



**UNIwersytet
MIKOŁAJA KOPERNIKA
W TORUNIU**

Collegium Medicum
im. Ludwika Rydygiera w Bydgoszczy

Bydgoszcz 2023 r.



**UNIwersYTET
MIKOŁAJA KOPERNIKA
W TORUNIU**
Wydział Lekarski
Collegium Medicum w Bydgoszczy

Anna Katarzyna Niezgoda

Ocena stopnia repigmentacji plam bielaczych po miejscowym zastosowaniu 1% soli sodowej kwasu simwastatyny i 1% soli wapniowej atorwastatyny u pacjentów z aktywną postacią bielactwa nabytego.

Rozprawa na stopień doktora nauk medycznych

**Promotor:
Prof. dr hab. n. med. Rafał Czajkowski**

Bydgoszcz 2023 r.

Pragnę serdecznie podziękować mojemu promotorowi Prof. dr hab. n. med. Rafałowi Czajkowskiemu za wszelkie wskazówki merytoryczne, nadzór nad przebiegiem projektu oraz za życzliwą pomoc udzieloną w trakcie jego realizacji.

1. Spis treści	4
2. Wstęp	
2.1 Bielactwo nabyte	6
2.1.1 Wstęp	6
2.1.2 Epidemiologia	6
2.1.3 Etiopatogeneza	8
2.1.3.1 Genetyka	8
2.1.3.2 Stres oksydacyjny	10
2.1.3.3 Odporność wrodzona	12
2.1.3.4 Odporność nabyta	13
2.1.4 Klasyfikacja i obraz kliniczny	18
2.1.5 Rozpoznanie	21
2.1.6 Kliniczne markery aktywności choroby	24
2.1.7 Jakość życia	27
2.1.8 Leczenie	28
2.1.8.1 Leczenie miejscowe	30
2.1.8.2 Fototerapia	31
2.1.8.3 Doustne minipulsy glikokortykosteroidów	32
2.1.8.4 Terapie łączone	32
2.1.8.5 Leczenie chirurgiczne	34
2.1.8.6 Kamuflaż	34
2.1.8.7 Depigmentacja	34
2.1.8.8 Inne metody leczenia	34
2.2 Statyny	36
2.2.1 Wstęp	36
2.2.2 Wpływ statyn na stres oksydacyjny	37
2.2.3 Wpływ statyn na procesy immunologiczne	37
2.2.3.1 Anergia limfocytów T	39
2.2.3.2 Zmiana profilu cytokinowego	39
2.2.3.3 Wpływ na cząsteczki adhezyjne	40
2.2.3.4 Wpływ na migrację limfocytów	41
2.2.3.5 Wpływ na populację limfocytów T	41

2.2.3.6	Wpływ na ekspresję antygenów MHC	42
2.2.3.7	Wpływ na ekspresję cząstek kostymulujących	43
2.3	Zastosowanie statyn w bielactwie	44
3.	Cele	45
4.	Materiał, metody	46
4.1	Sporządzenie preparatów badanych	46
4.2	Randomizacja i zaślepienie	49
4.3	Schemat przebiegu badania oraz oceny zmian skórnych	49
4.4	Opis postępowania	56
4.5	Punkty końcowe badania	57
4.6	Protokół badania	58
5.	Wyniki	59
5.1	Wyjściowa charakterystyka populacji badania EVRAAS	59
5.2	Pierwszorzędowy punkt końcowy	60
5.3	Drugorzędowe punkty końcowe	69
5.4	Analiza mocy badania	87
5.4.1	Zmiana powierzchni bezwzględnej	87
5.4.2	Zmiana BSA	88
5.4.3	Zmiana VASI	88
6.	Dyskusja	90
7.	Wnioski	115
8.	Streszczenia	116
9.	Spis piśmiennictwa	122
10.	Załączniki:	
	Zgoda Komisji Bioetycznej	132
	Wykaz stosowanych skrótów	134
	Spis tabel	136
	Spis rycin	138

2. Wstęp

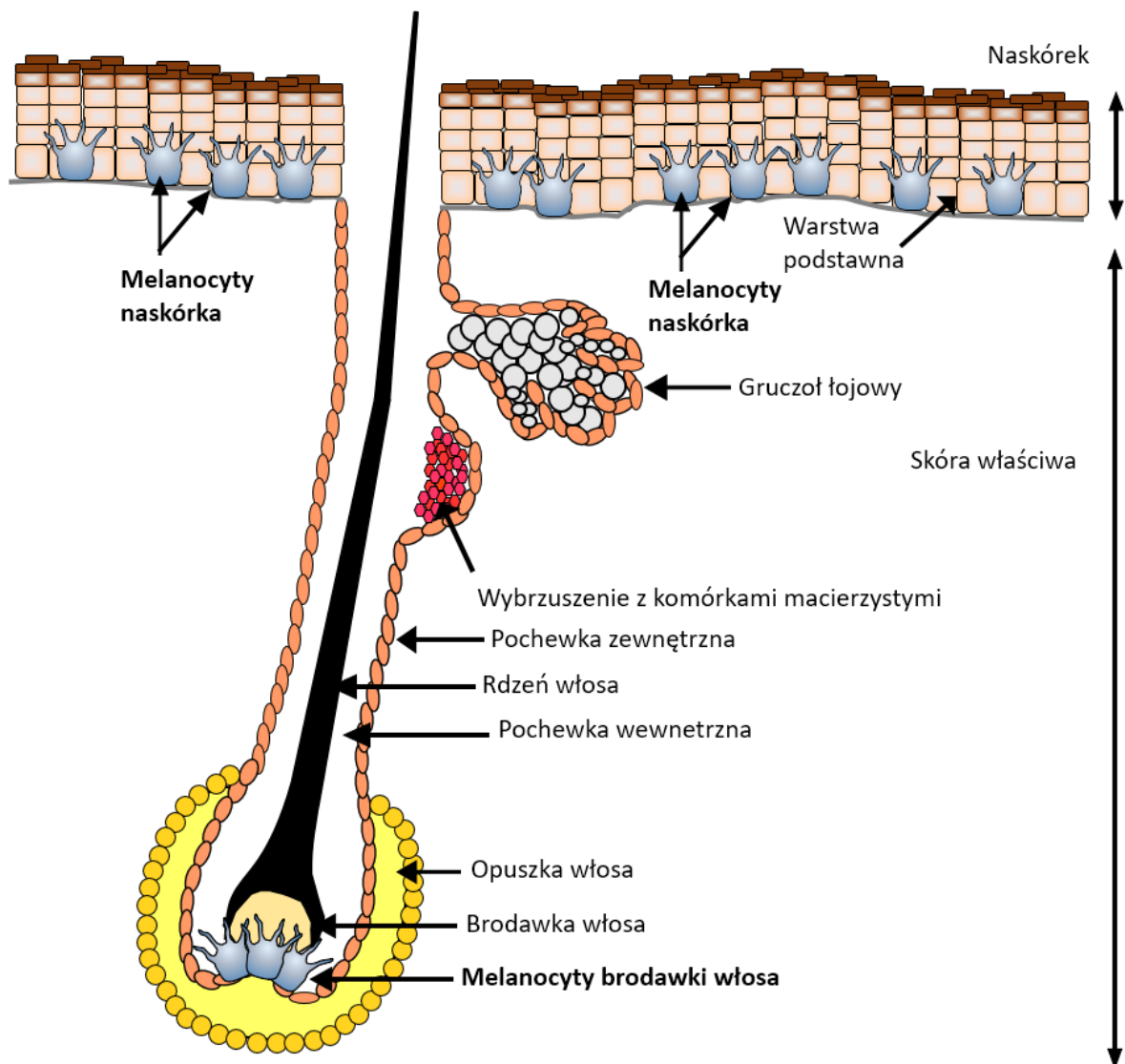
2.1 Bielactwo nabyte

2.1.1 Wstęp

Bielactwo nabyte (*vitiligo*) to autoimmunologiczna/autozapalna, przewlekła choroba skóry, charakteryzująca się występowaniem wyraźnie odgraniczonych, odbarwionych plam o różnych kształtach i rozmiarach. Odbarwienia mogą dotyczyć także błon śluzowych, włosów (leukotrychia) oraz aparatu paznokciowego (leukonychia). [1] Depigmentacja jest początkowo wynikiem dysfunkcji, a następnie destrukcji komórek produkujących melanicę, zwanych melanocytami, które znajdują się w warstwie podstawnej naskórka oraz w mieszkach włosowych. **(Rycina 1)** [2, 3] Melanocyty embriologicznie pochodzą z ektodermalnych komórek grzebienia nerwowego, występują także w obrębie opon mózgowo-rdzeniowych, nabłonka barwnikowego siatkówki, błony naczyniowej oka i ucha wewnętrznego. [3] Wiele badań klinicznych sugeruje, że u pacjentów z bielactwem nabytym może dochodzić do ogólnoustrojowej destrukcji melanocytów, co prowadzi do zmian okulistycznych oraz zaburzeń słuchu. [4, 5] Z *vitiligo* wiąże się także częstsze występowanie chorób autoimmunologicznych niż w populacji ogólnej. [5] Piętno społeczne związane z tą oszpecającą chorobą zostało opisane już około 3500 lat temu w starożytnym Egipcie oraz Indiach. [6] Aktualnie, bielactwo nabyte może stanowić nadal poważny problem estetyczny, negatywnie wpływając na jakość życia pacjentów, ich relacje społeczne, samoocenę, prowadząc do rozwoju depresji oraz stanów lękowych. [2] Dostępnych jest wiele opcji terapeutycznych, jednak ich skuteczność często nie jest zadowalająca, dlatego bielactwo nabyte jest przedmiotem wielu prac badawczych mających na celu lepsze zrozumienie etiopatogenezy choroby, jej powiązań z innymi zaburzeniami ogólnoustrojowymi oraz poszukiwanie skuteczniejszych metod leczenia.

2.1.2 Epidemiologia

Bielactwo nabyte jest dość częstym zaburzeniem barwnikowym skóry. Choroba nie wykazuje predylekcji do ras czy grup etnicznych. W literaturze chorobowość szacuje się na 0,5-1% populacji światowej. [7] Metaanaliza przeprowadzona przez Kruger i wsp. w 2012 r. obejmująca ponad 50 badań wykazała wskaźniki chorobowości w zakresie 0,06-2,28% w populacji ogólnej oraz 0-2,16% w populacji dziecięcej. Na podstawie tych danych możemy wnioskować, że rozpowszechnienie bielactwa nabytego na świecie jest zbliżone w populacji



Rycina 1. Dystrybucja melanocytów w naskórku oraz jednostce włosowej. Komórki macierzyste melanocytów lokalizują się w wybrzuszeniu mieszka włosowego, które jest zlokalizowane w pobliżu gruczołu łojowego. Zróżnicowane melanocyty są zlokalizowane w brodawce włosa oraz w warstwie podstawnej naskórka. Źródło własne.

pediatrycznej oraz osób dorosłych. Często przytaczana w literaturze chorobowość w Indiach na poziomie 8,8% jest zawyżona, ponieważ dane pochodziły z jednego ośrodka w Delhi zajmującego się chorobami skóry i obejmowały przypadki depigmentacji chemicznej i toksycznej. [8] Inna metaanaliza Zhang i wsp. z 2016 r. poddała ocenie 103 badania. łączna częstość występowania bielactwa nabytego w 82 badaniach populacyjnych lub środowiskowych wyniosła 0,2%, a w 22 badaniach szpitalnych - 1,8%. [9] Po przeanalizowaniu badań z obszarów ograniczonych geograficznie lub reprezentatywnych grup populacji ogólnej,

jest bardzo prawdopodobne, że na świecie występowanie bielactwa nabytego mieści się między 0,4 a 2%.

Vitiligo dotyczy obu płci w równym stopniu, choć częściej do dermatologa zgłaszają się kobiety, prawdopodobnie ze względów estetycznych. Choroba może rozwinąć się w każdym wieku, jednak szacuje się, że prawie połowa przypadków dotyczy pacjentów przed ukończeniem 20 roku życia, a 70-80% przed 30 rokiem życia. [10] Na uwagę zasługuje fakt, iż w wieku dziecięcym (poniżej 12 roku życia) bielactwo nabyte występuje często i dotyka 32-37% pacjentów. [11]

2.1.3 Etiopatogeneza

Bielactwo nabyte jest wieloczynnikową chorobą charakteryzującą się utratą melanocytów. Istnieje wiele teorii dotyczących mechanizmów niszczenia komórek barwnikowych. Należą do nich hipotezy: genetyczne, autoimmunologiczne, autozapalne, stresu oksydacyjnego, neurogenne, zaburzeń przylegania (melanocytorrhagia), apoptotyczne, mikrośrodowiskowe i wieloczynnikowe. Żaden z proponowanych mechanizmów nie jest sam w sobie wystarczający do wyjaśnienia różnych fenotypów bielactwa nabytego, a ogólny udział każdego z nich jest nadal przedmiotem dyskusji. Obecnie panuje zgoda co do autoimmunologicznej i autozapalnej, a więc wieloczynnikowej natury bielactwa nabytego. „Teoria konwergencji” lub „teoria zintegrowana” sugeruje, że w bielactwie nabytym może działać wiele mechanizmów przyczyniających się do niszczenia melanocytów, skutkujących wystąpieniem zmian chorobowych. [12]

Aktualnie obowiązująca klasyfikacja kliniczna bielactwa nabytego obejmuje dwa główne typy: postać segmentalną (SV) oraz niesegmentalną (NSV). W przeszłości uważano, że NSV i SV miały odrębne podłoże patogenetyczne ze względu na różne obrazy kliniczne, przy czym w przypadku SV faworyzowano hipotezę neurogenną z uwagi na jednostronną, dermatomalną, dystrybucję zmian chorobowych. Nowsze doniesienia wskazują na wspólną patogenezę autozapalną zarówno w przypadku SV, jak i NSV. Obydwie postaci kliniczne wydają się wynikać z wieloczynnikowego procesu patogenetycznego, który polega na ujawnieniu się choroby u osób predysponowanych genetycznie, po zadziałaniu czynników spustowych (środowiskowych) indukujących odpowiedź autoimmunologiczną i autozapalną. [13-15]

2.1.3.1 Genetyka

Badania epidemiologiczne wykazały, że bielactwo nabyte częściej występuje u osób spokrewnionych. Około 20% pacjentów ma co najmniej 1 krewnego pierwszego stopnia z

vitiligo, a względne ryzyko rozwoju choroby u krewnych pierwszego stopnia jest zwiększone 7- do 10-krotnie. U bliźnięt monozygotycznych współczynnik zgodności wynosi 23%, co podkreśla znaczenie dodatkowych czynników stochastycznych lub środowiskowych. [16]

Bielactwo nabyte jest dziedziczone w sposób wielogenowy, wiele alleli może składać się na genetyczną patogenezę choroby. Zakrojone na szeroką skalę badania asocjacyjne w skali genomu (*Genome-wide association studies – GWAS*), prowadzone głównie u pacjentów rasy białej pochodzenia europejskiego i Chińczyków, odkryły około 50 różnych loci, które przyczyniają się do ryzyka indukcji choroby, a niektóre z nich także do innych schorzeń autoimmunologicznych epidemiologicznie związanych z *vitiligo*. [16] (**Tabela 1**)

Tabela 1. Geny podatności na bielactwo nabyte występujące w innych chorobach autoimmunologicznych epidemiologicznie związanych z *vitiligo*. [16]

Choroby autoimmunologicznie związane epidemiologicznie z bielactwem nabytym	Geny podatności na bielactwo nabyte
Reumatoidalne zapalenie stawów	<i>HLA-DRB1/-DQA1; PTPN22; BACH2; CTLA4; SH2B3; IL2RA; LPP; CD80; C1QTNF6; UBASH3A; RNASET2/FGFR1OP/CCR6; ARID5B; PTPRC; Chr11 Gene Desert; IKZF4; IRF4;</i>
Cukrzyca typu 1	<i>HLA-DRB1/-DQA1; PTPN22; BACH2; CTLA4; SH2B3; IL2RA; LPP; C1QTNF6; UBASH3A; IKZF4; IFIH1; BAD;</i>
Celiakia	<i>HLA-DRB1/-DQA1; PTPN22; BACH2; CTLA4; SH2B3; LPP; CD80; FASLG; IRF4;</i>
Choroby autoimmunologiczne tarczycy	<i>HLA-DRB1/-DQA1; PTPN22; BACH2; CTLA4; SH2B3; C1QTNF6; RNASET2/FGFR1OP/CCR6; RERE; TG/SLA</i>
Toczeń rumieniowaty układowy	<i>HLA-DRB1/-DQA1; PTPN22; IL2RA; LPP; CD80; ARID5B; IFIH1; CD44</i>
Nieswoiste zapalenia jelit	<i>HLA-DRB1/-DQA1; PTPN22; BACH2; IL2RA; RNASET2/FGFR1OP/CCR6; PTPRC; IFIH1; HLA-A; FASLG;</i>
Łysienie plackowate	<i>HLA-DRB1/-DQA1; PTPN22; CTLA4; SH2B3; IL2RA; IKZF4; BCL2L11</i>
Twardzina	<i>HLA-DRB1/-DQA1; BACH2; IL2RA; LPP; Chr11 Gene Desert; HLA-A;</i>
Miastenia gravis	<i>HLA-DRB1/-DQA1; PTPN22; CTLA4; TNFRSF11A</i>
Autoimmunologiczne zapalenie wątroby	<i>HLA-DRB1/-DQA1; SH2B3;</i>
Łuszczyca	<i>IFIH1;</i>
Czerniak	<i>IRF4; ASIP; TYR; MC1R; OCA2</i>

Większość zidentyfikowanych genów koduje białka zaangażowane w immunoregulację, kilka koduje regulatory apoptozy oraz wpływa na regulację funkcji melanocytów, co podkreśla autoimmunologiczne podłoże bielactwa nabytego. Jak dotąd poznane geny w niewielkim stopniu wspierają alternatywne teorie patogenezы *vitiligo* jak stres oksydacyjny, szlaki

neurogenne, zaburzenia przylegania. Geny kodujące białka biorące udział w regulacji odporności są związane z odpowiedzią immunologiczną zarówno wrodzoną (loci: *IFIH1*, *CASP7*, *NLRP1*, *TICAM1* i inne) jak i nabytą (loci: *CTLA4*, *CD80*, *HLA*, *GZMB*, *FOXP3* i inne), potwierdzając udział obu ramion układu odpornościowego w patogenezie bielactwa nabytego. Oprócz genów modulujących odpowiedź immunologiczną niewielki podzbiór alleli ulega ekspresji tylko w melanocytach (loci: *TYR*, *OCA2* i *MC1R*), co wspiera rolę melanocytów w inicjowaniu choroby. [13, 16] Większość genów podatności na *vitiligo*, które kodują białka biorące udział w regulacji funkcji melanocytów, jest także związana z czerniakiem, a w niektórych przypadkach z nieczerniakowymi nowotworami złośliwymi skóry (*Non - melanoma skin cancer* – NMSC), w każdym przypadku z udziałem tych samych powiązanych SNP (*Single nucleotide polymorphism*). Chociaż dokładne znaczenie tej zależności nie jest jeszcze jasne, sugeruje ona, że bielactwo nabyte może wiązać się z zaburzonym mechanizmem nadzoru immunologicznego w przebiegu czerniaka i innych nowotworów skóry, co jest zgodne z około 3 - krotnym zmniejszeniem częstości występowania czerniaka i NMSC obserwowanego u pacjentów z wcześniej występującym bielactwem nabytym. [16-19]

Alternatywnie, może być tak, że warianty genów, które odpowiadają za depigmentację skóry, zwiększają ryzyko NMSC oraz czerniaka. Większość genów podatności zachorowania na *vitiligo* wykryto u osób rasy białej pochodzenia europejskiego. Niektóre z tych genów również przyczyniają się do ryzyka rozwoju bielactwa nabytego w populacjach azjatyckich. W przypadku rasy białej pochodzenia europejskiego zidentyfikowane geny i warianty genów stanowią łącznie około 25% całkowitego ryzyka genetycznego rozwoju bielactwa nabytego. [16] Nie wiadomo, czy pozostałą część ryzyka można przypisać dodatkowej nieznannej zmienności tych samych genów, dodatkowym nieznanym genom, interakcjom genetycznym, które wzmacniają efekty genów, czy innym przyczynom epigenetycznym. Zrozumienie tego zjawiska będzie miało zasadnicze znaczenie dla uzyskania spersonalizowanego podejścia do chorego, usprawniając przewidywanie ryzyka i ułatwiając kwalifikację pacjentów do podgrup genetycznych w celu odniesienia korzyści ze specjalistycznego podejścia do leczenia bielactwa nabytego lub profilaktyki.

2.1.3.2 Stres oksydacyjny

Badania nad patogenezą bielactwa nabytego sugerują, że stres oksydacyjny może być jednym z początkowych etapów prowadzących do niszczenia melanocytów. W badaniach wykazano, że melanocyty pochodzące od pacjentów z bielactwem nabytym są bardziej podatne na stres

oksydacyjny niż te pochodzące od osób zdrowych i trudniej je hodować *ex vivo*. [20] Reaktywne formy tlenu (*Reactive oxygen species* - ROS) są uwalniane z melanocytów w odpowiedzi na stres środowiskowy. To z kolei powoduje zachwianie równowagi pomiędzy podwyższonymi stężeniami markerów stresu oksydacyjnego oraz zmniejszeniem rezerw mechanizmów antyoksydacyjnych (katalazy, peroksydazy glutationowej, reduktazy glutationu, reduktazy tioredoksyny i tioredoksyny, dysmutazy ponadtlenkowej oraz naprawczych enzymów reduktazy sulfotlenku metioniny A i B) w skórze i we krwi. [21, 22] Sugerowano, że zaburzona równowaga między prooksydantami a antyoksydantami w bielactwie nabytym jest odpowiedzialna za zwiększoną wrażliwość melanocytów na zewnętrzne bodźce prooksydacyjne. [23]

Zarówno bodźce endogenne, jak i egzogenne mogą generować ROS w bielactwie nabytym. Tworzenie i gromadzenie się ROS może z kolei powodować uszkodzenia DNA, utlenianie i fragmentację białek oraz peroksydację lipidów, upośledzając w ten sposób funkcjonowanie komórek. Sama produkcja melaniny jest toksyczna dla melanocytów. Melanogeneza jest procesem energochłonnym oraz generuje stan prooksydacyjny. [23, 24] Białko 1 związane z tyrozinazą (*Tyrosinase - related protein 1* - TYRP1) odgrywa ważną rolę w syntezie melaniny. Stres oksydacyjny powoduje, że TYRP1 oddziałuje z kompleksem kalneksyny, co z kolei prowadzi do obniżenia jego stabilności, a następnie do produkcji toksycznych związków pośrednich melaniny. [25] Reduktaza dihydropterydyny jest ostatnim enzymem w procesie recyklingu niezbędnego kofaktora dla hydroksylaz aminokwasów aromatycznych oraz syntaz tlenku azotu - 6-tetrahydrobiopteryny. Stres oksydacyjny prowadzi do modyfikacji reduktazy dihydropterydyny w miejscu aktywnym, prowadząc do zaburzeń syntezy i recyklingu biopteryny. Wadliwy recykling 6-tetrahydrobiopteryny zwiększa produkcję nadtlenu wodoru i zmniejsza poziom katalazy, co dodatkowo przyczynia się do śmierci komórek. [26]

Wydaje się, że wytwarzanie ROS przez mitochondria, może mieć znaczenie w patogenezie bielactwa nabytego. Biochemiczne i funkcjonalne zmiany związane z wadliwą aktywnością mitochondriów, zostały opisane zarówno w melanocytach, jak i komórkach jednojądrzastych krwi obwodowej (PBMC) u pacjentów z *vitiligo*. [27] Zmiany przezbłonowego potencjału mitochondrialnego oraz kompleksu łańcucha transportu elektronów powodują wyraźny wzrost ekspresji mitochondrialnej dehydrogenazy jabłczanowej i modyfikację składników lipidowych błony. Zmiany lipidów błonowych zaburzają funkcję receptorów błonowych oraz transfer elektronów i produkcję ATP w mitochondriach. [23] Stres oksydacyjny upośledza

funkcję lipidów błonowych i białek komórkowych oraz sprzyja ekspresji kanału jonowego (*Transient receptor potential cation channel, subfamily M, member 2* - TRPM2), a tym samym ułatwia zależną od mitochondriów apoptozę melanocytów przez zwiększenie napływu wapnia. [28]

Przed pojawieniem się zmian skórnych w błonach komórkowych melanocytów u pacjentów z bielactwem nabytym wykazano brak lub zmniejszoną dystrybucję E-kadheryny – cząsteczki pośredniczącej w adhezji melanocytów i keratynocytów. W skórze bez zmian chorobowych stwierdzono także zwiększoną ekspresję tenascyny - cząsteczki przeciwadhezyjnej. Przewlekłe pocieranie skóry może aktywować komórki nabłonka, które z kolei przekształcają siły mechaniczne w sygnały biochemiczne, powodując wewnątrzkomórkowy stres, a następnie zmienioną ekspresję kadheryn. [29]

Rolę stresu oksydacyjnego w patogenezie bielactwa nabytego schematycznie przedstawiono na **Rycinie 2a**.

2.1.3.3 Odporność wrodzona

Aktywacja mechanizmów wrodzonego układu odpornościowego zachodzi na wczesnym etapie choroby, przez odczytywanie egzogennie lub endogennie indukowanych sygnałów stresowych uwalnianych z melanocytów i prawdopodobnie keratynocytów. Istnieje związek między podatnością na bielactwo nabyte a zmianami w genie *NALP1*, który koduje białko będące regulatorem nieswoistej odpowiedzi immunologicznej. [30] Analiza ekspresji genomowej skóry pacjentów z bielactwem nabytym wykazała markery molekularne, które sugerują nieprawidłową aktywację wrodzonego układu odpornościowego w mikrośrodowisku melanocytów, zwłaszcza komórek NK (*Natural killer*). Zmiany te dotyczą zarówno skóry zmienionej chorobowo, jak i obszarów bez wykwitów chorobowych u pacjentów z *vitiligo*, co sugeruje, że komórki NK biorą udział we wczesnej odpowiedzi melanocytów na stres. [31]

Wydaje się, że melanocyty indukują nieswoistą odpowiedź immunologiczną poprzez wydzielanie egzosomów zawierających antygeny specyficzne dla melanocytów: mikroRNA (miRNA), białka szoku cieplnego (*Heat shock protein 70* – Hsp70) i inne białka, które działają jako wzorce molekularne związane z uszkodzeniem (*Damage - associated molecular patterns* - DAMPs). Egzosomy dostarczają docelowe antygeny związane z bielactwem nabytym do pobliskich komórek dendrytycznych indukując ich dojrzewanie i prezentowanie antygeny limfocytom T, łącząc w ten sposób stres komórkowy i odporność nabytą. Komórki odpowiedzi

nieswoistej mogą również lokalnie wydzielać cytokiny, które rekrutują i aktywują autoreaktywne limfocyty T, bezpośrednio niszczące melanocyty. [13, 32, 33] **(Rycina 2a)**

Indukowalne Hsp70 (Hsp70i) odgrywa główną rolę w patogenezie bielactwa nabytego, poprzez indukowanie komórek dendrytycznych do prezentowania swoistych dla melanocytów antygenów limfocytom T w tkankach limfoidalnych, co wykazano na modelu mysim. Sugerowano, że jest to kluczowy związek między odpornością wrodzoną a nabytą prowadzącą do autoimmunologicznej destrukcji melanocytów za pośrednictwem limfocytów T. [34] Niedawno stwierdzono, że zmodyfikowana wersja Hsp70i tj. Hsp70iQ435A, prowadzi do repigmentacji plam bielaczych u świń Sinclair, otwierając drzwi do potencjalnego nowego leczenia pacjentów z bielactwem nabytym. [35]

2.1.3.4 Odporność nabyta

Z patogenezą bielactwa nabytego związana jest zarówno komórkowa jak i humoralna odpowiedź immunologiczna. Już wiele lat temu w surowicach krwi pacjentów z *vitiligo* zidentyfikowano obecność przeciwciał skierowanych przeciwko powierzchniowym, jak i cytoplazmatycznym antygenom melanocytów. Stwierdzono, że przeciwciała te mogą indukować niszczenie hodowlanych melanocytów poprzez lizę za pośrednictwem układu dopełniacza oraz zależną od przeciwciał cytotoksyczność komórkową. [36]

Cytotoksyczne limfocyty T CD8+, są zarówno niezbędne, jak i wystarczające do niszczenia melanocytów u pacjentów z bielactwem nabytym. Ich obecność stwierdzono w obrazie histopatologicznym w naskórku i skórze właściwej plam bielaczych, natomiast największe nacieki można znaleźć na obrzeżach wykwitów chorobowych. We krwi pacjentów z *vitiligo* w porównaniu z osobami zdrowymi obserwuje się większe stężenia cytotoksycznych limfocytów T CD8+, które korelują z aktywnością choroby. [13, 33, 37] Naciekające limfocyty T CD8+ wyizolowane z biopsji brzegów plam bielaczych charakteryzują się cytotoksycznością w stosunku do melanocytów. Wyizolowane limfocyty, ponownie wprowadzone do autologicznej skóry o prawidłowym zabarwieniu, wywołały apoptozę melanocytów, której towarzyszyła ponadpodstawna apoptoza keratynocytów. Limfocyty T CD8+ nie indukowały apoptozy w uszkodzonej skórze pozbawionej melanocytów, co wskazuje na specyficzną dla melanocytów aktywność cytotoksyczną tych komórek. Niszczenie melanocytów korelowało z intensywnością naciekania limfocytów T CD8+ w tej okolicy. [38] Limfocyty T CD8+ charakteryzują się obecnością skórneg antygenu związanego w limfocytami (*Cutaneous lymphocyte - associated antigen - CLA*). Stwierdzono, że całkowity odsetek skórnych

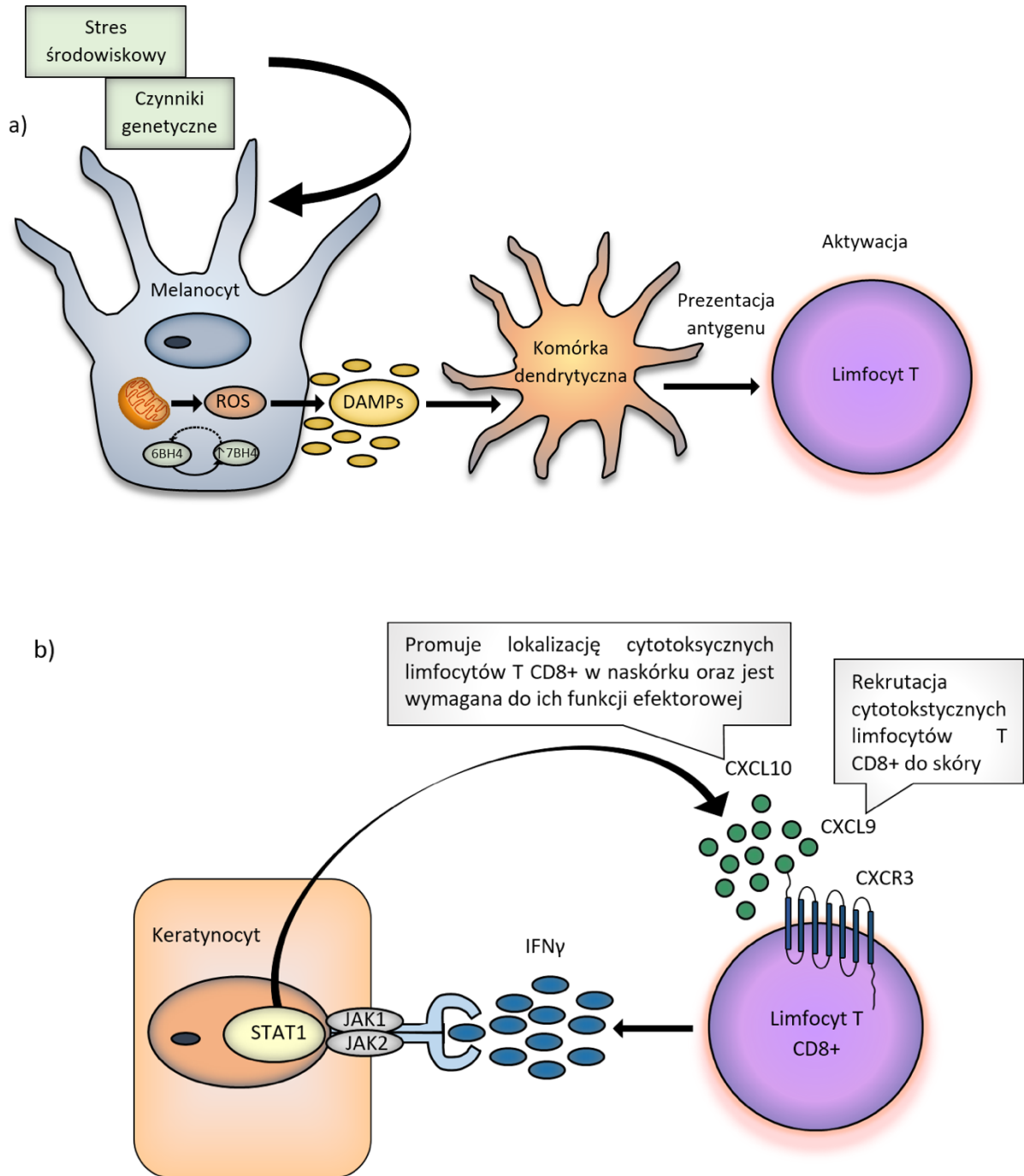
limfocytów T dodatnich pod względem antygenu (CLA+) u pacjentów z bielactwem nabytym jest zbliżony do zdrowych osób, podobnie jak ekspresja E-selektyny. Limfocyty T CLA+ w skórze okolicy brzegów plam bielacznych skupione są głównie w pobliżu niszczonej melanocytów, a 60% do 66% tych komórek wykazuje ekspresję perforyny i granzymu-B. Limfocyty T perforyny+/granzym-B+ zlokalizowane są głównie w miejscach niszczenia melanocytów. [39] Autoimmunizacja w bielactwie nabytym jest ukierunkowana na antygeny różnicowania melanocytów. Białka antygenowe pochodzące z prawidłowych lub poddanych stresowi melanocytów zaangażowanych w syntezę melaniny zostają zidentyfikowane jako antygeny i prezentowane przez komórki Langerhansa. Należą do nich: gp100, Melan-A / MART-1, TYRP1, TYRP2. Uważa się, że komórki Langerhansa biorą udział we wczesnej fazie reakcji immunologicznych przeciwko melanocytom. [40]

Limfocyty T CD8+ u pacjentów z bielactwem nabytym wytwarzają liczne cytokiny, między innymi interferon- γ (IFN- γ) i czynnik martwicy nowotworu- α (TNF- α). IFN- γ odgrywa kluczową rolę w patogenezie choroby i pomaga promować rekrutację cytotoksycznych limfocytów T CD8+ do skóry. [41] Geny kodujące indukowane przez IFN- γ chemokiny CXCL9, CXCL10 i CXCL11 są genami o najwyższej ekspresji w profilu transkrypcyjnym zmian skórnych pacjentów z bielactwem nabytym w porównaniu do innych szlaków chemokin. Opisywano również, że stężenia tych indukowanych przez IFN- γ chemokin CXC są podwyższone w surowicy pacjentów z *vitiligo*. [42] Analiza ekspresji chemokin w skórze myszy wykazała, że ekspresja CXCL9 i CXCL10 silnie koreluje z aktywnością choroby, podczas gdy ekspresja samej CXCL10 koreluje z ciężkością choroby, co sugeruje ich przydatność jako potencjalnych biomarkerów śledzenia postępu choroby. Analogicznie, stężenie CXCL10 w surowicy pacjentów z bielactwem nabytym również koreluje z aktywnością i ciężkością choroby i może stanowić biomarker w monitorowaniu aktywności procesu chorobowego. [43, 44] Udowodniono, że neutralizacja CXCL10 u myszy z utrwaloną, rozległą depigmentacją prowadzi do repigmentacji, co sugeruje krytyczną rolę CXCL10 zarówno w progresji, jak i utrzymaniu bielactwa nabytego. [42] Chemokina CXCL9 promuje rekrutację specyficznych dla melanocytów, cytotoksycznych limfocytów T CD8+ do skóry, podczas gdy CXCL10 jest wymagana do ich umiejscowienia się w naskórku, gdzie dochodzi do procesu niszczenia melanocytów. Zarówno CXCL9, jak i CXCL10 mają wspólny receptor, CXCR3. Specyficzne dla melanocytów, cytotoksyczne limfocyty T CD8+ u pacjentów z bielactwem nabytym wykazują ekspresję CXCR3 zarówno we krwi, jak i w skórze ze zmianami chorobowymi. [33, 45] Stwierdzono, że blokowanie CXCR3 na modelu mysim przy

użyciu odpowiednich przeciwciał zmniejsza liczbę autoreaktywnych limfocytów T i prowadzi do repigmentacji. [46] Keratynocyty są głównymi komórkami produkującymi chemokiny w przebiegu bielactwa nabytego. Badania czynnościowe z użyciem warunkowego przetwornika sygnału i aktywatora transkrypcji 1 (STAT-1) wykazały, że sygnalizacja IFN- γ w keratynocytach ma kluczowe znaczenie dla progresji choroby i migracji autoreaktywnych limfocytów T do naskórka. Obecne w naskórku komórki układu immunologicznego, takie jak: endogenne limfocyty T, komórki Langerhansa i limfocyty T $\gamma\delta$, nie są wymagane do tego procesu. [47] Analiza *in vitro* wykazała, że IFN- γ hamuje melanogenezę w pierwotnych hodowlach ludzkich melanocytów przez zmianę ekspresji mRNA enzymu melanogenego oraz, co ważniejsze, IFN- γ bezpośrednio indukuje apoptozę melanocytów. [48] Dalsze badania funkcjonalne na modelu mysim potwierdziły, że IFN- γ , receptor IFN- γ , STAT-1, CXCL10 i CXCR3 są krytyczne dla rozwoju hipopigmentacji w bielactwie nabytym. [41, 42, 45, 49] Wyniki te mają ważne implikacje kliniczne, ponieważ miejscowe terapie ukierunkowane na sygnalizację IFN- γ w keratynocytach mogą być bezpiecznymi i skutecznymi nowymi metodami terapii, a ekspresja tych chemokin w skórze może być wykorzystywana do monitorowania aktywności choroby i odpowiedzi na leczenie.

Cytokiny są głównymi czynnikami wywołującymi autoimmunizację. Wiele cytokin, które wiążą się z receptorami dla cytokin typu I i typu II, będących krytycznymi regulatorami chorób o podłożu autoimmunologicznym, działa przez wykorzystanie kinazy tyrozynowej JAK (*Janus activated kinase*) oraz szlaku STAT-1. [50] Wiązanie pozakomórkowe cytokin aktywuje ich receptory, prowadząc do samoczynnej aktywacji kinazy JAK przez autofosforylację. Aktywowane JAK wiążą STAT, które podlegają fosforylacji zależnej od JAK oraz dimeryzacji, następnie STAT przemieszczają się do jądra komórkowego i działają jako czynnik transkrypcyjny. W bielactwie nabytym kompleks receptorowy związany z IFN- γ aktywuje kinazy JAK1 i JAK2, co prowadzi do fosforylacji i translokacji STAT do jądra komórkowego indukując zależne od IFN- γ geny. W skórze z plamami odbarwieniowymi u pacjentów z *vitiligo* stwierdzono bardziej intensywną i rozproszoną ekspresję JAK1 w porównaniu ze skórą osób zdrowych. Wysoka ekspresja JAK1 była związana z krótkim czasem trwania choroby, płcią żeńską i niższym odsetkiem melanocytów. [51, 52] Produkowany przez cytotoksyczne limfocyty T CD8+ IFN- γ przez aktywację białek sygnałowych JAK1, JAK2, STAT z następową produkcją chemokiny CXCL10, aktywacją jej receptora CXCR3, pobudza cytotoksyczne

limfocyty T CD8+ na drodze dodatniego sprzężenia zwrotnego. [13] (**Rycina 2b**) Dane te uzasadniają celowość terapii ukierunkowanej na hamowanie szlaku sygnałowego IFN- γ .



Rycina 2. Patogeneza bielactwa nabytego.

a) Melanocyty u pacjentów z bielactwem nabytym wykazują zmniejszoną adhezję i są bardziej podatne na stres oksydacyjny. Stres środowiskowy, u osób predysponowanych genetycznie, powoduje zaburzenia równowagi oksydacyjno - antyoksydacyjnej. Dochodzi do upośledzenia

funkcji lipidów błonowych i białek komórkowych. Pacjenci z bielactwem nabytym mają także zaburzoną funkcję mitochondriów, które są głównymi induktorami ROS. Synteza i recykling biopteryny ulegają zmianie, co prowadzi do nasilenia stresu oksydacyjnego i dalszego uszkodzenia komórek. Nadprodukcja ROS aktywuje odpowiedź związaną ze stresem retikulum endoplazmatycznego (*Unfolded protein response* - UPR) co pobudza melanocyty do wydzielania egzosomów, zawierających specyficzne dla melanocytów antygeny, takie jak: miRNA, Hsp-70, DAMPs. Egzosomy dostarczają docelowe antygeny do pobliskich komórek dendrytycznych, prowadząc do ich dojrzewania oraz prezentacji antygenów limfocytom T, co skutkuje aktywacją limfocytów T.

b) Cytotoksyczne specyficzne dla melanocytów limfocyty T CD8+ w obrębie zmian bielaczych wytwarzają cytokiny, m.in. IFN- γ . Wiązanie IFN- γ z jego receptorem aktywuje szlak JAK-STAT i prowadzi do wydzielania chemokin CXCL9 i CXCL10. Z udziałem receptora dla chemokin CXCR3, CXCL9 promuje rekrutację cytotoksycznych specyficznych dla melanocytów limfocytów T CD8 + do skóry, podczas gdy CXCL10 promuje ich lokalizację w naskórku oraz funkcję efektorową, co nasila niszczenie melanocytów na drodze dodatniego sprzężenia zwrotnego.

(Skróty: 6BH4 - 6-tetrahydrobiopteryna; 7BH4 - 7-tetrahydrobiopteryna; CXCL9 – chemokina; CXCL10 – chemokina; CXCR3 – receptor dla chemokin typu 3; DAMPs - wzorce molekularne związane z uszkodzeniem; IFN- γ - interferon- γ ; JAK 1, 2 - kinazy Janusa 1 i 2; ROS - reaktywne formy tlenu; STAT1 - przetwornik sygnału i aktywator transkrypcji 1. Źródło własne.

U pacjentów z bielactwem nabytym stwierdzono nasiloną ekspresję innych cytokin takich jak: TNF- α , interleukiny: IL-6, IL-17, jednakże ich rola w patogenezie choroby nie jest jasna. U pacjentów przyjmujących leki biologiczne, które blokują działanie cytokin: TNF- α , IL-12/23 i IL-17 obserwowano rozwój bielactwa nabytego lub zaostrzenie choroby. [13]

Wśród mechanizmów hamujących reaktywność immunologiczną jednym z ważnych zabezpieczeń są limfocyty T regulatorowe CD4+ (limfocytów Treg). Limfocyty Treg odgrywają ważną rolę w zapobieganiu rozwojowi i kontrolowaniu przebiegu wielu chorób. Oznaczony odsetek limfocytów Treg w skórze pacjentów z bielactwem nabytym metodą immunoenzymatycznego podwójnego barwienia na CD3 i FoxP3, ujawnił istotnie zmniejszoną ich liczbę w skórze bez zmian chorobowych, skórze otaczającej plamy bielacze oraz w obrębie plam bielaczych. Ocena krążącej populacji limfocytów Treg nie wykazała zmniejszenia ich liczby ani aktywności. Ekspresja receptorów naprowadzających na skórę: CCR4, CCR5, CCR8 i CLA była porównywalna w przypadku krążącej populacji limfocytów Treg u pacjentów z bielactwem nabytym, jak w próbie kontrolnej. Limfocyty Treg pochodzące z obu badanych grup były równie zdolne do migracji w kierunku liganda CCR4 i naprowadzającej na skórę chemokiny CCL22, jednak stwierdzono znacznie zmniejszoną ekspresję CCL22 w skórze bielaczej, co może wyjaśniać niepowodzenie migracji limfocytów Treg z populacji krążącej do skóry u pacjentów z bielactwem nabytym. Niedobór limfocytów Treg w skórze u pacjentów z

vitiligo prawdopodobnie ma kluczowe znaczenie dla ciągłej reaktywności przeciw melanocytom w postępującej chorobie. [53]

2.1.4 Klasyfikacja i obraz kliniczny

W 2011r. Vitiligo European Task Force (VETF) podczas International Pigment Cell Conference (IPCC) zwołała Vitiligo Global Issues Consensus Conference (VGICC), dotyczącą zagadnień o globalnym znaczeniu dla badań klinicznych dotyczących bielactwa nabytego. Zgodnie z sugestią międzynarodowego panelu ekspertów, konferencja skupiła się na czterech tematach: klasyfikacji i nazewnictwie; definicji stabilnej choroby; definicji zjawiska Koebnera; i na „bielactwie autoimmunologicznym”. Tematy te zostały omówione w siedmiu grupach roboczych reprezentujących różne regiony geograficzne. Wg konsensusu kliniczna klasyfikacja bielactwa nabytego obejmuje dwa główne typy: SV oraz NSV. Wyróżnia się także postać mieszaną (MV) oraz niesklasyfikowaną. (**Tabela 2**) NSV stosuje się jako termin określający różne kliniczne podtypy bielactwa nabytego, które wyraźnie różnią się od SV. Podtypy te obejmują postać: ogniskową, błon śluzowych, kończynowo – twarzową, uogólnioną oraz uniwersalną. SV obejmuje podtypy: ogniskowy, błon śluzowych, jedno-, dwu- i wielosegmentalny. [7] MV zdefiniowano jako połączenie początkowej SV, po której kilka miesięcy, lub rzadziej, kilka lat później, pojawiają się obustronne odbarwienia w przebiegu NSV. [54]

Tabela 2. Klasyfikacja kliniczna bielactwa nabytego wg Vitiligo European Task Force (VETF)

Typy bielactwa nabytego	Podtypy
Postać niesegmentalna (NSV)	Postać ogniskowa, błon śluzowych, kończynowo – twarzowa, uogólniona oraz uniwersalna.
Postać segmentalna (SV)	Postać ogniskowa, błon śluzowych, jednosegmentalna, dwusegmentalna oraz wielosegmentalna.
Postać mieszaną (SV + NSV)	Zależny od postaci SV.
Postać niesklasyfikowana	Ogniskowa na początku, wielogniskowa asymetryczna niesegmentalna, śluzówkowa (jedna lokalizacja).

