

Uniwersytet Jagielloński
Collegium Medicum

Lek. Jarosław Nowakowski

Dysfunkcja śródbłonna makro- i mikrokrażenia u młodych pacjentów z reumatoidalnym zapaleniem stawów oraz osiową spondyloartropatią bez klasycznych czynników ryzyka sercowo-naczyniowego. Fenotyp pacjenta i czynniki wpływające na rozwój dysfunkcji śródbłonna.

Praca doktorska

Promotor: dr hab. n. med. Mariusz Korkosz, prof. UJ

Pracę wykonano w Klinice Reumatologii i Immunologii UJ CM przy współpracy z Jagiellońskim Centrum Eksperymentalnych Terapii (JCET)

Kierownik jednostki: dr hab. n. med. Mariusz Korkosz, prof. UJ

Kierownik JCET: prof. dr hab. n. med. Stefan Chłopicki

Kraków, rok 2023

Podziękowania

Bardzo dziękuję prof. Mariuszowi Korkoszowi za to, że stał się moim cierpliwym i wyrozumiałym mentorem, prof. Stefanowi Chłopickiemu za niekończący się strumień porad, wskazówek i nowych pomysłów, zaś mgr Brygidge Marczyk za niezawodną współpracę na pierwszej linii frontu badań.

Finansowanie

Praca doktorska powstała dzięki finansowaniu z grantu Preludium-18 przyznanego przez Narodowe Centrum Nauki (numer projektu: 2019/35/N/NZ5/04431).

Spis treści

Podziękowania.....	2
Finansowanie.....	3
Wykaz skrótów.....	6
1. Wstęp.....	9
1.1 Ogólny zarys problematyki pracy	9
1.2 Śródbłonek – funkcja i znaczenie.....	11
1.2.1 Regulacja przepływu krwi i napięcia naczyń	12
1.2.2 Regulacja hemostazy	13
1.2.3 Regulacja przepuszczalności naczyń.....	13
1.2.4 Udział w angiogenezie	14
1.2.5 Funkcja sekrecyjna i sygnalizacyjna	14
1.2.6 Rola w układzie immunologicznym	15
1.2.7 Dysfunkcja śródbłonka.....	16
1.3 Ryzyko sercowo-naczyniowe w artropatiach zapalnych.....	18
1.4 Dysfunkcja śródbłonka makrokrążenia w RZS.....	19
1.5 Dysfunkcja śródbłonka makrokrążenia w axSpA	20
1.6 Dysfunkcja śródbłonka mikrokrążenia w RZS.....	21
1.7 Dysfunkcja śródbłonka mikrokrążenia w axSpA	23
1.8 Paradoks lipidowy i zaburzenia lipidowe	23
1.9 Wpływ leczenia na dysfunkcję śródbłonka	24
2. Cel pracy.....	27
3. Materiały i metody	28
3.1 Charakterystyka grupy badanej	28
3.2 Kryteria wyłączenia.....	28
3.3 Dane kliniczne i laboratoryjne.....	28
3.4 Ocena funkcji śródbłonka.....	32
3.4.1 Flow-Mediated Dilation (FMD)	32
3.4.2 Peripheral Arterial Tonometry (PAT)	33
3.4.3 Flow-Mediated Skin Fluorescence (FSMF)	34
3.5 Analiza statystyczna.....	35
4. Wyniki.....	37
4.1 Charakterystyka ogólna oraz wyniki badań laboratoryjnych	37
4.2 Charakterystyka kliniczna	40
4.3 Wyniki pomiarów funkcji śródbłonka.....	43
4.3.1 Wyniki pomiarów funkcji śródbłonka w zależności od aktywności choroby, sposobu leczenia oraz cech klinicznych	44

4.3.2. Charakterystyka ogólna pacjentów z artropatiami zapalnymi, u których wykryto dysfunkcję śródbłónka	51
4.3.3 Charakterystyka szczegółowa pacjentów, u których wykryto dysfunkcję śródbłónka, z podziałem na podgrupę RZS oraz podgrupę axSpA	54
4.3.4 Analiza korelacji między parametrami funkcji śródbłónka a cechami klinicznymi.....	63
4.3.5 Analiza regresji.....	65
5. Dyskusja	68
6. Wnioski	76
7. Streszczenie	77
8. Summary	80
9. Spis rycin.....	83
10. Spis tabel	84
11. Piśmiennictwo	86

Wykaz skrótów

- AAU** – ostre zapalenie błony naczyniowej (ang. Acute anterior uveitis)
- ACPA** – przeciwciała przeciwko białkom cytrulinowanym (ang. Anti-citrullinated protein antibodies)
- ALT** – aminotransferaza alaninowa
- ASDAS** - Ankylosing Spondylitis Disease Activity Index (wskaźnik aktywności ZZSK)
- AST** – aminotransferaza asparaginianowa
- axSpA** – osiowa spondyloartropatia (ang. axial spondyloarthritis)
- BASDAI** - Bath Ankylosing Spondylitis Disease Activity Index (wskaźnik aktywności ZZSK)
- bLMPCh** – biologiczne Leki Modyfikujące Przebieg Choroby
- BMI** – wskaźnik masy ciała (ang. body mass index)
- C** – grupa kontrolna
- CDAI** – kliniczny wskaźnik aktywności choroby (ang. Clinical Disease Activity Index)
- CFR** – rezerwa wieńcowa (ang. Coronary Flow Reserve)
- COX** – cyklooksygenaza
- CRP** – białko C-reaktywne
- DAS** – wskaźnik aktywności choroby (ang. Disease Activity Score)
- DBP** – rozkurczowe ciśnienie tętnicze
- eNOS** – endotelialna syntaza tlenku azotu (ang. endothelial Nitric Oxide Synthase)
- EULAR** – ang. European Alliance of Associations for Rheumatology
- FA** – kwasy tłuszczowe (ang. fatty acids)
- FMD** – wazodylatacja tętnicy ramiennej po niedokrwieniu (ang. Flow Mediated Dilatation)
- FMD [%]** – wielkość rozszerzenia tętnicy ramiennej po niedokrwieniu wyrażona jako procent, o jaki rozszerzyła się tętnica w czasie reakcji przekrwiennej
- FMD/SR area to max** – parametr FMD znormalizowany na szybkość ścinania
- FMD/SS area to max** – parametr FMD znormalizowany na naprężenie ścinające
- FMIR** – parametr charakteryzujący oscylacje mikrokrążenia w fazie reperfuzji (ang. Flow Motion index ratio)
- FMSF** – Flow-Mediated Skin Fluorescence (metoda badania mikrokrążenia skóry)
- GKS** – glikokortykosteroidy
- HDL** - lipoproteina o wysokiej gęstości (ang. high-density lipoprotein)
- HR index** – wskaźnik odpowiedzi przekrwiennej (ang. Hyperemic Response Index)

HS – wrażliwość na niedotlenienie (ang. Hypoxia Sensitivity, parametr mikrokrążenia)

IL-6i – inhibitory interleukiny-6

IL-17i – inhibitory interleukiny-17

iNOS – indukowalna syntaza tlenku azotu (ang. inducible Nitric Oxide Synthase)

IQR – rozstęp międzykwartyłowy

ksLMPCh – klasyczne syntetyczne Leki Modyfikujące Przebieg Choroby

LDF – Laserowa przepływometria dopplerowska (ang. Laser Doppler Flowmetry)

LDL – lipoproteina o niskiej gęstości (ang. low-density lipoprotein)

LMPCh - Leki Modyfikujące Przebieg Choroby

ŁZS – Łuszczycowe zapalenie stawów

M – średnia

Mdn - Mediana

Mono/Lymph R – stosunek monocytów do limfocytów

MTX – metotreksat

Neu/Lymph R - stosunek neutrofilów do limfocytów

NLPZ – Niesteroidowe Leki Przeciwzapalne

NO – tlenek azotu (ang. nitric oxide)

non-HDL – cholesterol nie-HDL

nr-axSpA – nieradiograficzna osiowa spondyloartropatia (ang. non-radiographic axial spondyloarthropathy)

OB – Odczyn Biernackiego

oxLDL – utlenione LDL (ang. oxidized LDL)

PAT – tonometria tętnic obwodowych (ang. Peripheral Artery Tonometry)

PGI₂ - prostacyklina

PLT/Lymph R – stosunek płytek krwi do limfocytów

PSDR – wskaźnik widmowej gęstości mocy (ang. Power Spectral Density ratio)

RF – czynnik reumatoidalny

RHI – wskaźnik reaktywnego przekrwienia (ang. Reactive Hyperemia Index)

RZS – reumatoidalne zapalenie stawów

SBP – skurczowe ciśnienie tętnicze

SD – odchylenie standardowe

SDAI – prosty wskaźnik aktywności choroby (ang. Simple Disease Activity Index)

SJC – liczba obrzękniętych stawów (ang. Swollen Joint Count)

SR – szybkość ścinania (ang. Shear Rate)

SR max – maksymalna szybkość ścinania

SS – naprężenie ścinające (ang. Shear Stress)

TC – całkowity cholesterol (ang. total cholesterol)

TG – trójglicerydy

Time to FMD Peak – czas od początku przekrwienia do maksymalnego przepływu w FMD

TJC – liczba bolesnych stawów (ang. tender joint count)

TNFi – inhibitor czynnika martwicy nowotworów (ang. tumor necrosis factor inhibitor)

TSH - tyreotropina

VAS – wizualna skala analogowa (ang. Visual Analogue Scale)

VCAM – cząsteczka adhezyjna (ang. Vascular Cell Adhesion Molecule)

VEGF - Czynniki wzrostu śródbłonna naczyniowego (ang. Vascular endothelial growth factor)

vWF – czynnik von Willebranda (ang. Von Willebrand factor)

WBP – ciała Weibela-Paladego¹ (ang. Weibel-Palade body)

ZZSK – Zesztywniające Zapalenie Stawów Kręgosłupa

¹ George Palade był Rumunem, stąd odmiana nazwiska w formie *Paladego*, pomimo częściej spotykanej w piśmiennictwie zangielszczonej wersji *Palade'a* (tak jak *Mircea Eliade* – *Eliadego*).

1. Wstęp

1.1 Ogólny zarys problematyki pracy

Reumatoidalne zapalenie stawów (RZS) oraz osiowa spondyloartropatia (axSpA) to dwie najczęstsze przewlekłe artropatie zapalne u człowieka odpowiedzialne za ból, niesprawność, zmniejszoną jakość życia oraz wysokie koszty pośrednie. Schorzenia te w istotny sposób zwiększają ryzyko chorób sercowo-naczyniowych, które stanowią główną przyczynę zgonów wśród tej grupy pacjentów (1).

Zarówno u chorych na RZS, jak i na axSpA, miażdżycy pojawia się wcześniej i postępuje szybciej, a występowanie wczesnych oznak subklinicznej postaci tej choroby zostały dobrze udokumentowane w piśmiennictwie (2)(3). W przypadku chorych na RZS znaczenie występowania tego schorzenia w kwestii niesionego ze sobą ryzyka sercowo-naczyniowego porównano do cukrzycy (4), natomiast samą obecność RZS uznano za niezależny czynnik ryzyka sercowo-naczyniowego, które, obliczane przy pomocy standardowych narzędzi do jego oceny, takich jak SCORE (Systematic Coronary Risk Evaluation), FRS (Framingham Risk Score) czy RRS (Reynolds Risk Score) w przypadku tej grupy pacjentów pozostawało niedoszacowane (5). Odpowiedź na ów brak kalibracji algorytmów do oceny ryzyka sercowo-naczyniowego na występowanie RZS stanowiły rekomendacje EULAR (European Alliance of Associations for Rheumatology) z 2016 roku, sugerujące, by ryzyko oszacowane np. przy pomocy karty SCORE pomnożyć przez 1.5 u chorych na RZS (choć to konkretne zalecenie sformułowano jeszcze w 2009 r.) (6). Zalecenia te, kierowane do lekarzy sprawujących opiekę nad chorymi na RZS, axSpA oraz ŁZS (łuszczycowe zapalenie stawów) kładły nacisk także na optymalizację kontroli choroby zapalnej celem zmniejszenia ryzyka sercowo-naczyniowego, przeprowadzanie badań przesiewowych w kierunku chorób sercowo-naczyniowych, ostrożność w stosowaniu niesteroidowych leków przeciwzapalnych (NLPZ) i glikokortykosteroidów (GKS) oraz na rolę badań obrazowych w wykrywaniu subklinicznej miażdżycy. Dla środowiska reumatologów wytyczne te, zaktualizowane w stosunku do rekomendacji z 2009 roku, stanowiły istotny krok na drodze do oficjalnego ugruntowania powiązań między artropatiami zapalnymi a chorobami sercowo-naczyniowymi oraz wprowadzenia “czujności kardiologicznej” do praktyki lekarza reumatologa.

W rozwoju miażdżycy kluczową rolę odgrywa dysfunkcja śródbłonna przejawiająca się utratą jego fizjologicznych właściwości przeciwzakrzepowych, przeciwzapalnych i antyoksydacyjnych (7). Nie tylko jest obecna na każdym etapie miażdżycy, ale też poprzedza jej wystąpienie i stanowi pierwszą nieprawidłowość funkcjonalną wykrywaną w naczyniach (8). Dysfunkcję śródbłonna oraz oznaki przedwczesnej subklinicznej miażdżycy stwierdzono w wielu przewlekłych procesach zapalnych, w tym właśnie w zapalnych chorobach reumatycznych (9). Z uwagi na rolę, jaką dysfunkcja śródbłonna odgrywa w inicjowaniu oraz przyspieszaniu procesów miażdżycowych,

indukowanie teŝe przez stany zapalne, a takŝe moŝliwość jej wczesnego uchwycenia w pomiarach czynnościowych, wiele badań poŝwięcono jej ocenie oraz ustaleniu związków z przewlekłym zapaleniem w RZS oraz axSpA. Mimo licznych prac, w których wykazano istnienie dysfunkcji śródbłónka u chorych na RZS i axSpA, nadal nie wiadomo, jakie dokładnie czynniki odpowiadają za jej wystąpienie (10)(11), chociaŝ na pierwszy plan wysuwają się dwa głównie, przeplatające się ze sobą nurty: jeden podkreśla rolę przewlekłego stanu zapalnego, nieodłącznie wpisanego w te schorzenia, drugi zaś akcentuje częstsze współwystępowanie klasycznych czynników ryzyka sercowo-naczyniowego. Zarówno RZS, jak i ZZSK, częściej występują u osób palących papierosy (12)(13), z kolei nadciśnienie tętnicze występuje u 40% osób chorych na RZS, hipercholesterolemia zaś u 31% (14). Modyfikowalne czynniki ryzyka sercowo-naczyniowego nie są w ŝaden sposób korygowane nawet u 30% pacjentów z RZS (15). Podobnie w przypadku axSpA, hipercholesterolemia występuje u 34% osób z tej grupy, natomiast nadciśnienie tętnicze u 27% (16). Z drugiej strony dysfunkcję śródbłónka wykrywano takŝe u chorych nieobciążonych klasycznymi czynnikami ryzyka sercowo-naczyniowego, tłumacząc jej obecność przewlekłym stanem zapalnym oraz dysregulacją immunologiczną. RZS jest związany z obecnością podwyŝszonych stęŝeń cytokin prozapalnych jak interleukina-6 (IL-6), czynnik martwicy nowotworu α (TNF α), cytokiny z rodziny IL-1 (IL-1, IL-18, IL-33), czynnik stymulujący tworzenie kolonii granulocytów i makrofagów (GM-CSF) oraz IL-17 (17). Z kolei w patogenezie axSpA dominują TNF- α , IL-17 i IL-23 (18). Wszystkie te cytokiny prozapalne powiązано takŝe z dysfunkcją śródbłónka oraz patogenezą miaŝdżycy i choroby wieńcowej (19).

Zgodnie z załoŝeniem, ŝe wysoka aktywność choroby wynika z nasilonego ogólnoustrojowego stanu zapalnego, badania wykazały, ŝe chorzy na artropatii zapalne mający status “aktywnych” częściej charakteryzowali się dysfunkcją śródbłónka w badaniach czynnościowych oraz aktywacją endotelium, wyrażoną poprzez wzrost stęŝeń biomarkerów takich jak indukowalna syntaza tlenu azotu (iNOS), mieloperozydaza, angiopoetyna-2 i czynnik tkankowy (20)(21)(22). W kilku badaniach stwierdzono, ŝe obecność dysfunkcji śródbłónka (mierzonej przy pomocy różnych metod) dodatkowo koreluje z podwyŝszonymi wartościami markerów zapalnych oraz aktywnością choroby (23)(24)(25). Rezultaty wspomnianych badań sugerowały, ŝe osiągnięcie remisji choroby zapalnej oraz jej podtrzymywanie powinny długofalowo przełoŝyć się na zmniejszenie ryzyka sercowo-naczyniowego. Jedynie część badań wykazała korzystny wpływ skutecznego leczenia na śródbłónek naczyniowy oraz, w przypadku badań kohortowych, na zmniejszenie ryzyka sercowo-naczyniowego. Tym niemniej, u chorych na RZS utrzymuje się rezydualne, podwyŝszone ryzyko sercowo-naczyniowe nawet pomimo zadowalających efektów leczenia z perspektywy reumatologicznej, czyli niskich wskaźników aktywności choroby, na co wskazują dane z duńskiego rejestru DANBIO (26). Ponadto obniŝoną reaktywność śródbłónka stwierdzono takŝe u młodych, poza tym nieobciążonych chorych na RZS z niską aktywnością choroby (27), co sygnalizuje, ŝe nawet młody wiek i niska aktywność choroby nie chronią całkowicie przed wystąpieniem dysfunkcji śródbłónka, podobnie jak

relatywnie krótki czas trwania choroby. Z drugiej strony niektórzy pacjenci z przewlekłymi chorobami zapalnymi o niekiedy długotrwałym przebiegu dożywają sędziwego wieku i nie rozwijają istotnych powikłań sercowo-naczyniowych, nawet pomimo wieloletniej choroby. Klasyczne czynniki ryzyka sercowo-naczyniowego nie wyjaśniają całkowicie obecności dysfunkcji śródbłonna u chorych na RZS i axSpA, ale w niektórych badaniach nie wykluczano pacjentów z tymi czynnikami - w konsekwencji część dotychczasowych prac mogła wykazać dysfunkcję śródbłonna spowodowaną tradycyjnymi czynnikami ryzyka sercowo-naczyniowego, a nie tylko samą chorobą zapalną. W szczególności pozostaje niewyjaśnione, w jakim stopniu dysfunkcja śródbłonna jest spowodowana specyficznym obciążeniem zapalnym związanym z przewlekłymi artropatiami zapalnymi lub chorobami współistniejącymi, o których wiadomo, że stanowią ryzyko sercowo-naczyniowe. Wątpliwości te wynikają ze sposobu projektowania wcześniejszych badań poświęconych dysfunkcji śródbłonna u pacjentów z zapalnymi chorobami reumatycznymi, które często obejmowały heterogenne grupy pacjentów, w różnym wieku, o różnym czasie trwania choroby oraz nieuwzględniające wpływu leków nieobojętnych dla śródbłonna, takich jak GKS i NLPZ. Ponadto dotychczasowe badania cechują się różnorodnością metod wykorzystanych do oceny funkcji śródbłonna, przy czym równoczesna ocena śródbłonna makro- i mikrokrążenia, jakkolwiek wykonywana, nie była dotychczas standardem.

1.2 Śródbłonek – funkcja i znaczenie

Zarówno w literaturze popularnonaukowej, jak i ściśle fachowej, jako największe narządy człowieka często podaje się skórę (biorąc pod uwagę powierzchnię oraz masę) oraz mikrobiom jelitowy (uwzględniając liczebność komórek bakterii względem komórek człowieka). Okazuje się jednak, że równie pokaźny, choć mniej rozpoznawalny, jest śródbłonek naczyń krwionośnych, który również stanowi swego rodzaju olbrzymi narząd, cechujący się łączną powierzchnią około 4000-7000 m² (28). System naczyń krwionośnych w pewnym uproszczeniu można podzielić na makro- i mikrokrążenie. Pierwsza kategoria obejmuje duże naczynia, tętnice i żyły, które są odpowiedzialne za transport krwi do lub z narządów. Z kolei mikrounaczynienie obejmuje małe tętnice, żyłki i naczynia włosowate, które składają się prawie wyłącznie z komórek śródbłonna i uczestniczą przede wszystkim w regulacji lokalnej perfuzji krwi i wymianie metabolicznej między krwią a tkankami obwodowymi. Tętniczki, których średnica wynosi od 10 do 100 μm, są dobrze unerwione autonomicznie, co pozwala na ich skurcz i rozkurcz. Odgrywają kluczową rolę w dostrajaniu obwodowego oporu naczyniowego i objętości przepływu krwi poprzez wpływ na wymianę płynów w naczyniach włosowatych. Naczynia włosowate i żyłki są głównym miejscem wymiany płynów i makrocząsteczek. Żyłki są również ważne dla adhezji leukocytów. Wszechobecność śródbłonna przekłada się na różnorodność procesów, w które jest zaangażowany. Jakkolwiek na śródbłonek naczyniowy składa się zaledwie pojedyncza

warstwa komórek wyściełająca ściany serca, naczyń limfatycznych oraz wszystkich wymienionych wyżej typów naczyń krwionośnych, nie stanowi ona jedynie prostej błony półprzepuszczalnej, lecz aktywny endo- i parakrynnie organ pełniący liczne funkcje fizjologiczne i odgrywający istotną rolę w utrzymaniu homeostazy poprzez regulację napięcia naczyń i przepływu krwi, działanie przeciwzakrzepowe oraz udział w neoangiogenezie i procesach immunologicznych (29). Funkcje śródbłonna oraz sposób ich realizacji podsumowano w tabeli 1.

Tabela 1 Podsumowanie funkcji śródbłonna.

Nazwa funkcji	Sposób realizacji
Regulacja napięcia naczyń i przepływu krwi, wpływ na ciśnienie tętnicze	Wydzielanie czynników rozszerzających naczynia (np. tlenek azotu) i obkurczających naczynia (np. endotelina)
Regulacja hemostazy	Działanie przeciwzakrzepowe (produkcja np. prostacykliny). Działanie nasilające agregację płytek w razie przerwania ciągłości naczynia (ciałka Weibela-Paladego)
Regulacja przepuszczalności naczyń	Transport transendotelialny cząsteczek, endocytoza
Udział w angiogenezie, odpowiedzi na hipoksję, rozwoju nowotworów	Produkcja czynników wzrostu
Funkcja wydzielnicza i sygnalizacyjna	Wydzielanie substancji endo- i parakrynnych, chemokin, cytokin, ekspresja licznych białek powierzchniowych
Udział w procesach immunologicznych	Regulacja diapedezy leukocytów poprzez ekspresję cząsteczek adhezyjnych, produkcja cytokin w odpowiedzi na infekcję, urazy; udział w kontroli stanu zapalnego (wydzielanie czynników pro- i przeciwzapalnych)

1.2.1 Regulacja przepływu krwi i napięcia naczyń

Śródbłonek odgrywa ważną rolę w regulacji napięcia naczyń poprzez utrzymywanie równowagi sygnałów rozkurczających i obkurczających naczynia w celu dostosowania ciśnienia tętniczego i przepływu krwi do bieżącego zapotrzebowania. Regulacja naczyń przez komórki śródbłonna jest kontrolowana także przez wysyłanie sygnałów parakrynnych do komórek mięśni gładkich otaczających naczynia, powodując ich kurczenie się lub relaksację. Najsilniejszym czynnikiem zwężającym naczynia krwionośne jest endotelina, produkowana, zgodnie z sugestywną nazwą, przez endotelium. Inne cząsteczki o właściwościach wazokonstrykcyjnych produkowane przez

wspomniane komórki to tromboksan A2 i angiotensyna-II. Przeciwwagę dla wymienionych substancji stanowi głównie tlenek azotu (NO) (30). W warunkach fizjologicznych endotelialna syntaza tlenu azotu (eNOS), aktywowana głównie przez naprężenie ścinające (ang. shear stress, SS) przepływającej krwi oraz różne cząsteczki sygnalizacyjne, w tym lipoproteiny o wysokiej gęstości (HDL), dostarcza NO, a zatem głównego czynnika wazodylatacyjnego w organizmie wpływającego rozkurczowo na mięśniówkę gładką naczyń (31). W przypadku dysfunkcji śródbłonna, dochodzi do upośledzenia biodostępności NO, sprzyjając w ten sposób rozwojowi nadciśnienia tętniczego i miażdżycy. Aktywność eNOS zakłócają także utlenione lipoproteiny o niskiej gęstości (oxLDL, oxidized low-density lipoproteins), co wskazuje na jedno z powiązań między dysfunkcją śródbłonna a hipercholesterolemią (32) oraz stanem zapalnym, w którym to LDL ulegają utlenieniu.

Rozkurczowo działa również prostacyklina (PGI_2), pochodna kwasu arachidonowego syntetyzowana przez konstytutywnie aktywną cyklooksygenazę (COX) (33). Ostatnia grupa czynników naczyniorozszerzających określana jest mianem śródbłonkowego czynnika hiperpolaryzującego (endothelial-derived hyperpolarizing factors, EDHFs), stanowiącego bardziej szlak sygnalizacyjny, którego różne mediatory (gazy drobnocząsteczkowe, np. CO, H_2S , peptydy, jony, np. K^+) mają zdolność do wywoływania hiperpolaryzacji, a w efekcie rozkurczu komórek mięśni gładkich (34).

1.2.2 Regulacja hemostazy

Komórki śródbłonna, tworzące wyściółkę naczyń, w warunkach fizjologicznych zapewniają gładką powierzchnię przeciwzakrzepową. Ponadto wytwarzają czynniki przeciwzakrzepowe, przede wszystkim PGI_2 , zapobiegającą agregacji płytek krwi. Dodatkowo, syntetyzują również trombosmodulinę, inhibitor czynnika tkankowego (TFPI) oraz heparynę i cząsteczki heparynopodobne, hamując w ten sposób kaskadę krzepnięcia (35). Z drugiej strony, w razie przerwania ciągłości naczynia, komórki śródbłonna odgrywają znaczącą rolę w możliwie szybkim zapewnieniu hemostazy i regulacji stanu zapalnego. W komórkach śródbłonna znajdują się ciała Weibela-Paladego (WPB, przypis odnośnie do pisowni nazwiska w wykazie skrótów), będące subkomórkowymi, podłużnymi organellami, w których zmagazynowane są cząsteczki mogące rozpocząć działanie natychmiast po ich uwolnieniu, co pozwala oszczędzić czas konieczny do translacji białek. Ich główny składnik stanowi czynnik von Willebranda (vWF), mający zdolność do rekrutacji trombocytów do miejsca uszkodzenia, P-selektyna, przyciągająca leukocyty do ochrony przed ewentualnymi patogenami, IL-8, nasilająca stan zapalny oraz czynniki obkurczające naczynia (36).

1.2.3 Regulacja przepuszczalności naczyń

Śródbłonek utrzymuje właściwą przepuszczalność naczyń dla różnych substancji, w tym gazów, elektrolitów, białek i lipidów. Regulacja przepuszczalności jest istotna dla równowagi płynów między naczyniami a tkankami oraz dla transportu składników odżywczych i cząsteczek

sygnalizacyjnych. Bariera zapewniania przez śródbłonek jest zarówno strukturalna, jak i funkcjonalna. Na jej przepuszczalność wpływają aktualny stan skurczu naczyń oraz rekrutacja kapilar. Cząsteczki mogą swobodnie dyfundować przez fenestracje w przypadku nieciągnącego śródbłonka, mogą też przemieszczać się przez połączenia ścisłe lub drogą transendotelialną z wykorzystaniem mechanizmów endo- i egzocytozy (37). Istotną rolę w transporcie glukozy przez błonę komórkową odgrywa niewymagający energii i niezależny od insuliny transporter GLUT-1 (38). Śródbłonek jest również znaczącym narządem w regulacji transportu lipidów w organizmie. Kwasy tłuszczowe (FA) o krótkich (poniżej 6 atomów węgla) i średnich (6-12 atomów węgla) łańcuchach nie wymagają aktywnego transportu przez błonę komórkową, natomiast kwasy tłuszczowe o dłuższych łańcuchach wymagają specjalnych białek (FATP, Fatty Acids Transporting Proteins), takich jak FAT/CD36 (translokaza FA), FATP1-6 i wewnątrzkomórkowe FABP (białka wiążące FA). Czynniki wzrostu śródbłonka naczyniowego B (VEGF-B) wydzielany np. przez sąsiednie kardiomiocyty indukuje ekspresję FATP3 i FATP4 w komórkach śródbłonka, co ułatwia wchłanianie FA ważnego dla produkcji adenosynotrójfosforanu (39). Transendotelialnie transportowane są lipoproteiny, w szczególności LDL i HDL. Z kolei CD36 jest kluczowym receptorem zmiatającym, wymaganym do internalizacji oxLDL w komórkach śródbłonka. Natomiast transport HDL możliwy jest dzięki białkom SR-B1 i ABCG1. Transport oxLDL jest kluczowy z punktu widzenia patogenezy miażdżycy.

1.2.4 Udział w angiogenezie

Śródbłonek jest zaangażowany w proces tworzenia nowych naczyń krwionośnych, zwany angiogenezą, niezbędny podczas wzrostu i rozwoju, a także w naprawę tkanek i przywracanie zaopatrzenia w tlen i metabolity. W odpowiedzi na różne sygnały, takie jak hipoksja, komórki śródbłonka mają zdolność podziału i zainicjowania procesu tworzenia nowych naczyń, co pozwala dostarczyć dodatkowego zaopatrzenia krwi do obszarów wzmożonego zapotrzebowania. Podczas angiogenezy aktywowane komórki śródbłonka przechodzą mitozę i migrują z wcześniej istniejącego naczynia w kierunku gradientu VEGF, wytwarzanego autokrynnie przez śródbłonek lub parakrynnie przez komórki zapalne. Istnieją również inne czynniki, które działają angiogennie, takie jak duża rodzina peptydów angiopoetyny lub cytokiny, np. IL-8, które indukują proliferację komórek śródbłonka w niedokrwionym mięśniu sercowym lub w różnych nowotworach. Neowaskularyzacja odgrywa istotną rolę w przypadku adaptacji do przewlekłej hipoksemii, rozwoju przerzutów nowotworowych oraz, pozostając w kręgu reumatologii, w patogenezie obrazu mikroangiopatii typowej dla twardziny układowej.

1.2.5 Funkcja sekrecyjna i sygnalizacyjna

Komórki śródbłonka wydzielają niezmiernie zróżnicowany wachlarz substancji obejmujący chemokiny, interleukiny, czynniki wzrostu i substancje wazoaktywne, w tym drobnocząsteczkowe

mediatory gazowe, pochodne kwasu arachidonowego (wspomniana już wcześniej prostacyklina, leukotrieny, tromboksan), wolne rodniki. Już w powyższych akapitach zaakcentowano doniosłą rolę wydzielniczą komórek śródbłonna w zakresie produkcji czynników wpływających na rozkurcz i skurcz naczyń, działających przeciw- oraz prozakrzepowo, a także czynników wzrostu, nie tylko ww. VEGF, lecz także insulinopodobnego czynnika wzrostu (IGF), czynnika wzrostu hepatocytów (HGF), czynnika wzrostu tkanki łącznej (CTGF), transformującego czynnika wzrostu β (TGF- β). Ponadto komórki endotelium są również zaangażowane w wytwarzanie substancji tworzących macierz zewnątrzkomórkową, głównie fibronektyny, lamininy, kolagenu, osteopontyny i proteoglikanów (40). Jako komórki aktywne w stanie zapalnym i przez ów stan aktywowane (choćby poprzez stymulację obecnych na ich błonie receptorów rozpoznających wzorce, PRR [Pattern Recognition Receptor]), potrafią wydzielać mediatory stanu zapalnego, w tym IL-1 β , IL-6 i IL-8, TNF- α . W błonie komórek endotelium znajdują się także receptory dla hormonów, czynników parakrynych, cytokin i czynników wzrostu, a zatem rozmaitych ligandów o zróżnicowanej budowie, w tym białkowej, lipidowej, drobnocząsteczkowej. Białka łączące, dzięki którym możliwe są interakcje pomiędzy sąsiadującymi komórkami oraz między komórkami a macierzą pozakomórkową są również bogato reprezentowane na powierzchni komórek śródbłonna. Opisane funkcje pełnią przede wszystkim cząsteczki adhezyjne takie jak integryny, selektyny, kadheryny (40). Odgrywają one również istotną rolę w zjawiskach immunologicznych.

