

Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich we Wrocławiu

Wydział Lekarski

## **ROZPRAWA DOKTORSKA**

lek. Marta Skoczyńska

Rola białek transportujących lipidy we krwi u chorych  
z rozpoznaniem reumatoidalnego zapalenia stawów

**Promotor**

Prof. dr hab. n. med. Piotr Wiland

Wrocław 2021

*Serdecznie dziękuję mojemu Promotorowi,  
Panu Profesorowi dr hab. n. med. Piotrowi Wilandowi,  
za cenne uwagi, życzliwość i niewyczerpaną cierpliwość*

*Niniejszą pracę dedykuję moim Rodzicom*

## Spis treści

<b>1. Wstęp</b> .....	<b>6</b>
1.1 Reumatoidalne zapalenie stawów (RZS) jako problem społeczny.....	6
1.2 Ryzyko sercowo-naczyniowe u chorych na RZS.....	7
1.2.1 Problem niedostatecznej kontroli czynników ryzyka sercowo-naczyniowego u chorych na RZS.....	7
1.2.2 Problem niedoszacowania ryzyka sercowo-naczyniowego u chorych na RZS.....	8
1.2.3 Paradoksy dotyczące związku pomiędzy tradycyjnymi czynnikami ryzyka sercowo- -naczyniowego a zdarzeniami sercowo-naczyniowymi u chorych na RZS.....	11
1.2.4 RZS jako niezależny czynnik ryzyka sercowo-naczyniowego.....	14
1.3 Wspólne podłoże miażdżycy i RZS.....	15
1.3.1 Zaburzenia autoimmunologiczne.....	16
1.3.2 Przewlekłe zapalenie.....	17
1.3.3 Otyłość i rola adipocytokin.....	20
1.3.4 Palenie papierosów.....	21
1.3.5 Czynniki genetyczne.....	22
1.3.6. Znaczenie leków.....	22
1.4 Wspólne biomarkery aktywności RZS i miażdżycy.....	23
1.4.1 Wskaźnik Multi-Biomarker Disease Activity.....	24
1.4.2 Białka transportujące i przekształcające lipidy jako potencjalne markery miażdżycy oraz RZS.....	25
1.4.2.1 Białko transportujące estry cholesterolu (CETP).....	25
1.4.2.2 Białko transportujące fosfolipidy (PLTP).....	29
1.4.2.3 Główne białka odpowiadające za przekształcanie lipidów.....	34
1.4.2.4 CETP i PLTP a ryzyko sercowo-naczyniowe.....	35
<b>2. Założenia i cel badań</b> .....	<b>40</b>
2.1 Założenia badań.....	40
2.2 Cel badań.....	41
<b>3. Materiał i metody</b> .....	<b>42</b>
3.1 Grupa badana i grupa kontrolna.....	42
3.2 Dane ankietowe.....	44
3.3 Wywiad i badanie fizykalne z oceną aktywności choroby.....	44
3.4 Analizy laboratoryjne.....	45
3.4.1 Oznaczenia lipidów.....	45

3.4.2	Oznaczenia białek związanych z transportem i przekształcaniem lipidów.....	46
3.5	Analiza statystyczna.....	47
<b>4.</b>	<b>Wyniki.....</b>	<b>49</b>
4.1	Charakterystyka grupy badanej i kontrolnej.....	49
4.2	Stężenie lipidów w grupie badanej i kontrolnej.....	51
4.3	Aktywność CETP i PLTP w grupie badanej i kontrolnej.....	53
4.4	Stężenie LPL i LCAT u kobiet w grupie badanej i kontrolnej.....	55
4.5	Zależności pomiędzy aktywnością CETP i PLTP a stężeniem lipidów w grupie badanej i kontrolnej.....	57
4.6	Zależności pomiędzy stężeniem LPL i LCAT a stężeniem lipidów u kobiet w grupie badanej i kontrolnej.....	60
4.7	Zależności pomiędzy oznaczanymi białkami transportującymi i przekształcającymi lipidy w grupie badanej i kontrolnej.....	61
4.8	Zależności pomiędzy oznaczanymi białkami a parametrami zapalenia w grupie badanej i kontrolnej.....	62
4.9	Zależności pomiędzy aktywnością RZS a lipidami oraz białkami związanymi z ich transportem i przekształcaniem.....	64
4.9.1	Aktywność RZS w grupie badanej.....	64
4.9.2	Stężenie lipidów w grupie badanej z uwzględnieniem aktywności RZS.....	66
4.9.3	Aktywność CETP i PLTP oraz stężenie LPL i LCAT z uwzględnieniem aktywności RZS.....	68
4.9.4	Zależności pomiędzy białkami transportującymi i przekształcającymi lipidy a parametrami aktywności RZS.....	68
4.10	Model regresji logistycznej.....	74
4.11	Oznaczane parametry białkowe jako potencjalne wskaźniki wykrywalności i aktywności RZS.....	75
<b>5.</b>	<b>Dyskusja.....</b>	<b>78</b>
5.1	Zaburzenia lipidowe u chorych na RZS.....	78
5.2	CETP i PLTP a odwrotny transport cholesterolu u chorych na RZS.....	80
5.3	Wpływ procesu zapalnego na stężenie i funkcje HDL u chorych na RZS.....	82
5.4	Białka odpowiedzialne za transport i przekształcanie lipidów a aktywność RZS.....	83
5.4.1	Białko transportujące estry cholesterolu (CETP).....	83
5.4.2	Białko transportujące fosfolipidy (PLTP).....	84
5.4.3	Lipaza lipoproteinowa (LPL).....	85

5.4.4 Acylotransferaza lecytynowo-cholesterolowa (LCAT).....	86
5.5. Potencjalne przyczyny zmniejszenia aktywności i stężeń białek związanych z transportem i przekształcaniem lipidów u chorych na RZS.....	87
5.5.1 Zmniejszenie syntezy białek na skutek działania cytokin prozapalnych.....	87
5.5.2 Redystrybucja białek do tkanek objętych zapaleniem.....	88
5.5.3 Sekwestracja białek przez autoprzeciwciała.....	89
5.6 Inne choroby związane ze zmniejszeniem aktywności i stężenia oznaczanych białek..	91
5.7 Badane białka jako kandydaci na markery RZS.....	92
5.8 Mocne strony i ograniczenia badania.....	93
<b>6. Wnioski.....</b>	<b>94</b>
<b>7. Piśmiennictwo.....</b>	<b>95</b>
<b>8. Streszczenie.....</b>	<b>116</b>
8.1. Streszczenie w języku polskim.....	116
8.2. Abstract (streszczenie w języku angielskim).....	117
<b>9. Wykaz skrótów.....</b>	<b>118</b>
<b>10. Wykaz tabel.....</b>	<b>122</b>
<b>11. Wykaz rycin.....</b>	<b>124</b>
<b>12. Załączniki.....</b>	<b>126</b>
12.1 Kryteria RZS według EULAR i ACR z 2010 roku.....	126
12.2 Zgoda na udział w badaniu.....	128
12.3 Zgoda na przetwarzanie danych osobowych.....	129
12.4 Ankieta.....	130
12.5 Formularz do oceny wskaźnika DAS28.....	133
12.6 Kwestionariusz HAQ.....	134

## 1. Wstęp

### 1.1 Reumatoidalne zapalenie stawów (RZS) jako problem społeczny

Reumatoidalne zapalenie stawów (RZS) jest przewlekłą zapalną chorobą stawów przebiegającą z okresami zaostrzeń i remisji. Podłożem etiologicznym RZS jest autoimmunizacja, do której dochodzi na skutek działania „spustowych” czynników środowiskowych u osób predysponowanych genetycznie. Klinicznie choroba objawia się jako zapalenie wielostawowe, z predylekcją do symetrycznego zajmowania małych stawów [1].

Według analizy z 2016 roku, w Polsce proporcja liczby zachorowań kobiet do mężczyzn wynosi 3,5:1 [2]. Różnica w częstości zachorowań zależna od płci jest w populacji polskiej znacznie większa, niż w amerykańskiej, w której kobiety chorują dwukrotnie częściej niż mężczyźni [3]. Około 2/3 polskich pacjentów jest mieszkańcami miast, co może wynikać z niedoszacowania choroby wśród mieszkańców wsi na skutek gorszego dostępu do systemu ochrony zdrowia [2].

RZS jest najczęstszą zapalną chorobą stawów osób dorosłych. Według danych epidemiologicznych, dotyczy około 0,5-1% populacji krajów wysoko rozwiniętych [1]. Średni wiek w momencie zachorowania wynosi 55 lat [3]. Zachorowalność na RZS w Polsce wykazuje tendencję wzrostową – pomiędzy 2008 i 2012 rokiem liczba rocznych przypadków zachorowań wzrosła od 1,4/1000 mieszkańców do 6,0/1000 mieszkańców [2]. Z kolei w amerykańskim badaniu kohortowym przeprowadzonym w okresie 1984-2014 całkowita zachorowalność na RZS utrzymuje się na stałym poziomie, ale obserwuje się wzrost zachorowalności na seronegatywne RZS przy spadku liczby zachorowań na seropozytywne RZS. Autorzy wiążą te zmiany ze zmianami częstości występowania czynników środowiskowych, takich jak otyłość i palenie papierosów [3].

Najważniejszym predyktorem ciężkiego przebiegu RZS jest utrzymująca się aktywność choroby [4]. Remisję choroby udaje się osiągnąć u większości leczonych chorych, jednak trwałą remisję obserwuje się u mniej niż połowa pacjentów [4,5]. U chorych, u których nie udało się uzyskać remisji lub małej aktywności choroby, przewlekły stan zapalny prowadzi do rozwoju deformacji i utraty funkcji stawów oraz niepełnosprawności i rezygnacji z aktywności zawodowej. W amerykańskim badaniu obserwacyjnym, po 4 latach choroby zatrudnionych było 62% chorych, a po 8 latach jedynie 35% chorych na RZS [6]. Oprócz nieodwracalnych zmian w zakresie narządu ruchu, przewlekły ogólnoustrojowy proces zapalny prowadzi do powikłań narządowych. Należą do nich choroby układu krążenia, stanowiące najważniejszą przyczynę zgonów chorych na RZS [1].

## 1.2 Ryzyko sercowo-naczyniowe u chorych na RZS

Chorzy na RZS żyją średnio 5-15 lat krócej niż osoby bez RZS [7]. Jak wynika z meta-analizy danych z okresu 50 lat, ogólna śmiertelność u chorych na RZS jest 1.5 razy większa niż w populacji ogólnej [8]. Dzięki postępowi terapii, wskaźnik ogólnej śmiertelności u chorych na RZS spada, jednak w tempie mniejszym, niż analogiczny wskaźnik w populacji ogólnej [8]. W związku z tym, różnica między śmiertelnością u chorych na RZS a śmiertelnością w populacji ogólnej pogłębia się [9]. Inaczej niż w populacji ogólnej, u chorych na RZS wskaźnik śmiertelności z przyczyn sercowo-naczyniowych, odpowiadających za 60% zgonów, pozostaje na stałym, wysokim poziomie [10]. Śmiertelność z przyczyn sercowo-naczyniowych u chorych na RZS jest, podobnie jak u chorych na cukrzycę, trzykrotnie większa niż w populacji ogólnej [11].

W grupie chorych na RZS obserwuje się dwukrotnie zwiększone ryzyko wystąpienia zawału mięśnia sercowego, udaru mózgu oraz zakrzepicy w porównaniu do populacji ogólnej [12–14]. Ryzyko zawału mięśnia sercowego u chorych na RZS odpowiada ryzyku stwierdzanemu w populacji bez RZS starszej o 10 lat [15]. U chorych na RZS zwiększone jest także ryzyko wystąpienia choroby niedokrwiennej serca o podstępym, niemym klinicznie przebiegu, oraz nagłej śmierci sercowej [16].

W badaniu tomografii komputerowej, u chorych na RZS 2,5-krotnie częściej obserwuje się zwapnienia w zakresie tętnic wieńcowych [17]. Różnice w częstości występowania bezobjawowej miażdżycy tętnic szyjnych pomiędzy chorymi na RZS a populacją ogólną największe są na wczesnym etapie choroby i związane z nasileniem zapalenia stawów wyrażonym wskaźnikiem DAS28 (*ang. disease activity score 28*, wskaźnik aktywności choroby 28) [18]. W ostatnich latach dowiedziono, że ryzyko wystąpienia choroby niedokrwiennej serca i zawału mięśniowego jest zwiększone już w fazie przedklinicznej RZS – wcześniej, niż dotychczas przypuszczano [19].

### 1.2.1 Problem niedostatecznej kontroli czynników ryzyka sercowo-naczyniowego u chorych na RZS

Wśród tzw. „tradycyjnych” czynników ryzyka sercowo-naczyniowego, w porównaniu do populacji ogólnej u chorych na RZS istotnie częściej występuje cukrzyca [OR (*ang. odds ratio*, iloraz szans) 1,74, 95% CI (*ang. confidence interval*, przedział ufności) 1,22-2,50,  $p = 0.003$ ], palenie papierosów [OR 1,56, 95% CI 1,35-1,80,  $p < 0.00001$ ] oraz zmniejszone stężenie cholesterolu HDL (*ang. high-density lipoprotein*, lipoproteiny o dużej gęstości)

[średnia ważona różnica, -17,72 mg/dl, 95% CI -18,55-(-17,08),  $p < 0.00001$ ], a także nadciśnienie tętnicze i otyłość [20,21].

Zgodnie z zaleceniami EULAR (*ang. European League Against Rheumatism*, Europejska Liga Przeciw Reumatyzmowi), ocena czynników ryzyka sercowo-naczyniowego należy do zadań lekarzy reumatologów. Powinna być przeprowadzana co najmniej raz na pięć lat lub przed każdą planowaną zmianą leczenia modyfikującego przebieg choroby [22].

Pomimo istotnego wpływu chorób sercowo-naczyniowych na śmiertelność u chorych na RZS, kontrola czynników ryzyka sercowo-naczyniowego oraz edukacja pacjentów jest często niewystarczająca. Gospodarka lipidowa jest okresowo oceniana u mniej niż połowy pacjentów [23]. Zaburzenia lipidowe oraz nadciśnienie tętnicze u chorych na RZS nie są dostatecznie kontrolowane. W jednym z badań obserwacyjnych ponad 80% chorych miało podwyższone stężenie cholesterolu LDL (*ang. low-density lipoprotein*, lipoproteiny o małej gęstości), a u około 1/3 stwierdzono podwyższone wartości ciśnienia tętniczego. U 50-86% pacjentów z RZS leczonych statynami lub lekami hipotensyjnymi nie osiągnięto celu terapii [24]. Nawet do 90% chorych na RZS nie jest świadoma zwiększonego ryzyka zdarzeń sercowo-naczyniowych związanych z chorobą podstawową [25].

### **1.2.2 Problem niedoszacowania ryzyka sercowo-naczyniowego u chorych na RZS**

Częstsze występowanie tzw. tradycyjnych czynników ryzyka czy ich niedostateczna kontrola nie tłumaczy jednak w sposób wystarczający zwiększonej śmiertelności z przyczyn sercowo-naczyniowych u chorych na RZS [26]. Jak wynika z badań obserwacyjnych, zastosowanie u chorych na RZS wskaźników ryzyka sercowo-naczyniowego przeznaczonych dla populacji ogólnej takich jak SCORE (*ang. Systemic Coronary Risk Evaluation*) czy FRS (*ang. Framingham Risk Score*) prowadzi do jego niedoszacowania [27,28].

W licznych badaniach udowodniono związek pomiędzy przewlekłym stanem zapalnym, obecnością manifestacji pozastawowych czy wartością wskaźnika funkcjonalnego HAQ (*ang. Health Assessment Questionnaire*, kwestionariusz oceny zdrowia), a zwiększonym ryzykiem sercowo-naczyniowym u chorych na RZS [29–31]. Czynniki te nie zostały jednak uwzględnione w „klasycznych” wskaźnikach ryzyka sercowo-naczyniowego.

W związku z obserwowanym niezależnym wpływem RZS na globalne ryzyko sercowo-naczyniowe, EULAR zaleca, aby wynik otrzymany przy pomocy wskaźników opracowanych dla populacji ogólnej pomnożyć razy 1,5. Poprzednio mnożnik ten stosowano jedynie u pacjentów z czasem trwania choroby powyżej 10 lat, u których stwierdzono obecność czynnika reumatoidalnego, przeciwciał antycytrulinowych lub objawów



pozastawowych. Według aktualnych wytycznych, należy go stosować u wszystkich chorych na RZS [22]. Pomimo zastosowania proponowanego mnożnika, według badań obserwacyjnych ryzyko sercowo-naczyniowe u chorych na RZS w dalszym ciągu jest niedoszacowane [27].

Z tego względu zaproponowano stworzenie kalkulatorów uwzględniających RZS jako czynnik ryzyka sercowo-naczyniowego. Jednym z przykładów takich kalkulatorów jest QRisk (*ang. QRESEARCH Cardiovascular Risk Algorithm*) [32]. Badania dotyczące wcześniejszych wersji kalkulatora, QRisk 1 i 2, wskazują na możliwość niedoszacowania ryzyka sercowo-naczyniowego u chorych na RZS [33,34]. Skuteczność QRisk 3 w szacowaniu ryzyka sercowo-naczyniowego u chorych na RZS jest podobna do skuteczności wskaźników, w których nie uwzględniono RZS jako czynnika ryzyka [35]. Corrales i wsp. wykazali, że łączne stosowanie QRISK 3 i SCORE umożliwia identyfikację większości chorych z dużym ryzykiem sercowo-naczyniowym [36].

Stworzono także kalkulator ryzyka sercowo-naczyniowego dedykowany wyłącznie dla chorych na RZS; ERS-RA (*ang. Expanded Cardiovascular Risk Prediction Score for Rheumatoid Arthritis*). Uwzględniono w nim zarówno tradycyjne czynniki ryzyka, jak i czynniki swoiste dla RZS [37]. W badaniu, w którym jednocześnie zastosowano ocenę ERS-RA, SCORE, FRS, QRisk 3 i przeprowadzono badanie ultrasonograficzne tętnic szyjnych, nie wykazano, aby ERS-RA miał przewagę nad pozostałymi wskaźnikami ryzyka sercowo-naczyniowego [35]. Crowson i wsp. także wykazali, że ERS-RA nie jest skuteczniejszym estymatorem ryzyka zdarzeń sercowo-naczyniowych niż wskaźniki przeznaczone dla populacji ogólnej. W związku z tym zaproponowali stosowanie u chorych na RZS wskaźników przeznaczonych dla populacji ogólnej, ale o 10 lat starszej [34]. Podsumowanie dotyczące dostępnych narzędzi do oceny ryzyka sercowo-naczyniowego u chorych na RZS przedstawiono w tabeli 1. [38].

Tabela 1. Charakterystyka wskaźników ryzyka sercowo-naczyniowego stosowanych u chorych na RZS [27,28,32,34–36,38]

	Wiek	Szacowane ryzyko	Czynniki brane pod uwagę	Uwagi
<b>SCORE (Systemic Coronary Evaluation)</b>	40-70 lat	10-letnie ryzyko śmierci z powodu chorób sercowo- naczyniowych	Wiek, płeć, palenie, stosunek TC:HDL-C, SBP.	Kalkulator przeznaczony dla populacji ogólnej (dostępna wersja dla populacji polskiej: Pol-SCORE 2015). Mnożnik 1.5 dla pacjentów

				chorych na RZS - wartości niedoszacowane. Proponowane stosowanie zmiennej: (wiek + 10 lat) u chorych na RZS.
<b>FRS (Framingham Risk Score)</b>	30-79 lat	10-letnie ryzyko śmierci z powodu chorób sercowo-naczyniowych	Wiek, płeć, palenie, TC, HDL-C, SBP, leczenie z powodu NT.	Kalkulator przeznaczony dla populacji ogólnej bez uprzednio rozpoznanej cukrzycy. Mnożnik 1.5 dla pacjentów chorych na RZS - wartości niedoszacowane.
<b>QRISK 3 (QRESEARCH Cardiovascular Risk Algorithm)</b>	25-84 lat	10-letnie ryzyko zachorowania na choroby sercowo-naczyniowe	Tradycyjne czynniki ryzyka (wiek, płeć, palenie, cukrzyca, leczenie z powodu NT; opcjonalnie: BMI, stosunek TC:HDL-C, SBP i SD z dwóch pomiarów SBP) i dodatkowo: narodowość, wywiad sercowo-naczyniowy od krewnych I stopnia < 60. r.ż., migotanie przedsionków, PChN (stadium III-V), zmienność SBP, migreny, RZS, TRU, ciężka choroba psychiczna, atypowe leki przeciwpsychotyczne, GKS, zaburzenia erekcji.	Kalkulator przeznaczony dla populacji Wielkiej Brytanii; uwzględniający RZS oraz leczenie sterydami jako czynniki ryzyka. Dane nie wskazują na przewagę QRISK 3 nad wskaźnikami przeznaczonymi dla populacji ogólnej. Łączne stosowanie QRisk 3 i SCORE pozwala na identyfikację większości chorych zagrożonych zdarzeniami sercowo-naczyniowymi.
<b>ERS-RA (Expanded Risk Score in Rheumatoid Arthritis)</b>	> 18 lat	10-letnie ryzyko zachorowania na choroby sercowo-naczyniowe	Tradycyjne czynniki ryzyka (wiek, płeć, cukrzyca, NT, zaburzenia lipidowe, palenie) i czynniki ryzyka swoiste dla RZS (CDAI, HAQ, dawka GKS, czas trwania choroby)	Kalkulator przeznaczony dla chorych na RZS. Dane nie wskazują na przewagę ERS-RA nad wskaźnikami przeznaczonymi dla populacji ogólnej.

BMI - *ang. body-mass index*, wskaźnik masy ciała; CDAI - *ang. clinical disease activity index*, kliniczny wskaźnik aktywności choroby; GKS - glikokortykosteroidy; HAQ - *ang. Health Assessment Questionnaire*, kwestionariusz oceny zdrowia; HDL-C - *ang. high-density lipoprotein cholesterol*, cholesterol HDL; NT - nadciśnienie tętnicze; PChN - przewlekła choroba nerek; RZS - reumatoidalne zapalenie stawów; SBP - *ang.*

*systolic blood pressure*, skurczowe ciśnienie tętnicze; SD - *ang. standard deviation*, odchylenie standardowe; TC - *ang. total cholesterol*, cholesterol całkowity; TRU - toczeń rumieniowaty układowy

Optymalny algorytm oceny ryzyka sercowo-naczyniowego u chorych na RZS nie został jak dotąd określony [39]. Większość wskaźników nie uwzględnia związanego z RZS przewlekłego zapalenia, które jest ważnym czynnikiem ryzyka chorób sercowo-naczyniowych. Dodatkowo interpretację wpływu poszczególnych czynników ryzyka na globalne ryzyko sercowo-naczyniowe przy pomocy narzędzi przeznaczonych dla populacji ogólnej utrudniają pewne odrębności występujące u chorych na RZS.

### **1.2.3 Paradoksy dotyczące związku pomiędzy tradycyjnymi czynnikami ryzyka sercowo-naczyniowego a zdarzeniami sercowo-naczyniowymi u chorych na RZS**

Pierwszym paradoksem dotyczącym wpływu tradycyjnych czynników ryzyka na częstość zdarzeń sercowo-naczyniowych u chorych na RZS jest palenie papierosów, które w tej grupie wydaje się być w znacznie mniejszym stopniu związane z ryzykiem zawału mięśnia sercowego niż w populacji ogólnej [40]. Nguyen i wsp. udowodnili jednak, że wpływ palenia na ryzyko zawału mięśnia sercowego w grupie chorych na RZS jest istotny. Dokonali tego poprzez korekcję analizy statystycznej uwzględniając błąd selekcji (*ang. index event bias*) wynikający z faktu, że palenie przyczynia się do częstszego występowania zarówno miażdżycy, jak i RZS [41].

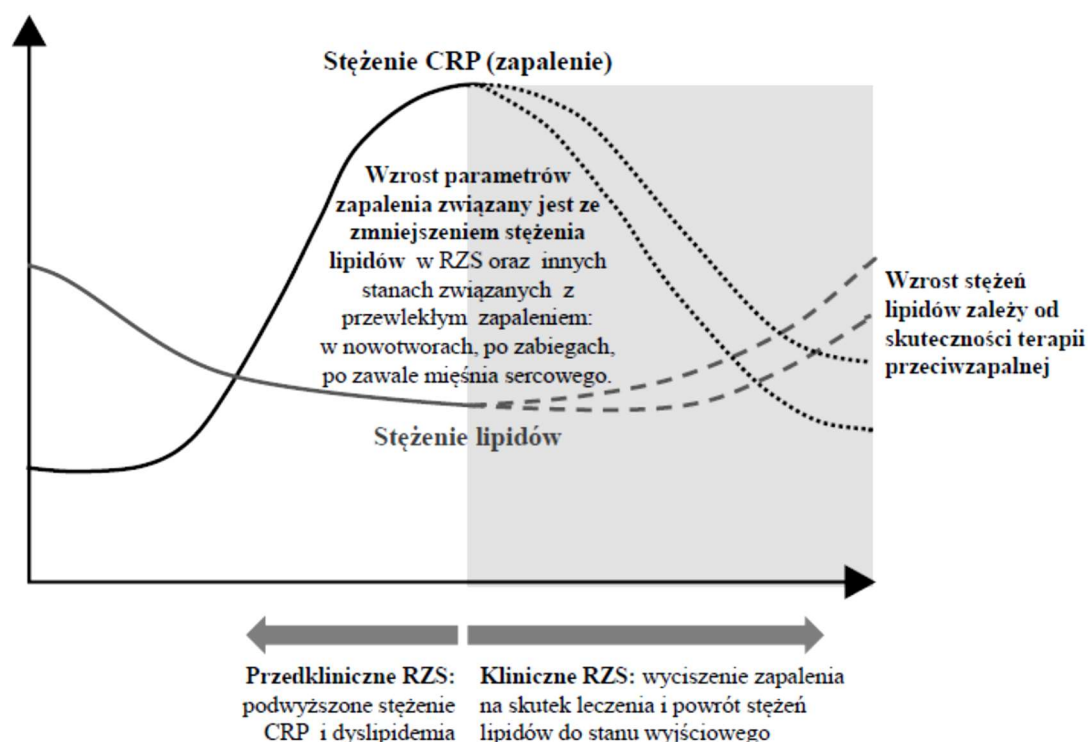
Kolejny paradoks związany jest z kacheksją reumatoidalną i ogranicza przydatność BMI jako parametru korelującego z ryzykiem sercowo-naczyniowym u chorych na RZS [42]. Obecność zwiększonej ilości tkanki tłuszczowej poprzez wpływ na obecność przewlekłego stanu zapalnego o niewielkim nasileniu nasila zarówno RZS, jak i miażdżycę [42,43]. Interpretację rzeczywistego stanu metabolicznego pacjenta utrudnia jednak kacheksja reumatoidalna. U chorych na RZS, pomimo spadku bezwzględnej masy ciała, dochodzi do niekorzystnych zmian w proporcjach tkanki tłuszczowej do tkanki mięśniowej, co prowadzi do względnego wzrostu zawartości tkanki tłuszczowej. Zarówno otyłość (BMI >30 kg/m<sup>2</sup>) [44], jak i niedowaga (BMI <18.5 kg/m<sup>2</sup>) [45] wiążą się u nich ze zwiększonym ryzykiem sercowo-naczyniowym. W związku z tym, niektórzy autorzy postulują wprowadzenie osobnych norm BMI dla chorych na RZS. Jak dotąd nie stwierdzono, aby parametry takie jak obwód talii czy stosunek obwodu talii do obwodu bioder miały u chorych na RZS przewagę nad BMI w ocenie ryzyka sercowo-naczyniowego [46].

