

Folge einer gestörten IgF-1-Signaltransduktion?

Molekularer Mechanismus der Statin-assoziierten Myopathie

Stephan Krähenbühl

Klinische Pharmakologie & Toxikologie, Universitätsspital Basel

Zusammenfassung

Myopathien treten unter allen Statinen häufig auf und können zu Therapieabbruch oder auch zu lebensbedrohlichen Rhabdomyolysen führen. Während die Risikofaktoren für das Auftreten von Myopathien unter Statinen weitgehend bekannt sind, gilt dies nicht für den molekularen Mechanismus der Myotoxizität. Nachdem es Hinweise gegeben hat, dass eine Hemmung der IgF-1 (Insulin-like growth Factor 1)-Signalkaskade eine Rolle spielen könnte, haben wir die Wirkung der Statine auf diese Kaskade in vitro und in vivo untersucht. Die Ergebnisse zeigen, dass Statine Schlüsselproteine in dieser Kaskade hemmen, was zu Muskelabbau, verminderter Proteinsynthese und Apoptose führt. Erste Untersuchungen zeigen, dass diese Effekte durch Applikation von IgF-1 verhindert werden können. Allenfalls lässt sich auf diesem Weg auch die Statin-assoziierte Insulinresistenz erklären.

Hintergrund

Statin-assoziierte Myopathie

Die Nomenklatur für Statin-assoziierte Myopathie ist leider nicht einheitlich und zum Teil verwirrend [1]. Patienten können eine Myalgie ohne Erhöhung der Kreatinkinase (CK) haben, die sich in Muskelschmerzen, aber auch Schwäche und/oder Krämpfen äussert und durch körperliche Aktivität verstärkt werden kann (Tab. 1). Die Häufigkeit lag in kontrollierten Studien bei

bis zu 5% der Patienten, scheint aber ausserhalb von Studien höher zu sein [2]. Eine Erhöhung der CK mit oder ohne Myopathie wird als Myositis bezeichnet, wenn keine klinischen Zeichen einer Rhabdomyolyse vorliegen. Die CK-Aktivität ist in diesem Fall meist geringer als das 10-Fache der oberen Norm. Die Häufigkeit lag in klinischen Studien um 1%. Eine Rhabdomyolyse liegt dann vor, wenn das aus dem Muskel austretende Myoglobin zu einer Nephropathie führt. Die CK-Aktivitäten sind meist deutlich höher als die 10-fache obere Norm. Rhabdomyolysen sind selten, man geht von einer Häufigkeit um 1:10 000 Patientenjahre aus [3].

Risikofaktoren für Myopathie

Ein wichtiger Risikofaktor für die Entstehung von Myopathien bis zu Rhabdomyolysen ist eine erhöhte Exposition für Statine [1]. Eine erhöhte Exposition kann die Folge einer hohen Dosierung, einer medikamentösen Interaktion oder auch von Mutationen im Gen sein, das für einen Transporter von Statinen in die Hepatozyten kodiert (OATP1B1) [4]. Die Dosisabhängigkeit von Myopathien ist in klinischen Studien beschrieben worden und entspricht auch der klinischen Erfahrung [1]. Erhöhung der Exposition durch medikamentöse Interaktionen, zum Beispiel via Hemmung des Abbaus von Simvastatin und Atorvastatin durch Cytochrom P450 (CYP) 3A4-Hemmer, ist ein gut belegter Grund für das Auftreten von Myopathien [5]. Ebenso gut belegt ist die Interaktion mit Cyclosporin oder Gemfibrozil, die alle Statine betrifft und durch die Hemmung von OATP1B1 erklärt wird [6]. OATP1B1 ist ein in der sinusoidalen Membran

Tabelle 1: Mit Statinen assoziierte Myopathien. Nomenklatur nach Rosenson [1].