NSV jest najczęstszą postacią *vitiligo* (85-90%), rozwija się w każdym wieku, ale zwykle występuje u młodych ludzi w wieku od 10 do 30 r.ż. [1] Przebieg choroby jest często nieprzewidywalny, po okresach remisji może wystąpić faza akceleracji z szybkim postępem choroby w ciągu kilku tygodni. [55] Klinicznie, NSV charakteryzuje się odbarwionymi plamami o różnej wielkości od kilku do kilkunastu centymetrów średnicy, często obejmującymi obie strony ciała z tendencją do symetrycznego rozmieszczenia. W przebiegu choroby można zaobserwować przebarwienia na granicach zmian, zwłaszcza u osób z wyższym fototypem skóry wg klasyfikacji Fitzpatrick'a, po ekspozycji na promieniowanie ultrafioletowe (UV). Zajęcie owłosionej skóry głowy i innych obszarów skóry owłosionej może objawiać się miejscowymi kępkami siwych lub białych włosów. W przeciwieństwie do SV, w NSV włosy na ciele są zwykle zaoszczędzone i pozostają prawidłowo zabarwione, chociaż depigmentacja włosów może nastąpić wraz z postępem schorzenia. [7, 55] Większość pacjentów z NSV prezentuje rozmieszczenie zmian skórnych na powierzchniach wyprostnych, jednak u części chorych zmiany lokalizują się na powierzchniach zgięciowych, co sugeruje różnorodność czynników wyzwalających chorobę oraz może być objawem koebneryzacji. [56, 57]

Podtyp ogniskowy NSV należy rozpoznać po wykluczeniu innych typów bielactwa nabytego. Odnosi się do izolowanej, małej, odbarwionej plamy (10 - 15 cm²), która nie posiada wyraźnego, jednostronnego rozmieszczenia segmentalnego oraz nie obserwuje się progresji zmiany przez co najmniej 2 lata. Termin bielactwa błon śluzowych w przypadku NSV jest zwykle używany, gdy w przebiegu choroby zajęte są tylko błony śluzowe jamy ustnej i/lub narządów płciowych. [7] W przypadku izolowanej zmiany, szczególnie na narządach płciowych należy wykonać biopsję w celu diagnostyki różnicowej w kierunku liszaja twardzinowego czy leukoplakii. Możliwe jest współistnienie liszaja twardzinowego narządów płciowych i bielactwa nabytego, co sugeruje możliwość związku przyczynowego między tymi dwiema chorobami. [58] U pacjentów z postacią kończynowo-twarzową NSV występują obustronne, odbarwione plamy, najczęściej zlokalizowane na twarzy oraz na dystalnych częściach kończyn. Obserwuje się zbyt wiele zmian skórnych, aby rozpoznać ogniskową postać NSV, ale mniej niż w postaci uogólnionej NSV. Chociaż u wielu pacjentów nigdy nie pojawiają się zmiany na tułowiu, postać ta może z czasem ulec progresji do uogólnionej postaci NSV. Zajęcie palców u rąk i nóg oraz czerwieni wargowej jest często nazywane bielactwem „lip - tip”, powszechnie obserwowanym w Azji Południowej i wykazuje szczególną oporność na leczenie. [13, 33] Uogólniona postać NSV charakteryzuje się obustronnymi, często symetrycznymi,

odbarwionymi plamami, występującymi na całej powierzchni ciała. Zmiany skórne często lokalizują się w miejscach narażonych na przewlekłe drażnienie. Choroba może rozpocząć się w dzieciństwie lub we wczesnej dorosłości. Typ uniwersalny NSV odnosi się do całkowitej lub prawie całkowitej depigmentacji skóry, dochodzi do zajęcia 80-90% powierzchni ciała. Postać ta zwykle poprzedzona jest uogólnionym typem NSV, który stopniowo postępuje prowadząc do całkowitej lub prawie całkowitej depigmentacji skóry i włosów. [33]

Przeprowadzona przez Ezzedine w wsp. analiza klas latentnych (LCA) 717 pacjentów z NSV obserwowanych w latach 2006 – 2012 wyodrębniła dwa fenotypy NSV, LC1 (39%) oraz LC2 (61%). Pacjenci z LC1 prezentowali wczesny początek rozwoju choroby (<12 roku życia), obecność znamion Suttona (znamion „halo”), występowanie zjawiska Koebnera, wcześniejsze incydenty repigmentacji, obciążony wywiad rodzinny w kierunku przedwczesnego siwienia włosów oraz bielactwa nabytego. Z kolei pacjenci z LC2 charakteryzowali się późnym początkiem pojawienia się zmian skórnych (w wieku 12 lat lub późniejszym), najczęściej rozmieszczeniem kończynowo-twarzowym, większą częstością współwystępowania chorób autoimmunologicznych i gorszą odpowiedzią na leczenie w porównaniu do pacjentów z LC1. Autorzy zdefiniowali dwa fenotypy NSV, LC1 jako „bielactwo nabyte o początku przed okresem dojrzewania” oraz LC2 jako „bielactwo nabyte o początku po okresie dojrzewania”. [59]

Kilka rzadkich postaci bielactwa nabytego jest trudnych do zakwalifikowania do dwóch najczęstszych typów NSV i SV. Bielactwo nabyte punkcikowate odnosi się do ostro odgraniczonych, odbarwionych plamek o wymiarach od 1 do 1,5 mm, obejmujących dowolny obszar ciała. Jeśli zmiany nie współistnieją z klasycznymi plamami bielaczymi określa się je jako „*leukoderma punctata*”. [60] Bielactwo nabyte hipochromiczne lub „*vitiligo minor*” charakteryzuje się obecnością hipopigmentowanych plamek w łojotokowej lokalizacji na twarzy i szyi związanej z izolowanymi hipopigmentowanymi plamkami zlokalizowanymi głównie na skórze skalpu. Postać ta ogranicza się do osób z V oraz VI fototypem skóry wg klasyfikacji Fitzpatricka. [61] Typ folikularny bielactwa nabytego objawia się leukotrychią przy braku depigmentacji otaczającego naskórka. [62]

SV stanowi 5 – 16% ogółu przypadków bielactwa nabytego. [63] W opublikowanych raportach częstość występowania wahała się od 5% do nawet 30%. SV występuje zwykle w młodszym wieku niż NSV: przed 30 rokiem życia w 87% przypadków i przed 10 rokiem życia w 41,3%. W analizie 208 pacjentów z SV przeprowadzonej przez Hann i Lee średni wiek zachorowania wynosił 15,6 lat (u mężczyzn 13,9 lat a u kobiet 16,8 lat). [33, 64] SV w odróżnieniu od NSV ma

zazwyczaj szybko postępujący, samoograniczający się przebieg. Depigmentacja pojawia się oraz postępuje w okresie 6 – 24 miesięcy, następnie proces chorobowy najczęściej stabilizuje się. Ponowna progresja, choć rzadko, może powtórzyć się po kilku latach stabilizacji choroby, a wykwity skórne zwykle rozprzestrzeniają się w obrębie tego samego dermatomu. W bardzo rzadkich przypadkach zmiany skórne mogą ulec uogólnieniu i stać się częścią MV. [7] Klinicznie, podobnie jak w NSV, wykwitem pierwotnym jest odbarwiona plama, wyraźnie odgraniczona od otoczenia. W literaturze często pojawia się opis dermatomalnej dystrybucji zmian skórnych w przebiegu SV. Ostatnie badania wykazały, że większość wykwitów SV nie jest zlokalizowanych dokładnie w granicach dermatomów. Dlatego wysunięto hipotezę, że SV prawdopodobnie zostało w przeszłości nieprawidłowo przypisane dystrybucji dermatomalnej. Powtarzający się wzorzec rozmieszczenia plam w obrębie segmentów z wyraźnym odcięciem w linii środkowej ciała może pasować do teorii mozaicyzmu skórniego. [65] Zmiany skórne w przebiegu SV zwykle ograniczone są do pojedynczego segmentu z jego częściowym lub całkowitym zajęciem. W bielactwie jednosegmentalnym wykwity chorobowe lokalizują się po jednej stronie ciała. Jest to najpowszechniejsza postać SV. Możliwe są jednak inne wzorce rozmieszczenia, w których odbarwione obszary układają się w obrębie ipsi- lub kontralateralnych segmentów bądź występują na dużych powierzchniach skóry ograniczonych liniami Blaschko. Twarz objęta jest procesem chorobowym w ponad 50% przypadków, najczęściej zajęta okolice stanowi dermatom nerwu trójdzielnego. Innymi częstymi lokalizacjami SV w kolejności malejącej jest tułów, szyja, kończyny i skóra owłosiona głowy. [33, 64, 66] W przebiegu SV, na wczesnym etapie choroby zostają uszkodzone melanocyty mieszków włosowych, przy czym do 50% pacjentów wykazuje leukotrychię w obszarach dotkniętych chorobą. [7] Z uwagi na stabilny przebieg choroby pacjenci z SV zwykle dobrze reagują na autoprzeszczepy melanocytów (bezpośrednie przeszczepy naskórka).

2.1.5 Rozpoznanie

Rozpoznanie bielactwa nabytego oparte jest na wywiadzie i obrazie klinicznym w badaniu przedmiotowym, zwykle nie wymaga wykonywania potwierdzających badań dodatkowych. Badaniem pomocniczym ułatwiającym uwidocznienie zmian skórnych szczególnie u osób o jasnej karnacji oraz zmian zlokalizowanych na rękach i stopach jest zastosowanie lampy Wooda, która jest manualnym urządzeniem do oceny skóry w świetle ultrafioletowym (UV), o długości fali 365nm. W lampie Wooda zmiany bielacze emitują jasnyniebiesko-białą fluorescencję i wydają się ostro odgraniczone od otoczenia. [1, 33] W przypadku trudności

diagnostycznych można rozważyć wykonanie biopsji skóry do badania histopatologicznego lub nieinwazyjnego badania mikroskopii konfokalnej *in vivo*. [67, 68] W obrazie histopatologicznym obserwuje się całkowitą lub prawie całkowitą utratę pigmentacji naskórka (barwienie srebrem metodą Fontana-Massona) z brakiem melanocytów w warstwie podstawnej. [1] We wczesnych zmianach zaobserwować można niewielkie nacieki zapalne składające się z cytotoksycznych limfocytów T CD8+ w bliskim sąsiedztwie melanocytów. W obrębie brzegów aktywnych zmian skórnych można uwidocznnić okołonaczyniowy i okołomieszkowy naciek limfocytarny. Dokonane plamy odbarwieniowe, wykazują niewielkie zmiany zapalne, prawdopodobnie dlatego, że naciek limfocytów T ustąpił do czasu, gdy naskórek stał się widocznie odbarwiony. W rzeczywistości depigmentacja skóry może nie być widoczna do 48 dni po wystąpieniu apoptozy melanocytów. [13] Dermoskopia może być pomocna w ocenie aktywności bielactwa nabytego. Najbardziej przydatne cechy obrazu demoskopowego obserwuje się w okolicy okołomieszkowej: postępujące zmiany skórne wykazują okołomieszkową pigmentację, a zmiany stabilne okołomieszkową depigmentację. Dla postępującego bielactwa nabytego zaobserwowano również pojawienie się efektu wybuchu gwiazdy, zmienioną siatkę barwnikową i efekt ogona komety. Nową cechą dermoskopową, występowanie „*tapioca sago*” (*sabudana*), stwierdzono na obrzeżach plam bielactwych tylko u pacjentów z postępującym procesem chorobowym. [69]

Diagnostyka różnicowa bielactwa nabytego jest szeroka. **(Tabela 3)** Wiele jednostek chorobowych, zarówno powszechnie, jak i rzadko występujących, może objawiać się odbarwieniami skóry i jej przydatków. Ważnym aspektem jest depigmentacja, która występuje u pacjentów z czerniakiem. Jest to korzystny czynnik prognostyczny, gdy pojawia się spontanicznie lub gdy jest wywołana przez skuteczne metody terapeutyczne. W przeszłości zjawisko opisywano jako leukodermę towarzyszącą czerniakowi (*melanoma - associated leukoderma* - MAL) w celu odróżnienia od bielactwa nabytego. Kliniczne objawy tych dwóch jednostek chorobowych oraz ich obraz histopatologiczny są nie do odróżnienia. Podobnie jak w przypadku bielactwa nabytego, w depigmentacji u pacjentów z czerniakiem pośredniczą autoreaktywne limfocyty T CD8+, które niszczą melanocyty. Dlatego proces ten należy raczej scharakteryzować jako początek bielactwa nabytego u pacjentów z czerniakiem, a nie jako odrębną jednostkę chorobową. [13, 70, 71] Powszechną jednostką chorobową, która wymaga różnicowania z SV jest *nevus depigmentosus* – segmentowa hipopigmentacja występująca zwykle po urodzeniu lub w pierwszym roku życia, stabilna lub mogąca się powiększać

proporcjonalnie do wzrostu dziecka. W jej obrazie histopatologicznym stwierdza się prawidłową liczbę melanocytów przy zmniejszonej produkcji melaniny. W badaniu lampą Wooda kontrast między skórą zmienioną a prawidłową jest mniej wyraźny niż w przypadku bielactwa nabytego. [33]

Tabela 3. Diagnostyka różnicowa bielactwa nabytego.

Diagnostyka różnicowa bielactwa nabytego
Leukoderma indukowana chemicznie Fenole i pochodne
Depigmentacja pourazowa, polekowa
Zespoły oraz zaburzenia genetyczne Zespół Hermansky'ego-Pudlaka Zespół Chediaka-Higashiego Zespół Griscelliiego Zespół Crossa-McKusica-Breena Bielactwo częściowe (piebaldyzm) Zespół Waardenburga Zespół czarne loki-albinizm-głuchota Zespół Woolfa-Dolowitza-Aldousa Nietrzymanie barwnika z odbarwieniami (hipomelanoza Ito) Odbarwienia skóry w przebiegu stwardnienia guzowatego Zespół Vogta-Koyanagiiego-Harady Zespół Allezandriego Zespół Goltza (ogniskowy niedorozwój skóry) Znamię anemiczne
Hipopigmentacja pozapalna Łupież biały Atopowe zapalenie skóry Kontaktowe zapalenie skóry Łuszczyca Liszaj płaski Severe cutaneous adverse reaction (SCAR) Liszaj twardzinowy Hipopigmentacja poinfekcyjna Łupież pstry Trąd Leiszmanioza Onchocerkozia Kiła
Hipopigmentacja związana z nowotworem Leukoderma towarzysząca czerniakowi Depigmentacja towarzysząca ziarniniakowi grzybiastemu
Idiopatyczne Samoistny korpelkowaty niedobór barwnika Postępujący plamkowy niedobór barwnika

Znamiona

Znamię Suttona

Znamię bezbarwne (nevus depigmentosus)

Znamię anemiczne (blade)

Inne

Liszaj twardzinowy

Melasma (kontrast pomiędzy przebarwieniami a jaśniejszą skórą)

2.1.6 Kliniczne markery aktywności choroby

Ocena pacjenta z bielactwem nabytym obejmuje szczegółowy wywiad oraz pełne badanie przedmiotowe w celu oceny ciężkości choroby i indywidualnych czynników prognostycznych. Formularz stworzony przez VETF zawiera najważniejsze podsumowanie elementów wywiadu osobniczego, obciążeń rodzinnych oraz elementów badania klinicznego, mających na celu ujednoczenie oceny przebiegu choroby u pacjentów z bielactwem nabytym. Pacjentów należy rutynowo pytać o wywiad rodzinny dotyczący bielactwa nabytego i przedwczesnego siwienia włosów oraz o osobiste lub rodzinne obciążenie chorobami tarczycy lub innymi chorobami autoimmunologicznymi. Fototyp skóry, pochodzenie etniczne, wiek w momencie rozpoznania choroby, czas trwania choroby, aktywność, tempo progresji procesu chorobowego, obecność zjawiska Koebnera, obecność znamion Suttona, poprzednie metody leczenia, w tym ich rodzaj, czas trwania i skuteczność, epizody repigmentacji w przeszłości, historia zawodowa/narażenie na chemikalia, wpływ choroby na jakość życia powinny być ocenione podczas badania. [56]

Przydanym narzędziem do oceny zaawansowania klinicznego bielactwa nabytego jest skala *Vitiligo Area Scoring Index (VASI)*, wzorowana na *Psoriasis Area Severity Index (PASI)*. Hamzavi i wsp. w 2004 r. opracowując skalę VASI podzielili ciało na pięć regionów: ręce, kończyny górne (bez rąk), tułów, kończyny dolne (bez stóp) i stopy. Okolice pachowe i pachwinowe zaliczyli odpowiednio do kończyn górnych i dolnych, a pośladki do kończyn dolnych. Okolicy twarzy i szyi nie uwzględnia się w skali VASI. Każdy z wymienionych obszarów jest oceniany pod względem powierzchni oraz stopnia pigmentacji zmian chorobowych. Powierzchnię ocenia się za pomocą wartości procentowej, gdzie 1% powierzchni ciała stanowi powierzchnia dłoniowa ręki pacjenta, jest to wartość określana jako *Body Surface Area (BSA)*. Stopień pigmentacji w obrębie zmian skórnych wyraża się w wartości procentowej jako jednej z wymienionych: 0, 10%, 25%, 50%, 75%, 90% lub 100%. Dla każdego z pięciu opisanych obszarów ciała wartość skali VASI jest iloczynem zajętej powierzchni wyrażonej jako BSA oraz stopnia depigmentacji wyrażonej w wyżej wymienionych wartościach procentowych. [72] [73]

Zjawisko Koebnera, zwane również „reakcją izomorficzną”, zostało zdefiniowane jako „rozwój zmian chorobowych w miejscach szczególnie narażonej na urazy skóry u pacjentów z dermatozami” – Koebner 1876 r. Od dawna wiadomo, że bielactwo nabyte jest bardziej widoczne na obszarach skóry narażonych na urazy, a także przewlekłe drażnienie w porównaniu z sąsiednimi regionami bardziej przed nimi chronionymi. Na przykład plamy bielacze częściej występują nad stawami śródrečno-paliczkowymi w porównaniu do powierzchni między stawami, na nosie w porównaniu z bruzdami nosowo-wargowymi, w okolicach dołów pachowych oraz nad łokciami czy kolanami. Częstość występowania zjawiska Koebnera w NSV wynosi od 15 do 70%. Występowanie zjawiska Koebnera w SV jest kontrowersyjne, niektórzy autorzy podważają je, podczas gdy inni stwierdzili jego obecność, choć z mniejszą częstością niż w NSV. [7] Ocena obecności zjawiska Koebnera może okazać się przydatna w zapobieganiu pojawianiu się zmian skórnych w przebiegu *vitiligo*. Punktacja oceniająca prawdopodobieństwo zjawiska Koebnera, *Koebner Phenomenon in Vitiligo Score* (K-VSCOR), została opracowana i zwalidowana, pacjentom z wysokimi wynikami należy doradzić unikanie nadmiaru bodźców mechanicznych. [74]

Wiele badań wykazało powiązanie bielactwa nabytego i chorób autoimmunologicznych, w szczególności zaburzeń tarczycy, które spotyka się u 30% pacjentów. [3] Do innych zaburzeń autoimmunologicznych lub autozapalnych mogących współwystępować z *vitiligo* należą łysienie plackowate, reumatoidalne zapalenie stawów, cukrzyca typu 1 jak i typu 2, choroba Addisona, niedokrwistość złośliwa, toczeń rumieniowaty układowy oraz inne choroby autozapalne jak łuszczyca zwyczajna i atopowe zapalenie skóry. [75, 76] Ze względu na zwiększone ryzyko autoimmunologicznej choroby tarczycy w NSV, zwłaszcza zapalenia tarczycy typu Hashimoto, podczas wstępnej oceny należy zbadać stężenie przeciwciał przeciwko peroksydazie tarczycowej i regularnie oznaczać stężenie tyreotropiny. [77] Podatność na choroby autoimmunologiczne u pacjentów z bielactwem nabytym jest różna w zależności od pochodzenia etnicznego i wywiadu rodzinnego w kierunku chorób autoimmunologicznych. Analiza epidemiologii chorób autoimmunologicznych u 2624 pacjentów z bielactwem nabytym oraz ich krewnych pierwszego stopnia przeprowadzona przez Alkhateeb i wsp. wykazała znacznie podwyższoną częstość występowania u pacjentów oraz ich krewnych pierwszego stopnia: bielactwa nabytego, autoimmunologicznych chorób tarczycy (szczególnie niedoczynności tarczycy), niedokrwistości złośliwej, choroby Addisona, tocznia rumieniowatego układowego i nieswoistych zapaleń jelit. [78] Obecność

przedmiotowych lub podmiotowych objawów chorób autoimmunologicznych powinna skłaniać do przeprowadzenia diagnostyki oraz skierowania pacjenta do odpowiednich specjalistów. W **Tabeli 4.** przedstawiono rekomendowane przez Polskie Towarzystwo Dermatologiczne badania i konsultacje w diagnostyce bielactwa nabytego. [1]

Tabela 4. Rekomendowane przez Polskie Towarzystwo Dermatologiczne badania i konsultacje w diagnostyce bielactwa nabytego. [1]

Badania laboratoryjne	Konsultacje specjalistyczne
<ul style="list-style-type: none"> - Przeciwciała przeciwko tyreoglobulinie (anty-TG) oraz przeciwko peroksydazie (anty-TPO) - TSH i inne badania oceniające aktywność hormonalną tarczycy (np. anty-TSHR w przypadku podejrzenia choroby Gravesa-Basedowa) - inne przeciwciała (tylko w przypadku dodatniego osobniczego i/lub rodzinnego wywiadu w kierunku chorób autoimmunologicznych i/lub jeśli badania dodatkowe mogą wskazywać na współistnienie bielactwa nabytego z innymi zaburzeniami autoimmunologicznymi) 	<ul style="list-style-type: none"> - Endokrynologiczna (w przypadku podejrzenia lub wykrycia chorób endokrynologicznych, w tym autoimmunologicznych zespołów wielogruzołowych) - Laryngologiczna (w celu wykluczenia zaburzeń słuchu i równowagi) - Okulistyczna (w celu wykluczenia zaburzeń okulistycznych, szczególnie w razie podejrzenia albinizmu oczno-skórnego) - Psychiatryczna (w przypadku objawów obniżonego nastroju lub wpływu choroby na jakość życia)

Najdokładniej scharakteryzowanymi klinicznymi markerami aktywnego, postępującego bielactwa nabytego jest: zjawisko Koebnera, zmiany trichromowe, zmiany zapalne i odbarwienia przypominające konfetti. W literaturze opisywano większą powierzchnię skóry zajętej chorobowo oraz słabszą odpowiedź na leczenie u pacjentów, u których występował jakikolwiek typ zjawiska Koebnera. [79] Zmiany trichromowe polegają na obecności obszaru hipopigmentacji na granicy skóry odbarwionej oraz normalnie pigmentowanej. Zjawisko to wiąże się z aktywną, szybko postępującą chorobą. [80] Zmiany zapalne u pacjentów z *vitiligo* są rzadko spotykane, charakteryzują się obecnością rumienia, złuszczenia z towarzyszącym świądem, najczęściej występują na granicy zmian skórnych. Faza zapalna może być krótkotrwała, ale powoduje szybką depigmentację. Depigmentacja podobna do konfetti charakteryzuje się licznymi odbarwionymi plamkami (o średnicy 1-5 mm), które wykazują tendencję do skupiania się, najczęściej obserwuje się ją na granicy rozległych zmian skórnych. Zjawisko to zostało opisane jako marker szybko postępującego bielactwa nabytego, u pacjentów wykazujących wyższe wskaźniki aktywności choroby w skalach: *Vitiligo Disease*

Activity Score (VDAS) oraz K-VSCOR, które korelują z aktywniejszą, postępującą i agresywną chorobą. Opisane markery nasilenia aktywności choroby są ważne podczas oceny pacjenta i planowania postępowania. [81]

Ogólna ocena cech psychologicznych pacjenta, jego osobowość, jak i postrzeganie nasilenia bielactwa nabytego są predyktorami pogorszenia jakości życia. Opracowano i zwalidowano skalę służącą do oceny jakości życia u pacjentów z bielactwem nabytym – *Vitiligo-specific Quality-of-Life Instrument* (VitiQoL). [82] Wszystkim pacjentom z bielactwem nabytym należy zaoferować poradnictwo i wsparcie psychologiczne.

2.1.7 Jakość życia

Bielactwo nabyte jest jednostką chorobową, której psychospołeczne skutki istotnie wpływają na jakość życia. Skóra odgrywa ważną rolę w naszych interakcjach ze światem, a widoczne zaburzenia pigmentacji skóry mogą ograniczać zdrowy rozwój psychospołeczny ze względu na wywierane piętno. Istnieje wiele doniesień w literaturze opisujących, że *vitiligo* występowało już w czasach starożytnych oraz w różnych kulturach i religiach. Hipokrates (460–355 r. pne) nie rozróżniał bielactwa nabytego od trądu, niestety, ten trend utrzymuje się w dalszym ciągu w wielu społecznościach na świecie do dnia dzisiejszego. [57] Stara literatura buddyjska (624–544 r. pne) podaje, że osoby z bielactwem nabytym nie kwalifikują się do święceń. Od czasów starożytnych mężczyźni i kobiety z bielactwem nabytym często byli dyskwalifikowani z małżeństwa, a pojawienie się *vitiligo* uważano za solidną podstawę do rozwodu. [83]

Jakość życia pacjentów z bielactwem nabytym można oceniać za pomocą różnych skal, takich jak Short Form-12, *Dermatology Quality of Life Index* (DLQI), lub bardziej szczegółowych narzędzi, takich jak wcześniej wymieniona VitiQoL, *Vitiligo Impact Scale*, *The Vitiligo Impact Patient Scale*. [82, 84-87] Pierwsze doniesienia z literatury na temat wpływu bielactwa nabytego na jakość życia pochodzą z lat siedemdziesiątych XX wieku. [88] Od tego czasu wiele doniesień naukowych podkreśla istotny wpływ na obniżenie jakości życia pacjentów obciążonych tą jednostką chorobową. Metaanaliza z 2017 roku obejmująca 1799 pacjentów z *vitiligo* potwierdziła pogorszenie jakości życia w porównaniu z grupą kontrolną. [89] Problemy psychiczne chorych często obejmują depresję, stany lękowe, co może skutkować niską samooceną i izolacją społeczną, co potwierdziła niedawno przeprowadzona metaanaliza. [90] Kolejne metaanalizy potwierdziły, że częstość występowania depresji u pacjentów z bielactwem nabytym jest wysoka. [91] Choroba ma także negatywny wpływ na życie

seksualne. [92] Pacjenci często zgłaszają, że nie otrzymują wystarczającego wsparcia od swoich lekarzy, przyjaciół i rodziny oraz doświadczają dyskryminacji od otoczenia.

Pojawienie się bielactwa nabytego w okresie dojrzewania jest czynnikiem ryzyka pogorszenia jakości życia. Bielactwo nabyte występujące w dzieciństwie może mieć długotrwały wpływ na samoocenę oraz zdrowie psychiczne. Jakość życia nastolatków z bielactwem nabytym jest zdecydowanie niższa niż młodszych dzieci. [93]

W porównaniu z pacjentami obciążonymi innymi chorobami skóry, takimi jak łuszczyca i atopowe zapalenie skóry, pacjenci z bielactwem nabytym mają mniejszy ogólny wpływ na jakość życia. Wydaje się, że pogorszona jakość życia jest bardziej związana z aktywnością choroby niż z zajęciem odstąpionych obszarów skóry, a pacjenci odczuwają dyskomfort wtórny do niekontrolowanego postępu choroby. [55, 94] Stres może być czynnikiem wywołującym oraz pogarszającym przebieg choroby. Leczenie bielactwa nabytego nie powinno ograniczać się do dermatologicznego aspektu choroby, ale powinno również odnosić się do jakości życia pacjenta. Lęk społeczny spowodowany *vitiligo* może zostać zmniejszony poprzez terapię poznawczo-behawioralną. Papadopoulos i in. dostarczyli wstępnych dowodów, że terapia poznawczo-behawioralna może mieć pozytywny wpływ na zahamowanie progresji choroby. [55, 95]

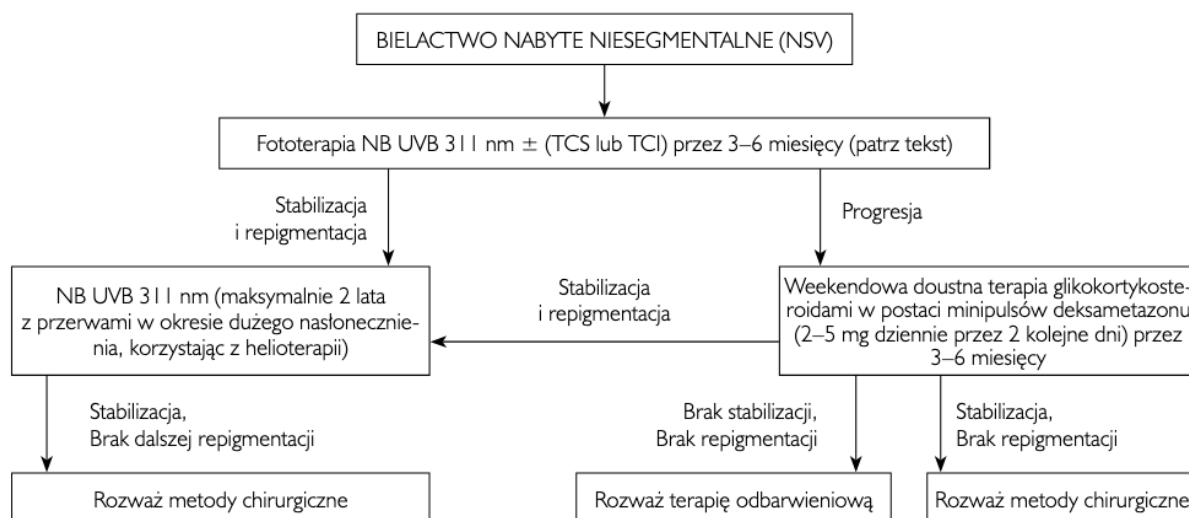
2.1.8 Leczenie

Leczenie bielactwa nabytego jest nadal jednym z najtrudniejszych wyzwań w dermatologii. Ważnym krokiem w podejściu terapeutycznym do *vitiligo* jest założenie, że nie jest to tylko defekt estetyczny, ale jednostka chorobowa wymagająca zastosowania skutecznych metod leczenia. Obecnie dostępne metody terapeutyczne obejmują: leczenie miejscowe, fototerapię, ogólnoustrojowe leki immunosupresyjne, techniki chirurgiczne, które stosowane w monoterapii lub leczeniu skojarzonym mogą pomóc w stabilizacji choroby oraz stymulowaniu repigmentacji. [96] Wybór leczenia zależy od kilku czynników, w tym: podtypu bielactwa nabytego, lokalizacji, rozległości i aktywności procesu chorobowego, a także wieku pacjenta, fototypu, wpływu na jakość życia i motywacji do leczenia. Najlepszego efektu terapeutycznego można spodziewać się na twarzy, szyi, tułowiu oraz w proksymalnych obszarach kończyn. Okolice czerwieni wargowej, narządów płciowych oraz dystalnych części kończyn gorzej reagują na leczenie. Repigmentacja początkowo może pojawiać się w układzie okołomieszkowym (migracja melanocytów z mieszków włosowych) lub na obwodzie zmian chorobowych (migracja melanocytów z brzegów plam bielaczych). Aby określić skuteczność

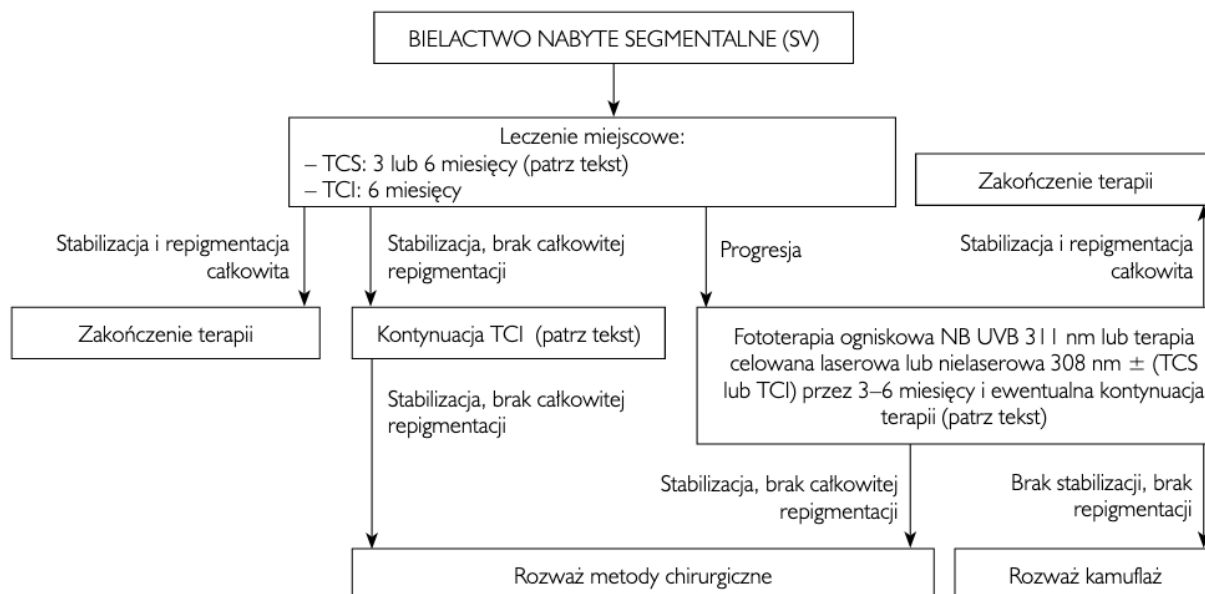
danej metody leczenia, konieczna jest obserwacja przez co najmniej 2–4 miesiące w zależności od zastosowanego postępowania terapeutycznego. [97, 98]

Postępowanie lecznicze wymaga zindywidualizowanego podejścia do pacjenta, ponieważ większość opcji terapeutycznych jest czasochłonna i wymaga długoterminowej obserwacji. W celu poprawy jakości życia powinno się udzielać porad dotyczących kosmetycznego kamuflażu zmian chorobowych w miejscach odsłoniętych. Są to między innymi kosmetyki o charakterze podkładów oraz produkty samoopalające zawierające dihydroksyaceton, który zapewnia trwałą kolor nawet do kilku dni. [33]

Podkomitet ds. bielactwa nabytego Europejskiego Forum Dermatologicznego (The Vitiligo subcommittee of the European Dermatology Forum) w 2012 roku przedstawił wytyczne opracowane, m.in. przez członków VETF, dotyczące postępowania i leczenia bielactwa nabytego w oparciu o najlepsze dostępne doniesienia naukowe w połączeniu z opinią ekspertów. [99] W 2019 roku Polskie Towarzystwo Dermatologiczne (PTD) pod przewodnictwem profesora Rafała Czajkowskiego opublikowało rekomendacje diagnostyczno-terapeutyczne bielactwa nabytego. [1] W obu dokumentach przedstawiono wiele metod leczenia obejmujących: preparaty miejscowe (kortykosteroidy i inhibitory kalcyneuryny), fototerapię (NB-UVB 311nm, PUVA), ogólnoustrojowe glikokortykosteroidy, zabiegi chirurgiczne polegające na przeszczepie naskórka, metody łączone, a także zabiegi kamuflażu czy depigmentacyjne. Szczegółowy algorytm, który podsumowuje schematy postępowania PTD w postaciach NSV oraz SV bielactwa nabytego, przedstawiono na **Rycinie 3 i 4**.



Rycina 3. Bielactwo nabyte postać NSV – rekomendacje PTD [1]



Rycina 4. Bielactwo nabyte postaci SV – rekomendacje PTD [1]

2.1.8.1 Leczenie miejscowe

Preparaty miejscowe stosowane w leczeniu bielactwa nabytego to glikokortykosteroidy (TCS) oraz inhibitory kalcyneuryny (TCI). Mają one zastosowanie w przypadku ograniczonej postaci choroby do 20% zajętej powierzchni ciała.

TCS są stosowane w dermatologii od lat pięćdziesiątych XX wieku ze względu na działanie przeciwzapalne i immunomodulujące. U dzieci i dorosłych z bielactwem nabytym rekomenduje się stosowanie silnego TCS (III klasa wg klasyfikacji europejskiej) na ograniczone obszary zmian skórnych poza twarzą, z częstotnością raz dziennie, przez okres nie dłuższy niż 3 miesiące, lub w preferowanej terapii przerywanej (15 dni w miesiącu przez 6 miesięcy, ze ścisłą oceną odpowiedzi na leczenie na podstawie dokumentacji fotograficznej). Silne TCS są co najmniej tak samo skuteczne jak bardzo silne TCS (IV klasa wg klasyfikacji europejskiej), dlatego TCS III klasy powinny być pierwszym i bezpieczniejszym wyborem spośród TCS. Zmiany na twarzy można leczyć równie skutecznie i z mniejszymi działaniami niepożądanymi TCI, uzyskując najlepsze efekty w fazie zapalnej choroby. Z uwagi na ryzyko wchłaniania, działanie ogólnoustrojowe oraz miejscowe działania niepożądane po stosowaniu silnych TCS III klasy, preferowane powinny być pirośluzan mometazonu lub aceponian metyloprednizolonu, które mają ograniczone działania niepożądane. Dotyczy to szczególnie sytuacji, gdy preparaty

stosowane są na rozległe obszary skóry, regiony o cienkiej skórze, u dzieci oraz czas leczenia jest długi.

Od 2002 r. informowano o korzyściach płynących ze stosowania TCI w leczeniu bielactwa nabytego, szczególnie na obszarach skóry, gdzie długotrwałe stosowanie silnych TCS jest przeciwwskazane. Takrolimus i pimekrolimus są miejscowymi immunomodulującymi makrolaktamami askomycyny (TIM) i działają jako TCI. Wpływając na aktywację/dojrzenie limfocytów T oraz hamowanie wytwarzania cytokin, takich jak TNF- α , w wyniku ich działania dochodzi do nasilenia migracji i różnicowania melanocytów. Stosowanie TCI należy rozważyć u dorosłych i dzieci z bielactwem nabytym jako alternatywę dla TCS w przypadku nowych, aktywnie powiększających się zmian chorobowych, szczególnie w regionach cienkiej skóry. Profil bezpieczeństwa TCI jest lepszy w porównaniu z silnymi TCS III klasy, zwłaszcza w odniesieniu do ryzyka wystąpienia atrofii skóry. Biorąc pod uwagę, ograniczoną liczbę podwójnie zaślepionych, kontrolowanych placebo badań stosowanie TCI powinno być ograniczone do wybranych obszarów, w szczególności w okolicy głowy i szyi. Zaleca się stosowanie preparatów dwa razy dziennie, początkowo przez okres co najmniej 6 miesięcy. W okresie leczenia zaleca się umiarkowaną ekspozycję na promieniowanie słoneczne. W przypadku skuteczności terapii, leczenie można wydłużyć nawet powyżej 12 miesięcy ze względu na korzystny profil bezpieczeństwa. [1, 99]

2.1.8.2 Fototerapia

Wąskopasmowe promieniowanie UVB 311nm (NB-UVB) ze względu na dobry profil bezpieczeństwa zarówno u dzieci, jak i dorosłych oraz brak toksyczności ogólnoustrojowej jest leczeniem z wyboru u pacjentów z bielactwem nabytym NSV typu uogólnionego z zajęciem powyżej 20% powierzchni ciała. Rozległość i aktywność zmian chorobowych na początku leczenia nie wydają się wpływać na prawdopodobieństwo repigmentacji. NB-UVB jest skuteczniejsze i bezpieczniejsze niż inne typy fototerapii. Randomizowane, podwójnie zaślepione badanie potwierdziło wyższą skuteczność NB-UVB w porównaniu z fotochemioterapią PUVA (8-MOP lub 5-MOP) u 50 pacjentów z NSV. Celowana fototerapia NB-UVB 311 nm (lampa grzebień) oraz celowana fototerapia z użyciem monochromatycznych lamp ekscymerowych 308 nm lub laserów ekscymerowych jest wskazana w przypadku bielactwa nabytego ogniskowego, w szczególności gdy leczeniu poddawane są niewielkie zmiany o niedawnym początku oraz w przypadku bielactwa nabytego u dzieci, w celu uniknięcia skutków ubocznych związanych z naświetlaniem całego ciała oraz we wszystkich

przypadkach, w których istnieją przeciwwskazania do naświetlania całego ciała NB-UVB (ryzyko czerniaka lub raka skóry innego niż czerniak, występowanie dermatoz, które mogą zaostrzać się przez promieniowanie UV, itp.).

Fototerapia metodą PUVA łączy stosowanie psoralenów z długofalowym (320–340 nm) promieniowaniem UVA. Obecnie stosowana jest u dorosłych i dzieci powyżej 12 roku życia z uogólnionym bielactwem nabytym typu NSV jako terapia drugiego wyboru ze względu na mniejszą skuteczność oraz większe ryzyko powikłań krótko- i długoterminowych w porównaniu do NB-UVB. W przypadku PUVA-bath, gdy psoraleny podawane są miejscowo w postaci roztworów lub kremów, zaleca się ich bardzo niskie stężenia (0,01%).

Fototerapia zwykle prowadzona jest 2-3 razy w tygodniu, dotychczas nie zdefiniowano optymalnego czasu jej trwania. Wg rekomendacji PTD fototerapię kontynuuje się do czasu, gdy jest ona efektywna. Nie należy przekraczać dawki całkowitej 2000 J/cm² powierzchni skóry w przypadku terapii PUVA lub maksymalnie 2 lat w przypadku terapii NB-UVB 311 nm. Fototerapię należy uznać za nieefektywną, jeśli w ciągu pierwszych 3 miesięcy leczenia nie nastąpi repigmentacja lub w przypadku niezadowalającej odpowiedzi (<25% powierzchni zmian uległo repigmentacji) po 6 miesiącach leczenia. Nie zaleca się fototerapii podtrzymującej, a regularne badania kontrolne w celu wykrycia nawrotu depigmentacji. [1, 99, 100]

2.1.8.3 Doustne minipulsy glikokortykosteroidów

Terapia ogólnoustrojowa minipulsami glikokortykosteroidów rekomendowana jest w przypadku aktywnego, szybko postępującego bielactwa nabytego typu NSV, w celu zahamowania progresji choroby. Schemat dawkowania polega na podawaniu glikokortykosteroidu przez 2 kolejne dni w tygodniu (terapia weekendowa), zaleca się podawanie deksametazonu w małych dawkach 2-5 mg dziennie, co pozwala uzyskać dobry profil bezpieczeństwa. Optymalny czas trwania leczenia w celu zahamowania progresji bielactwa nabytego wynosi od 3 do 6 miesięcy. [1, 99]

2.1.8.4 Terapie łączone

Terapie skojarzone poprawiają skuteczność leczenia, skracają czas potrzebny do uzyskania repigmentacji oraz zmniejszają ryzyko potencjalnych działań niepożądanych. Strategia terapii łączonych jest zalecana głównie u pacjentów ze zmianami opornymi na monoterapię. [1]

TCS i fototerapia

Właściwości przeciwzapalne glikokortykosteroidów mogą wpływać na zmniejszenie całkowitej dawki promieniowania UV podczas terapii łączonej, szczególnie w przypadku niedawnych i aktywnych zmian chorobowych. Skojarzenie terapii silnymi TCS III klasy i NB-UVB lub laserem czy lampą ekscimerową 308 nm można stosować w leczeniu obszarów gorzej repigmentujących, np. okolic łokci, kolan, i innych obszarów, gdzie skóra przylega do kości. Wówczas leczenie TCS należy stosować raz dziennie przez okres 3 - 4 tygodni podczas pierwszych 3 miesięcy fototerapii. [1, 99]

TCl i fototerapia

Badania potwierdzają, że połączenie TCl z fototerapią jest skuteczniejsze niż te dwie terapie stosowane oddzielnie. Coraz więcej doniesień naukowych sugeruje, że połączenie promieniowania UV i miejscowej terapii TCl jest bezpieczne. W sierpniu 2020 r. opublikowano wyniki prospektywnego, długoterminowego (10-letniego) badania APPLES, będącego analizą częstości występowania chłoniaków i innych nowotworów skóry u dzieci i młodzieży z atopowym zapaleniem skóry leczonych maścią z takrolimusem. W 314 ośrodkach w 9 krajach do badania włączono 7954 pacjentów. W ciągu 44 629 osobołat wystąpiło 6 potwierdzonych przypadków raka skóry (standaryzowany współczynnik zapadalności wynosił 1,01; 0,95 CI: 0,37-2,20), nie stwierdzono chłoniaków skóry. Wskaźnik zachorowalności na raka skóry odpowiadał wartości populacyjnej. Badanie nie potwierdziło hipotezy, że takrolimus stosowany miejscowo zwiększa długoterminowe ryzyko występowania nowotworów skóry. [1, 99, 101]

Fototerapia i doustne antyoksydanty

Podaż przeciwutleniaczy może wpływać na przywrócenie wewnątrzkomórkowej równowagi oksydacyjno - antyoksydacyjnej, która jest upośledzona u pacjentów z bielactwem nabytym. Skojarzenie fototerapii i doustnych antyoksydantów może być korzystne. Potrzebne są dalsze badania w celu potwierdzenia korzystnego terapeutycznego wpływu antyoksydantów u pacjentów z bielactwem nabytym. [1, 99]

Fototerapia i metody chirurgiczne

W celu optymalizacji terapii po wykonaniu procedur chirurgicznych w leczeniu bielactwa nabytego rekomenduje się włączenie fototerapii (NB-UVB lub PUVA). Fototerapię należy rozpocząć 3 lub 4 tygodnie po zabiegu chirurgicznym, kontynuując do czasu widocznej progresji repigmentacji. [1, 99]

2.1.8.5 Leczenie chirurgiczne

Rekomendowaną metodą chirurgiczną w leczeniu bielactwa nabytego jest bezpośredni przeszczep pokryw pęcherzy uzyskanych metodą podciśnieniową, tzw. suction blisters. Leczenie chirurgiczne jest zalecane w przypadku postaci SV bielactwa nabytego, postaci NSV, gdy choroba ma stabilny przebieg (6 miesięcy bez pojawiania się nowych oraz powiększania się dotychczasowych plam bielaczych) oraz gdy nie występuje zjawisko Koebnera. Przeszczep naskórka metodą suction blisters jest metodą pierwszego wyboru w przypadku zmian chorobowych zlokalizowanych na grzbietach rąk i stóp oraz w innych lokalizacjach, gdy dotychczasowe leczenie było nieskuteczne. W Polsce dwa ośrodki uniwersyteckie przeprowadzają leczenie zabiegowe bielactwa nabytego: Katedra i Klinika Dermatologii, Chorób Przenoszonych Drogą Płciową i Immunodermatologii Collegium Medicum im. L. Rydygiera w Bydgoszczy oraz Katedra i Klinika Dermatologii, Chorób Przenoszonych Drogą Płciową i Immunologii Klinicznej Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie. [1, 99]

2.1.8.6 Kamuflaż

Preparaty kamuflujące plamy bielacze są szczególnie zalecane u osób z niską jakością życia. Wśród metod kamuflażu wyróżnić można samoopalacze w żelu, kremie, balsamie lub sprayu, nadające skórze brązowy kolor. Ich efekt zwykle utrzymuje się od 3 do 5 dni. Preparaty te mogą być używane przez cały rok, są wodoodporne, a sztuczna opalenizna nie brudzi ubrań ani pościeli. Innym zalecanym preparatem jest przeznaczony do codziennej aplikacji intensywnie pigmentowany, wodoodporny fluid kryjący. Tatuże kosmetyczne są przydatne w przypadku odbarwień czerwieni wargowej oraz okolicy sutków, w innych obszarach zaleca się ostrożność przy wykonywaniu tego typu zabiegów. [99]

2.1.8.7 Depigmentacja

Terapia za pomocą odbarwiania może być stosowana u pacjentów, którzy mają rozległe powierzchnie plam bielaczych, gdy wyspy prawidłowo zabarwionej skóry nie przekraczają 20% jej powierzchni. Należy jednak przedstawić pacjentowi inne możliwe metody terapeutyczne. Miejscowym preparatem depigmentującym jest eter monobenzylowy hydrochinonu. Depigmentację można uzyskać również dzięki zastosowaniu lasera Q-switched, w monoterapii lub w połączeniu z metoksyfenolem. [1, 99]

2.1.8.8 Inne metody leczenia

Aktualne dane nie dostarczają wystarczających dowodów, aby zalecać leki immunosupresyjne takie jak cyklosporyna, metotreksat, azatiopryna, miejscowo stosowany mykofenolan

mofetylu. Potencjalne działania niepożądane tych preparatów nie uzasadniają ich stosowania w bielactwie nabytym. [99]

W rekomendacjach, zarówno europejskich jak i polskich, inhibitory JAK nie stanowią zalecanej terapii vitiligo. Jednak w ostatnich badaniach przedstawiono obiecujące wyniki dla miejscowo aplikowanego ruksolitynibu, który jest inhibitorem JAK1 i JAK2. Przeprowadzono badanie fazy 2, podczas którego 11 dorosłych pacjentów z bielactwem nabytym z zajęciem przynajmniej 1% powierzchni ciała aplikowało miejscowo 2 razy dziennie 1,5% krem z ruksolitynibem przez 20 tygodni 8 z 11 pacjentów uzyskało średnią poprawę w skali VASI o 23%. Najlepszą odpowiedź obserwowano u pacjentów ze zmianami na twarzy. [102]

Wykazano, że afamelanotyd, silny i długo działający syntetyczny analog hormonu α -melanotropowego (α -MSH) działa synergistycznie z NB-UVB w stymulowaniu repigmentacji. [103] Prostaglandyna E2 kontroluje proliferację melanocytów poprzez działanie stymulujące i immunomodulujące. W badaniu z udziałem 56 pacjentów z ograniczoną oraz stabilną postacią bielactwa nabytego, leczonych miejscowo 2 razy dziennie prostaglandyną E2 0,25mg/g w postaci żelu przez okres 6 miesięcy, do repigmentacji doszło u 40 pacjentów. U 22 pacjentów uzyskano repigmentację w zakresie >75% powierzchni początkowej, a całkowitą repigmentację obserwowano u 8 pacjentów. [104] W randomizowanym, podwójnie zaślepionym, kontrolowanym placebo badaniu wykazano, że bimatoprost, syntetyczny analog prostaglandyny F2 α , zapewnia lepszą repigmentację niż leczenie mometazonem u pacjentów z bielactwem nabytym NSV. [105]

2.2 Statyny

2.2.1 Wstęp

Statyny, inhibitory reduktazy 3-hydroksy-3-metyloglutarylo-koenzymu A (HMG-CoA), są obecnie powszechnie stosowanymi preparatami w leczeniu hipercholesterolemii. Grupa ta jest rutynowo stosowana w terapii obniżającej stężenie cholesterolu w surowicy, ale według dotychczasowych badań pozytywny wpływ na pierwotną i wtórną prewencję incydentów sercowo-naczyniowych może ściśle korelować z działaniami wykraczającymi poza hamowanie syntezy cholesterolu. [106] Warto zwrócić uwagę, że pozytywne efekty terapii statynami znacząco wyprzedzają obniżenie stężenia cholesterolu w surowicy. Wyraźna poprawa kliniczna u większości pacjentów wiąże się także, z mniejszą niż oczekiwano redukcją blaszek miażdżycowych. Częstość występowania incydentów sercowo-naczyniowych gwałtownie spada podczas stosowania statyn, chociaż u niektórych pacjentów wpływ na stężenie cholesterolu jest niewielki. [107, 108] Zgodnie z wytycznymi Europejskiego Towarzystwa Kardiologicznego dotyczącymi leczenia dyslipidemii, stosowanie statyn jest metodą z wyboru w redukcji lipoprotein o małej gęstości (LDL). [109]

Statyny hamują jeden z początkowych etapów szlaku syntezy cholesterolu, przemianę HMG-CoA w kwas mewalonowy, podstawowy substrat dla wszystkich następujących reakcji prowadzących do powstania cząsteczki cholesterolu. [110] Poprzez hamowanie wspomnianego etapu inhibitory HMG-CoA zmniejszają nie tylko stężenie cholesterolu w osoczu, ale także stężenie wszystkich produktów pośrednich szlaku jego syntezy. [106] Liczne doniesienia podkreślają ważną rolę, jaką odgrywają pośrednie metabolity szlaku biosyntezy cholesterolu w modulowaniu odpowiedzi immunologicznej, w szczególności pirofosforan farnezyli oraz pirofosforan geranylogeranyli. Te izoprenoidowe pirofosforany wzbudzają duże zainteresowanie, ponieważ biorą udział w prenylacji potranslacyjnej różnych ważnych białek sygnalizacyjnych, które odpowiadają za wiele procesów fizjologicznych, takich jak: wzrost komórek, ich różnicowanie, transport endocytarny i egzocytarny, sygnalizacja międzykomórkowa i apoptoza. [111, 112] Prenylacja zachodzi na białkach zawierających karboksy-końcową sekwencję CaaX (gdzie C to cysteina, A to aminokwas alifatyczny, a X to dowolny aminokwas). Oszacowano, że istnieje ponad 100 białek CaaX zakodowanych w ludzkim genomie. Wśród nich jest około 40 białek z rodziny małych GTP-az, pełniących funkcję „przełączników” molekularnych, które obejmują: cykl podziału komórkowego 42 (CDC42), białka RAC i RAS (RHO). Te małe białka odgrywają kluczową rolę w kontrolowaniu szlaków

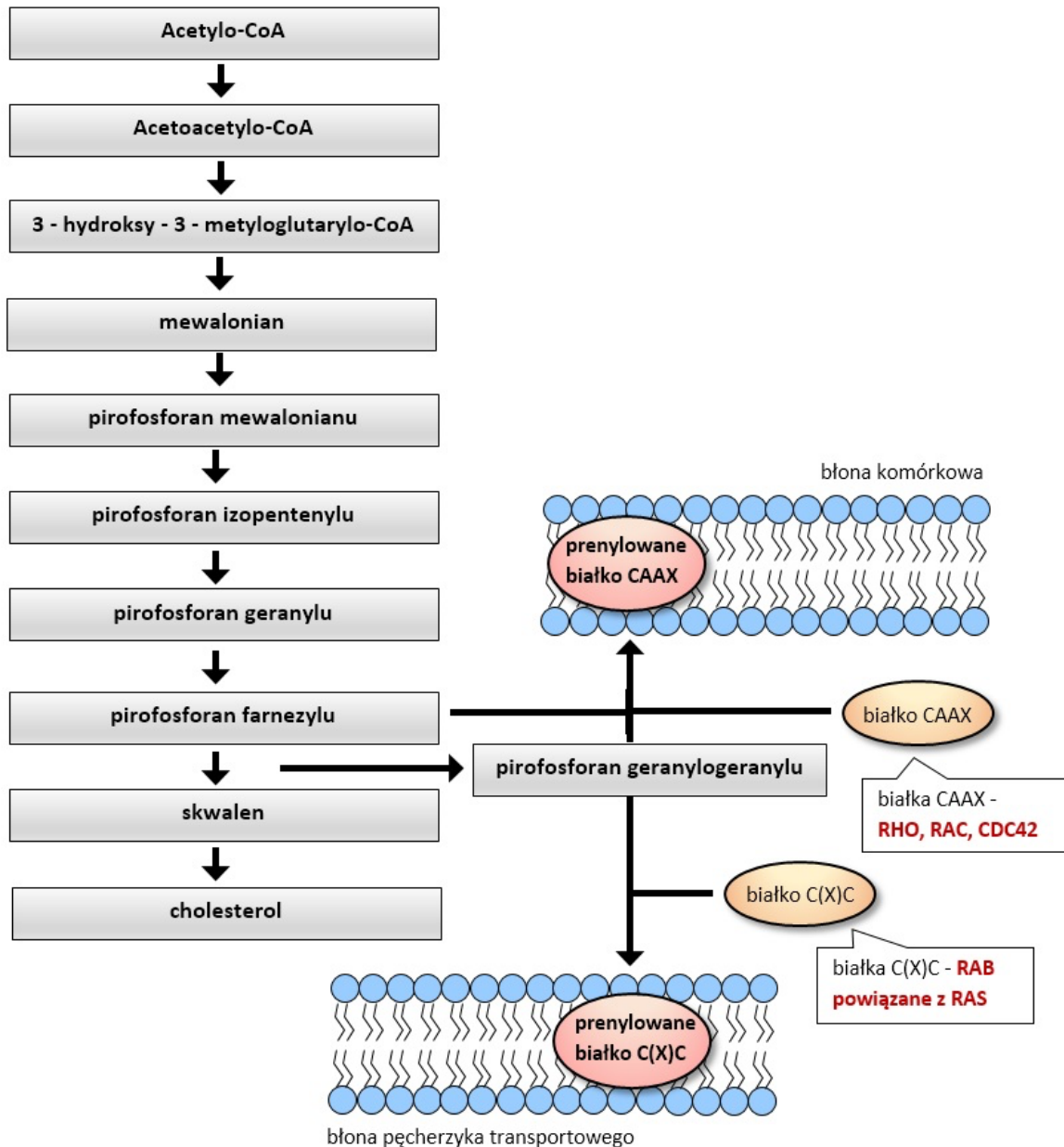
sygnałowych, z których wiele zaangażowanych jest w reorganizację cytoszkieletu. Prenylacja dotyczy, także białek, które posiadają sekwencję CC lub CXC-końcową, do których zaliczyć można rodzinę białek RAB powiązaną z białkami RAS, których jest ponad 60. Rodzina RAB, małe białka wiążące GTP, stanowi niezbędne elementy sygnalizacyjne w kontroli wewnątrzkomórkowego transportu błonowego. W przypadku wszystkich dotychczas zidentyfikowanych prenylowanych białek, które stanowią do 2% wszystkich białek komórkowych, lipofilowa grupa prenylowa umożliwia tym białkom zakotwiczenie się w błonach komórkowych, co w większości przypadków jest podstawowym warunkiem ich funkcji biologicznej. (**Rycina 5**) Oprócz promowania interakcji błonowych prenylacja wydaje się również odgrywać ważną rolę w kluczowych interakcjach białko-białko. Hamując reduktazę HMG-CoA, statyny zmniejszają także stężenie pośrednich metabolitów, a tym samym - aktywność kluczowych cząsteczek sygnalizujących, modyfikując odpowiedź immunologiczną niezależnie od działania obniżającego stężenie lipidów. [113]

2.2.2 Wpływ statyn na stres oksydacyjny

Na działanie plejotropowe statyn składają się ich właściwości antyoksydacyjne, wynikające z hamowania szlaku mewalonianu oraz zakłócenia prenylacji małych GTP-az. To z kolei prowadzi do aktywności przeciwutleniających statyn w wyniku licznych mechanizmów. Statyny zapobiegają aktywacji prooksydacyjnego enzymu, oksydazy NADPH, poprzez zakłócenie aktywacji i translokacji Rac1 do błony, a także zmniejszanie ekspresji kluczowych podjednostek oksydazy NADPH. Statyny zwiększają również ekspresję, aktywność enzymatyczną i sprzężanie śródbłonkowej syntazy tlenku azotu (eNOS). Ostatecznym rezultatem jest przywrócenie równowagi redoks, co potwierdzono w układzie sercowo-naczyniowym, z następczym działaniem przeciwmiażdżycowym i kardioprotekcyjnym. [114]

2.2.3 Wpływ statyn na procesy immunologiczne

Właściwości immunomodulujące inhibitorów HMG-CoA polegają na anergii limfocytów T, modulacji odpowiedzi Th1 i Th2, wpływie na cząsteczki adhezyjne limfocytów, populację limfocytów T, ekspresję antygenów MHC i ekspresję cząsteczek kostymulujących. W następstwie tych procesów statyny wykazują działanie przeciwzapalne, które może być wykorzystane w leczeniu wielu chorób autoimmunologicznych.