Ostatni paradoks dotyczy odmiennego profilu zaburzeń lipidowych u chorych z aktywnym RZS w porównaniu do populacji ogólnej. W populacji osób nieobciążonych RZS, za pro-aterogenny uznaje się profil lipidowy, w którym stwierdza się zwiększone stężenie TC (*ang. total cholesterol*, cholesterol całkowity) i LDL-C (*ang. low-density lipoprotein cholesterol*, cholesterol LDL) oraz zmniejszone stężenie HDL-C (*ang. high-density lipoprotein cholesterol*, cholesterol HDL). Jak wynika z badań retrospektywnych, taki profil obserwuje się w przedklinicznej fazie RZS częściej, niż w populacji ogólnej [47]. U chorych z aktywnym RZS, poza zmniejszonym stężeniem HDL-C, obserwuje się zmniejszone stężenie TC i LDL-C. Małe stężenia cholesterolu u chorych na RZS korelują z podwyższonymi stężeniami CRP (*ang. C-reactive protein*, białko C-reaktywne) [48]. W toku leczenia prowadzącego do zahamowania procesu zapalnego następuje wzrost stężenia lipidów (tabela 2., rycina 1.) [39].

Tabela 2. Zmiany CRP i lipidogramu zależnie od fazy i leczenia RZS [49]

	Przedkliniczne RZS	Aktywne, nieleczone RZS	Leczone RZS
<b>CRP</b>	w normie	↑↑↑	↓↓
<b>Cholesterol całkowity</b>	↑	↓	↑
<b>Cholesterol HDL</b>	↓	↓↓	↑
<b>Triglicerydy</b>	↑	↓	↑

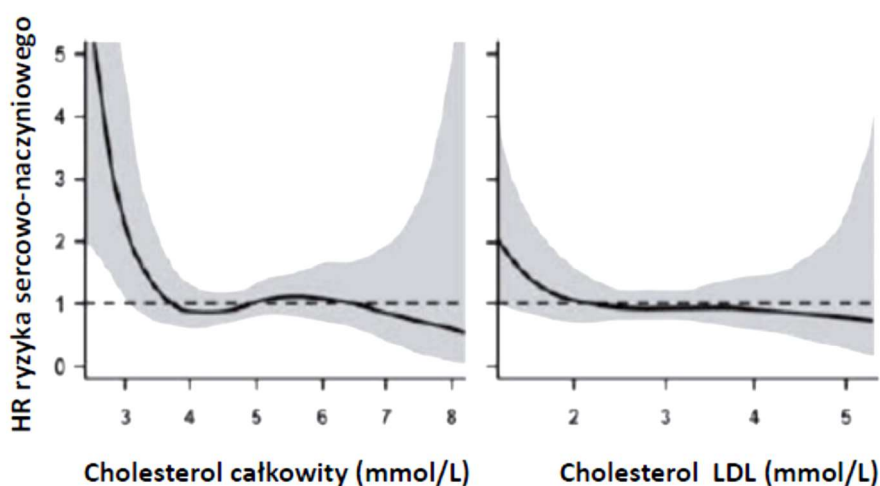
CRP - *ang. C-reactive protein*, białko C-reaktywne; RZS - reumatoidalne zapalenie stawów



Rycina 1. Odwrotna zależność pomiędzy stężeniem CRP i lipidów [39]

CRP - *ang. C-reactive protein*, białko C-reaktywne; RZS - reumatoidalne zapalenie stawów

Małe stężenie TC i LDL-C u chorych z aktywnym RZS wiąże się jednak z istotnie zwiększonym ryzykiem zawału mięśnia sercowego, co zostało określone mianem „paradoksu lipidowego” [50]. W przeciwieństwie do liniowych logarytmicznych korelacji pomiędzy stężeniem TC i LDL-C a ryzykiem sercowo-naczyniowym obserwowanych w populacji ogólnej, u chorych na RZS zależność ta na wykresie przypomina raczej kształt litery U (rycina 2.) [50,51]. Z tego względu EULAR zaleca oznaczanie lipidogramu w okresach małej aktywności lub remisji choroby [22]. Część autorów zaleca ocenę stosunku TG/HDL lub TC/HDL w rutynowej ocenie ryzyka sercowo-naczyniowego, ponieważ wykazano, że wskaźniki te lepiej korelują z ryzykiem sercowo-naczyniowym niż wartości poszczególnych frakcji cholesterolu [22,49].



Rycina 2. Zależność pomiędzy ryzykiem sercowo-naczyniowym a stężeniem cholesterolu całkowitego lub LDL u chorych na RZS; zacienione obszary oznaczają 95% CI [50]

CI - *ang. confidence interval*, przedział ufności; HR - *ang. hazard ratio*, współczynnik ryzyka; LDL - *ang. low-density lipoprotein*, lipoproteiny o małej gęstości

„Paradoks lipidowy” obserwowany jest także w innych stanach związanych z obecnością reakcji zapalnej, takich jak sepsa, nowotwory, urazy czy zabiegi operacyjne [49]. Mechanizmy odpowiadające za „paradoks lipidowy” w aktywnym RZS nie są dobrze poznane. Podejrzewa się udział czynników genetycznych, aktywacji układu siateczkowo-śródbłonkowego, zmniejszonej syntezy i zwiększonego klirensu lipidów oraz zużycia cholesterolu jako substratu odpowiedzi zapalnej [49,52,53]. Pro-miażdżycowe właściwości lipoprotein w warunkach zapalenia u chorych na RZS mogą wynikać ze zmian jakościowych w zakresie ich składu i struktury na skutek zmian aktywności białek biorących udział w metabolizmie lipidów [49].

#### **1.2.4 RZS jako niezależny czynnik ryzyka sercowo-naczyniowego**

Zgodnie z hipotezą niektórych autorów, głównym czynnikiem który wpływa na niedoszacowanie ryzyka sercowo-naczyniowego u chorych na RZS jest przewlekły stan zapalny [54]. Część autorów wskazuje, że uogólniony proces zapalny przyczynia się do przyspieszonego rozwoju miażdżycy nie tylko pośrednio poprzez niekorzystny wpływ na tradycyjne czynniki ryzyka sercowo-naczyniowego, ale także bezpośrednio i niezależnie od nich [55,56].

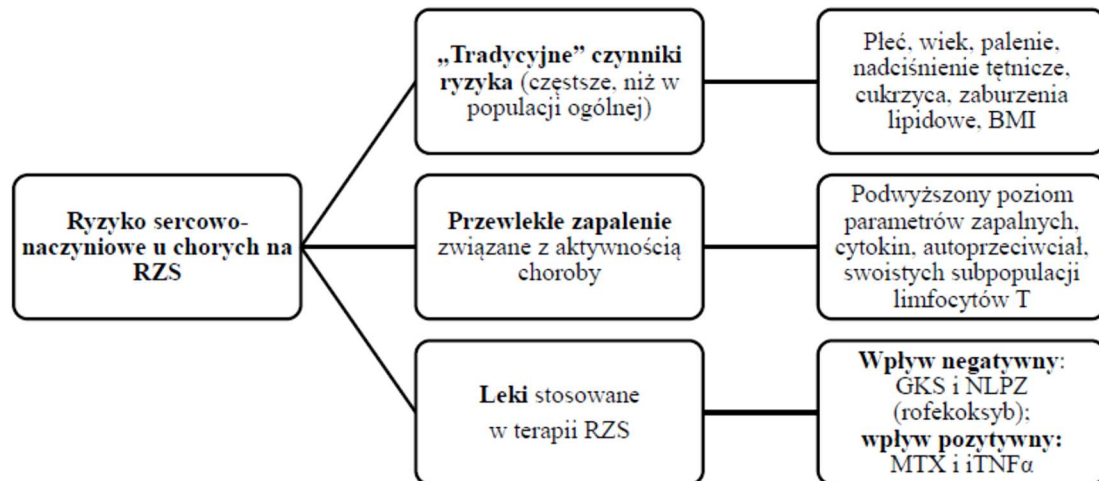
W duńskim badaniu obserwacyjnym potwierdzono zależność pomiędzy zwiększonym ryzykiem wystąpienia zdarzeń sercowo-naczyniowych a ciężkością przebiegu RZS [57]. Zawały mięśnia sercowego i udary mózgu występują u chorych na RZS nie tylko częściej, ale przebiegają w tej grupie pacjentów ciężiej w porównaniu do populacji ogólnej. Ciężki przebieg zdarzeń sercowo-naczyniowych u chorych na RZS jest związany w większym stopniu z nasileniem stanu zapalnego niż czasem trwania choroby [58]. W szczególności skumulowany czas trwania zaostrzeń RZS silnie koreluje z dużym ryzykiem sercowo-naczyniowym [59].

Redukcję ryzyka sercowo-naczyniowego można osiągnąć poprzez ścisłą kontrolę aktywności RZS. Remisja lub mała aktywność choroby związane są z istotnym spadkiem ryzyka wystąpienia pierwszego incydentu sercowo-naczyniowego [60]. Parametry takie jak liczna bolesnych i obrzękniętych stawów oraz ocena aktywności choroby przez pacjenta i lekarza wchodzące w skład wskaźnika CDAI mogą pośrednio odzwierciedlać ryzyko sercowo-naczyniowe [61]. Choć CDAI jest klinicznym wskaźnikiem aktywności RZS nie uwzględniającym wartości parametrów zapalnych, spadek jego wartości o 10 punktów związany jest ze spadkiem ryzyka sercowo-naczyniowego o 21% [62]. Remisja zapalenia stawów jest związana z istotnym spadkiem ryzyka rozwoju zarówno klinicznej, jak i subklinicznej miażdżycy [40,63].

Oprócz przewlekłego zapalenia, na zwiększone ryzyko sercowo-naczyniowe mogą mieć wpływ także inne czynniki związane z RZS, takie jak obecność przeciwciał antytrulinowych, czynnika reumatoidalnego, objawów pozastawowych, niepełnosprawności czy autoimmunologicznej niedoczynności tarczycy [64–68]. Przewlekłe zapalenie pozostaje jednak najważniejszym modyfikowalnym czynnikiem ryzyka sercowo-naczyniowego związanym z RZS.

W celu skutecznej prewencji zdarzeń sercowo-naczyniowych u pacjentów z RZS konieczna jest równoległa ścisła kontrola tradycyjnych czynników ryzyka sercowo-naczyniowego oraz aktywności choroby [40]. U chorych na RZS rozwój zarówno

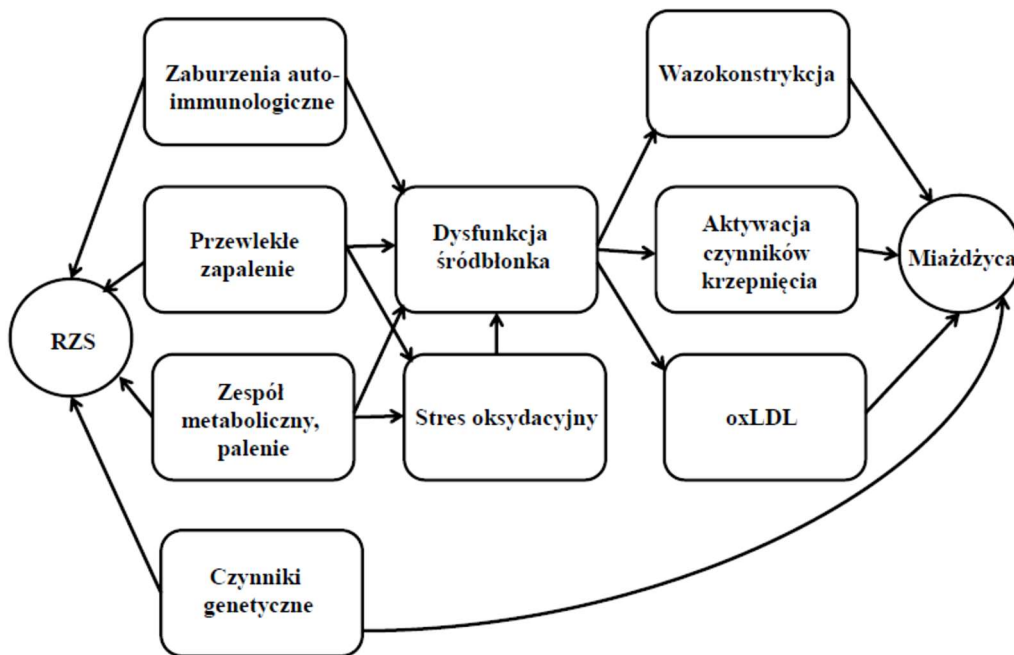
subklinicznej, jak i klinicznej miażdżycy zależy od tradycyjnych czynników ryzyka sercowo-naczyniowego, czynników związanych z RZS, leków stosowanych w chorobie podstawowej oraz interakcji między nimi (rycina 3.) [39,54].



Rycina 3. Czynniki ryzyka sercowo-naczyniowego w RZS [39,54]

### 1.3 Wspólne podłoże miażdżycy i RZS

Mahmoudi zalicza miażdżycę do pozastawowych manifestacji RZS [69]. Z kolei RZS jest zaliczane do niezależnych czynników ryzyka miażdżycy [26,70]. Eksperymentalny model RZS u myszy może służyć jako model przyspieszonej miażdżycy [71]. U podłoża obu schorzeń leży wiele wspólnych elementów, do których należą czynniki genetyczne, środowiskowe, zaburzenia autoimmunologiczne, metaboliczne i przewlekłe zapalenie. Zarówno u chorych na RZS, jak i u chorych z miażdżycą obserwuje się wysoki poziom parametrów zapalenia, stresu oksydacyjnego, dysfunkcji śródbłonna i aktywacji czynników krzepnięcia [72] (rycina 4.).



Rycina 4. Związek RZS z miażdżycą [38]

ox-LDL - ang. *oxidized low density lipoprotein*, utlenione lipoproteiny o małej gęstości

### 1.3.1 Zaburzenia autoimmunologiczne

Cytrulinacja i karbamyłacja, będące potranslacyjną modyfikacją białek związaną z produkcją autoprzeciwciał, wydają się odgrywać rolę w patogenezie zarówno RZS jak i miażdżycy. Obecność przeciwciał antycytrulinowych, uznanych za czynnik predykcyjny ciężkiego przebiegu RZS, jednocześnie związana jest z częstszym występowaniem choroby niedokrwiennej serca [OR 2.8, 95% CI 1.19-6.56,  $p = 0.009$ ] u chorych na RZS, także po uwzględnieniu wpływu czynników zakłócających [73]. Wykazano związek pomiędzy poziomem przeciwciał przeciwko cytrulinowanemu fibrynogenowi ( $p < 0.001$ ) oraz cytrulinowanej wimentynie ( $p = 0.034$ ) a stopniem kalcyfikacji aorty u kobiet chorych na RZS [74]. Udowodniono także zależność pomiędzy obecnością przeciwciał antycytrulinowych u chorych ze zwiększonym stężeniem CRP a występowaniem subklinicznej miażdżycy [40]. Opisywano związek pomiędzy obecnością krążących przeciwciał antycytrulinowych i czynnika reumatoidalnego a dysfunkcją śródbłonna [75].

Według niektórych autorów, obecne w blaszce miażdżycowej cytrulinowane epitopy łącząc się z przeciwciałami antycytrulinowymi w immunokompleksy mogą indukować miejscową reakcję zapalną oraz progresję blaszki miażdżycowej [54,74]. Inni autorzy sugerują, że przeciwciała antycytrulinowe upośledzają procesy przeciwzapalne w zakresie blaszki miażdżycowej, co prowadzi do jej destabilizacji [56]. Za udziałem przeciwciał antycytrulinowych w patogenezie miażdżycy może przemawiać fakt, że wzrost ich miana



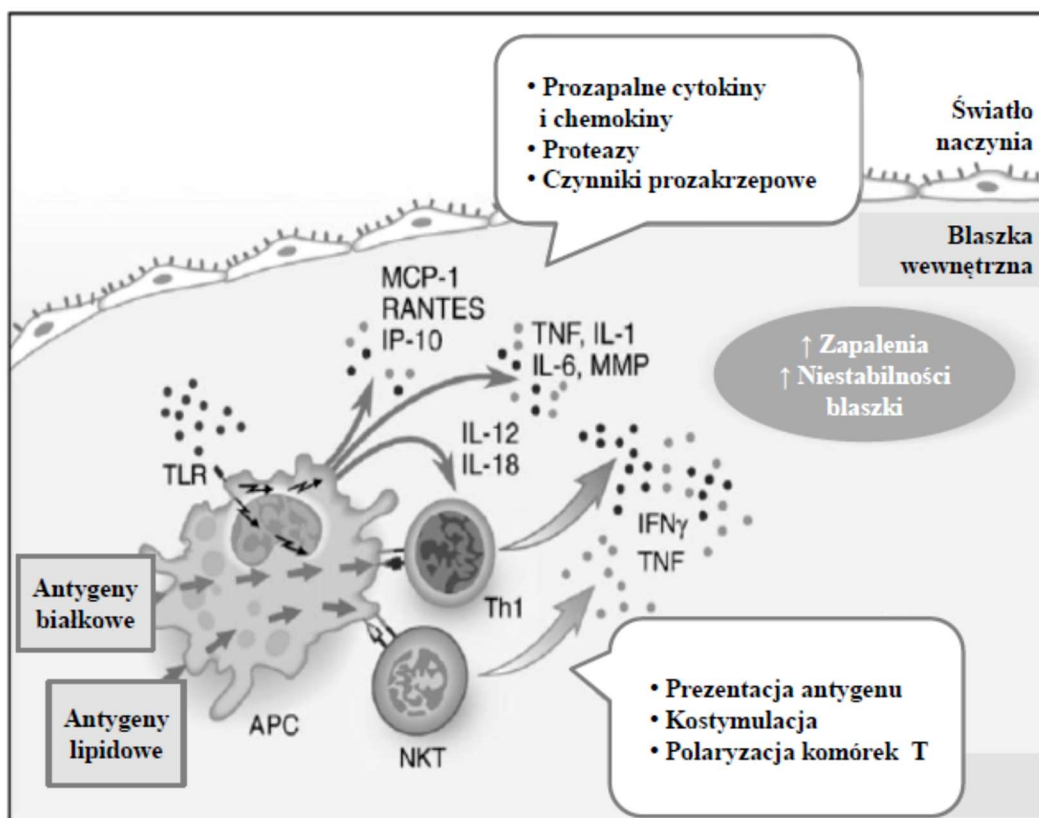
poprzedza wzrost stężenia cytokin prozapalnych [76], a obecność tych przeciwciał stwierdza się zarówno w fazie przedklinicznej RZS [76], jak i w fazie przedklinicznej miażdżycy [65].

Wykazano także związek pomiędzy progresją miażdżycy a obecnością innych przeciwciał występujących u chorych na RZS częściej niż w populacji ogólnej, tj. przeciwciał antykarbamylowych i antyfosfolipidowych (antykardiolipinowych oraz przeciwko  $\beta$ 2-glikoproteinie I) [77–79].

### 1.3.2 Przewlekłe zapalenie

Przewlekłe zapalenie jest podstawowym mechanizmem łączącym patogenezę miażdżycy oraz RZS [71]. Zwiększone stężenie CRP wiąże się ze zwiększeniem ryzyka zawału mięśnia sercowego zarówno w populacji ogólnej [80], jak i u chorych na RZS [81]. Opisano liniową zależność pomiędzy stężeniem CRP oraz wartością OB (odczyn Biernackiego) a grubością błony wewnętrznej w zakresie tętnic szyjnych niezależnie od obecności tradycyjnych czynników ryzyka u chorych na RZS [82]. Duża aktywność RZS związana jest z niestabilnością blaszki miażdżycowej i ryzykiem jej pęknięcia [83].

Czynniki zapalne modulują rozwój miażdżycy pośrednio poprzez wpływ na tradycyjne czynniki ryzyka i bezpośrednio poprzez wpływ na ścianę naczyń [84]. Biorą udział w każdym etapie rozwoju blaszki miażdżycowej, od jej formowania i mechanizmów prowadzących do jej destabilizacji, aż do jej pęknięcia [85]. W blaszce miażdżycowej wykazano obecność nacieków złożonych z makrofagów i limfocytów T, zwiększone stężenie cytokin związanych z odpowiedzią Th1, takich jak TNF- $\alpha$  (*ang. tumor necrosis factor alpha*, czynnik martwicy nowotworów alfa), IL (interleukiny) -1, -6, -18, a także cytokin związanych z odpowiedzią Th17 oraz metaloproteinaz [86]. Wydzielane przez komórki prezentujące antygen IL-18 wraz z IL-12 odgrywają główną rolę w różnicowaniu limfocytów T do komórek Th1. W przypadku niestabilnych i objawowych blaszek miażdżycowych u ludzi stwierdzono zwiększone stężenie IL-18 we wszystkich typach komórek występujących w blaszce. W badaniach epidemiologicznych wykazano związek IL-18 ze zwiększonym ryzykiem zawału mięśnia sercowego, restenozy tętnic wieńcowych i zatrzymania krążenia [87]. Udział procesów immunologicznych w patogenezie miażdżycy przedstawiono na rycinie 5.

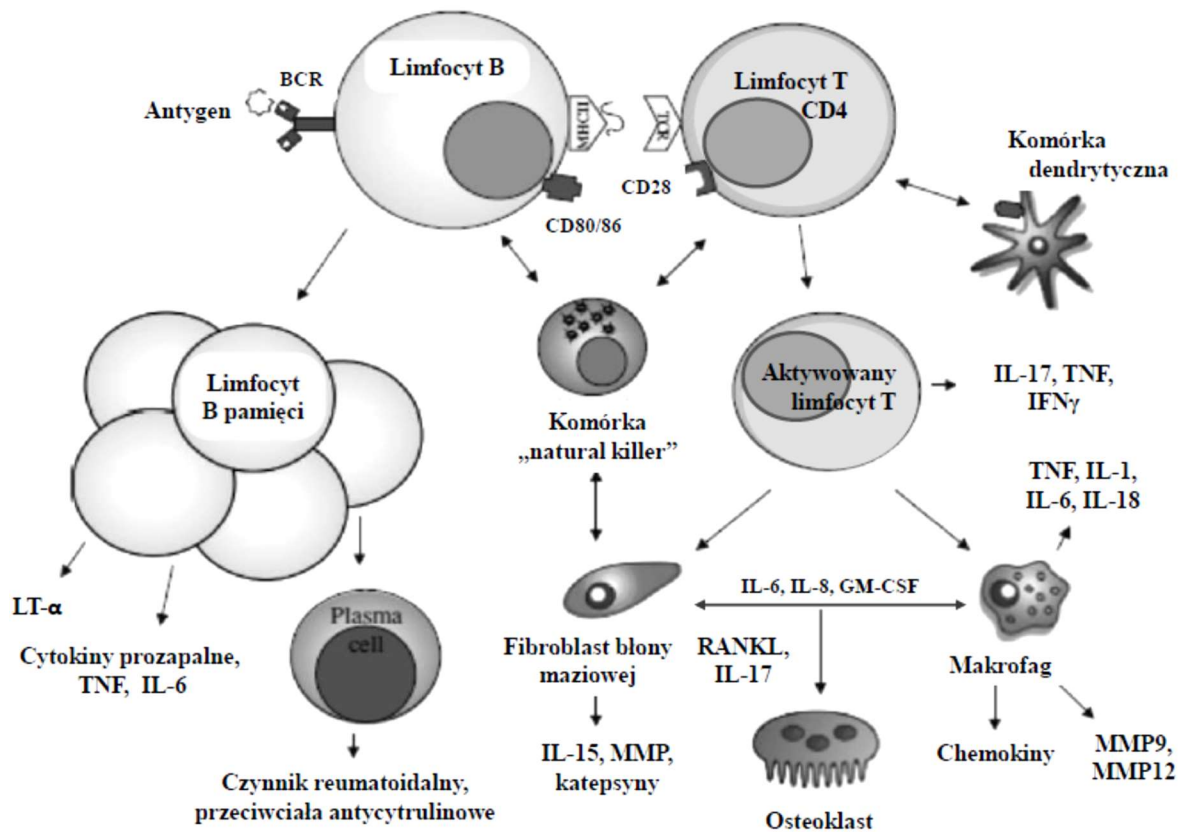


Rycina 5. Mechanizmy immunologiczne biorące udział w patogenezie miażdżycy [88]

APC - *ang. antigen presenting cell*, komórka prezentująca antygen; IFN $\gamma$  – interferon gamma; IL – interleukina; IP-10 - *ang. interferon gamma-induced protein 10*, białko 10 indukowane przez interferon gamma; MCP-1- *ang. monocyte chemoattractant protein-1*, białko chemotaktyczne monocytów 1; MMP - *ang. matrix metalloproteinase*, metaloproteinaza macierzy pozakomórkowej; NKT - *ang. natural killer T-cells*, limfocyty NKT; RANTES - *ang. regulated on activation, normal T-cell expressed and secreted*, inaczej chemokina CCL5; TLR - *ang. „toll-like” receptor*, receptor „toll-like”; TNF - *ang. tumor necrosis factor*, czynnik martwicy nowotworów

Podobne elementy odpowiedzi układu odpornościowego uczestniczą także w procesie zapalnym toczącym się w błonie maziowej u chorych na RZS (rycina 6.). W jego przebiegu dochodzi do przerostu błony maziowej, miejscowej hipoksji, angiogenezy oraz nacieku komórek zapalnych (limfocytów T CD4+, limfocytów B, plazmocytów, komórek NK (*ang. Natural Killer*, nieswoiste komórki limfoidalne, „urodzeni” zabójcy), komórek dendrytycznych i komórek tłuszczowych) produkujących cytokiny prozapalne i metaloproteinazy. Aktywowane komórki T wydzielają cytokiny Th1-zależne (IFN- $\gamma$  (interferon gamma), IL-2, IL-12, IL-18, TNF- $\alpha$  oraz GM-CSF (*ang. granulocyte-macrophage colony-stimulating factor*, czynnik stymulujący tworzenie kolonii granulocytów i makrofagów)), a komórki Th17 – IL-17. Następnie aktywowane są makrofagi, które są głównym źródłem cytokin pro-zapalnych

takich jak IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-12 i TNF- $\alpha$ . Cytokiny te indukują ekspresję RANKL (*ang. receptor activator for nuclear factor  $\kappa$  B ligand*, ligand aktywatora receptora jądrowego czynnika  $\kappa$  B) na limfocytach T, różnicowanie limfocytów B oraz uwalnianie metaloproteinaz [89].