1.2.6 Rola w układzie immunologicznym

Śródbłonek może aktywować odpowiedź immunologiczną w odpowiedzi na infekcje lub urazy. Komórki śródbłonna wydzielają czynniki zapalne, takie jak ww. cytokiny, które przyciągają leukocyty do miejsca infekcji lub uszkodzenia. Śródbłonek stanowi olbrzymią powierzchnię błon komórkowych, na których ekspresji ulegają różne receptory, w tym kilka receptorów PRR rozpoznających wzorce molekularne związane z patogenami, włącznie z rodziną receptorów Toll-podobnych (TLR, Toll-like receptors). TLR1-TLR6 i TLR 9 znajdują się na wszystkich komórkach śródbłonna w warunkach fizjologicznych, także tych tkankowo specyficznych, podczas gdy TLR7, TLR8 i TLR10 ulegają indukcji przez stan zapalny. Ich aktywacja skutkuje produkcją cytokin przez wzbudzone komórki śródbłonna. Pozwala to na bezpośrednie uczestnictwo śródbłonna w procesach odporności nieswoistej oraz na inicjację stanu zapalnego. W przypadku jego zaistnienia ekspresja cząsteczek adhezyjnych ulega zwiększeniu, zaś większa ekspozycja cząsteczek E-selektyny, P-selektyny, ICAM (Intercellular Cell Adhesion Molecule 1) i VCAM (Vascular Cell Adhesion Molecule) ułatwia migrację leukocytów do ogniska zapalnego. Stanowi ona pierwszą część wieloetapowego procesu przemieszczania się leukocytów ze światła naczyń do miejsca stanu zapalnego, ściśle regulowanego przez komórki śródbłonna, których zadaniem jest utrzymanie równowagi między szczelnością ścian naczyń a kontrolowanym wynaczynieniem komórek

odpornościowych. Migracja przezśródbłonkowa odbywa się w kilku etapach (1) adhezji, (2) migracji po komórkach śródbłonka (rolowanie), (3) ścisłej adhezji, (4) pełzaniu i ostatecznie (5) diapedezie, czyli przeniknięciu komórki przez barierę śródbłonkową oraz błonę podstawną i dotarcie do docelowej tkanki. Główną grupę cząsteczek adhezyjnych tworzą lektyny zależne od jonów wapnia: selektyna E, syntetyzowana de novo przez komórki śródbłonka po indukcji przez podstawowe cytokiny prozapalne, a więc IL-1 lub TNF- α , oraz selektyny P, które są magazynowane w ciałkach Weibela-Paladego. Selektyna L jest z kolei syntetyzowana konstytutywnie przez leukocyty, natomiast chemokiny, takie jak CCL2 (C-C Motif Chemokine Ligand 2), odpowiadają za szybkie pojawienie się na powierzchni komórek L-selektyny, PSGL-1 (P-Selectin Glicoprotein Ligand 1) i CD44, kluczowych dla procesu rekrutacji neutrofilów i indukują ekspresję E-selektyny, która przyłącza się do monocytów. W ścisłej adhezji i pełzaniu pośredniczy silniejsze zakotwiczenie przez integrynę i jej ligandy: ICAM-1 i LFA-1 (Lymphocyte Function-Associated Antigen 1) (41). Klasyczne cechy zapalenia opisane przez Celsusa, *calor* (ciepło), *rubor* (zaczerwienienie), *tumor* (opuch) i *dolor* (ból) na najbardziej podstawowym poziomie są zatem regulowane przez komórki śródbłonka.

1.2.7 Dysfunkcja śródbłonka

Dysfunkcja śródbłonka jest stanem patologicznym opisywanym jako zaburzenie równowagi między substancjami rozszerzającymi i zwężającymi naczynia krwionośne, utrata właściwości przeciwzakrzepowych śródbłonka oraz jego zwiększona przepuszczalność. W 1998 roku zaproponowano pięć głównych obszarów, w których dochodzi do dysfunkcji śródbłonka. Obejmują one utratę integralności ściany naczynia, wzmożoną ekspresję cząsteczek adhezyjnych, zmianę fenotypu na prozakrzepowy, wytwarzanie cytokin prozapalnych oraz ekspresję antygenów zgodności tkankowej (42). Dysfunkcję śródbłonka można również scharakteryzować jako dowolną inną formę nieprawidłowej aktywności komórek endotelium, która nie ustala po zadziałaniu bodźca fizjologicznego i która nie pozwala na realizację jego fizjologicznych funkcji, co czyni ją swego rodzaju spektrum różnych zaburzeń, przybierającą rozmaite konstelacje. Większość, jeśli nie wszystkie czynniki ryzyka sercowo-naczyniowego, zostały powiązane z dysfunkcją śródbłonka. Wykryto ją w nadciśnieniu tętniczym, u palaczy czynnych i biernych, w przypadku starzenia się, otyłości, cukrzycy, dyslipidemii, hiperhomocysteinemii (28). Dysfunkcja śródbłonka została udokumentowana we wszystkich przypadkach miażdżycy tętnic, zarówno na jej początkowym etapie, jak i w zaawansowanej chorobie, w której podtrzymuje ona błędne koło procesów patologicznych, co skutkuje zwiększeniem rozmiarów blaszek miażdżycowych. Dysregulację komórek śródbłonka stwierdzono również w tak różnorodnych stanach jak kardiomiopatie, nowotwory, choroby zakaźne, układowe choroby tkanki łącznej, artropatie zapalne i układowe zapalenia naczyń (43). Zaburzenia czynności śródbłonka manifestują się przede wszystkim upośledzoną biodostępnością NO, spowodowaną albo zmniejszoną jego produkcją przez eNOS albo zwiększonym jego rozpadem z

powodu reaktywnych form tlenu (ROS, Reactive Oxygen Species) towarzyszącym stresowi oksydacyjnemu. ROS, reagując z NO, nie tylko zmniejszają jego biodostępność, lecz bezpośrednio uszkodzają struktury komórkowe w wyniku produkcji nadtlenoazotanów, co ostatecznie prowadzi do upośledzenia regulacji naczyń (43). Zmniejszenie produkcji wazodylatorów przez śródbłonek (NO, PGI₂, EDHF) i następcza przewaga czynników wazokonstrykcyjnych powoduje skurcz naczyń, co w przypadku chronifikacji tego zjawiska prowadzi ostatecznie do zwiększenia całkowitego oporu obwodowego i rozwoju nadciśnienia tętniczego; w pętli sprzężenia zwrotnego dodatniego nadciśnienie tętnicze potęguje dysfunkcję śródbłonka (44).

Dysfunkcja śródbłonka, wyrażona także utratą własności przeciwzakrzepowych w postaci zmniejszenia produkcji naturalnych antykoagulantów, obniżenia produkcji działającej antyagregacyjnie PGI₂ oraz zwiększenia uwalniania vWF przesuwają równowagę w kierunku prozakrzepowym (45). Z kolei przetrwała aktywacja śródbłonka spowodowana np. przewlekłym stanem zapalnym prowadzi do nadmiernej egzocytozy WPB oraz zwiększonej ekspresji cząsteczek P-selektyny, co wzmacnia rekrutację leukocytów do miejsca urazu lub zapalenia, zwiększając w ten sposób napływ komórek zapalnych do blaszek miażdżycowych (46). Nadmierna ekspresja P-selektyny pobudza także komórki dendrytyczne przez aktywację TLR4 i szlak sygnałowy zależny od czynnika jądrowego- (NF-κB), co przyspiesza postęp miażdżycy (47). Dysfunkcja śródbłonka dotyczy także innej pełnionej przez nie roli, czyli możliwości wytwarzania nowych naczyń. Upośledzenie angiogenezy towarzyszy starzeniu, co ostatecznie prowadzi do zmniejszenia możliwości regeneracyjnych, hipoperfuzji tkankowej, zmniejszenia możliwości kompensacyjnych w przypadkach zaburzeń homeostazy (hipoksji, anemii) oraz utraty możliwości stworzenia krążenia obocznego w razie niedokrwienia (48).

Dysfunkcja śródbłonka jest nie tylko zespołem zjawisk, których scharakteryzowanie pozwala częściowo nakreślić patogenezę miażdżycy oraz podjąć poszukiwania punktów uchwytu dla nowych leków, ale także mierzona różnymi metodami zmienną, mającą potencjalne zastosowanie do stratyfikacji ryzyka sercowo-naczyniowego oraz oceny skuteczności interwencji działających na układ sercowo-naczyniowych, zarówno farmakologicznych, jak i nefarmakologicznych. Zależność między dysfunkcją śródbłonka a zdarzeniami sercowo-naczyniowymi nie jest liniowa i na obecnym etapie badań nie pozwala na pełną ich predykcję, należy jednak zaznaczyć, że częściowo wynika to ze znacznego zróżnicowania metod stosowanych do oceny funkcji śródbłonka oraz istotnej heterogenności badanych populacji (49). Identyfikacja dysfunkcji śródbłonka w nieinwazyjnych pomiarach u osób zdrowych nie przełożyła się jak dotąd na możliwość oszacowania ryzyka sercowo-naczyniowego, natomiast wśród chorych z rozpoznaną chorobą sercowo-naczyniową stwierdzenie zaburzeń czynności endotelium ma dowiedzioną wartość prognostyczną. Praca autorstwa Kitty i wsp. wykazała, że u chorych z nowo rozpoznaną stabilną chorobą wieńcową utrzymujące się w kolejnych

pomiarach obniżenie wartości FMD (Flow-Mediated Dilatation) poniżej 5.5% stanowiło czynnik prognostyczny dla zdarzeń sercowo-naczyniowych podczas trzyletniej obserwacji (50). Z kolei u chorych na miażdżycę tętnic kończyn dolnych poddawanych rewaskularyzacji, niższe RHI (Reactive Hyperemia Index), a zatem dysfunkcja śródbłonna obwodowego mikrokrążenia, a także niższe FMD [%], wiązały się z wyższym ryzykiem sercowo-naczyniowym, co wykazano, odnotowując wyższą liczbę zdarzeń sercowo-naczyniowych u tych chorych (51). Biorąc pod uwagę wyższe ryzyko sercowo-naczyniowe u chorych na zapalne choroby stawów, ocena czynności śródbłonna w tej grupie pacjentów stanowiła naturalny kierunek rozwoju badań.

1.3 Ryzyko sercowo-naczyniowe w artropatiach zapalnych

RZS wiąże się z większym ryzykiem chorób sercowo-naczyniowych, porównywalnym z ryzykiem u pacjentów z cukrzycą. Pacjenci z RZS mają o 48% większe ryzyko rozwoju choroby sercowo-naczyniowej, a śmiertelność z przyczyn sercowo-naczyniowych wzrasta o 50% w porównaniu z populacją ogólną (1)(52)(53). Wykazano związek między zwiększoną aktywnością choroby a występowaniem incydentów sercowo-naczyniowych, w tym także zależność między zmniejszeniem aktywności choroby a redukcją ryzyka sercowo-naczyniowego (54) (choć nie jest to zależność liniowa, a osiągnięcie remisji choroby nie gwarantuje pełnej ochrony przed powikłaniami sercowo-naczyniowymi), jak również większy wpływ aktywności choroby w porównaniu z czasem jej trwania (55). Według metaanalizy Aviny-Zubiety i wsp. ryzyko zawału mięśnia sercowego, incydentu naczyniowo-mózgowego i niewydolności serca jest zwiększone u pacjentów z RZS odpowiednio o 68%, 41% i 87% (1). Ponadto chorzy na RZS są bardziej narażeni na niemy klinicznie zawał mięśnia sercowego oraz nagłą śmierć sercową (56). Większego ryzyka nie można w pełni wytłumaczyć jedynie tradycyjnymi czynnikami ryzyka, takimi jak palenie tytoniu, otyłość, cukrzyca, nadciśnienie tętnicze czy dyslipidemia, pomimo że są one częstsze w tej populacji pacjentów, co uwypukliło rolę przewlekłego stanu zapalnego w rozwoju miażdżycy i korespondowało z rozwijaną równolegle zapalną teorią podłoża tego schorzenia. W RZS ryzyko sercowo-naczyniowe zależne jest także od czynników genetycznych i immunologicznych. Dziedziczność RZS szacuje się na około 65%, a jednym z najsilniejszych genetycznych czynników ryzyka jest region HLA-DRB1, zwłaszcza allele DRB1*04 i DRB1*01 (57). Chorzy na RZS, którzy są HLA-DRB1-dodatni, mają większe ryzyko zgonu z powodu chorób sercowo-naczyniowych (58). Wykazano ponadto czterokrotnie zwiększone ryzyko zgonu z przyczyn sercowo-naczyniowych u pacjentów z obecnym HLA-DRB1*04 i ponad sześciokrotnie w przypadku pacjentów z RZS dodatnich pod względem allelu HLA-DRB1*0404 w porównaniu z populacją ogólną (59). Sekwencja aminokwasów stanowiąca "wspólny epitop" może być odpowiedzialna za prezentację cytrulinowanych peptydów, co odgrywa znaczącą rolę, bowiem pacjenci z dodatnim wynikiem oznaczenia przeciwciał antycytrulinowych (a także różnymi izotypami czynnika reumatoidalnego), są jeszcze bardziej narażeni na rozwój chorób sercowo-naczyniowych

(60), co dotyczy również pacjentów bez RZS (61). Może to być spowodowane występowaniem cytrulinowanych białek w blaszkach miażdżycowych, dzięki czemu wspomniane przeciwciała mogą się z nimi wiązać i nasilać dysfunkcję śródbłónka (62). Ryzyko sercowo-naczyniowe u chorych na RZS obliczone przy użyciu tradycyjnych skali ryzyka prowadzi do jego niedoszacowania (63). Kalkulatory ryzyka uwzględniające RZS to QRISK®3-2018, który szacuje ryzyko zawału mięśnia sercowego lub udaru mózgu w ciągu kolejnych 10 lat oraz ASSIGN (Scottish Intercollegiate Guidelines Network [SIGN]), obliczający ryzyko rozwoju choroby wieńcowej, zawału mięśnia sercowego, udaru mózgu lub nagłego zgonu sercowego w ciągu 10 lat.

U pacjentów z axSpA, głównie chorych na zeszywniając zapalenie stawów kręgosłupa (ZZSK), gdyż dla nieradiograficznej osiowej spondyloartropatii (nr-axSpA) zakres dostępnych danych jest ograniczony (64), również wykazano większą współchorobowość sercowo-naczyniową (65), wyższe ryzyko sercowo-naczyniowe, wyrażone częstszą niż w populacji ogólnej zapadalnością na zawał mięśnia sercowego oraz udar niedokrwienny mózgu (66)(67), a także wcześniejszą oraz szybciej postępującą miażdżycę niż w populacji ogólnej (68). Ryzyko to nie zostało tak dobrze skwantyfikowane jak w przypadku RZS, lecz prawdopodobnie jest około 1.2-1.5 razy wyższe w porównaniu z populacją ogólną (67). Silny czynnik genetycznej podatności na ZZSK, czyli obecność allelu HLA-B27, nie został jednak powiązany per se z większym ryzykiem sercowo-naczyniowym lub współchorobowością sercowo-naczyniową (69). Zaobserwowano jednak przesuwający się ku północy gradient większego obciążenia klasycznymi czynnikami ryzyka-sercowo-naczyniowego w stosunku do krajów basenu Morza Śródziemnego (70).

Zarówno u chorych na RZS, jak i axSpA, powszechnie udokumentowano obecność dysfunkcji śródbłónka, zarówno na poziomie makro-, jak i mikrokrążenia (zwłaszcza w przypadku RZS) i powiązano ją z przedwczesnym rozwojem miażdżycy oraz większą chorobowością sercowo-naczyniową.

1.4 Dysfunkcja śródbłónka makrokrążenia w RZS

Wazodylatacja tętnicy ramiennej po niedokrwieniu (FMD), czyli jeden z najczęściej wykonywanych nieinwazyjnych pomiarów funkcji śródbłónka dużych tętnic, wykorzystany został w wielu badaniach dotyczących chorych na RZS. Metaanaliza 464 artykułów wykazała powszechnie odnotowywane obniżenie FMD [%] u chorych na RZS w porównaniu z populacją ogólną (71). W niektórych badaniach stwierdzono, że nawet osoby z wczesnym RZS mają upośledzoną FMD [%] w porównaniu z grupą kontrolną, co sugeruje, że dysfunkcję śródbłónka głównych tętnic można wykryć niezależnie od krótkiego przebiegu choroby (72). Niższe wartości FMD [%] były skorelowane obecnością niektórych alleli, takich jak HLA-DRB1*04 i HLA-DRB1*0404, co koresponduje z przytoczonymi wcześniej wynikami dotyczącymi ogólnego ryzyka sercowo-naczyniowego i jego zależności od czynników genetycznych (73). Inni badacze odkryli związek między obniżeniem FMD

[%] i CRP w grupie kobiet chorych na RZS w wieku 41-52 lat leczonych metotreksatem (MTX), z niską aktywnością choroby, nieobciążonych klasycznymi czynnikami ryzyka sercowo-naczyniowego (74). Podobnie w pracy Vaudo i wsp. przeprowadzonej na 32 pacjentach z RZS w wieku ≤ 59 lat bez klasycznych czynników ryzyka sercowo-naczyniowego z niską aktywnością choroby, leczonych głównie MTX i GKS, niższe wartości FMD odniesiono do tłącego się przewlekłego stanu zapalnego (27). Co ciekawe, wydaje się, że istnieje czynnik ochronny dla funkcji śródbłonna makrokrążenia uchwytnej w badaniu FMD, którym jest delecja CCR5 Δ 32. Receptor CCR5 znajduje się na limfocytach T oraz komórkach prezentujących antygen, w tym w makrofagach lub komórkach dendrytycznych, i bierze udział w ich przemieszczaniu i aktywacji (75). Wykazano, że u chorych na RZS będących nosicielami tej delecji, FMD [%] osiągało istotnie wyższe wartości w porównaniu z innymi pacjentami (76).

1.5 Dysfunkcja śródbłonna makrokrążenia w axSpA

Podobnie jak RZS, spondyloartropatie również charakteryzują się przewlekłym stanem zapalnym oraz zwiększoną częstością występowania klasycznych czynników ryzyka sercowo-naczyniowego, które wspólnie, choć w nieznanym zakresie co do wielkości udziału poszczególnych zmiennych, przyczyniają się do dysfunkcji śródbłonna makrokrążenia w axSpA (głównie najczęściej występującym i badanym ZZSK). Już kilkanaście lat temu, podczas pierwszej fali badań nad śródbłonkiem w chorobach zapalnych na początku XXI wieku, udokumentowano obniżenie FMD [%] u pacjentów z ZZSK, chociaż nie stwierdzono korelacji z czynnikami demograficznymi i wskaźnikami zapalnymi (77). W badaniu, w którym wykazano niższą wartość FMD [%] u chorych na ZZSK, nie powiązano jej z długością choroby ani ograniczeniem zakresu ruchomości poszczególnych odcinków kręgosłupa, z którymi skorelowano natomiast szybkość fali tętna i grubość kompleksu intima-media (78). W indyjskim badaniu, w którym u młodych chorych na axSpA bez klasycznych czynników ryzyka sercowo-naczyniowego wykryto niższe wartości FMD oraz większą grubość kompleksu intima-media w porównaniu ze zdrowymi osobami z grupy kontrolnej, a wielkości te skorelowano ze wskaźnikami aktywności choroby, nie udokumentowano zaś odchyleń w zakresie ciśnienia tętniczego czy lipidogramu (79). Obniżoną wartość FMD odnotowano także w badaniu z 2022 roku u chorych z szerzej definiowaną axSpA, w którym jednak dysfunkcję śródbłonna, jak i wykładniki subklinicznej miażdżycy, powiązano z klasycznymi czynnikami ryzyka sercowo-naczyniowego (3), a także, w innej pracy, z większą ilością nasierdziowej tkanki tłuszczowej (80). Spadek FMD był skorelowany również ze spadkiem waspiny u chorych na ZZSK (81) oraz ze wzrostem wisfatyny (82), co wskazuje na kolejne powiązanie między regulatorami metabolizmu takimi jak adipokiny a dysfunkcją śródbłonna. Stwierdzono także negatywną korelację między FMD a progresją radiologiczną w axSpA (83). Z drugiej strony, w badaniu 20 chorych na ZZSK bez klasycznych czynników ryzyka sercowo-naczyniowego (choć najstarszy pacjent w tej pracy miał 69 lat), nie stwierdzono obniżenia FMD w

porównaniu z grupą kontrolną, a wartości FMD nie były skorelowane ze wskaźnikami aktywności choroby ani ograniczenia sprawności; pomimo zachowanej funkcji śródbłonna głównych tętnic, w tym doniesieniu stwierdzono pogrubienie kompleksu intima-media, a zatem morfologiczny wykładnik subklinicznej miażdżycy (84), nieobserwowany dotychczas u chorych na nr-axSpA (85). W tym podtypie spondyloartropatii nie prowadzono jak na razie szerokich badań funkcji śródbłonna makrokrążenia.

1.6 Dysfunkcja śródbłonna mikrokrążenia w RZS

Dysfunkcję śródbłonna mikrokrążenia stwierdzono u chorych na RZS różnymi metodami, a także w podgrupach o różnej charakterystyce klinicznej, ale, co należy podkreślić już na wstępie, wyniki są niespójne i nie wyłania się z nich klarowny fenotyp chorego cechującego się omawianym zaburzeniem. W badaniu 75 pacjentów młodych pacjentów, spośród których 28 miało RZS o krótkim czasie trwania choroby (do półtora roku), o umiarkowanej aktywności choroby, stwierdzono dysfunkcję śródbłonna mikrokrążenia przy pomocy laserowej przepływometrii dopplerowskiej (LDF, Laser Doppler Flow) (24). Z drugiej strony, u pacjentów z wczesnym zapaleniem stawów (mediana czasu trwania choroby wynosiła 2 miesiące), z podwyższonymi wskaźnikami zapalnymi (nie podano wartości DAS28), nie wykazano dysfunkcji śródbłonna mikrokrążenia przy użyciu LDF z jontoforezą (86) w porównaniu z osobami z cukrzycą oraz osobami zdrowymi. Podobnie nie wykazano dysfunkcji śródbłonna mikrokrążenia przy użyciu LDF z jontoforetycznym podaniem acetylocholino w grupie chorych na wczesny RZS (mediana czasu trwania choroby wynosiła 2 miesiące) bez klasycznych czynników ryzyka sercowo-naczyniowego, lecz z niską/umiarkowaną aktywnością choroby bez podwyższonych wskaźników zapalnych (87). Z drugiej strony Turiel i wsp. wykryli dysfunkcję śródbłonna mikrokrążenia w grupie chorych na wczesny RZS (średni czas trwania choroby 6 miesięcy) z dużą aktywnością choroby i niewdrożonym jeszcze leczeniem. W innej pracy również wykazano dysfunkcję śródbłonna mikrokrążenia przy pomocy LDF w grupie chorych na wczesny RZS z umiarkowaną aktywnością choroby i podwyższonym OB, CRP oraz IL-6, niekontrolowaną pod kątem obecności klasycznych czynników ryzyka sercowo-naczyniowego (24). Arosio i wsp. stwierdzili dysfunkcję śródbłonna mikrokrążenia w grupie chorych na RZS ze średnim czasem trwania choroby wynoszącym 6 lat i umiarkowaną aktywnością choroby w momencie rozpoznania oraz w chwili pomiaru (74). Hansel i wsp. przebadali 8 kobiet długo chorujących na RZS (średni wiek 35 lat, średni czas trwania choroby 10 lat) bez klasycznych czynników ryzyka sercowo-naczyniowego, z umiarkowaną aktywnością choroby w momencie badania wraz z niewielkim podwyższeniem OB oraz CRP i stwierdzili dysfunkcję śródbłonna mikrokrążenia przy pomocy pletyzmograficznego pomiaru przepływu krwi w przedramieniu po podaniu acetylocholino (88). Z kolei badanie 107 kobiet z RZS o umiarkowanej aktywności choroby i średnim czasie trwania choroby wynoszącym 10 lat nie wykazało dysfunkcji śródbłonna ocenianej za pomocą tonometrii tętnic obwodowych (PAT) (22). Wykazano

także dysfunkcję mikrokrążenia wieńcowego w RZS wyrażoną jako zmniejszenie rezerwy wieńcowej (ang. Coronary Flow Reserve, CFR) (89)(90). W jednym z badań poświęconych temu zagadnieniu przeprowadzonym na 25 pacjentach (12 z RZS, 13 z toczniem rumieniowatym układowym), CFR była odwrotnie skorelowana z czasem trwania choroby i CRP, odnotowano też trend do negatywnej korelacji między CFR a aktywnością choroby mierzoną za pomocą DAS-28 (91). Obniżenie CFR wykazano także u chorych z wczesnym RZS, które obejmowało 25 osób ze średnim czasem trwania choroby 6.24 miesiąca (23). Metaanaliza przeprowadzona przez Erre i wsp. wykazała, że CFR jest ogólnie istotnie niższa u chorych na zapalne choroby reumatyczne w porównaniu z osobami zdrowymi, przy czym niższe wartości CFR odnotowano w chorobach z przewagą mechanizmów autoimmunizacyjnych (a zatem tocznia rumieniowatego układowego, twardziny układowej, RZS) w porównaniu z chorobami, w patogenezie których uczestniczą głównie procesy autozapalne, takimi jak ŁZS, SpA, a także choroba Behçeta, w której pomimo toczącego się w jej toku przewlekłego stanu zapalnego, nie wykazano dotychczas zwiększonej częstości cech subklinicznej miażdżycy (92). Wyniki te sugerują, że nie sam przewlekły proces zapalny, lecz najpewniej szczególne, nieopisane jeszcze w pełni dysfunkcje immunologiczne przyczyniają się do zaburzeń działania śródbłonna i miażdżycy. We wspomnianej metaanalizie stwierdzono ponadto, że takie czynniki jak obciążenie stanem zapalnym, wiek, lipidogram, BMI oraz ciśnienie tętnicze nie wyjaśniały różnicy w wartościach CFR odnotowanych w różnych grupach pacjentów.

Wyniki badań sugerują, że ani czas trwania choroby, ani aktywność choroby nie są wystarczające, chociaż w określonych przypadkach mogą być konieczne do wywołania dysfunkcji śródbłonna mikrokrążenia, chociaż związki między tymi czynnikami nadal pozostają niejasne. Co więcej, chociaż OB i CRP służą jako ważne biomarkery do oceny aktywności choroby, dane nie wykazują wyraźnej korelacji między ich poziomami a dysfunkcją śródbłonna mikrokrążenia. Wątpliwości te zostały potwierdzone również w szerokim przeglądzie literatury dotyczącej dysfunkcji śródbłonna mikrokrążenia (badanej różnymi metodami w różnych łożyskach naczyniowych) u chorych na RZS autorstwa Bordy'ego i wsp., którzy znakomicie uwypuklili heterogenność badanych grup pacjentów oraz wskazali na to, jak mało wiadomo o czynnikach warunkujących pojawienie się dysfunkcji śródbłonna mikrokrążenia w RZS. Większa liczba danych jest dostępna w kwestii tego, z czym wspomniana dysfunkcja nie jest powiązana, a mianowicie z aktywnością choroby oraz stężeniami rutynowo oznaczanych wskaźników stanu zapalnego, czyli OB i CRP.

1.7 Dysfunkcja śródbłonka mikrokrążenia w axSpA

Podobnie jak w przypadku badań dotyczących śródbłonka makrokrążenia, populacja chorych na axSpA została słabiej przebadana pod kątem funkcji śródbłonka mikrokrążenia niż chorzy na RZS. Wykazano obecność dysfunkcji śródbłonka mikrokrążenia mierzoną przy pomocy LDF z jontoforezą z użyciem acetylocholiny i nitroprusydku sodu u chorych na ZZSK (stwierdzono także poprawę funkcji śródbłonka po leczeniu etanerceptem) (93). Podobne obserwacje w grupie chorych na ZZSK ze średnim czasem trwania choroby 6 lat z umiarkowaną aktywnością choroby i podwyższonym OB oraz CRP poczyniła Klimek i wsp. przy użyciu LDF (24). Z kolei z dysfunkcją śródbłonka mikrokrążenia, zmierzoną również za pomocą LDF, powiązano komórki jednojądrowe krwi obwodowej, które u chorych na radiograficzną SpA cechowały się prozapalnym, prooksydacyjnym fenotypem zdolnym do indukcji nieprawidłowej funkcji śródbłonka *in vitro* (94). Nie przeprowadzono dotychczas badań poświęconych porównaniu funkcji śródbłonka mikrokrążenia między radiograficzną a nieradiograficzną axSpA.

1.8 Paradoks lipidowy i zaburzenia lipidowe

Ocenę ryzyka sercowo-naczyniowego u pacjentów z artropatiami zapalnymi, a w szczególności RZS, przy pomocy standardowych narzędzi, utrudnia zjawisko paradoksu lipidowego, czyli zmniejszenia stężenia cholesterolu całkowitego (TC), LDL oraz HDL wskutek toczącego się przewlekłego stanu zapalnego. U chorych na RZS wykazano, że wzrost OB i CRP, jak i niższe stężenia TC i LDL (stąd paradoks) są związane z wyższym ryzykiem sercowo-naczyniowym (95). Stwierdzono także, że leczenie przeciwzapalne prowadzi do przynajmniej częściowego wzrostu frakcji lipoprotein, oraz że w przypadku RZS, najbardziej adekwatnym wskaźnikiem lipidowym pozwalającym na trafną ocenę ryzyka sercowo-naczyniowego, jest stosunek TC do HDL (96). Zwrócono uwagę, że niski TC u chorego na RZS może odzwierciedlać wyższą ogólnoustrojową aktywność choroby oraz wskazywać na wyższą podatność już istniejących blaszek miażdżycowych na pęknięcie, a co za tym idzie, konieczność prowadzenia intensywnej terapii przeciwmiażdżycowej np. statynami, nawet pomimo niskiego TC (97). W pięcioletnim badaniu interwencyjnym oceniającym wpływ intensywnego leczenia statynami chorych na RZS, ZZSK oraz ŁZS na profil lipidowy i ryzyko sercowo-naczyniowe, stwierdzono, że pomimo niższych wyjściowo stężeń TC i LDL niż u osób bez artropatii zapalnej, efekty w postaci redukcji ryzyka sercowo-naczyniowego (o ok. 20%) były porównywalne z wynikami osób nieleczonych reumatologicznie (98). W innym badaniu chorych na artropatie zapalne oceniono pod kątem ryzyka sercowo-naczyniowego i konieczności wprowadzenia leczenia hipolipemizującego – na tej podstawie uznano, że ponad 60% badanych pacjentów wymagało leczenia. W tej pracy również wykazano skuteczność i bezpieczeństwo terapii statynami porównywalne z populacją osób bez zapalnych chorób reumatycznych (99).

Jakkolwiek spadek TC i LDL mógłby zostać uznany za czynnik ochronny, równocześnie w tej populacji chorych dochodzi do równoległego wzrostu stężenia apolipoproteiny B i AI, a także wzrostu stężenia podatnych na utlenianie i przyspieszających aterogenezę małych gęstych lipoprotein o niskiej gęstości. Ponadto zmiany w zakresie poszczególnych frakcji lipidowych u chorych na RZS są nie tylko ilościowe, ale także funkcjonalne, bowiem dochodzi do zmiany składu białek wewnątrz HDL wyrażonych zmniejszeniem stężenia paraoksonazy 1, enzymu odpowiedzialnego za właściwości przeciwutleniające HDL, a także apolipoproteiny AI, białka transportującego estry cholesterolu i acylotransferazy lecytynowo-cholesterolowej, co skutkuje utratą fizjologicznych właściwości HDL i nabyciem przez nie cech prozapalnych i prooksydacyjnych (100)(101). U chorych na RZS odnotowano także wzrost stężeń glikowanych lipoprotein oraz oxLDL (101), a także odpowiedź autoimmunizacyjną w postaci powstania przeciwciał przeciwko apolipoproteinie AI oraz oxLDL, co powiązано z większym ryzykiem chorób sercowo-naczyniowych (102). W tej grupie pacjentów stwierdzono również zaburzenia w transporcie cholesterolu spowodowane zmniejszeniem ekspresji białek odpowiedzialnych za wypływ cholesterolu i zwiększeniem ekspresji białek oraz ekspozycji w błonach komórkowych receptorów zmiataczy, co ostatecznie sprawia, że makrofagom trudniej jest utrzymać homeostazę lipidową, to zaś przekłada się na zwiększone tworzenie się komórek piankowatych (103). Wyniki badań sugerują zatem, że nawet pomimo istnienia paradoksu lipidowego, terapia hipolipemizująca wciąż przynosi choremu korzyści, być może właśnie ze względu na pozytywny wpływ na korektę opisanych wyżej zaburzeń lipidowych innych niż jedynie zaburzenia stężeń głównych frakcji lipidowych. Zjawisko paradoksu lipidowego, może prowadzić do wtórnego paradoksu mającego konsekwencje kliniczne, czyli wstrzymywania się od leczenia hipolipemizującego z powodu niższych stężeń cholesterolu i lipoprotein, narażając chorego na brak interwencji zmniejszającej ryzyko sercowo-naczyniowe.

