

JAKUB PIOTROWSKI, TOMASZ JĘDRZEJEWSKI, MAŁGORZATA PAWLIKOWSKA,
WIESŁAW KOZAK

*Zakład Immunologii
Wydział Biologii i Ochrony Środowiska
Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu
Lwowska 1, 87-100 Toruń
e-mail: piotrowski_jak@umk.pl*

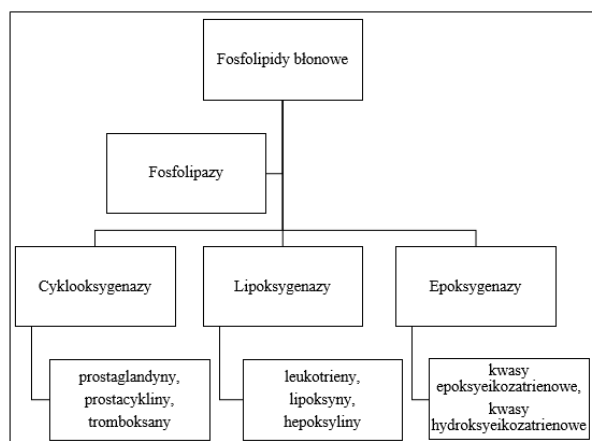
ZNACZENIE GORĄCZKI I ENDOGENNEJ ANTYPIREZY. PERSPEKTYWA WYKORZYSTANIA INHIBITORÓW ROZPUSZCZALNEJ HYDROLAZY EPOKSYDOWEJ W FARMAKOLOGII PRZECIWGORĄCZKOWEJ

DEFINICJA I PODSTAWY MOLEKULARNEGO MECHANIZMU GORĄCZKI

Gorączka (pireksja) to regulowany stan podwyższonej temperatury ciała, który jest często, choć niekoniecznie, składową odpowiedzi obronnej na infekcję spowodowaną żywą bądź nieożywioną materią, rozpoznaną przez organizm gospodarza jako patogenna lub obca. Przyczyną gorączkowego wzrostu temperatury jest zmiana charakterystyki układu termoregulacyjnego, polegająca na przestawieniu w górę punktu nastawczego regulacji temperatury (ang. set point). Co ważne, organizm broni nowo ustalonej temperatury dzięki procesom metabolicznym i behawioralnym, służącym generowaniu ciepła i hamowaniu jego rozpraszania. Z tego względu, każdy wzrost temperatury, któremu nie towarzyszy zmiana aktywności termo-efektorów, nie jest gorączką, a hipertermią (SŁOWNIK 2001). Wiele dowodów potwierdza hipotezę, iż gorączka rozwinęła się w toku ewolucji, jako mechanizm obronny, który hamuje zachorowalność i ogranicza śmiertelność. Podniesienie temperatury ciała w odpowiedzi na infekcję działa korzystnie, ponieważ zwiększa efektywność makrofagów i neutrofilów w zwalczaniu bakterii oraz upośledza mechanizmy namnażania mikroorganizmów, dając przewagę układowi immunologicznemu gospodarza (KLUGER 1991). Współcześnie akceptowany mechanizm gorączki, ugruntowany licznymi wynikami ba-

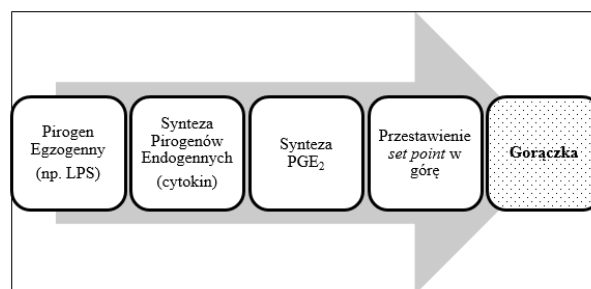
dań zakłada, iż proces ten rozwija się w wyniku kontaktu układu immunologicznego z substancjami antygenowymi, nekrotycznymi bądź toksycznymi o różnym pochodzeniu (bakteryjnym, wirusowym lub z organizmów pasożytniczych), określanymi mianem pirogenów egzogennych. W badaniach laboratoryjnych stosuje się wiele różnych pirogenów, między innymi kwas lipoteichojowy (LTA) (MOESBY i współaut. 2003), dwupeptyd muramylowy (MDP) (TAVARES i współaut. 2005) czy też sekwencje bakteryjnego DNA (KOZAK i współaut. 2006). Najczęściej używany jest jednak oczyszczony lipopolisacharyd (LPS), składnik ściany komórkowej bakterii Gram-ujemnych (HOLST i współaut. 1996). LPS stanowi jeden z najsilniejszych biologicznych stymulatorów (przede wszystkim monocytów, makrofagów i komórek endotelialnych) i zaliczany jest do grupy cząsteczek określanych mianem molekularnych wzorców związanych z patogenami (PAMPs) (GILL i współaut. 1998). Podobnie jak większość lipidów, LPS uwalniany jest w niewielkich ilościach. Efektywne rozpoznanie tej cząsteczki wymaga skutecznego mechanizmu prezentowania komórkom układu immunologicznego. Jest to funkcja glikoproteiny surowiczej, białka wiążącego LPS (LBP) (TOBIAS i współaut. 1989), które zwiększa indukowaną lipopolisacharydem aktywację komórek jednojądrzastych. Receptorem dla tak powstałego kompleksu LBP-LPS jest cząsteczka antygenu leukocytarnego CD14 (KIELIAN i BLECHA

Słowa kluczowe: endogenna antypireza, epoksydaza arachidonianowa, gorączka, inhibitory rozpuszczalnej hydrolazy epoksydowej, kwasy epoksyekoizatrienowe



Ryc. 1. Metabolizm kwasu arachidonowego (wg KOZAK 2009).