Rycina 5. Szlak syntezy cholesterolu i prenylacji białek. Statyny hamują konwersję HMGCoA do L-mewalonianu przez kompetycyjne blokowanie enzymu reduktazy HMGCoA. To hamowanie skutkuje osłabieniem dalszych etapów biosyntezy cholesterolu i pozostałych pośrednich metabolitów obejmujących izoprenoidy - pirofosforan farnezylu i pirofosforan geranylogeranylu. Te izoprenoidowe pirofosforany służą jako niezbędne dodatki w posttranslacyjnej modyfikacji licznych kluczowych białek, działających jako molekularne przełączniki, obejmujące, m.in. małe GTPazy Ras, Rac i Rho. Posttranslacyjna modyfikacja pozwala tym białkom sygnałowym na wiązanie z błonami, które są niezbędne dla większości ich biologicznych funkcji. Źródło własne.

2.2.3.1 Anergia limfocytów T

Proces tolerancji immunologicznej można osiągnąć poprzez anergię limfocytów T. Funkcja immunologiczna limfocytów T może być zaburzona kilkoma czynnikami, m.in. przez zahamowanie ich klonalnej ekspansji, zahamowanie sygnałów kostymulujących, ograniczenie migracji i napływu limfocytów T do miejsca zapalenia. Zahamowanie migracji limfocytów T następuje w wyniku zaburzeń integralności cytoszkieletu lub zaburzeń aktywności mikrotubul cytoplazmatycznych, których prawidłowe działanie regulują izoprenylowane białka G. Wykazano, że hamowanie izoprenylacji białek Ras i Rac upośledza przekazywanie sygnału z receptora limfocytów T (TCR) do wnętrza komórki, prowadząc w ten sposób do zahamowania aktywacji limfocytów T. Statyny uniemożliwiają prawidłowe pozycjonowanie białek G na błonie komórkowej, co prowadzi do znacznego upośledzenia wszystkich szlaków kontrolowanych przez te GTPazy. Wiadomo również, że inhibitory HMG-CoA zakłócają internalizację TCR, wpływając na GTPazę Rab. Przedłużone stosowanie statyn prowadzi także do zmian w składzie lipidowym błony komórkowej, co może skutkować zaburzeniem przekazywania sygnału do wnętrza komórki poprzez niewłaściwe pozycjonowanie cząsteczek przekaźnikowych i regulatorowych. [115-117]

2.2.3.2 Zmiana profilu cytokinowego

Statyny wywierają wpływ na zmianę profilu cytokin uwalnianych przez limfocyty T pomocnicze (Th). W wyniku plejotropowego działania statyn zaobserwowano wyraźny wzrost sekrecji przeciwzapalnych cytokin szczególnie IL-4, IL-5 i IL-10 oraz przesunięcie różnicowania limfocytów T w kierunku subpopulacji Th2. Immunomodulujące działanie inhibitorów HMG-CoA następuje także przez zauważalny wzrost fosforylacji przetwornika sygnału i aktywatora transkrypcji-6 (STAT-6), odpowiedzialnego za transformację limfocytów Th zależnych od IL4 do limfocytów Th2. Hamowana jest również fosforylacja STAT-4, przetwornika koniecznego do wywoływanej przez IL-12 transformacji limfocytów Th w kierunku odpowiedzi Th1. W konsekwencji, zmiany te prowadzą do zmniejszenia produkcji cytokin prozapalnych - TNF- α , IL-2, IL-12 oraz INF γ . Ostatecznym efektem zmian profilu cytokinowego w wyniku działania statyn jest przesunięcie odpowiedzi z Th1 na Th2. Dodatkowym czynnikiem, który wpływa na zahamowanie odpowiedzi Th1 jest supresja czynnika jądrowego kappa B (NF- κ B) i T *bet*, które odgrywają ważną rolę w transformacji limfocytów do Th1. [117-122]

Na podstawie badań Leunga i wsp., stwierdzono, że pozytywne działanie immunomodulujące dotyczy tylko niektórych statyn. W badaniu na modelu zapalenia stawów wywołanym przez kolagen stwierdzono, że simwastatyna hamowała odpowiedź Th1, nie nasilając przy tym odpowiedzi Th2. [123] Atorwastatyna i rosuwastatyna pozbawione są korzystnego działania w tym modelu zapalenia stawów. Inne badania wykazały immunomodulujące działanie prawastatyny, lowastatyny i atorwastatyny. [119, 121, 124] Przeciwwzapalne działanie lowastatyny i atorwastatyny obserwowano, m.in. w doświadczalnym modelu zapalenia tęczówki i siatkówki, ale w przypadku tych statyn nie wystąpiło przesunięcie odpowiedzi zależnej z Th1 na Th2. [125] Atorwastatyna, w zależności od dawki i drogi podania, w modelu toczniowego zapalenia nerek u myszy zmniejszała aktywność choroby lub nie wpływała na nią. Niemniej, nawet w przypadku braku efektu terapeutycznego obserwowano zmianę profilu cytokinowego charakterystycznego dla odpowiedzi Th2. [126]

2.2.3.3 Wpływ na cząsteczki adhezyjne

Innym obszarem immunologicznej aktywności statyn jest wpływ na cząsteczki adhezyjne, które są kluczowe dla interakcji między śródbłonkiem a komórkami układu odpornościowego. W oparciu o dostępne dane, blokowanie czynności kluczowych cząsteczek adhezyjnych dotyczy cząsteczki adhezji międzykomórkowej-1 (ICAM-1), integryny LFA-1 oraz białka chemotaktycznego monocytów-1 (MAC-1). Statyny upośledzają aktywację leukocytów i ich napływ do miejsca zapalenia, oddziałując z LFA-1/ICAM-1 jako proces wtórny do wiązania z LFA-1. [127] Istnieje bardzo specyficzny związek między poszczególnymi cząsteczkami adhezyjnymi, które są odpowiedzialne za pośredniczenie zarówno w odpowiedzi immunologicznej, jak i zapalnej. W normalnych warunkach LFA-1 i integryna VLA-4 mają wpływ na przemieszczanie leukocytów oraz ich migrację z naczyń do okolicznych tkanek. W chorobach autozapalnych, takich jak: reumatoidalne zapalenie stawów, astma oskrzelowa, alergia, łuszczyca, stwierdza się oddziaływanie VLA-4 z jego ligandami, a potencjalnym celem terapeutycznym w tych zaburzeniach może być zarówno LFA-1, jak i VLA-4. [128]

Szlak LFA-1/ICAM-1 jest możliwym celem interwencji terapeutycznych ograniczających proces zapalny lub autoimmunologiczny. W badaniach wykazano zdolność statyn do hamowania interakcji LFA-1/ICAM-1. Początkowo właściwości te opisano dla lowastatyny, a następnie dla innych statyn poza prawastatyną. [129, 130]

2.2.3.4 Wpływ na migrację limfocytów

Badanie przeprowadzone przez Prasad i wsp. przyczyniło się do poszerzenia wiedzy dotyczącej immunomodulującego działania statyn. Wykazano, że lowastatyna zmniejszyła eksperymentalne autoimmunologiczne zapalenie mózgu i rdzenia kręgowego u gryzoni poprzez hamowanie infiltracji komórek jednojądrzastych do ośrodkowego układu nerwowego. Kluczowym procesem związanym z tym zjawiskiem jest hamowanie interakcji między komórkami śródbłonna a monocytami poprzez zmniejszenie ekspresji cząsteczek adhezyjnych VCAM-1 i E-selektyny. Zjawisko to regulowane jest przez zahamowanie szlaku kinazy 3-fosfatydyloinozytolu (kinazy PI3) / kinazy białkowej B (Akt) / NF-κB. [131] Na podstawie dostępnych danych stwierdzono, że statyny mogą wpływać na migrację leukocytów również poprzez zmniejszenie ekspresji receptorów dla chemokin na limfocytach T, limfocytach B czy makrofagach. Stwierdzono, że poprzez hamowanie geranylogeranylacji statyny hamują migrację komórek Th1 i wydzielanie metaloproteiny macierzy-9 (MMP-9), która jest enzymem wytwarzanym przez makrofagi i inne komórki zapalne, ułatwiającym migrację leukocytów. [113, 132]

2.2.3.5 Wpływ na populacje limfocytów T

Na podstawie wielu badań stwierdzono, że specyficzna subpopulacja limfocytów T CD4+CD28^{null} jest związana z przewlekłymi stanami zapalnymi, w tym reumatoidalnym zapaleniem stawów, twardziną układową lub stwardnieniem rozsianym. Statyny wpływają na populację limfocytów T CD4+CD28^{null} prowadząc do ich apoptozy, zmniejszając w ten sposób liczbę autoreaktywnych limfocytów T. Wykazano, że inna populacja limfocytów T, limfocyty Treg, CD4+CD25⁺, odgrywają ważną rolę w patogenezie kilku chorób autoimmunologicznych. Limfocyty Treg charakteryzują się obecnością na swojej powierzchni łańcucha alfa receptora dla IL-2 (CD25) oraz transkrypcyjnego czynnika Foxp3, który reguluje czynność supresorową limfocytów Treg, a także uczestniczy w regulacji aktywności wielu genów, m.in. IL-2, IFN-γ, CD25, CTLA-4. W badaniach wykazano, że limfocyty Treg stają się celem immunomodulującego działania atorwastatyny u pacjentów z reumatoidalnym zapaleniem stawów. [133, 134] Przewlekłe procesy zapalne są również związane z inną subpopulacją limfocytów, zdolną do syntezy interleukiny 17 (IL-17), zwaną Th17. Odkryto, że simwastatyna hamuje różnicowanie limfocytów T do Th17 i ułatwia rozwój limfocytów Treg. [135, 136] Wymienione zjawiska prowadzą do immunotolerancji i blokowania procesów zapalnych.

2.2.3.6 Wpływ na ekspresję antygenów MHC

Innym obszarem immunomodulującego działania statyn jest wpływ na ekspresję antygenów głównego kompleksu zgodności tkankowej klasy I i II (MHC I i MHC II). Przeprowadzono szereg badań oceniających potencjalny wpływ statyn na indukowaną przez IFN- γ regulację MHC klasy II. Badanie przeprowadzone przez Zeinstra i wsp. ujawniło hamujący wpływ simwastatyny na indukowaną przez IFN- γ ekspresję MHC klasy II w hodowanych astrocytach. Co więcej, jak pokazują wyniki, efekt ten mógł zostać odwrócony przez mewalonian, bezpośredni produkt reduktazy HMG-CoA. Dlatego naukowcy uważają statyny za potencjalnie odpowiednie immunomodulatory w chorobach neurologicznych, w tym w stwardnieniu rozsianym. [137] Według Kwaka i wsp. inhibitory HMG-CoA hamują ekspresję MHC klasy II indukowaną przez IFN- γ na komórkach prezentujących antygen (APC), zapobiegając w ten sposób prezentacji antygenów limfocytom CD4+. Efekt ten jest potencjalnym nowatorskim podejściem do leczenia chorób autoimmunologicznych, ponieważ ekspresja MHC klasy II na komórkach, które nie prezentują tych antygenów w normalnych warunkach, odgrywa kluczową rolę w chorobach autoimmunologicznych. [138] Jednym z mechanizmów prowadzących do osłabienia ekspresji MHC II na powierzchni APC jest zmniejszenie aktywności indukowanego przez IFN- γ transaktywatora klasy II (CIITA) regulującego aktywność genów dla MHC II. Aktywacja CIITA przez IFN- γ wymaga aktywacji białka G, GTP-azy Rac1, które można zahamować statyną. W badaniach wykazano, że statyny hamują konstytutywną ekspresję czynnika transkrypcyjnego STAT-1 α , co dodatkowo wpływa na hamowanie transkrypcyjnego programu genu CIITA. [117, 139]

Wpływ statyn nie ogranicza się tylko do hamowania antygenów MHC klasy II, ale można go również zaobserwować jako zmniejszenie konstytutywnej ekspresji MHC klasy I, a także ekspresji MHC klasy I indukowanej przez IFN- γ w pierwotnych komórkach mięśniowych. [138] Jednak zgodnie z wynikami badania Singha i wsp. w linii komórkowej mięśniakomięśnaka prądkowokomórkowego, zwanej TE671, statyny nie tylko nie wpływały na konstytutywną ekspresję MHC klasy I, ale także wzmacniały indukowaną przez IFN- γ ekspresję MHC klasy I. Wspomniane wyniki są zgodne z ustaleniami innych badaczy opisującymi wzrost ekspresji MHC klasy I indukowanej przez IFN- γ na mysim modelu czerniaka B16F10. [140, 141] W swoim badaniu Belliard i wsp. odkryli wpływ fluwastatyny na wzrost ekspresji MHC klasy I na komórkach śródbłonna. Co więcej, ta statyna zapobiegała indukcji MHC klasy II wywołanej przez IFN- γ . [142] Sugerowany mechanizm oddziaływania statyn na MHC klasy I to wpływ na

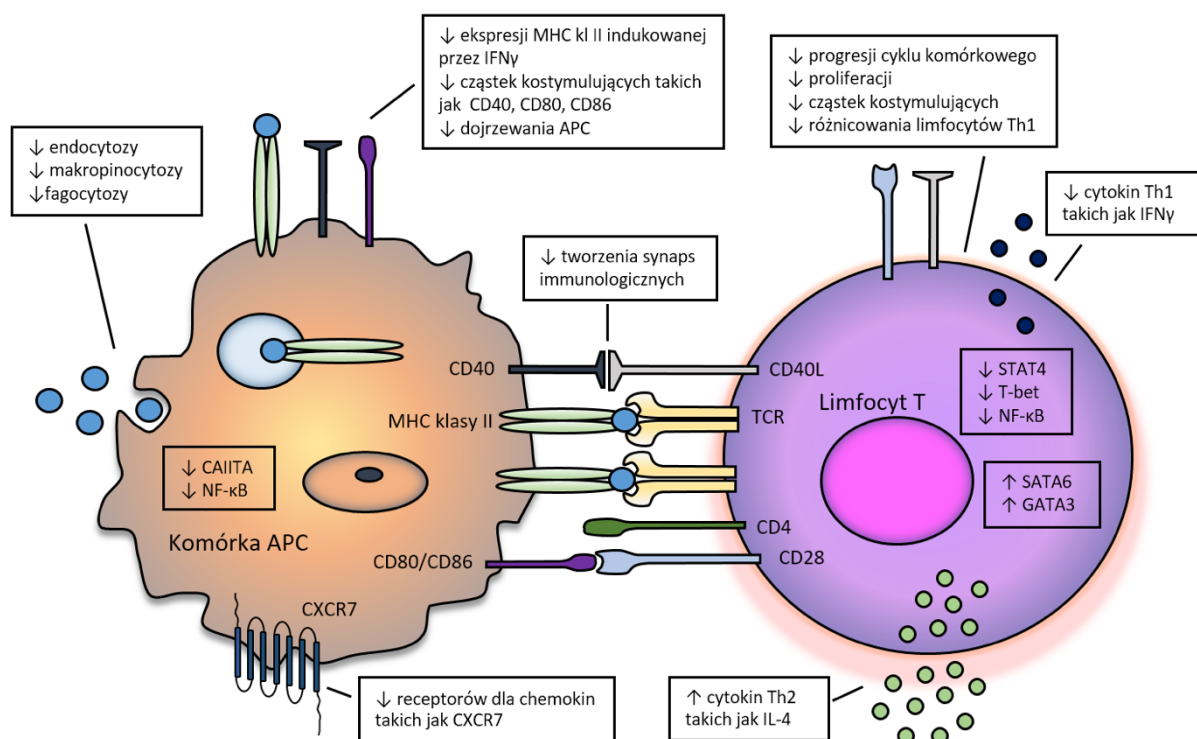
cząsteczki związane z MHC klasy I, zwłaszcza transporter związany z przetwarzaniem antygenu (TAP) i polipeptyd o niskiej masie cząsteczkowej 2 (LMP2) i 7 (LMP7). [140, 141]

2.2.3.7 Wpływ na ekspresję cząstek kostymulujących

Do skutecznej odpowiedzi limfocytów T na prezentację antygeny wymagane są nie tylko cząsteczki MHC II, ale także inne cząsteczki kostymulujące. Stwierdzono, że simwastatyna jak i atorwastatyna zapobiegają dojrzewaniu komórek prezentujących antygen indukowanemu przez cytokiny, co skutkuje zmniejszeniem ekspresji receptora chemokiny CC 7 (CCR7), CD40, CD83, CD86 i HLA-DR28. Do tego procesu przyczyniają się dwa mechanizmy, pierwszy zależy od szlaku mewalonianu oraz udziału białek G, drugi polega na hamowaniu receptora integrynowego z następowym zmniejszeniem syntezy czynnika regulatorowego interferonu (IRF). W konsekwencji tego procesu statyny mogą zmniejszać odpowiedź limfocytów T, co stwierdzono na modelach zwierzęcych chorób autoimmunologicznych. [113, 117]

Wybrane z wymienionych powyżej mechanizmów działania statyn przedstawiono na **Rycinie 6**.

Wpływ statyn na układ immunologiczny obserwuje się nie tylko u osób z zaburzeniami lipidowymi, objawia się on także u osób z chorobami autoimmunologicznymi oraz innymi procesami autozapalnymi. Statyny powodują uzyskanie stanu łagodnej immunosupresji, co może korzystnie wpływać na aktywność procesu zapalnego w wielu jednostkach chorobowych.



Rycina 6. Wpływ statyn na funkcję limfocytów T i komórek prezentujących antygen. Statyny hamują indukowaną cytokinami ekspresję cząstek MHC klasy II oraz cząstek kostymulujących przez komórki prezentujące antygen (APC) i zapobiegają prezentacji antygenów limfocytom T. Proliferacja limfocytów T jest hamowana poprzez wpływ małych GTP-az na regulację cyklu komórkowego. Ponadto, statyny upośledzając prenylację wewnątrzkomórkowych białek sygnałowych wpływają na organizację cytoszkieletu oraz tworzenie synapsy immunologicznej. Statyny zmieniają profil cytokinowy, hamują sekrecję prozapalnych cytokin, przekaźnika sygnału i aktywatora transkrypcji 4 (STAT4) i czynnika transkrypcyjnego T-bet, które są niezbędne do różnicowania limfocytów T pomocniczych Th1, zwiększają sekrecję przeciwzapalnych cytokin typu Th2 przez aktywację STAT6 jak i białka wiążącego GATA 3 (GATA3), które są zaangażowane w różnicowanie limfocytów Th2. CCR7 - receptor chemokiny 7; CD40L - ligand CD40; CIITA – transaktywator klasy II; IFN γ - interferon- γ ; IL-4 - interleukina 4; NF- κ B - czynnik jądrowy- κ B, TCR - receptor komórek T. Źródło własne.

2.3 Zastosowanie statyn w bielactwie

Ze względu na właściwości plejotropowe inhibitorów HMG-CoA, do których zaliczyć można zdolność do hamowania stresu oksydacyjnego, blokowania chemotaksji leukocytów, prezentacji antygenów, aktywacji i proliferacji limfocytów oraz zmiany profilu cytokinowego i ekspresji cząstek kostymulujących, a także biorąc pod uwagę ich bezpieczeństwo i łatwą dostępność oraz niski koszt, leki te mogą okazać się nieocenione w leczeniu wielu chorób autoimmunologicznych, zwłaszcza procesów chorobowych charakteryzujących się rekrutacją aktywowanych leukocytów do skóry. Uwzględniając opisane powyżej aspekty patofizjologiczne bielactwa nabytego oraz mechanizm działania plejotropowego statyn można oczekiwać ich korzystnego wpływu na przebieg choroby.

Dotychczasowe doniesienia naukowe prezentują korzystne efekty kliniczne statyn zarówno u pacjentów z *vitiligo* jak i na modelach zwierzęcych bielactwa nabytego w przypadku podawanej ogólnoustrojowo simwastatyny w maksymalnej dobowej dawce. [49, 143-145] Z uwagi na wysokie prawdopodobieństwo nietolerancji oraz ewentualne działania niepożądane (szczególnie ryzyko miopatii oraz rhabdomyolizy) w przypadku stosowania statyn ogólnoustrojowo w wysokich dawkach dobowych, a także biorąc pod uwagę cechy substancji umożliwiające przenikanie cząsteczek do skóry zostało opracowane badanie skuteczności statyn aplikowanych miejscowo na zmiany skórne. [146] Właściwości przeciwzapalne miejscowo aplikowanych inhibitorów HMG-CoA potwierdzono na modelach zwierzęcych. [147-150] U ludzi miejscowo stosowane statyny wykazały skuteczność m. in. w leczeniu zespołu suchego oka współwystępującego z zapaleniem powiek, odleżyn, porokeratozie, trądziku. [151-154]

3. Cele

Celem niniejszej pracy jest ocena:

- repigmentacji plam bielaczych po miejscowym zastosowaniu 1% soli sodowej kwasu simwastatyny i 1% soli wapniowej atorwastatyny u pacjentów z aktywną postacią bielactwa nabytego
- hamowania progresji plam bielaczych po miejscowym zastosowaniu 1% soli sodowej kwasu simwastatyny i 1% soli wapniowej atorwastatyny u pacjentów z aktywną postacią bielactwa nabytego

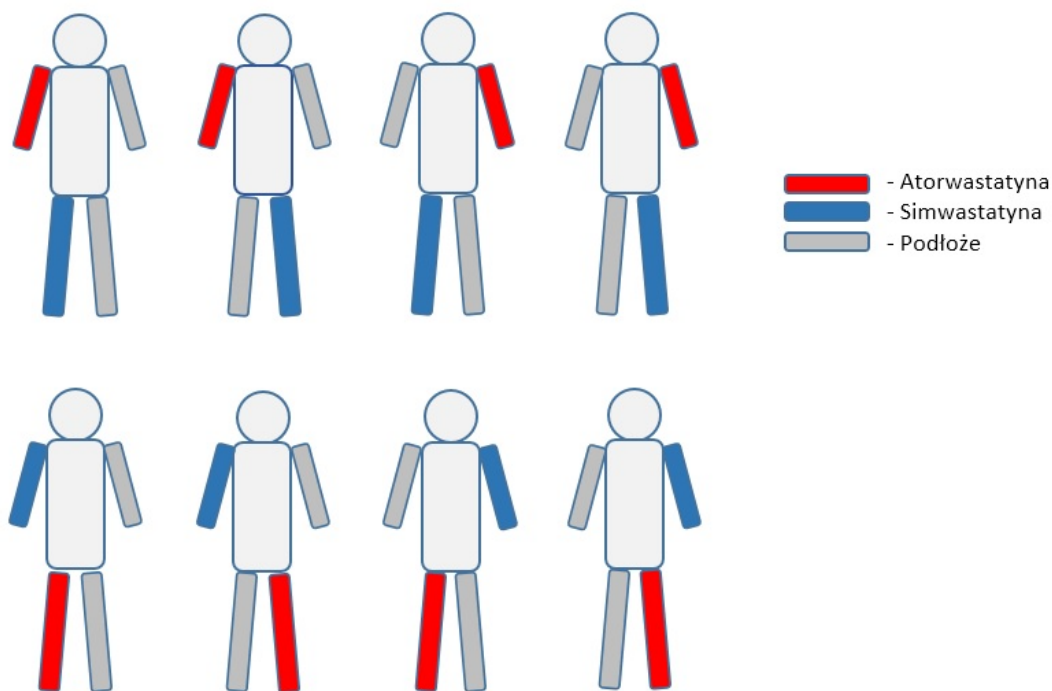
4. Materiał, metody

Badanie zostało zaprojektowane jako pilotażowe, jednośrodkowe, randomizowane, podwójnie zaślepienie, kontrolowane placebo. Uzyskano zgodę Komisji Bioetycznej Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu przy Collegium Medicum im. Ludwika Rydygiera w Bydgoszczy – nr zgody KB 597/2016. **(Załącznik nr 1)**. Założono przeprowadzenie fazy czynnej badania w okresie jesienno-zimowym (od października do marca) w celu wyeliminowania ewentualnego, korzystnego wpływu promieniowania słonecznego na repigmentację plam bielaczych. Rekrutację pacjentów rozpoczęto 1 grudnia 2016r., badanie zakończono 31 marca 2017r. Populacja badana obejmowała pacjentów z aktywną, kończynowo-twarzową NSV z jednoczesnym zajęciem kończyn górnych i dolnych. Zaplanowano włączenie 24 pacjentów. Preparat badany stanowiły maści zawierające 1% sól sodową kwasu simwastatyny i 1% sól wapniową atorwastatyny. Kontrolą negatywną była maść zawierająca podłoże bez substancji czynnej. Każdy pacjent aplikował dany preparat na określoną w procesie randomizacji kończynę górną i dolną, a maść zawierającą podłoże na kończyny po przeciwnej stronie ciała. Powyższy schemat stosowania badanych maści umożliwił bezpośrednie porównanie działania preparatu zawierającego substancję czynną do preparatu zawierającego jedynie podłoże, ze względu na identyczny model biologiczny i czynniki środowiskowe, zbliżoną lokalizację oraz powierzchnię skóry zajętej procesem chorobowym. Opisane warunki prowadzenia badania wydają się być zbliżone do optymalnego modelu eksperymentu terapeutycznego porównującego skuteczność substancji stosowanych miejscowo. Schemat możliwych kombinacji aplikacji badanych preparatów przedstawiono na **Rycinie 7**.

4.1 Sporządzenie preparatów badanych

Simwastatyna, pochodna naturalnej lowastatyny, jest prolekiem mającym w swojej cząsteczce strukturę nieaktywnego pierścienia laktonowego, który (głównie w wątrobie) ulega hydrolizie do wspólnej z innymi statynami formy aktywnej otwartego pierścienia, łańcucha β -hydroksykwasu karboksylowego. [155] Postać aktywna simwastatyny do zastosowania miejscowego, sól sodowa kwasu simwastatyny, została uzyskana w Katedrze Chemii Organicznej Collegium Medicum Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu (CM UMK) zgodnie z protokołem opisanym w publikacji Lin i wsp. z kilkoma modyfikacjami. 25 mg simwastatyny rozpuszczono w 0,2 ml etanolu (95% -100%), a następnie dodano 0,3 ml NaOH.

Po ogrzewaniu w 50°C przez 2 godziny, roztwór zobojętniono 1 N HCl do pH 7,2 i uzupełniono do objętości 1 ml solą fizjologiczną. Końcowe stężenie simwastatyny wynosiło 25 mg/ml. [156] Atorwastatyna przyjmowana ogólnoustrojowo występuje w postaci aktywnego hydroksykwasu. [155] Dla celów przeprowadzonego badania zastosowano preparat miejscowy zawierający sól wapniową atorwastatyny.



Rycina 7. Schemat możliwych kombinacji aplikacji badanych preparatów.

Maści z substancjami aktywnymi (1% solą sodową kwasu simwastatyny albo 1% solą wapniową atorwastatyny), jak również maści niezawierające składników czynnych zostały wykonane na absorpcyjnym podłożu maściowym z dodatkiem promotora sorpcji w Katedrze Technologii Postaci Leku CM UMK. W skład preparatów miejscowych zawierających substancje czynne wchodziły: sól wapniowa atorwastatyny albo sól sodowa kwasu simwastatyny w ilości 1 g, eter monoetylowy glikolu dietylenowego w ilości 5 g i maściowe podłoże absorpcyjne w postaci maści cholesterolowej w ilości dopełniającej do 100 g, gdzie maść cholesterolowa składała się z: cholesterolu w stężeniu 3%, wazeliny białej - 18%, parafiny ciekłej - 64% i parafiny stałej - 15%. Po rozpuszczeniu soli sodowej kwasu simwastatyny albo soli wapniowej atorwastatyny w eterze monoetylowym glikolu dietylenowego występują one w postaci zjonizowanej.

Preparaty badane zostały sporządzone z użyciem miksera recepturowego typu Unguator, a opakowaniami bezpośrednimi były pojemniki polipropylen/polietylenowe zapewniające składnikom aktywnym co najmniej 30-dniową trwałość chemiczną, chroniące przed działaniem promieni słonecznych oraz zabezpieczające maść przed zanieczyszczeniem mikrobiologicznym podczas stosowania preparatów przez pacjentów.

Wstępne badania przeprowadzone w Katedrze Technologii Postaci Leku CM UMK wykazały, że badane preparaty zawierające 1% sól sodową kwasu simwastatyny i 1% sól wapniową atorwastatyny po aplikacji miejscowej przenikają przez warstwę rogową naskórka i docierają do warstwy podstawnej naskórka. Ocenę przenikania substancji czynnych przez skórę przeprowadzono w przepływowych komorach dyfuzyjnych, biorąc pod uwagę ich lipofilną budowę oraz odpowiednio niską masę cząsteczkową. Kumulację statyn w warstwie rogowej naskórka przeprowadzono metodą progresywnego zdzierania warstwy rogowej naskórka.



Rycina 8. Fotografie przedstawiające badane preparaty miejscowe. Maści o identycznych właściwościach organoleptycznych były umieszczane w jednakowych pojemnikach, podpisanych kolejnym numerem pacjenta oraz określonym miejscem aplikacji.

4.2 Randomizacja i zaślepienie.

Randomizację przeprowadzono przy użyciu Random Allocation Software v 1.0. Za przygotowanie badanych preparatów oraz proces zaślepiania odpowiadał Zakład Technologii Postaci Leku CM UMK. Maści o identycznych właściwościach organoleptycznych obejmujących zapach, kolor, konsystencję, lepkość umieszczano w jednakowych pojemnikach, podpisanych kolejnym numerem pacjenta oraz określonym miejscem aplikacji („lewa kończyna górna”, „prawa kończyna górna”, „lewa kończyna dolna”, „prawa kończyna dolna”). **(Rycina 8).** Wyjściowa waga każdego z pojemników była identyczna. Po wytworzeniu maści i przydzieleniu ich danemu pacjentowi, preparaty były przekazywane do Kliniki Dermatologii, Chorób Przenoszonych Drogą Płciową i Immunodermatologii Szpitala Uniwersyteckiego nr 1 im. dr. A. Jurasza w Bydgoszczy, gdzie prowadzono część kliniczną badania.

4.3 Schemat przebiegu badania oraz oceny zmian skórnych

Wszystkie procedury badawcze były prowadzone z pełnym poszanowaniem przepisów zawartych w Deklaracji Helsińskiej oraz wytycznych Dobrej Praktyki Klinicznej (Good Clinical Practice). Faza czynna badania została zaplanowana na okres 12 tygodni. Podczas wizyty przesiewowej, po podpisaniu przez pacjenta formularza świadomej zgody na udział w badaniu, przeprowadzeniu badania podmiotowego, przedmiotowego oraz zweryfikowaniu kryteriów włączenia i wykluczenia z badania u wszystkich pacjentów pobrano krew w celu oceny parametrów laboratoryjnych: morfologii krwi obwodowej, kinazy kreatynowej (CK), aminotransferazy asparaginianowej (AST), aminotransferazy alaninowej (ALT), kreatyniny, szacowanego współczynnika przesączania kłębuszkowego (eGFR), azotu mocznika (BUN), białka C-reaktywnego (CRP), profilu lipidowego, glukozy, parathormonu, kortyzolu, hormonu tyreotropowego (TSH), wolnej trójjodotyroniny (fT3), wolnej tyroksyny (fT4), przeciwciał przeciwko tyreoglobulinie (anty-TG), przeciwciał przeciwko peroksydazie tarczycowej (anty-TPO), przeciwciał przeciwko *Treponema pallidum* i przeciwciał przeciwjądrowych (ANA-HEp-2). Wykonanie powyższych badań służyło ocenie aktualnego stanu metabolicznego każdego pacjenta w celu wykluczenia zaburzeń ogólnoustrojowych uniemożliwiających uczestnictwo pacjenta w badaniu. Grupę badaną stanowili pacjenci Kliniki Dermatologii, Chorób Przenoszonych Drogą Płciową i Immunodermatologii Szpitala Uniwersyteckiego nr 1 im. dr. A. Jurasza w Bydgoszczy. Do badania włączano mężczyzn i kobiety niebędące w ciąży i/lub w okresie karmienia piersią w wieku 18-80 lat z aktywną (zdefiniowaną jako pojawienie się nowych obszarów depigmentacji lub progresja w zakresie istniejących plam odbarwieniowych

w okresie 3 miesięcy poprzedzających wizytę przesiewową), kończynowo-twarzową NSV z zajęciem kończyn górnych i dolnych. Główne kryteria wykluczenia z badania obejmowały: nadwrażliwość na simwastatynę lub atorwastatynę, stosowanie statyn w okresie 8 tygodni poprzedzających wizytę przesiewową, ogólnoustrojowe leczenie immunosupresyjne lub immunomodulujące, np. cyklosporyna A, glikokortykosteroidy w okresie 4 tygodni poprzedzających wizytę przesiewową lub azatiopryna, metotreksat, mykofenolan mofetylu, inhibitory kinaz JAK w okresie 8 tygodni poprzedzających wizytę przesiewową, inne miejscowe, ogólnoustrojowe lub chirurgiczne leczenie bielactwa nabytego w okresie 4 tygodni poprzedzających wizytę przesiewową, zdekompensowane choroby autoimmunologiczne/autozapalne lub inne ostre i przewlekłe stany wymagające pilnego zaopatrzenia medycznego. Pełną listę kryteriów włączenia oraz wykluczenia z badania zamieszczono w **Tabeli 5**.

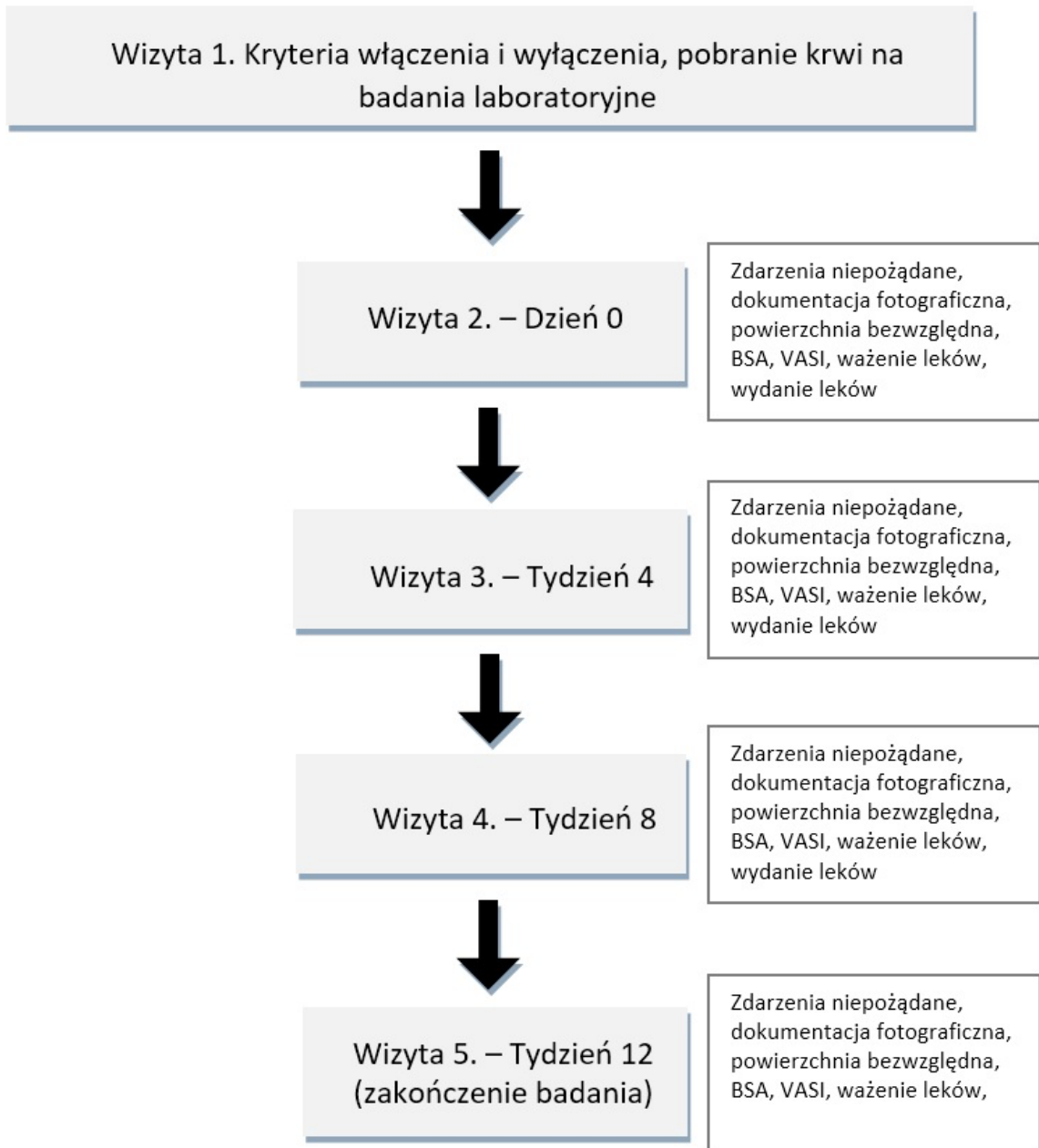
Tabela 5. Kryteria włączenia oraz wykluczenia z badania.

Kryteria włączenia*:	Kryteria wykluczenia**:
<p>1. Pacjenci Kliniki Dermatologii, Chorób Przenoszonych Drogą Płciową i Immunodermatologii Szpitala Uniwersyteckiego nr 1 im. dr. A. Jurasza w Bydgoszczy</p> <p>2. Rozpoznana kończynowo-twarzowa niesegmentalna postać bielactwa nabytego z zajęciem kończyn górnych i dolnych</p> <p>3. Aktywna postać bielactwa nabytego zdefiniowana jako pojawienie się nowych obszarów depigmentacji lub progresja w zakresie istniejących plam odbarwieniowych w okresie 3 miesięcy poprzedzających wizytę przesiewową</p> <p>4. Mężczyźni lub kobiety niebędące w ciąży i/lub w okresie karmienia piersią w wieku 18-80 lat</p> <p>5. Potwierdzone, ważne ubezpieczenie zdrowotne</p> <p>* Wszystkie kryteria włączenia muszą być spełnione</p>	<p>1. Cięża i/lub okres karmienia piersią</p> <p>2. Rozpoznana segmentalna, mieszana, niesklasyfikowana lub niezdefiniowana postać bielactwa nabytego</p> <p>3. Nadwrażliwość na simwastatynę lub atorwastatynę</p> <p>4. Stosowanie jakiegokolwiek statyny w okresie 8 tygodni poprzedzających wizytę przesiewową</p> <p>5. Ogólnoustrojowe leczenie immunosupresyjne lub immunomodulujące np. Cyklosporyna A, glikokortykosteroidy w okresie 4 tygodni poprzedzających wizytę przesiewową lub azatiopryna, metotreksat, mykofenolan mofetylu, inhibitory kinaz JAK w okresie 8 tygodni poprzedzających wizytę przesiewową</p> <p>6. Fototerapia w okresie 4 tygodni poprzedzających wizytę przesiewową</p> <p>7. Inne miejscowe lub ogólnoustrojowe leczenie bielactwa nabytego (np. antyoksydanty, <i>Ginkgo biloba</i>, dermokosmetyki) w okresie 4 tygodni poprzedzających wizytę przesiewową</p> <p>8. Leczenie chirurgiczne bielactwa nabytego w okresie 4 tygodni poprzedzających wizytę przesiewową</p> <p>9. Zdekompensowane choroby autoimmunologiczne/autozapalne lub inne ostre</p>

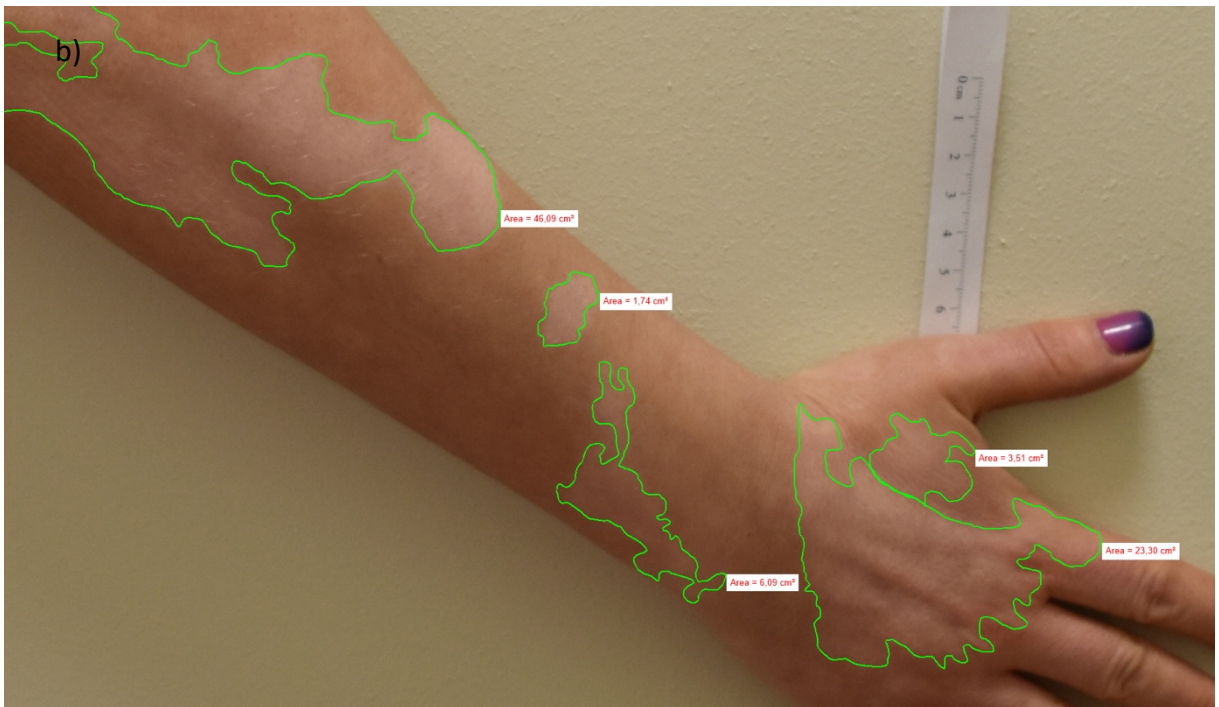
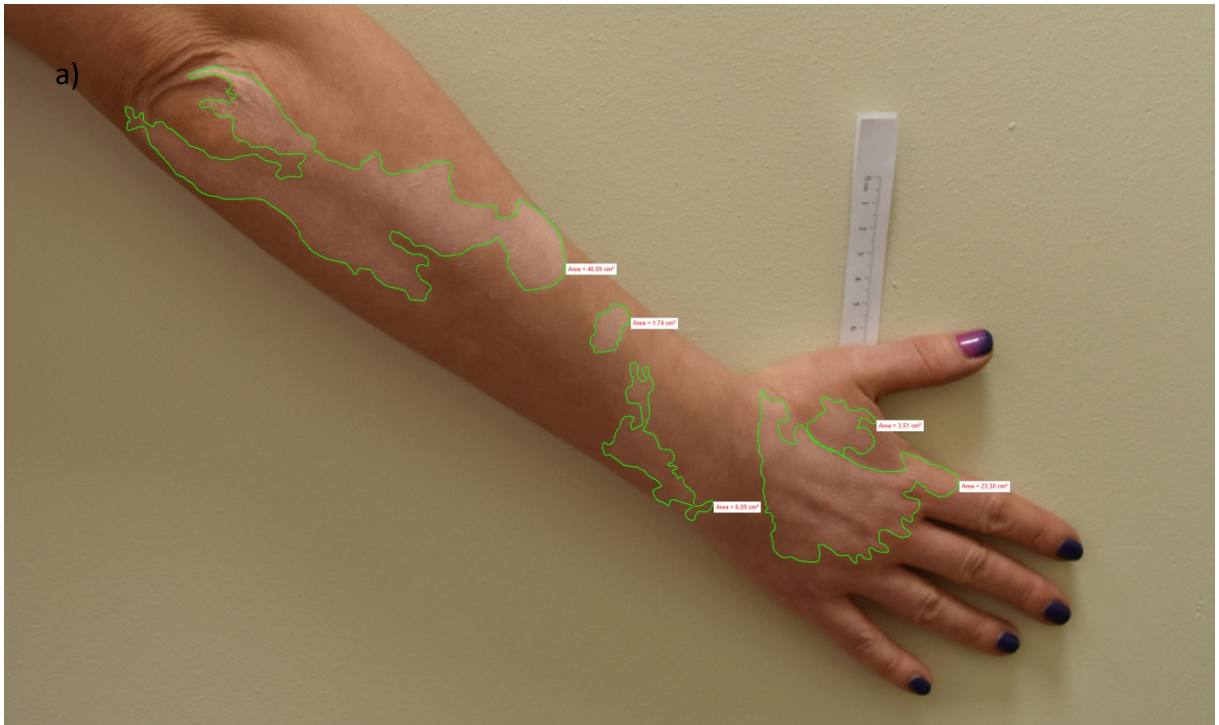
	<p>i przewlekłe stany wymagające pilnego zaopatrzenia</p> <p>10. Uzależnienie od alkoholu lub leków</p> <p>11. Nowotwory złośliwe skóry (obecnie lub w ciągu 5 lat poprzedzających wizytę przesiewową)</p> <p>12. Obecność zmian skórnych, które mogą utrudniać ocenę związaną z badaniem</p> <p>13. Pacjenci, którzy aktualnie uczestniczą w innym badaniu klinicznym</p> <p>14. Pacjenci niewspółpracujący</p> <p>** Żadne kryterium wyłączenia nie może być spełnione</p>
--	---

U wszystkich włączonych do badania pacjentów przeprowadzone zostały wizyty zgodnie ze schematem: wizyta wyjściowa – tydzień 0 oraz w tygodniach 4, 8, 12. (**Rycina 9**)

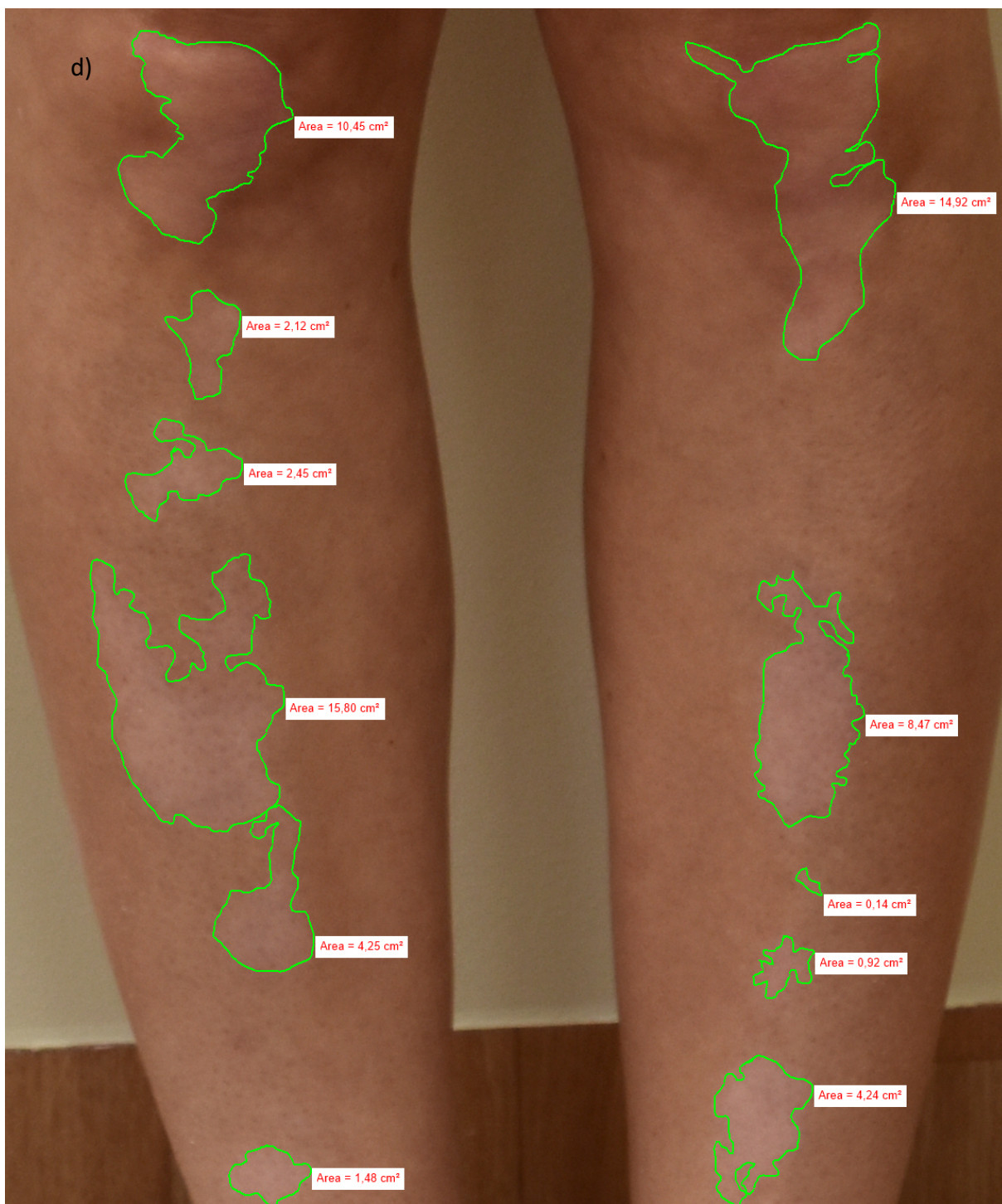
Podczas każdej wizyty pacjentów oceniano pod kątem występowania zdarzeń niepożądanych, a także wykonywano dokumentację fotograficzną plam bielaczych. Wybrane plamy bielacze zlokalizowane na kończynach górnych i dolnych każdorazowo poddawano analizie obejmującej: bezwzględną powierzchnię oraz skale BSA i VASI. W celu maksymalizacji precyzji pomiarów zmian skórnych analizę wymienionych parametrów przeprowadzano metodą planimetryczną przy użyciu oprogramowania NIS Elements firmy Nikon na podstawie wykonanej dokumentacji fotograficznej. (**Rycina 10 a-d**) Wszystkie wizyty pacjentów, dokumentacja fotograficzna oraz pomiary planimetryczne wykonywane były w tym samym pokoju badań przy użyciu jednego aparatu Nikon D5500 przez jednego badacza (doktorantkę) w celu zachowania jak najbardziej zbliżonych warunków prowadzenia badania. Podczas każdej wizyty pacjenci otrzymywali kolejne pojemniki zawierające badane maści. Każdy z pojemników był ważony przed wydaniem oraz po każdym 4 - tygodniowym okresie stosowania maści.