1.9 Wpływ leczenia na dysfunkcję śródbłonka

W kilku badaniach wykazano, że stosowanie metotreksatu (MTX) u pacjentów z RZS wiąże się ze zmniejszonym ryzykiem incydentów sercowo-naczyniowych, ale dokładne mechanizmy leżące u podstaw tego efektu nie są w pełni poznane. Główną rolę przypisuje się działaniu przeciwzapalnemu i immunomodulującemu; są one jednak ograniczone do pacjentów z chorobami zapalnymi i nie modyfikują wyników sercowo-naczyniowych u zdrowych osób (104). Potencjalny wpływ MTX na czynność śródbłonka pozostaje niepewny. MTX poprawia funkcję śródbłonka mikrokrążenia wyrażoną zmniejszeniem RHI zarówno w monoterapii, jak i w połączeniu z inhibitorem TNF- α (TNFi) niezależnie od zmiany aktywności choroby (104). Niewielkie badanie dało wgląd w możliwe mechanizmy, dzięki którym MTX może wywierać wpływ na śródbłonek: w cytowanej pracy MTX przywrócił fenotyp angiogennych komórek T do obserwowanego u zdrowych osób z grupy kontrolnej i zmniejszył liczbę mikrocząstek śródbłonka, śródbłonkowych komórek progenitorowych i stężenia

sVCAM-1 (105). Wykazano, że TNFi skutecznie zmniejszają ryzyko sercowo-naczyniowe, zwiększają stopień uwapnienia niestabilnych, niewapnionych blaszek miażdżycowych oraz zmniejszają ryzyko powstawania nowych blaszek miażdżycowych (105) oraz redukują sztywność tętnic, wyrażoną zmniejszeniem prędkości fali tętna wskutek terapii, co dowiedziono dla infliksymabu (106). Bezpośredni wpływ TNFi na samą czynność śródbłonna udokumentowano jednak tylko w niewielkich grupach pacjentów z RZS i axSpA, np. wykazano poprawę FMD po leczeniu infliksymabem (107)(108). Dane dotyczące innych leków biologicznych, w tym tocilizumabu, abataceptu i rytuksymabu, są ograniczone. W przypadku leczenia rytuksymabem chorych na RZS obserwowano poprawę FMD (109). Z kolei w grupie 20 chorych na RZS leczonych inhibitorem IL-6 (IL-6i), tocilizumabem, stwierdzono poprawę w zakresie śródbłonna mikrokrążenia skórno metodą LDF (110). Udało się także wykazać poprawę funkcji śródbłonna po podaniu antagonisty receptora IL-1, anakinry, u chorych na RZS, których porównano z chorymi na RZS ze współistniejącą chorobą wieńcową, u których obserwowana poprawa po terapii była większa. Leczenie anakinrą wpłynęło pozytywnie na FMD, rezerwę wieńcową, podatność aorty oraz parametry czynności lewej komory (111). Warto nadmienić, że blokada IL-1 okazała się skuteczna w zmniejszaniu ryzyka sercowo-naczyniowego również u pacjentów bez zapalnej choroby reumatycznej. Wyniki badania CANTOS wskazują na zmniejszenie częstości incydentów sercowo-naczyniowych u pacjentów po przebytych zawale mięśnia sercowego z utrzymującym się stężeniem wysokoczułego CRP powyżej 2 mg/L na skutek blokady IL-1 β przy pomocy kanakinumabu (112). Z drugiej strony inne kluczowe dla współczesnej kardiologii leki, statyny, okazały się skuteczne z punktu widzenia leczenia zaburzeń funkcji śródbłonna. Wykazano, że u chorych na RZS statyny poprawiają funkcję śródbłonna, a także wpływają na obniżenie stężenia CRP w porównaniu z pacjentami przyjmującymi placebo (113). W randomizowanym badaniu klinicznym z wykorzystaniem atorwastatyny w RZS McCarey i wsp. wykazali umiarkowane zmniejszenie aktywności choroby oraz znamienne zmniejszenie TC i LDL w grupie pacjentów poddanej terapii statynami (114). U chorych na artropatie zapalne (RZS, ZZSK, ŁZS) z rozpoznaną już miażdżycą, rozuwastatyna wpłynęła na zmniejszenie FMD oraz sztywności tętnic (115).

Pomimo skutecznych terapii, u chorych utrzymuje się rezydualne podwyższone ryzyko sercowo-naczyniowe, jak sugerują dane z rejestru DANBIO (26). Ponadto, jak wspomniano wcześniej, zmienioną funkcję śródbłonna naczyniowego odnotowano także u młodych pacjentów z RZS z niską aktywnością choroby i bez chorób współistniejących, pomimo że młodemu wiekowi, utrzymującej się niskiej aktywności choroby i brakowi innych obciążeń przypisywano dotychczas jednak ochronny wpływ na śródbłonek naczyń.

Należy dodać, że również inne leki mogą wpływać na wyniki cytowanych dotychczas badań, gdyż wielu pacjentów z RZS i ZZSK przyjmuje NLPZ i GKS. Choćby szkodliwy wpływ NLPZ na

funkcję śródbłonna jest dobrze opisany, mogą one działać inaczej w aktywnym RZS. W szczurzym modelu zapalenia stawów wywołanego adiuwantem, diklofenak, ale nie celekoksyb, poprawiał funkcję śródbłonna (116). Nie jest też jasna rola NLPZ w axSpA, czyli leków pierwszego rzutu w tym schorzeniu, niejednokrotnie stosowanych przewlekłe u tych pacjentów. W metaanalizie badań obserwacyjnych chorych na ZZSK leczonych NLPZ, nie stwierdzono zwiększonego ryzyka zdarzeń sercowo-naczyniowych (117).

Podobny problem dotyczy stosowania GKS, zwykle postrzeganych jako leki powodujące działania niepożądane w układzie sercowo-naczyniowym, zwłaszcza w przypadku ich przewlekłego stosowania, prowadzącego do rozwinięcia się nadciśnienia tętniczego, cukrzycy i otyłości, a zatem klasycznych czynników ryzyka sercowo-naczyniowego. Stwierdzono także ich niekorzystny wpływ na komórki śródbłonna w warunkach fizjologicznych. Z drugiej strony, niewykluczony jest korzystny wpływ GKS na śródbłonek w stanie zapalnym, a publikacje poświęcone ocenie wpływu GKS na ryzyko sercowo-naczyniowe są zróżnicowane i nie pozwalają na wysnucie jednoznacznych konkluzji (118). W jednej pracy wykazano nawet, że chorzy na RZS poddani niskodawkowej terapii GKS mieli wyższe wyniki FMD w porównaniu z pacjentami nieleczonymi GKS (119).

2. Cel pracy

Cele pracy obejmowały:

- nieinwazyjną, kompleksową ocenę funkcji śródbłonna mikro- i makrokrążenia u młodych pacjentów z RZS i axSpA nieobciążonych klasycznymi czynnikami ryzyka sercowo-naczyniowego
- określenie fenotypu klinicznego i laboratoryjnego pacjenta z artropatią zapalną, który pomimo młodego wieku i braku klasycznych czynników ryzyka sercowo-naczyniowego cechuje się dysfunkcją śródbłonna, celem wyłonienia subpopulacji pacjentów, u których należałoby rozważyć wczesne interwencje w ramach pierwotnej profilaktyki schorzeń rozwijających się na podłożu miażdżycy.

Scharakteryzowane w ten sposób cele pracy korespondują z szerszym programem badawczym ukierunkowanym na wczesną prewencję chorób sercowo-naczyniowych wśród pacjentów z artropatiami zapalnymi oraz wpisują się w agendę badawczą EULAR (6).

3. Materiały i metody

3.1 Charakterystyka grupy badanej

Badanie kliniczno-kontrolne przeprowadzono w Klinice Reumatologii i Immunologii Szpitala Uniwersyteckiego w Krakowie za zgodą Komisji Bioetycznej UJ CM (nr opinii: 1072.6120.162.2020 z dnia 25.06.2020), zgodnie z rekomendacjami deklaracji helsińskiej.

Grupę badaną stanowili kobiety i mężczyźni między 18. a 50. rokiem życia, którzy wyrazili pisemnie świadomą zgodą na uczestnictwo w badaniu. Kryteria włączenia obejmowały pacjentów z rozpoznaniem RZS spełniającym kryteria klasyfikacyjne ACR/EULAR z 2010 roku lub z rozpoznaną axSpA spełniającą kryteria klasyfikacyjne ASAS z 2010 roku lub zmodyfikowane kryteria diagnostyczne nowojorskie dla ZZSK z 1984. Grupę kontrolną stanowili zdrowi ochotnicy zrekrutowani wśród personelu Szpitala Uniwersyteckiego w Krakowie i dobrani pod względem wieku i płci względem grup pacjentów z chorobami zapalnymi stawów. Łącznie przebadano 189 osób: 65 chorych na RZS, 64 chorych na axSpA oraz 60 osób z grupy kontrolnej.

3.2 Kryteria wyłączenia

Kryteria wyłączenia obejmowały występowanie innej układowej choroby autoimmunizacyjnej lub autozapalnej (nie włączano zatem pacjentów z wywiadem nieswoistego zapalenia jelit współistniejącym z axSpA), aktywną ostrą lub przewlekłą infekcję, przewlekłą chorobę nerek lub wątroby, leczenie z powodu choroby nowotworowej w ciągu 5 lat poprzedzających badanie, wywiad jakiegokolwiek zdarzenia sercowo-naczyniowego (w tym ostrego zespołu wieńcowego, udaru mózgu, przejściowego napadu niedokrwiennego) lub rozpoznanie przewlekłej choroby sercowo-naczyniowej na tle miażdżycy, wywiad żyłnej choroby zakrzepowo-zatorowej, rozpoznanie nadciśnienia tętniczego, dyslipidemii, cukrzycy, dny moczanowej, nieskorygowanych zaburzeń endokrynologicznych, dodatni wywiad rodzinny w kierunku wczesnej miażdżycy u krewnych I stopnia, otyłość ($BMI > 30 \text{ kg/m}^2$), czynne palenie tytoniu lub palenie tytoniu w wywiadzie, okres ciąży lub karmienia piersią, a także stosowanie leków antyagregacyjnych, antykoagulantów, statyn, leków przeciwnadciśnieniowych. Dopuszczono stosowanie doustnej antykoncepcji hormonalnej przez kobiety ze względu na częste jej wykorzystywanie u pacjentek leczonych różnymi lekami modyfikującymi przebieg choroby (LMPCh) przeciwwskazanymi podczas ciąży.

3.3 Dane kliniczne i laboratoryjne

Zebrano dane na temat płci, wieku, masy ciała oraz wzrostu pacjentów. Ustalono czas trwania choroby zapalnej stawów, obecność chorób współistniejących, w tym typowych chorób towarzyszących spondyloartropatiom (jak łuszczyca czy zapalenie błony naczyniowej) oraz

informacje na temat występowania innych manifestacji SpA (jak zapalenie stawów obwodowych lub przyczepów ścięgnistych) oraz obecności HLA-B27.

Celem wykonania badań laboratoryjnych pozyskiwano materiał biologiczny w postaci krwi żyłnej pobieranej z żyły łokciowej od pacjentów z RZS, axSpA oraz grupy kontrolnej. Przed badaniem pacjenci informowani byli o konieczności pozostania na czczo przez okres co najmniej 12 godz. od ostatniego posiłku.

Badania laboratoryjne obejmowały morfologię krwi z rozmazem, z uwzględnieniem stosunku neutrofilów do limfocytów (Neu/Lymph R), płytek krwi do limfocytów (PLT/Lymph R), monocytów do limfocytów (Mono/Lymph R), OB, CRP, glukozę, kreatyninę, TC, LDL, HDL, cholesterol nie-HDL, triglicerdy (TG), ALT, AST, TSH, witaminę D (25-OH-D), RF, ACPA.

Aktywność choroby u pacjentów z RZS była oceniana przy pomocy wskaźników rutynowo stosowanych w praktyce klinicznej: DAS-28 (Disease Activity Score) z użyciem OB oraz CRP: DAS-28 (OB), DAS-28 (CRP); SDAI (Simplified Disease Activity Index), CDAI (Clinical Disease Activity Index). Aktywność choroby pacjentów z axSpA oceniano z użyciem BASDAI (Bath Ankylosing Spondylitis Disease Activity Index) oraz ASDAS-CRP (Ankylosing Spondylitis Disease Activity Index). Skale aktywności choroby przedstawiono w tabeli 2 (dla RZS) i tabeli 3 (dla axSpA).

Zebrano dane na temat stosowanego leczenia, w tym dawek oraz czasu stosowania poszczególnych leków, z uwzględnieniem ksLMPCh (MTX, leflunomidu, sulfasalazyny) oraz bLMPCh (TNFi, IL-6i w przypadku RZS, IL-17i w przypadku axSpA), GKS, skumulowanego czasu ekspozycji na GKS, okresu wolnego od GKS, stosowania NLPZ, skumulowanego czasu ekspozycji na NLPZ, okresu wolnego od NLPZ oraz sposobu stosowania NLPZ w przypadku axSpA (leczenie ciągle vs. na żądanie).

O ile było to możliwe klinicznie, akceptowane przez pacjenta i uznane za bezpieczne przez lekarza prowadzącego, wstrzymywano stosowanie doustnych, dożylnych lub domięśniowych GKS w ciągu 2 tygodni poprzedzających badanie oraz stosowanie systemowych NLPZ (inhibitorów COX 1 i 2) w ciągu tygodnia poprzedzającego badanie (z uwzględnieniem okresu półtrwania różnych NLPZ).

Tabela 2 Złożone wskaźniki aktywności choroby wykorzystywane w monitorowaniu RZS.

Skale aktywności choroby dla reumatoidalnego zapalenia stawów (RZS)								
Nazwa skali	Liczba bolesnych stawów (LBS)	Liczba obrzękniętych stawów (LOS)	Wskaźniki zapalne	VAS (pacjent)	VAS (lekarz)	Sposób obliczania	Możliwe wartości	Ocena aktywności choroby
DAS28	Tak	Tak	OB dla DAS-28 (OB) CRP dla DAS-28 (CRP)	0-100 mm	Nie	Wzór z uławkami w wykładnikach potęg, obliczany przy pomocy powszechnie dostępnych kalkulatorów	0-9.4	<2.6 pkt – remisja ≤3.2 – aktywność mała >3.2 i ≤5.1 – aktywność umiarkowana >5.1 – aktywność duża
SDAI	Tak	Tak	CRP (0,1-10 mg/dl)	0-10 cm	0-10 cm	Prosta suma, nie wymaga kalkulatora	0.1-86	≤3.3 – remisja ≤11 – aktywność mała >11 i ≤26 – aktywność umiarkowana >26 – aktywność duża
CDAI	Tak	Tak	Nie	0-10 cm	0-10 cm	Prosta suma, nie wymaga kalkulatora	0.1-76	≤2.8 – remisja ≤10 – aktywność mała >10 i ≤22 – aktywność umiarkowana >22 – aktywność duża

Tabela 3 Złożone wskaźniki aktywności choroby wykorzystywane w monitorowaniu axSpA.

BASDAI	ASDAS
1. Zmęczenie (0-10)	
2. Nasilenie bólu szyi, pleców lub bioder (0-10)	Nasilenie bólu szyi, pleców lub bioder (0-10)
3. Nasilenie bólu lub obrzęku innych stawów (0-10)	Nasilenie bólu lub obrzęku innych stawów (0-10)
4. Nasilenie dyskomfortu w miejscach czułych na nacisk (0-10)	
5. Ogólne nasilenie sztywności po przebudzeniu się (0-10)	Ogólne nasilenie choroby w ciągu ostatniego tygodnia (0-10)
6. Długość trwania sztywności porannej (0-10)	Długość trwania sztywności porannej (0-10)
BASDAI= $((1 + 2 + 3 + 4) + ((5 + 6) / 2)) / 5$	Wzór (różna waga dla poszczególnych pytań) – konieczne użycie kalkulatora.
Nie uwzględnia wskaźników zapalnych	CRP [mg/L] (preferowane)
≥ 4 wysoka aktywność choroby	< 1.3 – brak aktywności
	1.3–2.1 – umiarkowana aktywność
	2.1–3.5 – wysoka aktywność
	>3.5 – bardzo wysoka aktywność

3.4 Ocena funkcji śródbłonka

W dniu pomiaru funkcji śródbłonka osoby badane zgłaszały się do pracowni między 7:30 a 12:00 po trwającym co najmniej 7-8 godzinnym śnie nocnym, po co najmniej 8-godzinnej przerwie od ostatniego posiłku oraz 24-godzinnej przerwie od spożywania napojów kofeinowych, suplementów witaminowych, związków wazoaktywnych oraz obciążającego wysiłku fizycznego. Badania śródbłonka prowadzono w cichym, ciemnym pomieszczeniu z możliwością kontroli temperatury (22-25 °C), natężenia światła oraz dostępem ograniczonym jedynie dla zespołu badawczego z identyfikatorami celem ograniczenia nadmiernego ruchu. Aby uzyskać w pełni stabilny hemodynamicznie stan pacjenta, procedura badawcza była poprzedzona trwającym 20 minut spoczynkiem pacjenta w pozycji leżącej na wznak.

3.4.1 Flow-Mediated Dilation (FMD)

FMD jest nieinwazyjną metodą wprowadzoną w 1992 roku opartą o pomiary zmian w średnicy tętnicy ramiennej po wzroście napięcia ścinającego indukowanego reaktywnym przekrwieniem (120). Tętnicę ramienną prawego ramienia lokalizowano przy pomocy głowicy USG o częstotliwości 14 MHz (Siemens Acuson S2000) i dokonywano wyjściowego pomiaru średnicy jej światła. Podłużne przekroje tętnicy w wysokiej rozdzielczości uzyskiwano w trybie B-mode. Aby zapewnić stabilność i nieruchomą pozycję głowicy USG w czasie badania, wykorzystano stereotaktyczne urządzenie trzymające głowicę (Quipu Studio, Włochy). Zwiększony przepływ indukowano poprzez nadmuchiwanie mankietu sfigmomanometru umieszczonego wokół przedramienia (dystalnie od skanowanej części tętnicy) ciśnieniem o 50 mmHg powyżej zmierzonego wcześniej ciśnienia skurczowego przez 5 min, a następnie jego uwolnienie. Skanowanie rozpoczynano 1 minutę przed okluzją i kończono 4 minuty po okluzji mankietu ciśnieniomierza (121). Średnicę tętnicy ramiennej rejestrowano w określonych punktach czasowych podczas okluzji przepływu i po usunięciu powietrza z mankietu do pomiaru ciśnienia krwi, aby ocenić zmiany średnicy zależne od przepływu. Przeprowadzana później analiza komputerowa pozwalała na obliczenie procentowego wzrostu średnicy światła w przebiegu FMD wyrażonego jako FMD [%]. Następnie przeprowadzano analizę post-hoc pomiaru FMD[%] przy pomocy zakupionego oprogramowania (Cardiovascular Suite, Quipu, Włochy) celem normalizacji wyniku FMD na szybkość ścinania (SR, Shear Rate) oraz naprężenie ścinające (SS, shear stress) oraz w celu wyznaczenia innych parametrów takich jak: SR max (Shear Rate Maximum; maksymalna szybkość ścinania na szczycie odpowiedzi przekrwiennej), SR in 30 sec (maksymalna szybkość ścinania po 30 sekundach od reperfuzji), SR in 60 sec (maksymalna szybkość ścinania po 60 sekundach od reperfuzji), FMD/SR area to max (FMD znormalizowany na pole powierzchni pod krzywą dla maksymalnej szybkości ścinania), FMD/SS Area to max (FMD znormalizowany na pole powierzchni pod krzywą dla naprężenia ścinającego) oraz Time to FMD Peak (czas pomiędzy początkiem reperfuzji a szczytowym przepływem).

3.4.2 Peripheral Arterial Tonometry (PAT)

Funkcję śródbłonna mikronaczyniowego oceniono ilościowo za pomocą pletyzmografu palcowego (EndoPAT 2000; Itamar Medical, Cezarea, Izrael). EndoPAT jest testem reaktywnego przekrwienia wywołanego zamknięciem mankieta ciśnieniomierza na tętnicy ramiennej wykorzystującym nieinwazyjną tonometrię tętnic obwodowych. Sondy pneumatyczne umieszczano na obu palcach wskazujących. Badanie składało się z trzech 5-minutowych zapisów: okresu rejestracji linii bazowej, okresu okluzji przez mankieta ciśnieniomierza i okresu po okluzji. Oprogramowanie EndoPAT pozwoliło na obliczenie zmian w napięciu naczyniowym opuszki palca, w których pośredniczy śródbłonek. Reaktywny wskaźnik przekrwienia (RHI) obliczono jako stosunek amplitudy napięcia tętnic obwodowych po okluzji do preokluzji badanego ramienia, podzielony przez stosunek po okluzji do preokluzji uzyskany w grupie kontrolnej. RHI-PAT mierzono jednocześnie z FMD po zwolnieniu mankieta do pomiaru ciśnienia krwi, podczas fazy przekrwienia reaktywnego (122).



Rycina 1 Przygotowanie pacjenta do badania funkcji śródbłonna jednocześnie metodą FMD i PAT (zdjęcie własne, uzyskano zgodę pacjenta na opublikowanie).

3.4.3 Flow-Mediated Skin Fluorescence (FSMF)

Do badania funkcji śródbłonna mikrokrążenia wykorzystano nieinwazyjną technikę optyczną opartą na pomiarach intensywności fluorescencji skóry o nazwie Flow-Mediated Skin Fluorescence (FMSF, dotychczas brak uznanego polskiego odpowiednika nazwy) przy użyciu urządzenia AngioExpert (opracowane i opatentowane przez firmę Angionica z Łodzi). Metoda opiera się o zmiany natężenia fluorescencji metabolitów w zależności od stopnia ukrwienia. Wzbudzenie komórek skóry przedramienia światłem ultrafioletowym (UV) o długości fali 340 nm powoduje emisję fluorescencji ze zredukowanej postaci dinukleotydu nikotynoamidoadeninowego (NADH). Poziom fluorescencji NADH odzwierciedla równowagę mitochondrialnych procesów oksydacyjno-redukcyjnych zachodzących w tkance, wyrażonej równowagą między utlenioną formą koenzymu (NAD⁺) a jego formą zredukowaną, czyli właśnie NADH. Intensywność sygnału zmienia się również w funkcji czasu w odpowiedzi na zatrzymanie i późniejsze przywrócenie przepływu krwi w tętnicy ramiennej (123). Po okresie aklimatyzacji w pozycji siedzącej w opisanych wyżej warunkach termicznych rejestrowano wyjściową intensywność fluorescencji na lewym przedramieniu przez okres 3 minut. Następnie przepływ krwi w tętnicy ramiennej zamykano na 3 minuty poprzez wypełnienie powietrzem mankieta ciśnieniomierza umieszczonego na lewym ramieniu i napompowanie mankieta do 60 mmHg powyżej zmierzonego uprzednio wyjściowego skurczowego ciśnienia krwi. Podczas okresu okluzji naczyń fluorescencję NADH mierzono w sposób ciągły w tym samym obszarze przedramienia. Następnie usuwano powietrze z mankieta ciśnieniomierza, doprowadzając do napływu krwi i rejestrowano spadek fluorescencji aż do powrotu do wartości wyjściowych (124). Dane z pomiaru FMSF analizowano za pomocą oprogramowania do przetwarzania sygnałów. Mierzono dwa główne parametry: odpowiedź niedokrwienną (IRmax) zdefiniowaną jako stosunek (w %) do maksymalnego wzrostu (przed okluzją) intensywności fluorescencji NADH skóry obserwowanej podczas okluzji mankieta oraz odpowiedź przekrwienną (reperfuzyjną) (HR max) wyrażoną (również w %) w stosunku do maksymalnego spadku (po okluzji) intensywności fluorescencji NADH po zwolnieniu mankieta i ostatecznie wyrażony jako wskaźnik – HR index (>13%: prawidłowa funkcja śródbłonna, 8-13% umiarkowanie upośledzona, <8% upośledzona). Inne mierzone parametry to HS (Hypoxia Sensitivity, czułość na hipoksję, bezpośrednia miara intensywności oscylacji miogennych w mikrokrążeniu wykrywana podczas reperfuzyji), PSDR (Power Spectral Density Ratio, stosunek widmowej gęstości mocy przy reperfuzyji do wartości przy podstawowym przepływie) i wskaźnik FMIR (Flow Motion Index ratio - wskaźnik przepływu ruchu przy reperfuzyji do wartości przy podstawowym).



Rycina 2 FMSF: metoda pomiaru funkcji śródbłonna mikrokrążenia skóry oparta o analizę zmian sygnału fluorescencji NADH emitowanego przez komórki naskórka przedramienia w reakcji na niedokrwienie indukowane okluzją. Zdjęcie z cytowanej pracy (125).

3.5 Analiza statystyczna

Obliczenia statystyczne przeprowadzono za pośrednictwem środowiska do obliczeń statystycznych R v.4.1.1 (IDE RStudio v. 1.4.1717) oraz Statistica (TIBCO, v. 13.3. Za poziom istotności testów statystycznych w niniejszej analizie uznano $\alpha = 0,05$. Dla zmiennych na skali przedziałowej opis badanego zbioru i wyciągnięcie pewnych podstawowych wniosków i uogólnień na temat prób przeprowadzono za pomocą zgrupowanych statystyk opisowych. Dodatkowo przeprowadzono badanie normalności za pomocą testu Shapiro-Wilka z uwzględnieniem statystyki testu W wraz ze wskazaniem istotności p . W przypadku rozkładów normalnych istotność różnic zbadano za pomocą testów parametrycznych, w przeciwnym przypadku użyto testów nieparametrycznych. Zmienne na skali nominalnej, porządkowej przeanalizowano parami w postaci tabel kontyngencji ze wskazaniem częstości. Zależność zmiennych zbadano za pomocą testu chi-kwadrat Pearsona lub dokładnego testu Fishera, dodatkowo obliczono miary siły związku Cramera V lub phi Yule'a ϕ_c . W przypadku istotności testu z liczbą grup więcej niż dwie, istotność pomiędzy poszczególnymi parami grup zbadano za pomocą testu post hoc. Zbadanie częstości poziomów jednej zmiennej obliczono za pomocą testu chi kwadrat dobroci dopasowania.

Porównanie grup. Użyto dwóch typów testów: parametrycznych (w przypadku normalnych rozkładów zmiennych) oraz nieparametrycznych (dla rozkładów zmiennych odmiennych od normalnego). Do porównania trzech grup lub więcej zastosowano jednokierunkową ANOVA Welcha w przypadku testów parametrycznych lub jednokierunkową ANOVA Kruskala-Wallisa jako odpowiednika nieparametrycznego. W przypadku dwóch grup niezależnych użyto testu t-Welcha w przypadku testów parametrycznych lub testu U Manna-Whitneya dla testów nieparametrycznych. W testach porównawczych parami w przypadku testu parametrycznego użyto testu Gamesa-Howella oraz testu Dunna w przypadku testów nieparametrycznych.

Obliczenie korelacji. Korelacje pomiędzy danymi na skalach przedziałowej, ilorazowej obliczono za pośrednictwem metody Pearsona. Do tego obliczono istotność korelacji p .

Analiza regresji. W celu zbadania istotności wpływu zastosowano regresję logistyczną. W przeprowadzonej analizie model regresji logistycznej został zaimplementowany w oparciu o uogólniony model liniowy. W celu dopasowania modelu użyto metody "glm.fit" opartej o metodę iterowanych przeważonych najmniejszych kwadratów. Opis rozkładu błędów i funkcji łączenia zaprojektowano na podstawie obiektów rodziny Gaussa.

Moc statystyczna. Liczebność próby dla każdej grupy obliczono za pomocą analizy mocy z następującymi założeniami: próba badawcza składa się z trzech grup ($k=3$) o podobnej liczebności oraz przyjęto, że wielkość efektu między grupami była umiarkowana. Umiarkowana wielkość efektu odpowiadała umownej wartości $f=0,25$. Prawdopodobieństwo odrzucenie hipotezy zerowej z alternatywną na poziomie istotności $\alpha=5\%$ ustalono na $1-\beta=80\%$. Zgodnie z obliczeniami, minimalna wielkość każdej grupy na podstawie ustalonych wartości parametrów k , f , α , $1-\beta$ powinna wynosić $n=53$ obserwacji.

4. Wyniki

4.1 Charakterystyka ogólna oraz wyniki badań laboratoryjnych

Charakterystyka badanej populacji i porównanie grup pod względem płci, wieku, BMI, ciśnienia tętniczego krwi oraz wyników badań laboratoryjnych zostały przedstawione w tabeli 4. Zbadano łącznie 189 pacjentów (64 pacjentów z RZS, 65 z axSpA oraz 60 dopasowanych względem płci i wieku zdrowych osób z grupy kontrolnej), osiągając zadowalającą liczebność badanych grup zgodnie z założeniami analizy mocy. Średni wiek populacji badanej wynosił 35 (9) lat. Najwyższe średnie BMI cechowało grupę pacjentów z axSpA 25.04 (3.73) kg/m². Ponadto grupa pacjentów z axSpA była nieznacznie młodsza (33.58 ((8.57)) i zawierała więcej mężczyzn niż pozostałe dwie badane grupy, co odzwierciedla charakterystykę epidemiologiczną axSpA obserwowaną w populacji ogólnej (zapadalność na axSpA jest większa w młodszym wieku niż w RZS i dotyczy częściej mężczyzn) (18).

Pacjenci z axSpA mieli istotnie niższe średnie stężenie HDL niż pacjenci z grupy kontrolnej (1.48 ((0.43))). OB i CRP były średnio wyższe u pacjentów z RZS i z axSpA niż w grupie kontrolnej, co nie zaskakuje w przypadku badania grupy chorych na artropatie zapalne. Neu/Lymph R był istotnie wyższy w grupie pacjentów z RZS w porównaniu z pozostałymi grupami. W tej również grupie PLT/Lymph R oraz Mono/Lymph R były średnio najwyższe.

Suboptymalne stężenie 25-OH-D (27,8 ((11,56)) zostało odnotowane we wszystkich badanych grupach, bez istotnych różnic pomiędzy nimi. Hemoglobina i hematokryt były istotnie niższe wśród chorych na RZS w porównaniu z pozostałymi pacjentami.

Nie odnotowano istotnych różnic w innych parametrach (a zatem w innych wskaźnikach morfologii krwi z rozmazem, profilu lipidowym, stężeniach glukozy, kreatyniny, TSH i transaminaz).

Tabela 4 Charakterystyka ogólna oraz laboratoryjna badanych grup.