1995). Fakt, iż białko CD14 nie posiada domeny transbłonowej (GOYERT i współaut. 1988) sprawia, że stanowi jedynie koreceptor (JIANG i współaut. 2000). Właściwym receptorem jest kompleks receptora Toll-podobnego typu 4 (TLR4) i białka różnicowania szpiku-2 (MD-2), tworzących aktywny zespół rozpoznający kompleks LBP-LPS/CD14 (SHIMAZU i współaut. 1999). Sygnał pochodzący od LBP-LPS/CD14/TLR4/MD2 przekazywany jest do wnętrza komórki przez szereg kolejnych cząsteczek transdukcji sygnału. Najważniejsze z nich, to białko różnicowania szpiku 88 (MyD88), kinazy IRAK i czynnik związany z receptorem TNF 6 (TRAF 6). W konsekwencji dochodzi do fosforylacji i degradacji inhibitora κ B (I κ B), co prowadzi do dysocjacji dimeru I κ B/NF- κ B, uwolnienia czynnika jądrowego κ B (NF- κ B) i jego translokacji do jądra komórkowego (TAKEDA i AKIRA 2005). Czynniki NF- κ B jest odpowiedzialny za transkrypcję genów cytokin prozapalnych (ADEREM i ULEVITCH 2000). Cytokiny uczestniczą w transmisji sygnału odpowiedzialnego za reakcję gorączkową z tkanek obwodowych do centralnego układu nerwowego (NETEA i współaut. 2000). Stanowią zatem ogniwo integrujące pracę układów immunologicznego i nerwowego. Mimo iż cytokiny tworzą sieć aktywnie regulującą się, ich synteza i uwalnianie wymaga ścisłej kontroli. Nadmierna produkcja prozapalnych cytokin może prowadzić do groźnych dla zdrowia skutków, jak choćby szoku septycznego (MATSUDA i współaut. 2012). Współczesny pogląd na rolę prozapalnych cytokin w genezie gorączki ugruntował się na przełomie lat 70. i 80. ubiegłego wieku, kiedy to dokonano odkrycia i oczyszczenia pierwszej cytokiny interleukiny-1 (IL-1) oraz wykazano jej właściwości prozapalne (DINARELLO 1999). Obok IL-1, do najważniejszych cyto-



Ryc. 2. Główne ogniwa molekularnego mechanizmu gorączki.

kin w rozwoju gorączki zalicza się również interleukinę-6 (IL-6), czynnik nekrotyczny nowotworu- α (TNF- α) i interferon- γ (IFN- γ) (KLUGER 1991). Oddziałując z receptorami na powierzchni różnych komórek, cytokiny stymulują fosfolipazę A2 (PLA2), uwolnioną z kwas arachidonowy z glicerofosfolipidów błon komórkowych. Uwolnienie tej cząsteczki ze struktur błonowych stanowi oznakę większości, jeśli nie wszystkich infekcji, jak również chronicznych i ostrych zapaleń.

Kwas arachidonowy jest prekursorem ważnych biologicznie związków, eikozanoidów (SIMOPOULOS 2000), powstających w wyniku przemian enzymatycznych (Ryc. 1). Metabolizm kwasu arachidonowego na drodze zależnej od cyklooksygenazy (COX) prowadzi do powstania prostaglandyn, w tym prostaglandyny E₂ (PGE₂), uważanej za finalny mediator gorączki działający w centralnym układzie nerwowym (BLATTEIS i współaut. 2005). Obecnie uważa się, iż PGE₂, wpływając na termowrażliwe neurony zlokalizowane w przedwzrokowej części podwzgórza, przesuwają punkt nastawczy termoregulacji w górę (KOZAK 2009). W efekcie, z mózgu do tkanek obwodowych przesyłana jest informacja o konieczności dostosowania temperatury do nowego poziomu nastawczego. Uruchomione zostają mechanizmy termogenezy i zachowania ciepła, co skutkuje gorączką (BLATTEIS i SEHIC 1997). Główne ogniwa omówionego wyżej molekularnego mechanizmu gorączki przedstawiono na Ryc. 2.

ZNACZENIE MECHANIZMÓW ENDOGENNEJ ANTYPIREZY

Gorączka jest prawidłową, ściśle regulowaną reakcją fizjologiczną, która ma na celu wspomóc układ immunologiczny gospodarza w walce z infekcją. Obserwacje kliniczne wskazują, iż choroby zakaźne rzadko są związane z wysoką gorączką. Badania licznej grupy dorosłych pacjentów z zapaleniem płuc i innymi poważnymi infekcjami, prowadzone jeszcze w czasach przed wprowadze-

niem antybiotyków do praktyki klinicznej ujawniły, że temperatura powyżej 41°C występuje w mniej niż 5% przypadków (DUBOIS 1949). Jest to niewątpliwy dowód na istnienie mechanizmów ograniczających gorączkę, które współcześnie określane są wspólnym mianem endogennej antypirezy (KOZAK i współaut. 2000a). Endogenne antypiretyki (hormony, neuropeptydy, cytokiny i inne) to substancje, które obniżają gorączkę lub zapobiegają jej rozwojowi, ale same nie wpływają na normalną temperaturę ciała (ROTH 2006). Do najważniejszych składowych mechanizmów endogennej antypirezy należy zaliczyć:

- działanie cytokin przeciwzapalnych. Są to przede wszystkim: interleukina-10 (IL-10), TNF- α i antagonistą receptora dla IL-1 (IL-1ra) (LUHESHI i współaut. 1996, LEON 2002). Interleukina-10 hamuje syntezę IL-1, IL-6 i TNF- α (DE WAAL MALEFYT i współaut. 1991). Wyniki badań dowiodły, że mysie mutanty pozbawione genów kodujących IL-10 reagują wyższą gorączką niż myszy kontrolne. Ponadto, iniekcja rekombinowanej IL-10 zapobiega rozwojowi gorączki w odpowiedzi na LPS (LEON i współaut. 1998). Czynniki martwicy nowotworów- α działa w zależności od warunków gorączkotwórczo lub przeciwgorączkowo, może więc być traktowany jako endogenny pirogen bądź kriogen (endogenne antypiretyki). Badania *in vivo* prowadzone na myszach dowodzą, iż iniekcja TNF- α powoduje częściej spadek temperatury niż jej wzrost. Podany razem z LPS hamuje gorączkę, a jego inaktywacja (przeciwnie do skutków inaktywacji IL-1 i IL-6) skutkuje wyższą temperaturą osiąganą przez zwierzęta po iniekcji LPS (KOZAK i współaut. 1995);

- przeciwgorączkowe działanie hormonów. Badania dowodzą, że glukokortykoidy (kortykosteron) podane systemowo obniżają gorączkę w odpowiedzi na LPS, podczas gdy reakcja ta jest silniejsza u zwierząt, które poddano zabiegowi usunięcia nadnerczy (adrenektomi) (COELHO i współaut. 1992). Również inne hormony, jak wazopresyna argininowa (AVP) (RUWE i współaut. 1985, WILKINSON i KASTING 1987) lub hormon stymulujący α -melanocyty (α MSH), mogą działać w opozycji do endogennych pirogenów (MURPHY i współaut. 1983, SHIH i współaut. 1986);

- zależny od epoksygenazy metabolizm kwasu arachidonowego i biologiczna aktywność produktów tej reakcji (kwasów epoksyeikozatrienowych; EET), które działają w opozycji do COX i PGE₂. Zagadnienie to omówiono szerzej w następnym rozdziale.