Rycina 6. Mechanizmy immunologiczne biorące udział w patogenezie RZS [89]

BCR - *ang. B cell receptor*, receptor dla limfocytów B; GM-CSF - *ang. granulocyte-macrophage colony-stimulating factor*, czynnik stymulujący tworzenie kolonii granulocytów i makrofagów; IFN $\gamma$  – interferon gamma; IL - interleukina; LT- $\alpha$  – limfotoksyna alfa; MHC - *ang. major histocompatibility complex*, główny układ zgodności tkankowej; MMP - *ang. matrix metalloproteinase*, metaloproteinaza macierzy pozakomórkowej; RANKL - *ang. receptor activator for nuclear factor  $\kappa$  B ligand*, ligand aktywatora receptora jądrowego czynnika  $\kappa$  B; TCR - *ang. T cell receptor*, receptor dla limfocytów T; TNF - *ang. tumor necrosis factor*, czynnik martwicy nowotworów

Potwierdzono związek cytokin odgrywających główną rolę w patogenezie RZS, tzn. TNF- $\alpha$ , IL-1, IL-6, IL-18 z częstszym występowaniem chorób sercowo-naczyniowych zarówno u chorych na RZS, jak i w populacji ogólnej [90,91]. Cytokiny prozapalne obecne w zwiększonym stężeniu u chorych na RZS związane są z przyspieszoną miażdżycą oraz zdarzeniami sercowo-naczyniowymi poprzez udział w mechanizmach prowadzących do rozwoju dysfunkcji śródbłonna, insulinooporności, zaburzeń lipidowych, aktywacji kaskady

krzepnięcia oraz destabilizacji blaszki miażdżycowej [92]. Obserwowano zależność pomiędzy stężeniem cytokin prozapalnych, a niestabilnością i pękaniem blaszki miażdżycowej, które klinicznie przekładało się na nagłe zgony sercowe w przebiegu uprzednio bezobjawowej miażdżycy [40,93]. Procesy zapalne zachodzące w niestabilnej blaszce miażdżycowej przypominają procesy zachodzące w błonie maziowej chorych na RZS, a mediatory degradacji kolagenu uczestniczą zarówno w erozji chrząstki i kości w stawach chorych na RZS, jak i erozji blaszki miażdżycowej [94,95].

W patogenezie miażdżycy oraz RZS ważną rolę odgrywają także elementy komórkowe. Wykazano związek między liczbą swoistych subpopulacji komórek jednojądrzastych, takich jak limfocyty T CD4+CD28- czy CD4+CD28-CD57+CD56+ oraz monocytów CD14highCD16+ we krwi a nasileniem zmian miażdżycowych [96,97]. Liczba krążących komórek progenitorowych śródbłonna, od której zależy funkcja śródbłonna, jest u chorych na RZS zmniejszona w surowicy, ale zwiększona w stawach objętych zapaleniem [98]. Jedną z hipotez zakłada ich „uwięzienie” w zajętych stawach w związku z nadmierną miejscową waskularyzacją. Komórki te miałyby napędzać lokalny proces zapalny poprzez ciągłą stymulację angiogenezy, która sprzyja stałemu napływowi komórek układu immunologicznego [99]. Z drugiej strony, zmniejszona liczba progenitorowych komórek śródbłonna we krwi chorych na RZS wiąże się z dysfunkcją śródbłonna, wzrostem przepuszczalności dla komórek odpowiedzi immunologicznej oraz wzrostem ekspresji cząstek adhezyjnych i cytokin prozapalnych w ścianie naczyń [100].

### **1.3.3 Otyłość i rola adipocytokin**

Otyłość jest niezależnym czynnikiem ryzyka miażdżycy oraz czynnikiem modulującym inne czynniki ryzyka, takie jak insulinooporność, zaburzenia lipidowe czy nadciśnienie tętnicze [101]. U chorych na RZS otyłość występuje częściej niż w populacji ogólnej [21]. Z jednej strony związana jest z dysfunkcją śródbłonna i progresją miażdżycy, a z drugiej z większą aktywnością choroby i mniejszą szansą na osiągnięcie remisji RZS [43,102].

Tkanka tłuszczowa stanowi jedno ze źródeł czynników prozapalnych, takich jak CRP, IL-6 czy TNF- $\alpha$ , które odgrywają centralną rolę w patogenezie zarówno miażdżycy, jak i RZS [103]. Ponadto, zarówno tkanka tłuszczowa, jak i błona maziowa są miejscem produkcji adipocytokin – cząsteczek o plejotropowym działaniu, związanych z modulacją przewlekłego stanu zapalnego o niewielkim nasileniu [30]. Jak wynika z ostatnich badań, otyłość poprzez

związek z przewlekłym procesem zapalnym indukowanym przez adipocytokiny może odgrywać kluczową rolę w patogenezie zarówno miażdżycy, jak i RZS (tabela 3.) [104,105].

Aktywność fizyczna zmniejsza ryzyko otyłości i związana jest ze zmniejszeniem stężenia CRP [106] oraz poprawą parametrów funkcji śródbłonka [107]. U chorych na RZS aktywność fizyczna jest jednak znacznie ograniczona, m.in. z uwagi na współwystępujący ból, zmęczenie, zaburzenia snu oraz depresję, a także brak odpowiedniej edukacji [108,109].

Tabela 3. Związek adipocytokin z miażdżycą i RZS [105]

<b>Adipocytokina</b>	<b>Rola w RZS</b>	<b>Rola w miażdżycy</b>
<b>Leptyna</b>	- ↑ proliferacja limfocytów T, anergia komórek Treg, nadmierna odpowiedź na TCR - ↑ aktywacja makrofagów, neutrofilów, komórek NK - ↑ TNF, IL-1 $\beta$ , IL-12	- działanie pro-miażdżycowe - dysfunkcja śródbłonka - ↑ insulino oporność
<b>Adiponektyna</b>	- ↑ IL-6, IL-8 - ↑ MMP1 i MMP13 w fibroblastach błony maziowej	- ↓ sztywność ściany tętnic - ↓ układ renina-angiotensyna - ↓ insulino oporność
<b>Wisfatyna</b>	- ↑ TNF, IL-1 $\beta$ , IL-6 - ↑ chemotaksja limfocytów	- dysfunkcja śródbłonka - destabilizacja blaszki miażdżycowej - ↑ insulino oporność
<b>Rezystyna</b>	- ↑ TNF, IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-12	- działanie pro-miażdżycowe - dysfunkcja śródbłonka - ↑ insulino oporność

Treg - komórki T regulatorowe; TCR - *ang. T cell receptor*, receptor komórek T; NK - *ang. natural killer*, komórki „urodzeni zabójcy”; TNF - *ang. tumor necrosis factor*, czynnik martwicy nowotworów; IL - interleukina; MMP - *ang. matrix metalloproteinase*, metaloproteinaza macierzy pozakomórkowej

### 1.3.4 Palenie papierosów

U chorych na RZS, palenie papierosów, podobnie do otyłości, wpływa na progresję miażdżycy bezpośrednio poprzez wpływ na dysfunkcję śródbłonka oraz pośrednio poprzez wpływ na aktywność procesu zapalnego. Palenie papierosów wiąże się z częstszym występowaniem czynnika reumatoidalnego i przeciwciał antycytrulinowych oraz większym nasileniem stresu oksydacyjnego [110–112]. Zgodnie z wynikami dużej meta-analizy, palenie

wiąże się także z gorszą odpowiedzią na leczenie inhibitorami TNF- $\alpha$  [113]. Jak wspomniano wcześniej, udział palenia papierosów w rozwoju miażdżycy paradoksalnie może być „ukryty” w analizach regresji wieloczynnikowej ze względu na jego jednoczesny udział w patogenezie miażdżycy. Palenie papierosów związane jest z dwukrotnie zwiększonym ryzykiem zachorowania na RZS oraz jego cięższym przebiegiem [114,115]. Z kolei zaprzestanie palenia papierosów wiąże się u chorych na RZS z mniejszą aktywnością choroby, poprawą w zakresie profilu lipidowego oraz zmniejszonym ryzykiem zdarzeń sercowo-naczyniowych, co wydaje się potwierdzać jego znaczenie dla rozwoju miażdżycy [116].

### 1.3.5 Czynniki genetyczne

Torkamani i wsp. wykazali istnienie 55 polimorfizmów pojedynczego nukleotydu, które związane są jednocześnie ze zwiększonym ryzykiem wystąpienia RZS oraz choroby wieńcowej [117]. Wykazano ponadto pośredni wpływ polimorfizmów genów TNF- $\alpha$ , IL-6 oraz wspólnego epitopu HLA-DRB1\*01 (*ang. human leukocyte antigens DRB1\*01*, ludzkie antygeny leukocytarne DRB1\*01) na ryzyko chorób sercowo-naczyniowych u chorych na RZS. Obejmuje on zaburzenia lipidowe, dysfunkcję śródbłónka oraz uogólniony proces zapalny [118–120].

### 1.3.6. Znaczenie leków

Pośrednie dowody na związek RZS z miażdżycą pochodzą z badań oceniających odległy wpływ leków modyfikujących przebieg choroby (LMPCh) na częstość występowania zdarzeń sercowo-naczyniowych u chorych na RZS. Jednym z takich badań jest aktualnie toczące się badanie TARGET (*ang. Treatments Against RA and Effects on FDG-PET/CT*).

Leki stosowane w terapii RZS z jednej strony mogą wpływać na zmniejszenie ryzyka zdarzeń sercowo-naczyniowych poprzez wyciszenie procesu zapalnego, a z drugiej strony zwiększać to ryzyko poprzez niekorzystny wpływ na tradycyjne czynniki ryzyka. Autorzy opracowania EULAR podkreślają, iż leki takie jak NLPZ (niesterydowe leki przeciwzapalne), GKS (glikokortykosteroidy), cyklosporyna czy leflunomid stosowane w terapii RZS mogą przyczyniać się do rozwoju nadciśnienia tętniczego [22]. Nadciśnienie tętnicze u chorych na RZS wiąże się z ryzykiem zawału mięśnia sercowego większym o 84% w porównaniu do chorych bez RZS [121]. NLPZ oraz GKS mogą się przyczyniać do rozwoju miażdżycy głównie poprzez ich niekorzystny wpływ na metabolizm glukozy i lipidów. Leczenie NLPZ oraz GKS wiąże się u chorych na RZS ze zwiększonym ryzykiem zgonu z przyczyn sercowo-

naczyniowych [122,123]. Zgodnie z rekomendacjami EULAR, stosowanie NLPZ powinno być ograniczone do minimum [22].

Stosowanie metotreksatu związane jest z kolei z około 21% spadkiem ryzyka sercowo-naczyniowego u chorych na RZS, pomimo zwiększonego ryzyka hiperhomocysteinemii [124]. Inhibitory TNF- $\alpha$  powodują spadek ryzyka sercowo-naczyniowego aż o 54%, głównie poprzez hamowanie reakcji zapalnej [122]. Inne skutki działania inhibitorów TNF- $\alpha$  obejmują poprawę funkcji śródbłonka i profilu lipidowego oraz zmniejszenie insulinooporności i ryzyka zakrzepicy [92]. Efekty biologicznych leków modyfikujących przebieg choroby są na tyle korzystne, że część autorów zastanawia się nad możliwością stosowania takiej terapii w populacji bez RZS obciążonej miażdżycą, w celu stabilizacji blaszki miażdżycowej i prewencji zdarzeń sercowo-naczyniowych [71,95].

Statyny u chorych na RZS poprawiają funkcję śródbłonka i prowadzą u nich do spadku stężenia lipidów i zmniejszenia ryzyka sercowo-naczyniowego porównywalnie jak w populacji ogólnej [125,126]. Dodatkowo statyny zmniejszają parametry zapalne oraz aktywność choroby u chorych na RZS [127]. Ich immunomodulujące działanie obejmuje przesunięcie równowagi Th1/Th2 w kierunku przeciwzapalnej odpowiedzi Th2, zmniejszenie produkcji wolnych rodników tlenowych, zmniejszenie hamującego wpływu oxLDL (*ang. oxidized LDL*, utlenione LDL) na ekspresję syntazy tlenku azotu oraz hamowanie procesów zakrzepowych w obrębie blaszki miażdżycowej [71].

#### **1.4 Wspólne biomarkery aktywności RZS i miażdżycy**

Ciężki przebieg RZS związany jest z cięższym przebiegiem miażdżycy i większym ryzykiem zdarzeń sercowo-naczyniowych. Dotychczas dostępne wskaźniki i kalkulatory w sposób niedostateczny odzwierciedlają realne ryzyko sercowo-naczyniowe u chorych na RZS.

Z uwagi na mnogość czynników ryzyka sercowo-naczyniowego u chorych na RZS oraz czasochłonność ich oceny, poszukiwane są swoiste biomarkery, które odzwierciedlałyby ryzyko sercowo-naczyniowe w tej grupie chorych [22,70,128,129]. Ryzyko sercowo-naczyniowe u chorych na RZS jest ściśle związane z aktywnością choroby. Pomimo postępów w terapii RZS, trwałą remisję kliniczną udaje się osiągnąć u mniej niż 50% pacjentów. Nasuwa to potrzebę ściślejszego monitorowania aktywności RZS oraz personalizacji terapii [129].

Ze względu na zmiany metaboliczne obserwowane u chorych na RZS, związane z uogólnionym zapaleniem i pośrednio wpływające na ryzyko sercowo-naczyniowe, markery

odzwierciedlające nasilenie ogólnoustrojowego zapalenia poszukiwane są wśród parametrów metabolicznych [89].

#### 1.4.1 Wskaźnik Multi-Biomarker Disease Activity

Do proponowanych nowych markerów RZS należą adipocytokiny takie jak adiponektyna, wisfatyna oraz leptyna, których poziom koreluje z progresją radiograficzną. Stężenie rezystyny oraz leptyny brane jest pod uwagę w panelu MBDA (*ang. multi-biomarker disease activity*, panel markerów aktywności choroby), który jest walidowanym narzędziem służącym do oceny aktywności choroby. Wartość wskaźnika MBDA określa się na podstawie wzoru uwzględniającego stężenia 12 biomarkerów surowicy. Poza stężeniem adipocytokin, do branych pod uwagę parametrów należą stężenie CRP, SAA (surowiczy amyloid A), VCAM-1 (*ang. vascular cell adhesion molecule 1*, cząsteczka adhezyjna komórek naczyniowych 1), Il-6, TNF-R1 (*ang. tumor necrosis factor receptor 1*, receptor czynnika martwicy nowotworów 1), białka chrząstki, metaloproteinazy i czynniki wzrostu. Wartość wskaźnika MBDA mieści się w przedziale 0-100 ( $\leq 25$  – remisja; 26–29 – mała aktywność choroby; 30–44 – umiarkowana aktywność choroby;  $>44$  – duża aktywność choroby). Według meta-analizy z 2019 roku, MBDA wykazuje umiarkowaną zbieżność z DAS28 i słabszą korelację z innymi wskaźnikami aktywności choroby: CDAI, SDAI (*ang. simplified activity index*, uproszczony wskaźnik aktywności choroby) oraz RAPID3 (*ang. routine assessment of patient index data 3*, rutynowa ocena indeksowanych danych pacjenta, wersja 3) [130].

Podwyższone wartości parametrów zapalnych stanowią często jedno z kryteriów włączenia chorych do prób klinicznych. Uwzględnianie wskaźnika MBDA w kryteriach włączenia może pozwolić na zwiększenie rekrutacji i objęcie leczeniem pacjentów z niskimi stężeniami CRP, którzy mogliby odnieść korzyści z terapii [131]. Decyzje terapeutyczne podejmowane z zastosowaniem wskaźnika MBDA są o 12% częściej trafne niż decyzje podejmowane bez zastosowania MBDA [132]. Narzędzie to może być pomocne w przewidywaniu trwałej remisji choroby i progresji radiograficznej [133,134]. Wskaźnik MBDA może być wykorzystywany w stratyfikacji chorych według szans na skuteczną deeskalację terapii biologicznej oraz służyć zarówno indywidualizacji leczenia, jak i zmniejszaniu kosztów terapii [135]. Większe wartości MBDA związane są z częstszym występowaniem zawału mięśnia sercowego oraz infekcji wymagających hospitalizacji i mogą być pomocne w wyłonieniu grup chorych wymagających szczególnie ścisłego nadzoru [136].



Część autorów wskazuje jednak na ograniczenia wskaźnika MDBA jako predyktora odpowiedzi na leczenie czy progresji radiologicznej [137]. Wskaźnik MBDA słabo koreluje z cechami zapalenia wykazanymi za pomocą badań obrazowych takich jak ultrasonografia czy rezonans magnetyczny [138]. Panel MBDA koreluje z progresją radiograficzną po roku od pojawienia się pierwszych objawów RZS w mniejszym stopniu niż miano przeciwciał antycytrulinowych [139].

#### **1.4.2 Białka transportujące i przekształcające lipidy jako potencjalne markery miażdżycy oraz RZS**

Do grupy kandydatów - markerów miażdżycy oraz aktywności zapalnej w RZS należą białka odpowiedzialne za transport oraz przekształcanie lipidów. Do białek transportujących lipidy należy CETP (*ang. cholesteryl ester transfer protein*, białko transportujące estry cholesterolu) i PLTP (*ang. phospholipid transfer protein*, białko transportujące fosfolipidy). Wraz z BPI (*ang. bactericidal/permeability-increasing protein*, białko bakteriobójcze/zwiększające przepuszczalność) oraz LBP (*ang. lipopolysaccharide binding protein*, białko wiążące lipopolisacharyd) wchodzi w skład rodziny białek pełniących funkcje immunologiczne [140]. Zmiany stężenia i aktywności tych białek obserwowano zarówno w zaburzeniach metabolicznych, jak i w przebiegu procesów zapalnych.

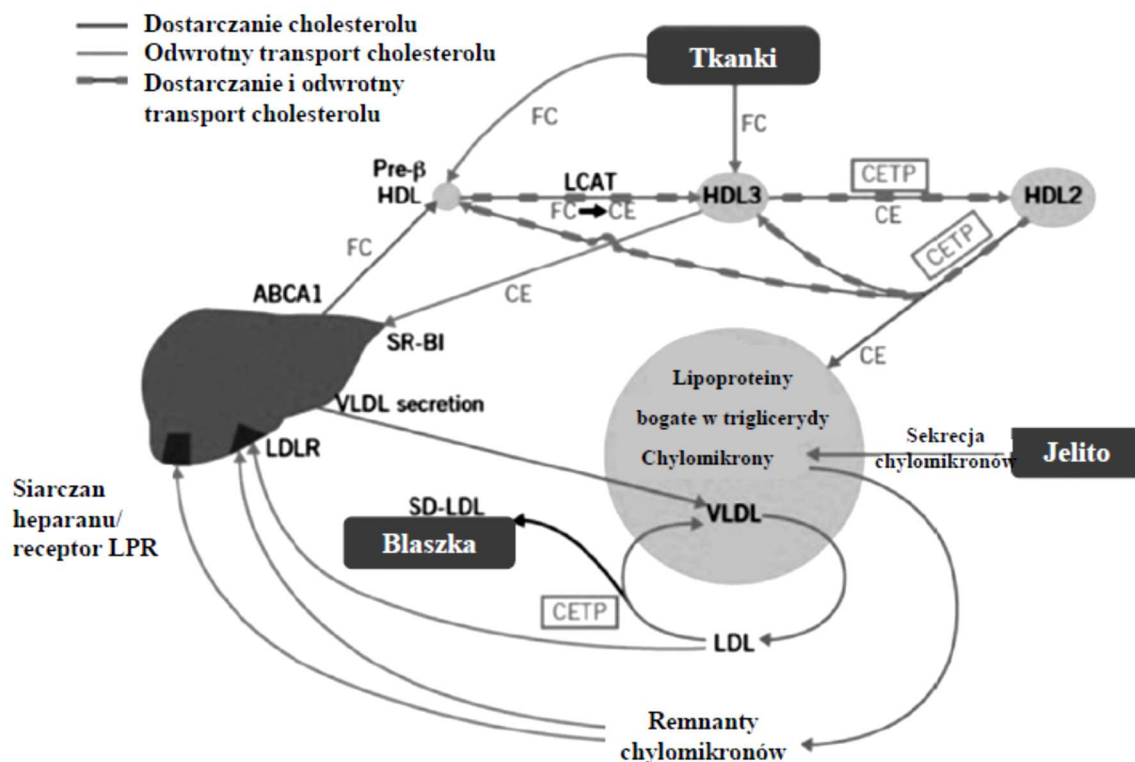
Poza CETP i PLTP, odpowiedzialnymi za przenoszenie lipidów pomiędzy lipoproteinami, główną rolę w metabolizmie lipidów odgrywają białka odpowiedzialne za przekształcanie lipidów wchodzących w skład lipoprotein. Należy do nich LCAT (*ang. lecithin: cholesterol acetyltransferase*, acylotransferaza lecytynowo-cholesterolowa), białko odpowiedzialne za estryfikację cholesterolu w cząsteczkach HDL, oraz LPL (lipaza lipoproteinowa), białko odpowiedzialne za hydrolizę triglicerydów w cząsteczkach lipoprotein bogatych w triglicerydy.

##### **1.4.2.1 Białko transportujące estry cholesterolu (CETP)**

CETP jest hydrofobową glikoproteina o ciężarze 66-74 kDa i kształcie „banana”. Składa się z N-końcowej i C-końcowej domeny oraz centralnej części zawierającej miejsce aktywne zdolne do wiązania estrów cholesterolu i triglicerydów [141,142]. Głównym źródłem CETP w surowicy jest wątroba [143], ale białko to powstaje w wielu tkankach organizmu, m.in. w jelicie cienkim, śledzionie, nerkach, nadnerczach, mięśniu sercowym, mięśniach szkieletowych oraz tkance tłuszczowej [144].

CETP pośredniczy w transporcie estrów cholesterolu, głównie z cząsteczek HDL do chylomikronów oraz lipoprotein bogatych w apoB (apolipoproteina B) takich jak LDL, IDL (*ang. intermediate density lipoprotein*, lipoproteiny o pośredniej gęstości) i VLDL (*ang. very low density lipoprotein*, lipoproteiny o bardzo małej gęstości), a także w transporcie triglicerydów w odwrotnym kierunku. Poprzez wpływ na skład i budowę HDL oraz innych lipoprotein, CETP determinuje ich funkcje [145].

Cząsteczki HDL transportują związki cholesterolu z tkanek do wątroby w celu ich eliminacji (tzw. odwrotny transport cholesterolu) lub do tkanek w celu syntezy związków steroidowych, chroniąc naczynia przed procesem miażdżycowym. Zarówno ostre jak i przewlekłe stany zapalne związane są z modyfikacjami budowy HDL oraz apoA1 (apolipoproteiny A1) [146]. CETP bierze udział w remodelowaniu HDL (rycina 7.). U chorych na RZS wykazano odwrotną zależność pomiędzy aktywnością CETP a stężeniem HDL-C oraz apoA1 [147].



Rycina 7. Rola CETP w transporcie cholesterolu [148]

ABCA1 - *ang. adenosine triphosphate (ATP) binding cassette A1*, białko A1 wiążące trójfosforany adenozyne; CE - *ang. cholesteryl ester*, estry cholesterolu; CETP - *ang. cholesteryl ester transfer protein*, białko transportujące estry cholesterolu; FC - *ang. free (non-esterified) cholesterol*, wolny (niezestryfikowany) cholesterol; HDL - *ang. high-density lipoprotein*, lipoproteiny o dużej gęstości (rosnąco według rozmiaru: pre-β<HDL-3<HDL-2); LRP - *ang. LDL receptor-like protein*, białko podobne do receptora LDL; LCAT - *ang. lecithin:cholesteryl acyltransferase*, acylotransferaza lecytinowo-cholesterolowa; LDL - *ang. low-density*

*lipoprotein*; lipoproteiny o małej gęstości; LDLR - *ang. LDL receptor*, receptor dla LDL; SD-LDL - *ang. small, dense LDL*, małe, gęste LDL; SRB1 - *ang. scavenger receptor class B type 1*, receptor zmiatający klasy B typu 1, VLDL – *ang. very low-density lipoprotein*, lipoproteiny o bardzo małej gęstości

Udział CETP w indukowaniu i akceleracji procesu miażdżycowego nie jest jednak oczywisty. Dane pochodzące z badań eksperymentalnych u myszy są sprzeczne (tabela 4.) [149]. CETP odgrywa rolę ochronną przed miażdżycą w warunkach hipertriglicydemii, nadekspresji LCAT (*ang. lecithin: cholesterol acetyltransferase*, acylotransferaza lecytynowo-cholesterolowa), nadmiaru apoB związanego z niedoborem LPL (lipazy lipoproteinowej), cukrzycy, otyłości, niedoboru hormonów płciowych i SRB1 (*ang. scavenger receptor class B type 1*, receptor zmiatający klasy B typu 1). Z kolei w przypadku znacznej nadekspresji CETP, ciężkiej hipercholesterolemii związanej z delecją genów dla receptorów LDL i apoE (apolipoproteina E) czy nadciśnienia tętniczego, CETP wydaje się przyspieszać miażdżycę [149]. Tanigawa i wsp. wykazali, że wpływ CETP na odwrotny transport cholesterolu zależy od prawidłowego funkcjonowania szlaku receptora LDL [150]. Gdy szlak ten funkcjonuje prawidłowo, CETP odgrywa rolę ochronną, natomiast w sytuacji jego nieprawidłowego funkcjonowania, CETP wykazuje działanie pro-miażdżycowe [149].

