhoff M, Kaczor M, Musiał J. New nonlipid effects of statins and their clinical relevance in cardiovascular disease. *Thromb Haemost.* 2004;91:1065-77
123. Polosa R, Cacciola RR, Prosperini G, Spicuzza L, Morjaria JB, Di Maria GU. Endothelial-coagulative activation during chronic obstructive pulmonary disease exacerbations. *Haematologica.* 2008;93:1275-6
124. Blamoun AI, Batty GN, DeBari VA, Rashid AO, Sheikh M, Khan MA.

Statins may reduce episodes of exacerbation and the requirement for intubation in patients with COPD: evidence from a retrospective cohort study. *Int J Clin Pract.* 2008;62:1373-8

125. Alessandri C, Basili S, Violi F, Ferroni P, Gazzaniga PP, Cordova C. Hypercoagulability state in patients with chronic obstructive pulmonary disease. Chronic Obstructive Bronchitis and Haemostasis Group. *Thromb Haemost.* 1994;72:343-6
126. Ferroni P, Basili S, Alessandri C, Vieri M, Martini F, Belogi A, Pulcinelli FM, Cordova C, Gazzaniga PP. Proinflammatory cytokines and hemostatic system in patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Platelets.* 1997;8:255-9
127. Voelkel NF, Cool CD. Pulmonary vascular involvement in chronic obstructive pulmonary disease. *Eur Respir J Suppl.* 2003;46:28s-32s
128. Kasahara Y, Tuder RM, Cool CD, Lynch DA, Flores SC, Voelkel NF. Endothelial cell death and decreased expression of vascular endothelial growth factor and vascular endothelial growth factor receptor 2 in emphysema. *Am J Respir Crit Care Med.* 2001;163:737-44.
129. Nishimoto-Hazuku A, Hirase T, Ide N, Ikeda Y, Node K. Simvastatin stimulates vascular endothelial growth factor production by hypoxia-inducible factor-1alpha upregulation in endothelial cells. *J Cardiovasc Pharmacol.* 2008;51:267-73
130. Potaczek DP, Undas A, Szczeklik A. Interleukin-6 (IL-6)-174 G/C polymorphism - lack of association with inflammatory and haemostatic variables in patients with coronary heart disease treated with atorvastatin and quinapril. *Int J Cardiol.* 2006;112:123-4
131. Potaczek DP, Undas A, Celińska-Lowenhoff M, Szczeklik A. Interleukin-6 -174 G/C promoter polymorphism and effects of fenofibrate and simvastatin on inflammatory markers in hypercholesterolemic patients. *Blood Coagul Fibrinolysis.* 2006;17:35-8
132. Fernández-Real JM, Broch M, Vendrell J, Richart C, Ricart W. Interleukin-6 gene polymorphism and lipid abnormalities in healthy subjects. *J Clin Endocrinol Metab.* 2000;85:1334-9

12. Wykaz tabel

Tabela 1.	Porównanie grupy badanej i kontrolnej pod względem danych demograficznych i chorób współistniejących. Wyniki przedstawiono jako średnie z odchyleniami standardowymi lub wartości bezwzględne z odsetkami.	23
Tabela 2.	Porównanie grupy badanej i kontrolnej pod względem objawów klinicznych POChP. Wyniki przedstawiono jako wartości bezwzględne z odsetkami.	23
Tabela 3.	Porównanie grupy badanej i kontrolnej pod względem stosowanych leków. Wyniki przedstawiono jako wartości bezwzględne z odsetkami.	24
Tabela 4.	Porównanie grupy badanej i kontrolnej pod względem wyjściowego profilu lipidowego. Wyniki przedstawiono jako średnie z odchyleniami standardowymi.	24
Tabela 5.	Porównanie grupy badanej i kontrolnej pod względem parametrów spirometrycznych. Wyniki przedstawiono jako średnie z odchyleniami standardowymi.	24
Tabela 6.	Częstość występowania poszczególnych par alleli genu IL-6 w grupie badanej i grupie kontrolnej.	34