Myopathie	Häufigkeit	Klinik	Bemerkungen
Myalgie	bis 5% (klinische Studien)	Schmerzen, Krämpfe. CK nicht erhöht	Beschwerden können nach körperlicher Tätigkeit exazerbieren. Möglicher Grund für Non-Compliance
Myositis	ca. 1% (klinische Studien)	CK erhöht, meist <10-fach obere Norm. Mit oder ohne Myalgien. Keine Zeichen von Rhabdomyolyse	Beschwerden können nach körperlicher Tätigkeit exazerbieren. Möglicher Grund für Non-Compliance
Rhabdomyolyse	ca. 1 pro 10 000 Patientenjahre	CK meist deutlich >10-fach obere Norm. Klinische Zeichen von Rhabdomyolyse wie Myoglobulinurie und Niereninsuffizienz	Statin stoppen und Patient hospitalisieren

von Hepatozyten gelegener Transporter für Statine und andere Anionen in das Zellinnere der Hepatozyten. Die Rolle von OATP1B1 für die Aufnahme von Statinen in die Hepatozyten ist in einer «genome-wide association study» gezeigt worden [4]. Patienten mit einem homozygoten Polymorphismus mit verminderter OATP1B1-Aktivität hatten in dieser Studie ein ca. 20%-iges Risiko für die Entwicklung einer Myopathie unter Simvastatin. Im Vergleich zu Patienten ohne solche Polymorphismen war das Risiko ca. 30-fach erhöht.

In der oben erwähnten Studie wurden darüber hinaus medikamentöse Interaktionen als Risikofaktoren für Myopathien bestätigt. Zusätzlich wurden Alter >65 Jahre, weibliches Geschlecht, eingeschränkte Nierenfunktion und das Vorliegen eines Diabetes als weitere Risikofaktoren für Myopathien unter Simvastatin beschrieben [4].

In einer retrospektiven Studie bei 136 Patienten mit Statin-assoziiierter Myopathie fanden sich bei 52% in der Muskelbiopsie Hinweise auf eine metabolische Störung, und 10% hatten einen genetischen Defekt, der mit Rhabdomyolyse assoziiert ist [7].

Es scheint also so zu sein, dass erhöhte Exposition und zugrundeliegende metabolische Störungen wichtige Risikofaktoren für eine Statin-assoziierte Myopathie sind.

Mögliche Mechanismen

Die Hypothese, dass eine Verminderung der Cholesterinsynthese und damit auch des Cholesteringehalts in Muskelzellen zu Myopathie führen kann, ist naheliegend. Die Abhängigkeit der Myotoxizität von der Exposition könnte damit erklärt werden. Dagegen spricht allerdings die Tatsache, dass, zumindest in vitro, ein zytotoxischer Effekt auftritt, bevor der Cholesteringehalt von exponierten Zellen sinkt [8].

Da Statine die Cholesterinsynthese in einem frühen Schritt hemmen (Abb. 1), besteht die Möglichkeit, dass die Myopathie durch einen Mangel an Zwischenprodukten wie zum Beispiel Farnesyl- (FPP) oder Geranylgeranylpyrophosphat (GGPP) oder auch Dolichol oder Ubichinon 10 (Coenzym Q10) ausgelöst wird [9]. Farnesyl- und Geranylgeranylpyrophosphat sind wichtig für die Prenylierung von Proteinen, die so besser in lipophile Membranen integriert werden können. Dasselbe gilt auch für Dolichol. Coenzym Q10 ist ein Bestandteil der mitochondrialen Atmungskette, also wichtig für die mitochondriale ATP-Synthese. Der Coenzym-Q10-Gehalt im Serum ist zwar bei mit Statinen behandelten Patienten tatsächlich tiefer als bei Patienten ohne Statine, aber in der Muskulatur besteht kein funktionelles