Tabela 4. Wpływ CETP na rozwój miażdżycy [149]

<b>Pro-miażdżycowe działanie CETP</b>	<b>Przeciwmiażdżycowe działanie CETP</b>
- ↑ stężenia LDL-C	- ↑ aktywności LCAT
- ↓ stężenia HDL-C	- ↑ selektywnego wychwytu HDL-CE przez SRB1
	- ↓ zawartości estrów cholesterolu w makrofagach
	- ↓ stężenia krążących ox-LDL
	- ↑ wychwytu HDL-C w wątrobie

CETP - *ang. cholesteryl-ester transfer protein*, białko transportujące estry cholesterolu; HDL-C - *ang. high-density lipoprotein cholesterol*, cholesterol HDL; HDL-CE - *ang. HDL-cholesteryl ester*, estry cholesterolu HDL; LCAT - *ang. lecithin: cholesterol acetyltransferase*, acylotransferaza lecytynowo-cholesterolowa; LDL-C - *ang. low-density lipoprotein cholesterol*, cholesterol LDL; ox-LDL - *ang. oxidized low density lipoprotein*, utlenione lipoproteiny o małej gęstości; SRB1 - *ang. scavenger receptor class B type 1*, receptor zmiatający klasy B typu 1

W badaniach u ludzi wykazano, że wzrost aktywności CETP związany jest ze zmniejszeniem stężenia cholesterolu HDL. Udowodniono zależność pomiędzy zwiększoną

aktywnością CETP a dysfunkcją śródbłonna, zwiększonym ryzykiem nagłej śmierci sercowej oraz wystąpienia ponownego incydentu sercowo-naczyniowego u chorych w ostrej fazie zawału mięśnia sercowego [151]. Stwierdzono także związek pomiędzy podwyższonym poziomem CETP a młodym wiekiem chorych z zawałem mięśnia sercowego [152].

Jednocześnie CETP może pełnić rolę regulacyjną w ostrej reakcji zapalnej. Myszy pozbawione genu CETP wykazują większą ekspresję cytokin prozapalnych (IL-6 oraz TNF- $\alpha$ ) oraz większą śmiertelność po podaniu LPS (lipopolisacharydu), co wskazuje na rolę CETP w pierwszej linii obrony przed nadmierną produkcją mediatorów prozapalnych [153]. Cholesterol HDL odgrywa istotną rolę w mechanizmach odporności wrodzonej poprzez wychwyt lipidów wchodzących w skład komórek bakteryjnych [154]. Wykazano, że zmniejszenie stężenia HDL-C w przebiegu ogólnoustrojowej reakcji zapalnej u chorych na sepsę, zależne od polimorfizmów genu kodującego CETP, związane jest ze zwiększeniem ryzyka niewydolności wielonarządowej i zgonu [155]. U chorych na sepsę stężenie CETP w pierwszych dniach hospitalizacji odwrotnie koreluje ze śmiertelnością [156]. Wyniki badań nad związkiem CETP z CRP są niejednoznaczne. Według niektórych badań zahamowanie CETP związane jest z niewielkim zwiększeniem stężenia CRP [157,158]. Według innych badań, to wzrost aktywności CETP wiąże się ze zwiększeniem stężenia CRP [159].

Rola CETP w przewlekłych procesach zapalnych stawów nie została dotychczas dobrze scharakteryzowana. Do tej pory ukazały się jedynie trzy oryginalne prace dotyczące roli CETP u chorych na RZS [147,160,161]. W jednej z nich, wykazano zmniejszoną aktywność i stężenie CETP u 101 chorych na RZS z grupy badanej w porównaniu do 115 zdrowych osób z grupy kontrolnej. Jednocześnie wykazano związek pomiędzy zmniejszoną aktywnością i stężeniem CETP a zwiększonym ryzykiem sercowo-naczyniowym według SCORE. Po podzieleniu grupy badanej na podgrupy zależnie od stosowanego leczenia wykazano, że aktywność i stężenie CETP zmniejszone były jedynie u chorych przyjmujących glikokortykosteroidy w ostatnich trzech miesiącach. Nie zaobserwowano zależności pomiędzy aktywnością i stężeniem CETP a czasem trwania i aktywnością RZS [160].

Kolejne badanie przeprowadzono na grupie 44 chorych na RZS, podzielonej na zależnie od aktywności choroby na 27 pacjentów z aktywną oraz 17 pacjentów z nieaktywną chorobą ( $DAS28 \geq 3,2$  vs  $DAS28 < 3,2$ ), oraz kontrolnej grupie 33 zdrowych osób. U osób z aktywną chorobą wykazano zwiększoną aktywność CETP w porównaniu do osób zdrowych lub z nieaktywnym RZS. Zależność pomiędzy aktywnością choroby oraz aktywnością CETP wykazano także po uwzględnieniu wpływu leczenia glikokortykosteroidami. Rozbieżność wyników względem wcześniej przytoczonego badania przypisano działaniu

glikokortykosteroidów na zwiększenie stężenia HDL-C poprzez obniżenie aktywności CETP [147].

Związek zwiększonej aktywności CETP z obecnością RZS wydają się potwierdzać wyniki ostatniego badania, przeprowadzonego na grupie 33 chorych i kontrolnej grupie 13 zdrowych osób. W badaniu wykazano u chorych na RZS zwiększoną aktywność CETP, współistniejącą ze zmianami w budowie i właściwościach lipoprotein. Do obserwowanych zmian należało nagromadzenie triglicerydów oraz apoA1 w HDL, zmniejszenie frakcji HDL2 oraz zwiększenie oksydacji i glikacji LDL. Wykazane odchylenia przypominały zmiany struktury lipidów obserwowane u chorych na chorobę niedokrwienną serca, związane z dużą częstością występowania zdarzeń sercowo-naczyniowych [161].

#### 1.4.2.2 Białko transportujące fosfolipidy (PLTP)

PLTP jest białkiem o ciężarze 81 kDa i kształcie „bumerangu”. Składa się z dwóch domen o podobnych strukturach trzeciorzędowych. Każda domena ma miejsce wiązania dla grupy acylowej cząsteczki fosfolipidu [162,163]. Około 20% krążącego w surowicy PLTP pochodzi z wątroby [164]. Największą ekspresję PLTP wykazano w płucach, tarczycy, jajnikach i łożysku [162]. Dużą ekspresję PLTP stwierdzono także w tkance tłuszczowej [165], makrofagach [166] i blaszkach miażdżycowych, a w szczególności w komórkach piankowatych [167]. Wykazano także ekspresję PLTP w ośrodkowym układzie nerwowym. Podobnie do CETP, PLTP należy do rodziny białek transportujących lipidy, jednak pomimo podobnej budowy, pełni odmienne funkcje (tabela 5.) [168,169].

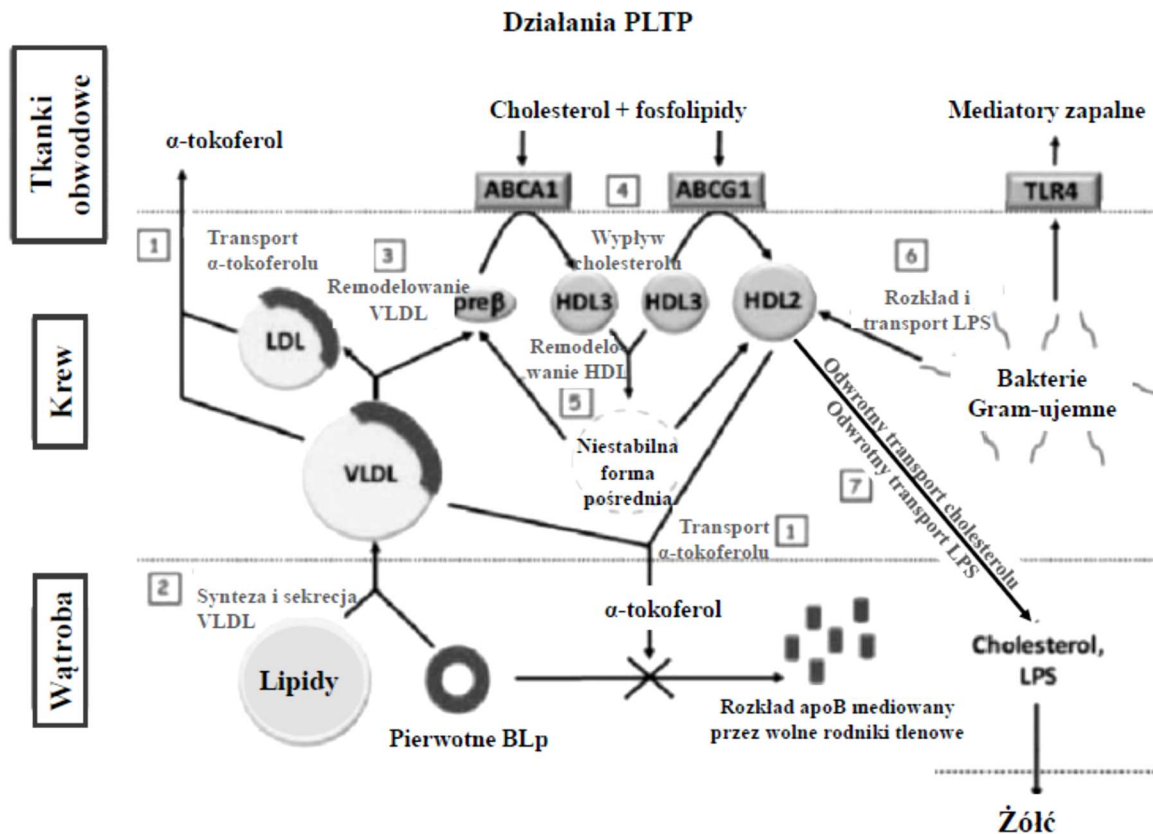
Tabela 5. Funkcje PLTP [169]

<b>Funkcja</b>	<b>Znaczenie fizjologiczne</b>
1. Transport fosfolipidów	Transport remnantów powstałych w trakcie lipolizy lipoprotein bogatych w triglicerydy
2. Metabolizm HDL	Powstawanie pre $\beta$ -HDL
3. Transport $\alpha$ -tokoferolu	Podtrzymywanie prawidłowej funkcji śródbłonna
4. Transport LPS	Wyciszanie reakcji zapalnej
5. Transport cholesterolu	Transport remnantów powstałych w trakcie lipolizy lipoprotein bogatych w triglicerydy
6. Wychwyt cholesterolu	Odwrotny transport cholesterolu

HDL - *ang. high-density lipoprotein*, lipoproteiny o dużej gęstości; LPS - lipopolisacharyd; PLTP - *ang. phospholipid transfer protein*, białko transportujące fosfolipidy; pre $\beta$ -HDL – frakcja pre $\beta$  HDL

PLTP wpływa na skład i osoczowe stężenia HDL poprzez transport fosfolipidów pomiędzy cząsteczkami HDL oraz transport fosfolipidów z innych lipoprotein do HDL [170]. Aktywność PLTP koreluje ze stężeniem triglicerydów, apoB i apoE oraz odwrotnie koreluje ze stężeniem HDL i apoA1 [171]. Niedobór PLTP prowadzi do zmniejszenia ogólnego stężenia HDL. Nadekspresja PLTP może powodować zmniejszenie lub zwiększenie stężenia HDL (dane rozbieżne) oraz wzrost frakcji pre $\beta$ -HDL, stanowiącej ważny akceptor dla cholesterolu [172].

Oprócz fosfolipidów, PLTP przenosi także nieestryfikowany cholesterol, diacylglicerydy, alfa-tokoferol, cerebrozydy oraz lipopolisacharydy. Transport ten odbywa się pomiędzy lipoproteinami oraz pomiędzy lipoproteinami i komórkami [172]. Podejrzewa się jego udział w mechanizmach związanych z prawidłowym funkcjonowaniem mieliny, przekaznictwem sygnałów nerwowych oraz funkcjonowaniem bariery krew-mózg [173]. Ponadto zmiany aktywności i stężenia PLTP obserwowane w chorobach infekcyjnych, miażdżycy, cukrzycy czy zapalnych chorobach układu nerwowego wskazują na udział PLTP w regulacji procesu zapalnego [174]. Dotychczas opisane funkcje PLTP szczegółowo przedstawiono na rycinie 8.



Rycina 8. PLTP i metabolizm lipoprotein. Dobrze scharakteryzowane funkcje PLTP obejmują: 1) transport witaminy E ( $\alpha$ -tokoferolu) do tkanek; 2) powstawanie i wydzielanie VLDL w wątrobie poprzez fuzję pierwotnych lipoprotein zawierających apoB (BLp) z lipidami oraz poprzez hamowanie niszczenia apoB przez wolne rodniki tlenowe; 3) remodelowanie VLDL z generacją LDL oraz pre $\beta$ -HDL podczas wewnątrznaczyniowej lipolizy VLDL; 4) wychwyt cholesterolu i fosfolipidów przez HDL za pośrednictwem transporterów ABC; 5) wewnątrznaczyniowe remodelowanie HDL poprzez powstawanie przejściowej fuzyjnej formy pośredniej, rozpadającej się na pre $\beta$ -HDL oraz cząsteczki podobne do HDL2; 6) odłączenie i transport bakteryjnego lipopolisacharydu do HDL, z ominięciem aktywacji TLR4; 7) odwrotny transport cholesterolu i LPS do wątroby w celu ich eliminacji drogą żółciową [175]

ABCA1 - *ang. adenosine triphosphate (ATP) binding cassette A1*, białko A1 wiążące trójfosforany adenozyne;  
ABCG1 - *ang. adenosine triphosphate (ATP) binding cassette G1*, białko G1 wiążące trójfosforany adenozyne;  
apoB - apolipoproteiny B; BLp - *ang. apoB-containing lipoprotein*, lipoproteiny zawierające apoB; HDL - *ang. high-density lipoprotein*, lipoproteiny o dużej gęstości; LDL - *ang. low-density lipoprotein*; lipoproteiny o małej gęstości; LPS - lipopolisacharyd; PLTP - *ang. phospholipid transfer protein*, białko transportujące fosfolipidy; TLR4- *ang. „toll-like” receptor 4*, receptor „toll-like” 4; VLDL - *ang. very low-density lipoprotein*, lipoproteiny o bardzo małej gęstości

PLTP prowadzi do hamowania katabolizmu VLDL i w konsekwencji do zwiększenia stężenia cholesterolu i triglicerydów w osoczu. Wraz ze zmniejszonym stężeniem HDL-C zmiany te odpowiadają obrazowi dyslipidemii aterogennej. U ludzi PLTP wydaje się wpływać przede wszystkim na syntezę lipoprotein zawierających apoB (VLDL i LDL), a w mniejszym stopniu na metabolizm HDL we krwi i tkankach obwodowych [175].

W badaniu przeprowadzonym na szczurach wykazano, że PLTP jest silnym czynnikiem pro-miażdżycowym [176]. U myszy pod wpływem nagłego wzrostu aktywności PLTP obserwowano destabilizację istniejących wcześniej blaszek miażdżycowych [177]. U myszy pozbawionych PLTP obserwuje się rzadsze występowanie miażdżycy. Za rzadsze występowanie zmian miażdżycowych pomimo zmniejszonego stężenia HDL-C może odpowiadać zmniejszenie stężenia apoB, głównego białkowego składnika LDL-C, oraz zahamowanie oksydacji lipoprotein poprzez zwiększoną akumulację  $\alpha$ -tokoferolu [178,179]. Dodatkowo w przypadku braku PLTP stwierdzono mniejsze stężenie IL-6. Substytucja PLTP powodowała zwiększenie stężenia TNF- $\alpha$  u niezmodyfikowanych myszy, ale nie miała wpływu na stężenie TNF- $\alpha$  u myszy pozbawionych ekspresji PLTP [180]. PLTP może wpływać na rozwój miażdżycy nie tylko poprzez wpływ na metabolizm lipidów, ale także poprzez udział w modulacji procesu zapalnego i odpowiedzi immunologicznej [181].

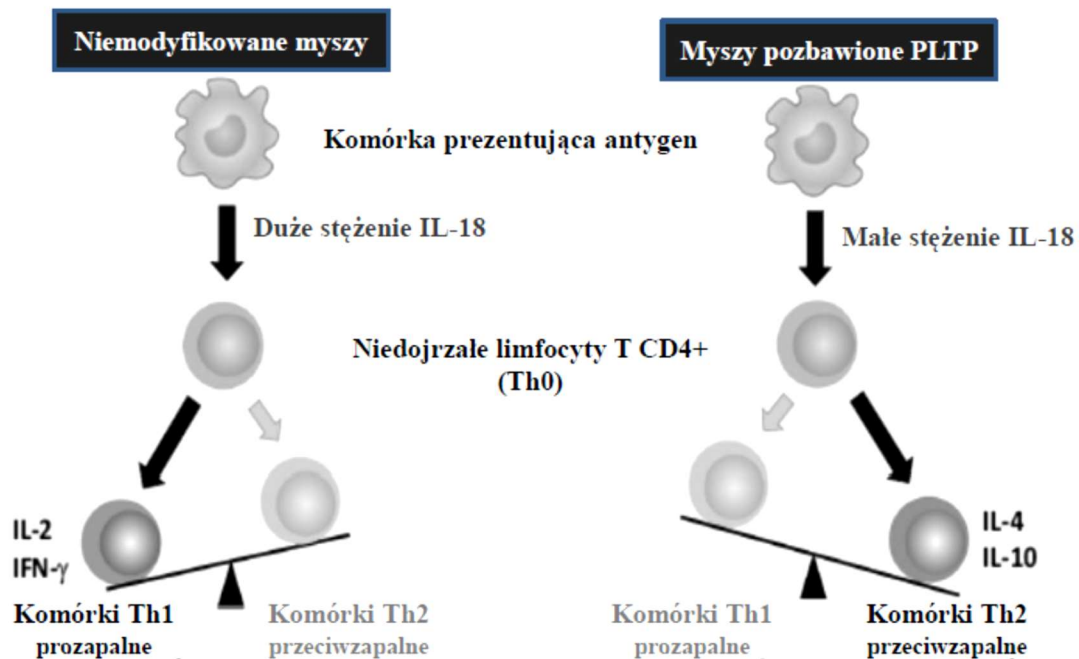
Dobrze udokumentowany jest udział PLTP w mechanizmach odporności wrodzonej [182]. Aktywność PLTP jest istotnie zwiększona u chorych z ogólnoustrojowymi infekcjami, koreluje ze zwiększonym stężeniem LPS, SAA, TNF- $\alpha$  oraz może być wyrazem reakcji adaptacyjnej organizmu [183,184]. Sekwencja nukleotydów genu PLTP przypomina sekwencję kodującą LBP [185]. PLTP wychwytuje i neutralizuje bakteryjne lipopolisacharydy [186]. „Odwrotny transport LPS” odbywa się w kilku etapach obejmujących odłączenie LPS od komórki bakteryjnej, związanie z lipoproteinowym nośnikiem i wydalenie z żółcią [187]. Niedobór PLTP wpływa na wzrost śmiertelności w sepsie [188]. U myszy, którym wstrzykiwano bakteryjne lipopolisacharydy, wykazano antybakteryjny efekt rekombinowanego PLTP. Polegał on na sekwestracji LPS i zapobieganiu rozwojowi obciążonej dużą śmiertelnością endotoksemii [189]. Z kolei u myszy pozbawionych PLTP stymulowanych LPS stwierdzono w szpiku kostnym zwiększoną ekspresję cytokin prozapalnych, zwiększoną aktywację NF $\kappa$ B (*ang. nuclear factor kappa-B*, czynnik jądrowy kappa B) oraz brak wpływu aktywacji TLR4 (*ang. toll-like receptor 4*, receptor „toll-like” 4) przez LPS na makrofagi [190]. Udowodniono udział PLTP w modulacji fagocytarnej aktywności makrofagów oraz jego związek z podwyższonym stężeniem IL-6 [191,192].

Wzrost aktywności PLTP może być jednym z czynników odpowiadających za zmniejszenie stężenia HDL u chorych na sepsę, związany głównie ze zmniejszeniem frakcji dużych cząsteczek HDL zawierających apoA1, oraz za zwiększenie stężenia apoE, która wspomaga utrzymanie homeostazy błon komórkowych w warunkach uogólnionej reakcji zapalnej [193,194]. U osób obciążonych chorobą sercowo-naczyniową i zmniejszonym stężeniem HDL wykazano dodatnie korelacje pomiędzy aktywnością PLTP a stężeniem parametrów zapalnych: CRP ( $r=0.332$ ,  $P<0.001$ ) oraz SAA ( $r=0.239$ ,  $P=0.021$ ) [195]. Niedobór PLTP u myszy w badaniu *in vitro* poprawiał przeciwzapalne właściwości HDL oraz ich zdolność do przechwytywania utlenionych fosfolipidów od LDL, zwiększał oporność LDL na oksydację oraz zmniejszał zdolność LDL do indukowania chemotaktycznych właściwości monocytów [192].

Ostatnio wykazano, że PLTP bierze udział także w mechanizmach odporności nabytej poprzez regulację procesu różnicowania limfocytów. Komórki Th1 uczestniczą w odpowiedzi typu komórkowego, fagocytozie, przewlekłym zapaleniu i opóźnionych reakcjach z nadwrażliwości. Z kolei odpowiedź Th2-zależna związana jest głównie z odpowiedzią typu humoralnego oraz produkcją cytokin przeciwzapalnych. W badaniu przeprowadzonym na myszach, PLTP za pośrednictwem IL-18 powodowało przesunięcie równowagi w kierunku



fenotypu Th1 w populacji komórek CD4+ bez zmiany całkowitej liczby limfocytów (rycina 9.) [181].



Rycina 9. Modulacja polaryzacji limfocytów T pomocniczych w kierunku prozapalnego fenotypu Th1 przez PLTP za pośrednictwem IL-18 [181]

IFN $\gamma$  - interferon gamma; IL – interleukina; PLTP - *ang. phospholipid transfer protein*, białko transportujące fosfolipidy

U myszy pozbawionych PLTP na skutek modyfikacji genetycznych wykazano zmniejszone wydzielanie IL-18 przez komórki prezentujące antygen. Obserwowana u nich polaryzacja limfocytów T w kierunku odpowiedzi Th2 może wynikać ze zmian w składzie lipidowym błony komórkowej związanych z brakiem PLTP. Cholesterol może wpływać na różnicowanie limfocytów T pomocniczych pośrednio przez modyfikację sekrecji cytokin przez komórki dendrytyczne oraz bezpośrednio poprzez wpływ na szlaki sygnałowe. U myszy pozbawionych PLTP stwierdzono ponadto dwukrotnie podwyższony poziom  $\alpha$ -tokoferolu, będącego silnym antyoksydantem. Jedną z hipotez zakłada, że  $\alpha$ -tokoferol może przyczyniać się do przesunięcia równowagi limfocytów T w kierunku przeciwzapalnej odpowiedzi Th2-zależnej [181].

Rola PLTP w mechanizmach zapalnych i aterogennych jest jednak kontrowersyjna. Według niektórych badaczy, PLTP odgrywa rolę przeciwmiażdżycową, a w przewlekłych procesach zapalnych takich jak zapalenie przyzębia czy stwardnienie rozsiane -

przeciwzapalną [196–199]. W badaniu przeprowadzonym *in vitro* wykazano, że PLTP wiąże się z receptorem ABCA1 (*ang. adenosine triphosphate (ATP) binding cassette A1*, białko A1 wiążące trójfosforany adenozyne) makrofagów aktywując przeciwzapalny szlak JAK2/STAT3 (*ang. Janus kinase 2/signal transducer and activator of transcription 3*, kinaza janusowa 2/białko przekazujące sygnał i aktywujące transkrypcję 3) [174]. Coraz więcej danych wskazuje na odmienne role PLTP w krążeniu i tkankach obwodowych, zależne między innymi od transferu  $\alpha$ -tokoferolu z krwi do tkanek [172].

W związku ze sprzecznymi danymi na temat roli PLTP w patogenezie i regulacji procesu zapalnego nasuwa się pytanie, jaka jest rola PLTP w zapaleniu w przebiegu RZS. Jak wynika z przeglądu literatury, dotychczas przeprowadzono jedynie dwa badania oceniające związek PLTP z RZS [181,200]. W pierwszym obserwowano większe stężenie endogennego PLTP w płynie stawowym chorych na RZS w porównaniu do pacjentów z chorobą zwyrodnieniową stawów. Stężenie to korelowało ze zwiększonym stężeniem cytokin prozapalnych. U chorych na RZS wykazano bezpośredni pro-zapalny wpływ PLTP zarówno endogennego, jak i rekombinowanego, tj. pozbawionego właściwości związanych z transferem lipidów, na podobne do fibroblastów synowioocyty [181].

Drugie badanie przeprowadzono na komórkach uzyskanych od chorych na RZS. Stwierdzono nad-ekspresję genu PLTP w synowiocytach wrażliwych na apoptozę indukowaną przez TRAIL (*ang. tumor necrosis factor-related apoptosis inducing-ligand*, ligand indukujący apoptozę związany z czynnikiem martwicy nowotworów) w porównaniu do niewrażliwych synowiocytów. Zwiększona wrażliwość synowiocytów na apoptozę indukowaną przez TRAIL wiąże się z cięższym przebiegiem RZS [200]. Potrzebne są dalsze badania w celu doprecyzowania znaczenia PLTP u chorych na RZS.

### **1.4.2.3 Główne białka odpowiedzialne za przekształcanie lipidów**

Lipaza lipoproteinowa (LPL) jest białkiem o ciężarze 55 kDa. Ekspresję LPL obserwuje się głównie w tkankach związanych z utlenianiem oraz magazynowaniem kwasów tłuszczowych, takich jak tkanka tłuszczowa i mięśnie, w tym mięsień sercowy. Aktywna enzymatycznie forma LPL występuje głównie w postaci związanej z glikozaminoglikanami powierzchni śródbłonna naczyń [201].