13. Wykaz rycin

Rycina 1.	Stężenia fibrynogenu [g/l] w grupie badanej (Grupa B) i grupie kontrolnej (Grupa K) podczas kolejnych wizyt.	25
Rycina 2.	Stężenia białka C-reaktywnego [mg/l] w grupie badanej (Grupa B) i grupie kontrolnej (Grupa K) podczas kolejnych wizyt.	26
Rycina 3.	Stężenia TNF-alfa [pg/ml] w grupie badanej (Grupa B) i grupie kontrolnej (Grupa K) podczas kolejnych wizyt.	26
Rycina 4.	Stężenia interleukiny-6 [pg/ml] w grupie badanej (Grupa B) i grupie kontrolnej (Grupa K) podczas kolejnych wizyt.	27
Rycina 5.	Stężenia metaloproteiny-9 [ng/ml] w grupie badanej (Grupa B) i grupie kontrolnej (Grupa K) podczas kolejnych wizyt.	28
Rycina 6.	Wartości FEV1[% wartości należnej] w grupie badanej (Grupa B) i grupie kontrolnej (Grupa K) wyjściowo i po zakończeniu badania.	29
Rycina 7.	Wartości FEV1/FVC [% wartości należnej] w grupie badanej (Grupa B) i grupie kontrolnej (Grupa K) wyjściowo i po zakończeniu badania.	29
Rycina 8.	Stężenia fibrynogenu w podgrupach FEV1<50% i FEV1>50% grupy badanej podczas kolejnych wizyt.	31
Rycina 9.	Stężenia białka C-reaktywnego w podgrupach FEV1<50% i FEV1>50% grupy badanej podczas kolejnych wizyt.	31
Rycina 10.	Stężenia TNF-alfa w podgrupach FEV1<50% i FEV1>50% grupy badanej podczas kolejnych wizyt.	32
Rycina 11.	Stężenia interleukiny-6 w podgrupach FEV1<50% i FEV1>50% grupy badanej podczas kolejnych wizyt.	32
Rycina 12.	Stężenia interleukiny-6 w podgrupach FEV1<50% i FEV1>50% grupy badanej podczas wizyty 2.	33
Rycina 13.	Stężenia metaloproteiny-9 w podgrupach FEV1<50% i FEV1>50% grupy badanej podczas kolejnych wizyt.	33
Rycina 14.	Stężenia fibrynogenu w podgrupach GC, CC i GG grupy badanej podczas kolejnych wizyt.	35

Rycina 15.	Stężenia fibrynogenu w podgrupach GC, CC i GG grupy kontrolnej podczas kolejnych wizyt.	35
Rycina 16.	Stężenia białka C-reaktywnego w podgrupach GC, CC i GG grupy badanej podczas kolejnych wizyt.	36
Rycina 17.	Stężenia białka C-reaktywnego w podgrupach GC, CC i GG grupy kontrolnej podczas kolejnych wizyt.	36
Rycina 18.	Stężenia TNF-alfa w podgrupach GC, CC i GG grupy badanej podczas kolejnych wizyt.	37
Rycina 19.	Stężenia TNF-alfa w podgrupach GC, CC i GG grupy kontrolnej podczas kolejnych wizyt.	37
Rycina 20.	Stężenia interleukiny-6 w podgrupach GC, CC i GG grupy badanej podczas kolejnych wizyt.	38
Rycina 21.	Stężenia interleukiny-6 w podgrupach GC, CC i GG grupy kontrolnej podczas kolejnych wizyt.	38
Rycina 22.	Stężenia metaloproteinazy-9 w podgrupach GC, CC i GG grupy badanej podczas kolejnych wizyt.	39
Rycina 23.	Stężenia metaloproteinazy-9 w podgrupach GC, CC i GG grupy kontrolnej podczas kolejnych wizyt.	39