Nie podlega dyskusji, iż w określonych sytuacjach gorączka może być niebezpieczna dla zdrowia. Tak jest w przypadku zaawan-

sowanej ciąży, w okresie pourodzeniowym (któremu towarzyszy niedotlenienie okołopłodowe), zapaleniu opon mózgowych, udarze mózgu, przebiegu posocznicy, w przebiegu starczych chorób otępieńczych czy urazach mózgu (CAPUTA 2010). Szczególny rodzaj wysokiej gorączki towarzyszy urazom wewnętrznym o aseptycznym przebiegu takim jak: zamknięte złamania kości (którym nie towarzyszy przerwanie ciągłości skóry i infekcja), zerwaniom i zbitom mięśni, ale również rozległym poparzeniom i udarom słonecznym (KOZAK 2009). Równie częsta jest gorączka nieinfekcyjna we wczesnym okresie pooperacyjnym, obserwowana u blisko połowy pacjentów (FANNING i współaut. 1998). Bardzo wysoka gorączka, powyżej 41°C, określana jest często mianem hiperpireksji. Jej wystąpienie świadczy o załamaniu mechanizmów antypirezy i wymaga szybkiej interwencji w kierunku obniżenia temperatury, grozi bowiem uszkodzeniem centralnego układu nerwowego (MCGUGAN 2001).

FARMAKOLOGIA PRZECIWGORĄCZKOWA. PRZECIWPALNE WŁAŚCIWOŚCI KWASÓW EET

Jak wcześniej wspomniano, szlak enzymatycznego rozkładu kwasu arachidonowego zależny od cyklooksygenazy odgrywa najważniejszą rolę w rozwoju gorączki. Przeciwzapalne i przeciwgorączkowe działanie aspiryny, najpopularniejszego środka zaliczanego do grupy niesteroidowych leków przeciwzapalnych (n.s.l.p.z.), polega na nieodwracalnym hamowaniu aktywności cyklooksygenazy, a w konsekwencji prowadzi do zmniejszenia syntezy prostaglandyny E₂ (BOCHENEK 2012). Aspiryna wykazuje również działanie antyagregacyjne, co znalazło zastosowanie w leczeniu chorób sercowo-naczyniowych, a także w profilaktyce zakrzepicy oraz zawałów mózgu i serca. Stwierdzono, że wywiera hamujący wpływ na rozwój niektórych nowotworów i może obniżyć ryzyko wystąpienia choroby Alzheimera (CZYŻ i WATAŁA 2004). Niestety, aspiryna i inne klasyczne n.s.l.p.z. wywołują wiele charakterystycznych działań niepożądanych. Do najczęstszych zalicza się: nadżerki i owrzodzenia błony śluzowej żołądka, krwawienia z przewodu pokarmowego, a nawet perforację ściany żołądka i jelit (MIEDZYPRODZKI 2004). U osób predysponowanych są przyczyną astmy aspirynowej (AIA), szczególnie typu astmy oskrzelowej o umiarkowanym lub ciężkim przebiegu (NIŻANKOWSKA i współaut. 1997). Co równie ważne, w określonych klinicznych przypadkach przyjmowanie niesteroidowych leków przeciwzapalnych jest nieskuteczne. Przykładem

jest wysoka gorączka towarzysząca wylewom krwi do mózgu, która stanowi złe rokowanie dla pacjenta (AZZIMONDI i współaut. 1995, WROTEK i współaut. 2011). Jak wykazały badania prowadzone w Zakładzie Immunologii UMK w Toruniu, mające na celu określenie molekularnych podstaw tego zjawiska, w genezie gorączkowego wzrostu temperatury po domózgowej iniekcji hemu uczestniczy PGE_2 , ale powstaje ona na drodze niezależnej od cyklooksygenazy (WALENTYNOWICZ i współaut. 2006). Przytoczone przykłady jasno wskazują na konieczność ciągłego poszukiwania terapii alternatywnych i nowych przeciwgorączkowych środków farmakologicznych. Badania KOZAKA i współaut. (2000b) z zastosowaniem inhibitorów poszczególnych enzymów kaskady arachidonianowej rzuciły nowe światło na mechanizmy regulacji gorączki. Podczas gdy iniekcja selektywnego inhibitora COX hamuje gorączkę, inhibitor cytochromu P-450, w tym monooksygenazy (epoksygenazy) arachidonianowej, potęguje reakcję gorączkową na LPS u myszy. Wynika to z faktu, iż zmniejszona aktywność epoksygenazy przesuwą równowagę w kierunku zależnej od cyklooksygenazy produkcji PGE_2 . Te i inne doświadczenia świadczą o fakcie, iż między enzymami zaangażowanymi w rozkład kwasu arachidonowego zachodzi zjawisko kompetycji o substraty i kofaktory. Jego rezultatem jest utrzymywanie się stanu dynamicznej równowagi, w którym hamowanie jednego szlaku metabolicznego przesuwą równowagę w kierunku pozostałych. Produktem aktywności metabolicznej epoksygenazy arachidonianowej, odpowiedzialnym za właściwości przeciwgorączkowe, są niewątpliwie kwasy epoksyeikozatrienowe (EET). Aktywność enzymu prowadzi do uformowania czterech regioizomerów kwasu cis-epoksyeikozatrienowego w reakcji epoksygenacji, odpowiednio 5,6- 8,9- 11,12- i 14,15-EET (NAKASHIMA i współaut. 2001). U ssaków syntezę kwasów EET potwierdzono w narządach i tkankach istotnych dla przebiegu fazy ostrej, m.in. w mózgowiu, płucach, wątrobie i nerkach (KOZAK i współaut. 1998). Odgrywają kluczową rolę w regulacji pracy płuc, nerek i czynności układu sercowo-naczyniowego. Zalicza się je do śródbłonkowych czynników wazorelaksacyjnych. Wykazują działanie przeciwzapalne, pro-angiogenne i analgetyczne (ROMAN 2002, MORISSEAU i HAMMOCK 2013). Wśród właściwości składających się na przeciwzapalne działanie kwasów EET należy wymienić: hamowanie ekspresji cząsteczek adhezyjnych, hamowanie agregacji płytek krwi, hamowanie ekspresji i aktywności indukowanej izoformy cyklooksygenazy (COX-2) (THOMSON i współaut. 2012, TACCONELLI i PATRIGNANI 2014). Wyniki badań wskazują, iż spośród