Najważniejszą funkcją LPL jest hydroliza triglicerydów w lipoproteinach bogatych w triglicerydy, takich jak VLDL, IDL, chylomikrony i remnanty. LPL reguluje klirens triglicerydów w osoczu. Bierze również udział w pobudzaniu komórkowego wychwytu pozostałości chylomikronów, lipoprotein bogatych w cholesterol oraz wolnych kwasów

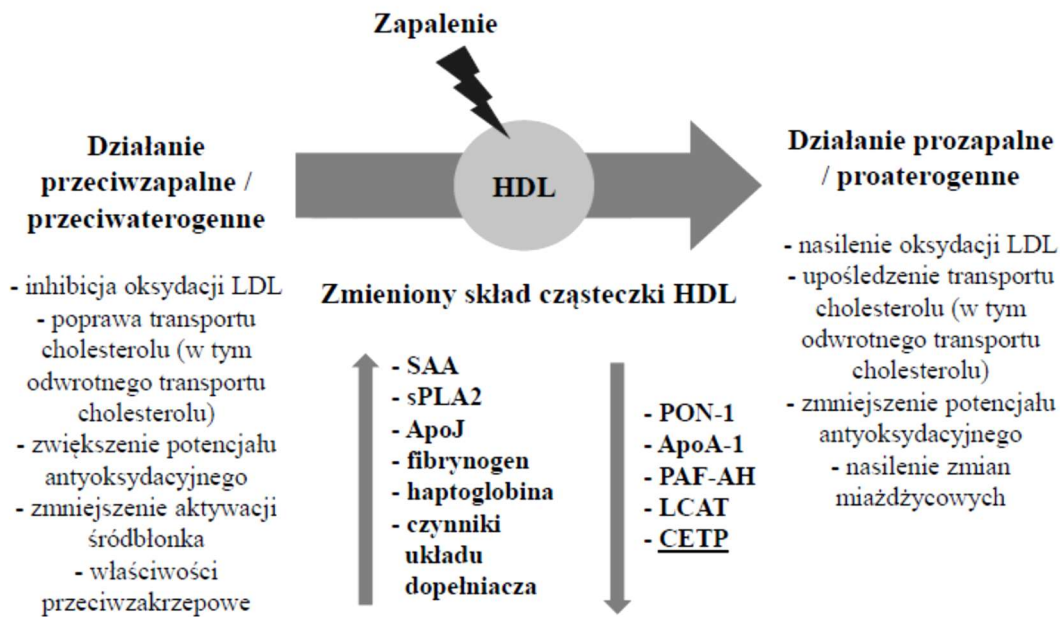
tłuszczowych [202]. Uważa się, że LPL przyspiesza rozwój miażdżycy poprzez zwiększanie adhezji, agregacji i utleniania LDL, wychwytu ox-LDL przez makrofagi, nasilanie dysfunkcji bariery śródbłonkowej oraz zatrzymywanie aterogennych lipoprotein w ścianie tętnic [203].

Acylotransferaza lecytynowo-cholesterolowa (LCAT) jest białkiem o ciężarze 67 kDa, obecnym we krwi głównie w postaci związanej z HDL i lipoproteinami zawierającymi apoB. Jest to enzym składający się z rdzenia zawierającego hydrolazę  $\alpha/\beta$  oraz dwóch subdomen, spośród których jedna zawiera kieszeń wiążącą substrat. Powstaje głównie w wątrobie i w niewielkich ilościach w jądrach oraz mózgu [204,205].

LCAT jest kluczowym enzymem związanym z syntezą estrów cholesterolu, dojrzewaniem HDL oraz odwrotnym transportem cholesterolu z tkanek obwodowych do wątroby. LCAT to jedyny enzym zdolny do estryfikacji cholesterolu we krwi poprzez reakcję trans-estryfikacji, w której dochodzi do konwersji cholesterolu i fosfatydylocholiny (lub lecytyny) do estru cholesterolu i lizofosfatydylocholiny. Do funkcji LCAT należy utrzymywanie gradientu nieestryfikowanego cholesterolu pomiędzy komórkami obwodowymi a akceptorami zewnątrzkomórkowymi, takimi jak CETP i PLTP. Pacjenci z mutacjami LCAT powodującymi utratę funkcji wykazują małe stężenie cholesterolu HDL [204]. Dane na temat roli LCAT w rozwoju miażdżycy są sprzeczne [205].

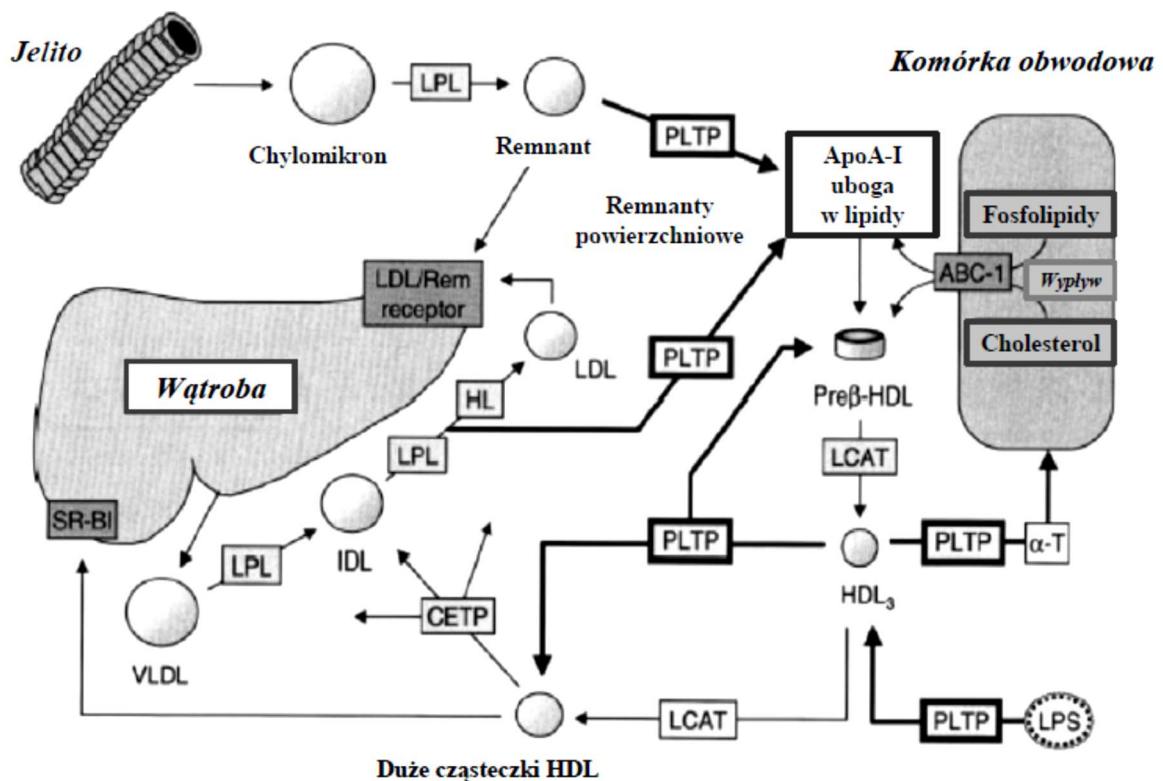
#### **1.4.2.4 CETP i PLTP a ryzyko sercowo-naczyniowe**

Małe stężenie cholesterolu HDL jest uznanym czynnikiem ryzyka sercowo-naczyniowego. Wśród pacjentów z aktywnym RZS stwierdza się istotnie mniejsze niż w populacji ogólnej stężenie HDL-C [22,24,48–50]. Poza zmianami ilościowymi, w RZS dochodzi do zmian jakościowych w zakresie HDL, które prowadzą do utraty ich przeciwmiażdżycowych właściwości (rycina 10.) [39]. Zmiany te związane są m.in. ze zmniejszeniem zawartości apoA1 oraz aktywności PON-1 (paraoksonaza 1), LCAT i CETP [39,206,207]. Anty-aterogenne właściwości HDL są odwrotnie zależne od stężenia CRP [208]. Wykazano, że leczenie inhibitorami TNF- $\alpha$  prowadzi do zwiększenia aktywności PON-1, co może częściowo odpowiadać za poprawę ochronnej funkcji HDL [209]. Część autorów sugeruje, że z punktu widzenia ryzyka sercowo-naczyniowego ocena jakościowa HDL jest ważniejsza niż ich ocena ilościowa [39].



Rycina 10. Zapalenie a zmiany jakościowe cząsteczki HDL [39]

ApoA-1 - apolipoproteiny A1; ApoJ - apolipoproteiny J, CETP - *ang. cholesteryl ester transfer protein*, białko transportujące estry cholesterolu; HDL - *ang. high-density lipoprotein*, lipoproteiny o dużej gęstości; LCAT - *ang. lecithin:cholesteryl acyltransferase*, acylotransferaza lecytinowo-cholesterolowa; LDL - *ang. low-density lipoprotein*; lipoproteiny o małej gęstości; PAF-AH - *ang. platelet-activating factor-acetylhydrolase*, acetylhydrolaza czynnika aktywującego płytki krwi; PON-1 - paraoksonaza 1; SAA - surowiczy amyloid A; sPLA2 - *ang. secretory phospholipase A2*, wydzielnicza fosfolipaza A2



Rycina 11. Rola CETP i PLTP w metabolizmie HDL [169]. Do funkcji PLTP należy: 1) transport remnantów powierzchniowych (fosfolipidów i cholesterolu) powstałych w procesie lipolizy lipoprotein bogatych w triglicerydy; 2) udział w syntezie pre $\beta$ -HDL podczas konwersji HDL; 3) transport  $\alpha$ -tokoferolu z cząsteczek HDL do błon komórkowych; 4) transport lipopolisacharydu do HDL.

ABC-1 - *ang. adenosine triphosphate (ATP)-binding cassette transporter-1*, kasetta transportująca trójfosforan adenozyne 1;  $\alpha$ -T -  $\alpha$ -tokoferol; CETP - *ang. cholesteryl ester transfer protein*, białko transportujące estry cholesterolu; HDL - *ang. high-density lipoprotein*, lipoproteiny o dużej gęstości; HL - *ang. hepatic lipase*, lipaza wątrobowa; IDL - *ang. intermediate-density lipoprotein*, lipoproteiny o pośredniej gęstości; LCAT - *ang. lecithin:cholesteryl acyltransferase*, acylotransferaza lecytynowo-cholesterolowa; LDL - *ang. low-density lipoprotein*; lipoproteiny o małej gęstości; LPL - lipaza lipoproteinowa; LPS - lipopolisacharyd; PLTP - *ang. phospholipid transfer protein*, białko transportujące fosfolipidy; pre $\beta$ -HDL – frakcja pre $\beta$  HDL; SRB1 - *ang. scavenger receptor class B type 1*, receptor zmiatający klasy B typu 1; VLDL – *ang. very low-density lipoprotein*, lipoproteiny o bardzo małej gęstości

Z uwagi na znany wpływ CETP i PLTP na metabolizm lipidów (rycina 11.), białka te pozostają w kręgu zainteresowań badaczy jako potencjalne markery ryzyka sercowo-naczyniowego i cele terapii ukierunkowanych na prewencję zdarzeń sercowo-naczyniowych. Dotychczas przeprowadzono kilka randomizowanych badań klinicznych oceniających wpływ inhibitorów CETP na profil lipidowy oraz ryzyko zdarzeń sercowo-naczyniowych u chorych z dyslipidemią, miażdżycą, dużym ryzykiem sercowo-naczyniowym i/lub po przebytych zawałach mięśnia sercowego [157,210–212]. Wykazano korzystny wpływ pierwszych inhibitorów CETP na profil lipidowy (związany ze zwiększeniem stężenia cholesterolu HDL i, w przypadku torcetrapibu, zmniejszeniem stężenia cholesterolu LDL), ale bez oczekiwanego korzystnego wpływu na ryzyko sercowo-naczyniowe. Badania nad torcetrapibem, pierwszym inhibitorem CETP, zostały przerwane ze względu na częste występowanie poważnych działań niepożądanych, takich jak ciężkie nadciśnienie tętnicze oraz zgony z powodu zdarzeń sercowo-naczyniowych, nowotworów oraz infekcji [210,211]. Drugi inhibitor CETP, dalcetrapib, choć pozbawiony poważnych działań niepożądanych pierwszego, także nie wykazał się skutecznością w zmniejszaniu ryzyka zdarzeń sercowo-naczyniowych [157].

Aktualnie trwają badania oceniające potencjał przeciwmiażdżycowy anacetrapibu, kolejnego inhibitora CETP. Wstępne analizy wskazują, że stosowanie anacetrapibu prowadzi do zwiększenia stężenia cholesterolu HDL i zmniejszenia stężenia cholesterolu LDL, a w terapii skojarzonej ze statyną do zmniejszenia ryzyka zdarzeń sercowo-naczyniowych w

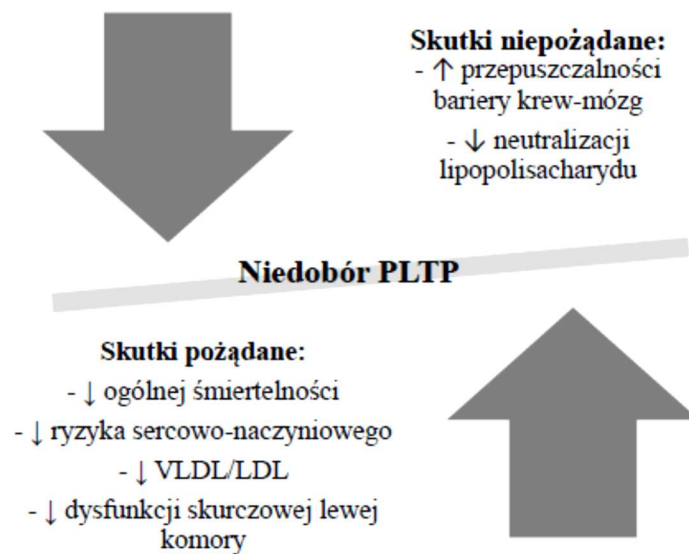
porównaniu do grupy stosującej statynę z placebo. Jak dotąd nie udowodniono wpływu terapii anacetrapibem na zmniejszenie śmiertelności [212,213].

Próby leczenia inhibitorami CETP są kontrowersyjne ze względu na niejednoznaczne wyniki badań obserwacyjnych nad zależnością pomiędzy CETP i ryzykiem sercowo-naczyniowym. Część badań nie uzasadnia prób farmakologicznej inhibicji CETP w prewencji zdarzeń sercowo-naczyniowych, a nawet wskazuje na potencjalną szkodliwość tej terapii. Wykazano w nich, że zmniejszona aktywność CETP związana jest ze zwiększonym ryzykiem sercowo-naczyniowym [159,214]. Mała aktywność CETP może wynikać z polimorfizmów genowych, współwystępować ze zwiększonym stężeniem HDL-C, CRP i SAA, oraz wiązać się ze zwiększonym ryzykiem kolejnego zdarzenia sercowo-naczyniowego u chorych po przebytym zawale mięśnia sercowego [215]. W niektórych badaniach wykazano, że związek CETP z ryzykiem sercowo-naczyniowym zależy od stężenia triglicerydów. W przypadku zwiększonego stężenia triglicerydów obserwowano związek zwiększonego stężenia CETP ze zwiększonym ryzykiem sercowo-naczyniowym. Odwrotnie, u chorych z prawidłowym stężeniem triglicerydów wykazano związek zwiększonego stężenia CETP z mniejszym ryzykiem sercowo-naczyniowym [216,217]. Rola CETP w patogenezie chorób sercowo-naczyniowych nie jest dobrze poznana, i zagadnienie to wymaga dalszych badań [218].

Jak wspomniano wcześniej, duże stężenie HDL-C nie zawsze związane jest z jego ochronnym, przeciwmiażdżycowym działaniem. W warunkach ogólnoustrojowego zapalenia na skutek stresu oksydacyjnego może dochodzić do upośledzenia ochronnej funkcji HDL [219]. Zwiększona aktywność PLTP związana jest ze zwiększeniem stężenia HDL-C oraz jednocześnie ze zwiększeniem ryzyka sercowo-naczyniowego [159,220].

Za zjawisko to może odpowiadać m.in. związek pomiędzy zwiększoną aktywnością PLTP a zwężeniem tętnic wieńcowych, zwiększoną grubością błony wewnętrznej tętnic szyjnych u chorych na cukrzycę typu II oraz dysfunkcją skurczową lewej komory mięśnia sercowego [221–223]. Aktywność PLTP jest udowodnionym silnym i niezależnym czynnikiem ryzyka ogólnej śmiertelności, prawdopodobnie m.in. poprzez związek ze zwiększonym stężeniem apoB i triglicerydów [172,224]. Według wyników 10-letniej obserwacji, w grupie największego ryzyka zdarzeń sercowo-naczyniowych są osoby z jednocześnie zmniejszoną aktywnością CETP i zwiększoną aktywnością PLTP [159]. W dużej kohorcie europejskiej zmniejszona aktywność PLTP, związana z kilkoma polimorfizmami pojedynczego nukleotydu, korelowała ze zmniejszoną częstością zdarzeń sercowo-naczyniowych [225].

W świetle niejednoznacznych danych dotyczących korzyści ze stosowania inhibitorów CETP, niektórzy autorzy postulują koncepcję hamowania PLTP jako nowego celu terapii [172,175,226]. Taka terapia mogłaby się jednak wiązać z działaniami niepożądanymi wynikającymi ze zwiększenia przepuszczalności bariery krew-mózg oraz upośledzenia mechanizmów neutralizacji bakteryjnego LPS (rycina 12.). Według części autorów, z uwagi na udział PLTP zarówno w patogenezie miażdżycy, jak i procesu zapalnego, próby interwencji farmakologicznej powinny być poprzedzone badaniami nad rolą PLTP u chorych na autoimmunologiczne choroby zapalne takie jak RZS [226].



Rycina 12. Potencjalne pozytywne i negatywne skutki inhibicji PLTP [172]

LDL - *ang. low-density lipoprotein*, lipoproteiny o małej gęstości; PLTP - *ang. phospholipid transfer protein*, białko transportujące fosfolipidy; VLDL - *ang. very low-density lipoprotein*, lipoproteiny o bardzo małej gęstości

## 2. Założenia i cel badań

### 2.1 Założenia badań

RZS jest najczęstszą zapalną chorobą stawów i dotyczy przede wszystkim osób w wieku produkcyjnym. Jak wynika z obserwacji długoterminowych, u większości chorych przebieg choroby nie jest dobrze kontrolowany. Przewlekłe utrzymujący się stan zapalny prowadzi do powikłań ze strony układu ruchu, obniżenia jakości życia, rezygnacji z pracy zawodowej i niepełnosprawności. Dodatkowo u chorych na RZS obserwuje się zwiększoną zachorowalność i śmiertelność z przyczyn sercowo-naczyniowych w porównaniu do populacji ogólnej.

Przeprowadzony przegląd piśmiennictwa wskazuje na zwiększoną częstość występowania miażdżycy u chorych na RZS. Związana jest ona z częstszym występowaniem i niedostateczną kontrolą tradycyjnych czynników ryzyka sercowo-naczyniowego, a także występowaniem czynników swoistych dla RZS. Najważniejszym swoistym i modyfikowalnym czynnikiem ryzyka jest niedostateczna kontrola aktywności choroby, skutkująca przewlekłym utrzymywaniem się stanu zapalnego. Opóźnienie diagnozy i rozpoczęcia leczenia u pacjentów z rozpoznaniem RZS jest przyczyną braku osiągnięcia określonych celów terapii w założonym czasie zgodnie ze strategią *treat-to-target*. Utrzymująca się aktywność choroby prowadzi nie tylko do postępującej destrukcji stawów, ale także do progresji zmian pozastawowych. Już w przedklinicznym stadium RZS stwierdza się zmiany miażdżycowe w badaniach obrazowych. W klinicznym stadium RZS zmiany naczyniowe postępują w tempie obserwowanym u osób obciążonych cukrzycą.

Problem niewystarczającej kontroli i niedoszacowania ryzyka sercowo-naczyniowego u chorych na RZS może wynikać z zakłócającego wpływu przewlekłego procesu zapalnego na tradycyjne czynniki ryzyka sercowo-naczyniowego, nie uwzględniania czynników o udowodnionym znaczeniu pro-miażdżycowym w RZS, takich jak jakościowe zmiany lipidogramu czy podwyższony poziom parametrów zapalnych, oraz istnienia jeszcze niezidentyfikowanych czynników ryzyka sercowo-naczyniowego u chorych na RZS.

Aktualnie poszukiwane są markery pozwalające na wczesne diagnozowanie RZS, ścisłe monitorowanie jego aktywności oraz odpowiedzi na leczenie, a także stratyfikację pacjentów w zależności od ryzyka ciężkiego przebiegu choroby. Celem jest możliwie szybkie wdrażanie terapii oraz zapobieganie trwałym uszkodzeniom stawowym i narządowym. Coraz więcej uwagi poświęca się markerom metabolicznym, znajdującym się na skrzyżowaniu szlaków zapalnych i aterogennych.



Paradoks lipidowy, który towarzyszy przewlekłemu procesowi zapalnemu u chorych z rozpoznaniem RZS, opisywano także w przebiegu infekcji oraz chorób nowotworowych. Jego mechanizm nie jest do końca poznany. Możliwe, że biorą w nim udział CETP i PLTP, pełniące jednocześnie funkcje metaboliczne oraz immunologiczne. Do tej pory nie poznano dobrze ich wpływu na stan zapalny oraz zaburzenia lipidowe obserwowane u chorych na reumatoidalne zapalenie stawów.

Wyniki dostępnych prac skłaniają do sformułowania kilku pytań. Czy CETP i PLTP mają związek z występowaniem oraz aktywnością RZS? Czy biorą udział w mechanizmach prowadzących do paradoksu lipidowego i przyspieszonego rozwoju miażdżycy u chorych na RZS?

## **2.2 Cel badań**

Celem pracy jest określenie, czy CETP i PLTP oraz LPL i LCAT związane są z aktywnością stanu zapalnego oraz zaburzeniami lipidowymi u pacjentów z ustalonym rozpoznaniem RZS. Korzyść kliniczna płynąca z badania dotyczy oceny potencjalnej przydatności oznaczeń CETP i PLTP oraz LPL i LCAT w diagnostyce i monitorowaniu przebiegu RZS. Korzyścią naukową będzie uzupełnienie dotychczasowej wiedzy na temat mechanizmów związanych z paradoksem lipidowym i zwiększonym ryzykiem sercowo-naczyniowym u chorych na RZS.

Cele szczegółowe:

1. Określenie, czy pomiędzy pacjentami z rozpoznaniem RZS występują różnice w lipidogramie względem osób zdrowych.
2. Określenie, czy chorzy w aktywnej fazie RZS wykazują zaburzenia lipidogramu mogące odpowiadać za szczególnie szybki rozwój miażdżycy w tej grupie chorych.
3. Określenie, czy u chorych na RZS dochodzi do zmian w homeostazie białek odpowiedzialnych za transport i przekształcanie lipidów.
4. Określenie, czy CETP, PLTP, LPL lub LCAT związane są z paradoksem lipidowym.
5. Określenie, czy aktywność CETP i PLTP oraz stężenie LPL i LCAT zależą od nasilenia stanu zapalnego u chorych na RZS.
6. Określenie, czy CETP, PLTP, LPL i LCAT mogą być kandydatami na markery występowania RZS.
7. Określenie, czy CETP, PLTP, LPL i LCAT mogą być kandydatami na markery aktywności RZS.

### 3. Materiał i metody

#### 3.1. Grupa badana i grupa kontrolna

Przeprowadzone badanie kliniczne miało charakter prospektywny. Uczestniczyły w nim łącznie 194 osoby, podzielone na grupę badaną (97 osób) i grupę kontrolną (97 osób).

Do grupy badanej włączono 97 chorych na RZS w wieku 19-75 lat, średnio  $53 \pm 14$  lat (78 kobiet w wieku 19-75 lat, średnio  $54 \pm 13$  lat, i 19 mężczyzn w wieku 22-74 lat, średnio  $52 \pm 16$  lat). Rekrutację przeprowadzono wśród pacjentów hospitalizowanych w Klinice Reumatologii i Chorób Wewnętrznych Uniwersyteckiego Szpitala Klinicznego we Wrocławiu w latach 2017-2020. Kryteriami selekcji były wiek ponad 18 lat oraz rozpoznanie RZS ustalone na podstawie kryteriów ACR (*ang. American College of Rheumatology*, Amerykańskie Kolegium Reumatologiczne) i EULAR z 2010 roku (Załącznik 1.) [227]. Do kryteriów wykluczających należały inne niż RZS przyczyny podwyższonego poziomu parametrów zapalnych, takie jak ostre i przewlekłe infekcje, wczesny okres po urazach i zabiegach operacyjnych, ostre i niewyrównane choroby internistyczne oraz choroby nowotworowe. Charakterystykę demograficzną grupy badanej oraz dane dotyczące statusu serologicznego, wieku rozpoznania i czasu trwania RZS przedstawiono w tabeli 6., 7. i 8.

Tabela 6. Charakterystyka demograficzna grupy badanej

	<b>Liczba ogółem</b>	<b>Minimalny wiek (lata)</b>	<b>Maksymalny wiek (lata)</b>	<b>Średnia wieku (lata <math>\pm</math> SD)</b>
<b>K + M</b>	97	19	75	$53 \pm 14$
<b>K</b>	78	19	75	$54 \pm 13$
<b>M</b>	19	22	74	$52 \pm 16$

K – kobiety; M – mężczyźni; SD – *ang. standard deviation*, odchylenie standardowe

Tabela 7. Dane dotyczące statusu serologicznego w grupie badanej (RZS seropoztywne – z obecnością czynnika reumatoidalnego i/lub przeciwciał antycytrulinowych; RZS seronegatywne – bez obecności czynnika reumatoidalnego ani przeciwciał antycytrulinowych)

	<b>Liczba Ogółem</b>	<b>RZS seropoztywne</b>	<b>RZS Seronegatywne</b>
<b>K + M</b>	97	78	19
<b>K</b>	78	63	15
<b>M</b>	19	15	4

K – kobiety; M – mężczyźni

Tabela 8. Dane dotyczące czasu trwania i wieku w momencie rozpoznania choroby podstawowej w grupie badanej

	<b>Liczba ogółem</b>	<b>Czas trwania RZS (zakres, lata)</b>	<b>Średni czas trwania RZS (lata ± SD)</b>	<b>Mediana czasu trwania RZS (lata)</b>	<b>Wiek w momencie diagnozy RZS (zakres, lata)</b>	<b>Średni wiek w momencie diagnozy RZS (lata ± SD)</b>	<b>Mediana wieku w momencie diagnozy RZS (lata)</b>
<b>K + M</b>	97	0 - 44	13 ± 9	11	18 - 74	40 ± 14	41
<b>K</b>	78	0 - 44	13 ± 9	11	18 - 74	40 ± 14	42
<b>M</b>	19	0 - 35	12 ± 10	11	18 - 63	39 ± 13	39

K – kobiety; M – mężczyźni; SD – *ang. standard deviation*, odchylenie standardowe

Grupę kontrolną stanowiło 97 osób w wieku 18-76 lat, średnio  $53 \pm 14$  lat (78 kobiet w wieku 18-76 lat, średnio  $54 \pm 13$  lat, i 19 mężczyzn w wieku 22-74 lat, średnio  $52 \pm 16$  lat), dobieranych do grupy badanej pod względem płci i wieku. Do grupy kontrolnej włączono dotychczas zdrowych mieszkańców Wrocławia i okolic, podlegających okresowym badaniom w ramach programu oceny skutków ekspozycji na środowiskowe zanieczyszczenia powietrza. Charakterystykę demograficzną grupy kontrolnej przedstawiono w tabeli 9.

