

1. Streszczenie

Wstęp: Choroby reumatyczne związane są ze zwiększonym ryzykiem zdarzeń sercowo-naczyniowych nawet przy braku obecności tradycyjnych czynników ryzyka, co przypisuje się przedwczesnemu rozwojowi miażdżycy w wyniku przewlekłego procesu zapalnego.

Upośledzona funkcja śródbłónka jest obecnie uważana za najwcześniejszy etap rozwoju miażdżycy i można ją łatwo ocenić za pomocą wielu metod. Dysfunkcja śródbłónka powiązana jest ze stresem oksydacyjnym, a „rozprężanie” syntazy tlenku azotu (eNOS) wydaje się być ważnym mechanizmem przyczyniającym się do zwiększonego wytwarzania reaktywnych form tlenu. W przeciwieństwie do reumatoidalnego zapalenia stawów i toczenia rumieniowatego układu, dane dotyczące dysfunkcji śródbłónka w pierwotnym zespole Sjögrena (PZS) są skąpe i często sprzeczne. Celem niniejszego badania było (*) określenie, czy dysfunkcja śródbłónka występuje u pacjentów z PZS oraz czy jest związana z aktywnością choroby i jej klinicznymi, metabolicznymi i zapalnymi markerami, (*) kompleksowe podsumowanie dostępnej wiedzy o przedwczesnej miażdżycy w chorobach reumatycznych ze szczególnym uwzględnieniem zjawiska „rozprężania” eNOS.

Material i metody: 46 pacjentów z PZS oraz 30 zdrowych ochotników, bez jawnej choroby sercowo-naczyniowej wzięło udział w badaniu opisanym w publikacji *“Cardiovascular risk and endothelial dysfunction in primary Sjögren syndrome is related to the disease activity”*. W obu grupach oznaczono stężenia markerów aktywacji endotelium (PAI-1, sE-selektyna), angiogenezy (angiostatyna, VEGF) i szlaku metabolizmu tlenku azotu (ADMA, L-arginina, SDMA, cGMP) oraz wykonano nieinwazyjną, ultrasonograficzną ocenę funkcji wazodylatacyjnej śródbłónka naczyniowego (FMD).

Do przygotowania artykułu *„Role of the eNOS uncoupling and the nitric oxide metabolic pathway in the pathogenesis of autoimmune rheumatic diseases”* przeszukano bazy danych Pubmed, Scopus i Google Scholar przy użyciu następujących słów kluczowych: eNOS, „rozprężanie” eNOS, dysfunkcja śródbłónka, miażdżycy, stres oksydacyjny, ADMA, arginaza, tetrahydrobiopteryna, L-arginina, reumatoidalne zapalenie stawów, toczeń rumieniowaty układu, pierwotny zespół Sjögrena.

Wyniki: W badaniu opublikowanym w artykule *“Cardiovascular risk and endothelial dysfunction in primary Sjögren syndrome is related to the disease activity”* FMD było istotnie niższe u pacjentów z PZS ($7,56 \pm 3,08$ vs $10,91 \pm 1,02\%$, $p = 0,043$), korelowało dodatnio z przeciwciałami anti-Ro/SS-A ($r = 0,34$, $p = 0,03$) i zajęciem płuc ($r = 0,52$, $p = 0,001$) oraz ujemnie ze stężeniem ADMA ($r = -0,35$, $p = 0,04$). Stężenia ADMA, L-argininy i

angiostatyny w osoczu były istotnie wyższe u pacjentów z PZS ($0,39 \pm 0,08$ vs $0,36 \pm 0,06$ $\mu\text{mol/l}$, $p = 0,05$; $29,07 \pm 6,7$ vs $25,4 \pm 5,23$ $\mu\text{mol/l}$, $p = 0,01$; $152,25 \pm 60,99$ vs $120,07 \pm 38,7$ pg/ml , $p = 0,05$). Stężenie ADMA korelowało z ESSDAI ($r = 0,33$, $p = 0,02$), SCORE ($r = 0,57$, $p = 0,00003$) i focus score ($r = 0,38$, $p = 0,04$). W analizie regresji wielokrotnej, ESSDAI był istotnie i niezależnie związany ze stężeniem ADMA w osoczu ($\beta = 0,24$, $p = 0,04$).

W celu przygotowania artykułu przeglądowego przeanalizowano 177 artykuły, w tym oryginalne artykuły naukowe, artykuły przeglądowe, rekomendacje i artykuły wstępne.

Wnioski: W publikacji oryginalnej wykazano, że pacjenci z PZS bez czynników ryzyka i jawnej choroby układu krążenia mają upośledzoną funkcję śródbłonna, a tym samym mogą mieć zwiększone ryzyko zdarzeń sercowo-naczyniowych. Ponadto wykazano związek dysfunkcji śródbłonna z aktywnością choroby, podkreślając kluczową rolę tej ostatniej w rozwoju chorób układu sercowo-naczyniowego w PZS. Obserwacje te są zgodne z aktualnym stanem wiedzy, według którego u podłoża mechanizmów odpowiedzialnych za przedwczesny rozwój miażdżycy w chorobach reumatycznych leży przewlekły proces zapalny. Jednak dokładne mechanizmy różnią się nieco między poszczególnymi jednostkami chorobowymi, wśród czynników ryzyka wymienia się także autoprzeciwciała i liczbę nacieków komórek jednojądrzastych w małych gruczołach ślinowych (*focus score*).