Rycina 9. Schemat wizyt oraz procedur badania.







Rycina 10 a-d. Dokumentacja fotograficzna zmian skórnych pacjenta. Zieloną linią zaznaczona metoda planimetryczna pomiaru plam bielaczych za pomocą oprogramowania NIS Elements firmy Nikon, stosowana do oceny powierzchni bezwzględnej oraz skal BSA i VASI w celu maksymalizacji precyzji pomiarów. Wszystkie wizyty pacjentów, dokumentacja fotograficzna oraz pomiary planimetryczne wykonywane były w tym samym pokoju badań przy użyciu jednego aparatu Nikon D5500 przez jednego badacza (doktorantkę) w celu zachowania jak najbardziej zbliżonych warunków prowadzenia badania.

4.4 Opis postępowania

Wszyscy włączeni do badania pacjenci otrzymali cztery pojemniki z maściami zawierającymi: 1% sól sodową kwasu simwastatyny, 1% sól wapniową atorwastatyny oraz dwa pojemniki zawierające samo podłoże maściowe, wszystkie pojemniki oznakowane były w następujący sposób: „lewa kończyna górna”, „prawa kończyna górna”, „lewa kończyna dolna” i „prawa kończyna dolna”. U każdego pacjenta aplikacja maści zawierającej substancję czynną na określoną kończynę wiązała się z stosowaniem maści zawierającej jedynie podłoże na kończynę po przeciwnej stronie ciała, jak opisano powyżej. Dokładny opis procesu randomizacji i zaślepienia przedstawiono powyżej. Uczestnicy badania nakładali badane preparaty miejscowe dwa razy dziennie (co 12 godzin) na plamy bielacze kończyn oraz na obszar skóry otaczającej zmiany około 1-2 cm od brzegu plamy, zgodnie z etykietami na opakowaniach. W przypadku aplikacji maści na powierzchnię skóry odpowiadającej powierzchni dłoni zalecano użycie maści w ilości uzyskanej po wyciśnięciu z tuby paska o długości w przybliżeniu 1 cm. Badane maści należało przechowywać w temperaturze pokojowej. W okresie badania pacjentom nie wolno było rozpoczynać ogólnoustrojowego leczenia statynami z powodu innych schorzeń. Konieczność rozpoczęcia takiej terapii skutkowałą przedwczesnym zakończeniem udziału w badaniu. W całym okresie badania zabronione było stosowanie preparatów miejscowych zawierających substancje czynne, leków immunosupresyjnych lub immunomodulujących, a także laseroterapii lub fototerapii (w tym helioterapii). Uczestnikom badania nie wolno było stosować żadnych innych dodatkowych metod leczenia bielactwa nabytego, zarówno ogólnoustrojowych, jak i miejscowych, w tym antyoksydantów, miōrżębu japońskiego (dwuklapowego) czy dermokosmetyków. Pacjentom zabroniono opalania się przez cały okres badania oraz przeszkolono ich w zakresie skutecznej fotoprotekcji. Faza czynna badania zaplanowana została na okres 12 tygodni. Harmonogram wizyt obejmował wizytę przesiewową oraz wizyty w tygodniach 0, 4, 8 i 12. Poczynając od wizyty wyjściowej w tygodniu 0, wszyscy pacjenci otrzymywali nowy zestaw wcześniej zważonych badanych preparatów na 4 tygodniowy okres stosowania. Pojemniki zwracane na każdej wizycie ważono, a ich ostateczna waga była odnotowywana w dokumentacji badania. Podczas każdej wizyty wykonywana była dokumentacja fotograficzna zmian skórnych oraz ocena powierzchni bezwzględnej plam oraz skal BSA i VASI z zastosowaniem metody planimetrycznej.

4.5 Punkty końcowe badania

Jako pierwszorzędowy punkt końcowy przyjęto ocenę stopnia repigmentacji plam bielaczych po miejscowym zastosowaniu 1% soli sodowej kwasu simwastatyny i 1% soli wapniowej atorwastatyny u pacjentów z aktywną postacią bielactwa nabytego.

Do drugorzędowych punktów końcowych należą: odsetek pacjentów, którzy uzyskali redukcję powierzchni bezwzględnej plam bielaczych, skali BSA oraz VASI w zakresie: 0% brak, 1-25% mierna, 26-50% umiarkowana, 51-75% dobra, >75% znakomita; porównanie skuteczności preparatów zawierających simwastatynę i atorwastatynę wśród badanych pacjentów; korelacja pomiędzy czasem trwania choroby oraz pomiędzy dziennym zużyciem maści (ocenianej w gramach na centymetr kwadratowy powierzchni skóry) a stopniem repigmentacji u pacjentów poszczególnych ramion; ocena częstości występowania działań niepożądanych związanych z leczeniem. Pełną listę punktów końcowych przedstawiono w **Tabeli 6**.

Tabela 6. Pierwszorzędowy i drugorzędowe punkty końcowe zastosowane w badaniu.

Pierwszorzędowy punkt końcowy:	Drugorzędowe punkty końcowe:
1. Ocena stopnia repigmentacji plam bielaczych osiągnięta po zastosowaniu 1% soli sodowej kwasu simwastatyny oraz 1% soli wapniowej atorwastatyny oceniona za pomocą powierzchni bezwzględnej, BSA, VASI po 12-tygodniowym okresie leczenia	1. Częstość występowania działań niepożądanych związanych z leczeniem wg Common Terminology Criteria for Adverse Events (CTCAE) v 4.0 2. Odsetek pacjentów, którzy uzyskali redukcję powierzchni bezwzględnej plam bielaczych w zakresie: 0% brak, 1-25% mierna, 26-50% umiarkowana, 51-75% dobra, >75% znakomita 3. Odsetek pacjentów, którzy uzyskali redukcję w skali BSA w zakresie: 0% brak, 1-25% mierna, 26-50% umiarkowana, 51-75% dobra, >75% znakomita 4. Odsetek pacjentów, którzy uzyskali redukcję w skali VASI w zakresie: 0% brak, 1-25% mierna, 26-50% umiarkowana, 51-75% dobra, >75% znakomita 5. Porównanie skuteczności simwastatyny i atorwastatyny wśród badanych pacjentów 6. Korelacja pomiędzy czasem trwania choroby a stopniem repigmentacji u pacjentów poszczególnych ramion 7. Korelacja pomiędzy dziennym zużyciem maści (ocenianej w gramach na centymetr kwadratowy skóry) a stopniem repigmentacji

4.6 Protokół badania

Badanie zostało zarejestrowane w portalu clinicaltrials.gov dnia 11.08.2017 r. pod nazwą: **The Evaluation of Vitiligious Lesions Repigmentation After the Administration of Atorvastatin Calcium Salt and Simvastatin-acid Sodium Salt in Patients With Active Vitiligo (EVRAAS)** – identyfikator badania: NCT03247400. Protokół badania opublikowano 25.01.2019 r. w *Trials* (czasopismo umieszczone na Liście Filadelfijskiej, wskaźnik Impact Factor: 1.883, punktacja MNiSW: 100). [157]

5. Wyniki

Przez cały okres trwania badania EVRAAS wszyscy uczestnicy stosowali jednocześnie 1% sól sodową kwasu simwastatyny oraz 1% sól wapniową atorwastatyny aplikując je miejscowo na wskazane w procesie randomizacji kończyny. Kontrolą negatywną dla obu badanych preparatów była maść niezawierająca substancji aktywnych, w każdym przypadku stosowana na kończynę po przeciwnej stronie ciała, co pozwoliło uzyskać łącznie 8 kombinacji stosowania maści. Możliwe kombinacje zastosowania preparatów w badaniu EVRAAS przedstawiono na **Rycinie 7**. Wobec braku dostępnych w literaturze badań o podobnym charakterze, oceniających wpływ miejscowego zastosowania preparatów simwastatyny i atorwastatyny na repigmentację i hamowanie progresji plam bielaczych u pacjentów obciążonych bielactwem nabytym zaplanowano przeprowadzenie badania pilotażowego na 24 pacjentach, zakładając przydzielenie średnio po 3 pacjentów do każdego z opisanych powyżej schematów nakładania maści. Przeprowadzono analizę liczebności rozważanych grup do testowania hipotezy o zwiększeniu stopnia repigmentacji plam bielaczych po zastosowaniu miejscowych preparatów statyn, przy założonej 80 procentowej mocy stosowanego testu na poziomie istotności $\alpha=0,05$. Analiza statystyczna dla wszystkich podanych powyżej punktów końcowych badania została przeprowadzona przy użyciu oprogramowania Statistica w wersji 13.3 (Statsoft). Wartość p poniżej 0,05 została uznana za istotną statystycznie dla wszystkich ocenianych w badaniu parametrów.

Dla wszystkich analizowanych parametrów wyznaczono statystyki opisowe. Zmienne jakościowe przedstawiono za pomocą procentowych wskaźników struktury, natomiast zmienne ilościowe przedstawiono za pomocą klasycznych i pozycyjnych miar położenia (średnia, mediana, kwartyle Q1 i Q3 i rozproszenia (odchylenie standardowe - SD), rozstęp kwartyłowy).

5.1 Wyjściowa charakterystyka populacji badania EVRAAS

Do badania EVRAAS włączano pełnoletnich pacjentów Kliniki Dermatologii, Chorób Przenoszonych Drogą Płciową i Immunodermatologii Szpitala Uniwersyteckiego nr 1 im. dr. A. Jurasza w Bydgoszczy, u których rozpoznano aktywną, kończynowo-twarzową, niesegmentalną postać bielactwa nabytego. Badanie ukończyło 24 pacjentów – 8 mężczyzn i 16 kobiet. Średnia wieku włączonych do badania pacjentów wynosiła 41,67 lat (18-69 lat), natomiast średni czas trwania choroby – 12,27 lat (0,5-50 lat). U znacznej większości chorych stosowano w przeszłości terapię miejscową bielactwa nabytego (N=19; 79,17%) lub

fototerapię (N=16; 66,67%), jednak poprawę uzyskano jedynie u odpowiednio 2 (8,33%) i 6 (25%) pacjentów. Podsumowanie wyjściowej charakterystyki badanej grupy umieszczono w **Tabeli 7.**

Tabela 7. Wyjściowa charakterystyka badanej grupy

Wyjściowa charakterystyka populacji badania (N=24)

	liczba pacjentów	(%)
średni wiek (lata)	41,67	-
płeć męska	8	33,33
średni czas trwania choroby (lata)	12,27	-
niedoczynność tarczycy	6	25
inne choroby autoimmunologiczne w wywiadzie	2	8,33
wcześniejsze leczenie miejscowe	19	79,17
poprawa po wcześniejszym leczeniu miejscowym	2	8,33
wcześniejsza fototerapia	16	66,67
poprawa po fototerapii	6	25
przeszczep naskórka w wywiadzie	5	20,83
poprawa po przeszczepie naskórka	3	12,5
wywiad rodzinny – bielactwo nabyte	6	25
wywiad rodzinny - inne choroby autoimmunologiczne/autozapalne	6	25
depresja w wywiadzie	2	8,33
inne zaburzenia psychiatryczne	1	4,17

5.2 Pierwszorzędowy punkt końcowy

Ocena stopnia repigmentacji plam bielactwych osiągnięta po zastosowaniu 1% soli sodowej kwasu simwastatyny oraz 1% soli wapniowej atorwastatyny oceniona za pomocą powierzchni bezwzględnej, BSA, VASI po 12-tygodniowym okresie leczenia.

Zakładając kilkukrotne oznaczanie danego parametru u każdego włączonego do badania pacjenta oraz uwzględniając konieczność zastosowania testu nieparametrycznego dla oceny uzyskanych wartości, analizy dokonano za pomocą Anovy Friedmana z zastosowaniem testu

post-hoc (poprawka Holma-Bonferroniego). Oceny stopnia repigmentacji zmian bielaczych u pacjentów obciążonych bielactwem nabytym dokonano poprzez analizę zmian powierzchni bezwzględnej plam bielaczych oraz skal BSA i VASI w poszczególnych punktach czasowych. Zmiany parametrów: powierzchni bezwzględnej plam bielaczych, BSA oraz VASI w czasie trwania terapii (0-12 tygodni) przedstawiono w **Tabelach 8, 9, 10**. Punkty czasowe badania oznaczono następująco: t0 – wyjściowo, t4, t8, t12 – odpowiednio po 4, 8 i 12 tygodniach leczenia. Preparaty niezawierające substancji aktywnych stosowane jako kontrola negatywna odpowiednio dla simwastatyny i atorwastatyny oznaczono jako: placebo_S oraz placebo_A.

Tabela 8. Zmiana powierzchni bezwzględnej plam bielaczych w poszczególnych punktach czasowych dla simwastatyny, atorwastatyny, placebo (N=24)

Zmienna	Mediana	Minimum	Maksimum	Dolny kwartyl	Górny kwartyl
t0_simwastatyna	50,320	2,86	844,45	16,780	151,935
t0_placebo_S	43,075	6,64	857,02	16,980	163,165
t0_atorwastatyna	77,565	4,33	1027,89	33,455	203,735
t0_placebo_A	57,090	1,27	670,09	20,055	191,985
t4_simwastatyna	51,710	3,03	843,75	16,375	131,100
t4_placebo_S	40,090	6,46	967,26	17,085	172,775
t4_atorwastatyna	74,410	3,15	1067,53	33,130	180,735
t4_placebo_A	64,685	1,37	645,59	19,645	190,115
t8_simwastatyna	53,950	3,48	850,40	14,665	128,495
t8_placebo_S	44,730	7,68	1093,16	16,815	158,560
t8_atorwastatyna	67,170	1,62	1046,25	28,355	182,500
t8_placebo_A	56,820	1,45	678,85	19,735	196,520
t12_simwastatyna	57,580	2,98	863,57	13,690	126,780
t12_placebo_S	43,600	8,17	1013,89	16,675	167,305
t12_atorwastatyna	71,215	1,96	1255,66	28,290	171,400
t12_placebo_A	59,400	1,75	680,71	23,445	193,630

Tabela 9. Zmiana wartości BSA w poszczególnych punktach czasowych dla simwastatyny, atorwastatyny, placebo (N=24).

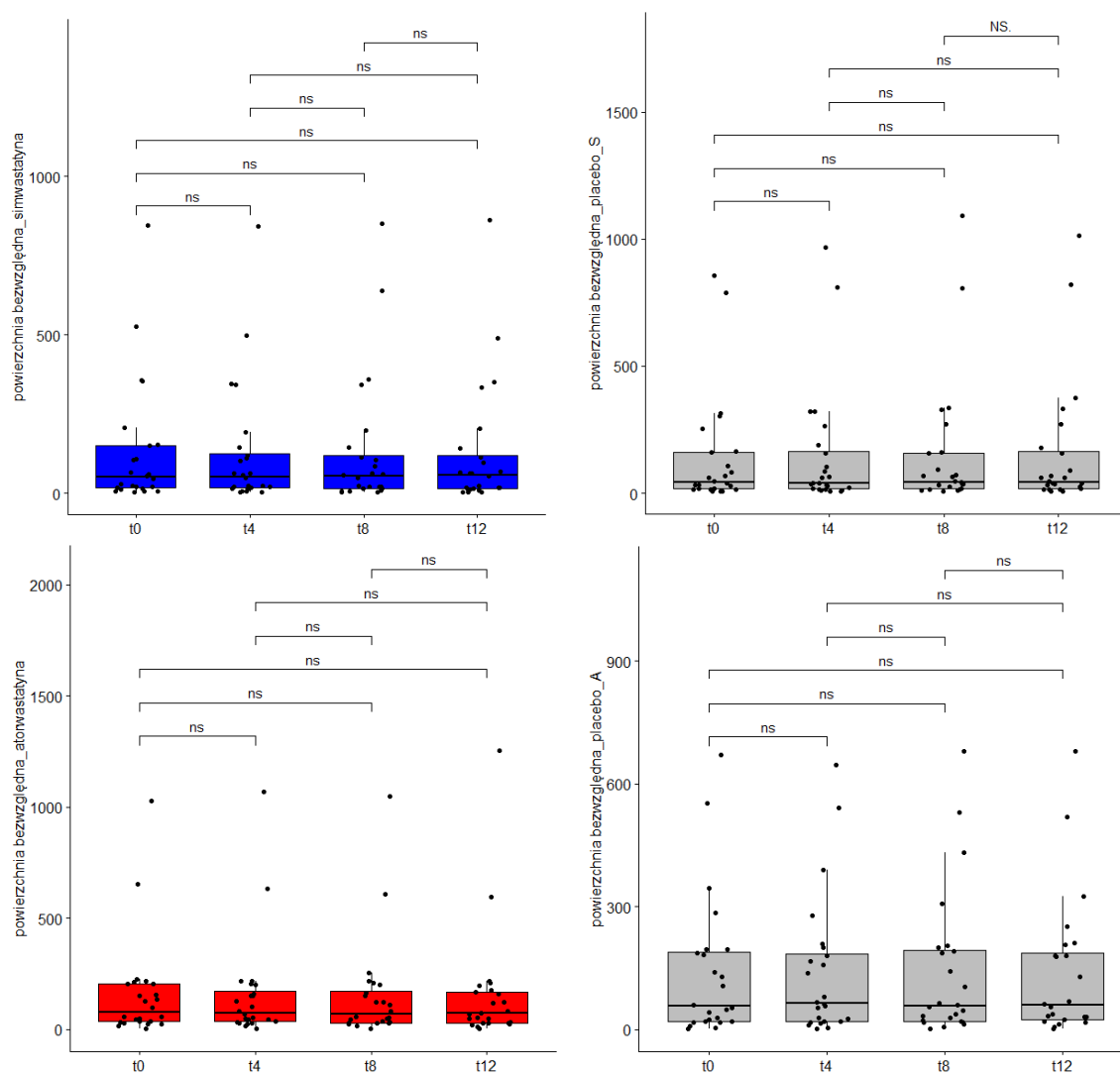
Zmienna	Mediana	Minimum	Maksimum	Dolny kwartyl	Górny kwartyl
t0_simwastatyna	0,424	0,023	6,570	0,148	1,250
t0_placebo_S	0,418	0,054	6,880	0,161	1,469
t0_atorwastatyna	0,667	0,038	7,997	0,299	1,429
t0_placebo_A	0,576	0,014	5,214	0,171	1,571
t4_simwastatyna	0,449	0,025	6,565	0,145	1,173
t4_placebo_S	0,397	0,057	7,765	0,163	1,506
t4_atorwastatyna	0,663	0,028	8,306	0,289	1,348
t4_placebo_A	0,620	0,015	5,023	0,169	1,488
t8_simwastatyna	0,440	0,028	6,616	0,123	1,118
t8_placebo_S	0,481	0,067	8,776	0,163	1,426
t8_atorwastatyna	0,609	0,014	8,140	0,253	1,388
t8_placebo_A	0,504	0,015	5,282	0,172	1,550
t12_simwastatyna	0,461	0,024	6,719	0,121	1,133
t12_placebo_S	0,451	0,071	8,140	0,158	1,511
t12_atorwastatyna	0,636	0,017	9,769	0,247	1,308
t12_placebo_A	0,501	0,019	5,296	0,200	1,570

Tabela 10. Zmiana wartości VASI w poszczególnych punktach czasowych dla simwastatyny, atorwastatyny, placebo (N=24).

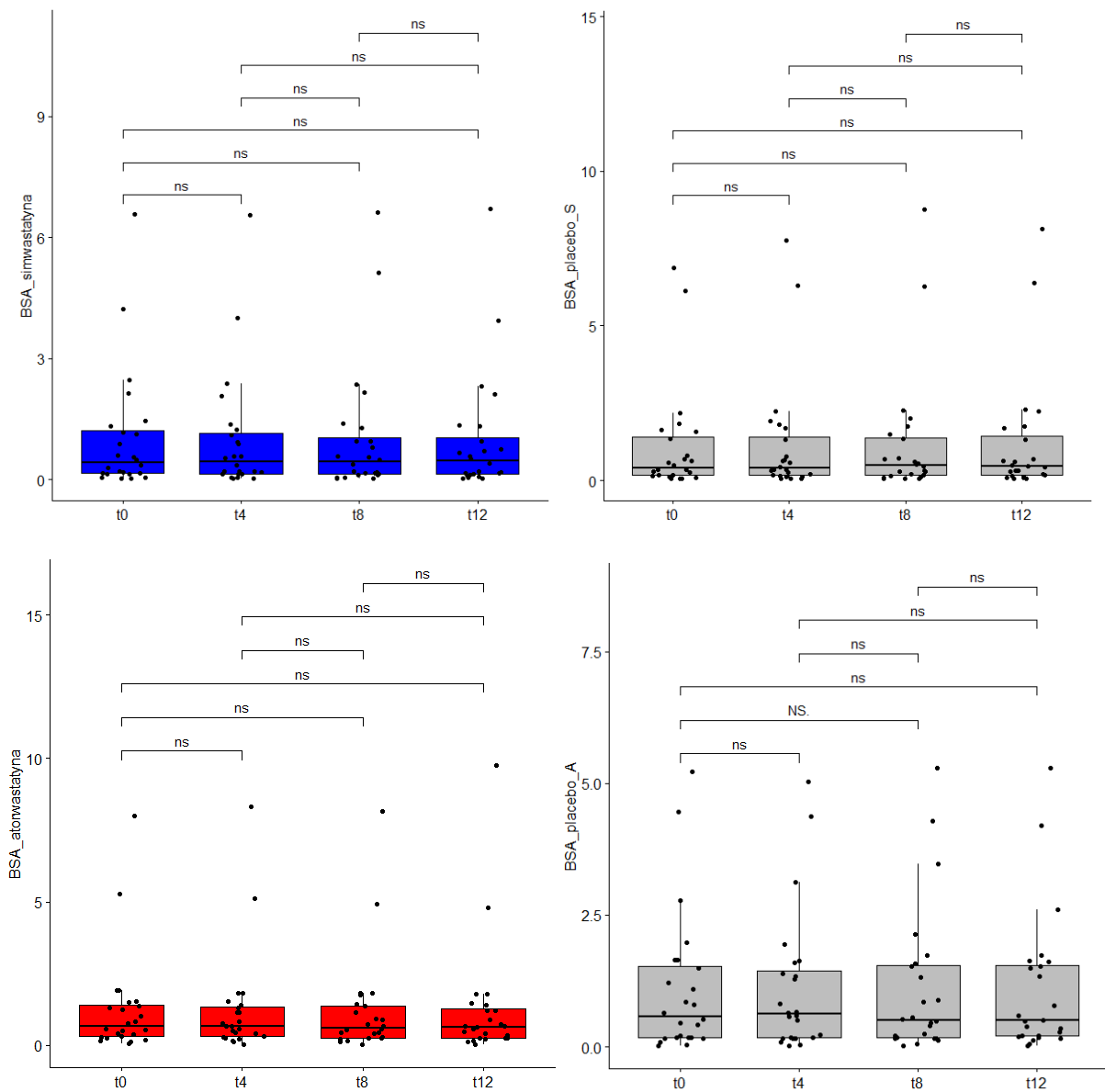
Zmienna	Mediana	Minimum	Maksimum	Dolny kwartyl	Górny kwartyl
t0_simwastatyna	0,382	0,021	6,570	0,133	1,250
t0_placebo_S	0,400	0,048	6,880	0,152	1,401
t0_atorwastatyna	0,656	0,038	7,198	0,289	1,365
t0_placebo_A	0,529	0,012	4,692	0,168	1,414
t4_simwastatyna	0,404	0,022	6,565	0,130	1,173
t4_placebo_S	0,379	0,051	7,765	0,154	1,440
t4_atorwastatyna	0,583	0,028	7,475	0,276	1,283
t4_placebo_A	0,527	0,013	4,521	0,168	1,339
t8_simwastatyna	0,396	0,025	6,616	0,117	1,118
t8_placebo_S	0,447	0,061	8,776	0,154	1,359
t8_atorwastatyna	0,576	0,014	7,326	0,240	1,321

t8_placebo_A	0,443	0,014	4,753	0,163	1,395
t12_simwastatyna	0,415	0,022	6,719	0,109	1,085
t12_placebo_S	0,427	0,064	8,140	0,145	1,444
t12_atorwastatyna	0,525	0,017	8,793	0,239	1,238
t12_placebo_A	0,454	0,017	4,767	0,190	1,413

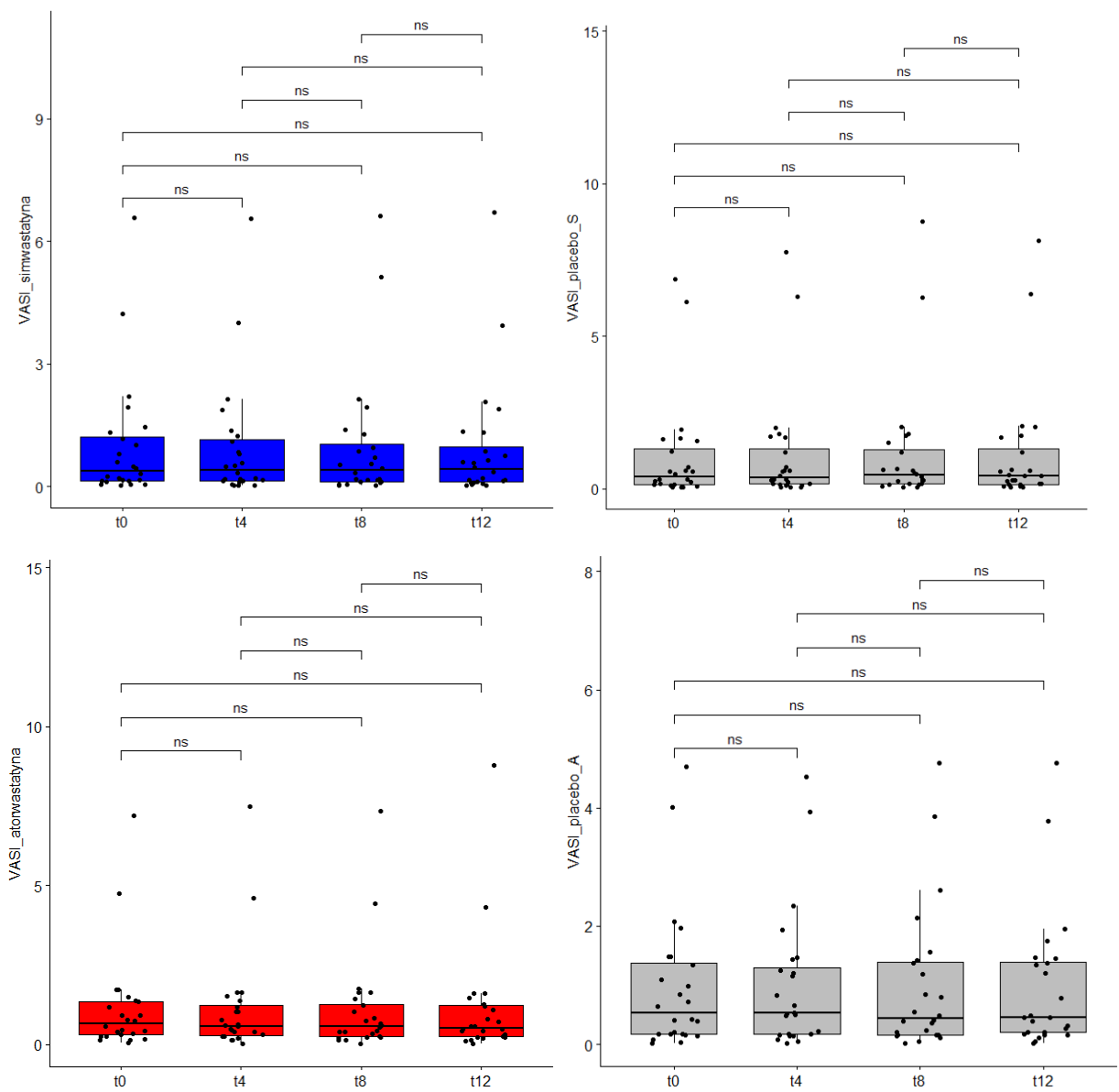
Analiza powyższych parametrów z zastosowaniem Anovy Friedmana oraz testu post-hoc (poprawki Holma-Bonferroniego) nie wykazała statystycznie istotnych różnic pomiędzy poziomem analizowanych parametrów w kolejnych punktach czasowych (**Tabela 11**). Wyniki przedstawiono w sposób graficzny na **Rycinach 11-13**. Kolorem niebieskim oznaczono simwastatynę, czerwonym – atorwastatynę, szarym – placebo dla simwastatyny i placebo dla atorwastatyny.



Rycina 11. Zmiana powierzchni bezwzględnej plam bielaczych w kolejnych punktach czasowych dla poszczególnych ramion badania.



Rycina 12. Zmiana wartości BSA w kolejnych punktach czasowych dla poszczególnych ramion badania.



Rycina 13. Zmiana wartości VASI w kolejnych punktach czasowych dla poszczególnych ramion badania.

Tabela 11. Analiza istotności zmiany powierzchni bezwzględnej plam bielaczych, wartości BSA oraz VASI w poszczególnych punktach czasowych badania.

Zmienna	statystyka testowa	wartość p	uwzględnienie poprawki Holma-Bonferroniego
PB_simwastatyna	5,05	0,168	ns
PB_placebo_S	11,23	0,01	ns
PB_atorwastatyna	5,46	0,141	ns
PB_placebo_A	2,95	0,39	ns
BSA_simwastatyna	5,05	0,168	ns
BSA_placebo_S	11,23	0,01	ns
BSA_atorwastatyna	5,46	0,14	ns
BSA_placebo_A	2,95	0,39	ns
VASI_simwastatyna	5,05	0,168	ns
VASI_placebo_S	11,23	0,01	ns
VASI_atorwastatyna	5,46	0,141	ns
VASI_placebo_A	2,95	0,39	ns

PB - powierzchnia bezwzględna

Analizy porównawczej powierzchni plam bielaczych, BSA oraz VASI w poszczególnych punktach czasowych badania w zależności od badanej substancji dokonano przy użyciu testu Manna-Whitneya. Przeprowadzono porównanie simwastatyny z placebo oraz atorwastatyny z placebo. Na podstawie przeprowadzonych porównań wykazano nieistotne statystycznie różnice między badanymi parametrami. (**Tabele 12, 13, Ryciny 14, 15**).

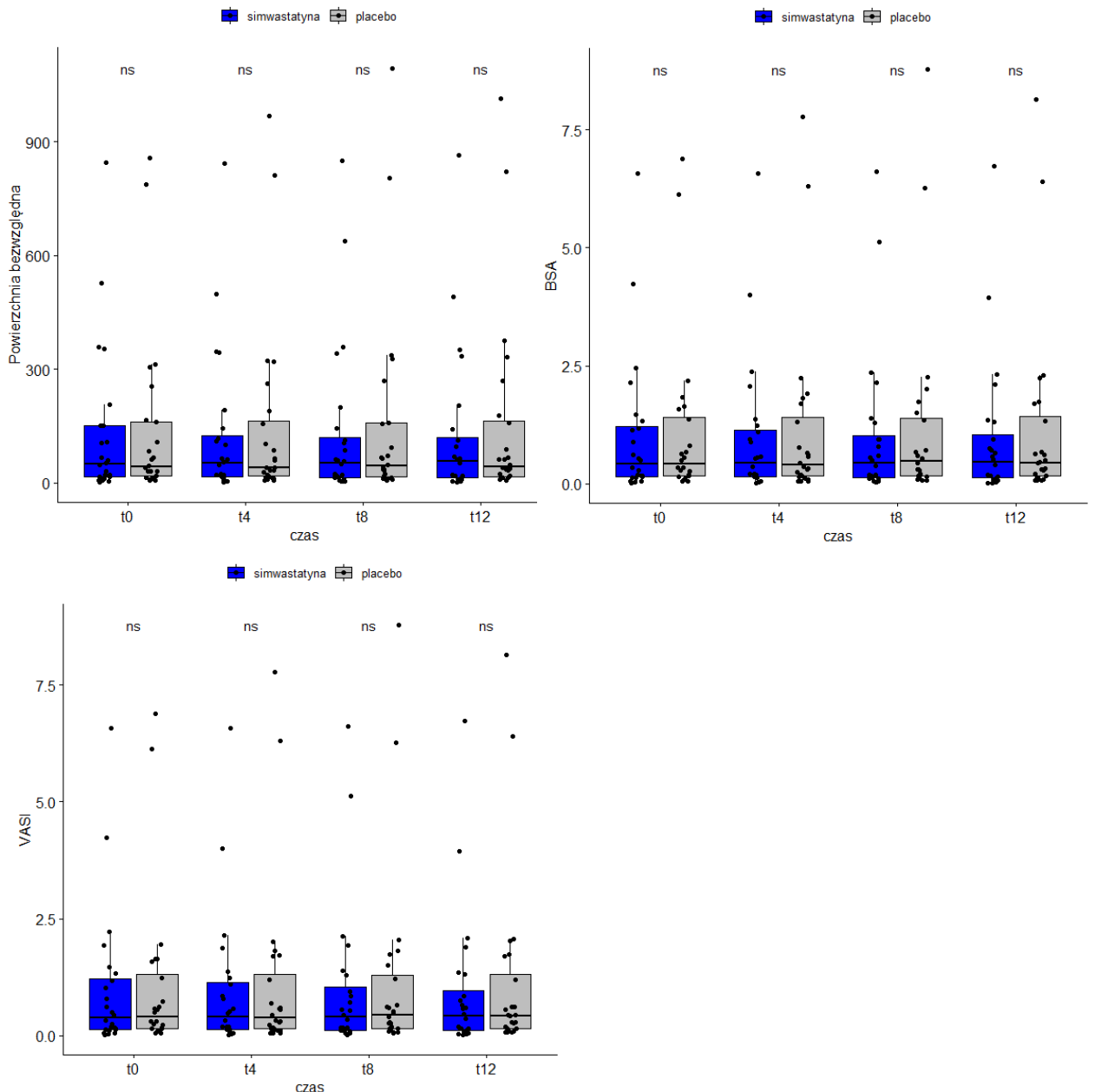
Tabela 12. Porównanie simwastatyny z placebo w poszczególnych punktach czasowych badania w zakresie zmiany powierzchni bezwzględnej plam bielaczych, BSA oraz VASI.

Punkt czasowy	zmienna	substancja		wartość p
t0	PB	placebo_S	simwastatyna	0,798
t4	PB	placebo_S	simwastatyna	0,783
t8	PB	placebo_S	simwastatyna	0,705
t12	PB	placebo_S	simwastatyna	0,705
t0	BSA	placebo_S	simwastatyna	0,829
t4	BSA	placebo_S	simwastatyna	0,721
t8	BSA	placebo_S	simwastatyna	0,631
t12	BSA	placebo_S	simwastatyna	0,675

t0	VASI	placebo_S	simwastatyna	0,798
t4	VASI	placebo_S	simwastatyna	0,767
t8	VASI	placebo_S	simwastatyna	0,631
t12	VASI	placebo_S	simwastatyna	0,690

PB – powierzchnia bezwzględna

Porównanie simwastatyny do placebo w zakresie zmiany powierzchni bezwzględnej plam bielaczych, wartości BSA oraz VASI w punktach czasowych t0, t4, t8 i t12 nie wykazało istotnych statystycznie różnic.



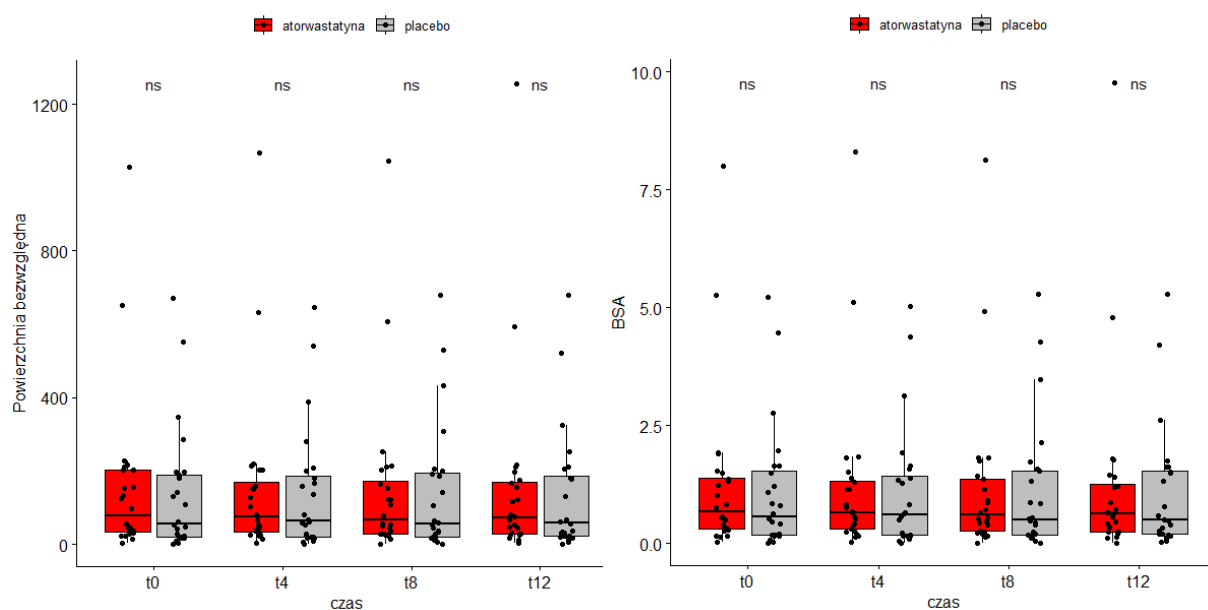
Rycina 14. Porównanie simwastatyny do placebo w zakresie zmiany powierzchni bezwzględnej plam bielaczych, wartości BSA oraz VASI w punktach czasowych t0, t4, t8 i t12. Kolorem niebieskim oznaczono simwastatynę, szarym – placebo dla simwastatyny.

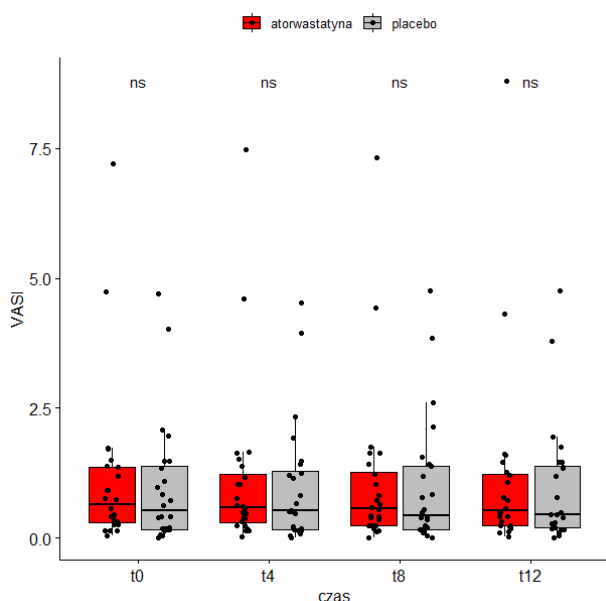
Tabela 13. Porównanie atorwastatyny z placebo w poszczególnych punktach czasowych badania w zakresie zmiany powierzchni bezwzględnej plam bielaczych, BSA oraz VASI

Punkt czasowy	zmienna	substancja		wartość p
t0	PB	atorwastatyna	placebo_A	0,546
t4	PB	atorwastatyna	placebo_A	0,690
t8	PB	atorwastatyna	placebo_A	0,660
t12	PB	atorwastatyna	placebo_A	0,894
t0	BSA	atorwastatyna	placebo_A	0,675
t4	BSA	atorwastatyna	placebo_A	0,721
t8	BSA	atorwastatyna	placebo_A	0,574
t12	BSA	atorwastatyna	placebo_A	0,767
t0	VASI	atorwastatyna	placebo_A	0,660
t4	VASI	atorwastatyna	placebo_A	0,752
t8	VASI	atorwastatyna	placebo_A	0,602
t12	VASI	atorwastatyna	placebo_A	0,752

PB – powierzchnia bezwzględna

Porównanie atorwastatyny do placebo w zakresie zmiany powierzchni bezwzględnej plam bielaczych, wartości BSA oraz VASI w punktach czasowych t0, t4, t8 i t12 nie wykazało istotnych statystycznie różnic.





Rycina 15. Porównanie atorwastatyny do placebo w zakresie zmiany powierzchni bezwzględnej plam bielaczych, wartości BSA oraz VASI w punktach czasowych t0, t4, t8, t12. Kolorem czerwonym oznaczono atorwastatynę, szarym – placebo dla atorwastatyny.

5.3 Drugorzędowe punkty końcowe

Częstość występowania działań niepożądanych związanych z leczeniem wg Common Terminology Criteria for Adverse Events (CTCAE) v 4.0

Jedynymi działaniami niepożądanymi zgłoszonymi przez uczestników badania były dwa przypadki kontaktowego zapalenia skóry w obrębie kończyn poddanych działaniu 1% soli sodowej kwasu simwastatyny. Zjawiska nie obserwowano na kończynach, na które stosowana była 1% sól wapniowa atorwastatyny oraz maści niezawierające substancji aktywnych.

(Tabela 14)

Tabela 14. Działania niepożądane zgłoszone przez uczestników badania EVRAAS.

	simwastatyna	placebo_S	atorwastatyna	placebo_A	wartość p
kontaktowe zapalenie skóry	2	0	0	0	-

Odsetek pacjentów, którzy uzyskali redukcję powierzchni bezwzględnej plam bielaczych w zakresie: 0% brak, 1-25% mierna, 26-50% umiarkowana, 51-75% dobra, >75% znakomita

W przypadku kończyn, na które aplikowana była 1% sól sodowa kwasu simwastatyny u 10 pacjentów stwierdzono brak poprawy, u kolejnych 10 pacjentów poprawa była mierna, a

u pozostałych 4 – umiarkowana. Stanowi to odpowiednio 41,7%, 41,7% i 16,7%. U żadnego z uczestników badania nie stwierdzono redukcji powierzchni bezwzględnej plam bielaczych mieszczącej się w kategorii „dobra” lub „znakomita”.

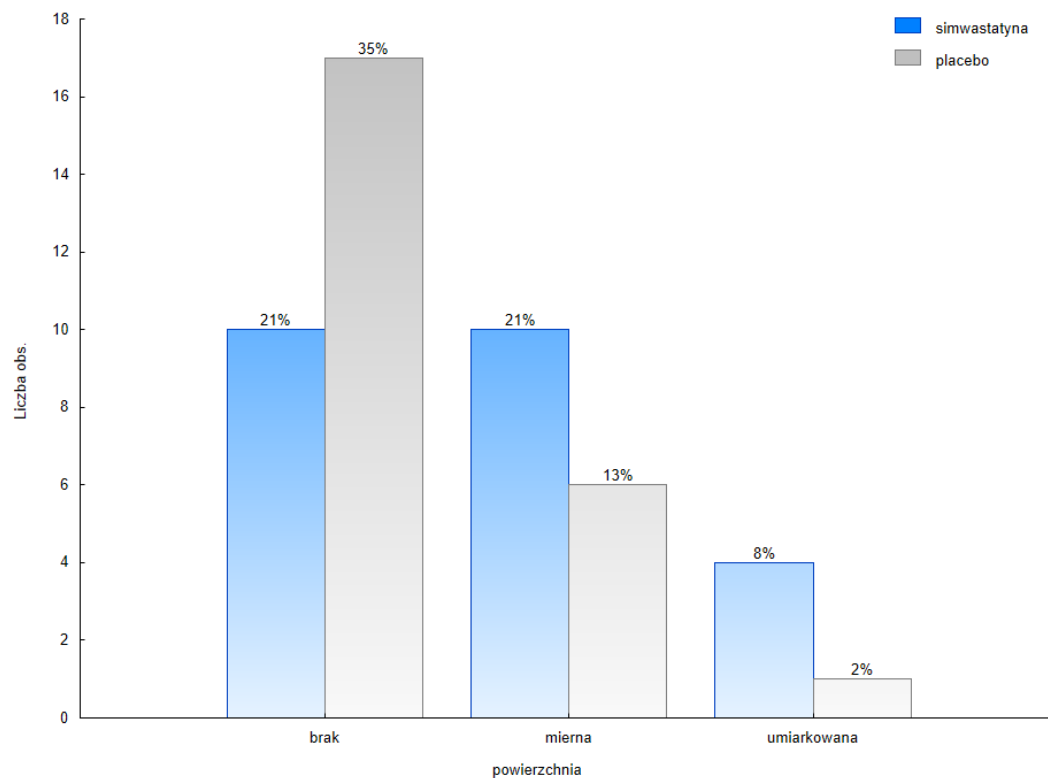
W przypadku placebo-S brak poprawy stwierdzono w 17 przypadkach (70,8%), poprawę mierną w 6 przypadkach (25%), a umiarkowaną – w 1 przypadku (4,2%).

W obrębie kończyn, na które stosowano 1% sól wapniową atorwastatyny brak poprawy stwierdzono u 8 pacjentów (33,3%), poprawę mierną u 12 pacjentów (50%), umiarkowaną u 3 chorych (12,5%), a dobrą u 1 pacjenta (4,2%). Nie obserwowano poprawy mieszczącej się w kategorii „znakomita”.

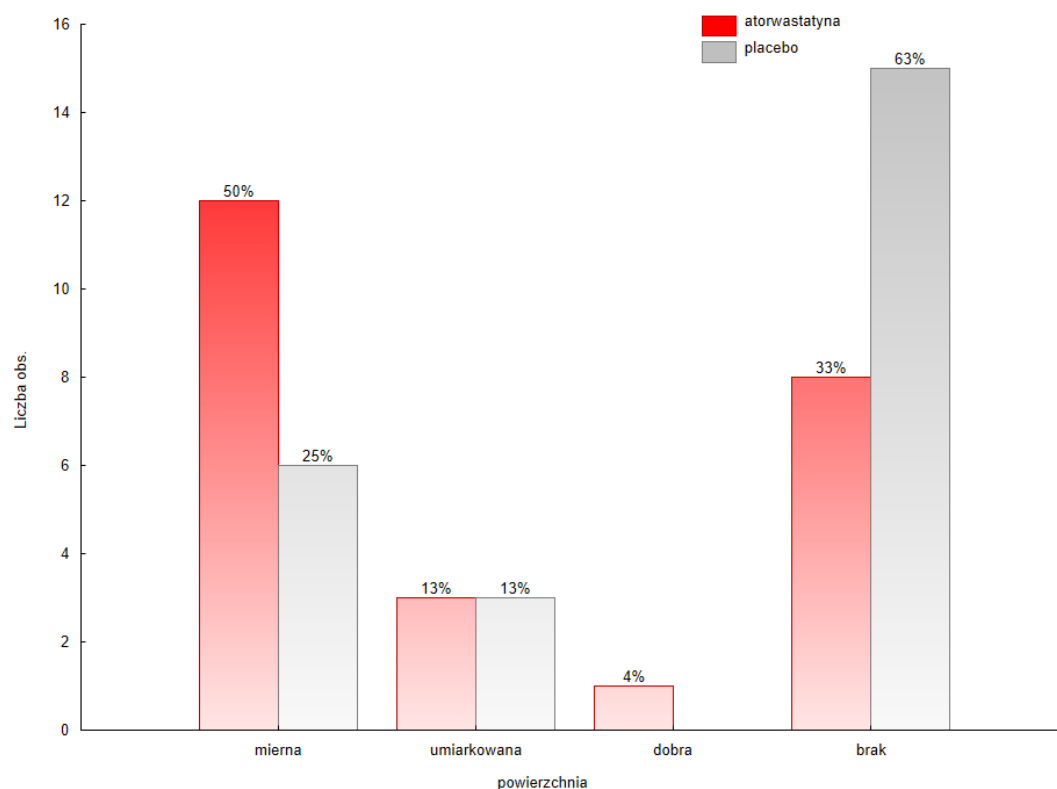
W przypadku placebo-A brak poprawy wykazano w 15 przypadkach (62,5%), poprawę mierną u 6 chorych (25%), a umiarkowaną w 3 przypadkach (12,5%). Zbiorcze zestawienie liczby pacjentów wraz z kategorią poprawy w zakresie redukcji powierzchni bezwzględnej plam bielaczych zestawiono w **Tabeli 15 oraz na Rycinach 16 i 17.**

Tabela 15. Odsetek pacjentów, u których obserwowano poszczególne kategorie poprawy w zakresie redukcji powierzchni bezwzględnej plam bielaczych (opis w tekście).

	kategoria poprawy powierzchni bezwzględnej 0-12 t			
	simwastatyna	placebo_S	atorwastatyna	placebo_A
brak	10 (41,7%)	17 (70,8%)	8 (33,3%)	15 (62,5%)
mierna	10 (41,7%)	6 (25%)	12 (50%)	6 (25%)
umiarkowana	4 (16,7%)	1 (4,2%)	3 (12,5%)	3 (12,5%)
dobra	0	0	1 (4,2%)	0
znakomita	0	0	0	0



Rycina 16. Procentowe wskaźniki struktury poszczególnych kategorii poprawy w zakresie redukcji powierzchni bezwzględnej plam bielaczych po zastosowaniu simwastatyny (kolor niebieski) i placebo_S (kolor szary).