Zmienna	Norma	RZS (n=64)	axSpA (n=65)	C (n=60)	p	Istotne pary
Kobiety (%)		54 (84.4%)	31 (47.7%)	40 (66.6%)	<0.001	RZS-axSpA, ax-SpA-C
Wiek [lata]		37.38 (8.01)	33.58 (8.57)	35.17 (8.98)	0.047	RZS-axSpA, axSpA-C
BMI [kg/m²]	18.5-24.99	23.48 (4.07)	25.04 (3.73)	22.59 (3.38)	0.001	axSpA-C
SBP [mmHg]	Optymalne <120 Prawidłowe 120-129	121 (12.0)	122 (11.6)	121 (11.0)	0.900	-
DBP [mmHg]	Optymalne <80 Prawidłowe 80-84	74 (6.6)	73 (8.5)	73 (7.5)	0.834	-
OB [mm/h]	K: < 12 M: < 10	9.00 (11.25)	11.00 (10.00)	6.00 (5.50)	0.001	RZS-C, axSpA-C
CRP [mg/L]	< 5	1.00 (1.79)	1.59 (2.52)	1.00 (0.00)	0.001	RZS-C, axSpA-C
Neu/Lymph R	1.0-2.0	2.40 (1.43)	1.97 (0.85)	1.75 (0.62)	0.004	RZS-C
PLT/Lymph R	K: 36.63 – 149.13 M: 43.36 – 172.68	187.02 (45.71)	150.81 (45.71)	159.19 (50.18)	0.014	RZS-axSpA
Mono/Lymph R	<0.27	0.30 (0.16)	0.27 (0.11)	0.25 (0.11)	0.045	RZS-C
MPV [fL]	9-12	10.52 (0.88)	10.67 (0.96)	10.75 (0.78)	0.320	-
Ht [%]	K: 37.0 – 47.0 M: 40.0 – 54.0	38.14 (3.8)	40.99 (4.03)	40.54 (3.0)	<0.001	RZS-C, RZS-axSpA
Hb [g/dL]	K: 12.0 – 16.0 M: 14.0 – 18.0	13.2 (3.4)	13.9 (1.51)	14 (1.0)	0.002	RZS-C, RZS-axSpA
Glukoza [mmol/L]	3.3-5.6	4.71 (0.74)	4.86 (0.45)	5 (0)	0.053	-
Kreatynina [umol/L]	K: 44.0 – 80.0 M: 62.0 – 106.0	65.0 (11.7)	69.9 (13.3)	69 (15)	0.246	-

TC [mmol/L]	3.2 – 5.2	4.69 (0.78)	4.70 (0.77)	4.76 (0.79)	0.589	-
LDL [mmol/L]	<3.0 mmol/l dla osób z małym ryzykiem sercowo-naczyniowym	2.65 (0.88)	2.72 (0.73)	2.66 (0.73)	0.881	-
HDL [mmol/L]	K: > 1.2 M: > 1.0	1.65 (0.45)	1.48 (0.43)	1.76 (0.46)	0.003	axSpA-C
non-HDL [mmol/L]		3.13 (0.92)	3.15 (0.82)	3.00 (0.87)	0.566	-
TG [mmol/L]	<2.26	1.07 (0.52)	1.12 (0.57)	1.00 (1.0)	0.354	-
ALT [U/L]	K: 10-35 M: 10-50	27.3 (35.9)	23.1 (12.18)	23.0 (16.0)	0.779	-
AST [U/L]	K: 10-35 M: 10-50	26 (18.0)	22.9 (5.51)	24.0 (8.0)	0.894	-
TSH [uIU/ml]	0.270-0.420	2.4 (1.7)	1.83 (0.82)	2.0 (1.0)	0.419	-
RF [IU/ml]	<15	88.9 (149.0)	0 (0)	0 (0)	<0.001	RZS-C, RZS-axSpA
ACPA [U/mL]	<17	207 (217.0)	0 (0)	0 (0)	<0.001	RZS-C, RZS-axSpA
25-OH-D [ng/mL]	30-80	25.01 (10.19)	28.78 (12.80)	26.55 (7.93)	0.394	-

4.2 Charakterystyka kliniczna

Charakterystyka kliniczna, obejmująca najważniejsze dane na temat fenotypu klinicznego RZS i axSpA, aktywność choroby u pacjentów i dane terapeutyczne, została przedstawiona w tabeli 5.

Tabela 5 Charakterystyka kliniczna pacjentów z RZS i axSpA.

Zmienna	n	M (SD)	Mdn	IQR
Artropatie zapałne	129			
RZS	64 (49.6%)			
axSpA	65 (50.4%)			
HLA-B27	53 (81.5%)			
Seropozytywność	49 (76.6%)			
Manifestacja obwodowa axSpA	27 (41.5%)			
Łuszczyca w axSpA	13 (20%)			
AAU w axSpA	6 (9.2%)			
SJC	64	4.74 (4.23)	4.0	7.25 (0.00-16.0)
TJC	64	3.83 (4.64)	2.0	6.0 (0.00-20.0)
VAS	64	31.97 (23.22)	30	35.0 (15.0-50.0)
DAS28 (OB)	64	3.53 (1.53)	3.32	2.19 (0.0-7.22)
DAS28 (CRP)	64	3.3 (3.2)	3.2	2.1 (2.23-4.82)
CDAI	64	15.68 (12.66)	12.5	17.0 (0.0-49.0)

SDAI	64	16.30 (13.41)	12.1	17.28 (0.0-49.0)
BASDAI	65	3.54 (2.09)	3.3	3.4 (1.6-5.0)
ASDAS-CRP	65	2.02 (1.09)	1.7	1.58 (1.24-2.82)
Czas trwania choroby [lata]	129	6.97 (6.37)		
Aktywność choroby				
Niska/remisja	62 (48%)			
Umiarkowana	48 (37%)			
Wysoka	19 (15%)			
MTX w RZS	50 (76.9%)	-	-	-
MTX w axSpA z manifestacją obwodową	8 (12.3%)			
Czas stosowania MTX [lata]		1.78 (3.29)	0.0	2.0 (0.0-15.0)
Biologia (RZS i axSpA)	54 (41.8%)	-	-	-
Czas leczenia biologicznego [lata]		1.52 (2.34)	0.0	2,5 (0.0-10.0)
TNFi	43 (79.6%)	-	-	-
IL-6i	6 (11.1%)	-	-	-

IL-17i	5 (9.3%)	-	-	-
Okres wolny od GKS [miesiące]	58	10.11 (11.02)	6.0	16.75 (0.0 – 42.0)
Skumulowany czas ekspozycji na GKS lata]	64	1.88 (1.92)	1.0	2.12 (0.0-10.0)
Leczenie NLPZ	42 (65.6%)	-	-	-
NLPZ COX1	12 (28.6%)	-	-	-
NLPZ COX1=2	13 (30.9%)	-	-	-
NLPZ COX2	17 (40.5%)	-	-	-
Okres wolny od NLPZ [tygodnie]	109	16.06 (26.43)	4.0	23.0 (0.5-153)
Czas stosowania NLPZ [miesiące]	127	10.99 (15.15)	6.0	10.00 (0.0-120.0)
NLPZ – leczenie ciągłe	38 (59.4%)	-	-	-
NLPZ – leczenie na żądanie	26 (40.6%)	-	-	-

76.6% pacjentów z RZS było serododatnich, z kolei u 81.5% pacjentów z axSpA stwierdzono obecność genu HLA-B27. Średni czas trwania choroby u pacjentów z artropatiami zapalnymi (zbiorczo pacjenci z RZS i axSpA) wynosił 6.97 (6.37) lat. Średnie wartości złożonych wskaźników aktywności obydwu chorób wskazywały na umiarkowaną aktywność choroby (DAS28-OB 3.53 ((1.5)), DAS28-CRP 3.3 ((3.2)), BASDAI 3.5 ((2.1)), ASDAS-CRP 1.98 ((0.96)). Mediany ww. wskaźników również plasują je w zakresie umiarkowanej aktywności. Z drugiej strony, gdyby pogrupować pacjentów według aktywności choroby wyrażonej jako zmienna porządkowa, większość pacjentów, czyli 62 (48%) miała niską aktywność choroby lub remisję, 48 (37%) umiarkowaną aktywność, a 19 (15%) wysoką. Większość chorych na RZS była leczona metotreksatem (76.9%), stosowanym średnio przez 1.78 (3.29) lat. Leczenie biologiczne prowadzono u 41.8% badanych chorych z RZS i axSpA, średnio przez 1.52 (2.23) lata, w przeważającej mierze przy pomocy TNFi (79.6%).

4.3 Wyniki pomiarów funkcji śródbłonka

Wyniki pomiarów funkcji śródbłonka przedstawiono w tabeli 6.

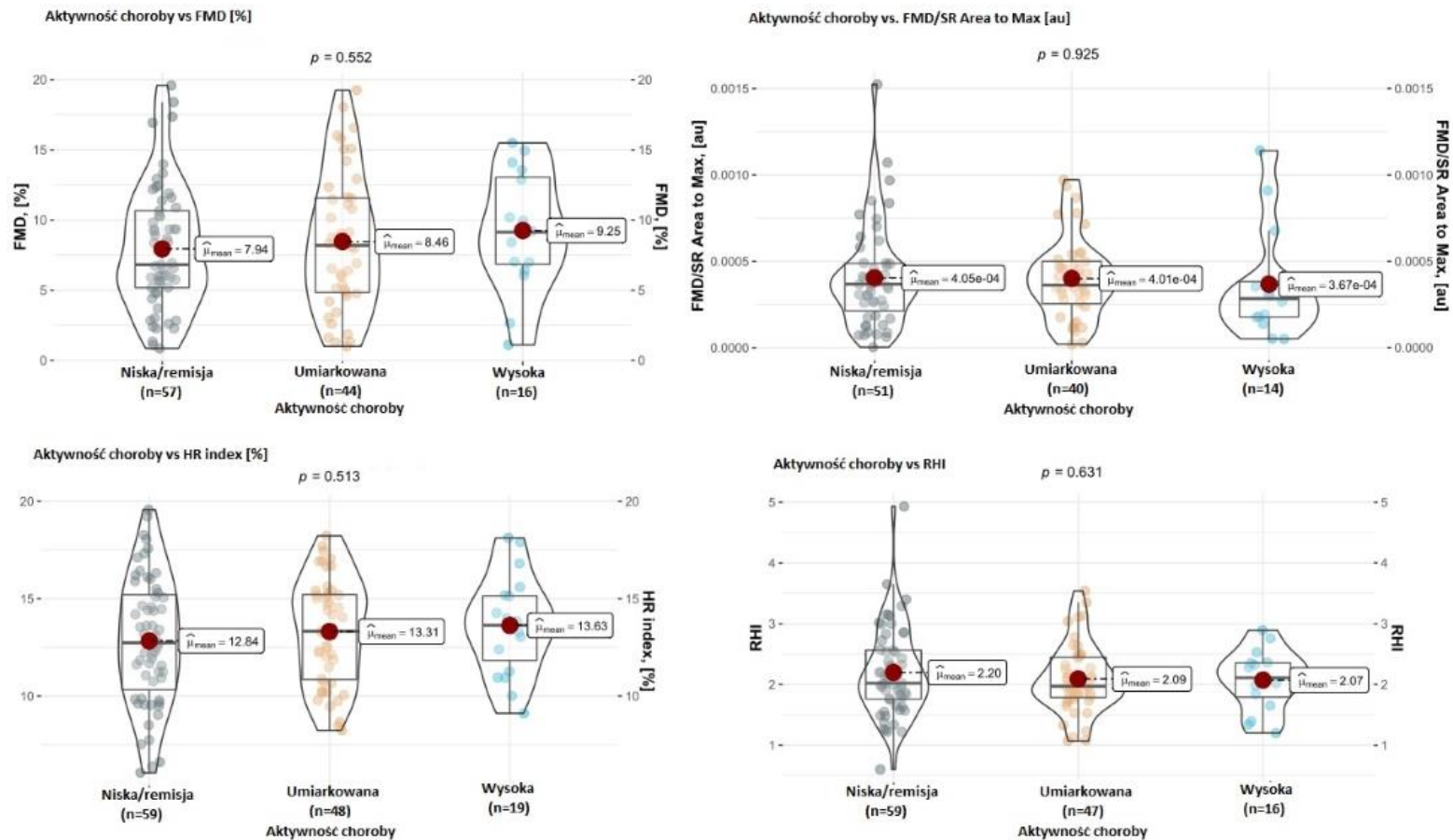
Średnie wartości parametrów funkcji śródbłonka makro- i mikrokrążenia nie różniły się pomiędzy badanymi grupami (za wyjątkiem FMD/SR area to max wyższego u chorych z axSpA w porównaniu z grupą kontrolną).

Tabela 6 Porównanie wyników pomiarów funkcji śródbłonka między badanymi grupami.

Zmienna	RZS <i>M (SD)</i>	axSpA <i>M (SD)</i>	C <i>M (SD)</i>	p	Istotne pary
FMD [%]	7.99 (4.45)	8.64 (4.45)	6.74 (3.70)	0.058	-
SR max	1288.98 (440.03)	1144.37 (382.14)	1198.92 (340.64)	0.670	-
Time to FMD Peak [s]	52.78 (17.97)	56.56 (16.69)	53.36 (14.22)	0.449	-
RHI	1.96 (0.52)	2.16 (2.18)	1.96 (0.67)	0.254	-
HR index	13.54 (2.62)	12.74 (3.25)	13.86 (3.11)	0.132	-
HS	86.17 (62.4)	91.61 (110.1)	84.51 (62.71)	0.799	-
PSDR	1.76 (1.82)	1.96 (2.07)	2.41 (2.14)	0.076	-
FMIR	1.76 (1.73)	1.95 (1.92)	2.38 (2.0)	0.067	-

4.3.1 Wyniki pomiarów funkcji śródbłonka w zależności od aktywności choroby, sposobu leczenia oraz cech klinicznych

Nie było istotnych różnic w parametrach funkcji śródbłonka u chorych z RZS i z axSpA pomiędzy podgrupami o różnych aktywnościach choroby (Ryc. 3).



Rycina 3 Porównanie wyników pomiarów funkcji śródbłonka w zależności od aktywności choroby u chorych na artropatii zapalne.

Wśród chorych na artropatii zapalne nie było różnic w parametrach funkcji śródbłonka między płciami (tab. 7).

Tabela 7 Wyniki pomiarów funkcji śródbłonka chorych na artropatie zapalne w zależności od płci.

Zmienna	Płeć		p	Istotność
	Kobiety	Mężczyźni		
	M (SD)	M (SD)		
FMD [%]	9.0 (5.0)	7.0 (4.0)	0.059	-
Time to FMD Peak [s]	53.45 (14.41)	59.19 (18.74)	0.114	-
RHI	2.0 (1.0)	2.0 (1.0)	0.450	-
HR index	13.00 (3.0)	13.0 (3.00)	0.116	-
HS	67.29 (86.32)	74.58 (46.64)	0.477	-
PSDR	2.0 (2.0)	2.0 (3.0)	0.727	-
FMIR	2.0 (2.0)	2.0 (3.0)	0.803	-

Nie stwierdzono różnic w parametrach funkcji śródbłonka pomiędzy pacjentami leczonymi MTX oraz nieleczonymi MTX (tab. 8).

Tabela 8 Wyniki pomiarów funkcji śródbłonka chorych na artropatie zapalne w zależności od leczenia metotreksatem.

Zmienna	MTX		p	Istotność
	Nie	Tak		
	M (SD)	M (SD)		
FMD [%]	7.99 (4.33)	8.83 (4.93)	0.345	-
Time to FMD Peak [s]	56.11(16.84)	52.58 (18.15)	0.314	-
RHI	2.24 (0.69)	1.97 (0.52)	0.014	*
HR index	12.95 (3.16)	13.43 (2.64)	0.357	-
HS	67.29 (86.32)	74.58 (46.64)	0.477	-
PSDR	1.53 (1.33)	1.24 (0.99)	0.105	-
FMIR	1.55 (1.33)	1.25 (0.97)	0.086	-

Podobnie nie stwierdzono różnic w parametrach funkcji śródbłonka pomiędzy pacjentami leczonymi biologicznie oraz nieleczonymi biologicznie, a także różnic pomiędzy poszczególnymi typami leków biologicznych (TNFi vs IL-6i dla RZS oraz TNFi vs IL-17i dla axSpA – tab. 9, 10 i 11).

Tabela 9 Wyniki pomiarów funkcji śródbłonka chorych na artropatie zapalne w zależności od leczenia biologicznego.

Zmienna	Leczenie biologiczne (bLMPCh)		p	Istotność
	Nie	Tak		
	<i>M (SD)</i>	<i>M (SD)</i>		
FMD [%]	8.14 (4.30)	8.59 (4.99)	0.611	-
Time to FMD Peak [s]	54.00 (18.01)	55.57 (16.68)	0.645	-
RHI	2.12 (2.12)	2.17 (0.61)	0.650	-
HR index	13.04 (2.79)	13.27 (3.23)	0.677	-
HS	74.02 (63.91)	66.94 (83.38)	0.398	-
PSDR	1.38 (0.83)	1.37 (1.59)	0.959	-
FMIR	1.42 (0.85)	1.44 (1.58)	0.927	-

Tabela 10 Wyniki pomiarów funkcji śródbłonka chorych na RZS w zależności od rodzaju stosowanego leczenia biologicznego.

Zmienna	Typ bLMPCH stosowanego w RZS		p	Istotność
	IL-6i	TNFi		
	<i>M (SD)</i>	<i>M (SD)</i>		
FMD [%]	8.14 (4.24)	7.58 (5.40)	0.815	-
Time to FMD Peak [s]	47.60 (12.97)	53.41 (15.51)	0.426	-
RHI	2.02 (0.67)	2.20 (0.54)	0.599	-
HR index	14.87 (2.09)	14.01 (2.93)	0.444	-
HS	101.69 (49.41)	100.47 (84.11)	0.966	-
PSDR	1.76 (1.25)	1.75 (1.31)	0.978	-
FMIR	1.78 (1.25)	1.75 (1.31)	0.967	-

Tabela 11 Wyniki pomiarów funkcji śródbłonka chorych na axSpA w zależności od rodzaju stosowanego leczenia biologicznego.

Zmienna	Typ bLMPCh stosowanego w axSpA		p	Istotność
	IL-17i	TNFi		
	<i>M (SD)</i>	<i>M (SD)</i>		
FMD [%]	8.91 (6.66)	8.25 (3.76)	0.825	-
Time to FMD Peak [s]	80.75 (24.28)	53.90 (14.27)	0.111	-
RHI	2.25 (0.53)	2.15 (0.70)	0.677	-
HR index	12.08 (4.28)	12.63 (3.36)	0.765	-
HS	61.38 (40.47)	62.65 (49.07)	0.946	-
PSDR	1.46 (1.70)	1.25 (1.36)	0.400	-
FMIR	1.55 (1.65)	1.32 (1.41)	0.400	-

Pacjenci leczeni NLPZ w porównaniu z pacjentami bez NLPZ mieli istotnie wyższy RHI (2.35 [0.54] vs 1.86 [0.59], p=0.002).

Tabela 12 Wyniki pomiarów funkcji śródbłonka chorych na artropatii zapalne w zależności od bieżącego stosowania NLPZ.

Zmienna	Leczenie NLPZ		p	Istotność
	Nie	Tak		
	<i>M (SD)</i>	<i>M (SD)</i>		
FMD [%]	7.89 (4.46)	9.03 (4.45)	0.362	-
Time to FMD Peak [s]	56.83 (10.09)	56.56 (15.58)	0.959	-
RHI	1.86 (0.59)	2.35 (0.54)	0.002	*
HR index	11.65 (3.46)	13.28 (0.54)	0.075	-
HS	67.29 (52.34)	60.43 (80.71)	0.821	-
PSDR	1.18 (1.18)	1.59 (1.26)	0.636	-
FMIR	1.19 (1.21)	1.63 (1.29)	0.688	-

Nie stwierdzono jednak różnic w parametrach śródbłonka w zależności od preferencyjności NLPZ względem izoform COX. W przypadku chorych na axSpA nie stwierdzono różnic w zależności od stosowania NLPZ ciągle w porównaniu ze stosowaniem doraźnym.

Tabela 13 Wyniki pomiarów funkcji śródbłonka chorych na artropatie zapalne w zależności od typu stosowanego NLPZ.

Zmienna	Typ stosowanego NLPZ w zależności od preferencji wobec izoformy COX			p	Istotne pary
	COX1 <i>M (SD)</i>	COX1/2 <i>M (SD)</i>	COX2 <i>M (SD)</i>		
FMD [%]	8.87 (5.27)	9.58 (5.12)	8.20 (3.34)	0.641	-
Time to FMD Peak [s]	63.20 (19.85)	55.07 (12.54)	53.11 (15.61)	0.283	-
RHI	2.12 (0.59)	2.23 (0.63)	2.13 (0.59)	0.853	-
HR index	12.03 (3.70)	13.52 (2.84)	13.07 (3.01)	0.401	-
HS	62.36 (50.80)	60.36 (67.64)	72.25 (83.10)	0.871	-
PSDR	1.61 (1.32)	1.53 (1.25)	1.31 (0.89)	0.423	-
FMIR	1.64 (1.35)	1.51 (1.24)	1.45 (0.88)	0.427	-

Tabela 14 Wyniki pomiarów funkcji śródbłonka chorych na axSpA w zależności od sposobu leczenia NLPZ.

Zmienna	Stosowanie NLPZ w axSpA		p	Istotność
	<i>Na żądanie</i> <i>M (SD)</i>	<i>Stale</i> <i>M (SD)</i>		
FMD [%]	8.75 (4.52)	8.49 (4.50)	0.828	-
Time to FMD Peak [s]	60.78 (19.32)	53.57 (13.96)	0.142	-
RHI	2.09 (0.64)	2.26 (0.57)	0.285	-
HR index	12.89 (3.37)	12.56 (3.22)	0.697	-
HS	66.94 (43.79)	58.24 (85.58)	0.983	-
PSDR	1.38 (1.31)	1.53 (1.16)	0.870	-
FMIR	1.40 (1.33)	1.59 (1.22)	0.994	-

Jedyna uchwytna różnica w fenotypie klinicznym pacjentów z axSpA w kontekście parametrów funkcji śródbłonka dotyczyła manifestacji obwodowej – chorzy z objawami obwodowymi mieli wyższy HR index (13.83 [2.40] vs. 11.97 [3.56], p=0.016).

Tabela 15 Wyniki pomiarów funkcji śródbłonka chorych na axSpA w zależności od obecności manifestacji obwodowej.

Zmienna	Manifestacja obwodowa axSpA		p	Istotność
	Nie	Tak		
	<i>M (SD)</i>	<i>M (SD)</i>		
FMD [%]	7.64 (3.87)	9.91 (4.87)	0.057	-
Time to FMD Peak [s]	56.00 (15.73)	57.42 (18.06)	0.766	-
RHI	2.13 (0.64)	2.24 (0.56)	0.451	-
HR index	11.97 (3.56)	13.83 (2.40)	0.016	*
HS	58.30 (100.18)	71.29 (45.02)	0.691	-
PSDR	1.46 (1.23)	1.58 (1.07)	0.660	-
FMIR	1.55 (1.23)	1.58 (1.09)	0.691	-

Nie stwierdzono różnic w parametrach klinicznych, laboratoryjnych oraz parametrach funkcji śródbłonka pomiędzy dwoma podtypami pacjentów z axSpA, tj. chorych z ZZSK i chorych z nr-axSpA. Jedyna uchwytana różnica między tymi grupami dotyczyła długości trwania choroby (dłużej trwająca choroba u pacjentów z ZZSK).

Tabela 16 Porównanie wyników pomiarów funkcji śródbłonka, wyników badań laboratoryjnych oraz cech klinicznych pomiędzy podgrupami axSpA.

Zmienna	axSpA		p	Istotność
	ZZSK	nr-axSpA		
	<i>M (SD)</i>	<i>M (SD)</i>		
FMD [%]	8.48 (3.95)	8.95 (5.39)	0.732	-
Time to FMD Peak [s]	58.32 (17.48)	53.50 (15.05)	0.305	-
RHI	2.19 (0.65)	2.14 (0.49)	0.750	-
HR index	12.29 (3.43)	13.64 (2.71)	0.096	-
HS	64.57 (75.09)	72.25 (53.20)	0.678	-
PSDR	1.59 (1.12)	1.38 (1.16)	0.833	-
FMIR	1.62 (1.14)	1.48 (1.23)	0.821	-
OB [mm/h]	10.00 (10.00)	11.00 (8.00)	0.983	-
CRP [mg/L]	1.56 (2.81)	1.59 (1.26)	0.547	-
MPV [fL]	10.59 (0.92)	10.84 (1.02)	0.358	-
Neu/Lymph R	2.00 (0.91)	1.92 (0.72)	0.702	-
PLT/Lymph R	152.91 (44.75)	146.42 (48.48)	0.608	-

Mono/Lymph R	0.28 (0.12)	0.24 (0.09)	0.340	-
TC [mmol/L]	4.68 (0.86)	4.54 (0.81)	0.518	-
LDL [mmol/L]	2.74 (0.93)	2.66 (1.00)	0.691	-
HDL [mmol/L]	1.51 (0.44)	1.44 (0.41)	0.575	-
TG [mmol/L]	1.17 (0.68)	1.03 (0.30)	0.258	-
25-OH-D [ng/ml]	30.48 (10.96)	28.26 (10.12)	0.507	-
Czas trwania choroby [lata]	7.98 (6.85)	4.19 (4.12)	0.008	*
Czas leczenia biologicznego [lata]	0.28 (2.00)	0.00 (2.00)	0.429	-
BASDAI	3.48 (1.99)	3.53 (2.36)	0.941	-
ASDAS-CRP	1.98 (0.95)	1.99 (1.01)	0.959	-
Czas wolny od NLPZ	2.00 (21.50)	1.03 (17.50)	0.258	-
Czas leczenia NLPZ	12.00 (18.25)	6.00 (15.00)	0.159	-

Pacjenci z RZS serododatnim nie różnili się parametrami funkcji śródbłonka od pacjentów z RZS seroujemnym.

Tabela 17 Porównanie wyników pomiarów funkcji śródbłonka chorych na RZS w zależności od podtypu serologicznego.

Zmienna	RZS Serododatni		p	Istotność
	Nie	Tak		
	M (SD)	M (SD)		
FMD [%]	7.35 (4.39)	8.17 (4.83)	0.566	-
Time to FMD Peak [s]	52.42(13.10)	52.88 (19.27)	0.924	-
RHI	2.10 (0.63)	2.10 (0.71)	0.984	-
HR index	14.63 (2.75)	13.20 (2.51)	0.086	-
HS	90.47 (95.74)	72.02 (64.92)	0.108	-
PSDR	1.53 (1.94)	1.27 (0.89)	0.483	-
FMIR	1.52 (1.98)	1.31 (0.92)	0.503	-

4.3.2. Charakterystyka ogólna pacjentów z artropatiami zapalnymi, u których wykryto dysfunkcję śródbłonna

Jakkolwiek nie było istotnych różnic w parametrach funkcji śródbłonna w przypadku globalnego porównania grup z RZS, axSpA i grupy kontrolnej, przeanalizowano podgrupy pacjentów z artropatiami zapalnymi, u których dysfunkcję śródbłonna wykryto.

Tabela 18 Porównanie najważniejszych cech klinicznych i laboratoryjnych chorych na artropatie zapalne w zależności od obecności dysfunkcji śródbłonna makrokrażenia.

FMD (RZS + axSpA)				
Zmienna	Dysfunkcja śródbłonna (FMD <7%) <i>M (SD)</i>	Bez dysfunkcji śródbłonna (FMD >7%) <i>M (SD)</i>	p	Istotność
Wiek [lata]	34.20 (1.78)	31.22 (1.96)	0.080	-
OB [mm/h]	10.00 (10.75)	9.00 (9.00)	0.162	-
CRP [mg/L]	1.59 (2.84)	1.00 (1.88)	0.052	-
Neu/Lymph R	3.72 (1.64)	3.30 (1.24)	0.115	-
Mono/Lymph R	0.46 (0.16)	0.51 (0.25)	0.910	-
PLT/Lymph R	279.30 (73.83)	265.29 (61.30)	0.265	-
TC [mmol/L]	4.86 (0.84)	4.51 (0.85)	0.029	*
LDL [mmol/L]	2.85 (0.79)	2.57 (0.74)	0.048	*
HDL [mmol/L]	1.60 (0.46)	1.53 (0.43)	0.423	-
non-HDL [mmol/L]	3.26 (0.82)	2.98 (0.85)	0.073	-
25-OH-D [ng/mL]	27.98 (9.70)	26.23 (10.13)	0.406	-
Czas trwania choroby [lata]	7.25 (5.85)	6.37 (7.03)	0.473	-
Czas leczenia biologicznego [lata]	1.81 (2.61)	1.19 (2.07)	0.157	-
Czas wolny od NLPZ [tygodnie]	3.00 (19.50)	4.00 (23.00)	0.286	-
Czas leczenia NLPZ [tygodnie]	6.00 (15.00)	6.00 (8.00)	0.270	-

U 54 pacjentów z chorobą zapalną (RZS i axSpA), u których FMD [%] było obniżone (< 7%, arbitralnie ustalona granica dla dysfunkcji śródbłonna dużych tętnic), wykazano wyższy poziom TC 4,86 (0,79) mmol/l i LDL 2,85 (0,79) w porównaniu z podgrupą ze stężeniem TC 4,55 (0,72) mmol/l (p=0,029) i LDL 2,57 (0,74) (p=0,048), u której FMD [%] wynosiło > 7%.

Pomiędzy grupami z prawidłowym i obniżonym FMD nie stwierdzono istotnych różnic w innych parametrach klinicznych, laboratoryjnych ani terapeutycznych.

Pacjenci z RZS i axSpA, u których stwierdzono obniżenie RHI (<1.67) nie różnili się pod względem parametrów klinicznych, laboratoryjnych i terapeutycznych od podgrupy z prawidłowym RHI.

Tabela 19 Porównanie najważniejszych cech klinicznych i laboratoryjnych chorych na artropatie zapalne w zależności od wyniku pomiaru PAT.

Zmienna	RHI (RZS + axSpA)		p	Istotność
	Dysfunkcja śródbłonna (RHI <1.67) M (SD)	Brak dysfunkcji śródbłonna (RHI > 1.67) M (SD)		
Wiek [lata]	35.71 (8.85)	33.15 (7.06)	0.175	-
OB [mm/h]	11.00 (10.75)	9.00 (10.00)	0.737	-
CRP [mg/L]	1.69 (2.44)	1.00 (2.36)	0.498	-
Neu/Lymph R	3.49 (1.44)	3.54 (1.50)	0.883	-
Mono/Lymph R	0.45 (0.25)	0.48 (0.21)	0.303	-
PLT/Lymph R	279.35 (73.76)	268.60 (64.13)	0.503	-
TC [mmol/L]	4.50 (0.65)	4.73 (0.92)	0.147	-
LDL [mmol/L]	2.54 (0.61)	2.73 (0.85)	0.200	-
HDL [mmol/L]	1.51 (0.40)	1.55 (0.41)	0.711	-
non-HDL [mmol/L]	2.98 (0.80)	3.18 (0.87)	0.277	-
25-OH-D [ng/mL]	25.98 (10.51)	27.84 (9.84)	0.451	-
Czas trwania choroby [lata]	5.97 (6.54)	7.20 (6.20)	0.397	-
Czas leczenia biologicznego [lata]	1.40 (2.31)	1.65 (2.41)	0.627	-
Czas wolny od NLPZ [tygodnie]	10.00 (22.50)	2.00 (20.00)	0.175	-
Czas leczenia NLPZ [miesiące]	5.00 (5.00)	6.00 (16.50)	0.329	-

Pacjenci z RZS i axSpA z dysfunkcją śródbłonka mikrokrążenia skóry (HR index < 8%) mieli istotnie wyższy Neu/Lymph R (3.63 [1.65]) w porównaniu z pacjentami z umiarkowanie obniżonym HR index (3.46 [1.26]) oraz prawidłowym HR index (2.52 [0.45], p=0.002). Innych istotnych różnic nie odnotowano.

Tabela 20 Porównanie najważniejszych cech klinicznych i laboratoryjnych chorych na artropatie zapalne w zależności od wyniku pomiaru FMSF.

Zmienna	FMSF (RZS + axSpA)			p	Istotne pary
	Niski HR index < 8% * M (SD)	Umiarkowany HR index 8-13% M (SD)	Wysoki HR index > 13% M (SD)		
Wiek [lata]	31.8 (3.82)	35.56 (1.16)	35.59 (1.03)	0.626	-
OB [mm/h]	11.00 (11.00)	10.00 (10.50)	6.00 (1.00)	0.197	-
CRP [mg/L]	1.39 (2.31)	1.00 (2.51)	1.00 (0.00)	0.516	-
Neu/Lymph Ratio	3.63 (1.65)	3.46 (1.26)	2.52 (0.45)	0.002	Niski-Wysoki, Niski-Umiarkowany
Mono/Lymph R	0.45 (0.21)	0.47 (0.18)	0.41 (0.03)	0.547	-
PLT/Lymph Ratio	272.22 (70.08)	270.96 (67.79)	238.20 (41.11)	0.279	-
TC [mmol/L]	4.74 (0.92)	4.64 (0.86)	5.04 (0.53)	0.356	-
LDL [mmol/L]	2.70 (0.87)	2.67 (0.74)	2.95 (0.70)	0.706	-
HDL [mmol/L]	1.59 (0.46)	1.51 (0.39)	1.81 (0.67)	0.430	-
non-HDL [mmol/L]	3.15 (0.91)	3.13 (0.85)	3.23 (0.71)	0.961	-
25-OH-D [ng/mL]	28.92 (13.06)	26.77 (11.66)	33.71 (11.05)	0.411	-
Czas trwania choroby [lata]	7.55 (7.06)	6.37 (5.50)	6.80 (5.72)	0.614	-
Czas leczenia biologicznego [lata]	1.54 (2.36)	1.51 (2.40)	1.80 (1.96)	0.955	-
Czas wolny od NLPZ [tygodnie]	2.00 (15.00)	5.00 (23.00)	24.00 (36.00)	0.279	-
Czas leczenia NLPZ [miesiące]	5.50 (10.00)	6.00 (9.00)	12.00 (2.00)	0.343	-
<i>*dysfunkcja śródbłonka mikrokrążenia</i>					

4.3.3 Charakterystyka szczegółowa pacjentów, u których wykryto dysfunkcję śródbłonka, z podziałem na podgrupę RZS oraz podgrupę axSpA

Następnie porównano istotne klinicznie cechy pacjentów z wykrytą dysfunkcją śródbłonka oraz bez stwierdzonej dysfunkcji śródbłonka w obrębie oddzielnych podgrup z RZS oraz z axSpA.