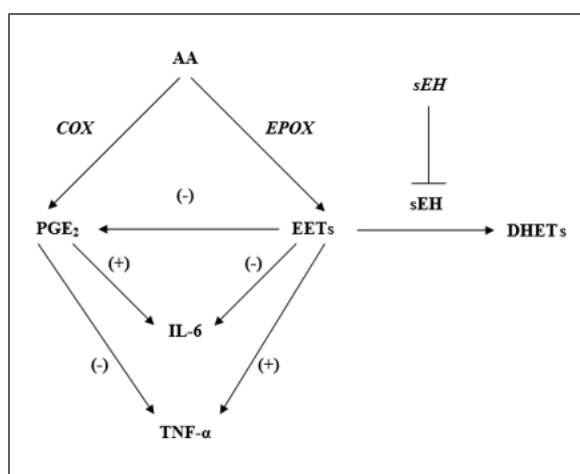
czterech wymienionych izomerów, najsilniejsze właściwości przeciwgorączkowe wykazuje 11,12-EET (KOZAK i współaut. 2000a). Kwas 11,12-EET podany domózgowo osłabia w sposób dawko-zależny indukowaną lipopolisacharydem gorączkę u szczurów, jednak sam nie wpływa na normalną temperaturę ciała zwierząt (KOZAK i współaut. 2000b). Wyniki badań *in vitro* wykazały ponadto, że hamuje aktywność COX-2 i uwalnianie PGE_2 do środowiska hodowlanego przez monocyty szczura stymulowane LPS. Ponadto, hamuje również uwalnianie IL-6, zwiększa natomiast produkcję TNF- α (KOZAK i współaut. 2003, KOZAK i FRAIFELD 2004).

ZNACZENIE INHIBITORÓW ROZPUSZCZALNEJ HYDROLAZY EPOKSYDOWEJ W KLINICE

Dla celów klinicznych droga farmakologicznej aktywacji epoksygenazy jest nieefektywna. W warunkach fizjologicznych kwasy EET są szybko unieczynniane. Enzym, który odpowiedzialny jest za ich metabolizm, to rozpuszczalna hydrolaza epoksydowa (sEH). Katalizuje on hydrolizę kwasów EET do polarnych kwasów dihydroksyeikozatrienowych (DHETs) o niskiej aktywności biologicznej (SPECTOR i NORRIS 2007). W ostatnich latach poczyniono znaczne postępy w opracowaniu amidowych, mocznikowych i karbaminianowych związków będących silnymi inhibitorami sEH (sEHi). Zwłaszcza grupy mocznikowe dobrze pasują do centrum katalitycznego enzymu i są silnymi oraz specyficznymi inhibitorami, działającymi już w bardzo niskich stężeniach i niewywołującymi skutków ubocznych (MORISSEAU i współaut. 1999). Stale rosnąca liczba badań wskazuje, że inhibitory sEH mogą być wykorzystane w leczeniu nadciśnienia, chorób zapalnych, układu sercowo-naczyniowego, płuc, udarów, bólu, cukrzycy, zaburzeń immunologicznych i wielu innych (IMIG i HAMMOCK 2009, INGRAHAM i współaut. 2011, QIU i współaut. 2011). Pierwsze doświadczenia z użyciem inhibitorów sEH skupiały się wokół możliwości wykorzystania ich w leczeniu nadciśnienia. Inhibitor NCND (N-cyclohexyl-N-dodecyl urea), podawany drogą dootrzewnową, znacznie obniżał ciśnienie skurczowe w indukowanym angiotensyną II szczurzym modelu nadciśnienia (IMIG i współaut. 2002). Podobnie działał w tym modelu inhibitor AUDA [12-(3-adamantan-1-yl-ureido) dodecanoic acid) podany drogą dożylną lub wraz wodą do picia (JUNG i współaut. 2005). W przypadku badań z użyciem szczurów spontanicznie rozwijających nadciśnienie (ang. spontaneously hypertensive rat, SHR) wyniki okazały się jednak rozbieżne. Inhibi-

tor DCU (N,N'-dicyclohexylurea) podany dotrzewnowo obniżał ciśnienie krwi u tych zwierząt, nie wpływając na wartości ciśnienia u zwierząt kontrolnych (YU i współaut. 2000). Późniejsze obserwacje wykazały jednak, iż inhibitory sEH w określonych przypadkach nie wpływają na obniżenie ciśnienia krwi u szczurów SHR lub ich działanie szybko ustępuje, nawet gdy podawane są w wysokich dawkach (KOENERS i współaut. 2011). Szukając wyjaśnienia tych rozbieżności należy pamiętać, iż przyczyna nadciśnienia u szczurów SHR jest wieloczynnikowa, a mechanizm bardziej złożony niż w przypadku farmakologicznej indukcji z zastosowaniem angiotensyny II. Okres półtrwania we krwi zastosowanych inhibitorów jest krótki, stąd też skuteczniej działają w modelach indukowanych niż w przypadku badań prowadzonych na szczurach SHR. Wiele wskazuje jednak na fakt, iż inhibitory sEH przywracają ciśnienie krwi do wartości prawidłowych, a nie są czynnikami faktycznie obniżającymi ciśnienie. Wielokrotnie wykazano przeciwzapalne działanie inhibitorów rozpuszczalnej hydrolazy epoksydowej w różnych układach doświadczalnych (MANHIANI i współaut. 2009, LIU i współaut. 2005). Podskórna iniekcja AUDA-BE [12-(3-adamantan-1-yl-ureido) dodecanoic acid butyl ester] znacznie zmniejszyła indukowane lipopolisacharydem: śmiertelność, spadek ciśnienia, i uszkodzenia tkanek u myszy C57BL/6. Co więcej, skutkowała spadkiem osoczowego stężenia cytokin (IL-6 i TNF- α) i mediatorów azotowych (SCHMELZER i współaut. 2005). Inhibitory sEH wywierają również liczne pozytywne efekty w przebiegu chorób sercowo-naczyniowych i uszkodzeniach narządów. Inhibitor AUDA zmniejszył rozmiar zmian martwiczych w mózgu u szczurów i myszy po okluzji (zamknięciu) tętnicy środkowej mózgu (DORRANCE i współaut. 2005, ZHANG i współaut. 2007). Badania wykazały ochronny wpływ sEH na mięsień sercowy w patofizjologii uszkodzenia niedokrwienno-reperfuzyjnego (QIU i współaut. 2011). Ciekawych wyników dostarczyły badania nad możliwością wykorzystania inhibitorów sEH w zwierzęcych modelach chorób metabolicznych. Inhibitor TUPS [1-(1-methanesulfonylpiperidin-4-yl)-3-(4-trifluoromethoxy-phenyl)urea] aktywował szlaki sygnalizacji insuliny i zwiększał wrażliwość na insulinę myszy poddanych diecie bogatej w tłuszcz. Podobnych obserwacji dostarczyły doświadczenia z wykorzystaniem mysich mutantów pozbawionych genów kodujących sEH (LURIA i współaut. 2011). T-AUCB {trans-4-[4-(3-adamantan-1-yl-ureido)-cyclohexyloxy]benzoic acid}, badany w szczurzym modelu indukowanego dietą syndromu metabolicznego,