Rycina 17. Procentowe wskaźniki struktury poszczególnych kategorii poprawy w zakresie redukcji powierzchni bezwzględnej plam bielaczych po zastosowaniu atorwastatyny (kolor czerwony) i placebo_A (kolor szary).

Porównanie substancji aktywnych do placebo wykonano testem istotności dla wskaźnika struktury.

W przypadku porównania simwastatyny do placebo różnica w zakresie braku poprawy okazała się istotna statystycznie ($p=0,008$). Nie stwierdzono istotności w zakresie kategorii poprawy mieszczącej się w przedziale „mierna” i „umiarkowana” (wartość p odpowiednio 0,239 i 0,057).

Porównanie atorwastatyny do placebo również wykazało istotność statystyczną w zakresie braku poprawy ($p=0,043$). Nie stwierdzono istotności statystycznej w zakresie poprawy miernej i umiarkowanej (wartość p odpowiednio 0,074 i 1,0). Porównanie simwastatyny do placebo oraz atorwastatyny do placebo w zakresie redukcji powierzchni bezwzględnej plam bielaczych zestawiono w **tabeli 16**.

Tabela 16. Porównanie simwastatyny i atorwastatyny do placebo w zakresie redukcji powierzchni bezwzględnej plam bielaczych. Kolorem czerwonym oznaczono wynik istotny statystycznie

kategoria poprawy	Simwastatyna N (%)	placebo_S N (%)	simwastatyna vs placebo wartość p	Atorwastatyna N (%)	placebo_A N (%)	atorwastatyna vs placebo wartość p
brak	10 (41,7)	17 (70,8)	0,008	8 (33,3)	15 (62,5)	0,043
mierna	10 (41,7)	6 (25)	0,239	12 (50)	6 (25)	0,074
umiarkowana	4 (16,7)	1 (4,2)	0,057	3 (12,5)	3 (12,5)	1

Odsetek pacjentów, którzy uzyskali redukcję w skali BSA w zakresie: 0% brak, 1-25% mierna, 26-50% umiarkowana, 51-75% dobra, >75% znakomita

W przypadku kończyn, na które aplikowana była 1% sól sodowa kwasu simwastatyny u 10 pacjentów stwierdzono brak poprawy, u kolejnych 10 pacjentów poprawa była mierna, a u pozostałych 4 – umiarkowana. Stanowi to odpowiednio 41,7%, 41,7% i 16,7%. U żadnego z uczestników badania nie stwierdzono redukcji BSA mieszczącej się w kategorii „dobra” lub „znakomita”.

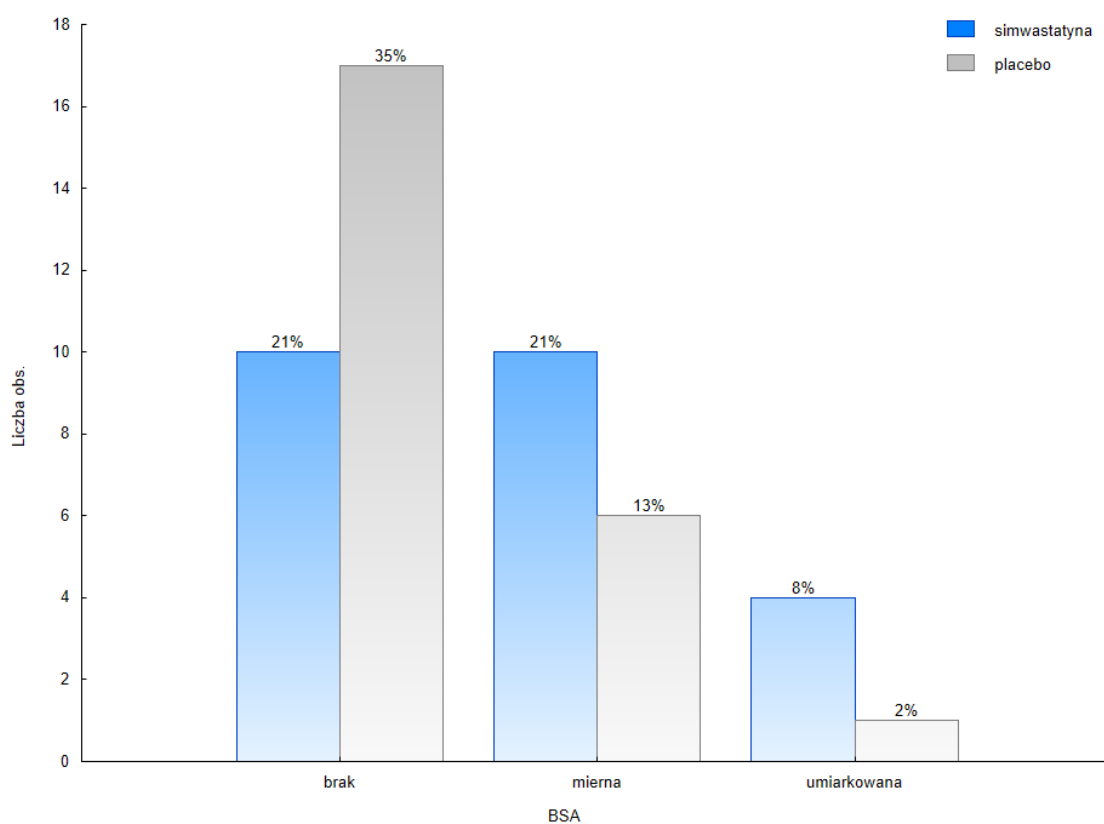
W przypadku placebo_S brak poprawy stwierdzono w 17 przypadkach (70,8%), poprawę mierną w 6 przypadkach (25%), a umiarkowaną – w 1 przypadku (4,2%).

W obrębie kończyn, na które stosowano 1% sól wapniową atorwastatyny brak poprawy stwierdzono u 8 pacjentów (33,3%), poprawę mierną u 12 pacjentów (50%), umiarkowaną u 3 chorych (12,5%), a dobrą u 1 pacjenta (4,2%). Nie obserwowano poprawy mieszczącej się w kategorii „znakomita”.

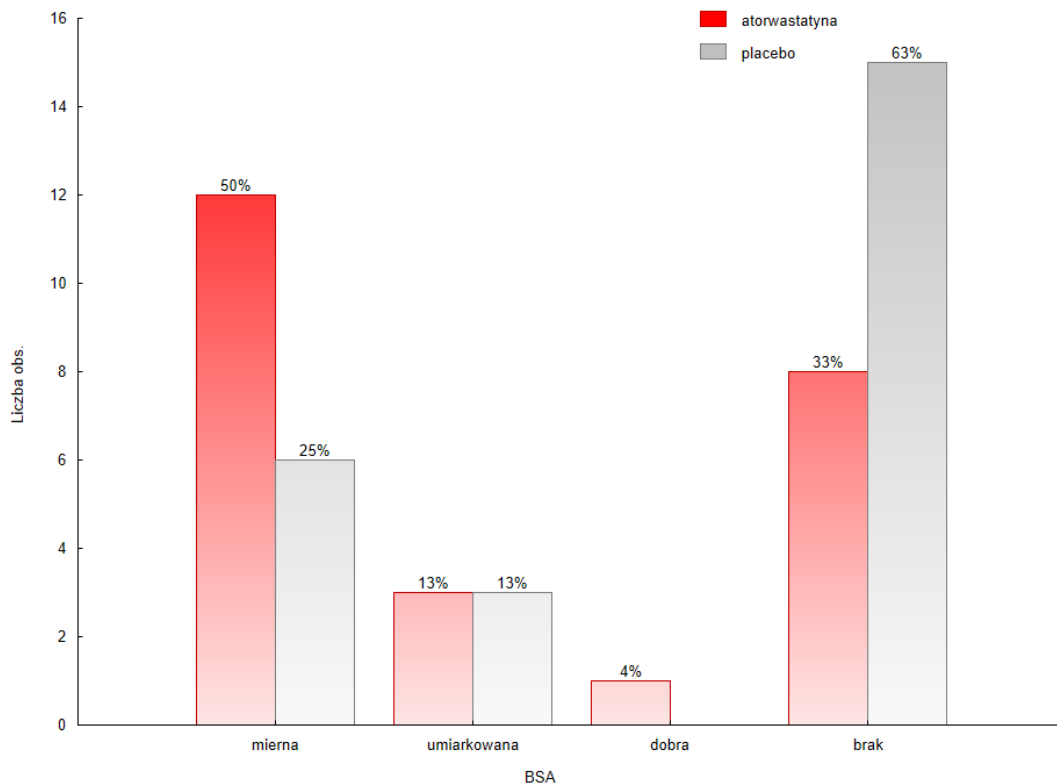
W przypadku placebo_A brak poprawy wykazano w 15 przypadkach (62,5%), poprawę mierną u 6 chorych (25%), a umiarkowaną w 3 przypadkach (12,5%). Zbiorcze zestawienie liczby pacjentów wraz z kategorią poprawy w zakresie redukcji BSA zestawiono w **Tabeli 17 oraz na Rycinach 18 i 19.**

Tabela 17. Odsetek pacjentów, u których obserwowano poszczególne kategorie poprawy w zakresie redukcji BSA (opis w tekście)

	kategoria poprawy BSA 0-12 t			
	simwastatyna	placebo_S	atorwastatyna	placebo_A
brak	10 (41,7%)	17 (70,8%)	8 (33,3%)	15 (62,5%)
mierna	10 (41,7%)	6 (25%)	12 (50%)	6 (25%)
umiarkowana	4 (16,7%)	1 (4,2%)	3 (12,5%)	3 (12,5%)
dobra	0	0	1 (4,2%)	0
znakomita	0	0	0	0



Rycina 18. Procentowe wskaźniki struktury poszczególnych kategorii poprawy w zakresie redukcji wartości BSA po zastosowaniu simwastatyny (kolor niebieski) i placebo_S (kolor szary).



Rycina 19. Procentowe wskaźniki struktury poszczególnych kategorii poprawy w zakresie redukcji wartości BSA po zastosowaniu atorwastatyny (kolor czerwony) i placebo_A (kolor szary).

W przypadku porównania simwastatyny do placebo różnica w zakresie braku poprawy okazała się istotna statystycznie ($p=0,041$). Nie stwierdzono istotności w zakresie kategorii poprawy mieszczącej się w przedziale „mierna” i „umiarkowana” (wartość p odpowiednio 0,222 i 0,158).

Odsetek pacjentów, u których stwierdzono brak poprawy okazał się istotnie statystycznie wyższy w przypadku placebo_A niż w przypadku atorwastatyny ($p=0,043$). Nie stwierdzono istotności statystycznej w zakresie poprawy miernej, umiarkowanej i dobrej (wartość p odpowiednio 0,074, 1,0 i 0,313). Porównanie simwastatyny do placebo oraz atorwastatyny do placebo w zakresie redukcji BSA zestawiono w **tabeli 18**.

Tabela 18. Porównanie simwastatyny i atorwastatyny do placebo w zakresie redukcji BSA. Kolorem czerwonym oznaczono wyniki istotne statystycznie

kategoria poprawy	Simwastatyna N (%)	placebo_S N (%)	simwastatyna vs placebo wartość p	Atorwastatyna N (%)	placebo_A N (%)	atorwastatyna vs placebo wartość p
brak	10 (41,7)	17 (70,8)	0,041	8 (33,3)	15 (62,5)	0,043
mierna	10 (41,7)	6 (25)	0,222	12 (50)	6 (25)	0,074
umiarkowana	4 (16,7)	1 (4,2)	0,158	3 (12,5)	3 (12,5)	1
dobra	0	0	-	1 (4,2)	0	0,313

Odsetek pacjentów, którzy uzyskali redukcję w skali VASI w zakresie: 0% brak, 1-25% mierna, 26-50% umiarkowana, 51-75% dobra, >75% znakomita

W przypadku kończyn, na które aplikowana była 1% sól sodowa kwasu simwastatyny u 10 pacjentów stwierdzono brak poprawy, u kolejnych 10 pacjentów poprawa była mierna, a u pozostałych 4 – umiarkowana. Stanowi to odpowiednio 41,7%, 41,7% i 16,7%. U żadnego z uczestników badania nie stwierdzono redukcji VASI mieszczącej się w kategorii „dobra” lub „znakomita”.

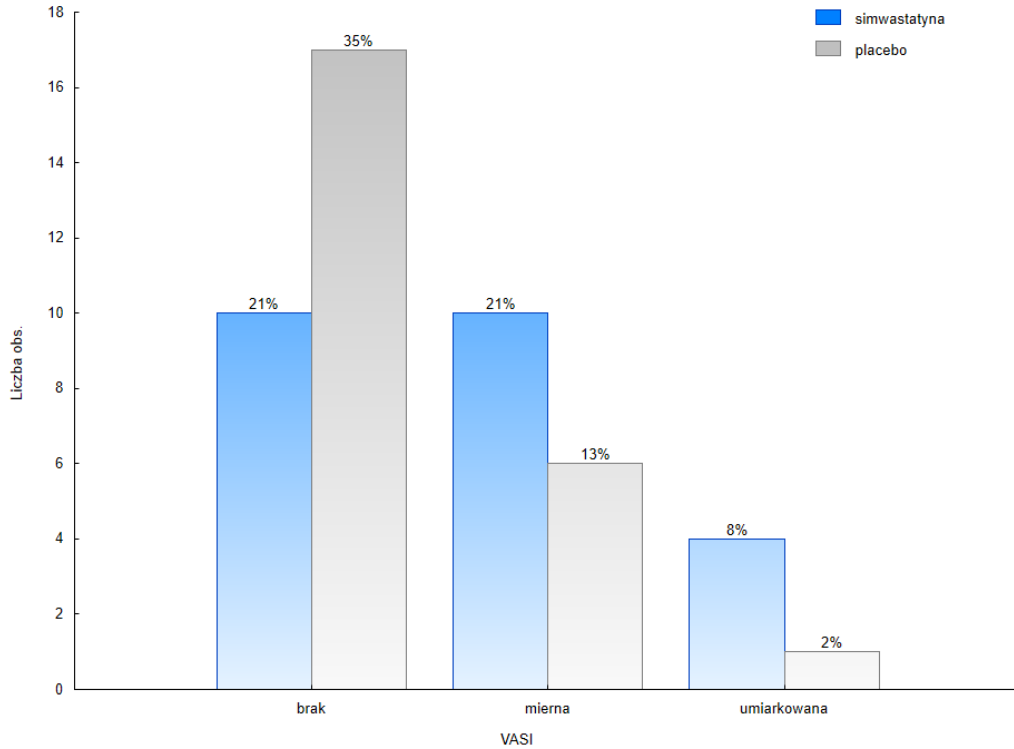
W przypadku placebo_S brak poprawy stwierdzono w 17 przypadkach (70,8%), poprawę mierną w 6 przypadkach (25%), a umiarkowaną – w 1 przypadku (4,2%).

W obrębie kończyn, na które stosowano 1% sól wapniową atorwastatyny brak poprawy stwierdzono u 8 pacjentów (33,3%), poprawę mierną u 12 pacjentów (50%), umiarkowaną u 3 chorych (12,5%), a dobrą u 1 pacjenta (4,2%). Nie obserwowano poprawy mieszczącej się w kategorii „znakomita”.

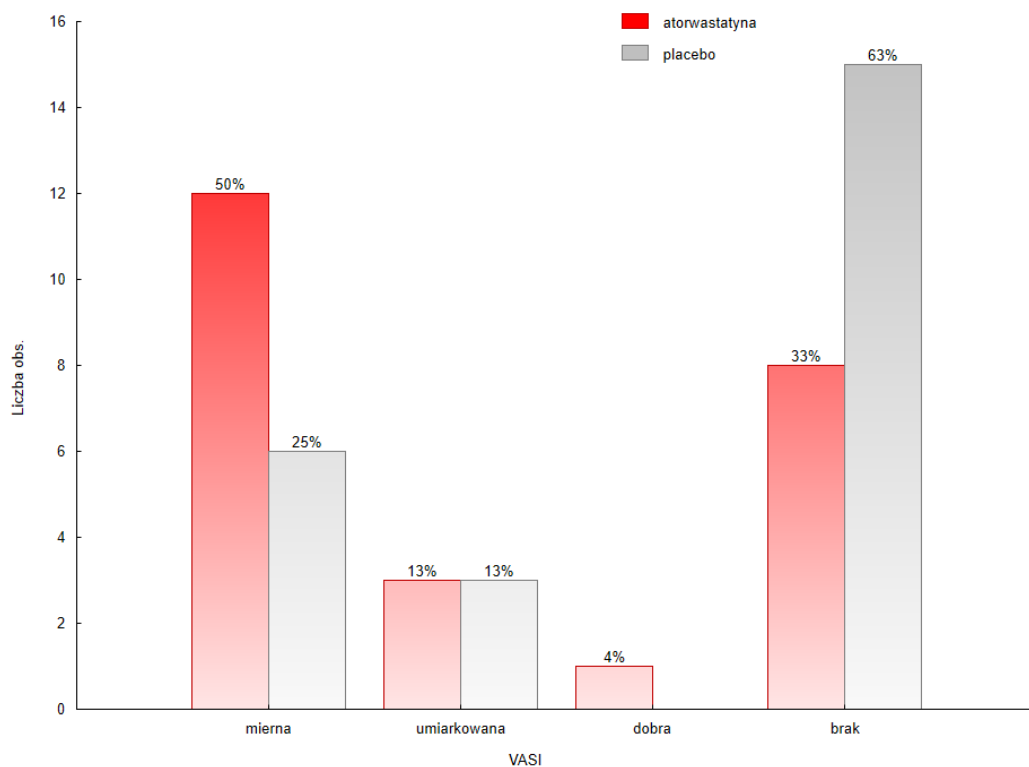
W przypadku placebo_A brak poprawy wykazano w 15 przypadkach (62,5%), poprawę mierną u 6 chorych (25%), a umiarkowaną w 3 przypadkach (12,5%). Zbiorcze zestawienie liczby pacjentów wraz z kategorią poprawy w zakresie redukcji VASI zestawiono w **Tabeli 19 oraz na Rycinach 20 i 21.**

Tabela 19. Odsetek pacjentów, u których obserwowano poszczególne kategorie poprawy w zakresie redukcji VASI (opis w tekście).

	kategoria poprawy VASI 0-12 t			
	simwastatyna	placebo_S	atorwastatyna	placebo_A
brak	10 (41,7%)	17 (70,8%)	8 (33,3%)	15 (62,5%)
mierna	10 (41,7%)	6 (25%)	12 (50%)	6 (25%)
umiarkowana	4 (16,7%)	1 (4,2%)	3 (12,5%)	3 (12,5%)
dobra	0	0	1 (4,2%)	0
znakomita	0	0	0	0



Rycina 20. Procentowe wskaźniki struktury poszczególnych kategorii poprawy w zakresie redukcji wartości VASI po zastosowaniu simwastatyny (kolor niebieski) i placebo_S (kolor szary).



Rycina 21. Procentowe wskaźniki struktury poszczególnych kategorii poprawy w zakresie redukcji wartości VASI po zastosowaniu atorwastatyny (kolor czerwony) i placebo_A (kolor szary).

W przypadku porównania simwastatyny do placebo różnica w zakresie braku poprawy była statystycznie istotna ($p=0,041$). Nie stwierdzono istotności w zakresie kategorii poprawy mieszczącej się w przedziale „mierna” i „umiarkowana” (wartość p odpowiednio 0,222 i 0,158).

Odsetek pacjentów, u których stwierdzono brak poprawy okazał się istotnie statystycznie wyższy w przypadku placebo-A niż w przypadku atorwastatyny ($p=0,043$). Nie stwierdzono istotnych statystycznie różnic w zakresie poprawy miernej, umiarkowanej i dobrej (wartość p odpowiednio 0,074, 1,0 i 0,313). Porównanie simwastatyny do placebo oraz atorwastatyny do placebo w zakresie redukcji VASI zestawiono w **Tabeli 20**.

Tabela 20. Porównanie simwastatyny i atorwastatyny do placebo w zakresie redukcji VASI. Kolorem czerwonym oznaczono wyniki istotne statystycznie

kategoria poprawy	Simwastatyna N (%)	placebo_S N (%)	simwastatyna vs placebo wartość p	Atorwastatyna N (%)	placebo_A N (%)	atorwastatyna vs placebo wartość p
brak	10 (41,7)	17 (70,8)	0,041	8 (33,3)	15 (62,5)	0,043
mierna	10 (41,7)	6 (25)	0,222	12 (50)	6 (25)	0,074
umiarkowana	4 (16,7)	1 (4,2)	0,158	3 (12,5)	3 (12,5)	1
dobra	0	0	-	1 (4,2)	0	0,313

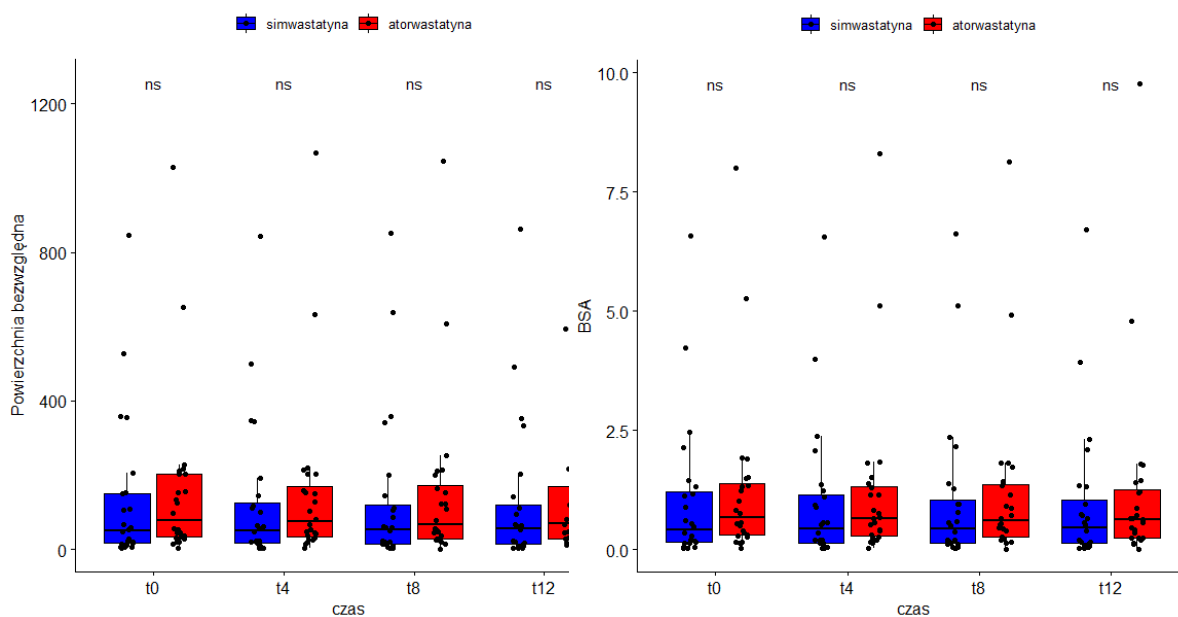
Porównanie skuteczności simwastatyny i atorwastatyny wśród badanych pacjentów

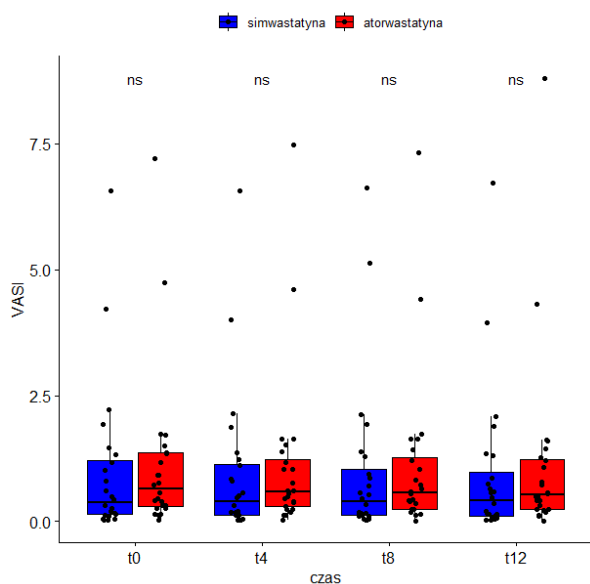
Porównania skuteczności substancji aktywnych ocenianych w badaniu EVRAAS dokonano za pomocą analizy zmiany powierzchni bezwzględnej plam bielaczych, BSA oraz VASI przy użyciu testu Manna-Whitneya. Nie stwierdzono istotnych statystycznie różnic pomiędzy simwastatyną i atorwastatyną w zakresie zmiany powierzchni bezwzględnej plam bielaczych, wartości BSA oraz VASI w tygodniach 0, 4, 8, 12. (**Tabela 21, Rycina 22**)

Tabela 21. Porównanie atorwastatyny do simwastatyny w poszczególnych punktach czasowych badania w zakresie zmiany powierzchni bezwzględnej plam bielaczych, BSA oraz VASI.

Punkt czasowy	zmienna	substancja		wartość p
t0	PB	atorwastatyna	simwastatyna	0,230
t4	PB	atorwastatyna	simwastatyna	0,192
t8	PB	atorwastatyna	simwastatyna	0,207
t12	PB	atorwastatyna	simwastatyna	0,222
t0	BSA	atorwastatyna	simwastatyna	0,255
t4	BSA	atorwastatyna	simwastatyna	0,232
t8	BSA	atorwastatyna	simwastatyna	0,255
t12	BSA	atorwastatyna	simwastatyna	0,273
t0	VASI	atorwastatyna	simwastatyna	0,282
t4	VASI	atorwastatyna	simwastatyna	0,257
t8	VASI	atorwastatyna	simwastatyna	0,255
t12	VASI	atorwastatyna	simwastatyna	0,331

PB – powierzchnia bezwzględna





Rycina 22. Porównanie powierzchni bezwzględnej plam bielaczych, wartości BSA oraz VASI w poszczególnych punktach czasowych badania po zastosowaniu simwastatyny i atorwastatyny. Kolorem niebieskim oznaczono simwastatynę, czerwonym - atorwastatynę

Korelacja pomiędzy czasem trwania choroby a stopniem repigmentacji u pacjentów poszczególnych ramion

W celu oceny korelacji skuteczności badanych substancji i czasu, który upłynął u poszczególnych pacjentów od momentu rozpoznania choroby wykonano analizę zmiany bezwzględnych wartości powierzchni plam bielaczych, BSA i VASI po 12-tygodniowym okresie leczenia, a także analizę zmiany procentowej każdego z powyższych parametrów po 12 tygodniach leczenia. Do oceny korelacji wykorzystano testy parametryczne, a w przypadku niespełnienia warunków ich stosowania testy nieparametryczne. W przypadku analizy zmian procentowych każdej ze zmiennych przeprowadzono parametryczną analizę korelacji Pearsona. Przy ocenie korelacji dla zmiany wartości bezwzględnych powyższych parametrów przeprowadzono nieparametryczną analizę korelacji rang Spearmana.

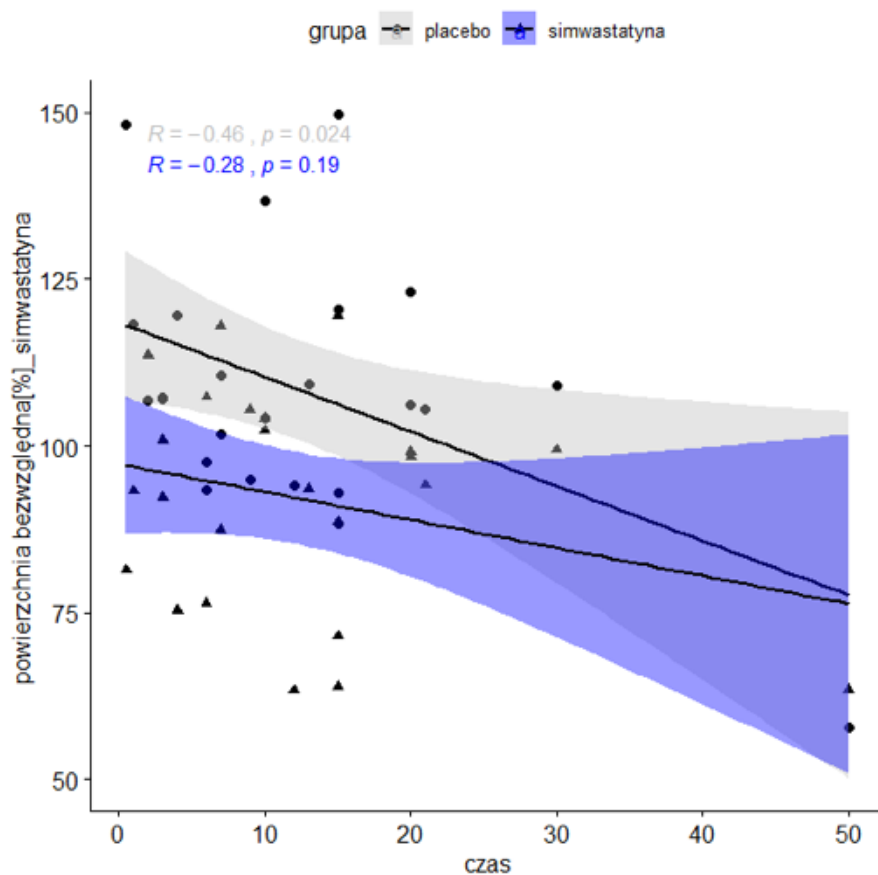
A. Zmiana procentowa w zakresie powierzchni bezwzględnej, BSA oraz VASI po 12-tygodniowym okresie leczenia

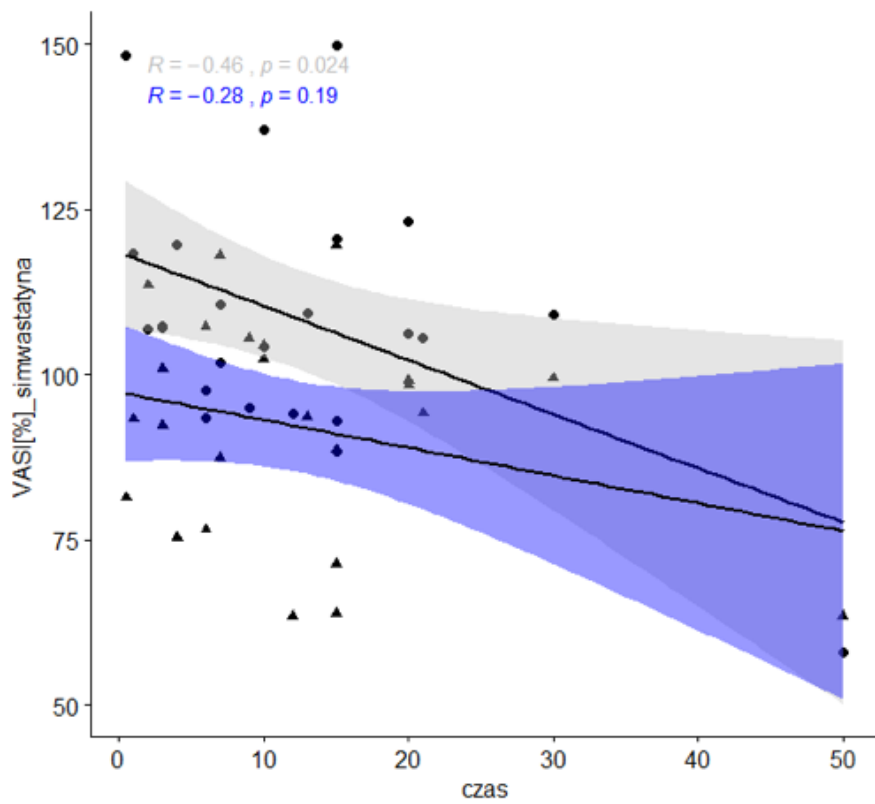
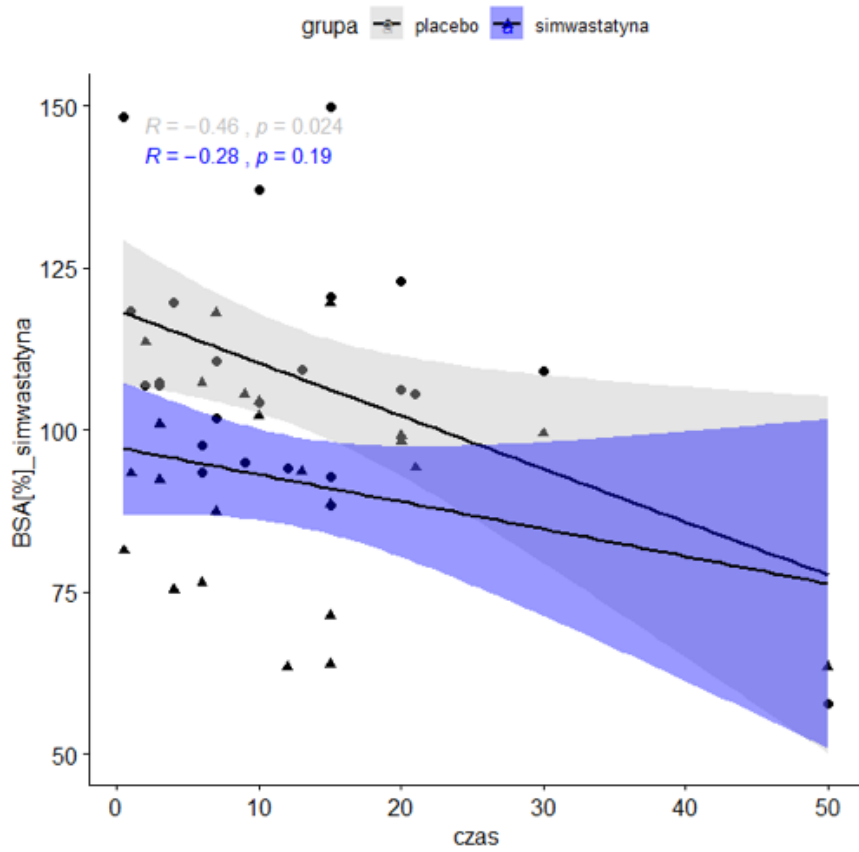
Za pomocą korelacji Pearsona oceniono wpływ czasu trwania choroby na skuteczność terapii dla każdej z substancji aplikowanych podczas badania, 1% soli sodowej kwasu simwastatyny, 1% soli wapniowej atorwastatyny, placebo_S oraz placebo_A. W przypadku wszystkich ocenianych substancji uzyskano ujemną korelację pomiędzy czasem trwania choroby a zmianą

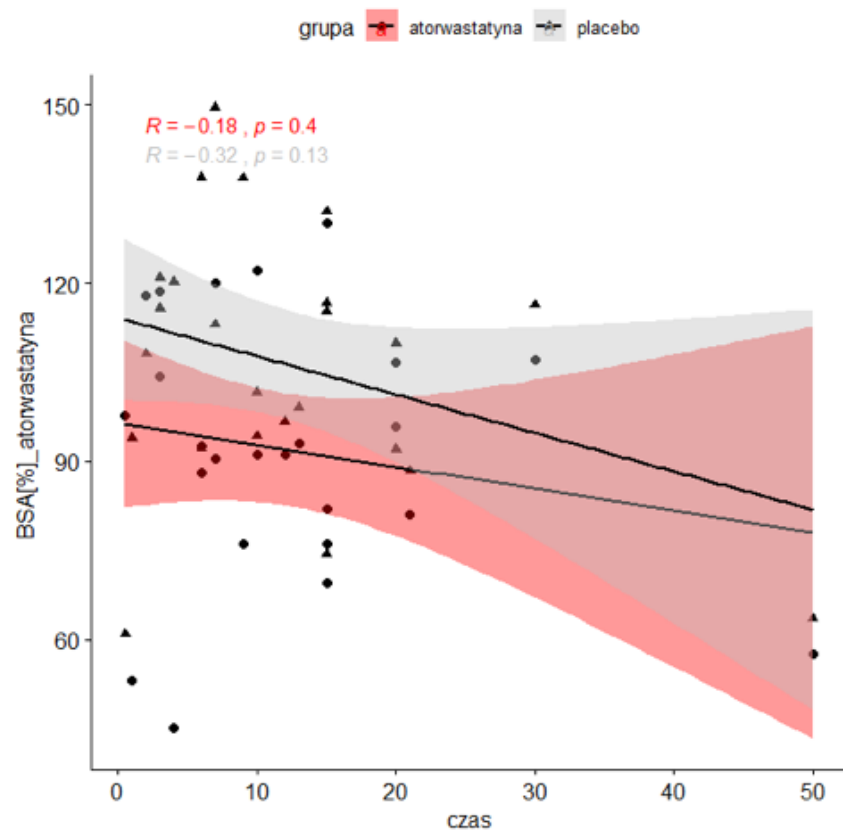
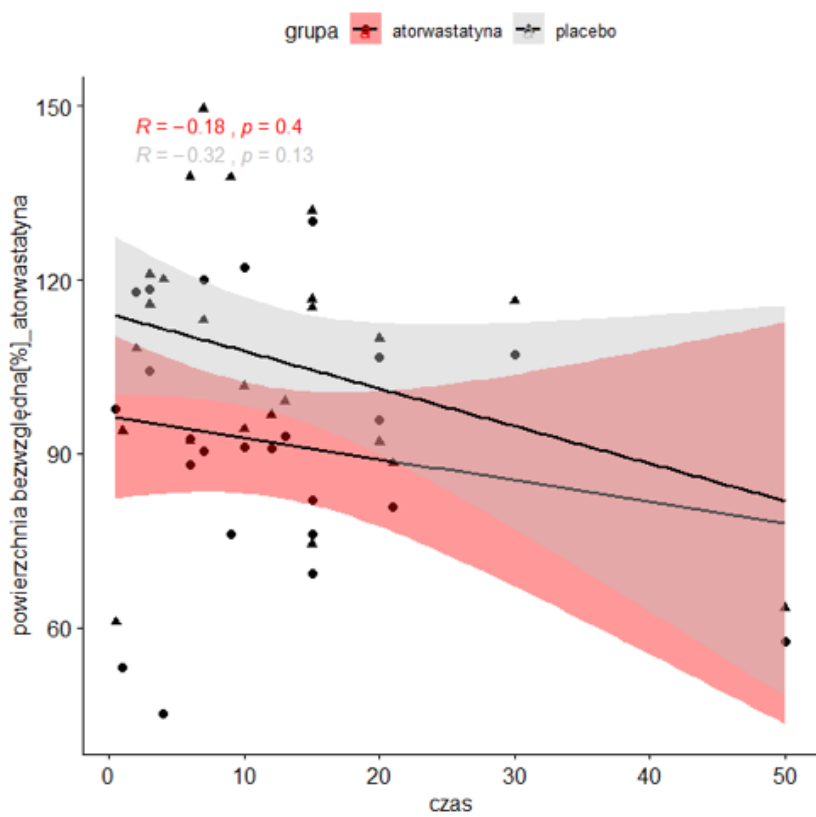
procentową w zakresie powierzchni bezwzględnej plam bielaczych, BSA i VASI, tj. im dłuższy czas upłynął od rozpoznania choroby u danego pacjenta, tym mniejsza była zmiana procentowa w zakresie poszczególnych wskaźników procentowych. Niemniej, jedynie w przypadku placebo_S korelacja okazała się być istotna statystycznie (wsp. korelacji -0,458; $p=0,024$ dla zmiany powierzchni bezwzględnej, BSA i VASI) (**Tabela 22**). Wykresy rozrzutu wraz z dopasowaną prostą i 95% przedziałem ufności dla czasu trwania choroby i zmiany procentowej powierzchni bezwzględnej, BSA i VASI przedstawiono na **Rycinie 23**.

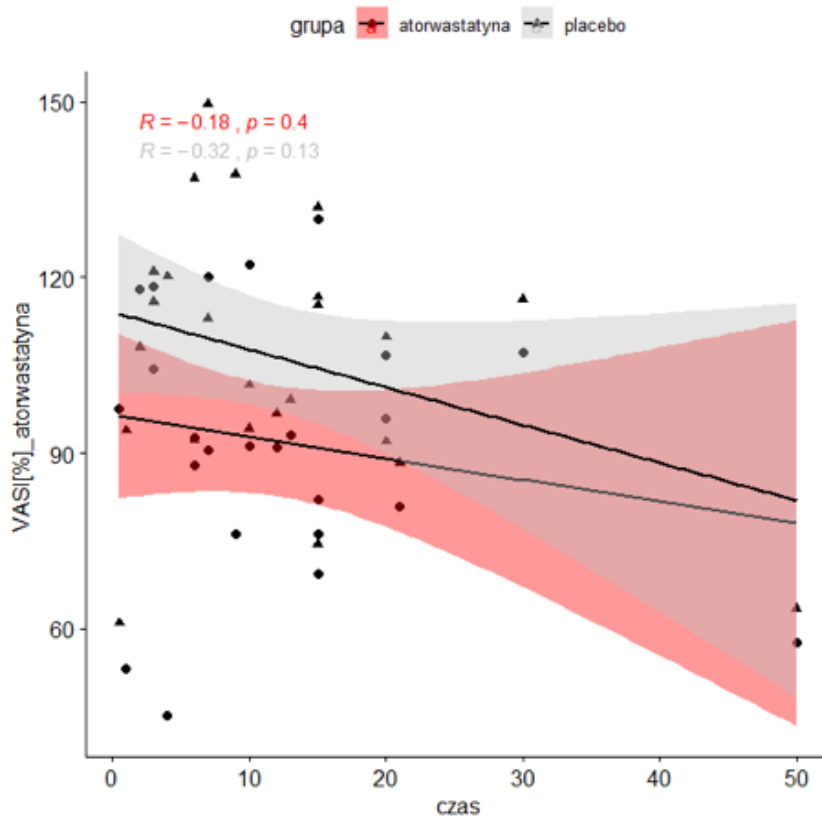
Tabela 22. Korelacja czasu trwania choroby i zmiany procentowej powierzchni plam bielaczych, BSA oraz VASI po 12-tygodniowym okresie leczenia dla poszczególnych substancji. Kolorem czerwonym oznaczono wyniki istotne statystycznie.

	simwastatyna		placebo_S		atorwastatyna		placebo_A	
	wsp. korelacji	wartość p	wsp. korelacji	wartość p	wsp. korelacji	wartość p	wsp. korelacji	wartość p
powierzchnia bezwzględna	-0,276	0,192	-0,458	0,024	-0,182	0,396	-0,315	0,133
BSA	-0,276	0,191	-0,458	0,024	-0,181	0,396	-0,316	0,133
VASI	-0,276	0,191	-0,458	0,024	-0,181	0,397	-0,315	0,133









Rycina 23. Wykresy korelacji czasu trwania choroby i średniej zmiany procentowej powierzchni plam bielaczych, wartości BSA i VASI w 12-tygodniowym okresie leczenia.

B. Zmiana w zakresie bezwzględnych wartości powierzchni plam bielaczych, BSA i VASI po 12-tygodniowym okresie leczenia

Ze względu na to, że nie zostały spełnione warunki stosowania testu parametrycznego w analizie korelacji przeprowadzono nieparametryczną analizę korelacji rang Spearmana dla wszystkich ramion w badaniu – 1% soli sodowej kwasu simwastatyny, 1% soli wapniowej atorwastatyny, placebo_S, placebo_A. W przypadku wszystkich ocenianych zmiennych (powierzchni bezwzględnej plam, BSA, VASI) stwierdzono dodatnią korelację pomiędzy czasem trwania choroby a ocenianym parametrem, tj. im dłuższy czas upłynął od rozpoznania choroby u danego pacjenta, tym wyższe były wartości poszczególnych parametrów po 12-tygodniowym okresie leczenia. Zaobserwowane korelacje nie okazały się statystycznie istotne (**Tabela 23**).

Tabela 23. Korelacja czasu trwania choroby i zmiany powierzchni bezwzględnej plam bielaczych, BSA oraz VASI po 12-tygodniowym okresie leczenia dla poszczególnych substancji.

	simwastatyna	placebo_S	atorwastatyna	placebo_A
	wsp. korelacji	wsp. korelacji	wsp. korelacji	wsp. korelacji
powierzchnia bezwzględna	0,218	0,083	0,213	0,088
BSA	0,183	0,063	0,210	0,059
VASI	0,183	0,066	0,222	0,091

Dla wartości bezwzględnych powierzchni plam bielaczych przeprowadzono również analizę korelacji rang Spearmana pomiędzy poszczególnymi parametrami. Analiza wykazała dodatnie (wysokie i ponadprzeciętne) i istotne statystycznie współczynniki korelacji pomiędzy każdą z badanych substancji stosowanych w badaniu EVRAAS, co może świadczyć o zbliżonej skuteczności działania (**Tabela 24**).

Tabela 24. Korelacja porządku rang Spearmana pomiędzy substancjami stosowanymi w badaniu EVRAAS. Kolorem czerwonym oznaczono wyniki istotne statystycznie.

	czas trwania choroby (lata)	p t12 simwastatyna	p t12 placebo_S	p t12 atorwastatyna	p t12 placebo_A
czas trwania choroby (lata)	1	0,218	0,083	0,213	0,088
PB t12 simwastatyna	0,218	1	0,916	0,570	0,568
PB t12 placebo-S	0,083	0,916	1	0,636	0,649
PB t12 atorwastatyna	0,213	0,570	0,636	1	0,890
PB t12 placebo-A	0,088	0,568	0,649	0,890	1

PB – powierzchnia bezwzględna, t12 – punkt czasowy w 12 tygodniu leczenia

Analiza korelacji pomiędzy dziennym zużyciem maści (ocenianej w gramach na centymetr kwadratowy skóry) a stopniem repigmentacji.

Za pomocą korelacji Pearsona oceniono wpływ ilości używanej przez pacjenta maści (w gramach na centymetr kwadratowy powierzchni skóry na dobę) na skuteczność terapii dla każdej z substancji aplikowanych podczas badania, 1% soli sodowej kwasu simwastatyny, 1% soli wapniowej atorwastatyny, placebo_S oraz placebo_A. W przypadku wszystkich ocenianych substancji uzyskano ujemną korelację pomiędzy dziennym zużyciem maści a zmianą procentową w zakresie powierzchni bezwzględnej plam bielaczych, BSA i VASI, tj. im

większa była ilość aplikowanej substancji, tym mniejsza była zmiana procentowa w zakresie poszczególnych wskaźników procentowych. Niemniej, jedynie w przypadku placebo_S i placebo_A korelacja okazała się istotna statystycznie (**Tabela 25**).

Tabela 25. Współczynniki korelacji dziennego zużycia maści i zmiany procentowej powierzchni bezwzględnej plam bielaczych, BSA oraz VASI po 12-tygodniowym okresie leczenia dla poszczególnych substancji. Kolorem czerwonym oznaczono wyniki istotne statystycznie.

	simwastatyna		placebo_S		atorwastatyna		placebo_A	
	wsp. korelacji	wartość p	wsp. korelacji	wartość p	wsp. korelacji	wartość p	wsp. korelacji	wartość p
powierzchnia bezwzględna	-0,39	0,057	-0,46	0,024	-0,39	0,057	-0,46	0,024
BSA	-0,39	0,056	-0,45	0,027	-0,39	0,056	-0,45	0,027
VASI	-0,39	0,063	-0,44	0,031	-0,39	0,063	-0,44	0,031

Analiza wskaźników struktury pacjentów, u których wystąpiła progresja choroby po 12-tygodniowym okresie leczenia dla poszczególnych ramion badania.

Dla celów niniejszej analizy progresję choroby zdefiniowano jako zwiększenie się o co najmniej 1% wyjściowej wartości powierzchni bezwzględnej plam bielaczych, wartości BSA i VASI po 12-tygodniowym okresie stosowania maści. Analizę przeprowadzono wykorzystując test istotności dla wskaźnika struktury. W przypadku 1% soli sodowej kwasu simwastatyny progresję zaobserwowano u 7 pacjentów (29,2%), natomiast brak progresji u 17 pacjentów (71,8%). W grupie placebo_S wartości te wynosiły odpowiednio 17 pacjentów (71,8%) i 7 pacjentów (29,2%).

W przypadku 1% soli wapniowej atorwastatyny progresję stwierdzono u 8 chorych (33,3%), natomiast brak progresji u 16 chorych (66,7%). Wyniki te dla placebo_A wyniosły odpowiednio: 14 pacjentów (58,3%) i 10 pacjentów (41,7%).

W ocenie braku progresji choroby różnica pomiędzy simwastatyną a placebo_S okazała się statystycznie istotna ($p=0,004$). W przypadku porównania atorwastatyny do placebo_A różnica nie była istotna statystycznie ($p=0,082$). Przedstawione powyżej dane odnoszą się do wszystkich ocenianych parametrów, tj. powierzchni plam bielaczych, BSA oraz VASI. Wyniki przedstawiono w **Tabeli 26**.