Tabela 21 Porównanie najważniejszych cech klinicznych i laboratoryjnych chorych na RZS w zależności od obecności dysfunkcji śródbłonka makrokrażenia.

Zmienna	FMD (RZS)		p	Istotność
	Dysfunkcja śródbłonka (FMD <7%)	Bez dysfunkcji śródbłonka (FMD >7%)		
	M (SD)	M (SD)		
RF [IU/mL]	11.30 (116.70)	30.50 (97.00)	0.502	-
ACPA [U/mL]	180.08 (204.90)	236.11 (228.62)	0.330	-
TJC	3.69 (3.43)	5.17 (4.14)	0.144	-
SJC	2.66 (3.45)	4.79 (5.41)	0.079	-
DAS28 (OB)	3.25 (1.35)	3.63 (1.75)	0.367	-
CDAI	12.12 (9.67)	16.28 (12.78)	0.168	-
SDAI	12.28 (9.80)	17.47 (14.27)	0.113	-
Czas wolny od GKS (miesiące)	10.68 (11.89)	9.30 (10.47)	0.658	-
Czas ekspozycji na GKS (lata)	1.00 (2.50)	1.00 (1.60)	0.808	-
Czas leczenia MTX [lata]	1.00 (3.95)	2.00 (3.50)	0.443	-

Wśród chorych na RZS nie stwierdzono istotnych różnic w parametrach klinicznych, laboratoryjnych i terapeutycznych w zależności od obecności dysfunkcji lub jej niestwierdzenia metodami PAT (RHI) oraz FMSF (HR index).

Tabela 22 Porównanie najważniejszych cech klinicznych i laboratoryjnych chorych na RZS w zależności od wyniku pomiaru PAT.

Zmienna	RHI (RZS)		p	Istotność
	Dysfunkcja śródbłonka (RHI <1.67)	Brak dysfunkcji śródbłonka (RHI > 1.67)		
	M (SD)	M (SD)		
RF [IU/mL]	29.50 (112.20)	26.30 (106.85)	0.855	-
ACPA [U/mL]	222.96 (232.51)	185.42 (206.26)	0.595	-
TJC	5.00 (4.54)	4.77 (3.83)	0.867	-
SJC	4.71 (5.98)	3.64 (4.22)	0.539	-
DAS28 (OB)	3.42 (1.70)	3.59 (1.55)	0.743	-
CDAI	15.16 (13.33)	15.31 (11.56)	0.970	-
SDAI	16.64 (15.63)	15.72 (11.93)	0.841	-
Czas wolny od GKS (miesiące)	7.41 (9.88)	11.83 (11.71)	0.183	-
Czas ekspozycji na GKS (lata)	2.13 (2.71)	1.86 (1.65)	0.732	-
Czas leczenia MTX [lata]	3.18 (2.90)	3.21 (4.35)	0.977	-

Tabela 23 Porównanie najważniejszych cech klinicznych i laboratoryjnych chorych na RZS w zależności od wyniku pomiaru FMSF.

Zmienna	FMSF (RZS)		p	Istotność
	Niski HR index < 8% *	Umiarkowany HR index 8-13%		
	M (SD)	M (SD)		
RF [IU/mL]	21.20 (123.70)	29.50 (62.45)	0.769	-
ACPA [U/mL]	176.45 (212.27)	241.10 (219.58)	0.249	-
TJC	5.16 (4.60)	4.81 (3.88)	0.742	-
SJC	3.35 (4.10)	5.35 (5.50)	0.124	-
DAS28 (OB)	3.48 (1.64)	3.72 (3.66)	0.563	-
CDAI	14.82 (13.11)	17.28 (12.19)	0.449	-
SDAI	15.18 (13.37)	18.29 (13.62)	0.373	-
Czas wolny od GKS (miesiące)	10.35 (11.28)	10.12 (11.00)	0.940	-
Czas ekspozycji na GKS (lata)	1.50 (2.50)	1.00 (1.50)	0.598	-
Czas leczenia MTX [lata]	2.80 (3.86)	3.47 (4.01)	0.510	-
<i>*dysfunkcja śródbłonna mikrokrążenia</i>				

Z kolei wśród chorych na axSpA nie stwierdzono istotnych różnic w parametrach klinicznych, laboratoryjnych i terapeutycznych w zależności od obecności dysfunkcji lub jej niestwierdzenia metodami FMD oraz PAT.

Tabela 24 Porównanie wskaźników aktywności u chorych na axSpA w zależności od obecności dysfunkcji śródbłonna makrokrążenia.

Zmienna	FMD (axSpA)		p	Istotność
	Dysfunkcja śródbłonna (FMD <7%)	Bez dysfunkcji śródbłonna (FMD >7%)		
	M (SD)	M (SD)		
BASDAI	3.02 (1.87)	4.01 (2.23)	0.068	-
ASDAS-CRP	1.75 (0.80)	2.23 (1.03)	0.051	-

Tabela 25 Porównanie wskaźników aktywności u chorych na axSpA w zależności od wyniku pomiaru PAT.

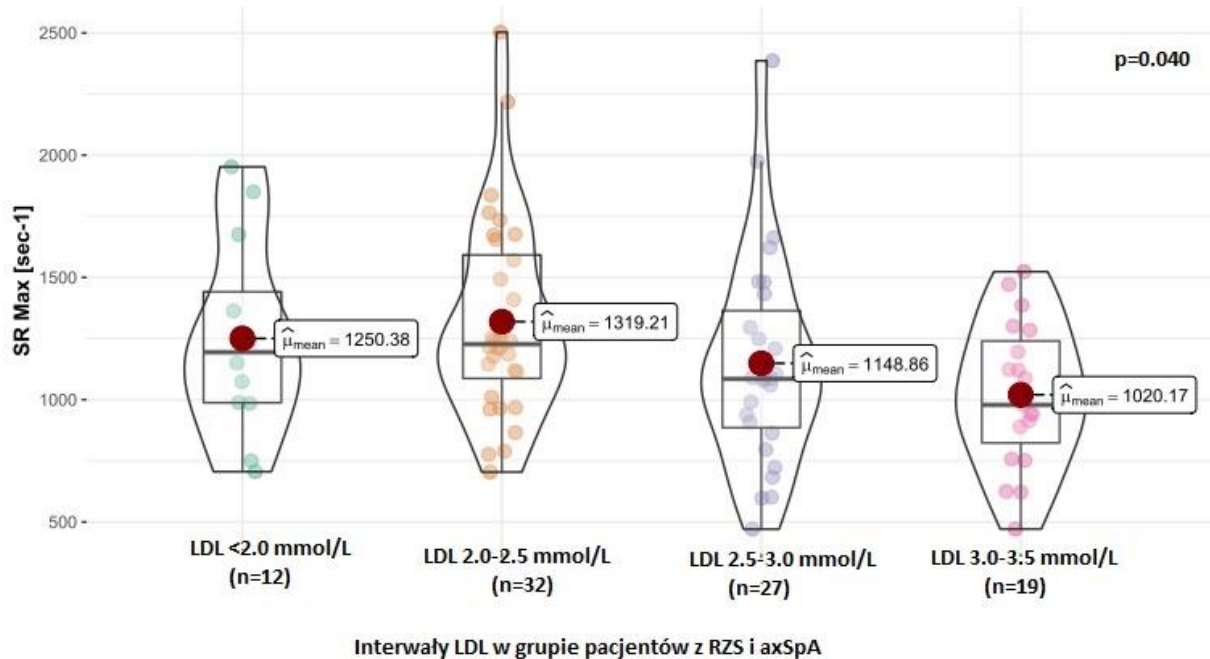
RHI (axSpA)				
Zmienna	Dysfunkcja śródbłonka (RHI <1.67) M (SD)	Brak dysfunkcji śródbłonka (RHI > 1.67) M (SD)	p	Istotność
BASDAI	2.71 (1.37)	3.62 (2.19)	0.078	-
ASDAS-CRP	1.67 (0.73)	2.02 (0.99)	0.169	-

Dysfunkcję śródbłonka mikronaczyniowego skóry (tj. niższy wskaźnik HR) wykryto za pomocą FMSF w podgrupie pacjentów z axSpA, którzy paradoksalnie mieli niższe wskaźniki aktywności choroby (BASDAI 1.74 [0.4] i ASDAS-CRP 1.1 [0.25], odpowiednio p=0.001). Nie ustalono takiej zależności dla pacjentów z RZS.

Tabela 26 Porównanie wskaźników aktywności u chorych na axSpA w zależności od wyniku pomiaru FMSF.

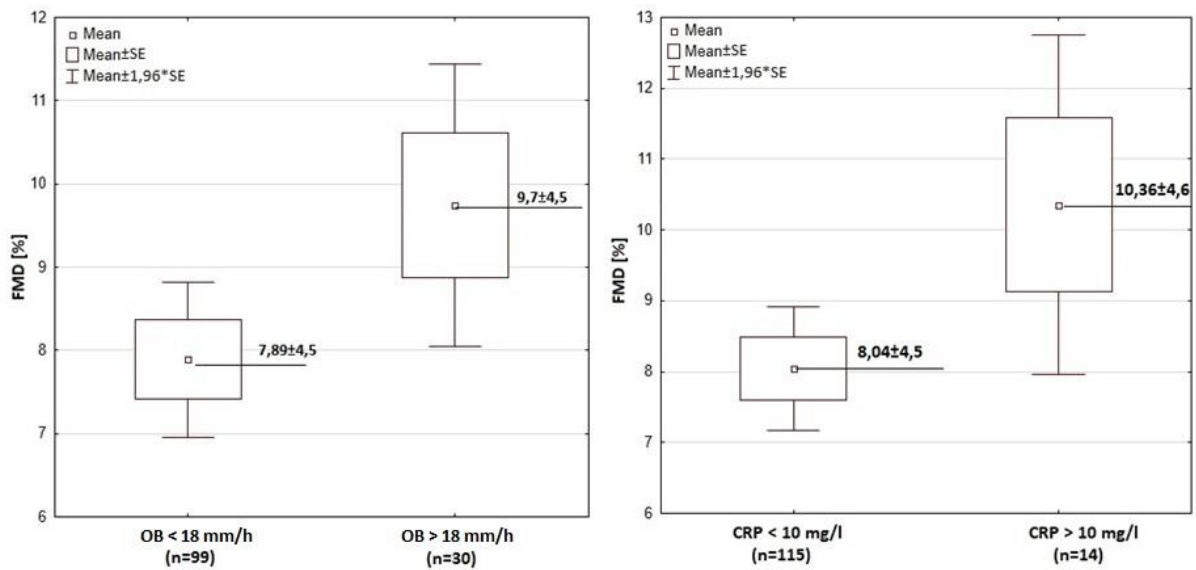
FMSF (axSpA)					
Zmienna	Niski HR index < 8% * M (SD)	Umiarkowany HR index 8-13% M (SD)	Wysoki HR index > 13% M (SD)	P	Istotne pary
BASDAI	1.74 (0.40)	3.44 (1.88)	3.82 (2.32)	<0.001	Niski-Wysoki ; Niski-Umiarkowany
ASDAS- CRP	1.10 (1.18)	2.04 (1.68)	2.06 (2.09)	<0.001	Niski-Wysoki ; Niski-Umiarkowany
* dysfunkcja śródbłonka mikrokrążenia					

Biorąc pod uwagę wyższe stężenie TC i LDL w podgrupie pacjentów z RZS i axSpA, w której stwierdzono dysfunkcję śródbłonna makrokrążenia wyrażoną obniżeniem FMD, wyznaczono progi LDL, przy których obserwowane były zmiany SR max. Odnotowano istotny statystycznie ($p=0.040$) spadek SR max u pacjentów z LDL > 3.0 mmol/L.



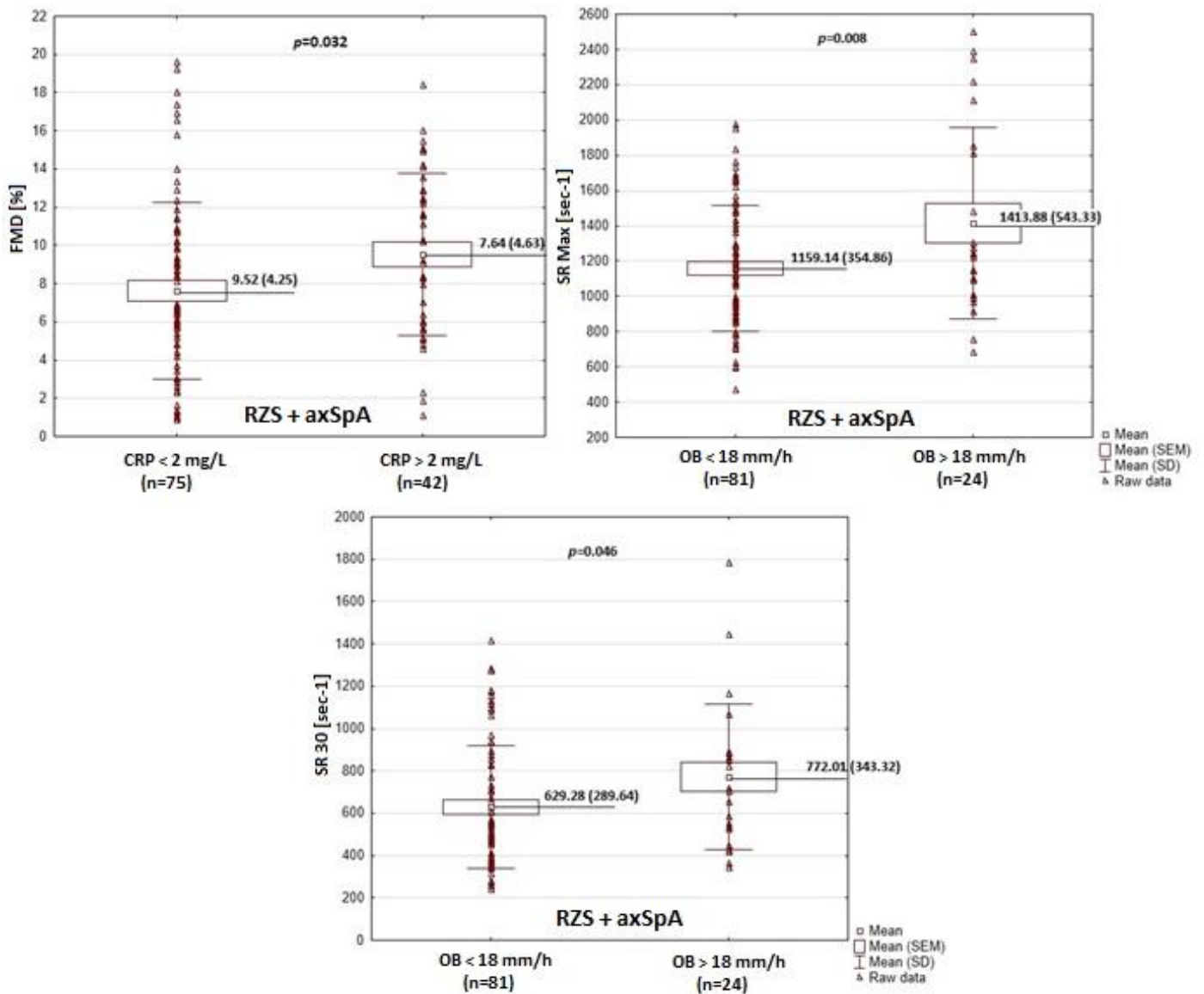
Rycina 4 Maksymalna szybkość ścinania w zależności od interwału stężenia LDL w grupie chorych na artropatie zapalne.

Następnie wyznaczono progi odcięcia dla wyników oznaczeń wskaźników zapalnych (OB i CRP) wśród pacjentów z artropatiami zapalnymi (RZS i axSpA), przy których zauważalne były różnice w wynikach pomiarów FMD. Różnic takich nie zaobserwowano dla PAT i FMSF. Pacjenci z OB > 18 mm/h, jak i pacjenci z CRP > 10 mg/L mieli istotnie statystycznie wyższe FMD o pacjentów z niższymi wartościami wskaźników zapalnych.



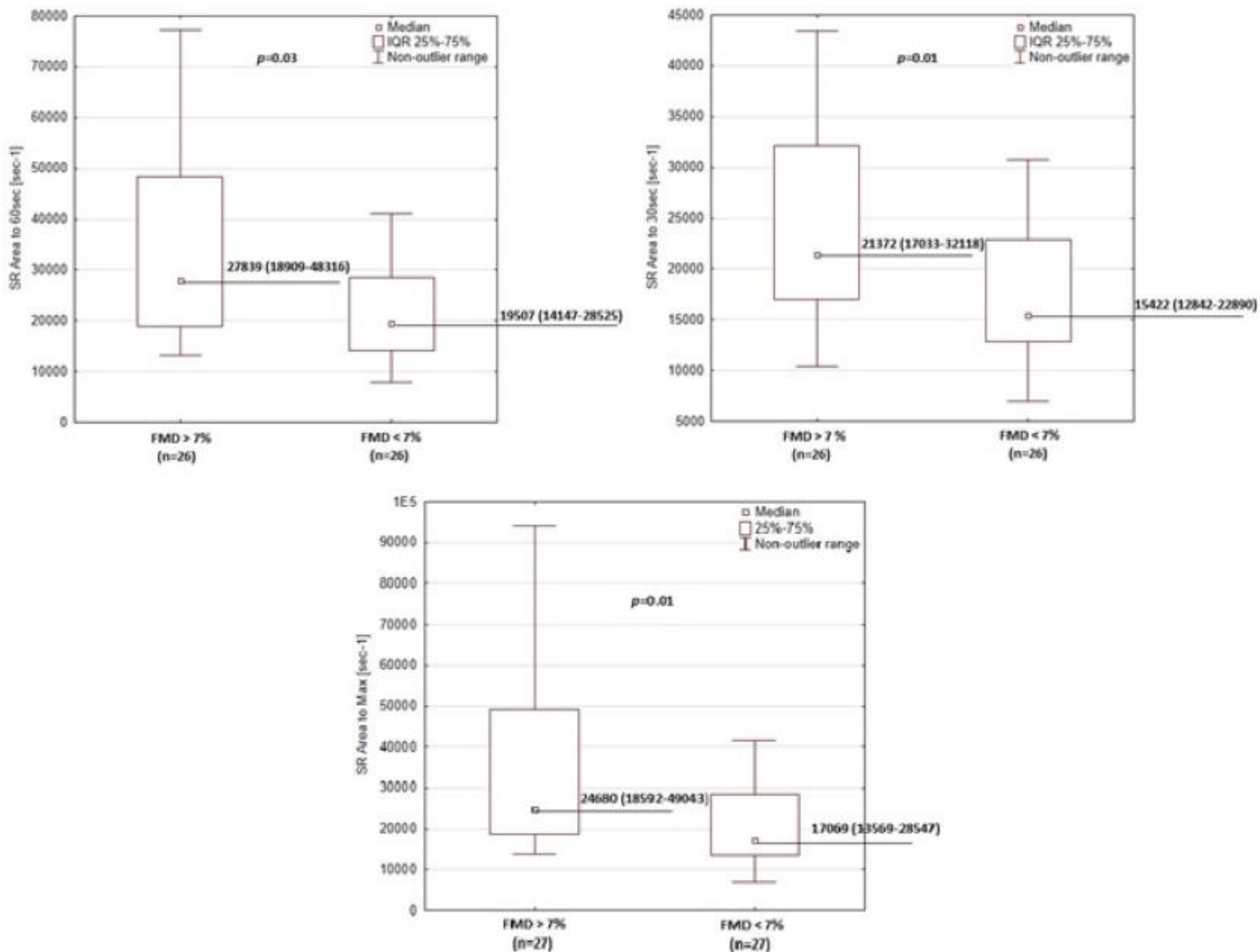
Rycina 5 Porównanie wartości FMD [%] w zależności od progowych wartości wskaźników zapalnych w grupie chorych na artropatie zapalne.

Zależność utrzymywała się także dla niższego progu odcięcia CRP. Podgrupa pacjentów z CRP > 2 mg/L nadal miała wyższe FMD niż grupa z niższym CRP (FMD 9.52 ((4.25)) vs 7.64 ((4.63)), p=0.032. Ponadto, pacjenci z przyspieszonym OB (>18 mm/h), nie tylko mieli wyższe FMD, jak wspomniano wyżej, ale też wyższe SR max oraz wyższe SR w 30. sekundzie (1413.88 ((543.33)) vs 1159.14 ((354.86)), p=0.008, 772.01 ((343.32)) vs 629.28 ((289.64)), p=0.046).



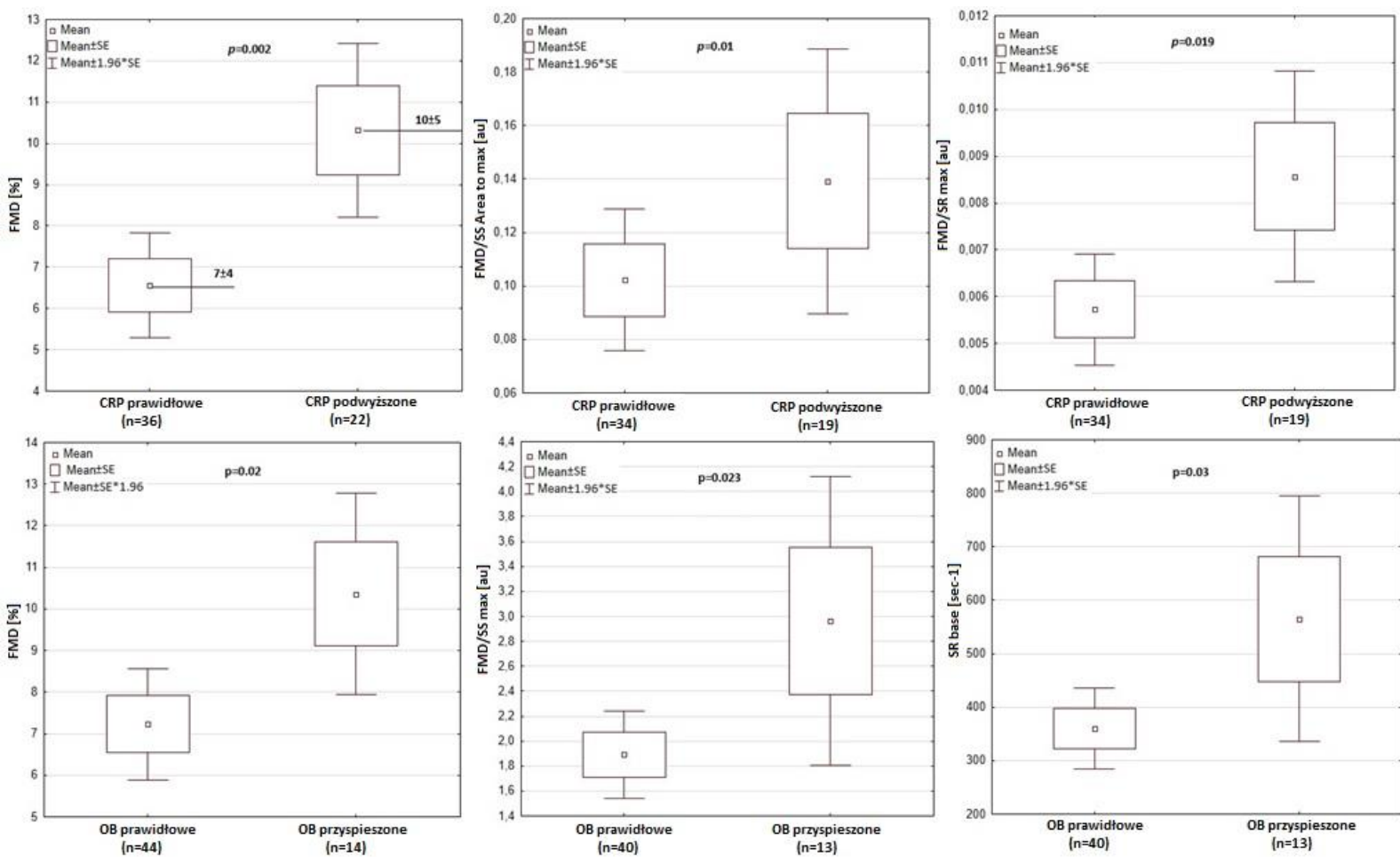
Rycina 6 Porównanie wartości FMD [%], maksymalnej szybkości ścinania (SR max) oraz szybkości ścinania w 30 sekundzie (SR 30 sec) w zależności od progowych wartości wskaźników zapalnych w grupie chorych na artropatie zapalne.

Następnie przeprowadzono analizy w jednolitych pod kątem rozpoznanej artropatii zapalnej podgrupach. W grupie pacjentów z RZS stwierdzono niższy Shear Rate Area to Max (17069 [IQR 13569-28547] vs 24680 [IQR 18592-49043], $p=0,01$), niższy Shear Rate Area to 30 sec (15422 [IQR 12842-22890] vs 21372 [17033-32118], $p=0,01$) oraz niższy Shear Rate Area to 60 sec (19507 [IQR 14147-28525] vs 27839 [IQR 18909-48316], $p=0,03$) w podgrupie pacjentów z dysfunkcją śródbłonna głównych tętnic.



Rycina 7 Porównanie wartości pola powierzchni wykresów dla poszczególnych szybkości ścinania między chorymi z dysfunkcją oraz bez dysfunkcji śródbłonna makrokrążenia.

Ponadto podgrupa pacjentów z RZS z jakimkolwiek odchyleniem od normy w zakresie stężenia CRP miała wyższe FMD (10 ((5)) vs. 7 ((4)), $p=0.002$), FMD/Shear Rate Max oraz FMD/Shear Stress Area to Max w porównaniu z pacjentami z RZS z prawidłowymi wartościami CRP. Podobnie pacjenci z RZS z przyspieszonym OB również mieli wyższe FMD [%] (10 ((5)) vs 7 ((5)), $p=0.029$), wyższą bazową szybkość ścinania (565 ((422)) vs 360 ((243)) , $p=0.034$) oraz FMD/Shear Stress Max [au] (2.9 ((2.0)) vs 1.9 (1.0)), $p=0.023$).



Rycina 8 Porównanie FMD [%] oraz FMD [%] znormalizowanych na szybkość ścinania i napężenie ścinające w zależności obecności lub braku wykładników stanu zapalnego u chorych na artropatie zapalne.

W grupie pacjentów z RZS również wyznaczono progi odcięcia dla LDL celem zidentyfikowania parametrów różnicujących podgrupy. Chorzy na RZS z LDL >2.5 byli istotnie statystycznie starsi, mieli nieznacznie wyższy poziom glikemii (choć nadal w normie), byli również krócej leczeni MTX oraz mieli krótszy okres wolny od NLPZ.

Tabela 27 Istotne cechy różniące chorych z RZS w zależności od stężenia LDL.

Zmienna	RZS		p
	LDL < 2.5 mmol/l (n=25)	LDL > 3.0 mmol/L (n=33)	
	Mediana (IQR)	Mediana (IQR)	
Wiek [lata]	37 (29-41)	42 (34-45)	0.044
Glukoza [mmol/L]	4.55 (4.27-4.92)	4.86 (4.86-5.04)	0.046
Czas leczenia MTX [lata]	3.0 (0.5-7.0)	1.0 (0-4.0)	0.037
Czas wolny od NLPZ [tyg]	16.0 (8.0-32.0)	5.0 (1.0-12.00)	0.022

W grupie pacjentów z axSpA nie wykazano podobnych zależności.

4.3.4 Analiza korelacji między parametrami funkcji śródbłonka a cechami klinicznymi

W kolejnym kroku przeprowadzono analizę korelacji, której wyniki przedstawiono w tabeli. Słabe dodatnie korelacje o znaczeniu statystycznym stwierdzono dla FMD [%] i OB, stosunku neutrofilów do limfocytów, płytek krwi do limfocytów, liczby obrzękniętych stawów, CDAI i SDAI. Nie stwierdzono innej istotnej korelacji między parametrami funkcji śródbłonka a wynikami badań laboratoryjnych, cechami klinicznymi, innymi wskaźnikami aktywności choroby i czasem trwania leczenia LMPCh, GKS lub NLPZ oraz czasem wolnym od GKS i NLPZ.

Tabela 28 Wyniki analizy korelacji pomiędzy cechami klinicznymi a wynikami pomiarów funkcji śródbłonka w grupie chorych na artropatii zapalne.

Parametry kliniczne i laboratoryjne (RZS + axSpA)	FMD [%] r	FMD/SS Area to Max [au] r	RHI r	HR index r
Wiek [lata]	-0.061	-0.146	0.207	0.131
OB [mm/h]	0.260**	0.258**	-0.032	-0.011
CRP [mg/L]	0.18*	0.219*	-0.026	0.004
Neu/Lymph R	0.170*	0.026	-0.055	-0.076
PLT/Lymph R	0.170*	0.063	-0.100	-0.110
Mono/Lymph R	-0.001	-0.048	-0.075	0.073
MPV [fl]	-0.140	-0.155	0.075	0.160*

TC [mmol/L]	0.011	-0.036	0.110	0.095
LDL [mmol/L]	0.031	-0.006	0.150	0.085
HDL [mmol/L]	-0.120	-0.109	-0.052	-0.003
non-HDL [mmol/L]	0.076	0.023	0.130	0.094
25-OH-D [ng/ml]	0.030	-0.036	-0.038	0.014
Czas trwania choroby [lata]	0.031	0.021	-0.001	0.100
TJC	0.170	0.238	-0.190	-0.030
SJC	0.270*	0.307*	-0.220	-0.130
DAS28(OB)	0.150	0.208	-0.160	-0.099
CDAI	0.270*	0.207	-0.180	-0.063
SDAI	0.290*	0.208	-0.190	-0.079
Czas leczenia MTX (lata)	0.092	-0.035	-0.110	0.018
Czas leczenia biologicznego (lata)	0.071	0.065	0.017	0.027
Czas wolny od GKS [miesiące]	0.006	0.013	0.160	0.029
Czas ekspozycji na GKS [lata]	0.160	0.284*	-0.160	0.150
Czas wolny od NLPZ [tygodnie]	0.060	-0.093	-0.059	0.029
Czas leczenia NLPZ [miesiące]	0.025	-0.169	0.130	0.016
BASDAI	0.180	-0.026	0.120	0.097
ASDAS-CRP	0.130	-0.097	0.092	0.083
* – $p < 0.05$; ** – $p < 0.001$				

W podgrupie składającej się jedynie z chorych na RZS, wśród wyników istotnych statystycznie oraz biologicznie, stwierdzono silniejszą korelację między FMD a biomarkerami stanu zapalnego, zwłaszcza dla parametrów FMD znormalizowanych na szybkość ścinania i naprężenie ścinające (FMD/SR Area to max, FMD/SS max, FMD/SS Area to max, FMD/SR max). Nie stwierdzono takich zależności dla parametrów śródbłonna mikrokrążenia (PAT, FMSF).

Tabela 29 Wyniki subanalizy korelacji pomiędzy wskaźnikami zapalnymi a parametrami śródbłonka makrokrążenia znormalizowanymi na szybkość ścinania i naprężenie ścinające dla chorych na RZS.

Zmienna	FMD [%]		FMD/SS Area to max [au]		FMD/SS max [au]		FMD/SR Area to max [au]		FMD/SR max [au]	
	r	p	r	p	r	p	r	p	r	p
OB [mm/h]	0.280	0.033	0.331	0.066	0.497	<0.001	0.254	0.016	0.400	0.003
CRP [mg/L]	0.281	0.033	0.480	0.003	0.570	<0.001	0.403	<0.001	0.483	<0.001

Nie odnotowano istotnych korelacji pomiędzy cechami klinicznymi a wynikami śródbłonka w podgrupie składającej się wyłącznie z chorych na axSpA.