Przewlekły proces zapalny przyczynia się w znacznym stopniu do powstania stresu oksydacyjnego, który poprzez promowanie nieprawidłowej funkcji eNOS może prowadzić do dysfunkcji śródbłonna, a następnie rozwoju i progresji miażdżycy oraz jej powikłań. Artykuł przeglądowy przedstawił wyczerpująco to zagadnienie w chorobach reumatycznych.

Niniejsza dysertacja podkreśla również kliniczne i praktyczne znaczenie przyszłych badań w tej dziedzinie, ponieważ dogłębne zrozumienie mechanizmów molekularnych leżących u podstaw dysfunkcji śródbłonna i przedwczesnego rozwoju miażdżycy może pomóc w doborze najlepszej i najskuteczniejszej metody zapobiegania i leczenia powikłań sercowo-naczyniowych w chorobach reumatycznych.

2. Summary

Background: It is now clearly recognized that patients with autoimmune rheumatic diseases are at high risk of developing cardiovascular disease (CVD) even in the absence of traditional risk factors, and this excessive risk is attributed to accelerated atherosclerosis due to chronic inflammation. Altered function of endothelium is currently considered the earliest stage of the development of atherosclerosis and can be easily assessed using numerous methods.

Endothelial dysfunction (ED) is characterized by higher burden of oxidative stress and *endothelial nitric oxide synthase* (eNOS) uncoupling appears to be an important mechanism contributing to increased reactive oxygen species generation. In contrast to the literature on endothelial dysfunction in rheumatoid arthritis and systemic lupus erythematosus, data on ED in primary Sjögren syndrome (pSS) are scarce and somewhat heterogeneous. Therefore, the aim of this contribution was to (*) evaluate if endothelial dysfunction occurs in patients with pSS and whether it is associated with the disease characteristics and activity, (*) comprehensively summarize data on the precocious atherosclerosis linked with autoimmune rheumatic diseases with focus on the role of eNOS uncoupling.

Methods: A total of 46 patients with pSS and 30 controls, without known cardiovascular disease, were enrolled in the study published as “*Cardiovascular risk and endothelial dysfunction in primary Sjögren syndrome is related to the disease activity*”. A flow-mediated-dilation (FMD) of the brachial artery, plasma concentrations of the nitric oxide metabolic pathway (ADMA, L-arginine, SDMA, cGMP), and markers of endothelial cell activation (PAI-1, sE-selectin) and angiogenesis (angiostatin, VEGF) were analyzed.

To prepare the review article „*Role of the eNOS uncoupling and the nitric oxide metabolic pathway in the pathogenesis of autoimmune rheumatic diseases*” Pubmed, Scopus and Google Scholar databases have been searched using following keywords: eNOS, eNOS uncoupling, endothelial dysfunction, atherosclerosis, oxidative stress, ADMA, arginase, tetrahydrobiopterin, L-arginine, rheumatoid arthritis, systemic lupus erythematosus, primary Sjögren syndrome.

Results: In the study “*Cardiovascular risk and endothelial dysfunction in primary Sjögren syndrome is related to the disease activity*” the FMD was significantly lower in pSS patients (7.56 ± 3.08 vs. $10.91 \pm 1.02\%$, $p = 0.043$) and positively correlated with the Ro/SS-A-antibodies ($r = 0.34$, $p = 0.03$), pulmonary involvement ($r = 0.52$, $p = 0.001$) and inversely with ADMA ($r = -0.35$, $p = 0.04$). Plasma ADMA, L-arginine and angiostatin levels were significantly higher in pSS patients (0.39 ± 0.08 vs. 0.36 ± 0.06 $\mu\text{mol/L}$, $p = 0.05$; 29.07 ± 6.7

vs. 25.4 ± 5.23 $\mu\text{mol/L}$, $p = 0.01$; 152.25 ± 60.99 vs. 120.07 ± 38.7 pg/mL , $p = 0.05$, respectively). ADMA was associated with ESSDAI ($r = 0.33$, $p = 0.02$), SCORE ($r = 0.57$, $p = 0.00003$) and focus score ($r = 0.38$, $p = 0.04$). In the multiple regression analysis, ESSDAI was significantly and independently associated with plasma ADMA levels ($\beta = 0.24$, $p = 0.04$).

177 articles including original research articles, review articles, recommendations and editorials were analyzed to prepare review article.

Conclusion: The original study demonstrated that patients with pSS free from CV risk factors and overt CV disease have impaired endothelial function which might indicate higher susceptibility to the development of atherosclerotic disease. Furthermore, the ED was associated with the measures of disease activity, which underline the pivotal role of the disease activity as a promoter of CVD in pSS. These observations are in line with current state of knowledge that the mechanisms responsible for accelerated atherosclerosis in autoimmune rheumatic diseases are related to the chronic systemic inflammation inherent to the primary disease process. However, the precise mechanisms driving atherosclerosis are likely to vary between different inflammatory diseases and as indicated in original study, many other mechanisms, including autoantibodies and the number of mononuclear cell infiltrates in small salivary glands (*focus score*) are likely to be involved.

Chronic systemic inflammation contributes significantly to oxidative stress, which via promotion of abnormal eNOS function can lead to endothelial dysfunction and subsequent atherosclerosis and its complications. The review article outlined comprehensively this issue in autoimmune rheumatic diseases.

This contribution underlined also the clinical and practical importance of the future research in this area as thorough understanding of molecular mechanisms underlying endothelial dysfunction and accelerated atherosclerosis may help to identify the best and most effective approach to prevent and manage CV complications in rheumatic diseases.