łagodził jego objawy, w tym zaburzenia lipidowe, insulinowe i gospodarki glukoza, zmiany funkcji oraz struktury trzustki, wątroby i układu sercowo-naczyniowego wskazując na możliwe zastosowanie w leczeniu otyłości, cukrzycy czy hipercholesterolemii (IYER i współaut. 2012). Wyniki badań wskazują również na analgetyczne (przeciwbólowe) działanie inhibitorów sEH, porównywalne nawet do morfiny, oraz na możliwość stosowania ich w leczeniu bólu neuropatycznego i zapalnego (ROSE i współaut. 2010, SHEN i HAMMOCK 2011). Wydaje się, że podobnie jak w przypadku nadciśnienia, inhibitory sEH hamują percepcję bólu w modelach związanych z indukowaniem nadwrażliwości, nie wpływając na odczuwanie bólu u zwierząt kontrolnych. Choć potencjał klinicznej użyteczności inhibitorów sEH został poparty licznymi wynikami badań, to możliwość ich stosowania w terapii przeciwgorączkowej nie została jak dotychczas zbadana. Wstępne wyniki badań prowadzonych w Zakładzie Immunologii UMK w Toruniu wskazują, iż osłabiają one gorączkowy wzrost temperatury, same nie wpływając na normalną temperaturę ciała lub parametry morfotyczne krwi u szczura. Co więcej, efekt ten obserwowany był zarówno w modelu gorączki infekcyjnej, jak również aseptycznej (dane niepublikowane). Opierając się na danych literaturowych można założyć, że inhibitory sEH działają przeciwgorączkowo poprzez hamowanie rozkładu i zwiększenie puli kwasów EET, które silnie wpływają na molekularne składowe mechanizmu gorączkowego (Ryc. 3). Dokładne określenie mechanizmu tych obserwacji wymaga jednak dalszego nakładu badaw-



Ryc. 3. Rola enzymów COX, EPOX i sEH w molekularnym mechanizmie gorączki i endogennej antypirezy. (+) oznacza stymulację syntezy (-) hamowanie syntezy (wg KOZAK i FRAIFELD 2004).

czego. Obecnie trwają intensywne prace nad stworzeniem inhibitorów sEH o zwiększonej rozpuszczalności i biodostępności. Ważnym polem dociekań jest również synergia działania sEH, przede wszystkim z n.s.l.p.z. Wymienić tu należy doświadczenia, które wykazały addytywny efekt działania inhibitorów sEH z koksymbami, lekami nowej generacji, wybiórczo hamującymi indukowaną formę cyklooksygenazy (COX-2). Obserwowane zmniejszenie skutków ubocznych wskazuje na niezwykle obiecującą perspektywę stworzenia nowych, skutecznych i bezpiecznych farmaceutyków (HWANG i współaut. 2011).

PODSUMOWANIE

Gorączka jest korzystną reakcją obronną organizmu. Podstawowym warunkiem jest jednak ścisła kontrola, którą sprawują mechanizmy endogennej antypirezy, funkcjonujące na wszystkich poziomach molekularnego szlaku gorączkowego. Załamanie tych mechanizmów może stanowić realne zagrożenie dla zdrowia a nawet życia. Mimo szerokiej gamy dostępnych środków farmakologicznych o działaniu przeciwgorączkowym, powodują one uciążliwe skutki uboczne i pozostają nieskuteczne w określonych przypadkach klinicznych. Dlatego też stale powinno się poszukiwać nowych strategii terapeutycznych i leków. Farmakologiczna inhibicja aktywności rozpuszczalnej hydrolazy epoksydowej wpisuje się w te działania i stanowi jeden z najbardziej obiecujących obszarów badawczych. Liczne wyniki badań wskazują na możliwość użycia inhibitorów sEH w leczeniu nadciśnienia, chorób układu sercowo-naczyniowego, metabolicznych jak również o podłożu zapalnym. Związki te mogą w niedalekiej przyszłości stanowić alternatywę dla aspiryny i innych niesteroidowych leków przeciwzapalnych działającą również wówczas, gdy obecnie stosowane leki są nieskuteczne. Co równie ważne, są to związki bezpieczne, a ich działanie opiera się na ukierunkowanym przywróceniu równowagi układów enzymatycznych zaangażowanych w genezę gorączki.

Streszczenie

Gorączka towarzyszy ludzkości od początku istnienia naszego gatunku. Będąc jednym z najjaskrawszych przejawów infekcji i choroby, odbierana była dawniej jako zaburzenie, z którym za wszelką cenę należy walczyć. Współcześnie potrafimy jednak w sposób właściwy interpretować ten proces jako korzystną dla organizmu, ściśle regulowaną reakcję obronną. Zagrożenie dla zdrowia stanowią natomiast zaburzenia mechanizmów regulacji temperatury skutkujące zbyt wysoką lub przedłużającą się gorączką. Praktyka kliniczna pokazuje, że w takich przypadkach standardowe metody leczenia z wykorzystaniem aspirynopodobnych (niesteroidowych) środków

przeciwzapalnych pozostają zwykle bezskuteczne. Fakt ten dowodzi niezbicie konieczności prowadzenia ciągłych poszukiwań skutecznych metod leczenia. W obszar tych badań wpisują się doświadczenia nad wykorzystaniem inhibitorów rozpuszczalnej hydrolazy epoksydowej (sEH). Rosnąca ilość wyników badań dowodzi, iż mogą stanowić bezpieczną i skuteczną alternatywę dla współcześnie stosowanych leków.