Tabela 9. Charakterystyka demograficzna grupy kontrolnej

	<b>Liczba ogółem</b>	<b>Minimalny wiek (lata)</b>	<b>Maksymalny wiek (lata)</b>	<b>Średnia wieku (lata ± SD)</b>
<b>K + M</b>	97	18	76	$53 \pm 14$
<b>K</b>	78	18	76	$54 \pm 13$
<b>M</b>	19	22	74	$52 \pm 16$

K – kobiety; M – mężczyźni; SD – *ang. standard deviation*, odchylenie standardowe

Projekt przeprowadzony został zgodnie z założeniami Deklaracji Helsińskiej i uzyskał zgodę Komisji Bioetycznej Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu nr 109/2017. Wszyscy badani wyrazili świadomą, pisemną zgodę na udział w badaniu oraz na przetwarzanie danych osobowych (Załącznik 2. i 3.). Badanie zostało sfinansowane ze środków Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu przyznanych na realizację projektu dla Młodych Naukowców o numerze STM.A270.20.167.

### 3.2 Dane ankietowe

Od wszystkich osób zebrano pisemną ankietę dotyczącą stylu życia oraz wywiadu chorobowego (Załącznik 4.). Do ocenionych czynników związanych ze stylem życia należały BMI, rodzaj stosowanej diety, używki (palenie papierosów i spożycie alkoholu) oraz aktywność fizyczna. Uzyskano także dane na temat chorób współistniejących takich jak nadciśnienie tętnicze, cukrzyca, choroba niedokrwienna serca, choroba naczyń mózgowych, choroba tętnic obwodowych, miażdżyca o innej lokalizacji, zaburzenia funkcji tarczycy. Zebrano ponadto informacje na temat stosowanych leków.

Osoby z grupy kontrolnej nie przyjmowały leków hipolipemizujących ani przeciwzapalnych. Grupa badana była bardzo zróżnicowana pod względem rodzaju i czasu trwania leczenia, a także liczby i dawek przyjmowanych leków. Większość osób z grupy badanej stosowała więcej niż 5 leków (66%). Najczęściej przyjmowanymi lekami były kLMPCh (86%), bLMPCh (85%) oraz glikokortykosteroidy (63%). Mniej niż połowa chorych na RZS stosowała statyny (30%) oraz NLPZ (7%).

W grupie badanej uzyskano dodatkowo dane w odniesieniu do czynników związanych z chorobą podstawową dotyczące statusu serologicznego oraz czasu trwania choroby. Uzyskano ponadto informacje na temat ogólnego stanu zdrowia w skali VAS (*ang. visual analogue scale*, wizualna skala analogowa, Załącznik 5.). Chorzy dokonali subiektywnej oceny stanu zdrowia w ciągu poprzedzającego tygodnia w skali od 0 mm (bardzo dobre samopoczucie) do 100 mm (bardzo złe samopoczucie).

Dodatkowo u osób z grupy badanej przeprowadzono ocenę stanu funkcjonalnego według HAQ (*ang. health assessment questionnaire*, kwestionariusz oceny zdrowia, Załącznik 6.). Wykorzystano w tym celu kwestionariusz w polskiej wersji językowej dostępny w Internecie [228]. Następnie obliczono HAQ przy pomocy internetowego kalkulatora, uzyskując wartości w zakresie od 0 do 3 [229].

### 3.3 Wywiad i badanie fizykalne z oceną aktywności choroby

U pacjentów z ustalonym rozpoznaniem RZS przeprowadzono badanie fizykalne układu ruchu z oceną LBS (liczby bolesnych stawów) i LOS (liczby obrzękniętych stawów) - w zakresie 28 stawów uwzględnionych we wskaźniku aktywności choroby DAS28 (Załącznik 5.).

Wskaźnik DAS28 obliczono na podstawie uzyskanych danych dotyczących oceny ogólnego stanu zdrowia w skali VAS (0-100 mm), liczby bolesnych i obrzękniętych stawów

oraz wyników oznaczeń parametrów zapalnych (OB i/lub CRP). Wykorzystano w tym celu następujące wzory [230,231]:

$$\text{DAS28-OB} = 0,56 \times \sqrt{(\text{LBS28})} + 0,28 \times \sqrt{(\text{LOS28})} + 0,014 \times (\text{VAS [mm]}) + 0,70 \times \text{Ln}(\text{OB [mm/h]})$$

$$\text{DAS28-CRP} = 0,56 \times \sqrt{(\text{LBS28})} + 0,28 \times \sqrt{(\text{LOS28})} + 0,014 \times (\text{VAS [mm]}) + 0,36 \times \text{Ln}(\text{CRP}+1 [\text{mg/l}])+0,96$$

Zarówno DAS28-OB, jak i DAS28-CRP są walidowanymi narzędziami oceny aktywności choroby u chorych na RZS. Przyjęto, że wartość  $\text{DAS28} < 2,6$  wskazuje na remisję,  $\text{DAS28} \geq 2,6$  i  $< 3,2$  na małą aktywność choroby,  $\text{DAS28} \geq 3,2$  i  $< 5,1$  na umiarkowaną aktywność choroby, a  $\text{DAS28} \geq 5,1$  na dużą wartość choroby [230,231].

### 3.4 Analizy laboratoryjne

Od każdej osoby z grupy badanej oraz kontrolnej pobrano krew żylną w celu wykonania oznaczeń laboratoryjnych. Krew pobierano rano na czczo, po okresie co najmniej 8 godzin bez spożywania posiłków. W grupie badanej w ramach badań wykonywanych rutynowo w trakcie hospitalizacji oznaczono OB, stężenie CRP, morfologię krwi, a także aktywność aminotransferaz wątrobowych oraz stężenie kreatyniny. W grupie kontrolnej oznaczono OB, morfologię krwi, aktywność aminotransferaz oraz stężenie kreatyniny.

Ponadto od każdego uczestnika badania uzyskano dodatkowo po około 10 ml krwi pobranej do dwóch próbek [jednej zawierającej EDTA (*ang. ethylene diamine tetraacetic*, kwas etylenodiaminotetraoctowy) i jednej bez podłoża] w celu wykonania oznaczeń stężeń lipidów, LPL i LCAT oraz aktywności CETP i PLTP. Uzyskaną krew wirowano przez 10 minut przy 4000 obrotów/minutę. Po odwirowaniu oddzieloną surowicę dzielono na dwie części i mrożono w temperaturze -80 st. C.

#### 3.4.1 Oznaczenia lipidów

Stężenia cholesterolu całkowitego, HDL oraz triglicerydów oznaczane były przy użyciu metod enzymatycznych z wykorzystaniem odczynników firmy SPINREACT (Hiszpania), przy użyciu spektrofotometru OPTIZEN TEC 2011. Stężenia LDL-C obliczano według wzoru Friedewalda ( $\text{TC} - \text{HDL-C} - \text{TG}/5$  dla TG poniżej 4.52 mmol/l). Stężenie

cholesterolu non-HDL było obliczane poprzez odjęcie stężenia HDL-C od stężenia TC. Oznaczone stężenia lipidów wyrażone były w [mmol/l] i [mg/dl].

### 3.4.2 Oznaczenia białek związanych z transportem i przekształcaniem lipidów

Głównymi parametrami ocenianymi w badaniu były aktywność CETP i PLTP. Ich oznaczenia przeprowadzono w okresie od 01.03.2017 do 30.11.2020. Wykorzystano w tym celu zestawy odczynników *CETP Activity Fluorometric Assay Kit II* oraz *PLTP Activity Fluorometric Assay Kit II* firmy Biovision (USA). Oznaczeń dokonano metodą spektrofotometrii fluorescencyjnej przy użyciu spektrofotometru HITACHI F-2500.

W zestawie do oznaczania aktywności CETP zawarte były cząsteczki donorowe zawierające znakowane analogi estrów cholesterolu, wykazujące fluorescencję po przeniesieniu do cząsteczek akceptorowych. Intensywność fluorescencji była wprost proporcjonalna do ilości przeniesionych estrów cholesterolu. Dołączona do zestawu surowica królika służyła jako kontrola pozytywna, a torcetrapib, inhibitor CETP, do walidacji testu. Aktywność CETP wyrażona była w pmol/ $\mu$ l/h. Uzyskano wyniki w zakresie wartości ciągłych.

Zestaw do oznaczania aktywności PLTP zawierał fosfolipidy znakowane znacznikiem fluorescencyjnym, które wykazywały fluorescencję po przeniesieniu z cząsteczek donorowych do cząsteczek akceptorowych. Intensywność świecenia była wprost proporcjonalna do ilości przeniesionych fosfolipidów. Surowica królika stanowiła kontrolę pozytywną. Aktywność PLTP wyrażona była w pmol/ml/h i znajdowała się w zakresie wartości ciągłych.

Ponadto u kobiet z grupy badanej i kontrolnej wykonano metodą ELISA oznaczenia stężenia LPL [pg/ml] oraz LCAT [ng/ml]. W tym celu zastosowano testy firmy EIAab® Wuhan Eiaab Science Co., LTD (Chiny). Uzyskano wyniki w zakresie wartości ciągłych.

Oznaczenia zostały wykonane w Pracowni Biochemicznej i Metabolizmu Lipidów Katedry i Kliniki Chorób Wewnętrznych, Zawodowych i Nadciśnienia Tętniczego Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu.

### 3.5 Analiza statystyczna

Analizę statystyczną przeprowadzono pod kątem poszukiwania zależności pomiędzy aktywnością CETP i PLTP oraz stężeniami LPL i LCAT, a aktywnością RZS wyrażoną wskaźnikiem DAS28, stężeniem CRP i wartością OB. Zbadano ponadto zależności pomiędzy aktywnością badanych białek a stężeniem lipidów.

Wyniki oznaczeń badanych parametrów przedstawiono pod postacią średniej +/- odchylenie standardowe lub mediany. Zależności zostały określone jako istotne statystycznie gdy  $p$  było mniejsze od 0.05. W przypadku zmiennych ilościowych, w pierwszym etapie określono rodzaj rozkładu danych. W przypadku rozkładu normalnego zastosowano jednoczynnikową analizę wariancji ANOVA. W przypadku rozkładu innego niż normalny zastosowano testy nieparametryczne. Korelacje pomiędzy zmiennymi oceniono przy pomocy współczynnika korelacji Spearmana.

Przeprowadzono także analizę regresji wieloczynnikowej w celu oceny zależności pomiędzy badanymi białkami oraz aktywnością RZS wyrażoną DAS28. Uwzględniono wpływ potencjalnych czynników zakłócających takich jak wiek, płeć, BMI, czynniki związane ze stylem życia, status serologiczny, stosowane leki oraz obecność chorób współistniejących.

W związku z uzyskanymi danymi dotyczącymi stylu życia, grupę badaną podzielono na podgrupy w zależności od BMI ( $< 18,5$  - niedowaga,  $\geq 18,5$  i  $< 25$  - prawidłowa masa ciała,  $\geq 25$  i  $< 30$  - nadwaga,  $\geq 30$  - otyłość), palenia papierosów (palący vs niepalący) oraz spożycia alkoholu (osoby niepijące lub pijące okazjonalnie vs pijące regularnie).

W odniesieniu do czynników związanych z chorobą podstawową, przeprowadzono analizę w zależności od statusu serologicznego (RZS seropozytywne vs seronegatywne), stosowanego leczenia modyfikującego przebieg choroby (konwencjonalne vs biologiczne), średniej dawki glikokortykosteroidów w ostatnich trzech miesiącach w przeliczeniu na prednizon ( $\leq 7.5$  mg/d vs  $> 7.5$  mg/d) oraz stosowanych NLPZ (rzadko lub wcale vs umiarkowanie często lub często).

Uwzględniono także wpływ leczenia statynami (pacjenci leczeni vs nieleczeni) oraz chorób współistniejących (nieobecne vs obecne) na badane parametry. Wśród chorób współistniejących uwzględniono zaburzenia funkcji tarczycy, nadciśnienie tętnicze, cukrzycę oraz miażdżycę pod postacią choroby niedokrwiennej serca, choroby naczyń mózgowych, choroby tętnic obwodowych lub miażdżycy o innej lokalizacji.

Stworzono krzywe wiarygodności ROC (*ang. receiver operating characteristic*) dla aktywności CETP i PLTP oraz stężeń LPL i LCAT jako wskaźników RZS, wyznaczono

punkty odcięcia oraz obliczono pole powierzchni pod krzywą AUC (*ang. area under curve*). Określono czułość, swoistość i dokładność, a także wartość predykcyjną dodatnią i ujemną aktywności i stężeń badanych białek w wykrywaniu RZS oraz różnicowaniu pomiędzy remisją/małą oraz umiarkowaną/dużą aktywnością choroby. Obliczenia przeprowadzono przy użyciu programu STATISTICA 13.3 oraz programu Microsoft Excel 2007.



## 4. Wyniki

### 4.1 Charakterystyka grupy badanej i kontrolnej

Nie wykazano istotnych statystycznie różnic w strukturze demograficznej pomiędzy grupą badaną i kontrolną (tabela 10.). W obu grupach liczba kobiet i mężczyzn była identyczna, a ich wiek niemal identyczny (badanie *head-to-head*). Obie grupy nie różniły się istotnie BMI, a jego mediana mieściła się w zakresie wartości odpowiadających nadwadze.

W bardziej szczegółowej analizie przeprowadzonej zależnie od płci, w teście t wykazano istotnie większe BMI u mężczyzn z grupy kontrolnej w porównaniu do mężczyzn z grupy badanej ( $p < 0,05$ ) (tabela 11.).

Tabela 10. Struktura demograficzna grupy badanej i kontrolnej

Wiek (lata)	Ogółem	Grupa badana (B)	Grupa kontrolna (K)	Poziom istotności (p) różnic między grupą B i K
<b>Kobiety i mężczyźni (n)</b>	<b>194</b>	<b>97</b>	<b>97</b>	
x ± SD	53,3 ± 13,6	53,3 ± 13,6	53,4 ± 13,6	0,9705
min.	18,0	19,0	18,0	
max.	76,0	75,0	76,0	
<b>Kobiety (n)</b>	<b>156</b>	<b>78</b>	<b>78</b>	
x ± SD	53,7 ± 12,9	53,6 ± 13,0	53,7 ± 13,0	0,9656
min.	18,0	19,0	18,0	
max.	76,0	75,0	76,0	
<b>Mężczyźni (n)</b>	<b>38</b>	<b>19</b>	<b>19</b>	
x ± SD	51,9 ± 16,0	51,9 ± 16,2	51,9 ± 16,2	1,0000
min.	22,0	22,0	22,0	
max.	74,0	74,0	74,0	

max. – największa wartość, min. – najmniejsza wartość, n – liczebność, SD – *ang. standard deviation*, odchylenie standardowe, x – średnia arytmetyczna

Tabela 11. Wskaźnik masy ciała w grupie badanej i kontrolnej

BMI [kg/m <sup>2</sup> ]	Ogółem	Grupa badana (B)	Grupa kontrolna (K)	Poziom istotności (p) różnic między grupą B i K
<b>Kobiety i mężczyźni (n)</b>	<b>179</b>	<b>82</b>	<b>97</b>	
x ± SD	26,59 ± 5,24	26,12 ± 4,96	26,98 ± 5,46	0,2753
<b>Kobiety (n)</b>	<b>145</b>	<b>67</b>	<b>78</b>	
x ± SD	26,52 ± 5,57	26,26 ± 5,33	26,75 ± 5,80	0,5982
<b>Mężczyźni (n)</b>	<b>34</b>	<b>15</b>	<b>19</b>	
x ± SD	26,86 ± 5,23	25,52 ± 2,83	27,94 ± 3,71	0,0448*

\*  $p < 0,05$  w teście t dla prób niezależnych; BMI – *ang. body-mass index*, wskaźnik masy ciała, n – liczebność, SD – *ang. standard deviation*, odchylenie standardowe, x – średnia arytmetyczna

W teście chi kwadrat z poprawką Yatesa wykazano istotnie częstsze korzystanie z używek (papierosów i alkoholu) przez osoby z grupy kontrolnej w porównaniu do osób z grupy badanej (tabela 12.). Częstość występowania zaburzeń lipidowych pomiędzy grupami nie różniła się istotnie (tabela 12. i 13.).

Tabela 12. Częstość stosowania używek oraz występowania nieprawidłowego wskaźnika masy ciała i zaburzeń lipidowych w grupie badanej i kontrolnej

	<b>Grupa badana (B)</b>	<b>Grupa kontrolna (K)</b>	<b>Poziom istotności (p) różnic między grupą B i K</b>
<b>BMI</b>			
- niedowaga (n, %)	1 (1,0)	2 (2,1)	0,8775
- prawidłowa m.c. (n, %)	37 (38,1)	32 (33,0)	0,3361
- nadwaga (n, %)	31 (32,0)	40 (41,2)	0,8675
- otyłość (n, %)	13 (13,4)	23 (23,7)	0,3760
<b>Palenie papierosów</b>			
- osoby niepalące (n, %)	92 (94,8)	75 (77,3)	0,3899
- osoby palące (n, %)	5 (5,2)	22 (22,7)	0,0041**
<b>Alkohol</b>			
- okazjonalnie / wcale (n, %)	96 (99,0)	32 (33,0)	0,0000***
- regularnie (n, %)	1 (1,0)	64 (66,0)	0,0000***
<b>Zaburzenia lipidowe</b>			
- hipercholesterolemia (n, %)	81 (83,5)	78 (80,4)	0,6420
- hipertriglicerydemia (n, %)	66 (68,0)	61 (62,9)	0,5791
- hipertriglicerydemia (n, %)	22 (22,7)	27 (27,8)	0,7860
- hiperlipidemia mieszana (n, %)	17 (17,5)	22 (22,7)	0,7140
- dyslipidemia aterogenna (n, %)	3 (3,1)	7 (7,2)	0,4385

\*\* p < 0,01, \*\*\* p < 0,001 w teście chi kwadrat z poprawką Yatesa; BMI – *ang. body-mass index*, wskaźnik masy ciała, n – liczebność

Tabela 13. Częstość występowania zaburzeń lipidowych z podziałem na płeć w grupie badanej i kontrolnej

	<b>Grupa badana (B)</b>	<b>Grupa kontrolna (K)</b>	<b>Poziom istotności (p) różnic między grupą B i K</b>
<b>Zaburzenia lipidowe ogółem</b>			
Kobiety i mężczyźni (n, %)	81 (83,5)	78 (80,4)	0,6420
Kobiety (n, %)	66 (84,6)	64 (82,1)	0,7320
Mężczyźni (n, %)	15 (78,9)	14 (73,7)	0,9113

<b>TC &gt; 190 mg/dl</b>			
Kobiety i mężczyźni (n, %)	66 (68,0)	66 (68,0)	0,7916
Kobiety (n, %)	59 (75,6)	55 (70,5)	0,6312
Mężczyźni (n, %)	7 (36,8)	11 (57,9)	0,7715
<b>LDL-C &gt; 100 mg/dl</b>			
Kobiety i mężczyźni (n, %)	72 (74,2)	67 (69,1)	0,5193
Kobiety (n, %)	61 (78,2)	54 (69,2)	0,4551
Mężczyźni (n, %)	11 (57,9)	13 (68,4)	0,8741
<b>HDL-C poniżej normy</b>			
Kobiety i mężczyźni (n, %)	7 (7,2)	9 (9,3)	0,9584
<b>HDL-C &lt; 45 mg/dl</b>			
Kobiety (n, %)	5 (6,4)	6 (7,7)	0,8796
<b>HDL-C &lt; 40 mg/dl</b>			
Mężczyźni (n, %)	2 (10,5)	3 (15,8)	0,8610
<b>TG &gt; 150 mg/dl</b>			
Kobiety i mężczyźni (n, %)	22 (22,7)	27 (27,8)	0,7860
Kobiety (n, %)	17 (21,8)	21 (26,9)	0,8037
Mężczyźni (n, %)	5 (26,3)	6 (31,6)	0,8085

HDL-C – ang. *high-density lipoprotein cholesterol*, cholesterol HDL, LDL-C – ang. *low-density lipoprotein cholesterol*, cholesterol LDL, n – liczebność, TC – ang. *total cholesterol*, cholesterol całkowity, TG – triglicerydy

#### 4.2 Stężenie lipidów w grupie badanej i kontrolnej

U kobiet w grupie badanej stwierdzono istotnie większe stężenie cholesterolu całkowitego, LDL i non-HDL w porównaniu do kobiet z grupy kontrolnej ( $p < 0,05$ ). Nie wykazano istotnych statystycznie różnic w stężeniach lipidów pomiędzy mężczyznami z grupy badanej i kontrolnej. Stężenia HDL-C i triglicerydów nie różniły się istotnie pomiędzy grupami (tabela 14.).

Tabela 14. Stężenia lipidów w grupie badanej i kontrolnej

	Ogółem	Grupa badana (B)	Grupa kontrolna (K)	Poziom istotności (p) różnic między grupą B i K
<b>TC [mg/dl]</b>				
<b>Kobiety (n)</b>	<b>150</b>	<b>72</b>	<b>78</b>	
x ± SD	222,9 ± 46,8	231,8 ± 50,6	214,8 ± 41,8	0,0265*
min.	145,0	145,0	146,9	
max.	406,0	378,0	406,0	

<b>Mężczyźni (n)</b>	<b>36</b>	<b>17</b>	<b>19</b>	
x ± SD	196,8 ± 36,9	191,1 ± 35,0	201,8 ± 38,7	0,3892
min.	146,9	151,0	146,9	
max.	321,0	280,0	321,0	
<b>LDL-C [mg/dl]</b>				
<b>Kobiety (n)</b>	<b>147</b>	<b>70</b>	<b>77</b>	
x ± SD	131,9 ± 40,1	140,5 ± 41,2	124,1 ± 37,6	0,0132*
min.	56,0	56,0	65,7	
max.	297,8	274,0	297,8	
<b>Mężczyźni (n)</b>	<b>36</b>	<b>17</b>	<b>19</b>	
x ± SD	114,2 ± 31,6	109,7 ± 29,2	118,2 ± 33,9	0,4266
min.	73,5	74,0	73,5	
max.	212,7	182,0	212,7	
<b>HDL-C [mg/dl]</b>				
<b>Kobiety (n)</b>	<b>148</b>	<b>71</b>	<b>77</b>	
x ± SD	66,0 ± 17,1	65,7 ± 17,3	66,3 ± 17,0	0,8332
min.	33,0	33,0	36,3	
max.	125,7	122,0	125,7	
<b>Mężczyźni (n)</b>	<b>36</b>	<b>17</b>	<b>19</b>	
x ± SD	56,4 ± 18,4	56,1 ± 13,7	56,6 ± 22,2	0,9310
min.	27,8	36,0	27,8	
max.	124,5	88,0	124,5	
<b>non-HDL-C [mg/dl]</b>				
<b>Kobiety (n)</b>	<b>148</b>	<b>71</b>	<b>77</b>	
x ± SD	157,0 ± 43,4	166,0 ± 44,2	148,7 ± 41,2	0,0151*
min.	74,0	74,0	77,0	
max.	320,6	312,0	320,6	
<b>Mężczyźni (n)</b>	<b>36</b>	<b>17</b>	<b>19</b>	
x ± SD	140,4 ± 36,7	135,0 ± 30,3	145,2 ± 41,8	0,4113
min.	92,0	95,0	92,0	
max.	270,3	203,0	270,3	
<b>TG [mg/dl]</b>				
<b>Kobiety (n)</b>	<b>148</b>	<b>72</b>	<b>76</b>	
x ± SD	125,9 ± 58,1	127,08 ± 59,8	124,8 ± 56,8	0,8141
min.	40,0	40,0	49,6	
max.	340,0	340,0	333,0	
<b>Mężczyźni (n)</b>	<b>36</b>	<b>17</b>	<b>19</b>	
x ± SD	129,8 ± 59,8	126,2 ± 57,3	132,9 ± 63,3	0,7437
min.	29,2	60,0	29,2	
max.	297,59	229,0	297,59	

\*  $p < 0,05$  w teście t dla prób niezależnych; max. – największe stężenie badanej zmiennej, min. – najmniejsze stężenie badanej zmiennej, n – liczebność, non-HDL-C – *ang. non-HDL cholesterol*, cholesterol non-HDL, SD – *ang. standard deviation*, odchylenie standardowe, x – średnia arytmetyczna

### 4.3 Aktywność CETP i PLTP w grupie badanej i kontrolnej

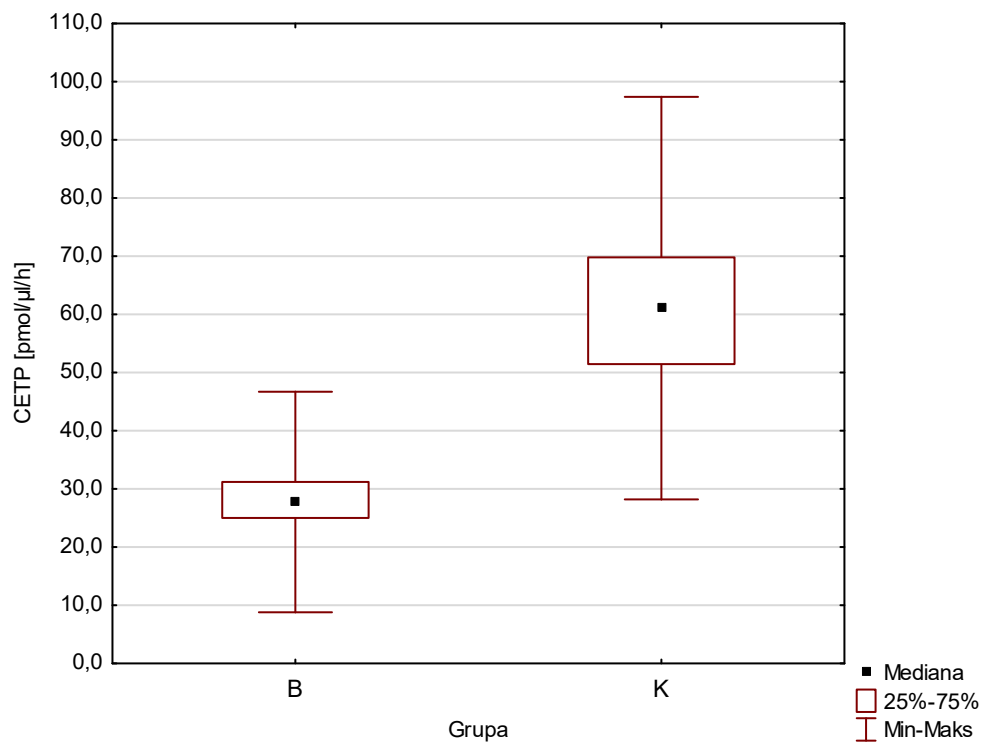
W grupie badanej stwierdzono istotnie mniejszą aktywność CETP i PLTP w porównaniu do grupy kontrolnej ( $p < 0.001$ ) (tabela 15., rycina 13. i 14.).