4.3.5 Analiza regresji

W celu wybrania klinicznie istotnych parametrów prognozujących czynność śródbłonka u pacjentów z RZS lub axSpA opracowano model regresji logistycznej. U pacjentów z RZS najlepszym parametrem pozwalającym przewidzieć dysfunkcję śródbłonka głównych tętnic (FMD < 7%) w modelu regresji jednoczynnikowej był PLT/Lymph R (p=0,006, dla każdej jednostki zmiany PLT/Lymph R, logarytm szans wystąpienia dysfunkcji zmniejsza się o 0,015%), podczas gdy w wieloczynnikowym modelu regresji dysfunkcji śródbłonka mikrokrążenia była to dawka MTX w przypadku RHI (p=0,008) oraz seropozytywność (oznaczająca obecność RF lub ACPA) w przypadku FMSF (p=0,017). W grupie axSpA najlepszym parametrem przewidującym dysfunkcję śródbłonka głównych tętnic (FMD < 7%) w wieloczynnikowym modelu regresji był hematokryt (p=0,009), natomiast dysfunkcję śródbłonka mikronaczyniowego (RHI <1,67) przewidywano na podstawie modelu łączącego średnią objętość płytek krwi (MPV, p=0,022), hemoglobiny (p=0,027), cholesterolu całkowitego (p=0,035) i RHI, czasu leczenia MTX związanego z objawami obwodowymi i obecnością objawów obwodowych towarzyszących axSpA. Żaden model nie sprawdził się dobrze w przypadku FMSF.

Tabela 30 Czynniki predykcyjne dla stwierdzenia dysfunkcji śródbłonka przy pomocy poszczególnych metod pomiarowych u chorych na RZS.

FMD		czynniki predykcyjne			
RZS		B	SE	Z	p
Stala		2.761	1.014	2.72	0.006
PLT/Lymph R		-0.015	0.005	-2.749	0.006
		RHI czynniki predykcyjne			
		β	SE	Z	p
Stala		-3.29	0.954	-3.45	<0.001
Dawka MTX [mg/tydz]		0.118	0.044	2.64	0.008
		FMSF czynniki predykcyjne			
		B	SE	Z	p
Stala		-1.33	0.65	-2.06	0.039
Serodatni		1.81	0.75	2.40	0.017

Tabela 31 Czynniki predykcyjne dla stwierdzenia dysfunkcji śródbłónka przy pomocy poszczególnych metod pomiarowych u chorych na axSpA.

axSpA	FMD czynniki predykcyjne			
	<i>B</i>	SE	<i>Z</i>	<i>p</i>
Stała	16.81	5.94	-2.83	0.005
Ht [%]	0.25	0.10	2.61	0.009
axSpA	RHI czynniki predykcyjne			
	β	SE	<i>Z</i>	<i>p</i>
Stała	-29.2269	12.4893	2.34	0.019
Hb [g/dL]	2.1479	0.9687	2.217	0.027
MPV [fl]	-2.377	1.0358	-2.295	0.022
TC [mmol/L]	-2.8703	1.3615	-2.108	0.035
Czas leczenia MTX [lata]	1.5196	0.7172	2.119	0.034
Obwodowa axSpA	-3.701	1.7787	-2.081	0.038

5. Dyskusja

Celem uzyskania jak najbardziej wiarygodnych wyników pomiarów funkcji śródbłonka i możliwie najlepszego „wyekstrahowania” wpływu samej choroby zapalnej stawów na endotelium, w pracy zadbano o dobór populacji obejmującej wyłącznie młodych (≤ 50 lat) pacjentów ściśle kontrolowanych pod kątem braku klasycznych czynników ryzyka sercowo-naczyniowego oraz ograniczenie możliwego wpływu trwającej terapii GKS i NLPZ, których wpływ na układ sercowo-naczyniowy i funkcje śródbłonka w RZS i axSpA nadal stanowi przedmiot kontrowersji, biorąc pod uwagę, zarówno korzystne, jak i szkodliwe skutki (117)(118). Negatywne skutki na układ sercowo-naczyniowy, zwłaszcza przedłużającej się terapii GKS, wydają się przeważać, toteż w tym badaniu starano się możliwie ograniczyć ten efekt, o ile było to akceptowalne dla pacjenta i bezpieczne z perspektywy lekarza prowadzącego. Leczenie GKS to zmienna, którą niezmiernie ciężko wyeliminować w badaniach pacjentów z artropatiami zapalnymi, zwłaszcza, jeśli jednocześnie próbuje się uwzględnić zarówno sposób leczenia, jak i aktywność choroby. Pacjent z wysoką aktywnością choroby niemal zawsze wymaga GKS celem zapewnienia szybkiego złagodzenia objawów – w przypadku badania funkcji śródbłonka u takiego chorego, ewentualne zaburzenia tejże można z jednej strony przypisać wysokiej aktywności, z drugiej zaś stosowanym GKS. Badanie nieleczonych chorych z wysoką aktywnością budzi zaś wątpliwości natury etycznej, biorąc pod uwagę charakter procedury, obejmującej między innymi długotrwałe leżenie w wymuszonej pozycji.

W badaniu połączono trzy nieinwazyjne metody oceny funkcji śródbłonka, aby uzyskać kompleksowy zestaw danych dotyczących makro- i mikrokrążenia wraz z korektą pomiarów FMD na szybkość ścinania i naprężenie ścinające. FMD dla głównych tętnic i EndoPAT dla śródbłonka mikronaczyniowego były stosowane w wielu wcześniejszych badaniach. Z kolei metoda FMSF została zastosowana u pacjentów z RZS i axSpA w niniejszej pracy po raz pierwszy. Dotychczas użyto jej przede wszystkim w badaniach na chorych na chorobę wieńcową oraz cukrzycę. U pacjentów z przewlekłym zespołem wieńcowym oraz cukrzycą, zarówno odpowiedź niedokrwienna, jak i przekrwienna były osłabione (126). W grupie pacjentów z cukrzycą typu 2, niższa wartość HR index wskazująca na dysfunkcję śródbłonka mikrokrążenia, pozwalała odróżnić podgrupę pacjentów z wywiadem choroby sercowo-naczyniowej od pacjentów nieobciążonych w ten sposób (127). Z kolei u pacjentów z owrzodzeniami w przebiegu stopy cukrzycowej, parametr HS oraz oscylacje mikrokrążenia były obniżone i związane z gorszym rokowaniem co do wyleczenia i większą liczbą współistniejących obciążeń kardiometabolicznych (128). Przy pomocy FMSF badano także młodych chorych na cukrzycę typu 1 trwającą ponad 10 lat. W tej grupie pacjentów HR index oraz HR max były obniżone oraz odwrotnie skorelowane z wiekiem i BMI, aczkolwiek wśród młodszych uczestników zaobserwowano efekt kompensacyjny o nieznanym mechanizmie (129). U chorych na potwierdzoną badaniem genetycznym rodzinną hipercholesterolemię, mediowana śródbłonkiem

mikrokrążenia odpowiedź przekrwienia wyrażona parametrami HRmax oraz HR index była obniżona i odwrotnie skorelowana ze stężeniami TC i LDL; lepsze wyniki ww. parametrów stwierdzono w podgrupie leczonej statynami (130). Jediną przebadaną dotychczas przy pomocy FMSF grupą chorych na zapalną chorobę reumatyczną byli pacjenci z toczniem rumieniowatym układowym, u których stwierdzono obniżenie m. in. IR max oraz HR max, a zatem odpowiedzi zarówno niedokrwiennej, jak i przekrwiennej, dowodząc tym samym obecności w przebadanej populacji dysfunkcji śródbłonna mikrokrążenia oraz zmniejszonej wrażliwości na hipoksję, jednak odchyłeń parametrów śródbłonkowych nie powiązano z manifestacją kliniczną tocznia układowego ani aktywnością choroby (131). Trzeba zaznaczyć, że wszystkie przytoczone badania miały pionierski, eksploracyjny charakter i sprawdzały potencjał nowatorskiej metody na kolejnych, raczej nielicznych grupach chorych. W niniejszej pracy przy pomocy FMSF nie stwierdzono dysfunkcji śródbłonna mikrokrążenia w przypadku porównania ze sobą grup osób chorych na RZS, na axSpA oraz osób zdrowych. Nie stwierdzono też różnic w parametrach odpowiedzi przekrwiennej w zależności od aktywności choroby zapalnej stawów. Pacjenci z axSpA z manifestacją obwodową mieli wyższy HR index niż pacjenci z wyłącznie objawami osiowymi, jednak pomimo istotności statystycznej zależność ta nie wydaje się mieć znaczenia biologicznego, a wartości HR index w obydwu podgrupach nadal pozostawały w granicy normy. W analizie podgrup osób z rozpoznaniem artropatii zapalnej, pacjenci, u których stwierdzono dysfunkcję mikrokrążenia (HR index <8%) mieli wyższy stosunek Neu/Lymph R. Parametr ten wiązano dotychczas z ogólnoustrojowym stresem, układowym stanem zapalnym, wyższym ryzykiem sercowo-naczyniowym, gorszym rokowaniem w przebiegu infekcji, niektórych typów nowotworów oraz interwencji sercowo-naczyniowych (132). Co ciekawe, chorzy z obniżonym HR index nie mieli wyższego OB ani CRP, wyższych wskaźników aktywności choroby, nie stwierdzono także innych istotnych różnic w zakresie sposobu leczenia ani fenotypu klinicznego, za wyjątkiem rezultatu analizy regresji, w której serododatni charakter RZS przewidywał znalezienie się w grupie z niższym HR index (<8%) i dysfunkcją śródbłonna. Paradoksalnie, w podgrupie pacjentów z axSpA, u której stwierdzono dysfunkcję śródbłonna mikrokrążenia, wykazano jednocześnie niskie wartości wskaźników BASDAI i ASDAS, a zatem niską aktywność choroby. Przeciwnie wyniki uzyskano w badaniach przeprowadzonych przez Batko i wsp., którzy stwierdzili dysfunkcję śródbłonna mikrokrążenia wyrażoną wydłużonym czasem do szczytowego przekrwienia przy pomocy metody LDF u chorych na ZZSK leczonych NLPZ w porównaniu z osobami zdrowymi; uczestnicy byli obciążeni klasycznymi czynnikami ryzyka sercowo-naczyniowego. Chorzy na ZZSK z wysoką aktywnością choroby (BASDAI > 4) we wspomnianym badaniu cechowali się także zmniejszonym szczytowym przekrwieniem w porównaniu z pacjentami niższą aktywnością choroby (133). Z kolei van Eijk i wsp. wykryli u pacjentów z aktywnym ZZSK upośledzenie rozszerzalności naczyń mediowanej przez śródbłonek oceniony przy pomocy LDF po jontoforezie acetylocholiną i nitroprusydkiem sodu oraz zmniejszenie rekrutacji kapilar w kapilaroskopii. W pracy tej zbadano

jednak tylko 15 chorych, spośród których 47% paliło, większość miała nadwagę, a choroba trwała średnio 10 lat. Należy jednak podkreślić, że autorzy wykazali poprawę funkcji śródbłonka po miesiącu leczenia TNFi, etanerceptem, która korelowała odwrotnie z wartościami OB, ale nie zidentyfikowali zależności pomiędzy BASDAI ani CRP a parametrami śródbłonka (93). Klimek et al. zbadali młodych pacjentów z RZS oraz ZZSK przy pomocy LDF i odnotowali dodatnią korelację między parametrami mikrokrążenia wskazującymi na dysfunkcję śródbłonka a wskaźnikami zapalnymi dla chorych na RZS i ZZSK. Zależność między aktywnością choroby a szczytową prędkością przepływu stwierdzili tylko dla RZS. W cytowanym badaniu 83% pacjentów było leczonych NLPZ, 20% GKS, żaden chory nie otrzymywał leczenia biologicznego, zaś 33% pacjentów paliła papierosy; pacjenci z RZS mieli średnio umiarkowaną aktywność choroby (DAS-28 4.5), a chorzy na ZZSK aktywną chorobę (BASDAI > 4) (24).

Rozbieżności w wynikach mogą wynikać z różnych metod stosowanych do oceny śródbłonka mikrokrążenia oraz heterogenności badanych populacji, w szczególności braku kontroli nad obecnością klasycznych czynników ryzyka sercowo-naczyniowego oraz rodzajem terapii prowadzonej u chorych. W niniejszym badaniu pacjenci nie byli obciążeni tradycyjnymi czynnikami ryzyka sercowo-naczyniowego, wpływ NLPZ i GKS został ograniczony do możliwego minimum, ponadto znaczny odsetek chorych był leczonych MTX oraz lekami biologicznymi. Wszystkie te czynniki mogły wpłynąć na to, że w tej populacji nie stwierdzono istotnych różnic między średnimi wartościami parametrów funkcji śródbłonka między chorymi na artropatie zapalne a zdrową grupą kontrolną. Wspomniane czynniki mogły też odegrać rolę wśród chorych, u których dysfunkcję odnotowano, w postaci braku zależności między wskaźnikami zapalnymi (OB i CRP, z drugiej strony odnotowano zależność między rzadziej wykorzystywanym, ale prostym w obliczeniu i zyskującym na znaczeniu Neu/Lymph R) oraz wskaźnikami aktywności choroby a funkcją śródbłonka naczyniowego. Tym niemniej zwraca uwagę fakt, że w podgrupie chorych na axSpA z niskimi BASDAI oraz ASDAS wykryto obniżony HR index, nawet pomimo niskiej aktywności choroby i młodego wieku oraz braku klasycznych czynników ryzyka. Sugeruje to obecność innych, nieznanych jeszcze mechanizmów mogących wpływać na dysfunkcję śródbłonka mikrokrążenia. Parametry mierzone przy pomocy BASDAI i ASDAS, jakkolwiek zwalidowane w praktyce reumatologicznej, ze względu na charakter mierzonych odchyleń mogą nie odzwierciedlać procesów patogenetycznych prowadzących do zaburzeń endotelialnych na poziomie mikrokrążenia.

Dysfunkcję śródbłonka w makro- i mikrokrążeniu można wykryć u młodych pacjentów z rozpoznanym RZS i axSpA o umiarkowanej aktywności bez czynników ryzyka sercowo-naczyniowego, ale tylko w określonej podgrupie i nie jest ona tak powszechna, jak sugerowały inne badania. Nasze wyniki odpowiadają ustaleniom Holmesa et al., którzy nie stwierdzili różnic w FMD między RZS i zdrowymi pacjentami oraz związku między CRP a obniżonym FMD (134). Ponadto w naszej pracy podgrupa pacjentów z artropatią zapalną i dysfunkcją śródbłonka głównych tętnic nie

cechowała się znamienne wyższą aktywnością w porównaniu grupą bez dysfunkcji śródbłonka, co jest zgodne z wynikami prac Vaudo i wsp. (27) oraz koresponduje z obserwacjami poczynionymi przez Herbrig i wsp. (13), w pracy których dysfunkcję śródbłonka wykryto u młodych pacjentów z RZS z niską aktywnością zapalną (ocenionym przy pomocy DAS, z nieznacznie podniesionymi wysokoczułym CRP i IL-6). Wyniki te sugerują, że mechanizmy prowadzące do dysfunkcji śródbłonka i jego późniejszych konsekwencji, w tym podwyższonego ryzyka sercowo-naczyniowego, wciąż pozostają niejasne i nie stanowią prostej pochodnej układowego stanu zapalnego oraz zapalenia toczonego się w samych stawach, mimo że wspomniane zjawiska niewątpliwie odgrywają ważną rolę, a skuteczne leczenie przeciwzapalne obniża ryzyko sercowo-naczyniowe. Osiągnięcie remisji oraz jej podtrzymanie jest konieczne, ale najpewniej niewystarczające dla zapobiegania dysfunkcji śródbłonka oraz odległym powikłaniom sercowo-naczyniowym.

Nasuwa się porównanie do *casusu* cukrzycy, w przypadku której kolejne badania (ADVANCE, ACCORD i VADT) wykazały, że dalsze obniżanie glikemii i osiąganie coraz bardziej rygorystycznych progów wyrównania cukrzycy, nie przekłada się na redukcję ryzyka sercowo-naczyniowego u pacjentów z długo trwającą cukrzycą typu drugiego. Wnioski z tych badań doprowadziły do poszukiwania innych mechanizmów przyczyniających się do przyspieszenia miażdżycy. Złożone wskaźniki aktywności choroby stosowane w codziennej praktyce reumatologicznej (DAS28, CDAI, SDAI, BASDAI, ASDAS) polegają także na subiektywnej ocenie dokonywanej przez pacjentów, takiej jak Visual Analogue Scale (VAS) czy zestaw pytań występujących w BASDAI. Ogólne samopoczucie, zmęczenie, punkty tkliwości lub poranna sztywność mogą nie być związane z dysfunkcją śródbłonka i mechanizmem, który ją napędza (choć będące pochodną ww. ograniczenie aktywności ruchowej może już bezpośrednio wpływać na czynność śródbłonka). Mimo że OB i CRP służą jako obiektywne biomarkery stanu zapalnego, nie odzwierciedlają one aktywacji wszystkich szlaków immunologicznych odgrywających rolę w artropatiach zapalnych, w tym zaangażowanych w dysfunkcję śródbłonka. We wzorze matematycznym pozwalającym na wyliczenie DAS28 ból stawów ma wagę dwa razy większą niż obrzęk stawów, mimo że późniejsze badania wykazały, że to ten ostatni był istotnie związany z ogólnoustrojową aktywnością choroby (to z kolei związane jest z problemem rezydualnego bólu utrzymującego się w artropatiach zapalnych, który niekiedy pozostaje po wygaszeniu mierzalnego stanu zapalnego, co jest przedmiotem osobnych dociekań). Progi aktywności choroby (wysoki >5,1, niski <3,2 i remisja <2,6) zostały pierwotnie potwierdzone za pomocą DAS28-OB, więc użycie tych samych progów dla DAS28-CRP może zaniżać resztkową aktywność choroby (135). Ponadto biomarkery stanu zapalnego wyrażane są logarytmicznie, co może prowadzić do przecenienia roli niższych wartości i niedoceniań wyższych, a także może przyczyniać się do tego, że wyniki DAS28-CRP są konsekwentnie niższe niż wartości DAS28-OB (136). Wspomniana resztkowa aktywność choroby jest obserwowana w podgrupie pacjentów, u których pomimo niskiej aktywności choroby lub

remisji ocenianej za pomocą DAS28 (w przypadku RZS) lub BASDAI (w przypadku axSpA) nadal występuje progresja radiograficzna wynikająca z subklinicznego stanu zapalnego (137) (138) (139), wciąż tłącego się, choć mniej uchwytne systemowo, lecz nadal potencjalnie wpływającego na wystąpienie dysfunkcji śródbłonna.

Powyższe kwestie są znane szerokiemu gronu reumatologów i poruszane, ilekroć kwestionuje się wartość informacji płynących z wyznaczania DAS28 oraz wiązania tej wielkości z innymi mierzonymi zmiennymi, co nieuchronnie ma miejsce przy próbach badania związków między aktywnością choroby a funkcją śródbłonna, miażdżycą i ryzykiem sercowo-naczyniowym. Hipoteza sugerująca, że pomimo pozytywnej odpowiedzi na leczenie, która pozwala na złagodzenie objawów i obniżenie aktywności choroby, subkliniczna aktywność choroby utrzymuje się i przyspiesza rozwój miażdżycy, może stanowić wyjaśnienie wyników niedawnego badania, które wykazało utrzymującą się zwiększoną częstość występowania zawału mięśnia sercowego w kohorcie pacjentów z RZS pomimo skutecznej kontroli aktywności choroby lekami biologicznymi z punktu widzenia reumatologicznego (26).

Zadowolająca kontrola choroby zapalnej stawów opiera się na uzyskaniu pożądaných wartości omówionych wcześniej złożonych wskaźników aktywności choroby, w tym utrzymywaniu niskiego stężenia wskaźników zapalnych (uwzględnianych w skalach DAS-28 dla RZS czy ASDAS dla axSpA). Istnieje wiele sprzeczności w wynikach badań dotyczących powiązań między stężeniami biomarkerów zapalnych a funkcją śródbłonna. W pewnych pracach przeprowadzonych z udziałem chorych na RZS wykazano korelację między stężeniem CRP i układowym zapaleniem a dysfunkcją śródbłonna głównych tętnic wyrażoną w FMD [%] (140), jak i dysfunkcją śródbłonna mikrokrążenia mierzoną przy pomocy LDF (141)(142). Nie zaobserwowano podobnych zależności u chorych na axSpA, ponadto, wśród chorych na RZS odnotowano także wyniki przeciwne, wskazujące na brak powiązań między układowym stanem zapalnym a funkcją śródbłonna makrokrążenia (143). Z kolei przytoczone wcześniej podsumowanie literatury na temat dysfunkcji śródbłonna mikrokrążenia w RZS wskazuje na brak korelacji między ww. a wskaźnikami aktywności choroby, czasem jej trwania oraz wartościami OB i CRP, co znajduje potwierdzenie również w wynikach niniejszej pracy.

Opieranie się jedynie na OB i CRP, jakkolwiek w codziennej praktyce często (choć na pewno nie zawsze) wystarczające, w przypadku oceny nasilenia układowego stanu zapalnego nie jest w pełni miarodajne u chorych na artropatie zapalne, z uwagi na fakt, że nawet 58% pacjentów z aktywnym RZS nie ma podniesionego ani OB ani CRP, 26% ma podniesione OB lub CRP, natomiast zaledwie 16% ma równocześnie podwyższone OB wraz z CRP (144). Wiadomo też, że stan zapalny może toczyć się w błonie maziowej stawów, co potwierdzono przy pomocy USG z oceną Power Doppler, przy utrzymującym się prawidłowym CRP (135). Nie wiadomo, jak toczące się (nieraz subklinicznie) zapalenie błony maziowej przy prawidłowych wskaźnikach systemowego stanu zapalnego, przekłada

się na stan zapalny prowadzący do dysfunkcji śródbłonna naczyniowego. Możliwe, że większą wartość predykcyjną dla przewidywania dysfunkcji śródbłonna wykażą inne wskaźniki zapalne lub analizy „omiczne”. W niniejszym badaniu nie oceniano stężeń poszczególnych cytokin czy surowiczego amyloidu A, zwraca jednak uwagę, że w modelu predykcyjnym dla FMD [%] w subpopulacji chorych na RZS, najlepiej sprawdził się parametr PLT/Lymph R, a zatem inny nieklasyczny, niepoznany jeszcze dobrze marker wiązany ze stanem zapalnym oraz stanami prozakrzepowymi (145).

W niniejszej pracy stwierdzono, że podgrupa chorych na zapalenie stawów (RZS lub axSpA) z podwyższonym CRP, cechowała się wyższymi wartościami FMD [%], zaś podgrupa z przyspieszonym OB, wyższymi wartościami maksymalnej szybkości ścinania oraz szybkości ścinania w 30. sekundzie. Wyniki te sugerują, że podgrupa młodych chorych na artropatie zapalne bez klasycznych czynników ryzyka sercowo-naczyniowego, u których utrzymuje się reakcja zapalna wyrażona wzrostem CRP i OB, cechuje się obecnością kompensacyjnej odpowiedzi naczyniowej w głównych tętnicach, a zatem silniejszej wazodylatacji i przekrwienia. Odnotowano także korelację między OB i CRP a FMD [%] oraz FMD [%] znormalizowanym na naprężenie ścinające (FMD/SS area to max). Silniejsze korelacje pomiędzy FMD [%] oraz FMD znormalizowanym na naprężenie ścinające i szybkość ścinania CRP wykryto w podgrupie chorych na RZS. Zidentyfikowane zależności sugerują, że w obecności stanu zapalnego bodziec dla ściany naczynia, a zatem właśnie naprężenie ścinające i szybkość ścinania, jest silniejszy, co powoduje bardziej wzmożony przepływ krwi, a w konsekwencji większą kompensacyjną odpowiedź ściany naczynia, mediowaną śródbłonkiem, wyrażoną w pomiarze wyższym FMD [%]. By w pełni uchwycić wczesną odpowiedź śródbłonna makrokrążenia na stan zapalny, należy zatem wykorzystać nie tylko tradycyjny pomiar FMD, lecz również ocenę SS i SR. Są to pierwsze tego rodzaju wyniki u chorych na dwie najczęstsze artropatie zapalne, gdyż w dotychczasowych w badaniach z użyciem FMD nie analizowano szczegółowych parametrów odpowiedzi naczyniowej, w tym normalizacji na szybkość ścinania i naprężenie ścinające. Z obserwacji przeprowadzonych w innych grupach wynika jednak, że zmierzone podczas FMD naprężenie ścinające w czasie reaktywnego przekrwienia oraz prędkość krwi w czasie reaktywnego przekrwienia mają silniejszy, niezależny związek z czynnikami ryzyka sercowo-naczyniowego niż samo FMD [%], w tym z wiekiem, ciśnieniem tętniczym i stężeniem LDL (146). Z kolei w badaniu kohortowym ponad 1500 mężczyzn, średnio 49-letnich, stwierdzono, że to właśnie prędkość krwi w czasie reaktywnego przekrwienia, a więc bodziec dla rozszerzenia tętnicy (czyli dla FMD), stanowił istotny czynnik ryzyka sercowo naczyniowego, addytywny wobec czynników klasycznych oraz wpływający na ryzyko obliczone według skali Framingham (147).

Proponowane wyjaśnienie otrzymanych wyników brzmi następująco: przedłużająca się reakcja kompensacyjna ostatecznie powoduje uwrażliwienie śródbłonna na wpływ klasycznych

czynników ryzyka sercowo-naczyniowego, prowadząc w rezultacie do deterioracji funkcjonalnej i strukturalnej komórek endotelium na przestrzeni czasu, podczas którego nieuchronnie dochodzi do kumulacji kolejnych czynników ryzyka sercowo-naczyniowego. Sama aktywacja śródbłonna, np. na skutek stanu zapalnego, nie stanowi patologii, o ile działanie czynnika uszkadzającego ustaje z czasem, a śródbłonek zyskuje szansę na powrót do pierwotnego fenotypu, co z kolei rzadziej ma miejsce w przewlekłych chorobach zapalnych, zwłaszcza z towarzyszącą dysfunkcją immunologiczną, jak w chorobach autoimmunizacyjnych, przez co zwiększeniu ulega podatność na oddziaływanie standardowych czynników ryzyka sercowo-naczyniowego (148). Mogą one jednak odgrywać rolę jeszcze na etapie przedklinicznym miażdżycy, a ostatecznie, po tym jak stan zapalny zadał „pierwszy cios” śródbłonkowi, zacząć przeważać i wywierać proporcjonalnie coraz większy wpływ na dysfunkcję śródbłonna głównych tętnic oraz pojawienie się przedklinicznych cech miażdżycy. Takie wnioski płyną z prac dotyczących chorych na RZS autorstwa Sandoo et al. (149) oraz chorych na axSpA przeprowadzonych przez Ben Takayę et al. (3). Korepondują one z wynikami prezentowanych badań, w których ponownie klasyczny czynnik ryzyka sercowo-naczyniowego, czyli hipercholesterolemia, znów odegrał istotną rolę, pomimo niewymagających jeszcze bezwzględnie terapii wartości TC i LDL. Podgrupa chorych na RZS i axSpA, u których stwierdzono FMD < 7%, cechowała się jednocześnie podwyższonymi średnimi stężeniami TC oraz LDL, pomimo że średnio pozostawały one w zakresie wartości prawidłowych dla tej subpopulacji, biorąc pod uwagę wiek oraz brak innych klasycznych czynników ryzyka sercowo-naczyniowego. Pacjenci nie mieli dotychczas rozpoznanej hipercholesterolemii. Spośród całej zbadanej populacji z artropatiami zapalnymi, 27% miało LDL > 3.0 mmol/L, ale mniejszy niż 4.7 mmol/L. Chorzy z tej grupy standardowo otrzymaliby zalecenia dotyczące nefarmakologicznego postępowania w leczeniu podwyższonego stężenia cholesterolu (i dopiero w razie niepowodzenia farmakoterapię), podczas gdy dysfunkcja śródbłonna głównych tętnic była u nich już wykrywalna. Wyniki te wskazują na konieczność bardziej wnikliwego monitorowania lipidogramu u młodych osób chorych na artropatie zapalne pomimo nieobecności innych klasycznych czynników ryzyka sercowo-naczyniowego i dostosowania docelowych przedziałów terapeutycznych, podobnie jak uczyniono to u chorych na cukrzycę.

W prezentowanym badaniu zaobserwowano spadek maksymalnej szybkości ścinania u pacjentów, u których stężenie LDL było wyższe niż 3.0 mmol/l. Może to sugerować progowe stężenie LDL, przy którym wyczerpują się możliwości kompensacyjne śródbłonna. Omawiając powiązania między stężeniami TC lub lipoprotein u osób chorych na artropatie zapalne, nie sposób nie wspomnieć o kwestii paradoksu lipidowego, szczególnie wyrażonego u pacjentów cierpiących na RZS, w przypadku których większe nasilenie układowego procesu zapalnego jest odwrotnie proporcjonalne do stężeń cholesterolu i lipoprotein (95) (150), zaś niższe stężenia LDL wiążą się z większym stopniem uwapnienia tętnic wieńcowych (151). W porównaniu z pracami, w których odnotowano wspomniane nieprawidłowości, populacja objęta przedstawianymi badaniami była jednak młodsza i wolna od

klasycznych czynników ryzyka sercowo-naczyniowego, można więc założyć, że w tej grupie chorych nie doszło jeszcze do istotnego zwapnienia w tętnicach wieńcowych. Ponadto, co szczególnie istotne, badana grupa chorych charakteryzowała się średnio umiarkowaną aktywnością choroby, co pozwoliło ograniczyć nasilenie paradoksu lipidowego i wierniej oddać rzeczywiste stężenia frakcji lipidowych występujące u tych chorych, zmienione w mniejszym stopniu przez wpływ stanu zapalnego. Występowanie paradoksu lipidowego, najlepiej opisanego w przypadku RZS, utrudnia ustalenie odpowiedniego progu dla interwencji farmakologicznej w przypadku hipercholesterolemii towarzyszącej przewlekłej artropatii zapalnej. Z drugiej strony należy pamiętać o niewystarczającym rozpoznawaniu hipercholesterolemii (oraz nadciśnienia tętniczego) u chorych na RZS (152) oraz o nieprawidłowościach lipidogramu wpisanych w daną chorobę, jak niższe stężenie HDL u chorych na ZZSK (153), zaobserwowane również w prezentowanych badaniach. Niesatysfakcjonujące rozpoznawanie oraz korygowanie klasycznych czynników ryzyka sercowo-naczyniowego nabiera nowego wymiaru w kontekście wyników niniejszego badania, a zatem stwierdzenia wyższych stężeń TC oraz LDL u chorych z dysfunkcją śródbłonna makrokrążenia, oraz w świetle rezultatów pracy, w której ściśle kontrolowanie tradycyjnych czynników ryzyka sercowo-naczyniowego przełożyło się na poprawę rokowania pacjentów (154).

W przypadku podgrupy chorych na RZS różnice kliniczne zauważalne były już w przypadku punktu odcięcia 2.5 mmol/L dla LDL – pacjenci ze stężeniem wyższym niż 2.5 mmol/L byli starsi, krócej leczeni MTX oraz cechowali się krótszym okresem wolnym od stosowania NLPZ. Wprawdzie sposób zaprojektowania badania nie pozwala na wyciągnięcie mocnych wniosków na temat wpływu leczenia na funkcję śródbłonna, tym niemniej wspomniany wynik koresponduje z rezultatami innych prac, wskazujących na ochronny wpływ MTX na ryzyko sercowo-naczyniowe oraz poprawę profilu metabolicznego. Jedyne różnice dotyczące wyników RHI uzyskanych w pomiarze PAT, dotyczą właśnie danych odnoszących się do sposobu leczenia. Niższe RHI stwierdzono w grupie pacjentów leczonych MTX, ale nieleczonych NLPZ, należy jednak podkreślić, że wartości RHI nadal pozostawały w granicach prawidłowych, dlatego też wyniki te należy jednak interpretować ostrożnie. NLPZ były dotychczas wiązane w przeważającej mierze z negatywnym oddziaływaniem na śródbłonek, chociaż ostatnie prace sugerują, że w przypadku chorych na axSpA, wpływ tej grupy leków na układ sercowo-naczyniowy jest neutralny (117)(155).