LITERATURA

- ADEREM A., ULEVITCH R. J., 2000. *Toll-like receptors in the induction of the innate immune response*. Nature 406, 782-787.
- AZZIMONDI G., BASSEIN L., NONINO F., FIORANI L., VIGNATELLI L., RE G., D'ALESSANDRO R., 1995. *Fever in acute stroke worsens prognosis. A prospective study*. Stroke 26, 2040-2043.
- BLATTEIS C. M., SEHIC E., 1997. *Circulating pyrogen signaling of the brain. A new working hypothesis*. Ann. N. Y. Acad. Sci. 813, 445-447.
- BLATTEIS C. M., LI S., LI Z., FELEDER C., PERLIK V., 2005. *Cytokines, PGE2 and endotoxin fever: a re-assessment*. Prostaglandins Other Lipid Mediat. 76, 1-18.
- BOCHENEK G. 2012. *Alergia i nadwrażliwość na niesteroidowe leki przeciwzapalne*. Alergia Astma Immunol. 17, 57-65.
- CAPUTA M. 2010. *Termoregulacja, podstawy diagnostyki termicznej i termiatrii*. [W:] *Fizjologia człowieka*. GÓRSKI J. (red.). Wydawnictwo Lekarskie PZWL, Warszawa, 280-292.
- COELHO M. M., SOUZA G. E., PELÁ I. R., 1992. *Endotoxin-induced fever is modulated by endogenous glucocorticoids in rats*. Am. J. Physiol. 263, 423-427.
- CZYŻ M., WATAŁA C., 2005. *Aspiryna – cudowne panaceum? Molekularne mechanizmy działania kwasu acetylosalicylowego w organizmie*. Postępy Hig. Med. Dosw. 59, 105-115.
- DE WAAL MALEFYT R., ABRAMS J., BENNETT B., FIGDOR C. G., DE VRIES J. E., 1991. *Interleukin 10 (IL-10) inhibits cytokine synthesis by human monocytes: an autoregulatory role of IL-10 produced by monocytes*. J. Exp. Med. 174, 1209-1220.
- DINARELLO C. A., 1999. *Cytokines as endogenous pyrogens*. J. Infect. Dis. 179, 294-304.
- DORRANCE A. M., RUPP N., POLLOCK D. M., NEWMAN J. W., HAMMOCK B. D., IMIG J. D., 2005. *An epoxide hydrolase inhibitor, 12-(3-adamantan-1-ylureido) dodecanoic acid (AUDA) reduces ischemic cerebral infarct size in stroke-prone spontaneously hypertensive rats*. J. Cardiovasc. Pharmacol. 46, 842-848.
- DUBOIS E. F., 1949. *Why are fever temperatures over 106 degrees F rare?* Am. J. Med. Sci. 217, 361-368.
- FANNING J., NEUHOFF R. A., BREWER J. E., CASTANEDA T., MARCOTTE M. P., JACOBSON R. L., 1998. *Frequency and yield of postoperative fever evaluation*. Infect. Dis. Obstet. Gynecol. 6, 252-255.
- GILL E. A., IMAIZUMI T., CARVETH H., TOPHAM M. K., TARBET E. B., MCINTYRE T. M., PRESCOTT S. M., ZIMMERMAN G. A., 1998. *Bacterial lipopolysaccharide induces endothelial cells to synthesize a degranulating factor for neutrophils*. FASEB J. 12, 673-684.
- GOYERT S. M., FERRERO E., RETTIG W. J., YENAMANDRA A. K., OBATA F., LE BEAU M. M., 1988. *The CD14 monocyte differentiation antigen maps to a region encoding growth factors and receptors*. Science 239, 497-500.