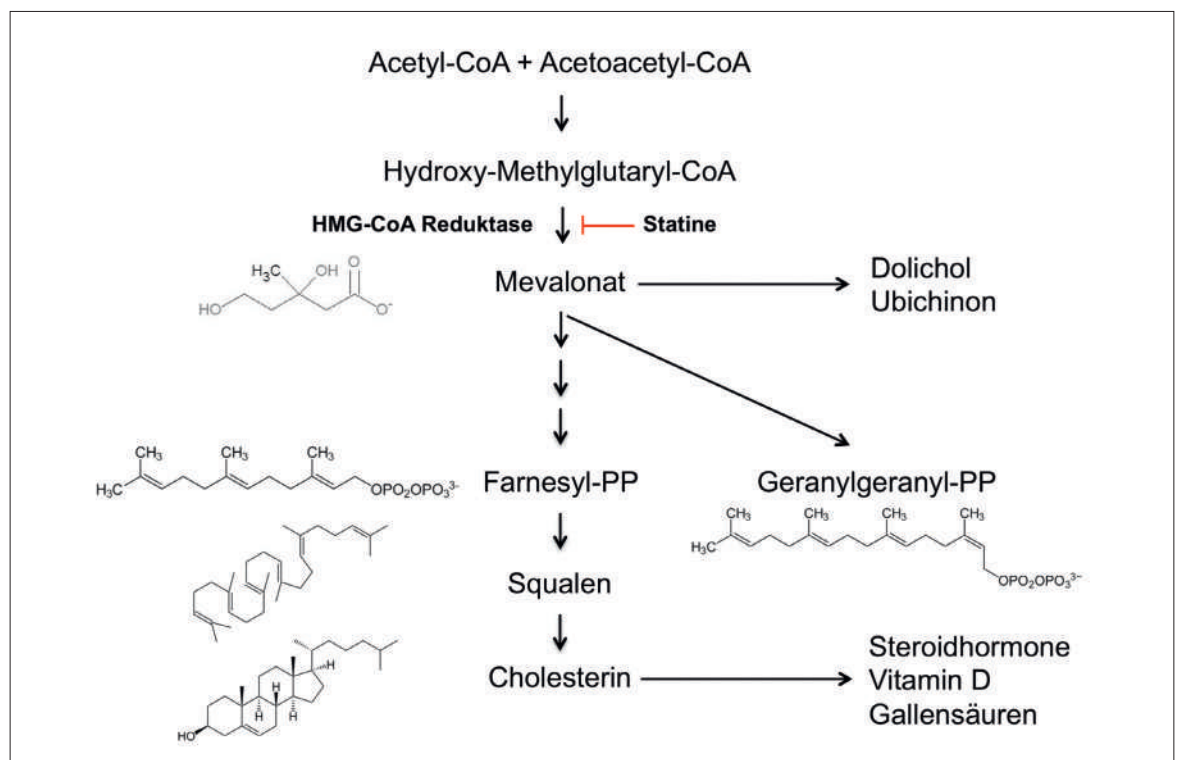


Abbildung 1: Cholesterinbiosynthese. Cholesterin kann von allen Zellen mit Zellkern synthetisiert werden. Die Synthese geht von Acetyl-CoA aus und führt in verschiedenen Schritten zu Cholesterin. Statine hemmen den Schritt von Hydroxy-Methylglutaryl-CoA zur Mevalonsäure, vorwiegend in der Leber. Wenn Statine hohe systemische Konzentrationen erreichen, wird auch die Cholesterinsynthese in der Muskulatur gehemmt. Der myotoxische Effekt der Statine beruht zumindest zum Teil auf verminderter Synthese von Zwischenprodukten wie Farnesyl- und Geranylgeranylpyrophosphat.

Defizit [10]. Die verminderte Prenylierung von Proteinen könnte allerdings bei der Statin-assoziierten Myopathie eine Rolle spielen [9]. Als Hinweis darauf können Studien gewertet werden, die zeigen, dass in mit Simvastatin behandelten Myozyten die Zytotoxizität durch die gleichzeitige Exposition mit Mevalonat verhindert oder zumindest vermindert werden kann [11]. Da Statine die Konversion von 3-Hydroxy-3-Methylglutaryl-CoA zu Mevalonsäure hemmen (Abb. 1), kann mit der Applikation von Mevalonsäure der metabolische Block der Statine umgangen werden.

Statine sind aber auch direkte mitochondriale Toxine; sie hemmen unter anderem die mitochondriale Atmungskette (also schlussendlich die ATP-Produktion) und auch die β -Oxidation von Fettsäuren [12]. Dabei ist dieser Effekt bei den lipophilen Statinen wie Simvastatin und Atorvastatin stärker ausgeprägt als bei dem hydrophilen Pravastatin und Rosuvastatin.