Tabela 26. Analiza zahamowania progresji w zakresie powierzchni bezwzględnej plam bielaczych, BSA oraz VASI dla poszczególnych ramion badania EVRAAS. Kolorem czerwonym oznaczono wyniki istotne statystycznie.

	kategoria zmiany powierzchni bezwzględnej 0-12 t			
	simwastatyna	placebo_S	atorwastatyna	placebo_A
progresja	7 (29,2%)	17 (70,8%)	8 (33,3%)	14 (58,3%)
brak progresji	17 (70,8%)	7 (29,2%)	16 (66,7%)	10 (41,7%)
brak progresji - p	0,004		0,082	

	kategoria zmiany BSA 0-12 t			
	simwastatyna	placebo_S	atorwastatyna	placebo_A
progresja	7 (29,2%)	17 (70,8%)	8 (33,3%)	14 (58,3%)
brak progresji	17 (70,8%)	7 (29,2%)	16 (66,7%)	10 (41,7%)
brak progresji - p	0,004		0,082	

	kategoria zmiany VASI 0-12 t			
	simwastatyna	placebo_S	atorwastatyna	placebo_A
progresja	7 (29,2%)	17 (70,8%)	8 (33,3%)	14 (58,3%)
brak progresji	17 (70,8%)	7 (29,2%)	16 (66,7%)	10 (41,7%)
brak progresji - p	0,004		0,082	

5.4 Analiza mocy badania

Analizę mocy badania przeprowadzono dla testu t-Studenta dla prób zależnych uwzględniając zmianę powierzchni bezwzględnej plam bielaczych, BSA oraz VASI przy zastosowaniu 1% soli sodowej kwasu simwastatyny oraz 1% soli wapniowej atorwastatyny w 12-tygodniowym okresie leczenia. Dla parametrów wskazanych jako pierwszorzędowy punkt końcowy badania przeprowadzono analizę liczebności grupy.

5.4.1 Zmiana powierzchni bezwzględnej

Simwastatyna

Na podstawie zmiany powierzchni bezwzględnej plam bielaczych w przypadku zastosowania simwastatyny analiza mocy badania za pomocą testu t-Studenta dla prób zależnych przy założeniu prawdopodobieństwa błędu I rodzaju $\alpha=0,05$ wykazała moc na poziomie 0,178. Analiza liczebności grupy (N) wskazuje, że moc na poziomie 0,8 można by uzyskać przy włączeniu do analizy około 150 pacjentów.

Atorwastatyna

Na podstawie zmiany powierzchni bezwzględnej plam bielaczych w przypadku zastosowania atorwastatyny analiza mocy badania za pomocą testu t-Studenta dla prób zależnych przy założeniu prawdopodobieństwa błędu I rodzaju $\alpha=0,05$ wykazała moc na poziomie 0,053. Analiza liczebności grupy (N) wskazuje, że moc na poziomie 0,8 można by uzyskać przy włączeniu do analizy około 6500 pacjentów.

5.4.2 Zmiana BSA

Simwastatyna

Na podstawie zmiany BSA w przypadku zastosowania simwastatyny analiza mocy badania za pomocą testu t-Studenta dla prób zależnych przy założeniu prawdopodobieństwa błędu I rodzaju $\alpha=0,05$ wykazała moc na poziomie 0,253. Analiza liczebności grupy (N) wskazuje, że moc na poziomie 0,8 można by uzyskać przy włączeniu do analizy powyżej 100 pacjentów.

Atorwastatyna

Na podstawie zmiany BSA w przypadku zastosowania atorwastatyny analiza mocy badania za pomocą testu t-Studenta dla prób zależnych przy założeniu prawdopodobieństwa błędu I rodzaju $\alpha=0,05$ wykazała moc na poziomie 0,055. Analiza liczebności grupy (N) wskazuje, że moc na poziomie 0,8 można by uzyskać przy włączeniu do analizy około 4500 pacjentów.

5.4.3 Zmiana VASl

Simwastatyna

Na podstawie zmiany VASl w przypadku zastosowania simwastatyny analiza mocy badania za pomocą testu t-Studenta dla prób zależnych przy założeniu prawdopodobieństwa błędu I rodzaju $\alpha=0,05$ wykazała moc na poziomie 0,1923. Analiza liczebności grupy (N) wskazuje, że moc na poziomie 0,8 można by uzyskać przy włączeniu do analizy około 150 pacjentów.

Atorwastatyna

Na podstawie zmiany VASl w przypadku zastosowania atorwastatyny analiza mocy badania za pomocą testu t-Studenta dla prób zależnych przy założeniu prawdopodobieństwa błędu I rodzaju $\alpha=0,05$ wykazała moc na poziomie 0,056. Analiza liczebności grupy (N) wskazuje, że moc na poziomie 0,8 można by uzyskać przy włączeniu do analizy powyżej 3500 pacjentów.

Na podstawie przeprowadzonej analizy mocy przy uwzględnieniu uzyskanych w niniejszym badaniu pilotażowym wyników zmiany powierzchni bezwzględnej plam bielaczych, zmiany BSA oraz VASl stwierdzić należy, że moc badania EVRAAS jest niska i mieści się w zakresie

0,0531 – 0,2532, w zależności od ocenianej zmiennej. Wymagane jest zrekrutowanie znacznie większej ilości uczestników badania w celu zwiększenia jego mocy do poziomu 0,8. W przypadku preparatu zawierającego 1% sól sodową kwasu simwastatyny włączenie wymaganej liczby około 150 pacjentów wydaje się wykonalne w ramach jednego ośrodka. Niemniej, w przypadku preparatu 1% soli wapniowej atorwastatyny zwiększenie zakładanej liczebności próby do około 6500 pacjentów niesie za sobą radykalny wzrost kosztów prowadzenia badania, a ponadto wiązałoby się z koniecznością dołączenia większej liczby ośrodków rekrutujących pacjentów, ponieważ skala badania przekracza możliwości pojedynczego, nawet największego ośrodka.

6. Dyskusja

Obecnie większość danych wskazuje, że najistotniejszą właściwością terapeutyczną statyn jest ich zdolność do modulowania szerokiego zakresu prozapalnych mechanizmów odpornościowych, głównie poprzez hamowanie małych GTPaz i innych prenylowanych białek, co prowadzi, m. in. do hamowania stresu oksydacyjnego, blokowania chemotaksji leukocytów, prezentacji antygenów, aktywacji i proliferacji limfocytów oraz zmiany profilu cytokinowego i ekspresji cząstek kostymulujących. [113] Biorąc pod uwagę mnogość procesów wewnątrzkomórkowych, w których pośredniczą prenylowane białka, naturalną konsekwencją jest, że modulacja ich prenylacji przez statyny będzie miała zróżnicowany wpływ na funkcje odpornościowe. Zdolność statyn do osłabiania ekspresji bez wywoływania całkowitego hamowania tych kluczowych białek sygnałowych ma fundamentalne znaczenie dla ich skuteczności - całkowita blokada tych przełączników molekularnych byłaby w większości przypadków śmiertelna. Statyny prowadzą do częściowego zahamowania wspólnego ogniwa łączącego wiele dróg sygnałowych, które kontrolują układ odpornościowy. W wyniku atenuacji prenylacji białek, inhibitory HMG-CoA modulują wiele ścieżek prozapalnych bez niekorzystnego wpływu na inne kluczowe szlaki, które są niezbędne do przeżycia komórki. Plejotropowe działanie statyn jest bardzo szerokie, a dane wykazujące ich skuteczność na modelach zwierzęcych chorób autoimmunologicznych, w tym bielactwa nabytego, dostarczają przekonujących przesłanek do przełożenia takiej pracy na warunki kliniczne.

Wybrane publikacje, w których wykazano wpływ statyn na procesy immunologiczne modeli zwierzęcych zestawiono w **Tabeli 27**.

Tabela 27. Efekty działania statyn w chorobach autoimmunologicznych na modelach zwierzęcych.

Substancja	Jednostka chorobowa	Dawka	Efekt	Przypis
Atorwastatyna	eksperymentalne autoimmunologiczne zapalenie mózgu i rdzenia	1 i 10 mg/kg/dobę doustnie	Złagodzenie objawów choroby, zmniejszenie infiltracji leukocytów, zmiana profilu cytokinowego z Th1 na Th2, hamowanie proliferacji limfocytów T, hamowanie ekspresji cząstek ko-stymulatorowych	[158]

		10 mg/kg/dobę doustnie lub podskórnice	Złagodzenie objawów choroby, zmniejszenie infiltracji leukocytów, blokada odpowiedzi Th1-zależnej ze wzrostem cytokin Th2, hamowanie proliferacji limfocytów T	[159]
		10 mg/kg/dobę doustnie	Złagodzenie objawów choroby, zmniejszenie infiltracji leukocytów, blokada odpowiedzi typu Th1	[160]
	eksperymentalne zapalenie stawów	1-10 mg/kg/dobę doustnie	Złagodzenie objawów choroby	[161]
	eksperymentalne autoimmunologiczne zapalenie naczyń i rogówki	10 mg/kg/dobę doustnie	Niewielkie złagodzenie objawów choroby	[160]
	eksperymentalne autoimmunologiczne zapalenie mięśnia sercowego	1 lub 10 mg/kg/dobę doustnie	Zmniejszenie stanu zapalnego w sercu, poprawa funkcji serca, zmiana profilu cytokinowego z Th1 na Th2	[162]
	eksperymentalny toczeń rumieniowaty układowy	30 mg/kg/dobę dootrzewnowo	Poprawa efektów klinicznych ze zmniejszeniem uszkodzenia kłębuszków nerkowych, zmniejszenie ekspresji MHC klasy II i cząstek ko-stymulatorowych, zmniejszenie proliferacji limfocytów T	[126]
Simwastatyna	eksperymentalne zapalenie stawów	10-40 mg/kg/dobę dootrzewnowo	Złagodzenie objawów choroby, zmniejszenie odpowiedzi typu Th1	[123]
		40 mg/kg/dobę dootrzewnowo lub doustnie	Złagodzenie objawów choroby z efektami ubocznymi	[163]
Lowastatyna	eksperymentalne autoimmunologiczne zapalenie mózgu i rdzenia	10 mg/kg/dobę dootrzewnowo	Złagodzenie objawów choroby, zahamowanie migracji leukocytów przez barierę krew-mózg	[164]
		2 i 5 mg/kg/dobę dootrzewnowo	Złagodzenie objawów choroby, hamowanie biosyntezy cytokin prozapalnych, zmiana w kierunku odpowiedzi typu Th2	[165]
		2 mg/kg/dobę dootrzewnowo	Złagodzenie objawów choroby, hamowanie	[166]

			ekspresji iNOS i produkcji cytokin prozapalnych	
		2 mg/kg/dobę dootrzewnowo	Złagodzenie objawów choroby, zmiana profilu cytokinowego z Th1 na Th2	[167]
		2 mg/kg/dobę dootrzewnowo	Złagodzenie objawów choroby, zmniejszenie infiltracji komórek jednojądrzastych, zmniejszenie produkcji cytokin zapalnych i ekspresji LFA1	[168]
		2 mg/kg/dobę dootrzewnowo	Złagodzenie objawów choroby, zmniejszenie infiltracji leukocytów, wzrost transkrypcji cytokin Th2	[169]
	eksperymentalne autoimmunologiczne zapalenie naczyń i rogówki	20 mg/kg/dobę dootrzewnowo	Złagodzenie objawów choroby, zmniejszenie infiltracji leukocytów, modulacja odpowiedzi typu Th1	[160]
Fluwastatyna	eksperymentalne autoimmunologiczne zapalenie mięśnia sercowego	3,75 lub 7,5 mg/kg/dobę doustnie	Poprawa funkcji serca, zmniejszenie infiltracji limfocytów T CD4+, zmniejszenie cytokin typu Th1 i hamowanie NF-κB	[170]

Pierwszą opublikowaną pracą dotyczącą korzystnego wpływu statyn w bielactwie nabytym jest publikacja Noëla i wsp. z roku 2004. [143] Przedstawiono w niej opis przypadku 55-letniego mężczyzny, chorującego od 31 r.ż. na bielactwo nabyte, u którego depigmentacja skóry występowała głównie na twarzy, klatce piersiowej i rękach. Stosowane metody terapeutyczne nie przyniosły zadowalającej poprawy stanu klinicznego. Chory z przyczyn kardiologicznych przyjmował simwastatynę w dawce 80 mg/dobę p.o., co w jego subiektywnej ocenie doprowadziło do częściowej repigmentacji plam bielactwych. Pacjent rozpoczął udział w badaniu klinicznym, podczas którego zgodnie z protokołem przerwano leczenie simwastatyną. W badaniu przedmiotowym przeprowadzonym po dwóch miesiącach od odstawienia simwastatyny stwierdzono istotne powiększenie się powierzchni plam bielactwych. Po ponownym włączeniu simwastatyny w dawce 80 mg/dobę p.o. zaobserwowano istotną repigmentację plam odbarwieniowych, co udokumentowano za pomocą wykonywanych sekwencyjnie fotografii zmian chorobowych.

Ogólnoustrojowo podawane statyny oceniono w kilku badaniach klinicznych prowadzonych u chorych obciążonych bielactwem nabytym oraz na modelach zwierzęcych bielactwa nabytego.

Jednym z nich jest badanie Agarwal i wsp. z 2015 r. [49], w którym zbadano wpływ simwastatyny podawanej ogólnoustrojowo w trzech dawkach (0,2 mg, 0,4 mg, 0,8 mg) na repigmentację u myszy z indukowanym bielactwem. W badaniu wykazano, że pięcioletniowe leczenie simwastatyną podawaną dootrzewnowo 3 razy w tygodniu od pierwszego dnia po wywołaniu plam bielaczych zmniejszało depigmentację w porównaniu z grupą kontrolną, w której stosowano jedynie placebo. Należy również zwrócić uwagę, że stwierdzono silną korelację między stosowaną dawką simwastatyny a odpowiedzią kliniczną, z najbardziej wyrażoną repigmentacją dla dawki 0,8 mg. Analiza przeprowadzona przy użyciu cytometrii przepływową wykazała podobną korelację między dawką stosowanej w badaniu simwastatyny a ilością transgenicznych limfocytów T CD8+ z TCR specyficznym dla białka promelanosomowego – PMEL (PMELs). Na tej podstawie za optymalną dla dalszych badań określono dawkę 0,8 mg. Następnie w analizie skóry ucha i ogona oraz węzłów chłonnych, śledziona i krwi za pomocą cytometrii przepływową stwierdzono istotnie mniejszą liczbę PMELs w skórze myszy leczonych simwastatyną w porównaniu z grupą kontrolną, jednak bez różnic w liczbie PMELs w pozostałych ocenianych regionach. W badaniu tym analizowano również czy ekspresja CXCL10 jest bezpośrednio hamowana przez simwastatynę. Oceniono ekspresję CXCL10 w skórze za pomocą RT-PCR u myszy poddanych działaniu placebo, 1 dawki simwastatyny lub 3 dziennych dawek simwastatyny. Wykazano, że pomimo zmniejszenia liczby PMELs w naskórku po leczeniu simwastatyną, ekspresja CXCL10 pozostała niezmienną. W fazie *in vitro* badania stwierdzono, że leczenie simwastatyną zmniejszyło zarówno proliferację, jak i wytwarzanie IFN- γ przez PMELs, co sugeruje, że simwastatyna może bezpośrednio wpływać na funkcję limfocytów T w bielactwie, a nie pośrednio poprzez zmniejszanie CXCL10. W związku z wykazanim we wcześniejszych fazach badania korzystnym wpływem simwastatyny na repigmentację u myszy, jak również z udowodnionym zmniejszeniem liczby PMELs w skórze i w fazie *in vitro*, oceniono simwastatynę pod kątem potencjału odwracania dokonanej depigmentacji na mysim modelu bielactwa. Po 10-12 tygodniowym okresie wyczekiwania po wyindukowaniu bielactwa myszy z zajęciem minimum 50% powierzchni ogona przydzielono do dwóch grup badanych – grupy, u której stosowano simwastatynę 3 x w tygodniu w dawce 0,8 mg oraz grupy, u której stosowano samo placebo przez 4-6 tygodni. Pomimo braku wpływu na całkowitą liczbę komórek T CD8+ specyficznych dla melanocytów obecnych w skórze, stwierdzono, że w grupie leczonej simwastatyną nastąpił znaczny wzrost pigmentacji w porównaniu z grupą kontrolną, o czym świadczyły nowo

pojawiające się plamki barwnikowe wokół mieszków włosowych. Powyższe obserwacje uzasadniają przeprowadzenie dalszych badań klinicznych u ludzi oceniających stosowanie simwastatyny jako potencjalnej metody leczenia bielactwa nabytego.

Przykładem badania klinicznego oceniającego wpływ simwastatyny na repigmentację plam bielactwych jest niewielkie randomizowane badanie II fazy przeprowadzone przez Vanderweila i wsp. z 2017 r. [171] Piętnastu uczestników zostało zrandomizowanych do dwóch grup zgodnie z poniższym: 1) grupy badanej, w której pacjenci przyjmowali simwastatynę w dawce 40 mg na dobę doustnie przez pierwszy miesiąc, po czym dawka leku była zwiększana do 80 mg na dobę na okres kolejnych 5 miesięcy oraz 2) grupy kontrolnej, w której stosowano placebo. Zgodnie z założeniami badania konieczne było zaprzestanie stosowania preparatów miejscowych minimum 2 tygodnie przed randomizacją, natomiast doustnych leków immunomodulujących i fototerapii odpowiednio 4 i 8 tygodni przed randomizacją. Łącznie 8 pacjentów zostało włączonych do grupy stosującej simwastatynę, 7 do grupy placebo. Spośród pacjentów leczonych statyną trzech wycofało się z uczestnictwa w badaniu. Na podstawie przeprowadzonej analizy danych uzyskanych w badaniu stwierdzono średnią progresję choroby ocenianej za pomocą wzrostu średniej wartości VASI w grupie otrzymującej simwastatynę na poziomie 26% (95% CI, -45-97%), podczas gdy w grupie kontrolnej średnia zmiana VASI wynosiła 0% (95% CI, -5-5%), przy czym różnica pomiędzy grupami nie uzyskała istotności statystycznej ($p=0,094$). Włączenie do analizy wyników uzyskanych od pacjentów, którzy wycofali się z uczestnictwa w badaniu nie miało wpływu na ostateczne wyniki. Należy jednak zaznaczyć, że na wynik średniej progresji choroby znacząco wpłynęły rezultaty uzyskane od pojedynczego pacjenta z grupy otrzymującej simwastatynę, u którego wystąpił epizod bielactwa zapalnego, co spowodowało ponad dwukrotne zwiększenie powierzchni objętej procesem chorobowym w skali BSA. Do czasu wizyty kończącej badanie u powyższego chorego wystąpiła jednak częściowa repigmentacja. Podobnie jak w przedstawionym powyżej badaniu na mysim modelu bielactwa, simwastatyna nie wpłynęła na stężenie CXCL10 w osoczu. Z działań niepożądanych stwierdzonych w okresie badania najczęściej występowały bóle mięśniowe (4 pacjentów), biegunka (2 pacjentów). U trzech chorych wystąpiło przejściowe zwiększenie stężenia aminotransferaz, a u czterech wzrost stężenia kinazy kreatynowej, przy czym w żadnym z przypadków nie były konieczne modyfikacje dawek statyny. Tylko u jednego pacjenta fakt wycofania się z badania z powodu zawrotów głowy uznano za bezpośrednio związany ze stosowanym leczeniem. Wyniki tego badania nie

uzasadniają doustnego podania simwastatyny jako potencjalnej metody leczenia bielactwa. Rozbieżności w porównaniu z badaniem na mysim modelu najpewniej wynikają z konieczności ograniczenia dawek simwastatyny stosowanej ogólnoustrojowo z powodu potencjalnej toksyczności, co nie stanowiło istotnego problemu w przypadku myszy. Autorzy pracy zwracają również uwagę, że niepowodzenie w kwestii wykazania skuteczności ogólnoustrojowo stosowanej simwastatyny może być wynikiem długotrwałego procesu chorobowego, ponieważ poprawa zwykle jest najlepiej widoczna u pacjentów z niedawnym początkiem choroby, a także wynikać może z niewielkiej grupy pacjentów w poszczególnych ramionach badania, czy braku czułych metod oceny odpowiedzi na leczenie (wobec faktu, że wynik w skali VASI jest zależny od szacowanej powierzchni zmian chorobowych wg skali BSA ocenianej w tym przypadku wizualnie). W konkluzjach prezentowanego badania autorzy dostrzegają potencjał dla zastosowania bardziej czułych metod oceny procesu chorobowego, jak również dla miejscowego zastosowania statyn, co może pozwolić na uzyskanie wysokich stężeń leku w miejscu jego stosowania i uniknięcie ogólnoustrojowych działań niepożądanych leku stosowanego w postaci doustnej, jako że systemowe stosowanie dużych dawek simwastatyny niesie za sobą podwyższone ryzyko wywołania miopatii.

Kolejnym projektem oceniającym wpływ ogólnoustrojowego leczenia simwastatyną pacjentów z bielactwem nabytym jest randomizowane badanie Iraj i wsp. z 2017r. [145], w którym 88 pacjentów z NSV z zajęciem do 20% powierzchni ciała wg BSA zrandomizowano do dwóch grup zgodnie z poniższym: grupa A leczona kremem zawierającym 0,1% walerianian betametazonu podawany na skórę dwa razy dziennie oraz grupa B stosująca oprócz tego samego kremu również simwastatynę podawaną doustnie w dawce 80 mg na dobę przez 12 tygodni. Kryteria włączenia do badania obejmowały: nowy przypadek *vitiligo*, wiek pomiędzy 20 a 60 rokiem życia, zajęcie do 20% powierzchni ciała wg BSA. Pacjenci z leukodermą wtórną do innych schorzeń, z bielactwem segmentalnym lub o dystrybucji zmian typowej dla półpaśca, ze zmianami opornymi na stosowane przez 8 tygodni leczenie byli dyskwalifikowani z udziału w badaniu. Pozostałe kryteria wykluczenia obejmowały: ciążę, okres laktacji, upośledzenie funkcji wydalniczej nerek, poważne zaburzenia funkcji wątroby, zapalenie i marskość wątroby, konieczność stosowania leków hamujących szlaki cytochromu CYP3A4 (erytromycyny, klarytromycyny, metronidazolu, azolowych preparatów przeciwgrzybiczych, blokerów kanału wapniowego, cymetydyny, amiodaronu czy selektywnych inhibitorów wychwyty zwrotnego serotoniny). Screening przeprowadzono

u 111 pacjentów, z których do uczestnictwa w badaniu włączono 88 chorych (po 44 na każde z ramion badania). Czas stosowania terapii wynosił 12 tygodni. Cały cykl terapii ukończyło łącznie 46 pacjentów (19 w grupie stosującej betametazon i 27 w grupie stosującej betametazon i simwastatynę). Stopień nasilenia choroby oceniał dermatolog za pomocą skali VASI w następujących punktach czasowych: na początku leczenia oraz po 4, 8 i 12 tygodniach terapii. Badanie było prowadzone metodą podwójnego zaślepienia. Pacjentom zalecono ścisłą obserwację potencjalnych działań niepożądanych (zaczerwienienia, pieczenia, świądu, nadżerek) przez cały 12-tygodniowy okres trwania badania. Oceny stopnia poprawy oraz występowania działań ubocznych dokonywano w tych samych punktach czasowych badania. Podczas każdej wizyty kontrolnej wykonywana była dokumentacja fotograficzna zmian skórnych przy użyciu aparatu cyfrowego Canon PowerShot G12. Do oceny satysfakcji pacjenta z prowadzonego leczenia stosowano analizę kwestionariuszy z uwzględnieniem fotografii porównawczych na początku i po 12 tygodniach terapii. Poprawę kliniczną w zakresie zmian skórnych oceniano za pomocą skali: niewielka <25%, umiarkowana 25-50%, dobra 51-75%, znakomita 76-100%. Na początku i po zakończeniu okresu leczenia wykonano oznaczenia parametrów laboratoryjnych: dehydrogenazy mleczanowej, kinazy kreatynowej, parametrów funkcji wątroby. Z 88 włączonych do badania pacjentów, 42 nie ukończyło badania, 39 z powodu utrzymywania się lub progresji zmian po 8-tygodniowym okresie leczenia, a 3 z powodu trudności w wypełnieniu protokołu badania. Wyjściowa analiza populacji pacjentów w poszczególnych grupach nie wykazała istotnych różnic w zakresie wieku, płci czy dystrybucji zmian chorobowych. Analiza oceny satysfakcji pacjentów z grupy A wykazała, że 6 z 19 (31,8%) oceniła stopień poprawy klinicznej jako <25%, 10 z 19 (52,6%) jako 25-50%, a 3 z 19 (15,8%) jako 50-75%. Żaden z uczestników badania należący do grupy A nie określił stopnia poprawy po leczeniu jako >75% (poprawa znakomita). W grupie B ilość pacjentów, którzy ocenili swoją poprawę jako 50-75% wynosiła 5 z 27 (18,5%), a jako >75% - 3 z 27 (11,1%), jednak różnice te nie uzyskały istotności statystycznej. Podobnie, ocena repigmentacji za pomocą skali VASI nie wykazała istotnych statystycznie różnic pomiędzy grupami. Ocena stopnia repigmentacji prowadzona przez badaczy po 4, 8 i 12 tygodniach leczenia pozwoliła stwierdzić wyższy odsetek pacjentów z poprawą kliniczną >50% w grupie B we wszystkich tych punktach czasowych, odpowiednio 7% vs 0%, 22% vs 15,4% oraz 37% vs 26,3%. Analiza przeprowadzona testem Manna-Whitneya wykazała brak istotności statystycznej powyższych różnic pomiędzy badanymi grupami. W trakcie prowadzenia badania nie stwierdzono działań

niepożądanych ani istotnych odchyłeń laboratoryjnych wynikających z prowadzonego leczenia.

W 2021 r. Zhang i wsp. opublikowali wyniki badania oceniającego bezpieczeństwo i skuteczność ogólnoustrojowego zastosowania simwastatyny u pacjentów z bielactwem nabytym. [172] W okresie między grudniem 2016r. a październikiem 2019r. pięciu pacjentów z rozpoznaniem bielactwa nabytego było leczonych połączeniem miejscowego takrolimusu (maść o stężeniu 0,1%) z doustnie przyjmowaną simwastatyną. Pierwszych trzech pacjentów otrzymało początkowo dawkę 40 mg simwastatyny na dobę, natomiast pozostałych dwóch dawkę 20 mg na dobę. Od 5 tygodnia badania pacjenci numer 1 i 2 przyjmowali zmniejszoną dawkę simwastatyny, tj. 20 mg na dobę. Skuteczność terapii oceniana była za pomocą skali VETF wyjściowo oraz w 4. i 8. tygodniu badania. Na podstawie uzyskanych wyników stwierdzono, że trzech pacjentów uzyskało znaczącą poprawę kliniczną, natomiast w przypadku pozostałych dwóch chorych nie obserwowano istotnej korzyści wynikającej z terapii. Na przestrzeni całego okresu badania nie stwierdzono ostrych czy przewlekłych istotnych działań niepożądanych stosowanego leczenia. Badacze we wnioskach niniejszego badania zaznaczają, że doustne stosowanie simwastatyny u pacjentów leczonych z powodu bielactwa nabytego jest bezpieczne, jednak może nie być skuteczne. Należy jednak zwrócić uwagę na znaczące ograniczenia przeprowadzonego badania związane z włączeniem bardzo małej grupy pacjentów, co z największym prawdopodobieństwem wywarło wpływ na uzyskane wyniki. Krytycznie należy odnieść się do dokonanej przez autorów oceny profilu bezpieczeństwa stosowanej w badaniu simwastatyny, gdyż zarówno dawka 20 mg jak i 40 mg na dobę są dawkami powszechnie stosowanymi w schorzeniach sercowo-naczyniowych, a ich bezpieczeństwo zostało już zdefiniowane i poparte wieloletnimi obserwacjami klinicznymi.

Najnowszym doniesieniem dotyczącym korzystnego wpływu ogólnoustrojowego zastosowania simwastatyny u pacjentów z niesegmentalną postacią bielactwa nabytego jest praca Shakera i wsp. z 2022 r., oceniająca zależność pomiędzy zmianami stężenia frakcji lipidowych a stopniem nasilenia plam bielaczych. [144] Do badania włączono 79 pacjentów z NSV i hiperlipidemią, u których zastosowano doustnie simwastatynę w dawce 80 mg na dobę. Grupę kontrolną stanowiło 60 zdrowych ochotników. Spośród pacjentów z grupy badanej 9 chorych nie ukończyło badania z powodu zgłaszanych działań niepożądanych simwastatyny obejmujących bóle mięśniowe (n=6), umiarkowany wzrost stężenia kinazy kreatynowej (n=2) czy wzrostu aktywności enzymów wątrobowych (n=1), natomiast kolejnych 7 pacjentów

utracono w czasie trwania badania, wobec czego ich wyniki nie zostały włączone do analizy. Wśród 63 pacjentów, którzy ukończyli badanie, działania niepożądane zgłosiło 12 osób – bóle mięśniowe (n=6), biegunka (n=1), bóle głowy (n=3), łagodny wzrost stężenia kinazy kreatynowej (n=2), łagodny wzrost aktywności enzymów wątrobowych (n=1). Stopień nasilenia zmian w przebiegu bielactwa nabytego oceniano za pomocą skali VASI oraz skali aktywności bielactwa nabytego (*Vitiligo Disease Activity* - VIDA). W grupie badanej przed leczeniem średnia punktacja w skali VASI wynosiła 40 (10-90), natomiast średnia punktacja w skali VIDA wynosiła 3 pkt. (0-4 pkt). Pacjenci stosowali simwastatynę do czasu normalizacji profilu lipidowego lub przez 4 miesiące, w zależności od tego, co nastąpiło jako pierwsze. Wizyty kontrolne odbywały się co miesiąc w aktywnej fazie badania oraz po 6 miesiącach od zakończenia terapii. Po 6 miesiącach od zaprzestania stosowania simwastatyny stwierdzono istotną redukcję punktacji w skali VIDA ($p < 0,011$) w grupie badanej. Redukcja w zakresie skali VASI nie uzyskała istotności statystycznej ($p = 0,098$). Stwierdzono istotną dodatnią korelację pomiędzy poprawą w skali VIDA a redukcją stężenia cholesterolu całkowitego ($p < 0,001$), cholesterolu LDL ($p < 0,001$) oraz wskaźnika cholesterol całkowity/LDL ($p < 0,001$). Istotna również była ujemna korelacja pomiędzy obniżeniem punktacji w skali VIDA a czasem trwania choroby ($p < 0,001$). Wyniki powyższego badania promują simwastatynę do leczenia hiperlipidemii u chorych z współistniejącą niesegmentalną postacią bielactwa nabytego. Niemniej, należy zwrócić uwagę na fakt, że lek stosowany był w maksymalnej dobowej dawce – 80 mg, co z pewnością przyczyniło się do wystąpienia wśród uczestników opisanych powyżej działań niepożądanych skutkujących niekiedy przerwaniem terapii. W związku z tym, na podstawie wyników niniejszego badania nie należy rekomendować ogólnoustrojowej simwastatyny dla pacjentów z NSV, u których nie rozpoznano hiperlipidemii.

Simwastatyna jest pochodną naturalnej lowastatyny, w której grupa 2-metylomasłowa została zastąpiona grupą 2,2-dimetylomasłową. Jest białym lub białawym niehigroskopijnym proszkiem, słabo rozpuszczalnym w wodzie, natomiast dobrze rozpuszczalnym w metanolu, etanolu czy chloroformie. Masa cząsteczkowa simwastatyny wynosi 418,6 Da. Simwastatyna jest prolekiem, posiadającym w swojej strukturze pierścień laktonowy, ulegający hydrolizie do wspólnej z innymi statynami grupy farmakoforowej, łańcucha β -hydroksykwasy karboksylowego. W przypadku statyn zaobserwować można wyraźne zróżnicowanie w zakresie właściwości lipofilnych/hydrofilnych pomiędzy poszczególnymi przedstawicielami

tej grupy leków. Simwastatyna charakteryzuje się względnie wysokimi właściwościami lipofilnymi, silniej wyrażonymi niż w przypadku atorwastatyny. Wśród statyn o najsilniej wyrażonych właściwościach hydrofilnych należy wymienić prawastatynę czy rosuwastatynę. [173] Atorwastatyna jest syntetycznym związkiem o masie cząsteczkowej 558,6 Da, występującym pod postacią białego lub białawego proszku, praktycznie nierozpuszczalnego w wodzie, natomiast dobrze rozpuszczalnego w metanolu. Po przyjęciu doustnym jest intensywnie metabolizowana do orto- i parahydroksylowanych pochodnych oraz do różnych produktów β -oksydacji. Jako jedyna ze statyn posiada metabolit o zdolności hamowania reduktazy HMG-CoA podobnej do preparatu macierzystego. Podobnie do simwastatyny wykazuje relatywnie silnie wyrażone właściwości lipofilne. Biorąc pod uwagę lipofilność oraz niską masę cząsteczkową simwastatyny i atorwastatyny wysunięto hipotezę możliwego ich zastosowania w postaci miejscowej na skórę. [174] W roku 2000 Bos i Meinardi przedstawili regułę 500 Daltonów, mówiącą o tym, że przez skórę przenikają cząsteczki posiadające masę cząsteczkową nieprzekraczającą 500 Da. [175] Warstwę rogową uznali oni za najważniejszą przeszkodę dla penetracji cząstek o wyższej masie cząsteczkowej. Jako argumentów użyli oni następujących stwierdzeń: 1) większość alergenów kontaktowych posiada masę cząsteczkową poniżej 500 Da, a nie są znane alergeny kontaktowe o wyższej masie cząsteczkowej, 2) najczęściej stosowane preparaty dermatologiczne aplikowane miejscowo charakteryzują się masą cząsteczkową niższą niż 500 Da, 3) wszystkie znane preparaty stosowane w postaci systemów transdermalnych mają masę cząsteczkową niższą niż 500 Da. Na poparcie swoich poglądów naukowcy przywołali kliniczne doświadczenia z zastosowania preparatów miejscowych, takich jak cyklosporyna, takrolimus czy pimekrolimus o masach cząsteczkowych odpowiednio 1202,6 Da, 822,03 Da i 811 Da. Niemniej, takrolimus i pimekrolimus są skuteczne w przypadku miejscowego zastosowania w przebiegu atopowego zapalenia skóry, co określono jako wyjątek od reguły 500 Da, wynikający z obecności defektywnej bariery pozwalającej na absorpcję cząsteczek nieco większych niż 800 Da. Podsumowując swoją pracę Bos i Meinardi zasugerowali, że logicznym byłoby ograniczenie rozwijania nowych substancji przeznaczonych do stosowania miejscowego w dermatologii do związków o masie cząsteczkowej nieprzekraczającej 500 Da.

W przedstawionym badaniu klinicznym EVRAAS założono zastosowanie miejscowych preparatów aktywnej postaci simwastatyny i atorwastatyny w postaci: soli sodowej kwasu simwastatyny o masie cząsteczkowej wynoszącej 458,6 Da oraz soli wapniowej atorwastatyny

o masie cząsteczkowej wynoszącej 1209,4 Da. [176, 177] Po rozpuszczeniu soli wapniowej atorwastatyny w eterze monoetylowym glikolu dietylenowego występuje ona w rozproszeniu molekularnym w postaci atorwastatyny o masie cząsteczkowej 558,6 Da. Jak wspomniano powyżej, wewnętrzne badania przeprowadzone w Katedrze Technologii Postaci Leku CM UMK wykazały, że preparaty badane zawierające 1% sól sodową kwasu simwastatyny i 1% sól wapniową atorwastatyny po aplikacji miejscowej przenikają przez warstwę rogową i docierają do warstwy podstawnej naskórka.

Zastosowane w niniejszym badaniu 1% stężenie substancji badanych (soli sodowej kwasu simwastatyny oraz soli wapniowej atorwastatyny) wybrano na podstawie literatury dostępnej w czasie projektowania protokołu badania (2015 r.). W 2012 r., Adami i wsp. w mysim modelu eksperymentalnego, indukowanego ostrego i przewlekłego zapalenia skóry ucha zastosowali miejscowo preparaty 1% i 3% simwastatyny, po czym oceniano obrzęk ucha, wagę pobieranych 6-milimetrowych bioptatów skóry i aktywność enzymatyczną mieloperoksydazy. [178] W przypadku ostrego zapalenia simwastatyna w obu stężeniach (1% i 3%) wykazała efekt przeciwzapalny oceniany za pomocą zmniejszenia obrzęku uszu odpowiednio o $55 \pm 7\%$ i $65 \pm 8\%$, a aktywność mieloperoksydazy zmniejszyła się o $61 \pm 10\%$. W modelu przewlekłego zapalenia skóry simwastatyna w stężeniu 1% zmniejszyła obrzęk uszu o $25 \pm 3\%$ i wagę bioptatów o $10 \pm 1\%$, natomiast preparat o stężeniu 3% zwiększał oba te parametry. Ocena mikroskopowa pobranych próbek wykazała zmniejszenie obrzęku i stopnia migracji leukocytów w przypadku ostrego zapalenia dla simwastatyny w obu stężeniach, natomiast w modelu przewlekłego zapalenia lek w stężeniu 1% zmniejszał obrzęk i stopień pogrubienia naskórka, a w stężeniu 3% nasilał oba te parametry. W podsumowaniu pracy autorzy zaznaczają, że miejscowo stosowana simwastatyna w postaci maści wykazuje działanie przeciwzapalne, jednak w celu uzyskania korzystnych efektów w przypadku przewlekłych stanów należy zastosować maść o stężeniu 1%.

Miejscowo stosowana simwastatyna o stężeniu 1% w postaci mikroemulsji wykorzystana została w brazylijskim badaniu z 2007 r., polegającym na ocenie efektów leczenia zakażonych ran u szczurów, u których stosowano roztwór soli fizjologicznej (n=7) lub preparat simwastatyny (n=7). [179] U szczurów, u których przeprowadzono procedurę wycięcia fragmentu skóry grzbietu o powierzchni około 1 cm² dokonano zanieczyszczenia rany szczurzimi odchodami. Na podstawie ocenionych parametrów stwierdzono istotnie niższe

stężenie TNF- α oraz IL-1 u szczurów poddanych leczeniu simwastatyną. W grupie tej obserwowano również istotnie mniejszy naciek leukocytów w porównaniu ze zwierzętami, u których stosowano jedynie sól fizjologiczną. W grupie simwastatyny w hodowli bakteryjnej florę obejmującą *Proteus mirabilis*, *Escherichia coli* i *Enterobacter spp.* uzyskano jedynie u jednego szczura, podczas gdy w grupie kontrolnej u wszystkich szczurów stwierdzono obecność zróżnicowanej flory bakteryjnej. We wnioskach autorzy pracy stwierdzają, że miejscowo stosowana simwastatyna poza właściwościami przeciwzapalnymi wydaje się być obiecująca w przypadku leczenia zakażonych ran z uwagi na jej możliwy efekt antybakteryjny. Atorwastatyna w postaci maści o stężeniu 1% okazała się skuteczna w leczeniu owrzodzeń odleżynowych u pacjentów w stanie krytycznym. [153] W roku 2014 Farsaei i wsp. opublikowali wyniki randomizowanego, podwójnie zaślepionego badania kontrolowanego placebo, w którym oceniano skuteczność miejscowo stosowanej atorwastatyny u chorych hospitalizowanych na oddziale intensywnej terapii, u których stwierdzono odleżyny I lub II stopnia. Do badania włączono 104 pacjentów zgodnie z poniższym: 1) grupa badana – 51 pacjentów, u których stosowano miejscowo maść zawierającą 1% atorwastatynę, 2) grupa kontrolna – 53 pacjentów, u których zastosowano placebo. Preparaty miejscowe stosowane były jeden raz na dobę przez okres 14 dni, a ponadto u wszystkich chorych nieprzerwanie prowadzono standardową terapię odleżyn. Ocena skuteczności leczenia była wykonywana w 7 i 14 dniu terapii za pomocą 2-cyfrowej skali Stirlinga. Stopień nasilenia choroby nie różnił się wyjściowo pomiędzy ramionami badania. Średni stopień nasilenia choroby zmniejszył się w większym zakresie w grupie atorwastatyny w porównaniu z grupą kontrolną w dniu 7 (0.97 ± 0.76 vs 1.74 ± 0.75 , $p < 0.01$) i w dniu 14 (0.42 ± 0.67 vs 1.71 ± 0.78 , $p < 0.01$). Istotne różnice na korzyść atorwastatyny obserwowano również w zakresie zmniejszenia powierzchni bezwzględnej odleżyn po 7 (0.42 ± 0.67 vs 1.71 ± 0.78 , $p < 0.01$) i 14 dniach leczenia (3.72 ± 4.45 vs 10.41 ± 6.41 cm², $p < 0.01$). Miejscowo stosowana maść zawierająca 1% atorwastatynę przyspieszała leczenie owrzodzeń odleżynowych u pacjentów leczonych na oddziale intensywnej terapii.

Skuteczność miejscowego stosowania statyn stała się przedmiotem licznych badań klinicznych na przestrzeni ostatnich lat. Dostępne w literaturze doniesienia prezentują opisy przypadków oraz wyniki prób prowadzonych u pacjentów z różnymi schorzeniami, obejmującymi

między innymi linijną porokeratozę, przewlekły wyprysk rąk, trądzik pospolity, łuszczycę plackowatą, owrzodzenia, rany pooperacyjne, zespół suchego oka czy zespół CHILD.

W 2020 r. przeprowadzone zostało badanie oceniające wpływ miejscowego zastosowania kremu zawierającego 2% simwastatynę/2% cholesterol lub bezbarwny emolient na przebieg kliniczny rozsianej powierzchniowej postłonecznej porokeratozy (DSAP). [180] Do badania włączono 8 pacjentów, którym zgodnie z protokołem aplikowano preparat badany na przydzieloną kończynę, a nieaktywną substancję kontrolną na kończynę przeciwstawną, co przełożyło się na uzyskanie łącznie 13 par kończyn poddanych ocenie. Dane obejmujące liczbę zmian skórnych, rumień oraz ocenę aktywności choroby (samoocena pacjenta oraz ocena za pomocą skali klinicznej) wyjściowo i po 6-tygodniowym okresie leczenia poddano analizie z użyciem bayesowskiej porządkowej regresji logistycznej, na podstawie której uzyskano ilorazy szans powyższych parametrów: 0,12 (95% CI: 0,01-0,72) dla ilości zmian skórnych, 0,25 (95% CI: 0,05-0,79) dla skali nasilenia rumienia, 0,18 (95% CI: 0,03-0,64) i 0,33 (95% CI: 0,09-0,98) dla aktywności choroby ocenionej odpowiednio wg skali klinicznej i samooceny pacjenta (wartości niższe niż 1,0 odpowiadają poprawie w zakresie danego parametru). Na podstawie dokonanej analizy wykazano poprawę kliniczną po zastosowaniu miejscowym preparatu simwastatyny u chorych z DSAP.

Blue i wsp. w opisie przypadku opublikowanym w 2020r. przedstawili historię 17-letniej pacjentki z wieloletnim wywiadem nasilonych zmian skórnych o charakterze linijnej porokeratozy obejmującej prawą kończynę górną i przebiegającej z powikłaniami pod postacią resorpcji paliczków dystalnych. [181] Wcześniejsze próby leczenia tretynoiną i preparatami zawierającymi mocznik były nieskuteczne. Zmiany skórne obserwowano również w obrębie prawego uda, pachwiny i obu stóp. W wyniku zastosowania u pacjentki przez 2 miesiące maści zawierającej 2% lowastatynę/2% cholesterol dwa razy na dobę na kończynę górną uzyskano regresję zmian chorobowych. Chora kontynuowała terapię również w pozostałych obszarach ciała, co doprowadziło do znaczącej poprawy miejscowej oraz zwiększenia ruchomości kciuka prawego.

Mehrpooya i wsp. ocenili wpływ dodania kremu zawierającego 5% atorwastatynę do stosowanej terapii 1% maścią z betametazonu u pacjentów leczonych z powodu przewlekłego wyprysku rąk. [182] Pomiędzy październikiem 2017r. a sierpniem 2018r. włączono łącznie 88 pacjentów, których zrandomizowano do dwóch ramion badania zgodnie z poniższym: 1) grupa stosująca 1% maść zawierającą betametazon i krem z 5% atorwastatyną (n=44) lub 2) grupa

stosująca 1% maść zawierającą betametazon i krem zawierający podłoże bez substancji aktywnej (n=44). Obie grupy stosowały zaleconą terapię przez 10 dni, aplikując preparaty dwa razy na dobę. Pierwszorzędowym punktem końcowym badania było nasilenie procesu chorobowego za pomocą skali HESCI (*Hand Eczema Severity Index*). Do drugorzędowych punktów końcowych zaliczono: zmianę w zakresie nasilenia świądu ocenioną za pomocą wizualnej analogowej skali i jakość życia przedstawioną za pomocą skali DLQI. Z 88 włączonych pacjentów 72 ukończyło badanie. Średni wynik w skali HESCI obniżył się w obu ramionach badania, jednak w grupie otrzymującej atorwastatynę zmiana była większa (skorygowana średnia zmiana - AMD 5,756; 95% CI: 5,168-6,344; $p < 0,001$). W zakresie drugorzędowych punktów końcowych dodanie atorwastatyny do betametazonu wiązało się z większą redukcją świądu ocenioną za pomocą wizualnej skali analogowej (AMD 10.535; 95% CI: 7.005-14.064, $P < 0.001$) oraz istotniejszą poprawą jakości życia wg skali DLQI (AMD 1.990; 95% CI: 1.821 to 2.158, $P < 0.001$). Dodanie miejscowego preparatu atorwastatyny do betametazonu wiązało się ze skuteczniejszą terapią u pacjentów z przewlekłym wypryskiem rąk.

W 2018r. Ahmadvand i wsp. opublikowali wyniki randomizowanego badania klinicznego przeprowadzonego w grupie pacjentów leczonych z powodu trądziku pospolitego. [154] Badanie zostało zaprojektowane jako podwójnie zaślepienie, randomizowane, kontrolowane placebo. Włączonych zostało łącznie 76 pacjentów, otrzymujących doustną azytromycynę (250 mg 3 razy w tygodniu doustnie) i miejscowy nadtlenek benzoilu (5%, 1 x dziennie) z powodu umiarkowanych/ciężkich zmian skórnych w przebiegu trądziku pospolitego. Chorych zrandomizowano do trzech następujących grup badania: 1) grupy otrzymującej doustny preparat simwastatyny 20 mg/dobę oraz miejscowo roztwór bez substancji czynnej, 2) grupy stosującej miejscowo 1% roztwór simwastatyny i doustnie placebo, 3) grupy otrzymującej miejscowo roztwór bez substancji czynnej i doustnie placebo. Nasilenie procesu chorobowego było oceniane za pomocą skali nasilenia trądziku pospolitego (*Global Acne Grading System* - GAGS) wyjściowo i po 8 tygodniach stosowania terapii. Na podstawie uzyskanych wyników wykazano, że miejscowe zastosowanie simwastatyny wiązało się z większą redukcją nasilenia trądziku na podstawie GAGS w porównaniu z użyciem simwastatyny doustnej oraz placebo. Doustna simwastatyna okazała się być bardziej skuteczna w porównaniu z placebo ($p < 0,001$). Simwastatyna, zarówno w postaci miejscowej, jak i doustnej była dobrze tolerowana przez pacjentów. Badacze zwrócili uwagę, że powyższe

wstępne wyniki badania należałoby potwierdzić kolejnymi próbami obejmującymi większą liczbę pacjentów oraz udoskonalenie postaci miejscowej simwastatyny.

Skuteczność miejscowego zastosowania lotionu zawierającego 2% simwastatynę i 2% cholesterol wykazali Yu i wsp. u 9-letniej dziewczynki z zespołem CHILD. [183] W badaniu przedmiotowym u dziewczynki stwierdzono mnogie rumieniowe brodawkujące blaszki zlokalizowane po lewej stronie szyi, w okolicy pachowej, talii, warg sromowych, lewej górnej i lewej dolnej kończyny, w tym podeszwy, co skutkowało znaczącym dyskomfortem podczas chodzenia. Obserwowano również zniekształcenie lewej kończyny dolnej w porównaniu z kończyną nieobjętą procesem chorobowym. Na podstawie przeprowadzonych badań z uwzględnieniem badań genetycznych rozpoznano u dziewczynki zespół CHILD. Stosowane przez około 1 rok rozmaite metody leczenia obejmujące miejscowe emolienty, kortykosteroidy, retinoidy, inhibitory kalcyneuryny, jak również ogólnoustrojową acytretynę (0,5 mg/kg mc/dobę) wykazywały jedynie śladową poprawę. Leczenie chirurgiczne zmian w obrębie lewej wargi sromowej i lewej kończyny dolnej wiązało się z nawrotami w obrębie blizn pozabiegowych. Po uzyskaniu zgody rodziców włączono leczenie lotionem zawierającym 2% simwastatynę oraz 2% cholesterol dwa razy na dobę. Po około 2 miesiącach terapii uzyskano istotną poprawę miejscową w zakresie zmian skórnych oraz nastąpiła poprawa komfortu chodzenia. Z powodu przewlekłego drażnienia, zmiany zlokalizowane w obrębie podeszwy ustępowały nieco wolniej w porównaniu ze zmianami w pozostałych obszarach objętych procesem chorobowym. Wykonywane kontrolne badania laboratoryjne były prawidłowe, z wyjątkiem stężenia cholesterolu, które utrzymywało się poniżej wartości referencyjnej, jednak po leczeniu było nieco wyższe niż wyjściowo.

Kolejnym przykładem potwierdzającym skuteczność miejscowego stosowania simwastatyny w terapii zmian skórnych powiązanych z zespołem CHILD jest opis przypadku opublikowany przez Bajawi i wsp. [184] Przedstawiono w nim przypadek 1-miesięcznej dziewczynki z deformacją prawej kończyny dolnej, brakiem prawej kończyny górnej oraz rozległymi zmianami skórnymi okolicy prawego dołu pachowego, prawego barku, prawej części tułowia, szerzącymi się w kierunku kończyny dolnej. W obrębie zajętych obszarów skóry na podłożu rumieniowym stwierdzono obecność dużych łusek koloru żółto-brązowego, łatwych do oddzielenia od podłoża podczas badania. Okolice ciała pokryte powyższymi zmianami skórnymi nie wykazywały zmiany ucieplenia, jak również ich palpacja nie wiązała się z wyraźną tkliwością. Po przeanalizowaniu całości obrazu klinicznego i przeprowadzonych badań

dotychczasowych rozpoznano zespół CHILD. Rozpoczęto terapię 2% maścią simwastatyny stosowaną dwa razy na dobę. Już po trzech tygodniach leczenia zaobserwowano osłabienie stanu zapalnego oraz redukcję pogrubienia i złuszczenia w obrębie skóry. Po sześciu tygodniach stosowanej terapii stwierdzono normalizację stanu miejscowego z pozostałą jedynie dyskretną pozapalną hipopigmentacją. Dawkowanie preparatu zmniejszono do 1-2 razy na tydzień, a podczas dalszej 10-miesięcznej obserwacji nie wykazano nawrotu zmian skórnych.