- HOLST O., ULMER A. J., BRADE H., FLAD H. D., RIETSCHEL E. T., 1996. *Biochemistry and cell biology of bacterial endotoxins*. FEMS Immunol. Med. Microbiol. 16, 83-104.
- HWANG S. H., WAGNER K. M., MORISSEAU C., LIU J. Y., DONG H., WECKSLER A. T., HAMMOCK B. D., 2011. *Synthesis and structure-activity relationship studies of urea-containing pyrazoles as dual inhibitors of cyclooxygenase-2 and soluble epoxide hydrolase*. J. Med. Chem. 54, 3037-3050.
- IMIG J. D., HAMMOCK B. D., 2009. *Soluble epoxide hydrolase as a therapeutic target for cardiovascular diseases*. Nat. Rev. Drug. Discov. 8, 794-805.
- IMIG J. D., ZHAO X., CAPDEVILA J. H., MORISSEAU C., HAMMOCK B. D., 2002. *Soluble epoxide hydrolase inhibition lowers arterial blood pressure in angiotensin II hypertension*. Hypertension 39, 690-694.
- INGRAHAM R. H., GLESS R. D., LO H.Y., 2011. *Soluble epoxide hydrolase inhibitors and their potential for treatment of multiple pathologic conditions*. Curr. Med. Chem. 18, 587-603.
- IYER A., KAUTER K., ALAM M. A., HWANG S. H., MORISSEAU C., HAMMOCK B. D., BROWN L., 2012. *Pharmacological inhibition of soluble epoxide hydrolase ameliorates diet-induced metabolic syndrome in rats*. Exp. Diabetes Res. 2012, 758614.
- JIANG Q., AKASHI S., MIYAKE K., PETTY H. R., 2000. *Lipopolysaccharide induces physical proximity between CD14 and toll-like receptor 4 (TLR4) prior to nuclear translocation of NF-kappa B*. J. Immunol. 165, 3541-3544.
- JUNG O., BRANDES R. P., KIM I. H., SCHWEDA F., SCHMIDT R., HAMMOCK B. D., BUSSE R., FLEMING I., 2005. *Soluble epoxide hydrolase is a main effector of angiotensin II-induced hypertension*. Hypertension 45, 759-765.
- KIELIAN T. L., BLECHA F., 1995. *CD14 and other recognition molecules for lipopolysaccharide: a review*. Immunopharmacology 29, 187-205.
- KLUGER M. J., 1991. *Fever: role of pyrogens and cryogens*. Physiol. Rev. 71, 93-127.
- KOENERS M. P., WESSELING S., ULU A., SEPÚLVEDA R. L., MORISSEAU C., BRAAM B., HAMMOCK B. D., JONES J. A., 2011. *Soluble epoxide hydrolase in the generation and maintenance of high blood pressure in spontaneously hypertensive rats*. Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab. 300, 691-698.
- KOZAK W., 2009. *Geneza gorączki. Biologiczne mechanizmy i praktyka medyczna*. Wydawnictwo Naukowe Uniwersytetu Mikołaja Kopernika, Toruń.
- KOZAK W., FRAIFELD V., 2004. *Non-prostaglandin eicosanoids in fever and anaptyrexia*. Front. Biosci. 9, 3339-3355.
- KOZAK W., ZHENG H., CONN C. A., SOSZYNSKI D., VAN DER PLOEG L. H., KLUGER M. J., 1995. *Thermal and behavioral effects of lipopolysaccharide and influenza in interleukin-1 beta-deficient mice*. Am. J. Physiol. 269, 969-977.
- KOZAK W., ARCHULETA I., MAYFIELD K. P., KOZAK A., RUDOLPH K., KLUGER M. J., 1998. *Inhibitors of alternative pathways of arachidonate metabolism differentially affect fever in mice*. Am. J. Physiol. 275, 1031-1040.
- KOZAK W., KLUGER M. J., TESFAIGZI J., KOZAK A., MAYFIELD K. P., WACHULEC M., DOKLADNY K., 2000a. *Molecular mechanisms of fever and endogenous antipyresis*. Ann. N. Y. Acad. Sci. 917, 121-134.
- KOZAK W., KLUGER M. J., KOZAK A., WACHULEC M., DOKLADNY K., 2000b. *Role of cytochrome P-450 in endogenous antipyresis*. Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol. 279, 455-460.
- KOZAK W., ARONOFF D. M., BOUTAUD O., KOZAK A., 2003. *11,12-epoxyeicosatrienoic acid attenuates synthesis of prostaglandin E2 in rat monocytes stimulated with lipopolysaccharide*. Exp. Biol. Med. 228, 786-794.
- KOZAK W., WROTEK S., KOZAK A., 2006. *Pyrogenicity of CpG-DNA in mice: role of interleukin-6, cyclooxygenases, and nuclear factor-kappaB*. Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol. 290, 871-880.
- LEON L. R., 2002. *Invited review: cytokine regulation of fever: studies using gene knockout mice*. J. Appl. Physiol. 92, 2648-2655.
- LEON L. R., KOZAK W., KLUGER M. J., 1998. *Role of IL-10 in inflammation. Studies using cytokine knockout mice*. Ann. NY Acad. Sci. 856, 69-75.
- LIU Y., ZHANG Y., SCHMELZER K., LEE T.S., FANG X., ZHU Y., SPECTOR A. A., GILL S., MORISSEAU C., HAMMOCK B. D., SHY J. Y. S., 2005. *The anti-inflammatory effect of laminar flow: the role of PPAR-gamma, epoxyeicosatrienoic acids, and soluble epoxide hydrolase*. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 102, 16747-16752.
- LUHESI G., MILLER A. J., BROUWER S., DASCOSMBE M. J., ROTHWELL N. J., HOPKINS S. J., 1996. *Interleukin-1 receptor antagonist inhibits endotoxin fever and systemic interleukin-6 induction in the rat*. Am. J. Physiol. 270, 91-95.
- LURIA A., BETTAIEB A., XI Y., SHIEH G. J., LIU H. C., INOUE H., TSAI H. J., IMIG J. D., HAJ F. G., HAMMOCK B. D., 2011. *Soluble epoxide hydrolase deficiency alters pancreatic islet size and improves glucose homeostasis in a model of insulin resistance*. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 108, 9038-9043.
- MANHIANI M., QUIGLEY J. E., KNIGHT S. F., TASSOBSHIRAZI S., MOORE T., BRANDS M. W., HAMMOCK B. D., IMIG J. D., 2009. *Soluble epoxide hydrolase gene deletion attenuates renal injury and inflammation with DOCA-salt hypertension*. Am. J. Physiol. Renal. Physiol. 297, 740-748.
- MATSUDA A., JACOB A., WU R., AZIZ M., YANG W. L., MATSUTANI T., SUZUKI H., FURUKAWA K., UCHIDA E., WANG P., 2012. *Novel therapeutic targets for sepsis: regulation of exaggerated inflammatory responses*. J. Nippon. Med. Sch. 79, 4-18.
- MCGUGAN E. A., 2001. *Hyperpyrexia in the emergency department*. Emerg. Med. 13, 116-120.
- MIEDZYBRODZKI R., 2004. *Kierunki poszukiwań i zastosowanie niesteroidowych leków przeciwzapalnych*. Postepy. Hig. Med. Dosw. 58, 438-448.
- MOESBY L., HANSEN E. W., CHRISTENSEN J. D., TOMMERUP L., NIELSEN C., 2003. *Endospores of B subtilis are pyrogenic and activate Mono Mac 6 cells: importance of the CD14 receptor*. Eur. J. Pharm. Sci. 19, 245-251.
- MORISSEAU C., HAMMOCK B. D., 2013. *Impact of soluble epoxide hydrolase and epoxyeicosanoids on human health*. Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol. 53, 37-58.
- MORISSEAU C., GOODROW M. H., DOWDY D., ZHENG J., GREENE J. F., SANBORN J. R., HAMMOCK B. D., 1999. *Potent urea and carbamate inhibitors of soluble epoxide hydrolases*. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 96, 8849-8854.
- MURPHY M. T., RICHARDS D. B., LIPTON J. M., 1983. *Antipyretic potency of centrally administered alpha-melanocyte stimulating hormone*. Science 221, 192-193.