Mitochondrien sind neben dem endoplasmatischen Retikulum wichtig für den intrazellulären Calciumstoffwechsel, indem sie Calcium aktiv aufnehmen und so

das zytoplasmatische Calcium tief halten. Da der Transport von Calcium in Mitochondrien energieabhängig ist, erstaunt es nicht, dass er, gleich wie andere mitochondriale Funktionen, durch Statine gestört werden kann [11]. In der Skelettmuskulatur kann durch die gestörte Calciumhomöostase neben Zelluntergang auch die kontraktile Funktion vermindert werden, was das klinische Bild der Statin-assoziierten Myopathie erklären könnte.

2007 hat die Gruppe von Lecker [13] eine Studie veröffentlicht, in der sie aufzeigte, dass Statine die Expression der Ubiquitin-Protein-Ligase Atrogin-1 in der Skelettmuskulatur aufregulieren. Ubiquitin-Protein-Ligasen sind Enzyme, die Proteine mit Ubiquitin markieren, damit sie via Proteasom abgebaut werden können. Entsprechend ist die Aufregulierung von Atrogin-1 mit Muskelabbau assoziiert und könnte zumindest CK-Erhöhung und Muskelschwäche erklären. Dieser Mechanismus erklärt aber nicht, weshalb Mevalonsäure zumindest in vitro die Toxizität von Statinen vermindern oder sogar verhindern kann.