6. Wnioski

1. Młodzi pacjenci z RZS i axSpA bez klasycznych czynników ryzyka sercowo-naczyniowego z umiarkowaną aktywnością choroby zachowali nienaruszoną funkcję śródbłonna makro- i mikronaczyniowego w porównaniu ze zdrowymi osobami z grupy kontrolnej.
2. W podgrupie pacjentów z wyższymi stężeniami TC i LDL, choć nadal pozostającymi w zakresie wartości niewymagających interwencji farmakologicznej dla populacji o tej charakterystyce, wykryto dysfunkcję śródbłonna głównych tętnic, co sugeruje permisywną rolę subklinicznych zaburzeń lipidowych w rozwoju dysfunkcji śródbłonna.
3. W podgrupie pacjentów z podwyższonym CRP i OB wykryto wyższe parametry FMD [%], wyższe wartości naprężenia ścinającego oraz szybkości ścinania, co sugeruje wczesną kompensacyjną odpowiedź śródbłonna na ogólnoustrojowe zapalenie u młodych pacjentów z RZS i axSpA, jednak żaden z tych efektów nie był związany z aktywnością choroby. W podgrupie pacjentów z axSpA dysfunkcję śródbłonna mikrokrążenia wykryto również w FMFS i ponownie nie można jej było powiązać z wyższą aktywnością choroby wyrażoną jako BASDAI lub ASDAS.
4. Nie wykryto zależności pomiędzy innymi parametrami klinicznymi i laboratoryjnymi, a w szczególności między stężeniami biomarkerów zapalnych, czasem trwania choroby, sposobem leczenia oraz aktywnością choroby mierzoną przy pomocy złożonych wskaźników aktywności choroby wykorzystywanych w praktyce reumatologicznej a parametrami funkcji śródbłonna.
5. Połączone metody oceny funkcji śródbłonna obejmujące normalizację na szybkość ścinania i naprężenia ścinające dostarczają bardziej szczegółowych informacji na temat heterogennej podatności na rozwój dysfunkcji śródbłonna u młodych pacjentów z zapalnymi chorobami reumatycznymi i pozwalają wychwycić pacjentów na różnym etapie procesów patologicznych prowadzących do jej utrwalenia.
6. Obecność dysfunkcji śródbłonna głównych tętnic w kontekście podwyższonego TC i LDL u młodych pacjentów chorych na RZS i axSpA wskazuje na potrzebę weryfikacji norm profilu lipidowego u pacjentów z artropatiami zapalnymi wykazujących zwiększone ryzyko sercowo-naczyniowe, podobnie jak uczyniono to w przypadku cukrzycy.

7. Streszczenie

Wstęp

Reumatoidalne zapalenie stawów (RZS) jest autoimmunizacyjną ogólnoustrojową chorobą zajmującą przede wszystkim stawy maziówkowe. Jest to najczęstsza przewlekła artropatia zapalna u ludzi, która prowadzi do niepełnosprawności i przedwczesnej śmierci. Pacjenci z RZS żyją średnio o 7 lat krócej niż populacja ogólna, a najważniejszą przyczyną zgonów w tej grupie są zdarzenia sercowo-naczyniowe. U chorych na RZS ryzyko sercowo-naczyniowe jest o 50% wyższe niż w populacji ogólnej, co stanowi niezależny czynnik ryzyka o istotności porównywalnej z cukrzycą. Dysfunkcja śródbłonna odgrywa kluczową rolę w patogenezie miażdżycy, która może występować już w pierwszych latach trwania RZS. Klasyczne kalkulatory stosowane do oceny ryzyka sercowo-naczyniowego nie dają wiarygodnych wyników u chorych na RZS. Osiowe spondyloartropatie (axSpA), czyli przede wszystkim zeszytniające zapalenie stawów kręgosłupa (ZZSK) i nieradiograficzna osiowa spondyloartropatia (nr-axSpA) to choroby zapalne atakujące głównie stawy krzyżowo-biodrowe i stawy kręgosłupa. Pacjenci z axSpA również są obciążeni większą współchorobowością sercowo-naczyniową w porównaniu z populacją ogólną, co można wytłumaczyć przyspieszoną miażdżycą tętnic i dysfunkcją śródbłonna stwierdzaną w tej podgrupie pacjentów. Dane dotyczące rozpowszechnienia i czynników ryzyka dysfunkcji śródbłonna w RZS i axSpA są jednak sprzeczne. Nadal nie wiadomo, dlaczego istnieją zarówno młodzi pacjenci z trwającym raczej krótko RZS, którzy mogą wykazywać dysfunkcję śródbłonna, jak i starsi pacjenci z wieloletnią chorobą, u których zaburzeń endotelium się nie stwierdza. Klasyczne czynniki ryzyka sercowo-naczyniowego nie wyjaśniają całkowicie obecności dysfunkcji śródbłonna u chorych na RZS i axSpA, ale w niektórych badaniach nie wykluczano pacjentów z tymi czynnikami - w konsekwencji część dotychczasowych prac mogła wykazać dysfunkcję śródbłonna spowodowaną tradycyjnymi czynnikami ryzyka sercowo-naczyniowego, a nie tylko samą chorobą zapalną. W szczególności pozostaje niewyjaśnione, w jakim stopniu dysfunkcja śródbłonna jest spowodowana specyficznym obciążeniem zapalnym związanym z przewlekłymi artropatiami zapalnymi lub chorobami współistniejącymi, o których wiadomo, że stanowią ryzyko sercowo-naczyniowe. Wątpliwości te wynikają ze sposobu projektowania wcześniejszych badań poświęconych dysfunkcji śródbłonna u pacjentów z zapalnymi chorobami reumatycznymi, które często obejmowały heterogenne grupy pacjentów, w różnym wieku, o różnym czasie trwania choroby oraz nieuwzględniające wpływu leków nieobojętnych dla śródbłonna, takich jak glikokortykosteroidy i niesteroidowe leki przeciwzapalne.

Cele badania

Celem pracy było sprawdzenie czy młodzi chorzy na RZS i axSpA ściśle kontrolowani pod kątem braku klasycznych czynników ryzyka sercowo-naczyniowego przy stosunkowo krótkim czasie

trwania choroby, skutecznym leczeniu i przeważnie umiarkowanej aktywności choroby będą wykazywać dysfunkcję śródbłonka oraz odpowiedzieć na pytanie, jakie czynniki przyczyniają się do jej ewentualnego wystąpienia, z naciskiem na dane kliniczne, laboratoryjne i terapeutyczne.

Metodyka

Przeprowadzono badanie kliniczno-kontrolne 129 młodych (18-50 lat) pacjentów z artropatiami zapalnymi (64 z RZS, 65 z axSpA) bez klasycznych czynników ryzyka sercowo-naczyniowego (czyli bez nadciśnienia tętniczego, cukrzycy, hiperlipidemii, wywiadu palenia tytoniu, otyłości, dodatniego wywiadu rodzinnego w kierunku przedwczesne miażdżycy) oraz 60 osób zdrowych, dobranych pod względem wieku i płci. Uwzględniono leczenie mające wpływ na śródbłonek (niesteroidowe leki przeciwzapalne i glikokortykosteroidy). Pacjenci z RZS i axSpA byli leczeni zgodnie z międzynarodowymi zaleceniami i rutynowo monitorowani w warunkach ambulatoryjnych. Uzyskano komplet danych klinicznych i laboratoryjnych. Czynność śródbłonka makrokrążenia oceniano w tętnicy ramiennej za pomocą Flow-Mediated Dilation (FMD), podczas gdy funkcję śródbłonka mikronaczyniowego oceniano za pomocą tonometrii tętnic obwodowych (PAT) (PAT, Endo-PAT®, wyrażony jako Reactive Hyperemia Index [RHI]) oraz laserowego pomiaru funkcji śródbłonka mikrokrążenia skóry przy pomocy metody Flow-Mediated Skin Fluorescence (FMSF). Do kompleksowej oceny ilościowej odpowiedzi czynnościowej śródbłonka przy pomocy metod FMD, PAT i FMSF wykorzystano wiele parametrów, które zestawiono z danymi klinicznymi.

Wyniki

Średni (SD) wiek pacjentów wynosił 35 (9) lat, średni czas trwania choroby 6,97 (6,37) lat, a średnia aktywność choroby była umiarkowana lub niska: DAS28-OB 3,53 (1,5), DAS28-CRP 3,3 (3,2), BASDAI 3,5 (2,1), ASDAS 1,98 (0,96). FMD [%], RHI ani wskaźnik HR nie różniły się istotnie u pacjentów z RZS i axSpA w porównaniu z grupą kontrolną osób zdrowych. Pozostałe parametry charakteryzujące FMD, PAT czy FMSF (np. Time to FMD Peak, Shear Stress, Shear Rate, Hypoxia Sensitivity, Power Spectral Density Ratio) również nie uległy zmianie. Jednak u 54 pacjentów z artropatiami zapalnymi (RZS i axSpA), u których stwierdzono dysfunkcję śródbłonka głównych tętnic (FMD < 7%), wykryto wyższy poziom cholesterolu całkowitego (TC), 4,86 (0,79) mmol/l, i wyższe stężenie lipoprotein o małej gęstości (LDL), 2,85 (0,79) mmol/L. Z kolei podgrupa z wyższym białkiem C-reaktywnym (CRP >2 mg/l) miała wyższy FMD [%] niż podgrupa z wartością odcięcia CRP niższą niż 2 mg/l (FMD 9,52 ((4,25)) vs 7,64 ((4,63)), p=0,03). W przeciwieństwie do FMD ani PAT (parametr RHI) ani FMSF (parametr HR index) nie różnicowały pacjentów z wyższym i niższym poziomem cholesterolu lub CRP. HR index był niższy w podgrupie pacjentów z axSpA o mniejszej aktywności choroby (odpowiednio BASDAI 1,74((0,4)) i ASDAS 1,1 ((0,25)), p=0,001). Nie wykryto jednak różnic w parametrach śródbłonka pomiędzy podgrupami axSpA, czyli ZZSK i nr-axSpA.

Wnioski

Badanie to wykazało, że młodzi pacjenci z RZS i axSpA bez klasycznych czynników ryzyka sercowo-naczyniowego z przeciętnie umiarkowaną aktywnością choroby w znacznym stopniu zachowali prawidłową funkcję śródbłonna makro- i mikronaczyniowego w porównaniu ze zdrowymi osobami z grupy kontrolnej. Aktywność choroby, czas trwania choroby, sposób leczenia, obecność przeciwciał specyficznych dla RZS czy też podtyp axSpA (ZZSK lub nr-axSpA) nie były związane z funkcją śródbłonna.

Jednak w podgrupie pacjentów z wyższym TC i LDL, ale nadal w zakresie wartości niewymagających interwencji farmakologicznej, wykryto dysfunkcję śródbłonna w głównych tętnicach, co sugeruje permissywną rolę subklinicznych zaburzeń lipidowych w rozwoju dysfunkcji śródbłonna. Ponadto w podgrupie pacjentów z podwyższonym CRP i OB wykryto wyższe parametry FMD [%] i Shear Rate (szybkość ścinania), co sugeruje wczesną kompensacyjną odpowiedź śródbłonna na ogólnoustrojowe zapalenie u młodych pacjentów z RZS i axSpA. Żadne z tych zjawisk nie było jednak związane z aktywnością choroby. W podgrupie pacjentów z axSpA dysfunkcję śródbłonna mikrokrażenia wykryto również metodą FMFS i również w tym przypadku nie można było jej powiązać z wyższą aktywnością choroby wyrażoną jako BASDAI lub ASDAS.

Podsumowując, wyniki przeprowadzonego badania wskazują, że połączone metody oceny śródbłonna z uwzględnieniem normalizacji na szybkość ścinania i naprężenie ścinające dostarczają szczegółowych informacji na temat heterogennej podatności na rozwój dysfunkcji śródbłonna u młodych pacjentów z zapalnymi chorobami reumatycznymi, to zaś wskazuje na potrzebę bardziej zindywidualizowanej oceny ryzyka sercowo-naczyniowego, najlepiej z uwzględnieniem pomiarów funkcji śródbłonna (ang. endothelium-guided). Ponadto, obecność dysfunkcji śródbłonna głównych tętnic w kontekście podwyższonego TC i LDL u młodych, poza tym nieobciążonych pacjentów z RZS i axSpA, wymaga weryfikacji norm lipidogramu i dostosowania ich do pacjentów z artropatiami zapalnymi, podobnie jak uczyniono to dla pacjentów z cukrzycą.

8. Summary

Introduction

Rheumatoid arthritis (RA) is an autoimmune systemic inflammatory disease that manifests mainly in the synovial joints. It is the most common autoimmune arthritis in humans that leads to disability and premature death. Patients with RA live on average 7 years less than the general population and the single largest cause of mortality in this group are cardiovascular events. In RA patients, cardiovascular risk is 50% higher than in the general population, which makes it an independent risk factor of relevance comparable to diabetes mellitus. Endothelial dysfunction plays a key role in the pathogenesis of atherosclerosis, which can be present even during the first years of the disease. Classic calculators used to assess cardiovascular risk do not provide reliable results in patients with RA. Axial spondyloarthritis (axSpA) is an umbrella term for the group of inflammatory spondyloarthropathies that affect the sacroiliac and spinal joints with ankylosing spondylitis (AS) and non-radiographic axial spondyloarthritis (nr-axSpA) as its two main subtypes. AxSpA patients also have higher rates of cardiovascular comorbidity compared to the general population and an increased risk of cardiovascular events explained by the accelerated atherosclerosis and endothelial dysfunction found in this subset of patients. However, there are conflicting data on the prevalence and risk factors for endothelial dysfunction in RA and axSpA. It is still unknown why there are young patients with short-duration rheumatoid arthritis who have microvascular endothelial dysfunction and older patients with long-term disease who do not. Classical cardiovascular risk factors (i.e. older age, smoking, hypertension, dyslipidaemia, diabetes) do not completely explain the presence of endothelial dysfunction in patients with RA and axSpA, but there is research that did not exclude patients with those factors. As a consequence, certain studies could identify endothelial dysfunction caused by traditional cardiovascular risk factors and not only RA or axSpA itself. The results of the studies suggest that neither the duration nor activity of the disease is sufficient, however, in specific cases it might be necessary to induce endothelial dysfunction. In particular, it remains unexplained to what extent endothelial dysfunction is due to a specific inflammatory burden linked to chronic inflammatory arthropathies or to comorbidities known to represent cardiovascular risk. These uncertainties are related to the design of previous studies detecting endothelial dysfunction in patients with inflammatory rheumatic diseases, which often involved heterogeneous groups, long-term pathophysiological progression, and the use of drugs that can affect the endothelium, such as glucocorticoids and non-steroid anti-inflammatory drugs.

Research objectives

The aim of this study, was to verify whether young patients with RA and axSpA strictly controlled for not having classical cardiovascular risk factors with relatively short duration of disease, effective treatment and mostly moderate disease activity, would show endothelial dysfunction and to answer the question what are the factors contributing to their potential occurrence, with a focus on clinical, laboratory and therapeutic data.

Methods

This was a case-control study conducted in 129 young (18-50 years old) patients with inflammatory arthropathies (64 with RA, 65 with axSpA) without classical cardiovascular risk factors (hypertension, diabetes, hyperlipidemia, smoking, obesity, family history of cardiovascular diseases) treated according to the international recommendations and 60 age and sex-matched healthy controls adjusted for treatment confounders (nonsteroidal anti-inflammatory drugs and glucocorticoids). Patients with RA and axSpA were treated according to international recommendations and routinely monitored in the outpatient clinic. We obtained a complete set of clinical data and laboratory tests. Macrovascular endothelial function was evaluated in brachial artery by Flow Mediated Dilation (FMD), while microvascular endothelial function was assessed with Peripheral Arterial Tonometry (PAT, Endo-PAT®, expressed as Reactive Hyperemia Index [RHI]) and Flow-Mediated Skin Fluorescence (FMSF). Multiple parameters were used to comprehensively quantify functional endothelial responses in FMD, PAT, and FMSF.

Results

The mean (SD) age of the patients was 35 (9) years, the mean duration of the disease was 6.97 (6.37) years and average disease activity was moderate or low: DAS28-ESR 3.53 (1.5), DAS28-CRP 3.3 (3.2), BASDAI 3.5 (2.1), ASDAS 1.98 (0.96). FMD [%], RHI, or HR index were neither altered in patients with RA and axSpA compared to the healthy control group. Other parameters characterizing FMD, PAT or FMSF (e.g., Time to FMD Peak, Shear Stress, Shear Rate, Hypoxia Sensitivity, Power Spectral Density Ratio) were also not changed. However, in 54 patients with inflammatory arthropathies (RA and axSpA) who had endothelial dysfunction of conduit arteries (FMD < 7%), higher total cholesterol (TC) levels were detected, 4.86 (0.79) mmol/l, and higher low-density lipoprotein (LDL) concentration, 2.85 (0.79) mmol/L. On the contrary, the subgroup with higher C-reactive protein (CRP >2 mg/L) had higher FMD [%] than the subgroup with a cut-off value of CRP lower than 2 mg/L (FMD 9.52 ((4.25)) vs 7.64 ((4.63)), p=0.03). In contrast to FMD, neither PAT (RHI) nor FMSF (HR index) discriminated patients with higher and lower cholesterol or CRP. Interestingly, the HR index was lower in a subset of patients with axSpA with lower disease activity

(BASDAI 1.74((0.4)) and ASDAS 1.1 ((0.25)), $p=0.001$ respectively). However, no differences were detected in the comparison of subgroups of axSpA (AS and nr-axSpA).

Conclusions

This study found that young patients with RA and axSpA without classical cardiovascular risk factors with moderate disease activity have largely preserved macro- and microvascular endothelial function compared to healthy controls. Disease activity, duration of the disease, mode of therapy, presence of RA-specific antibodies or subtype of axSpA (AS or nr-axSpA) were not related to endothelial function.

However, in a subset of patients with higher TC and LDL, but still within the range that would not require pharmacological intervention, endothelial dysfunction was detected in the conduit artery, suggesting a permissive role of subclinical lipid disturbances in the development of endothelial dysfunction. Furthermore, in the subset of patients with elevated CRP and ESR, higher parameters of FMD [%] and shear rate were detected, suggesting an early endothelial compensatory response to systemic inflammation in young patients with RA and axSpA. However, neither effect was related to disease activity. In a subset of patients with axSpA, microvascular endothelial dysfunction was also detected in FMFS and again could not be related to the increased disease activity expressed as BASDAI or ASDAS.

Taken together, these results show that combined endothelial assessment methods that include shear rate correction provide detailed information on heterogeneous susceptibility to the development of endothelial dysfunction in young patients with inflammatory rheumatic diseases, indicating the need for an individualized endothelial-guided risk assessment. Importantly, the presence of macrovascular endothelial dysfunction in the context of increased TC and LDL in young otherwise healthy patients with RA and axSpA calls for a reevaluation of the lipid profile norms in patients with inflammatory arthropathies that show an increased cardiovascular risk, similar to what was done for diabetic patients.

9. Spis rycin

Rycina 1 Przygotowanie pacjenta do badania funkcji śródbłónka jednocześnie metodą FMD i PAT (zdjęcie własne, uzyskano zgodę pacjenta na opublikowanie).....	33
Rycina 2 FMSF: metoda pomiaru funkcji śródbłónka mikrokrążenia skóry oparta o analizę zmian sygnału fluorescencji NADH emitowanego przez komórki naskórka przedramienia w reakcji na niedokrwienie indukowane okluzją.....	35
Rycina 3 Porównanie wyników pomiarów funkcji śródbłónka w zależności od aktywności choroby u chorych na artropatie zapalne.....	44
Rycina 4 Maksymalna szybkość ścinania w zależności od interwału stężenia LDL w grupie chorych na artropatie zapalne.	58
Rycina 5 Porównanie wartości FMD [%] w zależności od progowych wartości wskaźników zapalnych w grupie chorych na artropatie zapalne.....	59
Rycina 6 Porównanie wartości FMD [%], maksymalnej szybkości ścinania (SR max) oraz szybkości ścinania w 30 sekundzie (SR 30 sec) w zależności od progowych wartości wskaźników zapalnych w grupie chorych na artropatie zapalne.....	60
Rycina 7 Porównanie wartości pola powierzchni wykresów dla poszczególnych szybkości ścinania między chorymi z dysfunkcją oraz bez dysfunkcji śródbłónka makrokrążenia.	61
Rycina 8 Porównanie FMD [%] oraz FMD [%] znormalizowanych na szybkość ścinania i naprężenie ścinające w zależności obecności lub braku wykładników stanu zapalnego u chorych na artropatie zapalne.....	62

10. Spis tabel

Tabela 1 Podsumowanie funkcji śródbłonka.....	12
Tabela 2 Złożone wskaźniki aktywności choroby wykorzystywane w monitorowaniu RZS.	30
Tabela 3 Złożone wskaźniki aktywności choroby wykorzystywane w monitorowaniu axSpA.....	31
Tabela 4 Charakterystyka ogólna oraz laboratoryjna badanych grup.	38
Tabela 5 Charakterystyka kliniczna pacjentów z RZS i axSpA.....	40
Tabela 6 Porównanie wyników pomiarów funkcji śródbłonka między badanymi grupami.	43
Tabela 7 Wyniki pomiarów funkcji śródbłonka chorych na artropatie zapalne w zależności od płci. .	45
Tabela 8 Wyniki pomiarów funkcji śródbłonka chorych na artropatie zapalne w zależności od leczenia metotreksatem.	45
Tabela 9 Wyniki pomiarów funkcji śródbłonka chorych na artropatie zapalne w zależności od leczenia biologicznego.	46
Tabela 10 Wyniki pomiarów funkcji śródbłonka chorych na RZS w zależności od rodzaju stosowanego leczenia biologicznego.....	46
Tabela 11 Wyniki pomiarów funkcji śródbłonka chorych na axSpA w zależności od rodzaju stosowanego leczenia biologicznego.....	47
Tabela 12 Wyniki pomiarów funkcji śródbłonka chorych na artropatie zapalne w zależności od bieżącego stosowania NLPZ.	47
Tabela 13 Wyniki pomiarów funkcji śródbłonka chorych na artropatie zapalne w zależności od typu stosowanego NLPZ.	48
Tabela 14 Wyniki pomiarów funkcji śródbłonka chorych na axSpA w zależności od sposobu leczenia NLPZ.....	48
Tabela 15 Wyniki pomiarów funkcji śródbłonka chorych na axSpA w zależności od obecności manifestacji obwodowej.....	49
Tabela 16 Porównanie wyników pomiarów funkcji śródbłonka, wyników badań laboratoryjnych oraz cech klinicznych pomiędzy podgrupami axSpA.	49

Tabela 17 Porównanie wyników pomiarów funkcji śródbłonka chorych na RZS w zależności od podtypu serologicznego.....	50
Tabela 18 Porównanie najważniejszych cech klinicznych i laboratoryjnych chorych na artropatie zapalne w zależności od obecności dysfunkcji śródbłonka makrokrażenia.	51
Tabela 19 Porównanie najważniejszych cech klinicznych i laboratoryjnych chorych na artropatie zapalne w zależności od wyniku pomiaru PAT.....	52
Tabela 20 Porównanie najważniejszych cech klinicznych i laboratoryjnych chorych na artropatie zapalne w zależności od wyniku pomiaru FMSF.....	53
Tabela 21 Porównanie najważniejszych cech klinicznych i laboratoryjnych chorych na RZS w zależności od obecności dysfunkcji śródbłonka makrokrażenia.	54
Tabela 22 Porównanie najważniejszych cech klinicznych i laboratoryjnych chorych na RZS w zależności od wyniku pomiaru PAT.....	55
Tabela 23 Porównanie najważniejszych cech klinicznych i laboratoryjnych chorych na RZS w zależności od wyniku pomiaru FMSF.....	56
Tabela 24 Porównanie wskaźników aktywności u chorych na axSpA w zależności od obecności dysfunkcji śródbłonka makrokrażenia.....	56
Tabela 25 Porównanie wskaźników aktywności u chorych na axSpA w zależności od wyniku pomiaru PAT.	57
Tabela 26 Porównanie wskaźników aktywności u chorych na axSpA w zależności od wyniku pomiaru FMSF.....	57
Tabela 27 Istotne cechy różniące chorych z RZS w zależności od stężenia LDL.	63
Tabela 28 Wyniki analizy korelacji pomiędzy cechami klinicznymi a wynikami pomiarów funkcji śródbłonka w grupie chorych na artropatie zapalne.	63
Tabela 29 Wyniki subanalizy korelacji pomiędzy wskaźnikami zapalnymi a parametrami śródbłonka makrokrażenia znormalizowanymi na szybkość ścinania i naprężenie ścinające dla chorych na RZS. 65	
Tabela 30 Czynniki predykcyjne dla stwierdzenia dysfunkcji śródbłonka przy pomocy poszczególnych metod pomiarowych u chorych na RZS.	66
Tabela 31 Czynniki predykcyjne dla stwierdzenia dysfunkcji śródbłonka przy pomocy poszczególnych metod pomiarowych u chorych na axSpA.....	67

11. Piśmiennictwo

1. Avina-Zubieta JA, Thomas J, Sadatsafavi M, Lehman AJ, Lacaille D. Risk of incident cardiovascular events in patients with rheumatoid arthritis: a meta-analysis of observational studies. *Ann Rheum Dis*. 2012 Sep;71(9):1524–9.
2. Gonzalez-Gay MA, Gonzalez-Juanatey C, Vazquez-Rodriguez TR, Martin J, Llorca J. Endothelial Dysfunction, Carotid Intima-Media Thickness, and Accelerated Atherosclerosis in Rheumatoid Arthritis. *Semin Arthritis Rheum*. 2008 Oct 1;38(2):67–70.
3. Ben Tekaya A, Boukriba S, Fendri A, Rouached L, Saidane O, Bouden S, et al. Endothelial dysfunction and increased carotid intima-media thickness in patients with spondyloarthritis without traditional cardiovascular risk factors. *RMD Open*. 2022 Jul;8(2): e002270.
4. Agca R, Hopman LHGA, Laan KJC, Van Halm VP, Peters MJL, Smulders YM, et al. Cardiovascular Event Risk in Rheumatoid Arthritis Compared with Type 2 Diabetes: A 15-year Longitudinal Study. *J Rheumatol*. 2020 Mar;47(3):316–24.
5. Arts EEA, Popa C, Den Broeder AA, Semb AG, Toms T, Kitas GD, et al. Performance of four current risk algorithms in predicting cardiovascular events in patients with early rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis*. 2015 Apr;74(4):668–74.
6. Agca R, Heslinga SC, Rollefstad S, Heslinga M, McInnes IB, Peters MJL, et al. EULAR recommendations for cardiovascular disease risk management in patients with rheumatoid arthritis and other forms of inflammatory joint disorders: 2015/2016 update. *Ann Rheum Dis*. 2017 Jan;76(1):17–28.
7. Daiber A, Chlopicki S. Revisiting pharmacology of oxidative stress and endothelial dysfunction in cardiovascular disease: Evidence for redox-based therapies. *Free Radic Biol Med*. 2020 Sep; 157:15–37.
8. Ross R. Atherosclerosis — An Inflammatory Disease. *N Engl J Med*. 1999 Jan 14;340(2):115–26.
9. Shoenfeld Y, Gerli R, Doria A, Matsuura E, Cerinic MM, Ronda N, et al. Accelerated atherosclerosis in autoimmune rheumatic diseases. *Circulation*. 2005 Nov 22;112(21):3337–47.
10. Prati C, Demougeot C, Guillot X, Godfrin-Valnet M, Wendling D. Endothelial dysfunction in joint disease. *Joint Bone Spine*. 2014 Oct;81(5):386–91.
11. Łosińska K, Korkosz M, Kwaśny-Krochin B. Endothelial dysfunction in patients with ankylosing spondylitis. *Rheumatology*. 2019 Apr 29;57(2):100–5.
12. Gwinnutt JM, Verstappen SM, Humphreys JH. The impact of lifestyle behaviours, physical activity and smoking on morbidity and mortality in patients with rheumatoid arthritis. *Best Pract Res Clin Rheumatol*. 2020 Apr;34(2):101562.
13. Zurita Prada PA, Urrego Laurín CL, Guillén Astete CA, Kanaffo Caltelblanco S, Navarro-Compán V. Influence of smoking and obesity on treatment response in patients with axial spondyloarthritis: a systematic literature review. *Clin Rheumatol*. 2021 May;40(5):1673–86.

14. Dougados M, Soubrier M, Antunez A, Balint P, Balsa A, Buch MH, et al. Prevalence of comorbidities in rheumatoid arthritis and evaluation of their monitoring: results of an international, cross-sectional study (COMORA). *Ann Rheum Dis*. 2014 Jan;73(1):62–8.
15. Gossec L, Salejan F, Nataf H, Nguyen M, Gaud-Listrat V, Hudry C, et al. Challenges of Cardiovascular Risk Assessment in the Routine Rheumatology Outpatient Setting: An Observational Study of 110 Rheumatoid Arthritis Patients: CV Risk Assessment in Rheumatology Clinics. *Arthritis Care Res*. 2013 May;65(5):712–7.
16. Moltó A, Etcheto A, van der Heijde D, Landewé R, van den Bosch F, Bautista Molano W, et al. Prevalence of comorbidities and evaluation of their screening in spondyloarthritis: results of the international cross-sectional ASAS-COMOSPA study. *Ann Rheum Dis*. 2016 Jun;75(6):1016–23.
17. McInnes IB, Buckley CD, Isaacs JD. Cytokines in rheumatoid arthritis — shaping the immunological landscape. *Nat Rev Rheumatol*. 2016 Jan;12(1):63–8.
18. Sieper J, Poddubnyy D. Axial spondyloarthritis. *The Lancet*. 2017 Jul;390(10089):73–84.
19. Kaptoge S, Seshasai SRK, Gao P, Freitag DF, Butterworth AS, Borglykke A, et al. Inflammatory cytokines and risk of coronary heart disease: new prospective study and updated meta-analysis. *Eur Heart J*. 2014 Mar 1;35(9):578–89.
20. Mäki-Petäjä KM, Cheriyan J, Booth AD, Hall FC, Brown J, Wallace SML, et al. Inducible nitric oxide synthase activity is increased in patients with rheumatoid arthritis and contributes to endothelial dysfunction. *Int J Cardiol*. 2008 Oct;129(3):399–405.
21. Westra J, de Groot L, Plaxton SL, Brouwer E, Posthumus MD, Kallenberg CGM, et al. Angiopoietin-2 is highly correlated with inflammation and disease activity in recent-onset rheumatoid arthritis and could be predictive for cardiovascular disease. *Rheumatol Oxf Engl*. 2011 Apr;50(4):665–73.
22. Santos MJ, Carmona-Fernandes D, Canhão H, Canas da Silva J, Fonseca JE, Gil V. Early Vascular Alterations in SLE and RA Patients-A Step towards Understanding the Associated Cardiovascular Risk. *PLoS ONE*. 2012;7(9):7–12.
23. Turiel M, Atzeni F, Tomasoni L, De Portu S, Delfino L, Bodini BD, et al. Non-invasive assessment of coronary flow reserve and ADMA levels: a case-control study of early rheumatoid arthritis patients. *Rheumatology*. 2009 Jul 1;48(7):834–9.
24. Klimek E, Sulicka J, Gryglewska B, Skalska A, Kwaśny-Krochin B, Korkosz M, et al. Alterations in skin microvascular function in patients with rheumatoid arthritis and ankylosing spondylitis. *Clin Hemorheol Microcirc*. 2017;65(1):77–91.
25. Alomari MA, Keewan EF, Shammaa RA, Alawneh K, Khatib SY, Welsch MA. Vascular function and handgrip strength in rheumatoid arthritis patients. *Sci World J*. 2012;2012.
26. Delcoigne B, Ljung L, Provan SA, Glintborg B, Hetland ML, Grøn KL, et al. Short-term, intermediate-term and long-term risks of acute coronary syndrome in cohorts of patients with RA starting biologic DMARDs: results from four Nordic countries. *Ann Rheum Dis*. 2022 Jun;81(6):789–97.
27. Vaudo G. Endothelial dysfunction in young patients with rheumatoid arthritis and low disease activity. *Ann Rheum Dis*. 2004 Jan 1;63(1):31–5.