- NAKASHIMA T., YOSHIDA Y., MIYATA S., KIYOHARA T., 2001. *Hypothalamic 11,12-epoxyeicosatrienoic acid attenuates fever induced by central interleukin-1beta in the rat*. *Neurosci. Lett.* 310, 141-144.
- NETEA M. G., KULLBERG B. J., VAN DER MEER J. W., 2000. *Circulating cytokines as mediators of fever*. *Clin. Infect. Dis.* 31, 178-184.
- NIZANKOWSKA E., BESTYŃSKA-KRYPEL A., BOCHENEK G., SZCZEKLIK A., 1997. *Astma aspirynowa – zapobieganie i leczenie*. *Alergia Astma Immunologia*. 2, 147-154.
- QIU H., LI N., LIU J. Y., HARRIS T. R., HAMMOCK B. D., CHIAMVIMONVAT N., 2011. *Soluble epoxide hydrolase inhibitors and heart failure*. *Cardiovasc. Ther.* 29, 99-111.
- ROMAN R. J., 2002. *P-450 Metabolites of Arachidonic Acid in the Control of Cardiovascular Function*. *Physiol. Rev.* 82, 131-185.
- ROSE T. E., MORISSEAU C., LIU J. Y., INCEOGLU B., JONES P. D., SANBORN J. R., HAMMOCK B. D., 2010. *1-Aryl-3-(1-acylpiperidin-4-yl)urea inhibitors of human and murine soluble epoxide hydrolase: structure-activity relationships, pharmacokinetics, and reduction of inflammatory pain*. *J. Med. Chem.* 53, 7067-7075.
- ROTH J., 2006. *Endogenous antipyretics*. *Clin. Chim. Acta.* 371, 13-24.
- RUWE W. D., NAYLOR A. M., VEALE W. L., 1985. *Perfusion of vasopressin within the rat brain suppresses prostaglandin E-hyperthermia*. *Brain. Res.* 338, 219-224.
- SCHMELZER K. R., KUBALA L., NEWMAN J. W., KIM I. H., EISERICH J. P., HAMMOCK B. D., 2005. *Soluble epoxide hydrolase is a therapeutic target for acute inflammation*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 102, 9772-9777.
- SHEN H. C., HAMMOCK B. D., 2011. *Discovery of inhibitors of soluble epoxide hydrolase: a target with multiple potential therapeutic indications*. *J. Med. Chem.* 55, 1789-1808.
- SHIH S. T., KHORRAM O., LIPTON J. M., MCCANN S. M., 1986. *Central administration of alpha-MSH antiserum augments fever in the rabbit*. *Am. J. Physiol.* 250, 803-806.
- SHIMAZU R., AKASHI S., OGATA H., NAGAI Y., FUKUDOME K., MIYAKE K., KIMOTO M., 1999. *MD-2, a molecule that confers lipopolysaccharide responsiveness on Toll-like receptor 4*. *J. Exp. Med.* 189, 1777-1782.
- SIMOPOULOS A. P., 2000. *Human requirement for N-3 polyunsaturated fatty acids*. *Poult. Sci.* 79, 961-970.
- SŁOWNIK, 2001. *Glossary of terms for thermal physiology*. Wyd. 3. Revised by The Commission for Thermal Physiology of the International Union of Physiological Sciences (IUPS Thermal Commission). *Jap. J. Physiol.* 51, 245-280.
- SPECTOR A. A., NORRIS A. W., 2007. *Action of epoxyeicosatrienoic acids on cellular function*. *Am. J. Physiol. Cell. Physiol.* 292, 996-1012.
- TAKEDA K., AKIRA S., 2005. *Toll-like receptors in innate immunity*. *Int. Immunol.* 17, 1-14.
- TACCONELLI S., PATRIGNANI P., 2014. *Inside epoxyeicosatrienoic acids and cardiovascular disease*. *Front. Pharmacol.* 5, 239.
- TAVARES E., MALDONADO R., OJEDA M. L., MIÑANO F. J., 2005. *Circulating inflammatory mediators during start of fever in differential diagnosis of gram-negative and gram-positive infections in leukopenic rats*. *Clin. Diagn. Lab. Immunol.* 12, 1085-1093.
- THOMSON S. J., ASKARI A., BISHOP-BAILEY D., 2012. *Anti-Inflammatory Effects of Epoxyeicosatrienoic Acids*. *Int. J. Vasc. Med.* 2012, 605101.
- TOBIAS P. S., SOLDAU K., ULEVITCH R. J., 1989. *Identification of a lipid A binding site in the acute phase reactant lipopolysaccharide binding protein*. *J. Biol. Chem.* 264, 10867-10871.
- WALENTYNOWICZ K., SZEFER M., WOJTAL B., TERLECKI P., WROTEK S., KOZAK W., 2006. *Role of prostaglandins in heme-induced fever*. *J. Physiol. Pharmacol.* 57, 73-82.
- WILKINSON M. F., KASTING N. W., 1987. *The antipyretic effects of centrally administered vasopressin at different ambient temperatures*. *Brain Res.* 415, 275-280.
- WROTEK S. E., KOZAK W., HESS D. C., FAGAN S. C., 2011. *Treatment of fever after stroke: conflicting evidence*. *Pharmacotherapy* 31, 1085-1091.
- YU Z., XU F., HUSE L. M., MORISSEAU C., DRAPER A. J., NEWMAN J. W., PARKER C., GRAHAM L., ENGLER M. M., HAMMOCK B. D., ZELDIN D. C., KROETZ D. L., 2000. *Soluble epoxide hydrolase regulates hydrolysis of vasoactive epoxyeicosatrienoic acids*. *Circ. Res.* 87, 992-998.
- ZHANG W., KOERNER I. P., NOPPENS R., GRAFE M., TSAI H. J., MORISSEAU C., LURIA A., HAMMOCK B. D., FALCK J. R., ALKAYED N.J., 2007. *Soluble epoxide hydrolase: a novel therapeutic target in stroke*. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 27, 1931-1940.

KOSMOS Vol. 66, 2, 327–335, 2017

JAKUB PIOTROWSKI, TOMASZ JEDRZEJEWSKI, MAŁGORZATA PAWLIKOWSKA, WIESŁAW KOZAK

*Department of Immunology, Faculty of Biology and Environment Protection, Nicolaus Copernicus University, Lwowska 1, 87-100
Toruń, E-mail: piotrowski_jak@umk.pl*

PHYSIOLOGICAL IMPORTANCE OF FEVER AND ENDOGENOUS ANTIPYRESIS. SOLUBLE EPOXIDE HYDROLASE
INHIBITORS AS POTENTIAL THERAPEUTIC DRUGS FOR THE TREATMENT OF FEVER

Summary

Fever has accompanied humanity throughout the whole history of our species. Being one of the cardinal signs of infection and disease, for decades it has been treated as a disorder, which at all costs had to be cured. Nowadays, however, fever is recognized as an important, beneficial and tightly regulated immune response. A real threat to health became the episodes of especially high or prolonged fever resulting from failure of thermoregulation mechanisms. Clinical experience shows, that in such cases standard treatment with aspirin-like non-steroidal anti-inflammatory drugs usually remains inefficient. This fact clearly proves the need for constant search for novel therapeutic agents. Pharmacological inhibition of soluble epoxide hydrolase (sEH) activity is a part of such studies. The growing number of evidence indicates, that sEH inhibitors might be used as a safe and effective alternative to currently used drugs.

Key words: : arachidonate epoxidase, endogenous antipyresis, epoxyeicosatrienoic acids, fever, soluble epoxide hydrolase inhibitors