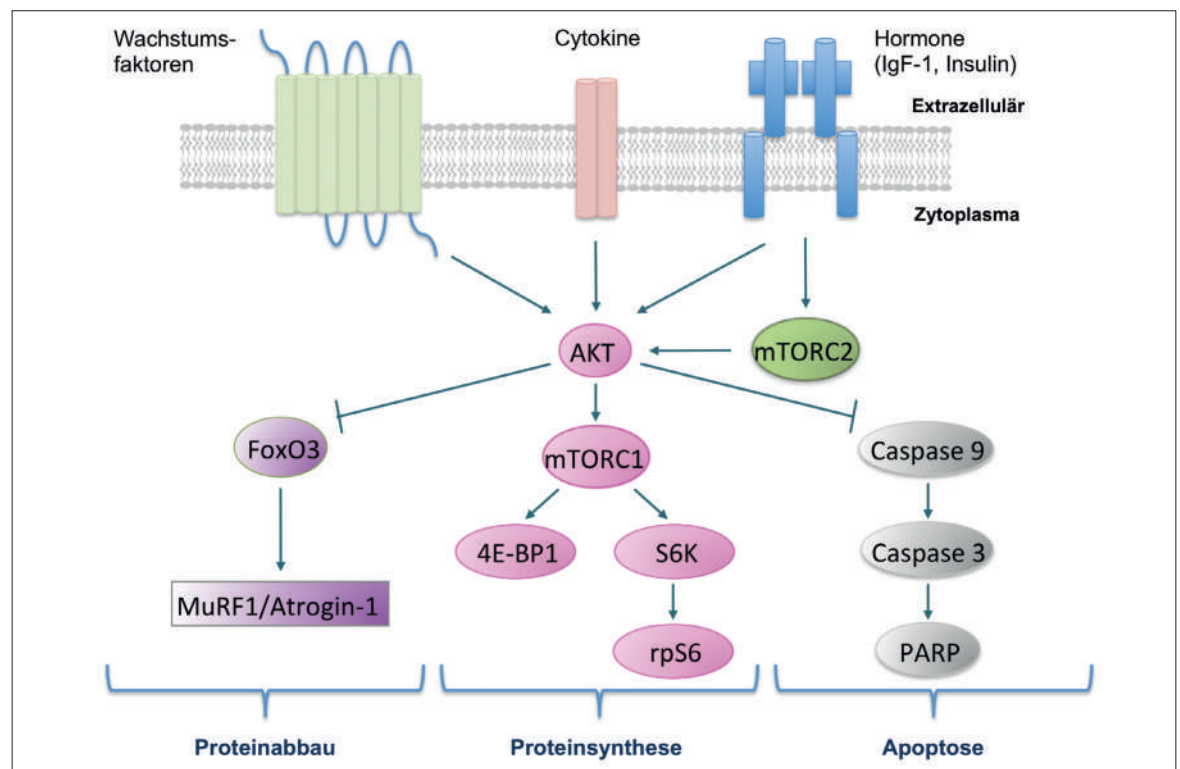


Abbildung 2: Funktion von AKT (Protein Kinase B). AKT ist eine Proteinkinase, die selbst auch durch Phosphorylierung aktiviert wird. Die Aktivierung erfolgt über Membranrezeptoren von Hormonen (IGF-1, Insulin), Cytokinen oder Wachstumsfaktoren. Ein wichtiger Aktivierungsweg geht über mTORC2. Durch Phosphorylierung von FoxO3 hemmt AKT die Expression der Ubiquitin-Protein-Ligasen MuRF1 und Atrogin-1. AKT aktiviert mTORC1 einen Proteinkomplex mit Proteinkinaseaktivität und wichtigen Funktionen unter anderem im Zellmetabolismus. mTORC1 phosphoryliert 4E-BP1 und S6K und stimuliert so die Proteinsynthese. AKT hemmt Caspase 9 und dadurch auch Apoptose.

Abkürzungen: mTORC: mammalian target of rapamycin complex. FoxO3: Forkhead-Box-Protein O3. MuRF1: Muscle RING-finger protein-1. 4E-BP1: 4E-binding protein 1. S6K: ribosomal protein S6 kinase. rpS6: ribosomal protein S6. PARP: Poly-(ADP-ribose)-polymerase.

Hypothese

Die Überexpression von Atrogin-1 durch Statine ist Folge einer gestörten IgF-1-Signaltransduktion und kann durch IgF-1 aufgehoben werden.

Effekt der Statine auf die IgF1-Signalkaskade

Wie in Abb. 2 gezeigt, ist AKT (Protein Kinase B) eine Proteinkinase, die selbst auch durch Phosphorylierung aktiviert wird. Im aktivierten Zustand phosphoryliert sie unter anderem den Transkriptionsfaktor FoxO3, der im phosphorylierten Zustand den Zellkern nicht erreichen und dadurch die Expression von MuRF1 und Atrogin-1 nicht stimulieren kann. MuRF1 und Atrogin-1 sind Ubiquitin-Protein-Ligasen; eine verminderte Aktivität dieser Ligasen bedeutet weniger Proteinabbau. AKT aktiviert auch mTORC1, einen Proteinkomplex, der aus mTOR (mammalian target of rapamycin) und einigen anderen Proteinen besteht. mTORC1 hat unter anderem wichtige Funktionen im Stoffwechsel, zum Beispiel stimuliert er die Proteinsynthese durch Phosphorylierung von 4E-BP1 (4E-binding protein 1) und von S6K (ribosomal protein S6 kinase). Zudem hemmt die aktivierte AKT Caspase 9 und vermindert dadurch Apoptose. Da AKT ein wichtiges Protein in der Signalkaskade von IgF-1 (und von Insulin) darstellt, haben wir obige Hypothese formuliert und den Effekt von Statinen auf die IgF-1-Signaltransduktion *in vitro* und *in vivo* untersucht.

In einer ersten Studie konnten wir zeigen, dass Simvastatin in kultivierten Myozyten die Aktivierung (Phosphorylierung) von AKT stark vermindert, was unsere Hypothese unterstützte [14]. AKT kann an zwei Stellen phosphoryliert werden: an einem Serin in Position 473 (S473) und an einem Threonin in Position 308 (T308). In einer Folgestudie konnten wir bestätigen, dass alle Statine (nicht nur Simvastatin) die Phosphorylierung von AKT hemmen, und zwar in Position S473 [15]. Diese Phosphorylierung wird vorwiegend von mTORC2 durchgeführt (die Phosphorylierung von T308 erfolgt vorwiegend via IgF-1/Insulin). Der primäre Effekt der Statine könnte also in einer Hemmung von mTORC2 liegen. Wie mTORC1 enthält mTORC2 mTOR und verschiedene andere Proteine, die im Vergleich zu mTORC1 zum Teil unterschiedlich sind [16]. mTORC2 ist wie mTORC1 ebenfalls eine Proteinkinase, und eine wichtige Funktion ist die Aktivierung von AKT.