Tabela 15. Aktywność białek transportujących lipidy w grupie badanej i kontrolnej

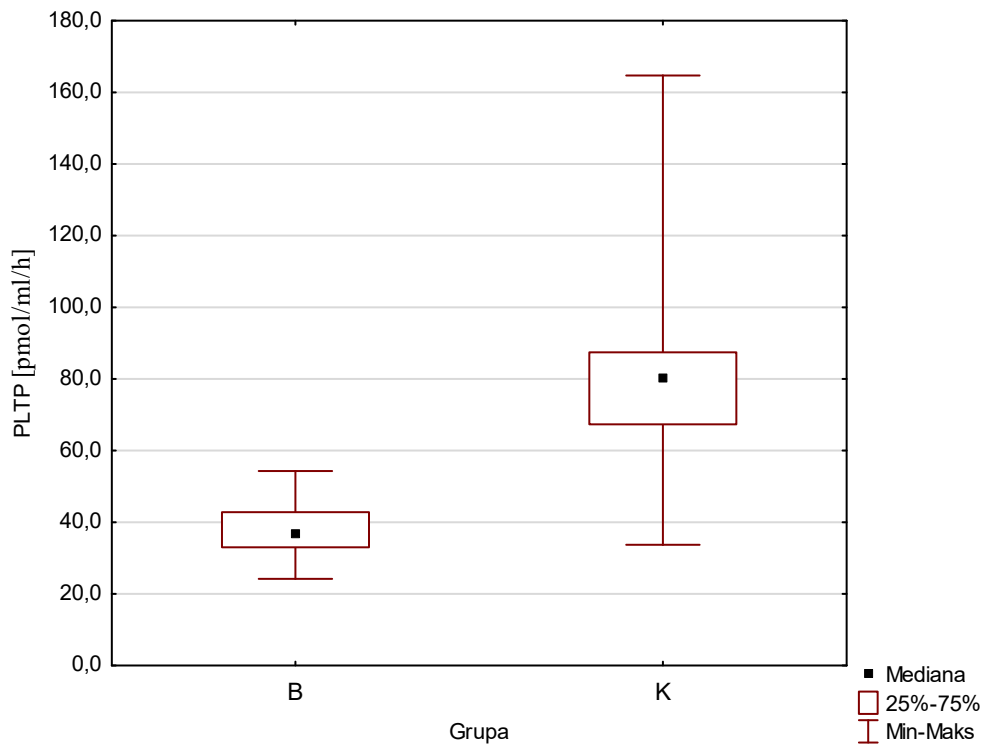
	Ogółem	Grupa badana (B)	Grupa kontrolna (K)	Poziom istotności (p) różnic między grupą B i K
<b>CETP [pmol/μl/h]</b>				
<b>Kobiety (n)</b>	<b>147</b>	<b>70</b>	<b>77</b>	
mediana	38,3	27,5	63,2	0,0000***
min.	8,8	8,8	28,2	
max.	97,4	38,3	97,4	
Q25	27,8	24,7	53,3	
Q75	64,2	30,8	69,9	
<b>Mężczyźni (n)</b>	<b>36</b>	<b>17</b>	<b>19</b>	
mediana	44,6	29,2	54,2	0,0000***
min.	17,3	17,3	30,4	
max.	76,2	46,7	76,2	
Q25	29,7	26,0	47,4	
Q75	56,0	31,6	67,10	
<b>PLTP [pmol/ml/h]</b>				
<b>Kobiety (n)</b>	<b>147</b>	<b>70</b>	<b>77</b>	
mediana	54,3	37,05	81,6	0,0000***
min.	26,2	26,2	36,7	
max.	164,7	54,3	164,7	
Q25	37,1	33,0	68,0	
Q75	75,5	42,7	88,0	
<b>Mężczyźni (n)</b>	<b>36</b>	<b>17</b>	<b>19</b>	
mediana	50,1	36,7	73,0	0,0000***
min.	24,2	24,2	33,7	
max.	97,5	54,3	97,5	
Q25	36,4	33,9	57,8	
Q75	75,5	43,5	84,8	

\*\*\*  $p < 0,001$  w teście U Manna-Whitney'a z poprawką na ciągłość; CETP – *ang. cholesteryl-ester transfer protein*, białko przenoszące estry cholesterolu, max. – największe stężenie badanej zmiennej, min. – najmniejsze

stężenie badanej zmiennej, n – liczebność, PLTP – *ang. phospholipid transfer protein*, białko przenoszące fosfolipidy, Q25 – dolny kwartyl, Q75 – górny kwartyl



Rycina 13. Aktywność CETP w grupie badanej (B) oraz kontrolnej (K)



Rycina 14. Aktywność PLTP w grupie badanej (B) oraz kontrolnej (K)

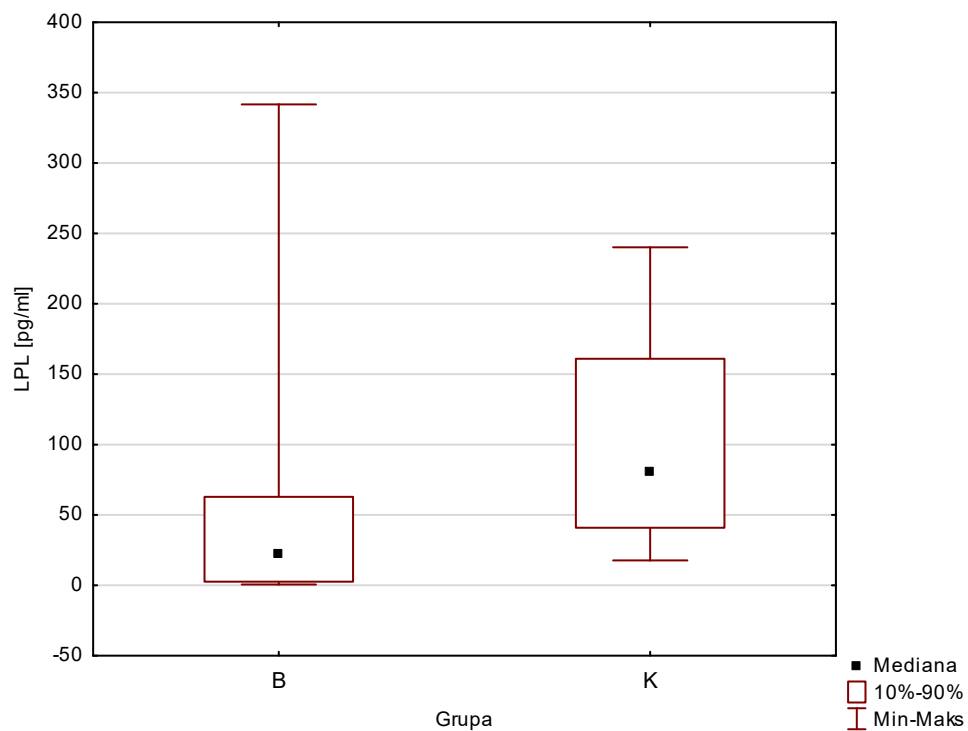
#### 4.4 Stężenie LPL i LCAT u kobiet w grupie badanej i kontrolnej

U kobiet z grupy badanej wykazano istotnie mniejsze stężenie LPL i LCAT w porównaniu do kobiet z grupy kontrolnej ( $p < 0.001$ ) (tabela 16., rycina 15. i 16.).

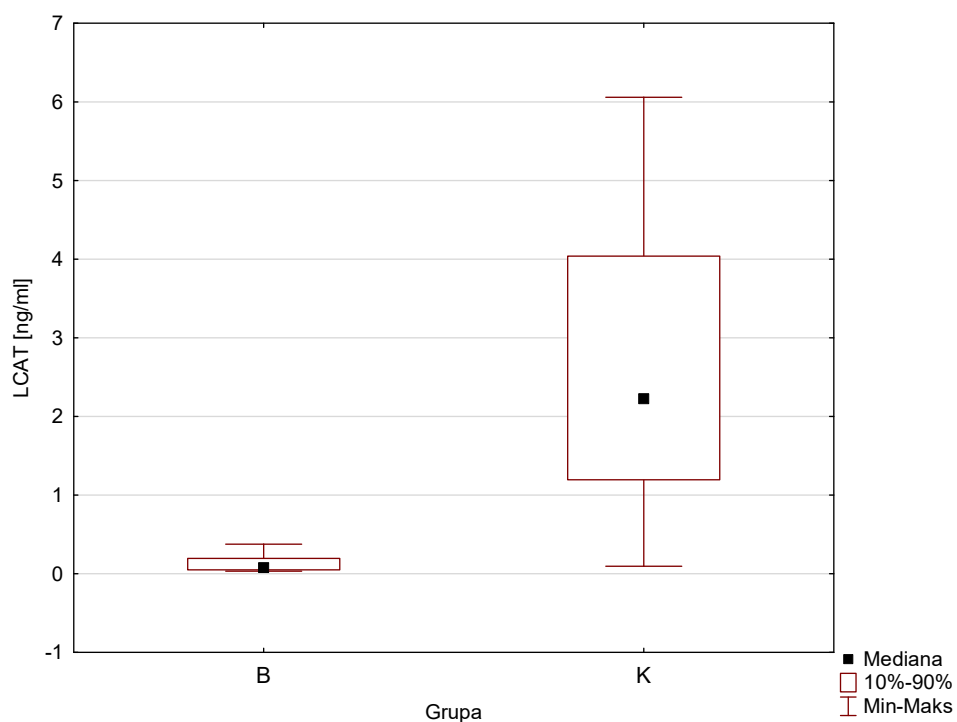
Tabela 16. Stężenie LPL i LCAT u kobiet w grupie badanej i kontrolnej

	Ogółem (n = 127)	Grupa badana (B) (n = 65)	Grupa kontrolna (K) (n = 62)	Poziom istotności (p) różnic między grupą B i K
<b>LPL [pg/ml]</b>				
mediana	47,5	23,4	81,4	0,0000***
min.	0,6	0,6	17,8	
max.	341,7	341,7	240,2	
Q25	22,0	7,8	55,4	
Q75	90,0	34,7	122,4	
<b>LCAT [ng/ml]</b>				
mediana	0,29	0,08	2,22	0,0000***
min.	0,03	0,03	0,10	
max.	6,06	0,38	6,06	
Q25	0,07	0,07	1,61	
Q75	2,15	0,10	3,09	

\*\*\*  $p < 0,001$  w teście U Manna-Whitney'a z poprawką na ciągłość; LCAT - *ang. lecithin: cholesterol acetyltransferase*, acylotransferaza lecytynowo-cholesterolowa, LPL – lipaza lipoproteinowa, max. – największe stężenie badanej zmiennej, min. – najmniejsze stężenie badanej zmiennej, n – liczebność, Q25 – dolny kwartył, Q75 – górny kwartył



Rycina 15. Stężenie LPL w grupie badanej (B) oraz kontrolnej (K)



Rycina 16. Stężenie LCAT w grupie badanej (B) oraz kontrolnej (K)



#### 4.5 Zależności pomiędzy aktywnością CETP i PLTP a stężeniem lipidów w grupie badanej i kontrolnej

W poszukiwaniu zależności pomiędzy aktywnością oznaczanych białek a stężeniem lipidów przeprowadzono analizę nieparametryczną. Stwierdzono w niej występowanie licznych korelacji pomiędzy aktywnością CETP a stężeniami lipidów (tabela 17.).

U kobiet z grupy badanej wykazano dodatnie korelacje pomiędzy aktywnością CETP a stężeniami TC ( $p < 0,01$ ), LDL-C ( $p < 0,01$ ) i non-HDL-C ( $p < 0,001$ ). Zależności te, wykazane także przy pomocy analizy regresji wielorakiej, przedstawiono na rycinach 17.-19. U kobiet z grupy kontrolnej nie obserwowano podobnych korelacji. Zarówno u kobiet z grupy badanej jak i kontrolnej stwierdzono dodatnią zależność między aktywnością CETP i stężeniem TG.

Z kolei u mężczyzn z grupy badanej, odwrotnie względem kobiet z grupy badanej, wykazano ujemną korelację pomiędzy aktywnością CETP a stężeniami LDL-C i non-HDL-C. U mężczyzn z grupy kontrolnej nie obserwowano korelacji pomiędzy aktywnością CETP i stężeniami LDL-C i non-HDL-C; wykazano natomiast dodatnią zależność pomiędzy aktywnością CETP i stężeniem TC.

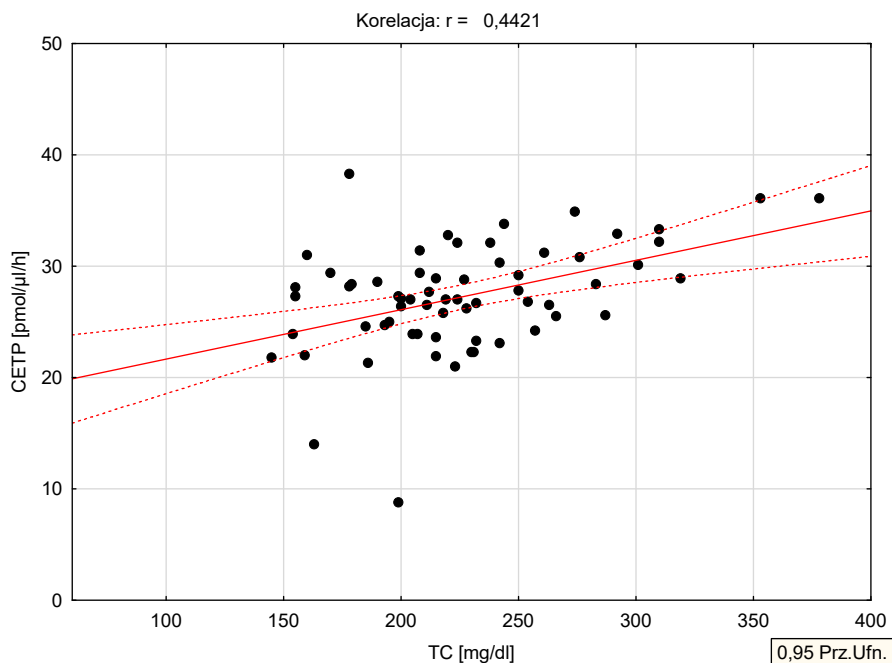
Tabela 17. Współczynniki zależności liniowych pomiędzy aktywnością CETP a stężeniem lipidów w grupie badanej i kontrolnej

CETP zależnie od:	Współczynniki korelacji porządku rang Spearmana		
	Ogółem	Grupa badana	Grupa kontrolna
<b>TC</b>			
<b>Kobiety i mężczyźni</b>	0,0622	0,2115	0,2079 *
<b>Kobiety</b>	0,0108	0,3815 **	0,1032
<b>Mężczyźni</b>	0,3879 *	-0,1805	0,6773**
<b>LDL-C</b>			
<b>Kobiety i mężczyźni</b>	-0,0126	0,1826	0,1580
<b>Kobiety</b>	-0,0442	0,3951 **	0,0945
<b>Mężczyźni</b>	0,1752	-0,5862 *	0,4204
<b>HDL-C</b>			
<b>Kobiety i mężczyźni</b>	0,0347	0,0963	-0,5834
<b>Kobiety</b>	0,0323	0,0863	-0,1459
<b>Mężczyźni</b>	-0,0597	0,2262	-0,0360
<b>non-HDL-C</b>			
<b>Kobiety i mężczyźni</b>	0,0209	0,2015	0,2265 *
<b>Kobiety</b>	-0,0041	0,4070 ***	0,1774
<b>Mężczyźni</b>	0,2145	-0,5147 *	0,4467

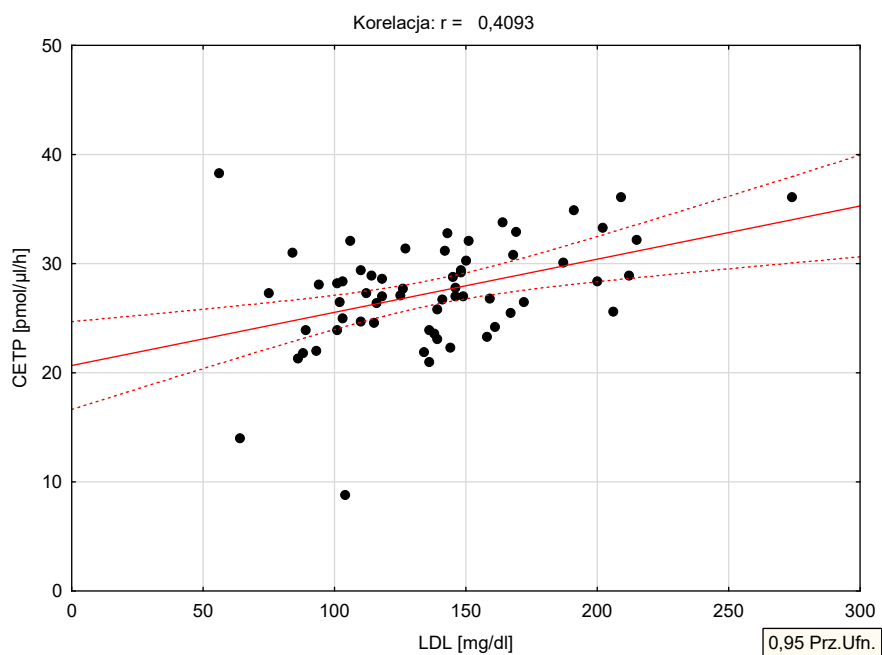
## TG

<b>Kobiety i mężczyźni</b>	0,1296	0,2302 *	0,2116 *
<b>Kobiety</b>	0,1457	0,2988 *	0,2803*
<b>Mężczyźni</b>	0,1530	0,0697	0,2046

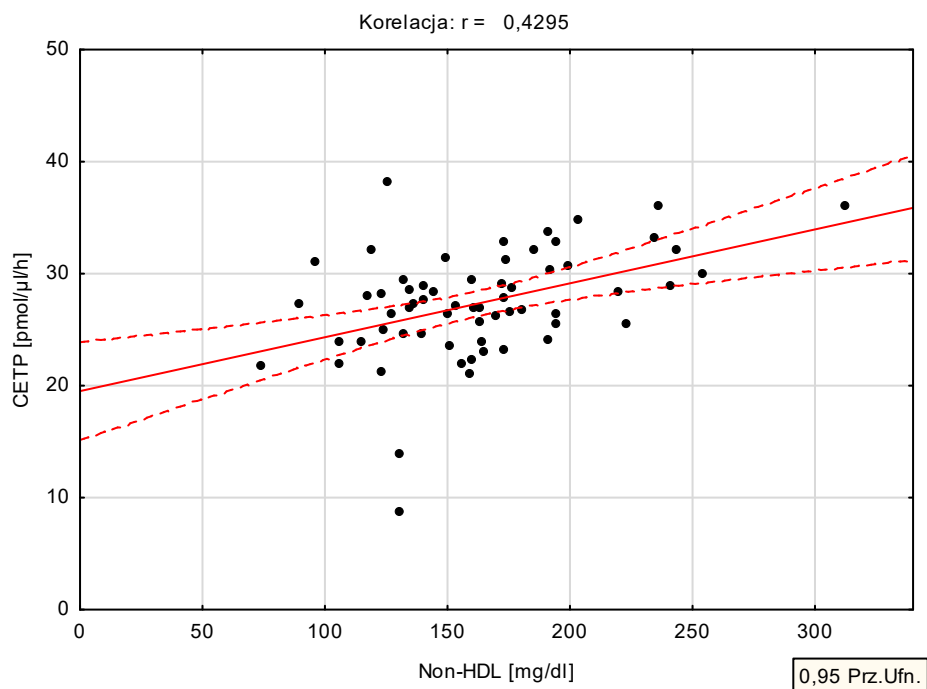
Istotność statystyczna współczynników korelacji: \*  $p < 0,05$ ; \*\*  $p < 0,01$ ; \*\*\*  $p < 0,001$



Rycina 17. CETP a TC w analizie regresji wielorakiej u kobiet z grupy badanej ( $\beta = 0,4421$ ,  $p < 0,001$ )



Rycina 18. CETP a LDL-C w analizie regresji wielorakiej u kobiet z grupy badanej ( $\beta = 0,4093$ ,  $p < 0,001$ )



Rycina 19. CETP a non-HDL-C w analizie regresji wielorakiej u kobiet z grupy badanej ( $\beta = 0,4295$ ,  $p < 0,001$ )

W przeciwieństwie do CETP, w przypadku PLTP wykazano nieliczne korelacje między jego aktywnością a stężeniem lipidów, a żadna z nich nie dotyczyła kobiet. U mężczyzn z grupy badanej wykazano dodatnią korelację między aktywnością PLTP i stężeniem TC, zaś u mężczyzn z grupy kontrolnej, ujemną korelację między aktywnością PLTP i stężeniem HDL-C (tabela 18.).

Tabela 18. Współczynniki zależności liniowych pomiędzy aktywnością PLTP a stężeniem lipidów w grupie badanej i kontrolnej

PLTP zależnie od:	Współczynniki korelacji porządku rang Spearmana		
	Ogółem	Grupa badana	Grupa kontrolna
<b>TC</b>			
<b>Kobiety i mężczyźni</b>	-0,0152	0,0186	0,0436
<b>Kobiety</b>	-0,0849	-0,0509	0,0652
<b>Mężczyźni</b>	0,3225	0,5393*	-0,1085
<b>LDL-C</b>			
<b>Kobiety i mężczyźni</b>	-0,0717	-0,0127	0,0695
<b>Kobiety</b>	-0,1537	-0,0832	0,0592
<b>Mężczyźni</b>	0,3227	0,4750	0,1047
<b>HDL-C</b>			
<b>Kobiety i mężczyźni</b>	0,0508	0,0433	0,0037
<b>Kobiety</b>	0,0803	0,0195	0,0423

<b>Mężczyźni</b>	-0,2188	0,1376	-0,5081*
<b>non-HDL-C</b>			
<b>Kobiety i mężczyźni</b>	-0,0612	0,0025	0,0731
<b>Kobiety</b>	-0,1498	-0,0702	0,0289
<b>Mężczyźni</b>	0,3612*	0,4286	0,1395
<b>TG</b>			
<b>Kobiety i mężczyźni</b>	0,0197	-0,0219	0,0408
<b>Kobiety</b>	-0,0262	-0,0950	-0,0302
<b>Mężczyźni</b>	0,1901	0,1821	0,3854

Istotność statystyczna współczynników korelacji: \*  $p < 0,05$

#### 4.6 Zależności pomiędzy stężeniem LPL i LCAT a stężeniem lipidów u kobiet w grupie badanej i kontrolnej

U kobiet w grupie badanej i kontrolnej przeprowadzono analizę nieparametryczną w poszukiwaniu zależności pomiędzy stężeniem LPL i LCAT a stężeniem lipidów (tabela 19. i 20.).

Ze względu na nieobecność istotnych zależności pomiędzy stężeniem LPL i lipidów, poszukiwano zależności pomiędzy stężeniem LPL a innymi lipidowymi wskaźnikami ryzyka miażdżycy. U kobiet z grupy kontrolnej wykazano dodatnią korelację LPL ze wskaźnikiem TC/HDL-C oraz LDL-C/HDL-C. Zależności tych nie obserwowano w grupie badanej.

W obu badanych grupach kobiet w analizie współczynników korelacji liniowych nie wykazano istotnych zależności pomiędzy stężeniem LCAT a stężeniami lipidów ani innymi lipidowymi wskaźnikami ryzyka miażdżycy.

Tabela 19. Współczynniki zależności liniowych między stężeniem LPL a stężeniem lipidów oraz wskaźnikami ryzyka miażdżycy u kobiet w grupie badanej i kontrolnej

LPL zależnie od:	Współczynniki korelacji porządku rang Spearmana		
	Ogółem	Grupa badana	Grupa kontrolna
TC	-0,0569	0,0917	0,0845
LDL-C	-0,0662	0,0592	0,1947
HDL-C	-0,0746	-0,0934	-0,1751
non-HDL-C	-0,0709	0,0682	0,1673
TG	0,07208	0,1971	0,1865
TC/HDL-C	0,0304	0,1918	<b>0,2550*</b>

<b>LDL-C/HDL-C</b>	0,0392	0,1516	<b>0,2991*</b>
<b>TG/HDL-C</b>	0,0755	0,2023	0,2046

Istotność statystyczna współczynników korelacji: \*  $p < 0,05$

Tabela 20. Współczynniki zależności liniowych między stężeniem LCAT a stężeniem lipidów oraz wskaźnikami ryzyka miażdżycy u kobiet w grupie badanej i kontrolnej

LCAT zależnie od:	Współczynniki korelacji porządku rang Spearmana		
	Ogółem	Grupa badana	Grupa kontrolna
<b>TC</b>	-0,1354	-0,0471	0,0364
<b>LDL-C</b>	-0,1746	-0,0709	0,1086
<b>HDL-C</b>	-0,0337	-0,1059	-0,1555
<b>non-HDL-C</b>	-0,1735	-0,0635	0,1157
<b>TG</b>	-0,0019	0,0323	0,0796
<b>TC/HDL-C</b>	-0,0677	0,1347	0,1801
<b>LDL-C/HDL-C</b>	-0,0608	0,1117	0,2178
<b>TG/HDL-C</b>	0,0140	0,1162	0,1400

#### 4.7 Zależności pomiędzy oznaczanymi białkami transportującymi i przekształcającymi lipidy w grupie badanej i kontrolnej

W poszukiwaniu zależności pomiędzy badanymi parametrami białkowymi przeprowadzono analizę w grupie badanej i kontrolnej (tabela 21. i 22.). W grupie badanej nie wykazano obecności korelacji pomiędzy stężeniem LCAT i aktywnością PLTP, ani pomiędzy stężeniami LCAT i LPL, występujących u zdrowych osób z grupy kontrolnej ( $p < 0,001$ ).