28. Flammer AJ, Lüscher TF. Three decades of endothelium research: from the detection of nitric oxide to the everyday implementation of endothelial function measurements in cardiovascular diseases. *Swiss Med Wkly*. 2010;140: w13122.
29. Rajendran P, Rengarajan T, Thangavel J, Nishigaki Y, Sakthisekaran D, Sethi G, et al. The vascular endothelium and human diseases. *Int J Biol Sci*. 2013;9(10):1057–69.
30. Pi X, Xie L, Patterson C. Emerging Roles of Vascular Endothelium in Metabolic Homeostasis. *Circ Res*. 2018 Aug 3;123(4):477–94.
31. Mineo C, Shaul PW. HDL stimulation of endothelial nitric oxide synthase: a novel mechanism of HDL action. *Trends Cardiovasc Med*. 2003 Aug;13(6):226–31.
32. Blair A, Shaul PW, Yuhanna IS, Conrad PA, Smart EJ. Oxidized low density lipoprotein displaces endothelial nitric-oxide synthase (eNOS) from plasmalemmal caveolae and impairs eNOS activation. *J Biol Chem*. 1999 Nov 5;274(45):32512–9.
33. Durand MJ, Gutterman DD. Diversity in Mechanisms of Endothelium-Dependent Vasodilation in Health and Disease. *Microcirc N Y N* 1994. 2013 Apr;20(3):239–47.
34. Félétou M, Vanhoutte PM. EDHF: an update. *Clin Sci Lond Engl* 1979. 2009 Jul 16;117(4):139–55.
35. van Hinsbergh VWM. Endothelium—role in regulation of coagulation and inflammation. *Semin Immunopathol*. 2012;34(1):93–106.
36. McCormack JJ, Lopes da Silva M, Ferraro F, Patella F, Cutler DF. Weibel-Palade bodies at a glance. *J Cell Sci*. 2017 Nov 1;130(21):3611–7.
37. Kolka CM, Bergman RN. The Barrier Within: Endothelial Transport of Hormones. *Physiol Bethesda Md*. 2012 Aug;27(4):237–47.
38. Clyne AM. Endothelial response to glucose: dysfunction, metabolism, and transport. *Biochem Soc Trans*. 2021 Feb 26;49(1):313–25.
39. Hagberg C, Mehlem A, Falkevall A, Muhl L, Eriksson U. Endothelial Fatty Acid Transport: Role of Vascular Endothelial Growth Factor B. *Physiology*. 2013 Mar;28(2):125–34.
40. Baumgartner-Parzer SM, Waldhäusl WK. The endothelium as a metabolic and endocrine organ: its relation with insulin resistance. *Exp Clin Endocrinol Diabetes Off J Ger Soc Endocrinol Ger Diabetes Assoc*. 2001;109 Suppl 2: S166-179.
41. Khaddaj Mallat R, Mathew John C, Kendrick DJ, Braun AP. The vascular endothelium: A regulator of arterial tone and interface for the immune system. *Crit Rev Clin Lab Sci*. 2017;54(7–8):458–70.
42. Hunt BJ, Jurd KM. Endothelial cell activation. A central pathophysiological process. *BMJ*. 1998 May 2;316(7141):1328–9.
43. Konukoglu D, Uzun H. Endothelial Dysfunction and Hypertension. *Adv Exp Med Biol*. 2017; 956:511–40.

44. Figueiredo VN, Yugar-Toledo JC, Martins LC, Martins LB, de Faria APC, de Haro Moraes C, et al. Vascular stiffness and endothelial dysfunction: Correlations at different levels of blood pressure. *Blood Press*. 2012 Feb;21(1):31–8.
45. Yau JW, Teoh H, Verma S. Endothelial cell control of thrombosis. *BMC Cardiovasc Disord*. 2015 Oct 19; 15:130.
46. Dole VS, Bergmeier W, Mitchell HA, Eichenberger SC, Wagner DD. Activated platelets induce Weibel-Palade-body secretion and leukocyte rolling in vivo: role of P-selectin. *Blood*. 2005 Oct 1;106(7):2334–9.
47. Ye Z, Zhong L, Zhu S, Wang Y, Zheng J, Wang S, et al. The P-selectin and PSGL-1 axis accelerates atherosclerosis via activation of dendritic cells by the TLR4 signaling pathway. *Cell Death Dis*. 2019 Jul 1;10(7):1–15.
48. Ungvari Z, Tarantini S, Kiss T, Wren JD, Giles CB, Griffin CT, et al. Endothelial dysfunction and angiogenesis impairment in the ageing vasculature. *Nat Rev Cardiol*. 2018 Sep;15(9):555–65.
49. Alexander Y, Osto E, Schmidt-Trucksäss A, Shechter M, Trifunovic D, Duncker DJ, et al. Endothelial function in cardiovascular medicine: a consensus paper of the European Society of Cardiology Working Groups on Atherosclerosis and Vascular Biology, Aorta and Peripheral Vascular Diseases, Coronary Pathophysiology and Microcirculation, and Thrombosis. *Cardiovasc Res*. 2021 Jan 1;117(1):29–42.
50. Kitta Y, Obata J, Nakamura T, Hirano M, Kodama Y, Fujioka D, et al. Persistent impairment of endothelial vasomotor function has a negative impact on outcome in patients with coronary artery disease. *J Am Coll Cardiol*. 2009 Jan 27;53(4):323–30.
51. Huang AL, Silver AE, Shvenke E, Schopfer DW, Jahangir E, Titas MA, et al. Predictive value of reactive hyperemia for cardiovascular events in patients with peripheral arterial disease undergoing vascular surgery. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2007 Oct;27(10):2113–9.
52. England BR, Thiele GM, Anderson DR, Mikuls TR. Increased cardiovascular risk in rheumatoid arthritis: mechanisms and implications. *BMJ*. 2018 Apr 23;361:k1036.
53. Choy E, Ganeshalingam K, Semb AG, Szekanecz Z, Nurmohamed M. Cardiovascular risk in rheumatoid arthritis: recent advances in the understanding of the pivotal role of inflammation, risk predictors and the impact of treatment. *Rheumatology*. 2014 Dec 1;53(12):2143–54.
54. Solomon DH, Reed GW, Kremer JM, Curtis JR, Farkouh ME, Harrold LR, et al. Disease activity in rheumatoid arthritis and the risk of cardiovascular events. *Arthritis Rheumatol Hoboken NJ*. 2015 Jun;67(6):1449–55.
55. Arts EEA, Fransen J, den Broeder AA, Popa CD, van Riel PLCM. The effect of disease duration and disease activity on the risk of cardiovascular disease in rheumatoid arthritis patients. *Ann Rheum Dis*. 2015 Jun;74(6):998–1003.
56. Maradit-Kremers H, Crowson CS, Nicola PJ, Ballman KV, Roger VL, Jacobsen SJ, et al. Increased unrecognized coronary heart disease and sudden deaths in rheumatoid arthritis: A population-based cohort study. *Arthritis Rheum*. 2005 Feb;52(2):402–11.
57. Kim K, Bang SY, Lee HS, Bae SC. Update on the genetic architecture of rheumatoid arthritis. *Nat Rev Rheumatol*. 2017 Jan;13(1):13–24.

58. Farragher TM, Goodson NJ, Naseem H, Silman AJ, Thomson W, Symmons D, et al. Association of the HLA–DRB1 gene with premature death, particularly from cardiovascular disease, in patients with rheumatoid arthritis and inflammatory polyarthritis. *Arthritis Rheum.* 2008 Feb;58(2):359–69.
59. Gonzalez-Gay MA, Gonzalez-Juanatey C, Lopez-Diaz MJ, Piñeiro A, Garcia-Porrua C, Miranda-Filloo JA, et al. HLA–DRB1 and persistent chronic inflammation contribute to cardiovascular events and cardiovascular mortality in patients with rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.* 2007 Feb 15;57(1):125–32.
60. Westerlind H, Rönnelid J, Hansson M, Alfredsson L, Mathsson-Alm L, Serre G, et al. Anti-Citrullinated Protein Antibody Specificities, Rheumatoid Factor Isotypes, and Incident Cardiovascular Events in Patients With Rheumatoid Arthritis. *Arthritis Rheumatol Hoboken NJ.* 2020 Oct;72(10):1658–67.
61. Cambridge G, Acharya J, Cooper JA, Edwards JC, Humphries SE. Antibodies to citrullinated peptides and risk of coronary heart disease. *Atherosclerosis.* 2013 May;228(1):243–6.
62. Sokolove J, Sharpe O, Brennan M, Lahey LJ, Kao AH, Krishnan E, et al. Citrullination within the atherosclerotic plaque: A potential target for the anti-citrullinated protein antibody response in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.* 2013 Jul;65(7):1719–24.
63. Crowson CS, Matteson EL, Roger VL, Therneau TM, Gabriel SE. Usefulness of risk scores to estimate the risk of cardiovascular disease in patients with rheumatoid arthritis. *Am J Cardiol.* 2012 Aug 1;110(3):420–4.
64. Toussiroot E. The Risk of Cardiovascular Diseases in Axial Spondyloarthritis. *Current Insights. Front Med.* 2021; 8:782150.
65. Bremander A, Petersson IF, Bergman S, Englund M. Population-based estimates of common comorbidities and cardiovascular disease in ankylosing spondylitis. *Arthritis Care Res.* 2011;63(4):550–6.
66. Eriksson JK, Jacobsson L, Bengtsson K, Askling J. Is ankylosing spondylitis a risk factor for cardiovascular disease, and how do these risks compare with those in rheumatoid arthritis? *Ann Rheum Dis.* 2017;76(2):364–70.
67. Kim JH, Choi IA. Cardiovascular morbidity and mortality in patients with spondyloarthritis: A meta-analysis. *Int J Rheum Dis.* 2021 Apr;24(4):477–86.
68. Łosińska K, Korkosz M, Kwaśny-Krochin B. Endothelial dysfunction in patients with ankylosing spondylitis. *Reumatologia.* 2019;57(2):100–5.
69. Arévalo M, López-Medina C, Moreno Martinez-Losa M, Moltó A, Font P, Collantes-Estevez E, et al. Role of HLA-B27 in the comorbidities observed in Axial Spondyloarthritis: Data from COMOSPA. *Joint Bone Spine.* 2020 Oct;87(5):445–8.
70. López-Medina C, Jiménez-Gómez Y, Moltó A, Schiotis RE, Marzo-Ortega H, van Gaalen FA, et al. Cardiovascular risk factors in patients with spondyloarthritis from Northern European and Mediterranean countries: An ancillary study of the ASAS-COMOSPA project. *Joint Bone Spine.* 2018 Jul;85(4):447–53.

71. Xu SZ, Wang P, Guan SY, Li HM, Leng RX, Pan HF, et al. Decreased flow-mediated dilatation in patients with rheumatoid arthritis: a meta-analysis. *Postgrad Med J*. 2017 May;93(1099):260–5.
72. Chatterjee Adhikari M, Guin A, Chakraborty S, Sinhamahapatra P, Ghosh A. Subclinical atherosclerosis and endothelial dysfunction in patients with early rheumatoid arthritis as evidenced by measurement of carotid intima-media thickness and flow-mediated vasodilatation: an observational study. *Semin Arthritis Rheum*. 2012 Apr;41(5):669–75.
73. Gonzalez-Juanatey C, Testa A, Garcia-Castelo A, Garcia-Porrúa C, Llorca J, Vidan J, et al. HLA-DRB1 status affects endothelial function in treated patients with rheumatoid arthritis. *Am J Med*. 2003 Jun 1;114(8):647–52.
74. Arosio E, De Marchi S, Rigoni A, Prior M, Delva P, Lechi A. Forearm haemodynamics, arterial stiffness and microcirculatory reactivity in rheumatoid arthritis. *J Hypertens*. 2007 Jun;25(6):1273–8.
75. Oppermann M. Chemokine receptor CCR5: insights into structure, function, and regulation. *Cell Signal*. 2004 Nov;16(11):1201–10.
76. Rodríguez-Rodríguez L, González-Juanatey C, García-Bermúdez M, Vázquez-Rodríguez TR, Miranda-Fillooy JA, Fernández-Gutiérrez B, et al. CCR5 Δ 32 variant and cardiovascular disease in patients with rheumatoid arthritis: a cohort study. *Arthritis Res Ther*. 2011 Aug 16;13(4):R133.
77. Sari I, Okan T, Akar S, Cece H, Altay C, Secil M, et al. Impaired endothelial function in patients with ankylosing spondylitis. *Rheumatol Oxf Engl*. 2006 Mar;45(3):283–6.
78. Bodnár N, Kerekes G, Seres I, Paragh G, Kappelmayer J, Némethné ZG, et al. Assessment of subclinical vascular disease associated with ankylosing spondylitis. *J Rheumatol*. 2011 Apr;38(4):723–9.
79. Das S, Sarkar R, Paul R, Bagri P, Dey A, Mukherjee A, et al. Disease Activity in Spondyloarthritis: Does it affect Vascular Health? *J Assoc Physicians India*. 2018 Jul;66(7):63–6.
80. Tekaya AB, Mehmlı T, Mrad IB, Fendri A, Boukriba S, Bouden S, et al. Increased epicardial adipose tissue thickness correlates with endothelial dysfunction in spondyloarthritis. *Clin Rheumatol*. 2022 Oct;41(10):3017–25.
81. Wang HH, Wang QF. Low vaspin levels are related to endothelial dysfunction in patients with ankylosing spondylitis. *Braz J Med Biol Res Rev Bras Pesqui Medicas E Biol*. 2016 Jul 4;49(7):e5231, S0100-879X2016000700705.
82. Aydoğan Baykara R, Küçük A, Tuzcu A, Tuzcu G, Cüre E, Uslu AU, et al. The relationship of serum visfatin levels with clinical parameters, flow-mediated dilation, and carotid intima-media thickness in patients with ankylosing spondylitis. *Turk J Med Sci*. 2021 Aug 30;51(4):1865–74.
83. Aicha BT, Ahmed F, Seif B, Ines M, Leila R, Selma B, et al. Spinal radiographic progression is correlated with preclinical atherosclerosis in spondyloarthritis. *J Back Musculoskelet Rehabil*. 2023;36(3):701–8.
84. Perrotta FM, Scarno A, Carboni A, Bernardo V, Montepaone M, Lubrano E, et al. Assessment of subclinical atherosclerosis in ankylosing spondylitis: correlations with disease activity indices. *Reumatismo*. 2013 Jul 23;65(3):105–12.

85. Rueda-Gotor J, Llorca J, Corrales A, Blanco R, Fuentevilla P P V. Subclinical atherosclerosis is not increased in patients with non-radiographic axial spondyloarthritis. *Clin Exp Rheumatol*. 2016;159–60.
86. Foster W, Lip GYH, Raza K, Carruthers D, Blann AD. An observational study of endothelial function in early arthritis. *Eur J Clin Invest*. 2012;42(5):510–6.
87. Van Eijk IC, Serné EH, Dijkmans BAC, Smulders Y, Nurmohamed M. Microvascular function is preserved in newly diagnosed rheumatoid arthritis and low systemic inflammatory activity. *Clin Rheumatol*. 2011 Aug;30(8):1113–8.
88. Hänsel S, Lässig G, Pistrosch F, Passauer J. Endothelial dysfunction in young patients with long-term rheumatoid arthritis and low disease activity. *Atherosclerosis*. 2003 Sep;170(1):177–80.
89. Ciftci O, Yilmaz S, Topcu S, Caliskan M, Gullu H, Erdogan D, et al. Impaired coronary microvascular function and increased intima-media thickness in rheumatoid arthritis. *Atherosclerosis*. 2008 Jun;198(2):332–7.
90. Liao KP, Huang J, He Z, Cremone G, Lam E, Hainer JM, et al. Coronary Microvascular Dysfunction in Rheumatoid Arthritis Compared to Diabetes Mellitus and Association With All-Cause Mortality. *Arthritis Care Res*. 2021 Feb;73(2):159–65.
91. Recio-Mayoral A, Mason JC, Kaski JC, Rubens MB, Harari OA, Camici PG. Chronic inflammation and coronary microvascular dysfunction in patients without risk factors for coronary artery disease. *Eur Heart J*. 2009 Aug;30(15):1837–43.
92. Seyahi E, Ugurlu S, Cumali R, Balci H, Ozdemir O, Melikoglu M, et al. Atherosclerosis in Behçet's Syndrome. *Semin Arthritis Rheum*. 2008 Aug;38(1):1–12.
93. Van Eijk IC, Peters MJL, Serné EH, Van Der Horst-Bruinsma IE, Dijkmans BAC, Smulders YM, et al. Microvascular function is impaired in ankylosing spondylitis and improves after tumour necrosis factor α blockade. *Ann Rheum Dis*. 2009 Mar;68(3):362–6.
94. Ruiz-Limon P, Ladehesa-Pineda ML, Lopez-Medina C, Lopez-Pedreira C, Abalos-Aguilera MC, Barbarroja N, et al. Potential Role and Impact of Peripheral Blood Mononuclear Cells in Radiographic Axial Spondyloarthritis-Associated Endothelial Dysfunction. *Diagn Basel Switz*. 2021 Jun 4;11(6):1037.
95. Myasoedova E, Crowson CS, Kremers HM, Roger VL, Fitz-Gibbon PD, Therneau TM, et al. Lipid paradox in rheumatoid arthritis: the impact of serum lipid measures and systemic inflammation on the risk of cardiovascular disease. *Ann Rheum Dis*. 2011 Mar;70(3):482–7.
96. Robertson J, Peters MJ, McInnes IB, Sattar N. Changes in lipid levels with inflammation and therapy in RA: a maturing paradigm. *Nat Rev Rheumatol*. 2013 Sep;9(9):513–23.
97. Strandberg TE, Kovanen PT, Eklund KK. Is the “lipid paradox” in rheumatoid arthritis really a paradox? Comment on the article by Bartels et al. *Arthritis Rheum*. 2011 Nov;63(11):3644–5; author's reply 3645–3646.
98. Semb AG, Kvien TK, DeMicco DA, Fayyad R, Wun CC, LaRosa JC, et al. Effect of intensive lipid-lowering therapy on cardiovascular outcome in patients with and those without inflammatory joint disease. *Arthritis Rheum*. 2012 Sep;64(9):2836–46.

99. Rollefstad S, Kvien TK, Holme I, Eirheim AS, Pedersen TR, Semb AGP. Treatment to lipid targets in patients with inflammatory joint diseases in a preventive cardio-rheuma clinic. *Ann Rheum Dis*. 2013 Dec;72(12):1968–74.
100. Charles-Schoeman C, Watanabe J, Lee YY, Furst DE, Amjadi S, Elashoff D, et al. Abnormal Function of High-Density Lipoprotein (HDL) Is Associated with Poor Disease Control and an Altered HDL Protein Cargo in Rheumatoid Arthritis. *Arthritis Rheum*. 2009 Oct;60(10):2870–9.
101. Kim JY, Lee EY, Park JK, Song YW, Kim JR, Cho KH. Patients with Rheumatoid Arthritis Show Altered Lipoprotein Profiles with Dysfunctional High-Density Lipoproteins that Can Exacerbate Inflammatory and Atherogenic Process. *PLoS One*. 2016;11(10):e0164564.
102. Vuilleumier N, Bratt J, Alizadeh R, Jogestrand T, Hafström I, Frostegård J. Anti-apoA-1 IgG and oxidized LDL are raised in rheumatoid arthritis (RA): potential associations with cardiovascular disease and RA disease activity. *Scand J Rheumatol*. 2010 Nov;39(6):447–53.
103. Voloshyna I, Modayil S, Littlefield MJ, Belilos E, Belostocki K, Bonetti L, et al. Plasma from rheumatoid arthritis patients promotes pro-atherogenic cholesterol transport gene expression in THP-1 human macrophages. *Exp Biol Med* Maywood NJ. 2013 Oct;238(10):1192–7.
104. Deyab G, Hokstad I, Whist JE, Smastuen MC, Agewall S, Lyberg T, et al. Methotrexate and anti-tumor necrosis factor treatment improves endothelial function in patients with inflammatory arthritis. *Arthritis Res Ther*. 2017 Dec;19(1):232.
105. Karpouzas GA, Ormseth SR, Hernandez E, Budoff MJ. Biologics May Prevent Cardiovascular Events in Rheumatoid Arthritis by Inhibiting Coronary Plaque Formation and Stabilizing High-Risk Lesions. *Arthritis Rheumatol*. 2020 Sep;72(9):1467–75.
106. Tam LS, Shang Q, Li EK, Wang S, Li RJ, Lee KL, et al. Infliximab is Associated with Improvement in Arterial Stiffness in Patients with Early Rheumatoid Arthritis — A Randomized Trial. *J Rheumatol*. 2012 Dec;39(12):2267–75.
107. Sidiropoulos PI, Siakka P, Pagonidis K, Raptopoulou A, Kritikos H, Tsetis D, et al. Sustained improvement of vascular endothelial function during anti-TNF α treatment in rheumatoid arthritis patients. *Scand J Rheumatol*. 2009 Jan;38(1):6–10.
108. Syngle A, Vohra K, Sharma A, Kaur L. Endothelial dysfunction in ankylosing spondylitis improves after tumor necrosis factor- α blockade. *Clin Rheumatol*. 2010 Jul;29(7):763–70.
109. Fragoulis GE, Souliadopoulos S, Sfrikakis PP, Dimitroulas T, Kitas GD. Effect of Biologics on Cardiovascular Inflammation: Mechanistic Insights and Risk Reduction. *J Inflamm Res*. 2021 May; Volume 14:1915–31.
110. Ruiz-Limón P, Ortega R, Arias De La Rosa I, Abalos-Aguilera MDC, Perez- Sanchez C, Jimenez- Gomez Y, et al. Tocilizumab improves the proatherothrombotic profile of rheumatoid arthritis patients modulating endothelial dysfunction, NETosis, and inflammation. *Transl Res*. 2017 May; 183:87–103.
111. Ikonomidis I, Tzortzis S, Andreadou I, Paraskevaidis I, Katseli C, Katsimbri P, et al. Increased Benefit of Interleukin-1 Inhibition on Vascular Function, Myocardial Deformation, and Twisting in Patients With Coronary Artery Disease and Coexisting Rheumatoid Arthritis. *Circ Cardiovasc Imaging*. 2014 Jul;7(4):619–28.

112. Ridker PM, Everett BM, Thuren T, MacFadyen JG, Chang WH, Ballantyne C, et al. Antiinflammatory Therapy with Canakinumab for Atherosclerotic Disease. *N Engl J Med*. 2017 Sep 21;377(12):1119–31.
113. Hermann F, Forster A, Chenevard R, Enseleit F, Hürlimann D, Corti R, et al. Simvastatin improves endothelial function in patients with rheumatoid arthritis. *J Am Coll Cardiol*. 2005 Feb 1;45(3):461–4.
114. McCarey DW, McInnes IB, Madhok R, Hampson R, Scherbakov O, Ford I, et al. Trial of Atorvastatin in Rheumatoid Arthritis (TARA): double-blind, randomised placebo-controlled trial. *Lancet Lond Engl*. 2004 Jun 19;363(9426):2015–21.
115. Ikdahl E, Hisdal J, Rollefstad S, Olsen IC, Kvien TK, Pedersen TR, et al. Rosuvastatin improves endothelial function in patients with inflammatory joint diseases, longitudinal associations with atherosclerosis and arteriosclerosis: results from the RORA-AS statin intervention study. *Arthritis Res Ther*. 2015 Oct 8; 17:279.
116. Verhoeven F, Totoson P, Marie C, Prigent-Tessier A, Wendling D, Tournier-Nappey M, et al. Diclofenac but not celecoxib improves endothelial function in rheumatoid arthritis: A study in adjuvant-induced arthritis. *Atherosclerosis*. 2017 Nov; 266:136–44.
117. Karmacharya P, Shahukhal R, Crowson CS, Murad MH, Davis JM, Shrestha P, et al. Effects of Therapies on Cardiovascular Events in Ankylosing Spondylitis: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Rheumatol Ther*. 2020 Dec;7(4):993–1009.
118. Verhoeven F, Prati C, Maguin-Gaté K, Wendling D, Demougeot C. Glucocorticoids and endothelial function in inflammatory diseases: focus on rheumatoid arthritis. *Arthritis Res Ther*. 2016 Dec;18(1):258.
119. Veselinovic MV, Zivkovic VI, Toncev S, Tasic N, Bogdanovic V, Djuric DM, et al. Carotid artery intima-media thickness and brachial artery flow-mediated vasodilatation in patients with rheumatoid arthritis. *VASA Z Gefasskrankheiten*. 2012 Sep;41(5):343–51.
120. Bellamkonda K, Williams M, Handa A, Lee R. Flow Mediated Dilatation as a Biomarker in Vascular Surgery Research. *J Atheroscler Thromb*. 2017;24(8):779–87.
121. Frolow M, Drozd A, Kowalewska A, Nizankowski R, Chlopicki S. Comprehensive assessment of vascular health in patients; towards endothelium-guided therapy. *Pharmacol Rep*. 2015 Aug;67(4):786–92.
122. Axtell AL, Gomari FA, Cooke JP. Assessing Endothelial Vasodilator Function with the Endo-PAT 2000. *J Vis Exp*. 2010 Oct 15;(44):2167.
123. Piotrowski L, Urbaniak M, Jedrzejczak B, Marcinek A, Gebicki J. Note: Flow mediated skin fluorescence—A novel technique for evaluation of cutaneous microcirculation. *Rev Sci Instrum*. 2016 Mar;87(3):036111.
124. Tarnawska M, Dorniak K, Kaszubowski M, Dudziak M, Hellmann M. A pilot study with flow mediated skin fluorescence: A novel device to assess microvascular endothelial function in coronary artery disease. *Cardiol J*. 2018;25(1):120–7.

125. Hellmann M, Tarnawska M, Dudziak M, Dorniak K, Roustit M, Cracowski JL. Reproducibility of flow mediated skin fluorescence to assess microvascular function. *Microvasc Res*. 2017 Sep; 113:60–4.
126. A pilot study with flow mediated skin fluorescence A novel device to assess microvascular endothelial function in coronary artery disease. 2017.pdf.
127. Katarzynska J, Borkowska A, Los A, Marcinek A, Cypryk K, Gebicki J. Flow-Mediated Skin Fluorescence (FMSF) Technique for Studying Vascular Complications in Type 2 Diabetes. *J Diabetes Sci Technol*. 2019 Dec 19;14(3):693–4.
128. Los-Stegienta A, Katarzynska J, Borkowska A, Marcinek A, Cypryk K, Gebicki J. Differentiation of Diabetic Foot Ulcers Based on Stimulation of Myogenic Oscillations by Transient Ischemia. *Vasc Health Risk Manag*. 2021; 17:145–52.
129. J K, A B, P C, A L, L S, A MK, et al. Flow Mediated Skin Fluorescence technique reveals remarkable effect of age on microcirculation and metabolic regulation in type 1 diabetes. *Microvasc Res* [Internet]. 2019 Jul [cited 2023 Jun 8];124. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30807771/>
130. Pajkowski M, Dudziak M, Chlebus K, Hellmann M. Assessment of microvascular function and pharmacological regulation in genetically confirmed familial hipercholesterolemia. *Microvasc Res*. 2021 Nov; 138:104216.
131. Bogaczewicz J, Tokarska K, Wozniacka A. Changes of NADH Fluorescence from the Skin of Patients with Systemic Lupus Erythematosus. *BioMed Res Int*. 2019; 2019:5897487.
132. Zahorec R. Neutrophil-to-lymphocyte ratio, past, present and future perspectives. *Bratisl Med J*. 2021;122(07):474–88.
133. Batko B, Maga P, Urbanski K, Ryszawa-Mrozek N, Schramm-Luc A, Koziej M, et al. Microvascular dysfunction in ankylosing spondylitis is associated with disease activity and is improved by anti-TNF treatment. *Sci Rep*. 2018 Sep 4;8(1):13205.
134. Holmes MV, Jiang B, McNeill K, Wong M, Oakley SP, Kirkham B, et al. Paradoxical Association of C-Reactive Protein with Endothelial Function in Rheumatoid Arthritis. Bonini MG, editor. *PLoS ONE*. 2010 Apr 27;5(4): e10242.
135. Bradford CM, McDonnell T, Raj D, Robinson GA, Cole A, Ramakrishnan S, et al. Characterization of a Subset of Patients With Rheumatoid Arthritis for Whom Current Management Strategies are Inadequate. *ACR Open Rheumatol*. 2019 May;1(3):145–55.
136. Fleischmann RM, Van Der Heijde D, Gardiner PV, Szumski A, Marshall L, Bananis E. DAS28-CRP and DAS28-ESR cut-offs for high disease activity in rheumatoid arthritis are not interchangeable. *RMD Open*. 2017 Jan;3(1):e000382.
137. Brown AK, Quinn MA, Karim Z, Conaghan PG, Peterfy CG, Hensor E, et al. Presence of significant synovitis in rheumatoid arthritis patients with disease-modifying antirheumatic drug–induced clinical remission: Evidence from an imaging study may explain structural progression. *Arthritis Rheum*. 2006 Dec;54(12):3761–73.

138. Brown AK, Conaghan PG, Karim Z, Quinn MA, Ikeda K, Peterfy CG, et al. An explanation for the apparent dissociation between clinical remission and continued structural deterioration in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.* 2008 Oct;58(10):2958–67.
139. Koo BS, Oh JS, Park SY, Shin JH, Nam B, Lee S, et al. Relationship Between Inflammation and Radiographic Progression in Patients With Ankylosing Spondylitis Attaining a BASDAI of Less Than 4 During Tumor Necrosis Factor Inhibitor Treatment. *J Rheumatol.* 2022 Dec 1;49(12):1328–34.
140. Verma I, Syngle A, Krishan P. Predictors of endothelial dysfunction and atherosclerosis in rheumatoid arthritis in Indian population. *Indian Heart J.* 2017 Mar;69(2):200–6.
141. Dimitroulas T, Hodson J, Sandoo A, Smith J, Kitas GD. Endothelial injury in rheumatoid arthritis: a crosstalk between dimethylarginines and systemic inflammation. *Arthritis Res Ther.* 2017 Dec;19(1):32.
142. Foster W, Carruthers D, Lip GYH, Blann AD. Inflammation and Microvascular and Macrovascular Endothelial Dysfunction in Rheumatoid Arthritis: Effect of Treatment. *J Rheumatol.* 2010 Apr;37(4):711–6.
143. Sandoo A, Veldhuijzen Van Zanten JJCS, Metsios GS, Carroll D, Kitas GD. Vascular function and morphology in rheumatoid arthritis: a systematic review. *Rheumatology.* 2011 Nov;50(11):2125–39.
144. Kay J, Morgacheva O, Messing SP, Kremer JM, Greenberg JD, Reed GW, et al. Clinical disease activity and acute phase reactant levels are discordant among patients with active rheumatoid arthritis: acute phase reactant levels contribute separately to predicting outcome at one year. *Arthritis Res Ther.* 2014;16(1):R40.
145. Gasparyan AY, Ayvazyan L, Mukanova U, Yessirkepov M, Kitas GD. The Platelet-to-Lymphocyte Ratio as an Inflammatory Marker in Rheumatic Diseases. *Ann Lab Med.* 2019 Jul;39(4):345–57.
146. Philpott AC, Lonn E, Title LM, Verma S, Buithieu J, Charbonneau F, et al. Comparison of new measures of vascular function to flow mediated dilatation as a measure of cardiovascular risk factors. *Am J Cardiol.* 2009 Jun 1;103(11):1610–5.
147. Anderson TJ, Charbonneau F, Title LM, Buithieu J, Rose MS, Conradson H, et al. Microvascular function predicts cardiovascular events in primary prevention: long-term results from the Firefighters and Their Endothelium (FATE) study. *Circulation.* 2011 Jan 18;123(2):163–9.
148. Daiber A, Steven S, Weber A, Shuvaev VV, Muzykantov VR, Laher I, et al. Targeting vascular (endothelial) dysfunction. *Br J Pharmacol.* 2017 Jun;174(12):1591–619.
149. Sandoo A, Kitas GD, Carroll D, Veldhuijzen Van Zanten JJ. The role of inflammation and cardiovascular disease risk on microvascular and macrovascular endothelial function in patients with rheumatoid arthritis: a cross-sectional and longitudinal study. *Arthritis Res Ther.* 2012;14(3):R117.
150. Charles-Schoeman C, Fleischmann R, Davignon J, Schwartz H, Turner SM, Beysen C, et al. Potential Mechanisms Leading to the Abnormal Lipid Profile in Patients With Rheumatoid Arthritis Versus Healthy Volunteers and Reversal by Tofacitinib: Reversal of Abnormal Lipid Profile in RA With Tofacitinib. *Arthritis Rheumatol.* 2015 Mar;67(3):616–25.

151. Giles JT, Wasko MCM, Chung CP, Szklo M, Blumenthal RS, Kao A, et al. Exploring the Lipid Paradox Theory in Rheumatoid Arthritis: Associations of Low Circulating Low-Density Lipoprotein Concentration With Subclinical Coronary Atherosclerosis. *Arthritis Rheumatol*. 2019 Sep;71(9):1426–36.
152. Van Breukelen-van Der Stoep DF, Van Zeben D, Klop B, Van De Geijn GJM, Janssen HJW, Van Der Meulen N, et al. Marked underdiagnosis and undertreatment of hypertension and hypercholesterolaemia in rheumatoid arthritis. *Rheumatology*. 2016 Jul;55(7):1210–6.
153. Azevedo VF, Pecoits-Filho R. Atherosclerosis and endothelial dysfunction in patients with ankylosing spondylitis. *Rheumatol Int*. 2010 Sep;30(11):1411–6.
154. Burggraaf B, Van Breukelen-van Der Stoep DF, De Vries MA, Klop B, Liem AH, Van De Geijn GJM, et al. Effect of a treat-to-target intervention of cardiovascular risk factors on subclinical and clinical atherosclerosis in rheumatoid arthritis: a randomised clinical trial. *Ann Rheum Dis*. 2019 Jan 4; annrheumdis-2018-214075.
155. So H, Tam LS. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs and cardiovascular disease risk in spondyloarthritis-spectrum diseases. *Curr Opin Rheumatol*. 2022 Jul 1;34(4):203–8.