Wenn die Aktivierung von AKT gehemmt ist, hat dies Konsequenzen auf weiter unten liegende Komponenten der Signalkaskade, wie oben ausgeführt zum Beispiel auf mTORC1, FoxO3a und auf Caspase 9. Erwartet werden in diesem Fall erhöhte Proteolyse mit Zell- und Muskel-

atrophie, verminderte Proteinsynthese und vermehrter Zelluntergang via Apoptose. Diese Befunde konnten wir in mit Statinen behandelten kultivierten Myozyten von Mäusen und von Menschen zeigen [15].

Da Statine mitochondriale Toxine sind, hemmen sie die mitochondriale ATP-Synthese [12]. Ein Absinken des zellulären ATP-Spiegels ist mit einer Erhöhung des AMP-Spiegels und damit einer Aktivierung der AMP-abhängigen Kinase (AMPK) verbunden, welche die Aktivierung von AKT hemmt. Diesen Mechanismus konnten wir in kultivierten Myozyten und auch im Herzmuskel von mit Simvastatin behandelten Mäusen belegen [17]. Gleich wie in kultivierten Myozyten, kommt es auch in der Herzmuskulatur von mit Simvastatin behandelten Mäusen zu einer Aufregulierung von Atrogin-1, Muskelatrophie und Apoptose [17].

Erste Versuche in kultivierten Myozyten zeigen, dass die erwähnten Veränderungen in der Signalkaskade von IgF-1 durch die Applikation von IgF-1 verhütet und bis zu einem gewissen Zeitpunkt sogar revertiert werden können

Erste Versuche in kultivierten Myozyten zeigen, dass die erwähnten Veränderungen in der Signalkaskade von IgF-1 durch die Applikation von IgF-1 verhütet und bis zu einem gewissen Zeitpunkt sogar revertiert werden können.

Ausblick

Gegenwärtig laufen Studien mit dem Ziel, die Reversibilität der Statineffekte durch Aktivierung der IgF-1-Signalkaskade im Detail zu untersuchen. In weiteren Studien werden wir auch den genauen Mechanismus der präventiven Wirksamkeit von Mevalonsäure untersuchen mit dem Ziel, die Toxizität der Statine auf die IgF-1-Signalkaskade besser zu verstehen.

Da die Signalkaskaden von IgF-1 und Insulin in weiten Teilen parallel laufen und AKT demzufolge auch für die Insulinwirkung eine wichtige Rolle spielt, lässt sich mit unseren Ergebnissen möglicherweise auch die mit Statinen assoziierte Insulinresistenz erklären [18]. Dieser Frage werden wir sowohl *in vitro* wie auch *in vivo* nachgehen.

Schlussendlich wird sich die Frage nach der Relevanz unserer Befunde im Menschen stellen. Auch wenn andere lipidsenkende Therapien auf den Markt kommen werden, bleiben die Statine in nächster Zeit mit einer hohen Wahrscheinlichkeit die Grundlage für die Therapie der Hypercholesterinämie. Das Verständnis der mit dieser Therapie assoziierten Myopathie und allfällige therapeutische Massnahmen bleiben deshalb auch in Zukunft wichtig.

Verdankung

Vielen Dank an Annalisa Bonifacio, Gerda M. Sanvee und Jamal Bouitbir für die Durchführung von Experimenten und Tierstudien.

Finanzielle Unterstützung

Unterstützt durch SNF Projekt PDFMP3_132477.

Disclosure statement

Der Autor hat keine finanziellen oder persönlichen Verbindungen im Zusammenhang mit diesem Beitrag deklariert.