Opis skutecznego stosowania miejscowej simwastatyny u 10-letniej pacjentki z rozpoznaniem zespołu CHILD przedstawili w 2015 roku Alexopoulos i Kakourou. [185] U chorej występowało istotne zniekształcenie prawej kończyny górnej, a w obrębie rumieniowo zmienionej skóry obserwowano rozległe złuszczenie. W związku z brakiem poprawy w zakresie występujących zmian skórnych po miejscowym zastosowaniu emolientów, preparatów keratolitycznych i inhibitorów kalcyneuryny, po uzyskaniu świadomej zgody rodziców rozpoczęto miejscowe leczenie maścią zawierającą 0,5% simwastatynę i cholesterol dwa razy dziennie. Pacjentkę kontrolowano w odstępach tygodniowych przez pierwszy miesiąc stosowania terapii, a następnie zwiększono stężenie simwastatyny do 2%. Kolejne wizyty przeprowadzono po 3 miesiącach od włączenia leczenia i w odstępach 3-miesięcznych do czasu publikacji wyników leczenia. Po pierwszych 3 miesiącach terapii zmniejszono częstotliwość stosowania maści do dwóch razy dziennie, co drugi dzień. W wyniku stosowanej terapii nie stwierdzono istotnych zmian w zakresie wykładników laboratoryjnych: morfologii, mocznika, elektrolitów, cholesterolu, parametrów funkcji wątroby, które oceniane były co dwa miesiące przez cały okres leczenia. Świąd skóry ustąpił po pierwszym tygodniu terapii, znaczącą poprawę w zakresie rumienia i złuszczenia obserwowano już po około 2 tygodniach, zgrubienie skóry związane z lichenifikacją znacząco zmniejszyło się po 4 tygodniach, natomiast pozapalna hipopigmentacja była jedyną utrzymującą się skórną manifestacją choroby po 2-miesięcznym okresie leczenia.

W literaturze znaleźć można również opis przypadku 2-miesięcznej dziewczynki z rozległymi zmianami skórnymi w przebiegu zespołu CHILD, u której zastosowano miejscowo lotion zawierający 2% lowastatynę i 2% cholesterol. [186] U chorej podobnie jak w przypadku poprzednich opisów przypadków występowały zmiany skórne obejmujące rumień i rozległe złuszczenie. Znaczącą poprawę miejscową obserwowano już po 2-tygodniowym okresie

terapii, natomiast po 8 tygodniach stwierdzono całkowitą remisję, po czym zmodyfikowano schemat stosowania preparatu na 3 razy tygodniowo.

W 2016 roku Raposio i wsp. opublikowali wyniki badania klinicznego, w którym oceniono wpływ miejscowego zastosowania simwastatyny na skuteczność leczenia pacjentów z przewlekłymi naczyniopochodnymi owrzodzeniami kończyn dolnych. [187] Do badania włączono 15 pacjentów, u których analizie poddano łącznie 20 owrzodzeń. Kryteria włączenia do badania obejmowały: naczyniopochodne tło owrzodzeń oraz utrzymywanie się zmian od co najmniej 3 miesięcy. Pacjenci niepełnoletni, kobiety ciężarne lub karmiące piersią, chorzy z owrzodzeniami pochodzenia innego niż naczyniowe oraz chorzy w ciężkim stanie klinicznym z powodów sercowo-naczyniowych, pulmonologicznych czy onkologicznych byli wykluczani z badania. Pacjentów losowo przydzielono do grup zgodnie z poniższym: 1) grupa badana – 7 chorych z łącznie 11 owrzodzeniami, u których stosowano krem zawierający 0,5% simwastatynę 2) grupa kontrolna – 8 chorych z łącznie 9 owrzodzeniami, u których stosowano kolagenowy opatrunek w postaci gąbki (Suprasorb C). Okres obserwacji obejmował 4 tygodnie z wizytami prowadzonymi w odstępach jednotygodniowych. Pierwszorzędowym punktem końcowym badania była ocena zmian powierzchni owrzodzeń po miesiącu terapii, natomiast do drugorzędowych punktów końcowych zaliczono częstość całkowitego wyleczenia owrzodzenia oraz wystąpienie działań niepożądanych. Analizy powierzchni dokonano przy użyciu oprogramowania ImageJ 1.48 (NIH, Bethesda, Maryland, USA). Na podstawie uzyskanych wyników stwierdzono, że po miesiącu terapii bezwzględna powierzchnia owrzodzeń zmniejszyła się szybciej i w większym stopniu w grupie badanej niż w grupie kontrolnej, średnia zmiana powierzchni odpowiednio $10,83 \text{ cm}^2 \pm 10,45 \text{ cm}^2$ vs. $5,06 \text{ cm}^2 \pm 2,18 \text{ cm}^2$, średnie dobowe tempo zmiany powierzchni odpowiednio $0,39 \text{ cm}^2/\text{d} \pm 0,37 \text{ cm}^2/\text{d}$ vs. $0,18 \text{ cm}^2/\text{d} \pm 0,08 \text{ cm}^2/\text{d}$. W zakresie obu badanych parametrów różnice nie były istotne statystycznie, odpowiednio $p=0,123$ i $p=0,124$. W przeciwieństwie do powyższych wyników, procentowa zmiana powierzchni owrzodzeń różniła się istotnie pomiędzy grupami i wynosiła 46,88% w grupie badanej i 64% w grupie kontrolnej, $p=0,0397$. Na przestrzeni całego okresu badania nie obserwowano działań niepożądanych związanych z miejscowym zastosowaniem preparatów. We wnioskach płynących z przeprowadzonego badania autorzy podkreślili, że użycie miejscowej simwastatyny jest bezpieczne, jednak nie wiązało się z większą skutecznością 4-tygodniowej terapii przewlekłych, naczyniopochodnych owrzodzeń kończyn dolnych. Zgodnie z wnioskami autorów badania należy zwrócić uwagę na ograniczenia

opracowania z powodu małej grupy włączonych pacjentów, a także jednoczesnej analizy skuteczności terapii owrzodzeń powstałych na podłożu zaburzeń układu żylnego jak i tętniczego, przy czym wiadomym faktem jest, że owrzodzenia powstałe na podłożu miażdżycy tętnic kończyn dolnych są trudniejsze do leczenia bez skutecznej rewaskularyzacji. Skuteczność miejscowego stosowania simwastatyny u pacjentów z łuszczycą plackowatą była analizowana w randomizowanym badaniu, którego wyniki opublikowali w 2014 r. Iraj i wsp. [188] Do badania włączono 80 pacjentów w wieku 20-60 lat, z łagodną/umiarkowaną postacią łuszczycy plackowatej z zajęciem do 20% powierzchni ciała. Wielkość zmian skórnych zgodnie z protokołem badania musiała być większa niż 2 x 2 cm, ale mniejsza niż 15 x 15 cm. Kobiety ciężarne lub karmiące piersią, pacjenci z niestabilną postacią łuszczycy, z łuszczycą krostkową, zajęciem jedynie skóry głowy, paznokci, powierzchni zgięciowych kończyn lub rąk i stóp, jak również chorzy z upośledzeniem funkcji nerek, alergią na analogi witaminy D3 byli wykluczeni z badania. Z 80 pacjentów włączonych do badania 4 chorych zostało wykluczonych z powodu progresji zmian skórnych, kolejnych 5 zrezygnowało z dalszego uczestnictwa w projekcie, natomiast cały cykl terapii ukończyło łącznie 71 chorych. Wszyscy włączeni do badania pacjenci z grupy A i B (po 40 na każde ramię badania) stosowali maść zawierającą 0,005% kalcypotriol dwa razy na dobę. Dodatkowo, pacjenci z grupy B otrzymali również maść zawierającą 3% simwastatynę do nakładania dwa razy dziennie. Wszyscy chorzy otrzymali zalecenie zgłaszania jakichkolwiek działań niepożądanych (m. in. rumień, pieczenie, świąd) przez cały 12-tygodniowy czas trwania terapii. Ocena poprawy, jak również występowania efektów ubocznych terapii była przeprowadzona wyjściowo i w 4, 8 i 12 tygodniu leczenia. Na każdej wizycie wykonano dokumentację fotograficzną przy użyciu aparatu Power Shot G12 marki Canon. Skuteczność leczenia oceniano za pomocą skali PASI. Subiektywnej oceny nasilenia choroby dokonywali pacjenci za pomocą dziesięciopunktowej skali analogowej *Patient Global Assessment (PGA)*, gdzie 0 punktów oznaczało brak poprawy, natomiast 10 najlepszą możliwą poprawę kliniczną. Analiza statystyczna populacji badanej nie wykazała istotnych różnic w zakresie wieku, płci i wyjściowej wartości w skali PASI pomiędzy grupami. Po 12-tygodniowym okresie leczenia zmiana procentowa w zakresie PASI wynosiła 63% i 70% odpowiednio dla grupy A i B. Analiza wyników przy użyciu ANOVY wykazała istotną redukcję wyniku w skali PASI dla każdej z grup w okresie 12 tygodni badania (w obu przypadkach $p=0,001$). Na podstawie analizy z zastosowaniem testu t-Studenta pacjenci z grupy B odnieśli większe korzyści z leczenia niż chorzy z grupy A ($p=0,04$) w 4 tygodniu terapii, jednak istotności

tej nie obserwowano już w tygodniu 8 i 12 (odpowiednio $p=0,43$ i $p=0,603$). W zakresie oceny skuteczności leczenia dokonywanej przez pacjentów nie stwierdzono istotnych statystycznie różnic, jednak obserwowano trend w kierunku większej skuteczności terapii w grupie B. Wyniki tego badania nie wykazały istotnych korzyści płynących z dodania maści zawierającej simwastatynę u pacjentów z łuszczycą plackowatą.

Ooi i wsp. opublikowali w 2015 roku wyniki badania oceniającego efekt terapeutyczny miejscowo stosowanej atorwastatyny u pacjentów z zespołem suchego oka. [152] Do badania pilotażowego włączono 10 pacjentów z rozpoznaniem zespołu suchego oka i zapaleniem brzegów powiek. Wszyscy pacjenci leczeni byli miejscowo stosowaną atorwastatyną w stężeniu $50 \mu\text{M}$, 8 razy dziennie przez 4 tygodnie, przy czym dozwolona była kontynuacja wcześniejszej terapii zespołu suchego oka. Wizyty kontrolne odbywały się w odstępach tygodniowych przez 4 tygodnie trwania badania. Pierwszorzędowym punktem badania była ocena wyników barwienia rogówki fluoresceiną, natomiast drugorzędowe punkty końcowe obejmowały czas przerwania filmu łzowego, test Schirmera, nasilenie zapalenia brzegów powiek, nasilenie przekrwienia spojówki gałkowej. W zakresie pierwszorzędowego punktu końcowego poprawę o >1 punkt uzyskano u 9/10 włączonych pacjentów ($p<0,01$). Miejscowa atorwastatyna wpłynęła na znaczącą poprawę czasu przerwania filmu łzowego ($p<0,01$), nasilenia zapalenia brzegów powiek ($p<0,05$) oraz przekrwienia spojówki gałkowej ($p<0,05$). Ocena nasilenia objawów dokonywana przez samych pacjentów również istotnie się poprawiła ($p<0,05$). W przebiegu zastosowanego leczenia nie obserwowano działań niepożądanych. W podsumowaniu niniejszego badania autorzy wskazali na skuteczność miejscowej atorwastatyny w leczeniu zespołu suchego oka, jednocześnie zwrócili uwagę na ograniczenie mocy badania wynikające z małej grupy włączonych pacjentów.

Miejscowo stosowana atorwastatyna wykazała skuteczność w leczeniu rany pooperacyjnej i łagodzeniu bólu po zabiegu hemoroidektomii. [189] W 2017r. Ala i wsp. opublikowali wyniki prospektywnego, podwójnie zaślepionego randomizowanego, kontrolowanego placebo badania, w którym 66 pacjentów poddanych hemoroidektomii z powodu żylaków odbytu stopnia III i IV zostało zrandomizowanych do następujących ramion: 1) pacjenci otrzymujący 2% atorwastatynę w postaci żelu oraz 2) pacjenci otrzymujący placebo. Preparaty były zastosowane bezpośrednio po zabiegu operacyjnym, a następnie co 12 godzin przez kolejnych 14 dni. Punktami końcowymi badania były: ocena nasilenia bólu w spoczynku oraz podczas defekacji mierzona za pomocą skali analogowej, jak również zapotrzebowanie na leki

przeciwbólowe mierzone za pomocą zużycia petydyny i acetaminofenu oraz stopień gojenia rany. W badaniu nie stwierdzono istotnych różnic między grupami w zakresie nasilenia bólu w pierwszych 48 godzinach po zabiegu operacyjnym ($p_{12h}=1$, $p_{24h}=0,128$ i $p_{48h}=0,079$), natomiast po 1 tygodniu terapii stopień nasilenia bólu podczas defekacji był istotnie niższy w grupie stosującej atorwastatynę w porównaniu z grupą placebo ($2,52 \pm 1,90$ vs $4,06 \pm 2,25$, $p=0,004$), co obserwowano również po 2 tygodniach leczenia ($1,24 \pm 1,11$ vs $1,97 \pm 1,6$, $p=0,03$). Nie stwierdzono istotnej różnicy w zakresie zapotrzebowania na petydynę i acetaminofen w ciągu 12h i 24h po zabiegu operacyjnym. Pacjenci z grupy placebo używali jednak istotnie więcej acetaminofenu w okresie pomiędzy 48h a 1 tygodniem leczenia oraz pomiędzy 1 a 2 tygodniem terapii, odpowiednio $4,22 \text{ mg} \pm 3,15 \text{ mg}$ vs $2,59 \text{ mg} \pm 1,99 \text{ mg}$, $p=0,027$ oraz $4 \text{ mg} \pm 5,25 \text{ mg}$ vs $1,7 \text{ mg} \pm 2,75 \text{ mg}$, $p=0,043$. Gojenie rany u pacjentów stosujących atorwastatynę przebiegało lepiej, na podstawie analizy skali ocenianej przez chirurga podczas wizyt kontrolnych uzyskano istotną różnicę w 14 dniu leczenia ($p=0,04$). Autorzy wywnioskowali, że w porównaniu z placebo, miejscowo stosowana atorwastatyna zmniejszała ból zarówno spoczynkowy, jak i podczas defekacji oraz wykazała potencjał poprawy przebiegu leczenia po zabiegu hemoroidektomii. Jednocześnie zwrócili oni uwagę na konieczność przeprowadzenia większych badań obejmujących licznieszą populację pacjentów, co miałoby na celu potwierdzenie niniejszych obserwacji.

Ghasemi i wsp. opublikowali w 2018r. wyniki randomizowanego, podwójnie zaślepionego, kontrolowanego placebo badania klinicznego, w którym oceniono skuteczność miejscowego zastosowania żelu zawierającego 1% atorwastatynę na ostre uszkodzenia skóry związane z radioterapią w przebiegu raka piersi. [190] Do badania włączono 70 pacjentek obciążonych rakiem piersi, które następnie zrandomizowano do jednego z dwóch ramion badania: 1) ramię aktywne ($n=34$), w którym pacjentki stosowały 1% żel zawierający atorwastatynę lub 2) ramię kontrolne ($n=36$), w którym stosowano żel zawierający placebo. Odczyn popromienny oceniano w skali *Radiation Therapy Oncology Group* - RTOG (0-4 pkt, gdzie 0 punktów oznacza brak odczynu, a 4 punkty – owrzodzenie i martwicę skóry). Wywołane radioterapią obrzęki, świąd oraz ból w obrębie miejsca napromieniania oceniono za pomocą skal analogowych w okresie 6 tygodni leczenia. Zastosowanie żelu z atorwastatyną wiązało się z odpowiednio 1,8- ($p=0,02$), 1,7- ($p=0,03$) i 1,5-krotnym ($p=0,02$) zmniejszeniem nasilenia powyższych parametrów. W zakresie popromiennego zapalenia skóry różnica w skali wg RTOG po 6 tygodniach leczenia nie uzyskała istotności statystycznej między grupami ($1,00 \pm 0,6$ vs $0,72 \pm$

0,71, $p=0,09$). Miejscowe zastosowanie preparatu atorwastatyny może być skuteczną metodą zmniejszającą popromienne objawy obejmujące obrzęk, świąd i ból u pacjentów leczonych z powodu raka piersi.

Randomizowane, podwójnie zaślepienie badanie kliniczne przeprowadzone przez Sobhana i wsp. z 2019 r. miało na celu porównanie skuteczności działania i profilu bezpieczeństwa lotionu zawierającego 5% atorwastatynę i lotionu z 0,1% betametazonem u pacjentów leczonych z powodu łojotokowego zapalenia skóry głowy. [191] W badaniu tym analizie poddano łącznie 86 pacjentów z łagodną/umiarkowaną postacią łojotokowego zapalenia skóry, którzy zrandomizowani zostali do dwóch ramion badania zgodnie z poniższym: 1) grupa stosująca lotion zawierający 5% atorwastatynę ($n=45$) oraz 2) grupa stosująca lotion zawierający 0,1% betametazon ($n=41$). Powyższe preparaty stosowane były raz dziennie przez okres 4 tygodni. Wszyscy uczestnicy badania stosowali dodatkowo szampon zawierający 2% ketokonazol trzy razy w tygodniu. Stopień nasilenia procesu chorobowego oceniony był wyjściowo i po 4 tygodniach trwania terapii za pomocą skali nasilenia objawów SSSD (*Symptom Scale of Seborrheic Dermatitis*). Na podstawie uzyskanych wyników badania nie stwierdzono istotnych statystycznie różnic pomiędzy grupami badanymi w zakresie zmian skali SSSD w okresie stosowania leczenia ($p=0,65$), jak również w zakresie satysfakcji pacjenta z prowadzonej terapii ($p=0,49$). Działania niepożądane wystąpiły u 7 (13,47%) i 6 (12%) pacjentów z grupy odpowiednio stosującej atorwastatynę i betametazon. Należały do nich świąd i podrażnienie, natomiast żaden z pacjentów nie doświadczył poważnych lub ogólnoustrojowych działań niepożądanych. Z badania zrezygnowało 2 uczestników z grupy stosującej atorwastatynę i 1 z grupy stosującej betametazon z powodu trudnych do zaakceptowania działań niepożądanych, jednak żadne z tych działań nie zostało zakwalifikowane jako poważne lub powodujące istotne powikłania dla pacjenta. Należy więc uznać, że miejscowo stosowana atorwastatyna była dobrze tolerowana, a częstość występowania działań niepożądanych nie różniła się istotnie między grupami. W ograniczeniach niniejszego badania autorzy zwracają uwagę na niezbyt liczną populację pacjentów włączonych do badania, prowadzenie badania jedynie u chorych z łagodną/umiarkowaną postacią łojotokowego zapalenia skóry, niedoskonałą formułę miejscowej atorwastatyny wymagającą udoskonalenia w przypadku prowadzenia dalszych badań nad jej zastosowaniem, a także użycie jedynie atorwastatyny, wobec czego nieznane pozostają efekty działania innych statyn. Co więcej, wyniki powyższego badania mogą nie

przekładać się na efekty leczenia w populacji ogólnej z uwagi na przewidywaną gorszą współpracę z chorym, szczególnie w zakresie przestrzegania zaleceń dotyczących stosowania leków, ponieważ w niniejszym badaniu pacjenci byli skrupulatnie i szczegółowo instruowani co do schematu leczenia, co nie zawsze jest możliwe w innych sytuacjach.

Stworzenie preparatu miejscowego simwastatyny było przedmiotem badania, w którym Ashtiani i wsp. w roku 2021 uzyskali przenośniki nanolipidowe zawierające simwastatynę (simNLC). [192] Do tego celu użyto metody ultra-sonikacji – faza lipidowa i wodna zostały oddzielnie podgrzane do 75°C, następnie simwastatynę rozproszono w fazie lipidowej i zmieszano z fazą wodną, a roztwór homogenizowano przez 1 minutę. Analiza właściwości fizykochemicznych uzyskanej substancji wykazała jej wysoką stabilność oraz odpowiedni profil uwalniania leku. Ocena bezpieczeństwa simwastatyny o stężeniu 0,4% w postaci simNLC została przeprowadzona u 15 zdrowych ochotników. SimNLC oraz placebo NLC aplikowano na zgięciową powierzchnię przedramion dwa razy na dobę i oceniono właściwości biofizyczne skóry obejmujące nawodnienie, pH, przeznaskórkową utratę wody oraz wskaźniki melaniny i rumienia wyjściowo oraz po 10 dniach stosowania preparatów. Na podstawie uzyskanych pomiarów nie stwierdzono istotnych różnic pomiędzy grupami w zakresie żadnego z ocenianych parametrów. Autorzy zaznaczają, że niniejsza postać miejscowa simwastatyny może zatem być bezpiecznie wykorzystana do leczenia pacjentów obciążonych bielactwem nabytym.

Jedynym dotychczas przedstawionym w literaturze doniesieniem dotyczącym zastosowania miejscowego statyn w bielactwie nabytym jest opublikowany w 2022 r. przez Hu i wsp. opis przypadku 34-letniej Chinki obciążonej bielactwem nabytym, u której nie obserwowano poprawy po izolowanym zastosowaniu wąskopasmowego promieniowania UVB (NB-UVB) stosowanym przez okres 8 miesięcy. [193] Miejscowy preparat simwastatyny uzyskano poprzez rozpuszczenie tabletek leku (140 mg) w 100 ml roztworu glicerolu, dzięki czemu uzyskano roztwór simwastatyny o stężeniu 0,11%. Następnie uzyskany preparat stosowano miejscowo na skórę dwa razy na dobę wraz z terapią NB-UVB dwa razy w tygodniu. Początkowa dawka promieniowania wynosiła 400 mJ/cm² i była stopniowo zwiększana aż do uzyskania dawki maksymalnej 1200 mJ/cm². W początkowej fazie leczenia stwierdzono łagodne zapalenie mieszków włosowych, co stanowiło jedyne obserwowane działanie niepożądane na powierzchni skóry poddanej terapii. Znaczną repigmentację plam bielactwych

stwierdzono po około 4 miesiącach leczenia, a łączny okres terapii z zastosowaniem maksymalnej dawki NB-UVB wynosił 9 tygodni. W wyniku zastosowanej terapii stopień repigmentacji wyniósł 95%. Fototerapię stosowano do końca 4 miesiąca leczenia, po czym pacjentce zalecono włączenie podtrzymującej terapii 0,1% preparatem miejscowym takrolimusu dwa razy w tygodniu, w wyniku czego uzyskano trwałą remisję. Autorzy, podsumowując niniejsze doniesienie, zaznaczają, że połączenie NB-UVB z miejscowym preparatem simwastatyny może być potencjalnie skuteczną metodą leczenia bielactwa nabytego, a niniejszy opis przypadku jest pierwszym na świecie doniesieniem prezentującym skuteczne zastosowanie połączenia NB-UVB z miejscowo stosowaną simwastatyną.

Badanie EVRAAS, stanowiące niniejszą pracę doktorską, jest pierwszym na świecie klinicznym badaniem oceniającym wpływ miejscowego leczenia statynami na repigmentację plam odbarwieniowych u pacjentów z aktywną postacią bielactwa nabytego. Wśród jego niepodważalnych atutów należy podkreślić, że zostało ono zaprojektowane jako randomizowane, podwójnie zaślepienie, kontrolowane placebo, co niewątpliwie zwiększa jego wartość naukową. Uwzględniając aspekty patofizjologiczne bielactwa nabytego oraz mechanizm działania plejotropowego statyn można oczekiwać ich korzystnego wpływu na przebieg choroby. W oparciu o dotychczasowe doniesienia naukowe dotyczące ogólnoustrojowego zastosowania statyn w bielactwie nabytym można oczekiwać ich skuteczności jedynie w maksymalnych dobowych dawkach, co niesie za sobą ryzyko istotnych klinicznie działań niepożądanych. Ryzyko toksyczności ogólnoustrojowej stanowi niezaprzeczalny czynnik ograniczający możliwość doustnego stosowania statyn w schorzeniach dermatologicznych, szczególnie u pacjentów nieposiadających jednoznacznych wskazań do leczenia hipolipemizującego. Z drugiej strony, wykazano skuteczność miejscowego zastosowania statyn w opisanych powyżej jednostkach chorobowych przy jednoczesnym korzystnym profilu bezpieczeństwa terapii. Uwzględniając potencjalne korzyści z zastosowania statyn u pacjentów z bielactwem nabytym, jak również fakt ich skuteczności w przypadku miejscowej aplikacji w innych jednostkach chorobowych wysunęliśmy propozycję nowatorskiego badania pilotażowego.

O wartości niniejszego badania świadczy ponadto skrupulatnie zorganizowany schemat procedur terapeutycznych, którym poddawani byli jego uczestnicy. Badanie przeprowadzone zostało w porach roku minimalizujących korzystny wpływ promieniowania UV na przebieg

kliniczny choroby. Należy w tym miejscu szczególnie podkreślić, że oba preparaty zawierające substancje czynne, jak i preparaty zawierające jedynie podłoże badane były na identycznym modelu biologicznym, w jednakowych warunkach środowiskowych, przy zbliżonej lokalizacji oraz powierzchni skóry zajętej procesem chorobowym. Każdy pacjent aplikował oba badane preparaty na określoną w procesie randomizacji kończynę górną i dolną, a preparaty zawierające jedynie podłoże na kończyny po przeciwnej stronie ciała. Warto zwrócić uwagę, że NSV związane jest z symetrycznym, choć nierównomiernym rozmieszczeniem plam odbarwieniowych, co pozwala oczekiwać, że możliwe było porównanie skuteczności substancji aktywnej stosowanej na daną kończynę z kontrolą negatywną.

W celu minimalizacji rozbieżności w ocenie klinicznej zmian odbarwieniowych badanie prowadzone było przez jednego badacza (doktorantkę). Wizyty odbywały się w tym samym pokoju badań klinicznych przez cały czas trwania badania, dokumentacja fotograficzna wykonywana była za pomocą tego samego sprzętu, cyfrowego aparatu fotograficznego Nikon D5500 przy zachowaniu należytej staranności dotyczącej zapewnienia porównywalnego natężenia światła w pomieszczeniu. Kolejnym atutem niniejszego badania jest fakt, że pomiarów powierzchni plam bielaczych dokonywano metodą planimetryczną z zastosowaniem oprogramowania NIS Elements firmy Nikon, co znacząco wpłynęło na precyzję pomiaru, dzięki czemu zwiększyło wartość uzyskanych wyników.

Do ograniczeń badania należy zaliczyć małą grupę włączonych pacjentów, co może wpływać na jednoznaczność uzyskanych wyników. Podkreślenia wymaga także fakt, że prawidłowy przebieg badania oparty był na konieczności ścisłej współpracy z pacjentem, ocenianej pośrednio za pomocą masy zużytych maści. Stopień złożoności protokołu badania (wymagane było stosowanie czterech rodzajów maści dwa razy dziennie na odpowiednie kończyny) niósł za sobą ryzyko niezastosowania się do zaleceń, których realizację monitorowano podczas wizyt kontrolnych odbywających się w odstępach czterotygodniowych. Kolejnym ograniczeniem jest możliwość błędu pomiaru wynikającego z faktu stosowania metody planimetrycznej na dwuwymiarowych fotografiach obrazujących plamy bielacze znajdujące się na trójwymiarowej strukturze jaką są kończyny. Stosowane w badaniu maści zawierające 1% sól sodową kwasu simwastatyny i 1% sól wapniową atorwastatyny sporządzone zostały na podstawie dostępnej literatury oraz wiedzy farmaceutycznej, jednak nie są one zarejestrowanymi preparatami leczniczymi, a stanowią jedynie terapię eksperymentalną.

Zgodnie z Deklaracją Helsińską oraz Ustawą o Zawodzie Lekarza i Lekarza Dentysty z 1996r. nowe metody terapeutyczne należy porównywać z metodą o najlepszej skuteczności, w przypadku NSV takie metody stanowi fototerapia UVB 311nm oraz TCS i TCI. [1] Zastosowanie placebo jest dopuszczalne w uzasadnionym metodologicznie przypadku, gdy pacjenci nie będą z tego powodu narażeni na dodatkowe ryzyko. Z uwagi na częstość aplikacji preparatów w badaniu EVRAAS, niezwyfikowany w badaniach klinicznych ich profil bezpieczeństwa, krótki czas trwania badania i niskie ryzyko doznania szkody wynikającej z niestosowania sprawdzonej metody terapeutycznej zastosowano jedynie preparaty badane, których skuteczność porównano z placebo.

W związku z brakiem w literaturze światowej badań klinicznych oceniających skuteczność miejscowego stosowania statyn w leczeniu bielactwa nabytego, nie ma możliwości odniesienia wyników badania EVRAAS do innych obserwacji klinicznych. W niniejszym badaniu miejscowe zastosowanie 1% soli sodowej kwasu simwastatyny oraz 1% soli wapniowej atorwastatyny nie pozwoliło na uzyskanie istotnej repigmentacji u pacjentów obciążonych bielactwem nabytym, ocenianej miarą redukcji powierzchni plam bielactwych oraz wynikiem wskaźnika BSA i VASI po 12-tygodniowym okresie leczenia w porównaniu z maściami niezawierającymi substancji aktywnych. Niemniej, zwrócić należy uwagę na zahamowanie progresji choroby, które stwierdzono istotnie częściej w przypadku zastosowania 1% soli sodowej kwasu simwastatyny niż w przypadku stosowania placebo, czego nie obserwowano w obrębie kończyn, na które aplikowano 1% sól wapniową atorwastatyny ($p=0,0039$ dla simwastatyny, $p=0,0822$ dla atorwastatyny). Dodatkowo, w obrębie kończyn, na które stosowano maści zawierające substancje aktywne w porównaniu z placebo brak jakiegokolwiek poprawy wystąpił istotnie rzadziej ($p=0,0084$ dla simwastatyny vs placebo w zakresie powierzchni bezwzględnej, $p=0,0413$ w zakresie BSA i VASI, $p=0,0429$ dla atorwastatyny vs placebo). Powyższe obserwacje, wraz z analizą mocy badania dają podstawy, by oczekiwać wyraźniejszych różnic pomiędzy ocenianymi parametrami w przypadku przedłużenia aktywnej fazy badania i/lub zwiększenia liczebności grup badanych, jednak w grupie stosującej atorwastatynę analiza liczebności wskazuje na konieczność nawet kilkusetkrotnego zwiększenia grupy w celu uzyskania istotnych statystycznie wyników. Na tej podstawie uzasadnione wydaje się być jedynie rozważenie użycia miejscowego preparatu simwastatyny do dalszych badań.

7. Wnioski

- zastosowanie 1% soli sodowej kwasu simwastatyny i 1% soli wapniowej atorwastatyny u pacjentów z aktywną postacią bielactwa nabytego nie prowadzi do repigmentacji plam bielactwowych
- zastosowanie 1% soli sodowej kwasu simwastatyny u pacjentów z aktywną postacią bielactwa nabytego hamuje progresję choroby
- zastosowanie 1% soli wapniowej atorwastatyny u pacjentów z aktywną postacią bielactwa nabytego nie hamuje progresji choroby

8. Streszczenia

Ocena stopnia repigmentacji plam bielaczych po miejscowym zastosowaniu 1% soli sodowej kwasu simwastatyny i 1% soli wapniowej atorwastatyny u pacjentów z aktywną postacią bielactwa nabytego

Bielactwo nabyte (*vitiligo*) to autoimmunologiczna/autozapalna choroba skóry, charakteryzująca się występowaniem wyraźnie odgraniczonych od otoczenia, odbarwionych plam o różnych kształtach i rozmiarach. Odbarwienia mogą również obejmować błony śluzowe, włosy czy aparat paznokciowy. Depigmentacja jest wynikiem początkowo dysfunkcji, a następnie zniszczenia melanocytów, które znajdują się w warstwie podstawnej naskórka oraz w mieszkach włosowych. Charakteryzująca bielactwo nabyte utrata prawidłowych melanocytów ma mechanizm wieloczynnikowy. Pośród teorii tłumaczących etiologię choroby należy wymienić czynniki genetyczne, autoimmunologiczne, stresu oksydacyjnego, autozapalne, neurogenne, zaburzeń przylegania (melanocytorrhagia), niemniej żaden z proponowanych mechanizmów nie wydaje się być wystarczający. Obecnie uważa się, że bielactwo nabyte ujawnia u osób predysponowanych genetycznie, na które zadziały różne niekorzystne czynniki zewnętrzne (środowiskowe) i wewnętrzne, indukujące stres komórkowy w melanocytach, przez co dochodzi do aktywacji mechanizmów autoimmunologicznych i autozapalnych.

Leczenie bielactwa nabytego jest ogromnym wyzwaniem współczesnej dermatologii. Aktualnie obowiązujące zalecenia proponują wiele metod leczenia obejmujących: preparaty miejscowe (glikokortykosteroidy, inhibitory kalcyneuryny, inhibitory kinaz janusowych), fototerapię (NB-UVB 311nm, PUVA), ogólnoustrojowe glikokortykosteroidy, zabiegi chirurgiczne polegające na przeszczepie naskórka, metody łączone a także zabiegi kamuflażu czy depigmentacyjne. Skuteczność terapii jest wciąż ograniczona, metody te są często kosztowne, a ich stosowanie – czasochłonne.

Statyny są powszechnie stosowanymi preparatami w leczeniu hipercholesterolemii, ale według dotychczasowych badań pozytywny wpływ na pierwotną i wtórną prewencję incydentów sercowo-naczyniowych może ściśle korelować z działaniami wykraczającymi poza hamowanie syntezy cholesterolu. Statyny hamują proliferację autoreaktywnych limfocytów T (CD8+), zmniejszają produkcję IFN- γ , zwiększają produkcję przeciwzapalnych cytokin: IL-4, IL-5 i IL-10, powodują przesunięcie różnicowania limfocytów T w kierunku odpowiedzi Th2-zależnej. W wyniku ich działania obserwuje się również spadek różnicowania limfocytów w

kierunku komórek Th17 oraz nasilenie różnicowania limfocytów T regulatorowych. Całość tych działań skutkuje zahamowaniem procesów zapalnych i uzyskaniem immunotolerancji. Statyny powodują również anergię limfocytów spowodowaną upośledzeniem ich migracji i zmniejszeniem napływu do tkanek zmienionych zapalnie. Dotychczasowe doniesienia dotyczące zastosowania statyn podawanych ogólnoustrojowo u pacjentów z bielactwem nabytym wskazują na ich skuteczność w maksymalnych dobowych dawkach. Uwzględniając aspekty patogenetyczne bielactwa nabytego oraz profil działania statyn, zaplanowano ocenę skuteczności tych leków u pacjentów z bielactwem nabytym. Z uwagi na wysokie prawdopodobieństwo nietolerancji oraz ewentualne działania niepożądane (szczególnie ryzyko rozwoju miopatii, rabdomiolizy) w przypadku ogólnoustrojowego stosowania statyn w wysokich dawkach, a także biorąc pod uwagę cechy substancji umożliwiające przenikanie cząsteczek do skóry, podjęliśmy próbę oceny wpływu statyn aplikowanych miejscowo na plamy bielacze.

Badanie EVRAAS zostało zaprojektowane jako pilotażowe, jednośrodkowe, randomizowane, podwójnie zaślepione, kontrolowane placebo. Faza czynna badania była prowadzona w okresie od października do marca w celu wyeliminowania ewentualnego wpływu promieniowania słonecznego na repigmentację plam bielaczych. Populacja badana obejmowała 24 pacjentów z aktywną, kończynowo-twarzową, niesegmentalną postacią bielactwa nabytego. Preparaty badane stanowiły maści zawierające 1% sól sodową kwasu simwastatyny i 1% sól wapniową atorwastatyny. Kontrolą negatywną była maść zawierająca samo podłoże. Badane leki były aplikowane na wybraną kończynę górną i dolną, a maść zawierająca podłoże na kończyny przeciwstawne przez okres 12 tygodni (2 razy na dobę).

Jako pierwszorzędowy punkt końcowy przyjęto ocenę stopnia repigmentacji plam bielaczych po miejscowym zastosowaniu 1% soli sodowej kwasu simwastatyny i 1% soli wapniowej atorwastatyny u pacjentów z aktywną postacią bielactwa nabytego. Do drugorzędowych punktów końcowych należą: odsetek pacjentów, którzy uzyskali redukcję powierzchni bezwzględnej plam bielaczych, skali BSA oraz VASI w zakresie: 0% brak, 1-25% mierna, 26-50% umiarkowana, 51-75% dobra, >75% znakomita; porównanie skuteczności preparatów zawierających simwastatynę i atorwastatynę wśród badanych pacjentów; korelacja pomiędzy czasem trwania choroby oraz pomiędzy dziennym zużyciem maści (ocenianej w gramach na centymetr kwadratowy powierzchni skóry) a stopniem repigmentacji u pacjentów

poszczególnych ramion; ocena częstości występowania działań niepożądanych związanych z leczeniem.

Na podstawie uzyskanych wyników stwierdzono, że zastosowanie 1% soli sodowej kwasu simwastatyny oraz 1% soli wapniowej atorwastatyny u pacjentów z bielactwem nabytym nie pozwoliło uzyskać istotnie lepszej repigmentacji niż zastosowanie maści niezawierającej substancji aktywnych. W obrębie kończyn, na które stosowano miejscowo simwastatynę zahamowanie progresji choroby stwierdzono istotnie częściej niż w przypadku zastosowania placebo ($p=0,004$), natomiast różnica nie była istotna statystycznie w przypadku atorwastatyny ($p=0,082$).

Badanie EVRAAS jest pierwszym na świecie badaniem klinicznym oceniającym skuteczność miejscowo stosowanych preparatów statyn u pacjentów z bielactwem nabytym. Biorąc pod uwagę uzyskane wyniki i analizę mocy badania należy oczekiwać wyraźniejszych różnic między ocenianymi zmiennymi w przypadku zwiększenia liczebności grup badanych lub przedłużenia aktywnej fazy badania.

Abstract:

The evaluation of vitiliginous lesions repigmentation after the administration of 1% simvastatin-acid sodium salt and 1% atorvastatin calcium salt in patients with active vitiligo

Vitiligo is an autoimmune/autoinflammatory skin disease characterized by clearly separated, depigmented patches of various shapes and sizes. Depigmentation can also affect mucous membranes, hair, and the nail apparatus. Depigmentation is the result of dysfunction followed by destruction of melanocytes, which are located in the basal layer of the epidermis and in the hair follicles. The loss of functional melanocytes that characterizes vitiligo has a multifactorial mechanism. The theories explaining the etiology of the disease include genetic, autoimmune, oxidative stress, autoinflammatory, neurogenic factors, adhesion disorders (melanocytorrhagia), but none of the proposed mechanisms seems to be sufficient. Currently, it is believed that vitiligo appears in genetically predisposed individuals, who are affected by various unfavorable external (environmental) and internal factors that induce cell stress in melanocytes, thereby activating autoimmune and autoinflammatory mechanisms.

The treatment of vitiligo is a major challenge in modern dermatology. The current recommendations present many therapeutic approaches including: topical agents (glucocorticoids, calcineurin inhibitors, Janus kinase inhibitors), phototherapy (NB-UVB 311nm, PUVA), systemic glucocorticoids, surgical procedures involving epidermal transplantation, combined methods as well as camouflage or depigmentation treatments. The effectiveness of these methods is still limited. What is more, they are often costly and time-consuming to use.

Statins are commonly used drugs in the treatment of hypercholesterolemia, but according to the contemporary research, a positive effect on the primary and secondary prevention of cardiovascular events may closely correlate with activities beyond the inhibition of cholesterol synthesis. Statins inhibit the proliferation of autoreactive T lymphocytes (CD8+), reduce the production of IFN- γ , increase the production of anti-inflammatory cytokines: IL-4, IL-5 and IL-10, and shift the differentiation of T lymphocytes towards a Th2-dependent response. As a result of their action, a decrease in lymphocyte differentiation towards Th17 cells and an increase in regulatory T-lymphocyte differentiation are also observed. All these activities result in the inhibition of inflammatory processes and lead to obtaining immunotolerance. Statins also cause lymphocyte anergy caused by impaired migration and reduced influx to

inflammatory sites. To date, reports on the use of systemically administered statins in patients with vitiligo indicate their efficacy at the maximum daily doses. Taking into account the pathogenetic aspects of vitiligo and the action profile of statins, an evaluation of the efficacy of these drugs in patients with vitiligo was planned. Due to the high probability of intolerance and possible side effects (especially the risk of developing myopathy or rhabdomyolysis) associated with taking of statins in high daily doses, as well as taking into account the properties of the substances enabling the penetration of particles into the skin, attempt to assess the impact of topically applied statins on vitiliginous lesions has been made.

EVRAAS trial was designed as a pilot, single-center, randomized, double-blind, placebo-controlled trial. The active phase of the study was conducted between October and March in order to eliminate the possible influence of solar radiation on the repigmentation of vitiliginous lesions. The study population consisted of 24 patients with an active, acrofacial nonsegmental form of vitiligo. The study drugs were ointments containing 1% simvastatin sodium salt acid and 1% atorvastatin calcium salt. The negative control was an ointment containing only the vehicle. The study drugs were applied to the selected upper and lower limb, and the ointment containing the vehicle to the opposing limbs for a period of 12 weeks (twice a day).

The primary endpoint was the assessment of the degree of repigmentation of vitiliginous lesions after topical application of 1% atorvastatin calcium salt and 1% simvastatin acid sodium salt in patients with active vitiligo. Secondary endpoints included: percentage of patients who achieved a reduction in absolute area of vitiligo, BSA and VASI scores in the range: 0% none, 1-25% poor, 26-50% moderate, 51-75% good, >75% excellent; comparison of the effectiveness of ointments containing simvastatin and atorvastatin among the studied patients; correlation between the duration of the disease and between the daily use of ointment (estimated in grams per square centimeter of skin surface) and the degree of repigmentation in patients of particular study arms; assessment of the rate of treatment-related adverse events.

Based on the obtained results, it was found that the use of 1% simvastatin acid sodium salt and 1% atorvastatin calcium salt in patients with vitiligo did not allow to achieve significantly better repigmentation than the use of an ointment without active substances. Within the limbs treated with topical simvastatin, inhibition of disease progression was significantly more frequent than in the case of placebo ($p=0.004$), while the difference was not statistically significant for atorvastatin ($p=0.082$).

The EVRAAS study is the first clinical trial in the world to evaluate the effectiveness of topical statin preparations in patients with vitiligo. Taking into account the obtained results and the analysis of the power of the study, more pronounced differences between the assessed variables should be expected in the case of increasing the size of the study groups or extending the active phase of the study.

9. Spis piśmiennictwa:

1. Czajkowski R, Placek W, Flisiak I, Krasowska D, Maj J, Marchlewicz M, et al. Bielactwo nabyte. Rekomendacje diagnostyczno-terapeutyczne Polskiego Towarzystwa Dermatologicznego. *Dermatology Review/Przegląd Dermatologiczny*. 2019;106(1):1-15.
2. Fraczek A, Owczarczyk-Saczonek A, Placek W. The Role of TRM Cells in the Pathogenesis of Vitiligo-A Review of the Current State-Of-The-Art. *Int J Mol Sci*. 2020;21(10).
3. Burgdorf WHC, Plewing G, Wolff HH, Landthaler M, Braun-Falco O. Braun-Falco Dermatologia: Czelej; 2010. 981-1007 p.
4. Karadag R, Esmer O, Karadag AS, Bilgili SG, Cakici O, Demircan YT, et al. Evaluation of ocular findings in patients with vitiligo. *Int J Dermatol*. 2016;55(3):351-5.
5. Akay BN, Bozkir M, Anadolu Y, Gullu S. Epidemiology of vitiligo, associated autoimmune diseases and audiological abnormalities: Ankara study of 80 patients in Turkey. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2010;24(10):1144-50.
6. Frisoli ML, Essien K, Harris JE. Vitiligo: Mechanisms of Pathogenesis and Treatment. *Annu Rev Immunol*. 2020;38:621-48.
7. Ezzedine K, Lim HW, Suzuki T, Katayama I, Hamzavi I, Lan CC, et al. Revised classification/nomenclature of vitiligo and related issues: the Vitiligo Global Issues Consensus Conference. *Pigment Cell Melanoma Res*. 2012;25(3):E1-13.
8. Kruger C, Schallreuter KU. A review of the worldwide prevalence of vitiligo in children/adolescents and adults. *Int J Dermatol*. 2012;51(10):1206-12.
9. Zhang Y, Cai Y, Shi M, Jiang S, Cui S, Wu Y, et al. The Prevalence of Vitiligo: A Meta-Analysis. *PLoS One*. 2016;11(9):e0163806.
10. Sehgal VN, Srivastava G. Vitiligo: compendium of clinico-epidemiological features. *Indian J Dermatol Venereol Leprol*. 2007;73(3):149-56.
11. Boisseau-Garsaud AM, Garsaud P, Cales-Quist D, Helenon R, Queneherve C, Claire RC. Epidemiology of vitiligo in the French West Indies (Isle of Martinique). *Int J Dermatol*. 2000;39(1):18-20.
12. Sandoval-Cruz M, Garcia-Carrasco M, Sanchez-Porrás R, Mendoza-Pinto C, Jimenez-Hernandez M, Munguia-Realpozo P, et al. Immunopathogenesis of vitiligo. *Autoimmun Rev*. 2011;10(12):762-5.
13. Rodrigues M, Ezzedine K, Hamzavi I, Pandya AG, Harris JE, Vitiligo Working G. New discoveries in the pathogenesis and classification of vitiligo. *J Am Acad Dermatol*. 2017;77(1):1-13.
14. Taïeb A, Morice-Picard F, Jouary T, Ezzedine K, Cario-André M, Gauthier Y. Segmental vitiligo as the possible expression of cutaneous somatic mosaicism: implications for common non-segmental vitiligo. *Pigment Cell Melanoma Res*. 2008;21(6):646-52.
15. Attili VR, Attili SK. Segmental and generalized vitiligo: both forms demonstrate inflammatory histopathological features and clinical mosaicism. *Indian J Dermatol*. 2013;58(6):433-8.
16. Spritz RA, Andersen GH. Genetics of Vitiligo. *Dermatol Clin*. 2017;35(2):245-55.
17. Spritz RA. The genetics of generalized vitiligo: autoimmune pathways and an inverse relationship with malignant melanoma. *Genome Medicine*. 2010;2(10):78.
18. Teulings HE, Overkamp M, Ceylan E, Nieuweboer-Krobotova L, Bos JD, Nijsten T, et al. Decreased risk of melanoma and nonmelanoma skin cancer in patients with vitiligo: a survey among 1307 patients and their partners. *Br J Dermatol*. 2013;168(1):162-71.
19. Paradisi A, Tabolli S, Didona B, Sobrino L, Russo N, Abeni D. Markedly reduced incidence of melanoma and nonmelanoma skin cancer in a nonconcurrent cohort of 10,040 patients with vitiligo. *J Am Acad Dermatol*. 2014;71(6):1110-6.
20. Puri N, Mojamdar M, Ramaiah A. In vitro growth characteristics of melanocytes obtained from adult normal and vitiligo subjects. *J Invest Dermatol*. 1987;88(4):434-8.
21. Maresca V, Roccella M, Roccella F, Camera E, Del Porto G, Passi S, et al. Increased sensitivity to peroxidative agents as a possible pathogenic factor of melanocyte damage in vitiligo. *J Invest Dermatol*. 1997;109(3):310-3.

22. Kostyuk VA, Potapovich AI, Cesareo E, Brescia S, Guerra L, Valacchi G, et al. Dysfunction of glutathione S-transferase leads to excess 4-hydroxy-2-nonenal and H₂O₂ and impaired cytokine pattern in cultured keratinocytes and blood of vitiligo patients. *Antioxid Redox Signal*. 2010;13(5):607-20.
23. Dell'Anna ML, Ottaviani M, Albanesi V, Vidolin AP, Leone G, Ferraro C, et al. Membrane lipid alterations as a possible basis for melanocyte degeneration in vitiligo. *J Invest Dermatol*. 2007;127(5):1226-33.
24. Denat L, Kadekaro AL, Marrot L, Leachman SA, Abdel-Malek ZA. Melanocytes as instigators and victims of oxidative stress. *J Invest Dermatol*. 2014;134(6):1512-8.
25. Jimbow K, Chen H, Park JS, Thomas PD. Increased sensitivity of melanocytes to oxidative stress and abnormal expression of tyrosinase-related protein in vitiligo. *Br J Dermatol*. 2001;144(1):55-65.
26. Hasse S, Gibbons NC, Rokos H, Marles LK, Schallreuter KU. Perturbed 6-tetrahydrobiopterin recycling via decreased dihydropteridine reductase in vitiligo: more evidence for H₂O₂ stress. *J Invest Dermatol*. 2004;122(2):307-13.
27. Dell'Anna ML, Ottaviani M, Bellei B, Albanesi V, Cossarizza A, Rossi L, et al. Membrane lipid defects are responsible for the generation of reactive oxygen species in peripheral blood mononuclear cells from vitiligo patients. *J Cell Physiol*. 2010;223(1):187-93.
28. Kang P, Zhang W, Chen X, Yi X, Song P, Chang Y, et al. TRPM2 mediates mitochondria-dependent apoptosis of melanocytes under oxidative stress. *Free Radic Biol Med*. 2018;126:259-68.
29. Wagner RY, Luciani F, Cario-André M, Rubod A, Petit V, Benzekri L, et al. Altered E-Cadherin Levels and Distribution in Melanocytes Precede Clinical Manifestations of Vitiligo. *J Invest Dermatol*. 2015;135(7):1810-9.
30. Jin Y, Mailloux CM, Gowan K, Riccardi SL, LaBerge G, Bennett DC, et al. NALP1 in vitiligo-associated multiple autoimmune disease. *N Engl J Med*. 2007;356(12):1216-25.
31. Yu R, Broady R, Huang Y, Wang Y, Yu J, Gao M, et al. Transcriptome analysis reveals markers of aberrantly activated innate immunity in vitiligo lesional and non-lesional skin. *PLoS One*. 2012;7(12):e51040.
32. Thulasigam S, Massilamany C, Gangaplara A, Dai H, Yarbaeva S, Subramaniam S, et al. miR-27b*, an oxidative stress-responsive microRNA modulates nuclear factor-κB pathway in RAW 264.7 cells. *Mol Cell Biochem*. 2011;352(1-2):181-8.
33. Bergqvist C, Ezzedine K. Vitiligo: A Review. *Dermatology*. 2020;236(6):571-92.
34. Mosenson JA, Zloza A, Nieland JD, Garrett-Mayer E, Eby JM, Huelsmann EJ, et al. Mutant HSP70 reverses autoimmune depigmentation in vitiligo. *Sci Transl Med*. 2013;5(174):174ra28.
35. Henning SW, Fernandez MF, Mahon JP, Duff R, Azarafrooz F, Guevara-Patino JA, et al. HSP70iQ435A-Encoding DNA Repigments Vitiligo Lesions in Sinclair Swine. *J Invest Dermatol*. 2018;138(12):2531-9.
36. Ongenaes K, Van Geel N, Naeyaert JM. Evidence for an autoimmune pathogenesis of vitiligo. *Pigment Cell Res*. 2003;16(2):90-100.
37. Ogg GS, Rod Dunbar P, Romero P, Chen JL, Cerundolo V. High frequency of skin-homing melanocyte-specific cytotoxic T lymphocytes in autoimmune vitiligo. *J Exp Med*. 1998;188(6):1203-8.
38. van den Boorn JG, Konijnenberg D, DelleMijn TA, van der Veen JP, Bos JD, Melief CJ, et al. Autoimmune destruction of skin melanocytes by perilesional T cells from vitiligo patients. *J Invest Dermatol*. 2009;129(9):2220-32.
39. van den Wijngaard R, Wankowicz-Kalinska A, Le Poole C, Tigges B, Westerhof W, Das P. Local immune response in skin of generalized vitiligo patients. Destruction of melanocytes is associated with the prominent presence of CLA⁺ T cells at the perilesional site. *Lab Invest*. 2000;80(8):1299-309.
40. Xie H, Zhou F, Liu L, Zhu G, Li Q, Li C, et al. Vitiligo: How do oxidative stress-induced autoantigens trigger autoimmunity? *J Dermatol Sci*. 2016;81(1):3-9.
41. Harris JE, Harris TH, Weninger W, Wherry EJ, Hunter CA, Turka LA. A mouse model of vitiligo with focused epidermal depigmentation requires IFN-γ for autoreactive CD8⁺ T-cell accumulation in the skin. *J Invest Dermatol*. 2012;132(7):1869-76.