Literatur

- Rosenson RS. Current overview of statin-induced myopathy. *The American journal of medicine*. 2004;116(6):408–16.
- Laaksonen R. On the mechanisms of statin-induced myopathy. *Clinical Pharmacology & Therapeutics*. 2006;79(6):529–31.
- Graham DJ, Staffa JA, Shatin D, Andrade SE, Schech SD, La Grenade L, et al. Incidence of hospitalized rhabdomyolysis in patients treated with lipid-lowering drugs. *Jama*. 2004;292(21):2585–90. Epub 2004/12/02.
- Link E, Parish S, Armitage J, Bowman L, Heath S, Matsuda F, et al. SLCO1B1 variants and statin-induced myopathy—a genome-wide study. *The New England journal of medicine*. 2008;359(8):789–99. Epub 2008/07/25.
- Omar MA, Wilson JP. FDA adverse event reports on statin-associated rhabdomyolysis. *The Annals of pharmacotherapy*. 2002;36(2):288–95.
- Carr DF, O'Meara H, Jorgensen AL, Campbell J, Hobbs M, McCann G, et al. SLCO1B1 genetic variant associated with statin-induced myopathy: a proof-of-concept study using the clinical practice research datalink. *Clinical pharmacology and therapeutics*. 2013;94(6):695–701.
- Vladutiu GD, Simmons Z, Isackson PJ, Tarnopolsky M, Peltier WL, Barboi AC, et al. Genetic risk factors associated with lipid-lowering drug-induced myopathies. *Muscle & nerve*. 2006;34(2):153–62. Epub 2006/05/04.
- Mullen PJ, Luscher B, Scharnagl H, Krahenbuhl S, Brecht K. Effect of simvastatin on cholesterol metabolism in C2C12 myotubes and HepG2 cells, and consequences for statin-induced myopathy. *Biochemical pharmacology*. 2010;79(8):1200–9. Epub 2009/12/19.
- Baker SK. Molecular clues into the pathogenesis of statin-mediated muscle toxicity. *Muscle & nerve*. 2005;31(5):572–80. Epub 2005/02/16.
- Mabuchi H, Nohara A, Kobayashi J, Kawashiri MA, Katsuda S, Inazu A, et al. Effects of CoQ10 supplementation on plasma lipoprotein lipid, CoQ10 and liver and muscle enzyme levels in hypercholesterolemic patients treated with atorvastatin: a randomized double-blind study. *Atherosclerosis*. 2007;195(2):e182–9. Epub 2007/08/08.
- Sacher J, Weigl L, Werner M, Szegedi C, Hohenegger M. Delineation of myotoxicity induced by 3-hydroxy-3-methylglutaryl CoA reductase inhibitors in human skeletal muscle cells. *The Journal of pharmacology and experimental therapeutics*. 2005;314(3):1032–41. Epub 2005/05/26.
- Kaufmann P, Torok M, Zahno A, Waldhauser KM, Brecht K, Krahenbuhl S. Toxicity of statins on rat skeletal muscle mitochondria. *Cellular and Molecular Life Sciences*. 2006;63(19–20):2415–25.
- Hanai J, Cao P, Tanksale P, Imamura S, Koshimizu E, Zhao J, et al. The muscle-specific ubiquitin ligase atrogin-1/MAFbx mediates statin-induced muscle toxicity. *The Journal of clinical investigation*. 2007;117(12):3940–51. Epub 2007/11/10.
- Mullen PJ, Zahno A, Lindinger P, Maseneni S, Felser A, Krahenbuhl S, et al. Susceptibility to simvastatin-induced toxicity is partly determined by mitochondrial respiration and phosphorylation state of Akt. *Biochimica et Biophysica Acta-Molecular Cell Research*. 2011;1813(12):2079–87.
- Bonifacio A, Sanvee GM, Bouitbir J, Krahenbuhl S. The AKT/mTOR signaling pathway plays a key role in statin-induced myotoxicity. *Biochimica et biophysica acta*. 2015;1850(8):1841–9. Epub 2015/04/29.
- Ma XM, Blenis J. Molecular mechanisms of mTOR-mediated translational control. *Nature reviews Molecular cell biology*. 2009;10(5):307–18. Epub 2009/04/03.
- Bonifacio A, Mullen PJ, Mityko IS, Navegantes LC, Bouitbir J, Krahenbuhl S. Simvastatin induces mitochondrial dysfunction and increased atrogin-1 expression in H9c2 cardiomyocytes and mice in vivo. *Archives of toxicology*. 2014. Epub 2014/10/11.
- Larsen S, Stride N, Hey-Mogensen M, Hansen CN, Bang LE, Bundgaard H, et al. Simvastatin effects on skeletal muscle: relation to decreased mitochondrial function and glucose intolerance. *Journal of the American College of Cardiology*. 2013;61(1):44–53. Epub 2013/01/05.

Korrespondenz:
Prof. Stephan Krähenbühl
Klinische Pharmakologie
& Toxikologie
Universitätsspital
CH-4031 Basel
stephan.kraehenbuehl
[at]usb.ch