42. Rashighi M, Agarwal P, Richmond JM, Harris TH, Dresser K, Su MW, et al. CXCL10 is critical for the progression and maintenance of depigmentation in a mouse model of vitiligo. *Sci Transl Med.* 2014;6(223):223ra23.
43. Wang XX, Wang QQ, Wu JQ, Jiang M, Chen L, Zhang CF, et al. Increased expression of CXCR3 and its ligands in patients with vitiligo and CXCL10 as a potential clinical marker for vitiligo. *Br J Dermatol.* 2016;174(6):1318-26.
44. Abdallah M, El-Mofty M, Anbar T, Rasheed H, Esmat S, Al-Tawdy A, et al. CXCL-10 and Interleukin-6 are reliable serum markers for vitiligo activity: A multicenter cross-sectional study. *Pigment Cell Melanoma Res.* 2018;31(2):330-6.
45. Harris JE. Cellular stress and innate inflammation in organ-specific autoimmunity: lessons learned from vitiligo. *Immunol Rev.* 2016;269(1):11-25.
46. Richmond JM, Masterjohn E, Chu R, Tedstone J, Youd ME, Harris JE. CXCR3 Depleting Antibodies Prevent and Reverse Vitiligo in Mice. *J Invest Dermatol.* 2017;137(4):982-5.
47. Richmond JM, Bangari DS, Essien KI, Currimbhoy SD, Groom JR, Pandya AG, et al. Keratinocyte-Derived Chemokines Orchestrate T-Cell Positioning in the Epidermis during Vitiligo and May Serve as Biomarkers of Disease. *J Invest Dermatol.* 2017;137(2):350-8.
48. Yang L, Wei Y, Sun Y, Shi W, Yang J, Zhu L, et al. Interferon-gamma Inhibits Melanogenesis and Induces Apoptosis in Melanocytes: A Pivotal Role of CD8+ Cytotoxic T Lymphocytes in Vitiligo. *Acta Derm Venereol.* 2015;95(6):664-70.
49. Agarwal P, Rashighi M, Essien KI, Richmond JM, Randall L, Pazoki-Toroudi H, et al. Simvastatin prevents and reverses depigmentation in a mouse model of vitiligo. *J Invest Dermatol.* 2015;135(4):1080-8.
50. Schwartz DM, Bonelli M, Gadina M, O'Shea JJ. Type I/II cytokines, JAKs, and new strategies for treating autoimmune diseases. *Nat Rev Rheumatol.* 2016;12(1):25-36.
51. Abdou AG, Maraee A, Yassien H, Sarhan M. Immunohistochemistry of Janus Kinase 1 (JAK1) Expression in Vitiligo. *J Pathol Transl Med.* 2018;52(6):363-8.
52. Nada HR, El Sharkawy DA, Elmasry MF, Rashed LA, Mamdouh S. Expression of Janus Kinase 1 in vitiligo & psoriasis before and after narrow band UVB: a case-control study. *Arch Dermatol Res.* 2018;310(1):39-46.
53. Klarquist J, Denman CJ, Hernandez C, Wainwright DA, Strickland FM, Overbeck A, et al. Reduced skin homing by functional Treg in vitiligo. *Pigment Cell Melanoma Res.* 2010;23(2):276-86.
54. Ezzedine K, Gauthier Y, Leaute-Labreze C, Marquez S, Bouchtnei S, Jouary T, et al. Segmental vitiligo associated with generalized vitiligo (mixed vitiligo): a retrospective case series of 19 patients. *J Am Acad Dermatol.* 2011;65(5):965-71.
55. Picardo M, Dell'Anna ML, Ezzedine K, Hamzavi I, Harris JE, Parsad D, et al. Vitiligo. *Nat Rev Dis Primers.* 2015;1:15011.
56. Taieb A, Picardo M, Members V. The definition and assessment of vitiligo: a consensus report of the Vitiligo European Task Force. *Pigment Cell Res.* 2007;20(1):27-35.
57. Ezzedine K, Eleftheriadou V, Whitton M, van Geel N. Vitiligo. *Lancet.* 2015;386(9988):74-84.
58. Ortonne J-P. Depigmentation of Hair and Mucous Membranes. *Vitiligo2000.* p. 76-80.
59. Ezzedine K, Le Thuaut A, Jouary T, Ballanger F, Taieb A, Bastuji-Garin S. Latent class analysis of a series of 717 patients with vitiligo allows the identification of two clinical subtypes. *Pigment Cell Melanoma Res.* 2014;27(1):134-9.
60. Falabella R, Escobar CE, Carrascal E, Arroyave JA. Leukoderma punctata. *J Am Acad Dermatol.* 1988;18(3):485-94.
61. Ezzedine K, Mahe A, van Geel N, Cardot-Leccia N, Gauthier Y, Descamps V, et al. Hypochromic vitiligo: delineation of a new entity. *Br J Dermatol.* 2015;172(3):716-21.
62. Gan EY, Cario-André M, Pain C, Goussot JF, Taïeb A, Seneschal J, et al. Follicular vitiligo: A report of 8 cases. *J Am Acad Dermatol.* 2016;74(6):1178-84.
63. Nicolaidou E, Antoniou C, Miniati A, Lagogianni E, Matekovits A, Stratigos A, et al. Childhood- and later-onset vitiligo have diverse epidemiologic and clinical characteristics. *J Am Acad Dermatol.* 2012;66(6):954-8.

64. Hann SK, Lee HJ. Segmental vitiligo: clinical findings in 208 patients. *J Am Acad Dermatol.* 1996;35(5 Pt 1):671-4.
65. van Geel N, Speeckaert R, Melsens E, Toelle SP, Speeckaert M, De Schepper S, et al. The distribution pattern of segmental vitiligo: clues for somatic mosaicism. *Br J Dermatol.* 2013;168(1):56-64.
66. van Geel N, Speeckaert R. Segmental Vitiligo. *Dermatol Clin.* 2017;35(2):145-50.
67. Ardigo M, Malizewsky I, Dell'anna ML, Berardesca E, Picardo M. Preliminary evaluation of vitiligo using in vivo reflectance confocal microscopy. *J Eur Acad Dermatol Venereol.* 2007;21(10):1344-50.
68. Faria AR, Tarlé RG, Dellatorre G, Mira MT, Castro CC. Vitiligo--Part 2--classification, histopathology and treatment. *An Bras Dermatol.* 2014;89(5):784-90.
69. Kumar Jha A, Sonthalia S, Lallas A, Chaudhary RKP. Dermoscopy in vitiligo: diagnosis and beyond. *Int J Dermatol.* 2018;57(1):50-4.
70. Garbelli S, Mantovani S, Palermo B, Giachino C. Melanocyte-specific, cytotoxic T cell responses in vitiligo: the effective variant of melanoma immunity? *Pigment Cell Res.* 2005;18(4):234-42.
71. Lommerts JE, Teulings HE, Ezzedine K, van Geel N, Hartmann A, Speeckaert R, et al. Melanoma-associated leukoderma and vitiligo cannot be differentiated based on blinded assessment by experts in the field. *J Am Acad Dermatol.* 2016;75(6):1198-204.
72. Hamzavi I, Jain H, McLean D, Shapiro J, Zeng H, Lui H. Parametric modeling of narrowband UV-B phototherapy for vitiligo using a novel quantitative tool: the Vitiligo Area Scoring Index. *Arch Dermatol.* 2004;140(6):677-83.
73. van Geel N, Lommerts J, Bekkenk M, Wolkerstorfer A, Prinsen CAC, Eleftheriadou V, et al. Development and Validation of the Vitiligo Extent Score (VES): an International Collaborative Initiative. *J Invest Dermatol.* 2016;136(5):978-84.
74. Diallo A, Boniface K, Jouary T, Seneschal J, Morice-Picard F, Prey S, et al. Development and validation of the K-VSCOR for scoring Koebner's phenomenon in vitiligo/non-segmental vitiligo. *Pigment Cell Melanoma Res.* 2013;26(3):402-7.
75. Schallreuter KU, Lemke R, Brandt O, Schwartz R, Westhofen M, Montz R, et al. Vitiligo and other diseases: coexistence or true association? Hamburg study on 321 patients. *Dermatology.* 1994;188(4):269-75.
76. Birlea SA, Fain PR, Spritz RA. A Romanian population isolate with high frequency of vitiligo and associated autoimmune diseases. *Arch Dermatol.* 2008;144(3):310-6.
77. Kakourou T, Kanaka-Gantenbein C, Papadopoulou A, Kaloumenou E, Chrousos GP. Increased prevalence of chronic autoimmune (Hashimoto's) thyroiditis in children and adolescents with vitiligo. *J Am Acad Dermatol.* 2005;53(2):220-3.
78. Alkhateeb A, Fain PR, Thody A, Bennett DC, Spritz RA. Epidemiology of vitiligo and associated autoimmune diseases in Caucasian probands and their families. *Pigment Cell Res.* 2003;16(3):208-14.
79. van Geel N, Speeckaert R, De Wolf J, Bracke S, Chevolet I, Brochez L, et al. Clinical significance of Koebner phenomenon in vitiligo. *Br J Dermatol.* 2012;167(5):1017-24.
80. Hann SK, Kim YS, Yoo JH, Chun YS. Clinical and histopathologic characteristics of trichrome vitiligo. *J Am Acad Dermatol.* 2000;42(4):589-96.
81. Sosa JJ, Currimbhoy SD, Ukoha U, Sirignano S, O'Leary R, Vandergriff T, et al. Confetti-like depigmentation: A potential sign of rapidly progressing vitiligo. *J Am Acad Dermatol.* 2015;73(2):272-5.
82. Lilly E, Lu PD, Borovicka JH, Victorson D, Kwasny MJ, West DP, et al. Development and validation of a vitiligo-specific quality-of-life instrument (VitiQoL). *J Am Acad Dermatol.* 2013;69(1):e11-8.
83. Elbuluk N, Ezzedine K. Quality of Life, Burden of Disease, Co-morbidities, and Systemic Effects in Vitiligo Patients. *Dermatol Clin.* 2017;35(2):117-28.
84. Ware J, Jr., Kosinski M, Keller SD. A 12-Item Short-Form Health Survey: construction of scales and preliminary tests of reliability and validity. *Med Care.* 1996;34(3):220-33.

85. Kruger C, Schallreuter KU. Cumulative life course impairment in vitiligo. *Curr Probl Dermatol.* 2013;44:102-17.
86. Salzes C, Abadie S, Seneschal J, Whitton M, Meurant JM, Jouary T, et al. The Vitiligo Impact Patient Scale (VIPs): Development and Validation of a Vitiligo Burden Assessment Tool. *J Invest Dermatol.* 2016;136(1):52-8.
87. Krishna GS, Ramam M, Mehta M, Sreenivas V, Sharma VK, Khandpur S. Vitiligo impact scale: an instrument to assess the psychosocial burden of vitiligo. *Indian J Dermatol Venereol Leprol.* 2013;79(2):205-10.
88. Porter J, Beuf AH, Nordlund JJ, Lerner AB. Psychological reaction to chronic skin disorders: a study of patients with vitiligo. *Gen Hosp Psychiatry.* 1979;1(1):73-7.
89. Morrison B, Burden-Teh E, Batchelor JM, Mead E, Grindlay D, Ratib S. Quality of life in people with vitiligo: a systematic review and meta-analysis. *Br J Dermatol.* 2017;177(6):e338-e9.
90. Osinubi O, Grainge MJ, Hong L, Ahmed A, Batchelor JM, Grindlay D, et al. The prevalence of psychological comorbidity in people with vitiligo: a systematic review and meta-analysis. *Br J Dermatol.* 2018;178(4):863-78.
91. Wang G, Qiu D, Yang H, Liu W. The prevalence and odds of depression in patients with vitiligo: a meta-analysis. *J Eur Acad Dermatol Venereol.* 2018;32(8):1343-51.
92. Sukan M, Maner F. The problems in sexual functions of vitiligo and chronic urticaria patients. *J Sex Marital Ther.* 2007;33(1):55-64.
93. Ingordo V, Cazzaniga S, Gentile C, Iannazzone SS, Cusano F, Naldi L. Dermatology Life Quality Index score in vitiligo patients: a pilot study among young Italian males. *G Ital Dermatol Venereol.* 2012;147(1):83-90.
94. Noh S, Kim M, Park CO, Hann SK, Oh SH. Comparison of the psychological impacts of asymptomatic and symptomatic cutaneous diseases: vitiligo and atopic dermatitis. *Ann Dermatol.* 2013;25(4):454-61.
95. Papadopoulos L, Bor R, Legg C. Coping with the disfiguring effects of vitiligo: a preliminary investigation into the effects of cognitive-behavioural therapy. *Br J Med Psychol.* 1999;72 (Pt 3):385-96.
96. Ezzedine K, Sheth V, Rodrigues M, Eleftheriadou V, Harris JE, Hamzavi IH, et al. Vitiligo is not a cosmetic disease. *J Am Acad Dermatol.* 2015;73(5):883-5.
97. Rodrigues M, Ezzedine K, Hamzavi I, Pandya AG, Harris JE. Current and emerging treatments for vitiligo. *J Am Acad Dermatol.* 2017;77(1):17-29.
98. Ezzedine K, Whitton M, Pinart M. Interventions for Vitiligo. *Jama.* 2016;316(16):1708-9.
99. Taieb A, Alomar A, Böhm M, Dell'anna ML, De Pase A, Eleftheriadou V, et al. Guidelines for the management of vitiligo: the European Dermatology Forum consensus. *Br J Dermatol.* 2013;168(1):5-19.
100. Yones SS, Palmer RA, Garibaldinos TM, Hawk JL. Randomized double-blind trial of treatment of vitiligo: efficacy of psoralen-UV-A therapy vs Narrowband-UV-B therapy. *Arch Dermatol.* 2007;143(5):578-84.
101. Paller AS, Folster-Holst R, Chen SC, Diepgen TL, Elmets C, Margolis DJ, et al. No evidence of increased cancer incidence in children using topical tacrolimus for atopic dermatitis. *J Am Acad Dermatol.* 2020;83(2):375-81.
102. Rothstein B, Joshipura D, Saraiya A, Abdat R, Ashkar H, Turkowski Y, et al. Treatment of vitiligo with the topical Janus kinase inhibitor ruxolitinib. *J Am Acad Dermatol.* 2017;76(6):1054-60.e1.
103. Lim HW, Grimes PE, Agbai O, Hamzavi I, Henderson M, Haddican M, et al. Afamelanotide and narrowband UV-B phototherapy for the treatment of vitiligo: a randomized multicenter trial. *JAMA Dermatol.* 2015;151(1):42-50.
104. Kapoor R, Piske MM, Jerajani HR. Evaluation of safety and efficacy of topical prostaglandin E2 in treatment of vitiligo. *Br J Dermatol.* 2009;160(4):861-3.
105. Grimes PE. Bimatoprost 0.03% Solution for the Treatment of Nonfacial Vitiligo. *J Drugs Dermatol.* 2016;15(6):703-10.

106. Takemoto M, Liao JK. Pleiotropic effects of 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme a reductase inhibitors. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2001;21(11):1712-9.
107. Tsiara S, Elisaf M, Mikhailidis DP. Early vascular benefits of statin therapy. *Curr Med Res Opin.* 2003;19(6):540-56.
108. Superko HR, Krauss RM. Coronary artery disease regression. Convincing evidence for the benefit of aggressive lipoprotein management. *Circulation.* 1994;90(2):1056-69.
109. Mach F, Baigent C, Catapano AL, Koskinas KC, Casula M, Badimon L, et al. 2019 ESC/EAS Guidelines for the management of dyslipidaemias: lipid modification to reduce cardiovascular risk: The Task Force for the management of dyslipidaemias of the European Society of Cardiology (ESC) and European Atherosclerosis Society (EAS). *European Heart Journal.* 2019;41(1):111-88.
110. Liscum L. CHAPTER 14 - Cholesterol biosynthesis. *Biochemistry of Lipids, Lipoproteins and Membranes.* Fifth Edition ed2008. p. 399-421.
111. Chan KK, Oza AM, Siu LL. The statins as anticancer agents. *Clin Cancer Res.* 2003;9(1):10-9.
112. Weber MS, Youssef S, Dunn SE, Prod'homme T, Neuhaus O, Stuve O, et al. Statins in the treatment of central nervous system autoimmune disease. *J Neuroimmunol.* 2006;178(1-2):140-8.
113. Greenwood J, Steinman L, Zamvil SS. Statin therapy and autoimmune disease: from protein prenylation to immunomodulation. *Nat Rev Immunol.* 2006;6(5):358-70.
114. Margaritis M, Sanna F, Antoniadou C. Statins and oxidative stress in the cardiovascular system. *Curr Pharm Des.* 2017.
115. Ghittoni R, Patrussi L, Pirozzi K, Pellegrini M, Lazzarini PE, Capecchi PL, et al. Simvastatin inhibits T-cell activation by selectively impairing the function of Ras superfamily GTPases. *FASEB J.* 2005;19(6):605-7.
116. Vicente-Manzanares M, Sánchez-Madrid F. Role of the cytoskeleton during leukocyte responses. *Nat Rev Immunol.* 2004;4(2):110-22.
117. Kotyla PJ. [Pleiotropic activity of 3-hydroxy-3-methyl-glutharyl-coenzyme a inhibitors (statins). therapeutic potential in connective tissue diseases]. *Ann Acad Med Stetin.* 2014;60(1):39-45; discussion -6.
118. Grip O, Janciauskiene S, Lindgren S. Pravastatin down-regulates inflammatory mediators in human monocytes in vitro. *Eur J Pharmacol.* 2000;410(1):83-92.
119. Rosenson RS, Tangney CC, Casey LC. Inhibition of proinflammatory cytokine production by pravastatin. *Lancet.* 1999;353(9157):983-4.
120. Dunn SE, Youssef S, Goldstein MJ, Prod'homme T, Weber MS, Zamvil SS, et al. Isoprenoids determine Th1/Th2 fate in pathogenic T cells, providing a mechanism of modulation of autoimmunity by atorvastatin. *J Exp Med.* 2006;203(2):401-12.
121. Youssef S, Stüve O, Patarroyo JC, Ruiz PJ, Radosevich JL, Hur EM, et al. The HMG-CoA reductase inhibitor, atorvastatin, promotes a Th2 bias and reverses paralysis in central nervous system autoimmune disease. *Nature.* 2002;420(6911):78-84.
122. Robinson DS, O'Garra A. Further checkpoints in Th1 development. *Immunity.* 2002;16(6):755-8.
123. Leung BP, Sattar N, Crilly A, Prach M, McCarey DW, Payne H, et al. A novel anti-inflammatory role for simvastatin in inflammatory arthritis. *J Immunol.* 2003;170(3):1524-30.
124. Mira E, León B, Barber DF, Jiménez-Baranda S, Goya I, Almonacid L, et al. Statins induce regulatory T cell recruitment via a CCL1 dependent pathway. *J Immunol.* 2008;181(5):3524-34.
125. Chow SC. Immunomodulation by statins: mechanisms and potential impact on autoimmune diseases. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz).* 2009;57(4):243-51.
126. Lawman S, Mauri C, Jury EC, Cook HT, Ehrenstein MR. Atorvastatin inhibits autoreactive B cell activation and delays lupus development in New Zealand black/white F1 mice. *J Immunol.* 2004;173(12):7641-6.
127. Namazi MR. Statins: novel additions to the dermatologic arsenal? *Exp Dermatol.* 2004;13(6):337-9.

128. Yusuf-Makagiansar H, Anderson ME, Yakovleva TV, Murray JS, Siahaan TJ. Inhibition of LFA-1/ICAM-1 and VLA-4/VCAM-1 as a therapeutic approach to inflammation and autoimmune diseases. *Med Res Rev.* 2002;22(2):146-67.
129. Nishibori M, Takahashi HK, Mori S. The regulation of ICAM-1 and LFA-1 interaction by autacoids and statins: a novel strategy for controlling inflammation and immune responses. *J Pharmacol Sci.* 2003;92(1):7-12.
130. Zimmerman T, Blanco FJ. Inhibitors targeting the LFA-1/ICAM-1 cell-adhesion interaction: design and mechanism of action. *Curr Pharm Des.* 2008;14(22):2128-39.
131. Prasad R, Giri S, Nath N, Singh I, Singh AK. Inhibition of phosphoinositide 3 kinase-Akt (protein kinase B)-nuclear factor-kappa B pathway by lovastatin limits endothelial-monocyte cell interaction. *J Neurochem.* 2005;94(1):204-14.
132. Wong B, Lumma WC, Smith AM, Sisko JT, Wright SD, Cai TQ. Statins suppress THP-1 cell migration and secretion of matrix metalloproteinase 9 by inhibiting geranylgeranylation. *J Leukoc Biol.* 2001;69(6):959-62.
133. Pawlik A, Ostanek L, Brzosko I, Brzosko M, Masiuk M, Machalinski B, et al. Therapy with infliximab decreases the CD4+CD28- T cell compartment in peripheral blood in patients with rheumatoid arthritis. *Rheumatol Int.* 2004;24(6):351-4.
134. Tang TT, Song Y, Ding YJ, Liao YH, Yu X, Du R, et al. Atorvastatin upregulates regulatory T cells and reduces clinical disease activity in patients with rheumatoid arthritis. *J Lipid Res.* 2011;52(5):1023-32.
135. Zhang X, Markovic-Plese S. Statins' immunomodulatory potential against Th17 cell-mediated autoimmune response. *Immunol Res.* 2008;41(3):165-74.
136. Hot A, Miossec P. Effects of interleukin (IL)-17A and IL-17F in human rheumatoid arthritis synoviocytes. *Ann Rheum Dis.* 2011;70(5):727-32.
137. Zeinstra E, Wilczak N, Chesik D, Glazenburg L, Kroese FG, De Keyser J. Simvastatin inhibits interferon-gamma-induced MHC class II up-regulation in cultured astrocytes. *J Neuroinflammation.* 2006;3:16.
138. Kwak B, Mulhaupt F, Myit S, Mach F. Statins as a newly recognized type of immunomodulator. *Nat Med.* 2000;6(12):1399-402.
139. Lee SJ, Qin H, Benveniste EN. The IFN-gamma-induced transcriptional program of the CIITA gene is inhibited by statins. *Eur J Immunol.* 2008;38(8):2325-36.
140. Singh P, Kohr D, Kaps M, Blaes F. Influence of statins on MHC class I expression. *Ann N Y Acad Sci.* 2009;1173:746-51.
141. Tilkin-Mariamé AF, Cormary C, Ferro N, Sarrabayrouse G, Lajoie-Mazenc I, Faye JC, et al. Geranylgeranyl transferase inhibition stimulates anti-melanoma immune response through MHC Class I and costimulatory molecule expression. *Faseb j.* 2005;19(11):1513-5.
142. Belliard G, Coupel S, Charreau B. [Fluvastatin affects HLA class I expression on endothelial cells]. *Nephrol Ther.* 2005;1(4):221-7.
143. Noel M, Gagne C, Bergeron J, Jobin J, Poirier P. Positive pleiotropic effects of HMG-CoA reductase inhibitor on vitiligo. *Lipids Health Dis.* 2004;3:7.
144. Shaker ESE, Allam SH, Mabrouk MM, Elgharbawy NM, Salaam SFA. Simvastatin and non-segmental vitiligo: A new potential treatment option? *Dermatol Ther.* 2022;35(12):e15969.
145. Iraj F, Banihashemi SH, Faghihi G, Shahmoradi Z, Tajmirrahi N, Jazi SB. A Comparison of Betamethasone Valerate 0.1% Cream Twice Daily Plus Oral Simvastatin Versus Betamethasone Valerate 0.1% Cream Alone in the Treatment of Vitiligo Patients. *Adv Biomed Res.* 2017;6:34.
146. Pedersen TR, Tobert JA. Simvastatin: a review. *Expert Opin Pharmacother.* 2004;5(12):2583-96.
147. Bracht L, Caparroz-Assef SM, Magon TF, Ritter AM, Cuman RK, Bersani-Amado CA. Topical anti-inflammatory effect of hypocholesterolaemic drugs. *J Pharm Pharmacol.* 2011;63(7):971-5.
148. Otuki MF, Pietrovski EF, Cabrini DA. Topical simvastatin: preclinical evidence for a treatment of skin inflammatory conditions. *J Dermatol Sci.* 2006;44(1):45-7.

149. Suzuki-Banhese VF, Azevedo FF, Araujo EP, do Amaral ME, Caricilli AM, Saad MJ, et al. Effect of atorvastatin on wound healing in rats. *Biol Res Nurs.* 2015;17(2):159-68.
150. Kulkarni NM, Muley MM, Jaji MS, Vijaykanth G, Raghul J, Reddy NK, et al. Topical atorvastatin ameliorates 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate induced skin inflammation by reducing cutaneous cytokine levels and NF-kappaB activation. *Arch Pharm Res.* 2015;38(6):1238-47.
151. Atzmony L, Lim YH, Hamilton C, Leventhal JS, Wagner A, Paller AS, et al. Topical cholesterol/lovastatin for the treatment of porokeratosis: A pathogenesis-directed therapy. *J Am Acad Dermatol.* 2020;82(1):123-31.
152. Ooi KG, Wakefield D, Billson FA, Watson SL. Efficacy and Safety of Topical Atorvastatin for the Treatment of Dry Eye Associated with Blepharitis: A Pilot Study. *Ophthalmic Res.* 2015;54(1):26-33.
153. Farsaei S, Khalili H, Farboud ES, Karimzadeh I, Beigmohammadi MT. Efficacy of topical atorvastatin for the treatment of pressure ulcers: a randomized clinical trial. *Pharmacotherapy.* 2014;34(1):19-27.
154. Ahmadvand A, Yazdanfar A, Yasrebifar F, Mohammadi Y, Mahjub R, Mehrpooya M. Evaluating the Effects of Oral and Topical Simvastatin in the Treatment of Acne Vulgaris: A Double-blind, Randomized, Placebo-controlled Clinical Trial. *Curr Clin Pharmacol.* 2018;13(4):279-83.
155. Mutschler E, Geisslinger G, Kroemer HK, Schäfer-Korting M. *Mutschler Farmakologia i toksykologia: Urban & Partner; 2004. 537-9 p.*
156. Lin SK, Kok SH, Lee YL, Hou KL, Lin YT, Chen MH, et al. Simvastatin as a novel strategy to alleviate periapical lesions. *J Endod.* 2009;35(5):657-62.
157. Niezgodna A, Winnicki A, Kosmalski T, Kowaliszyn B, Krynski J, Czajkowski R. The Evaluation of Vitiliginous lesions Repigmentation after the Administration of Atorvastatin calcium salt and Simvastatin-acid sodium salt in patients with active vitiligo (EVRAAS), a pilot study: study protocol for a randomized controlled trial. *Trials.* 2019;20(1):78.
158. Youssef S, Stuve O, Patarroyo JC, Ruiz PJ, Radosevich JL, Hur EM, et al. The HMG-CoA reductase inhibitor, atorvastatin, promotes a Th2 bias and reverses paralysis in central nervous system autoimmune disease. *Nature.* 2002;420(6911):78-84.
159. Aktas O, Waiczies S, Smorodchenko A, Dorr J, Seeger B, Prozorovski T, et al. Treatment of relapsing paralysis in experimental encephalomyelitis by targeting Th1 cells through atorvastatin. *J Exp Med.* 2003;197(6):725-33.
160. Harry R, Gegg M, Hankey D, Zambarakji H, Pryce G, Baker D, et al. Suppression of autoimmune retinal disease by lovastatin does not require Th2 cytokine induction. *J Immunol.* 2005;174(4):2327-35.
161. Barsante MM, Roffe E, Yokoro CM, Tafuri WL, Souza DG, Pinho V, et al. Anti-inflammatory and analgesic effects of atorvastatin in a rat model of adjuvant-induced arthritis. *Eur J Pharmacol.* 2005;516(3):282-9.
162. Liu W, Li WM, Gao C, Sun NL. Effects of atorvastatin on the Th1/Th2 polarization of ongoing experimental autoimmune myocarditis in Lewis rats. *J Autoimmun.* 2005;25(4):258-63.
163. Palmer G, Chobaz V, Talabot-Ayer D, Taylor S, So A, Gabay C, et al. Assessment of the efficacy of different statins in murine collagen-induced arthritis. *Arthritis Rheum.* 2004;50(12):4051-9.
164. Greenwood J, Walters CE, Pryce G, Kanuga N, Beraud E, Baker D, et al. Lovastatin inhibits brain endothelial cell Rho-mediated lymphocyte migration and attenuates experimental autoimmune encephalomyelitis. *FASEB J.* 2003;17(8):905-7.
165. Nath N, Giri S, Prasad R, Singh AK, Singh I. Potential targets of 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase inhibitor for multiple sclerosis therapy. *J Immunol.* 2004;172(2):1273-86.
166. Stanislaus R, Pahan K, Singh AK, Singh I. Amelioration of experimental allergic encephalomyelitis in Lewis rats by lovastatin. *Neurosci Lett.* 1999;269(2):71-4.
167. Stanislaus R, Gilg AG, Singh AK, Singh I. Immunomodulation of experimental autoimmune encephalomyelitis in the Lewis rats by Lovastatin. *Neurosci Lett.* 2002;333(3):167-70.
168. Stanislaus R, Singh AK, Singh I. Lovastatin treatment decreases mononuclear cell infiltration into the CNS of Lewis rats with experimental allergic encephalomyelitis. *J Neurosci Res.* 2001;66(2):155-62.

169. Paintlia AS, Paintlia MK, Singh AK, Stanislaus R, Gilg AG, Barbosa E, et al. Regulation of gene expression associated with acute experimental autoimmune encephalomyelitis by Lovastatin. *J Neurosci Res.* 2004;77(1):63-81.
170. Azuma RW, Suzuki J, Ogawa M, Futamatsu H, Koga N, Onai Y, et al. HMG-CoA reductase inhibitor attenuates experimental autoimmune myocarditis through inhibition of T cell activation. *Cardiovasc Res.* 2004;64(3):412-20.
171. Vanderweil SG, Amano S, Ko WC, Richmond JM, Kelley M, Senna MM, et al. A double-blind, placebo-controlled, phase-II clinical trial to evaluate oral simvastatin as a treatment for vitiligo. *J Am Acad Dermatol.* 2017;76(1):150-1.e3.
172. Zhang S, Zdravković TP, Wang T, Liu Y, Jin H. Efficacy and safety of oral simvastatin in the treatment of patients with vitiligo. *J Investig Med.* 2021;69(2):393-6.
173. PubChem. Compound Summary for CID 54454, Simvastatin; Internet: Bethesda (MD): National Library of Medicine (US), National Center for Biotechnology Information; 2021 [Available from: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Simvastatin>].
174. PubChem. Compound Summary for CID 60823, Atorvastatin Internet: Bethesda (MD): National Library of Medicine (US), National Center for Biotechnology Information; 2021 [Available from: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Atorvastatin>].
175. Bos JD, Meinardi MM. The 500 Dalton rule for the skin penetration of chemical compounds and drugs. *Exp Dermatol.* 2000;9(3):165-9.
176. PubChem. Compound Summary for CID 23710209, Simvastatin (sodium) Internet: Bethesda (MD): National Library of Medicine (US), National Center for Biotechnology Information; 2023 [Available from: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Simvastatin-sodium>].
177. PubChem. Compound Summary for CID 656846, Atorvastatin calcium trihydrate Internet: Bethesda (MD): National Library of Medicine (US), National Center for Biotechnology Information; 2023 [Available from: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Atorvastatin-calcium-trihydrate>].
178. Adami M, Prudente Ada S, Mendes DA, Horinouchi CD, Cabrini DA, Otuki MF. Simvastatin ointment, a new treatment for skin inflammatory conditions. *J Dermatol Sci.* 2012;66(2):127-35.
179. Rego AC, Araújo Filho I, Damasceno BP, Egito ES, Silveira IA, Brandão-Neto J, et al. Simvastatin improves the healing of infected skin wounds of rats. *Acta Cir Bras.* 2007;22 Suppl 1:57-63.
180. Byth LA, Byth J. Topical simvastatin-cholesterol for disseminated superficial actinic prokeratosis: An open-label, split-body clinical trial. *Australas J Dermatol.* 2021;62(3):310-3.
181. Blue E, Abbott J, Bowen A, Cipriano SD. Linear porokeratosis with bone abnormalities treated with compounded topical 2% cholesterol/2% lovastatin ointment. *Pediatr Dermatol.* 2021;38(1):242-5.
182. Mehrpooya M, Ghaed-Amini F, Firozian F, Mohammadi Y, Alirezaei P. Beneficial Effects of Adding Topical Atorvastatin 5% Cream to Topical Betamethasone 1% Ointment on Chronic Hand Eczema. *Arch Iran Med.* 2020;23(9):605-13.
183. Yu X, Zhang J, Gu Y, Deng D, Wu Z, Bao L, et al. CHILD syndrome mimicking verrucous nevus in a Chinese patient responded well to the topical therapy of compound of simvastatin and cholesterol. *J Eur Acad Dermatol Venereol.* 2018;32(7):1209-13.
184. Bajawi SM, Jafarri SA, Buraik MA, Al Attas KM, Hannani HY. Pathogenesis-based therapy: Cutaneous abnormalities of CHILD syndrome successfully treated with topical simvastatin monotherapy. *JAAD Case Rep.* 2018;4(3):232-4.
185. Alexopoulos A, Kakourou T. CHILD Syndrome: Successful Treatment of Skin Lesions with Topical Simvastatin/Cholesterol Ointment--A Case Report. *Pediatr Dermatol.* 2015;32(4):e145-7.
186. Sandoval KR, Machado MCR, Oliveira ZNP, Nico MMS. CHILD syndrome: successful treatment of skin lesions with topical lovastatin and cholesterol lotion. *An Bras Dermatol.* 2019;94(3):341-3.
187. Raposio E, Libondi G, Bertozzi N, Grignaffini E, Grieco MP. Effects of Topic Simvastatin for the Treatment of Chronic Vascular Cutaneous Ulcers: A Pilot Study. *J Am Coll Clin Wound Spec.* 2015;7(1-3):13-8.

188. Iraj F, Tajmirriahi N, Siadat AH, Momeni I, Nilforoushzadeh MA. Efficacy of adding topical simvastatin to topical calcipotriol on improvement of cutaneous plaque psoriasis. *Adv Biomed Res.* 2014;3:11.
189. Ala S, Alvandipour M, Saeedi M, Hamidian M, Shiva A, Rahmani N, et al. Effects of Topical Atorvastatin (2 %) on Posthemorrhoidectomy Pain and Wound Healing: A Randomized Double-Blind Placebo-Controlled Clinical Trial. *World J Surg.* 2017;41(2):596-602.
190. Ghasemi A, Ghashghai Z, Akbari J, Yazdani-Charati J, Salehifar E, Hosseinimehr SJ. Topical atorvastatin 1% for prevention of skin toxicity in patients receiving radiation therapy for breast cancer: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Eur J Clin Pharmacol.* 2019;75(2):171-8.
191. Sobhan M, Gholampoor G, Firozian F, Mohammadi Y, Mehrpooya M. Comparison of efficacy and safety of atorvastatin 5% lotion and betamethasone 0.1% lotion in the treatment of scalp seborrheic dermatitis. *Clin Cosmet Investig Dermatol.* 2019;12:267-75.
192. Yazdani Ashtiani S, Ahmad Nasrollahi S, Naeimifar A, Nassiri Kashani A, Samadi A, Yadang S, et al. Preparation and Safety Evaluation of Topical Simvastatin Loaded NLCs for Vitiligo. *Adv Pharm Bull.* 2021;11(1):104-10.
193. Hu W, Ma Y, Lin F, Zhou M, Xu AE. Narrowband Ultraviolet B Combined with Topical Simvastatin Solution in the Treatment of Vitiligo: A Case Report. *Photobiomodul Photomed Laser Surg.* 2022;40(5):362-4.

10. Załączniki
Załącznik nr 1 - Zgoda Komisji Bioetycznej

Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu
Collegium Medicum im L. Rydygiera w Bydgoszczy
KOMISJA BIOETYCZNA

Ul. M. Skłodowskiej-Curie 9, 85-094 Bydgoszcz, tel.(052) 585-35-63, fax.(052) 585-38-11

KB 597/2016

Bydgoszcz, 20.09.2016r.

Działając na podstawie art.29 Ustawy z dnia 5 grudnia 1996 roku o zawodzie lekarza (Dz.U. z 1997 r. Nr 28 poz. 152 (wraz z późniejszymi zmianami), zarządzenia Ministra Zdrowia i Opieki Społecznej z dnia 11 maja 1999 r. w sprawie szczegółowych zasad powoływania i finansowania oraz trybu działania komisji bioetycznych (Dz.U.Nr 47 poz.480) oraz Zarządzeniem Nr 21 Rektora UMK z dnia 4 marca 2009 r. z późn. zm. w sprawie powołania oraz zasad działania Komisji Bioetycznej Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu przy Collegium Medicum im Ludwika Rydygiera w Bydgoszczy oraz zgodnie z zasadami zawartymi w ICH – GCP

Komisja Bioetyczna przy UMK w Toruniu, Collegium Medicum w Bydgoszczy

(skład podano w załączeniu), na posiedzeniu w dniu **20.09.2016r.** przeanalizowała wniosek, który złożyli kierownicy badania:

dr hab. n. med. Rafał Czajkowski
Katedra Dermatologii, Chorób Przenoszonych Drogą Płciową i Immunodermatologii
Collegium Medicum w Bydgoszczy

prof. dr hab. n. farm. Jerzy Krysiński
Katedra Technologii Postaci Leku
Collegium Medicum w Bydgoszczy

z zespołem w składzie:

- **prof. dr hab. n. farm. Jerzy Krysiński, dr hab. n. med. Rafał Czajkowski,**
lek. med. Anna Niezgoda, mgr farm. Andrzej Winnicki,

w sprawie badania:

„Ocena stopnia repigmentacji plam bielaczych po aplikacji miejscowej soli wapniowej atorwastatyny oraz soli sodowej kwasu simwastatyny u pacjentów z bielactwem nabytym.”

Po zapoznaniu się ze złożonym wnioskiem i w wyniku przeprowadzonej dyskusji oraz głosowania Komisja podjęła

Uchwałę o pozytywnym zaopiniowaniu wniosku

w sprawie przeprowadzenia badań, w zakresie określonym we wniosku pod warunkiem:

- poinformowania uczestników badania o celu oraz zakresie badań i uzyskania od każdego z nich osobnej, pisemnej, świadomej zgody na udział w badaniu, zgodnie z obowiązującymi przepisami, datowanej najpóźniej na moment rozpoczęcia badania a nie wcześniej niż data uzyskania z Komisji Bioetycznej zgody na takie badanie;
- zachowania tajemnicy wszystkich danych, w tym danych osobowych pacjentów, umożliwiających ich identyfikację w ewentualnych publikacjach;
- zapewnienia, że osoby uczestniczące w eksperymencie badawczym nie są ubezwłasnowolnione, nie są żołnierzami służby zasadniczej, nie są osobami pozbawionymi wolności, nie pozostają w zależności służbowej, dydaktycznej lub innej z prowadzącym badanie;
- sugerujemy uzyskanie podpisu uczestnika badania pod informacją o badaniu, lub sporządzenie formularza informacji i świadomej zgody na udział w badaniu na jednej kartce.

Jednocześnie informujemy, iż „Zgoda na udział w badaniu” winna zawierać m.in.: imię i nazwisko badanej osoby; Nr historii choroby pacjenta (L.ks.gł. Oddziału/Poradni) oraz datę i podpis badanej osoby, a także klauzule, że uczestnik badania wyraża zgodę na przetwarzanie danych osobowych dotyczących realizacji tematu badawczego, z wyjątkiem publikacji danych osobowych.

Kierownik badania zobowiązany jest do przechowywania wszystkich dokumentów dotyczących badania przez okres dwudziestu lat.

Zgoda obowiązuje od daty posiedzenia (20.09.2016 r.) do końca 2019 r.

Wydana opinia dotyczy tylko rozpatrywanego wniosku z uwzględnieniem przedstawionego projektu; każda zmiana i modyfikacja wymaga uzyskania odrębnej opinii. Wnioskodawca zobowiązany jest do informowania o wszelkich poprawkach, które mogłyby mieć wpływ na opinię Komisji oraz poinformowania o zakończeniu badania.

Od niniejszej uchwały podmiot zamierzający przeprowadzić eksperyment medyczny, kierownik zakładu opieki zdrowotnej, w której eksperyment medyczny ma być przeprowadzony, mogą wnieść odwołanie do Odwoławczej Komisji Bioetycznej przy Ministrze Zdrowia, za pośrednictwem Komisji Bioetycznej przy Collegium Medicum im. L. Rydygiera w Bydgoszczy, w terminie 14 dni od daty otrzymania niniejszej Uchwały.

Prof. dr hab. med. Karol Śliwka

Przewodniczący Komisji Bioetycznej

Otrzymują:

dr hab. n. med. Rafał Czajkowski
Katedra Dermatologii, Chorób Przenoszonych Drogą Płciową i Immunodermatologii
Collegium Medicum w Bydgoszczy

prof. dr hab. n. farm. Jerzy Krysiński
Katedra Technologii Postaci Leku
Collegium Medicum w Bydgoszczy

Wykaz stosowanych skrótów:

ATP - adenozyntrifosforan

BSA - pole powierzchni ciała

CI - przedział ufności

CLA - skórny antygen związany z limfocytami

CM UMK - Collegium Medicum Uniwersytetu Mikołaja Kopernika

CXCL9, CXCL10 - chemokina 9, chemokina 10

CXCR3 - receptor dla chemokin typu 3

DAMPs - wzorce molekularne związane z uszkodzeniem

DNA - kwas deoksyrybonukleionowy

HMG-CoA - 3-hydroksy-3-metyloglutarylo-koenzym A

HSP - białko szoku cieplnego

IFN- γ - interferon gamma

IL - interleukina

JAK - kinaza tyrozynowa JAK

LC - klasa latentna

MAL - leukoderma towarzysząca czerniakowi

MHC - główny kompleks zgodności tkankowej

MV - postać mieszana bielactwa nabytego

NB-UVB - wąskopasmowe promieniowanie UVB

NF- κ B - czynnik jądrowy- κ B

NK - limfocyty NK (natural killer)

NMSC - nieczerniakowy nowotwór złośliwy skóry

NSV - postać niesegmentalna bielactwa nabytego

PASI - Psoriasis Area Scoring Index - skala nasilenia choroby w przebiegu łuszczycy

PMEL - białko promelanosomowe

PMELs - transgeniczne limfocyty T CD8+ z TCR specyficznym dla białka promelanosomowego

PTD - Polskie Towarzystwo Dermatologiczne

PUVA - fotochemioterapia psoralenami i promieniowaniem UVA

RNA - kwas rybonukleinowy

ROS - reaktywne formy tlenu

SSSD - Symptom Scale of Seborrheic Dermatitis - skala nasilenia objawów łojotokowego zapalenia skóry

STAT1 - przetwornik sygnału i aktywator transkrypcji 1

SV - postać segmentalna bielactwa nabytego

TCl - miejscowe inhibitory kalcyneuryny

TCR - receptor limfocytów T

TCS - miejscowe glikokortykosteroidy

Th - limfocyty T pomocnicze

TNF- α - czynnik martwicy nowotworu alfa

Treg - limfocyty T regulatorowe

VASI - Vitiligo Area Scoring Index - skala nasilenia choroby w przebiegu bielactwa nabytego

VDAS - Vitiligo Disease Activity Score - skala aktywności choroby w przebiegu bielactwa nabytego

VETF - Vitiligo European Task Force - Europejska Grupa Robocza ds. Bielactwa Nabytego

Spis tabel:

Tabela 1. Geny podatności na bielactwo nabyte występujące w innych chorobach autoimmunologicznych epidemiologicznie związanych z *vitiligo*.

Tabela 2. Klasyfikacja kliniczna bielactwa nabytego wg Vitiligo European Task Force (VETF).

Tabela 3. Diagnostyka różnicowa bielactwa nabytego.

Tabela 4. Rekomendowane przez Polskie Towarzystwo Dermatologiczne badania i konsultacje w diagnostyce bielactwa nabytego.

Tabela 5. Kryteria włączenia oraz wykluczenia z badania.

Tabela 6. Pierwszorzędowy i drugorzędowe punkty końcowe zastosowane w badaniu.

Tabela 7. Wyjściowa charakterystyka badanej grupy.

Tabela 8. Zmiana powierzchni bezwzględnej plam bielaczych w poszczególnych punktach czasowych dla simwastatyny, atorwastatyny, placebo.

Tabela 9. Zmiana wartości BSA w poszczególnych punktach czasowych dla simwastatyny, atorwastatyny, placebo.

Tabela 10. Zmiana wartości VASI w poszczególnych punktach czasowych dla simwastatyny, atorwastatyny, placebo.

Tabela 11. Analiza istotności zmiany powierzchni bezwzględnej plam bielaczych, wartości BSA oraz VASI w poszczególnych punktach czasowych badania.

Tabela 12. Porównanie simwastatyny z placebo w poszczególnych punktach czasowych badania w zakresie zmiany powierzchni bezwzględnej plam bielaczych, BSA oraz VASI.

Tabela 13. Porównanie atorwastatyny z placebo w poszczególnych punktach czasowych badania w zakresie zmiany powierzchni bezwzględnej plam bielaczych, BSA oraz VASI.

Tabela 14. Działania niepożądane zgłoszone przez uczestników badania EVRAAS.

Tabela 15. Odsetek pacjentów, u których obserwowano poszczególne kategorie poprawy w zakresie redukcji powierzchni bezwzględnej plam bielaczych.

Tabela 16. Porównanie simwastatyny i atorwastatyny do placebo w zakresie redukcji powierzchni bezwzględnej plam bielaczych.

Tabela 17. Odsetek pacjentów, u których obserwowano poszczególne kategorie poprawy w zakresie redukcji BSA.

Tabela 18. Porównanie simwastatyny i atorwastatyny do placebo w zakresie redukcji BSA.

Tabela 19. Odsetek pacjentów, u których obserwowano poszczególne kategorie poprawy w zakresie redukcji VASI.

Tabela 20. Porównanie simwastatyny i atorwastatyny do placebo w zakresie redukcji VASI.

Tabela 21. Porównanie atorwastatyny do simwastatyny w poszczególnych punktach czasowych badania w zakresie zmiany powierzchni bezwzględnej plam bielaczych, BSA oraz VASI.

Tabela 22. Korelacja czasu trwania choroby i zmiany procentowej powierzchni plam bielaczych, BSA oraz VASI po 12-tygodniowym okresie leczenia dla poszczególnych substancji.

Tabela 23. Korelacja czasu trwania choroby i zmiany powierzchni plam bielaczych, BSA oraz VASI po 12-tygodniowym okresie leczenia dla poszczególnych substancji.

Tabela 24. Korelacja porządku rang Spearmana pomiędzy substancjami stosowanymi w badaniu EVRAAS.

Tabela 25. Współczynniki korelacji dziennego zużycia maści i zmiany procentowej powierzchni plam bielaczych, BSA oraz VASI po 12-tygodniowym okresie leczenia dla poszczególnych substancji.

Tabela 26. Analiza zahamowania progresji w zakresie powierzchni bezwzględnej plam bielaczych, BSA oraz VASI dla poszczególnych ramion badania EVRAAS.

Tabela 27. Efekty działania statyn w chorobach autoimmunologicznych na modelach zwierzęcych.

Spis rycin:

Rycina 1. Dystrybucja melanocytów w naskórku oraz jednostce włosowej.

Rycina 2. Patogeneza bielactwa nabytego.

Rycina 3. Bielactwo nabyte postacią NSV – rekomendacje PTD.

Rycina 4. Bielactwo nabyte postacią SV – rekomendacje PTD.

Rycina 5. Szlak syntezy cholesterolu i prenylacji białek.

Rycina 6. Wpływ statyn na funkcję komórek T i komórek prezentujących antygen.

Rycina 7. Schemat możliwych kombinacji aplikacji badanych preparatów.

Rycina 8. Fotografie przedstawiające badane preparaty miejscowe.

Rycina 9. Schemat wizyt oraz procedur badania.

Rycina 10. Dokumentacja fotograficzna zmian skórnych pacjenta.

Rycina 11. Zmiana powierzchni bezwzględnej plam bielaczych w kolejnych punktach czasowych dla poszczególnych ramion badania.

Rycina 12. Zmiana wartości BSA w kolejnych punktach czasowych dla poszczególnych ramion badania.

Rycina 13. Zmiana wartości VASI w kolejnych punktach czasowych dla poszczególnych ramion badania.

Rycina 14. Porównanie simwastatyny do placebo w zakresie zmiany powierzchni bezwzględnej plam bielaczych, wartości BSA oraz VASI w punktach czasowych t0, t4, t8 i t12.

Rycina 15. Porównanie atorwastatyny do placebo w zakresie zmiany powierzchni bezwzględnej plam bielaczych, wartości BSA oraz VASI w punktach czasowych t0, t4, t8, t12.

Rycina 16. Procentowe wskaźniki struktury poszczególnych kategorii poprawy w zakresie redukcji powierzchni plam bielaczych po zastosowaniu simwastatyny i placebo_S.

Rycina 17. Procentowe wskaźniki struktury poszczególnych kategorii poprawy w zakresie redukcji powierzchni plam bielaczych po zastosowaniu atorwastatyny i placebo_A.

Rycina 18. Procentowe wskaźniki struktury poszczególnych kategorii poprawy w zakresie redukcji wartości BSA po zastosowaniu simwastatyny i placebo_S.

Rycina 19. Procentowe wskaźniki struktury poszczególnych kategorii poprawy w zakresie redukcji wartości BSA po zastosowaniu atorwastatyny i placebo_A.

Rycina 20. Procentowe wskaźniki struktury poszczególnych kategorii poprawy w zakresie redukcji wartości VASI po zastosowaniu simwastatyny i placebo_S.

Rycina 21. Procentowe wskaźniki struktury poszczególnych kategorii poprawy w zakresie redukcji wartości VASI po zastosowaniu atorwastatyny i placebo_A.

Rycina 22. Porównanie powierzchni bezwzględnej plam bielaczych, wartości BSA oraz VASI w poszczególnych punktach czasowych badania po zastosowaniu simwastatyny i atorwastatyny.

Rycina 23. Wykresy korelacji czasu trwania choroby i średniej zmiany procentowej powierzchni plam bielaczych, wartości BSA i VASI w 12-tygodniowym okresie leczenia.