Tabela 21. Współczynniki korelacji liniowych pomiędzy oznaczanymi białkami w grupie badanej

	Macierz kwadratowa współczynników korelacji porządku rang Spearmana			
	CETP	PLTP	LPL	LCAT
<b>CETP</b>		-0,1359	0,0104	-0,0529
<b>PLTP</b>	-0,1358		0,0868	0,0943
<b>LPL</b>	0,0104	0,0868		0,1822
<b>LCAT</b>	-0,0529	0,0943	0,1822	

Tabela 22. Współczynniki korelacji liniowych pomiędzy oznaczanymi białkami w grupie kontrolnej

Macierz kwadratowa współczynników korelacji porządku rang Spearmana				
	CETP	PLTP	LPL	LCAT
CETP		0,1504	-0,0348	-0,0820
PLTP	0,1504		-0,1084	-0,4180***
LPL	-0,0348	-0,1084		0,5015***
LCAT	-0,0820	-0,4180***	0,5015***	

Istotność statystyczna współczynników korelacji: \*\*\*  $p < 0,001$ 

#### 4.8 Zależności pomiędzy oznaczanymi białkami a parametrami zapalenia w grupie badanej i kontrolnej

W teście U Manna-Whitney'a pomiędzy grupą badaną i kontrolną wykazano liczne różnice w wynikach oznaczeń parametrów procesu zapalnego (tabela 23.). U kobiet z grupy badanej stwierdzono istotnie większą liczbę leukocytów ( $p < 0,01$ ) i neutrofilów ( $p < 0,05$ ) oraz większe wartości OB ( $p < 0,001$ ) w porównaniu do grupy kontrolnej. U obu płci w grupie badanej wykazano istotnie mniejszą liczbę limfocytów ( $p < 0,01$ ) w porównaniu do grupy kontrolnej.

Tabela 23. Parametry procesu zapalnego w grupie badanej i kontrolnej

	Grupa badana (B)	Grupa kontrolna (K)	Poziom istotności (p) różnic między grupą B i K
<b>LEU [tys./mm<sup>3</sup>]</b>			
<b>Kobiety i mężczyźni (n)</b>	<b>96</b>	<b>96</b>	
mediana	7,4	6,4	0,0028**
Q25	5,5	5,1	
Q75	10,0	7,8	
<b>Kobiety (n)</b>	<b>77</b>	<b>77</b>	
mediana	7,2	6,2	0,0052**
Q25	5,5	5,2	
Q75	9,5	7,4	
<b>Mężczyźni (n)</b>	<b>19</b>	<b>19</b>	
mediana	7,5	7,8	0,2313
Q25	5,3	5,0	
Q75	11,3	9,0	
<b>NEU [tys./mm<sup>3</sup>]</b>			
<b>Kobiety i mężczyźni (n)</b>	<b>96</b>	<b>94</b>	
mediana	4,7	3,9	0,0246*
Q25	3,2	3,0	
Q75	6,8	5,2	

<b>Kobiety (n)</b>	<b>77</b>	<b>76</b>	
mediana	4,6	3,8	0,0453*
Q25	3,1	3,0	
Q75	6,6	4,7	
<b>Mężczyźni (n)</b>	<b>19</b>	<b>18</b>	
mediana	6,0	5,3	0,2944
Q25	3,4	3,1	
Q75	8,4	6,3	

#### LYMPH [tys./mm<sup>3</sup>]

<b>Kobiety i mężczyźni (n)</b>	<b>96</b>	<b>96</b>	
mediana	1,8	2,1	0,0016**
Q25	1,3	1,7	
Q75	2,3	2,5	
<b>Kobiety (n)</b>	<b>77</b>	<b>77</b>	
mediana	1,9	2,1	0,0226*
Q25	1,3	1,7	
Q75	2,3	2,5	
<b>Mężczyźni (n)</b>	<b>19</b>	<b>19</b>	
mediana	1,7	2,3	0,0120*
Q25	1,3	1,6	
Q75	2,0	2,7	

#### OB [mm/h]

<b>Kobiety i mężczyźni (n)</b>	<b>95</b>	<b>96</b>	
mediana	10	6	0,0001***
Q25	6	3	
Q75	20	11	
<b>Kobiety (n)</b>	<b>76</b>	<b>77</b>	
mediana	11	6	0,0006***
Q25	7	3	
Q75	19	13	
<b>Mężczyźni (n)</b>	<b>19</b>	<b>19</b>	
mediana	7	3	0,0638
Q25	2	2	
Q75	25	8	

\*  $p < 0,05$ , \*\*  $p < 0,01$ , \*\*\*  $p < 0,001$  w teście U Manna-Whitney'a z poprawką na ciągłość; LEU – liczba leukocytów, LYMPH – liczba limfocytów, max. – największe stężenie badanej zmiennej, min. – najmniejsze stężenie badanej zmiennej, n – liczebność, NEU – liczba neutrofilów, OB – odczyn Biernackiego, szybkość opadania erytrocytów, Q25 – dolny kwartył, Q75 – górny kwartył

W przeprowadzonej analizie stwierdzono występowanie licznych korelacji pomiędzy oznaczanymi białkami a parametrami zapalenia (tabela 24.). Wszystkie białka korelowały ujemnie z leukocytozą. Ponadto CETP korelowało ujemnie z neutrocytozą i dodatnio z

limfocytozą, a LPL dodatnio z limfocytozą. Dodatkowo stwierdzono ujemne korelacje pomiędzy CETP i LCAT a wartością OB. Wykazane różnice były przesłanką do pogłębionej analizy korelacji pomiędzy badanymi białkami a parametrami zapalnymi w obu grupach. W analizie każdej z grup z osobna nie stwierdzono jednak występowania istotnych zależności pomiędzy badanymi białkami a parametrami zapalenia.

Tabela 24. Współczynniki zależności liniowych pomiędzy oznaczanymi białkami a parametrami procesu zapalnego w obu grupach

	Współczynniki korelacji porządku rang Spearmana			
	LEU	NEU	LYMPH	OB
<b>CETP</b>	-0,1950**	-0,1623*	0,2142**	-0,2380**
<b>PLTP</b>	-0,2059**	-0,1455	0,1338	-0,1721*
<b>LPL</b>	-0,1675*	-0,1500	0,2082*	-0,1146
<b>LCAT</b>	-0,1986*	-0,1563	0,1650	-0,2075*

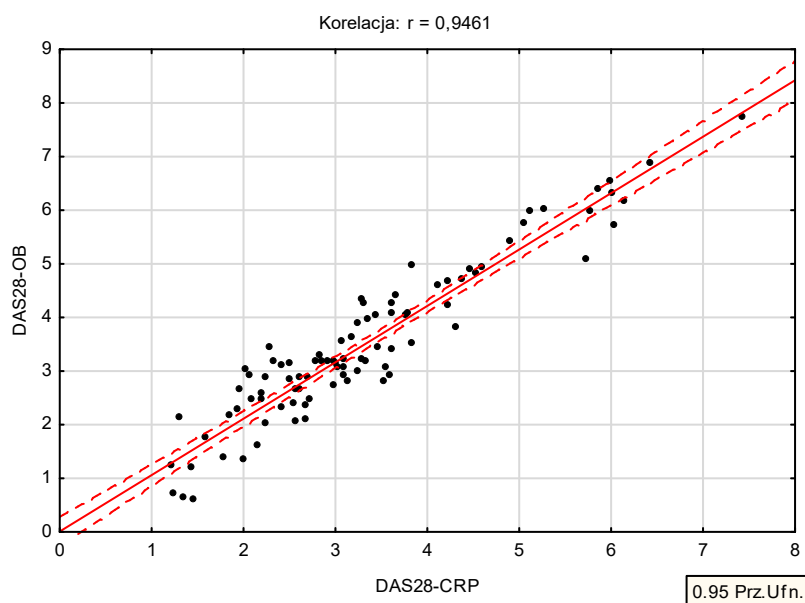
Istotność statystyczna współczynników korelacji: \*  $p < 0,05$ , \*\*  $p < 0,01$ ; LEU – liczba leukocytów, LYMPH – liczba limfocytów, NEU – liczba neutrofilów, OB – szybkość opadania erytrocytów

#### **4.9 Zależności pomiędzy aktywnością RZS a lipidami oraz białkami związanymi z ich transportem i przekształcaniem**

##### **4.9.1 Aktywność RZS w grupie badanej**

Wyniki oceny aktywności choroby w grupie badanej według wskaźników DAS28-OB i DAS28-CRP były do siebie zbliżone (rycina 20.).





Rycina 20. Zależność między DAS28-OB i DAS28-CRP w grupie badanej w analizie regresji wielorakiej ( $\beta = 0,9461$ ,  $p < 0,001$ )

Z uwagi na częstsze wykorzystanie wskaźnika DAS28-OB w praktyce klinicznej, w dalszej części pracy wyniki oznaczeń w grupie badanej analizowano w zależności od jego wartości. Aktywność choroby według DAS28-OB w grupie badanej przedstawiono w tabelach 25.-27. W teście U Manna-Whitney'a nie wykazano istotnych różnic w DAS28-OB pomiędzy kobietami i mężczyznami, ani pomiędzy chorymi z rozpoznaną seropozytywną i seronegatywną postacią choroby. Mediana DAS-28-OB w grupie badanej zbliżona była do 3,2. Wartość ta stanowi przyjętą granicę pomiędzy rozpoznaniem umiarkowanej i małej aktywności choroby oraz cel terapii u chorych na RZS. Z tego powodu w dalszej części pracy analizowano różnice w badanych parametrach białkowych i lipidowych zgodnie z podziałem grupy badanej na dwie podgrupy: z  $\text{DAS28-OB} < \text{lub} \geq 3,2$ .

Tabela 25. Liczba chorych w podgrupach określonych zależnie od aktywności choroby

DAS28-OB	n (%)
<b>Ogółem</b>	91 (100,0)
< 2,6 (remisja)	22 (24,2)
$\geq 2,6$ i < 3,2 (mała aktywność)	27 (30,0)
$\geq 3,2$ i < 5,1 (umiarkowana aktywność)	28 (30,1)
$\geq 5,1$ (duża aktywność)	14 (15,4)
< 3,2	49 (53,8)

$\geq 3,2$	42 (46,2)
------------	-----------

DAS28-OB - *ang. disease activity score 28*, wskaźnik aktywności choroby 28 [wyliczony na podstawie OB],  
n – liczebność

Tabela 26. Wartość DAS28-OB w grupie badanej w zależności od płci

DAS28-OB	Ogółem	Kobiety (K)	Mężczyźni (M)	Poziom istotności różnic p między K i M
n (%)	91 (100,0)	73 (80,2)	18 (19,8)	
mediana	3,17	3,17	3,30	0,7764
Q25	2,65	2,67	2,04	
Q75	4,27	4,27	4,27	

n – liczebność, Q25 – dolny kwartył, Q75 – górny kwartył

Tabela 27. Wartość DAS28-OB w grupie badanej w zależności postaci RZS

DAS28-OB	Ogółem	RZS sero- pozytywne (P)	RZS sero- negatywne (N)	Poziom istotności różnic p między P i N
n (%)	91 (100,0)	75 (100,0)	16 (100,0)	
mediana	3,17	3,18	3,13	1,0000
Q25	2,65	2,67	2,34	
Q75	4,27	4,23	5,26	

n – liczebność, Q25 – dolny kwartył, Q75 – górny kwartył

#### 4.9.2 Stężenie lipidów w grupie badanej z uwzględnieniem aktywności RZS

W teście U Manna-Whitney'a u kobiet wykazano istotne różnice w stężeniach lipidów zależne od aktywności choroby. W grupie pacjentek z DAS28-OB < 3,2 stwierdzono istotnie większe stężenie TC ( $p < 0,01$ ), LDL-C ( $p < 0,05$ ) i non-HDL-C ( $p < 0,05$ ) w porównaniu do pacjentek z DAS28-OB  $\geq 3,2$ . Poza tym nie wykazano różnic w lipidogramie u kobiet i mężczyzn pomiędzy grupą z remisją/małą aktywnością choroby oraz grupą z umiarkowaną/dużą aktywnością choroby (tabela 28.).

Tabela 28. Stężenia lipidów w grupie badanej u chorych z DAS28-OB < i  $\geq 3,2$

	DAS28-OB < 3,2	DAS28-OB $\geq 3,2$	Poziom istotności (p) różnic
TC [mg/dl]			

<b>Kobiety i mężczyźni (n)</b>	<b>43</b>	<b>41</b>	
x ± SD	234,3 ± 55,3	211,9 ± 42,3	0,0410*
<b>Kobiety (n)</b>	<b>35</b>	<b>33</b>	
x ± SD	247,5 ± 52,3	216,0 ± 43,8	0,0091**
<b>Mężczyźni (n)</b>	<b>8</b>	<b>8</b>	
x ± SD	176,2 ± 18,0	194,9 ± 32,9	0,1814
<b>LDL-C [mg/dl]</b>			
<b>Kobiety i mężczyźni (n)</b>	<b>41</b>	<b>41</b>	
x ± SD	142,4 ± 47,3	124,9 ± 31,7	0,0519
<b>Kobiety (n)</b>	<b>33</b>	<b>33</b>	
x ± SD	153,1 ± 45,8	128,1 ± 32,8	0,0132*
<b>Mężczyźni (n)</b>	<b>8</b>	<b>8</b>	
x ± SD	98,6 ± 22,0	111,8 ± 24,0	0,2740
<b>HDL-C [mg/dl]</b>			
<b>Kobiety i mężczyźni (n)</b>	<b>42</b>	<b>41</b>	
x ± SD	66,3 ± 16,9	61,7 ± 17,7	0,2290
<b>Kobiety (n)</b>	<b>34</b>	<b>33</b>	
x ± SD	69,3 ± 16,8	63,0 ± 18,1	0,1467
<b>Mężczyźni (n)</b>	<b>8</b>	<b>8</b>	
x ± SD	53,5 ± 10,2	56,1 ± 16,0	0,7015
<b>non-HDL-C [mg/dl]</b>			
<b>Kobiety i mężczyźni (n)</b>	<b>42</b>	<b>41</b>	
x ± SD	168,1 ± 48,3	150,2 ± 34,4	0,0565
<b>Kobiety (n)</b>	<b>34</b>	<b>33</b>	
x ± SD	178,7 ± 46,9	153,0 ± 35,3	0,0139*
<b>Mężczyźni (n)</b>	<b>8</b>	<b>8</b>	
x ± SD	122,8 ± 19,4	138,8 ± 29,6	0,2223
<b>TG [mg/dl]</b>			
<b>Kobiety i mężczyźni (n)</b>	<b>43</b>	<b>41</b>	
x ± SD	126,8 ± 53,7	127,0 ± 57,3	0,9924
<b>Kobiety (n)</b>	<b>35</b>	<b>33</b>	
x ± SD	128,4 ± 53,2	125,1 ± 56,9	0,8051
<b>Mężczyźni (n)</b>	<b>8</b>	<b>8</b>	
x ± SD	120,3 ± 58,7	134,9 ± 62,2	0,6362

\* p < 0,05, \*\* p < 0,01 w teście t; n – liczebność, SD – *ang. standard deviation*, odchylenie standardowe, x – średnia arytmetyczna

#### 4.9.3 Aktywność CETP i PLTP oraz stężenie LPL i LCAT z uwzględnieniem aktywności RZS

W teście U Manna-Whitney'a wykazano różnice w aktywności PLTP oraz stężeniu LCAT pomiędzy analizowanymi podgrupami chorych na RZS. U mężczyzn z DAS28-OB < 3,2 stwierdzono istotnie mniejszą aktywność PLTP w porównaniu do mężczyzn z DAS28-OB  $\geq 3,2$  ( $p < 0,05$ ). Podobne różnice w aktywności PLTP zależne od DAS-28-OB obserwowano u pacjentów z seronegatywną postacią choroby ( $p < 0,01$ ). Ponadto u osób z DAS28-OB < 3,2 wykazano istotnie większe stężenie LCAT w porównaniu do osób z DAS28-OB  $\geq 3,2$  ( $p < 0,05$ ) (tabela 29.).

Tabela 29. Aktywność CETP i PLTP oraz stężenie LPL i LCAT u chorych z DAS28-OB < i  $\geq 3,2$

	DAS28-OB < 3,2	DAS28-OB $\geq 3,2$	Poziom istotności (p) różnic
<b>CETP [pmol/<math>\mu</math>l/h] (n)</b>	<b>45</b>	<b>37</b>	
mediana	28,2	27,1	0,1751
Q25	26,2	24,1	
Q75	32,0	30,1	
<b>PLTP [pmol/ml/h] (n)</b>	<b>45</b>	<b>37</b>	
mediana	36,1	38,4	0,1751
Q25	32,6	33,7	
Q75	40,5	44,6	
<b>LPL [pg/ml] (n)</b>	<b>43</b>	<b>34</b>	
mediana	22,0	24,0	0,9427
Q25	7,5	6,4	
Q75	41,6	33,2	
<b>LCAT [ng/ml] (n)</b>	<b>43</b>	<b>34</b>	
mediana	0,09	0,07	0,0210*
Q25	0,07	0,05	
Q75	0,16	0,09	

\*  $p < 0,05$  w teście U Manna-Whitney'a z poprawką na ciągłość; n – liczebność, Q25 – dolny kwartył, Q75 – górny kwartył

#### 4.9.4 Zależności pomiędzy białkami transportującymi i przekształcającymi lipidy a parametrami aktywności RZS

W poszukiwaniu zależności pomiędzy oznaczanymi białkami a parametrami związanymi z aktywnością RZS przeprowadzono analizę współczynników korelacji liniowych (tabele 30-35). W analizie korelacji rang Spearmana wykazano ujemną korelację

CETP z DAS28-OB, DAS28-CRP i VAS ogólnego stanu zdrowia w grupie badanej u kobiet ( $p < 0,05$ ), a także ujemną korelację CETP z VAS ogólnego stanu zdrowia u chorych z seronegatywną postacią choroby ( $p < 0,01$ ).

Stwierdzono ponadto dodatnią korelację PLTP z LOS ( $p < 0,01$ ), LBS i VAS ogólnego stanu zdrowia u pacjentów z RZS seronegatywnym ( $p < 0,05$ ), a także dodatnią korelację PLTP z LBS i DAS28-OB u mężczyzn ( $p < 0,05$ ).

Nie wykazano korelacji między stężeniem LPL a badanymi parametrami aktywności RZS. W przypadku LCAT, wykazano ujemną korelację z DAS28-OB i DAS28-CRP u chorych z ustalonym rozpoznaniem seropoztywnej postaci choroby ( $p < 0,05$ ).

Tabela 30. Współczynniki korelacji liniowych pomiędzy aktywnością CETP a parametrami związanymi z aktywnością choroby z uwzględnieniem płci

CETP zależnie od:	Współczynniki korelacji porządku rang Spearmana		
	Ogółem (n = 82)	Kobiety (n = 66)	Mężczyźni (n = 16)
<b>LBS</b>	-0,1558	-0,1319	-0,2532
<b>LOS</b>	-0,1848	-0,2011	-0,1516
<b>VAS</b>	0,2130	-0,2661*	-0,0672
<b>DAS28-OB</b>	-0,2443*	-0,2781*	-0,2340
<b>DAS28-CRP</b>	-0,2164	-0,2645*	-0,1486

Istotność statystyczna współczynników korelacji: \*  $p < 0,05$ ; DAS28-OB - *ang. disease activity score 28*, wskaźnik aktywności choroby 28 [wyliczony na podstawie OB], DAS28-CRP - *ang. disease activity score 28*, wskaźnik aktywności choroby 28 [wyliczony na podstawie CRP], LBS – liczba bolesnych stawów, LOS – liczba obrzękniętych stawów, VAS – *ang. visual analogue scale*, wizualna skala analogowa [ogólnego stanu zdrowia]

Tabela 31. Współczynniki korelacji liniowych pomiędzy aktywnością CETP a parametrami związanymi z aktywnością choroby z uwzględnieniem serologicznej postaci RZS

CETP zależnie od:	Współczynniki korelacji porządku rang Spearmana		
	Ogółem (n = 82)	RZS seropoztywne (n = 68)	RZS seronegatywne (n = 14)
<b>LBS</b>	-0,1558	-0,0583	-0,4036
<b>LOS</b>	-0,1848	-0,0900	-0,4226

<b>VAS</b>	-0,2130	-0,0701	-0,7097**
<b>DAS28-OB</b>	-0,2443*	-0,1771	-0,4163
<b>DAS28-CRP</b>	-0,2164	-0,1183	-0,4449

Istotność statystyczna współczynników korelacji: \*  $p < 0,05$ ; \*\*  $p < 0,01$

Tabela 32. Współczynniki korelacji liniowych pomiędzy aktywnością PLTP a parametrami związanymi z aktywnością RZS z uwzględnieniem płci

PLTP zależnie od:	Współczynniki korelacji porządku rang Spearmana		
	Ogółem (n = 82)	Kobiety (n = 66)	Mężczyźni (n = 16)
<b>LBS</b>	0,2187*	0,1091	0,5253*
<b>LOS</b>	0,1483	0,0790	0,3974
<b>VAS</b>	0,1199	0,0558	0,3351
<b>DAS28-OB</b>	0,1334	0,0428	0,5176*
<b>DAS28-CRP</b>	0,1299	0,0548	0,3529

Istotność statystyczna współczynników korelacji: \*  $p < 0,05$

Tabela 33. Współczynniki korelacji liniowych pomiędzy aktywnością PLTP a parametrami związanymi z aktywnością choroby z uwzględnieniem serologicznej postaci RZS

PLTP zależnie od:	Współczynniki korelacji porządku rang Spearmana		
	Ogółem (n = 82)	RZS seropoztywne (n = 68)	RZS seronegatywne (n = 14)
<b>LBS</b>	0,2187*	0,1595	0,5762*
<b>LOS</b>	0,1483	0,0370	0,6647**
<b>VAS</b>	0,1199	0,0236	0,5771*
<b>DAS28-OB</b>	0,1334	0,0390	0,5253
<b>DAS28-CRP</b>	0,1299	0,0246	0,5077

Istotność statystyczna współczynników korelacji: \*  $p < 0,05$ ; \*\*  $p < 0,01$

Tabela 34. Współczynniki korelacji liniowych pomiędzy stężeniem LPL a parametrami związanymi z aktywnością choroby z uwzględnieniem serologicznej postaci RZS

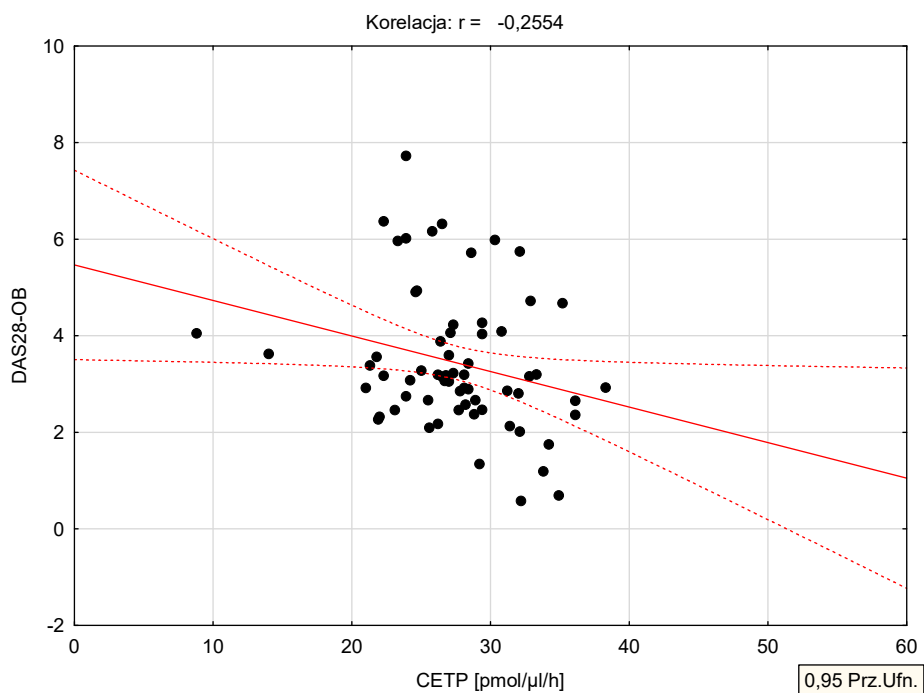
	Współczynniki korelacji porządku rang Spearmana		
	Ogółem (n = 77)	RZS seropozytywne (n = 64)	RZS seronegatywne (n = 13)
<b>LPL</b> zależnie od:			
<b>LBS</b>	0,0628	0,0104	0,2511
<b>LOS</b>	0,0790	0,0109	0,3146
<b>VAS</b>	0,0081	-0,0601	0,2204
<b>DAS28-OB</b>	0,0563	-0,0278	0,3681
<b>DAS28-CRP</b>	0,0370	-0,0738	0,4505

Tabela 35. Współczynniki korelacji liniowych pomiędzy stężeniem LCAT a parametrami związanymi z aktywnością choroby z uwzględnieniem serologicznej postaci RZS

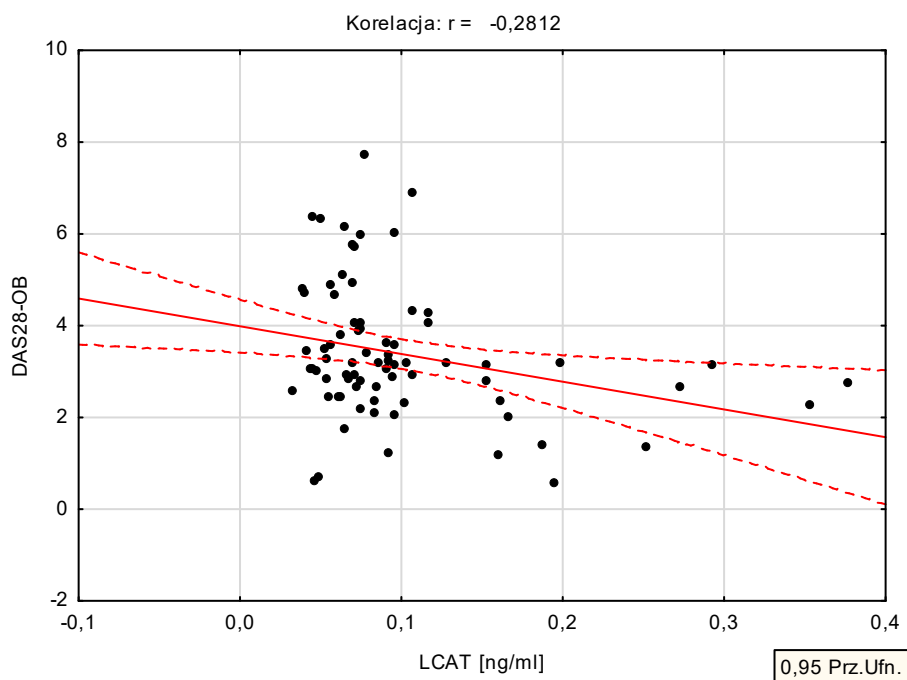
	Współczynniki korelacji porządku rang Spearmana		
	Ogółem (n = 77)	RZS seropozytywne (n = 64)	RZS seronegatywne (n = 13)
<b>LCAT</b> zależnie od:			
<b>LBS</b>	-0,2070	-0,2226	-0,2965
<b>LOS</b>	-0,1606	-0,1547	-0,3467
<b>VAS</b>	-0,2193	-0,2374	-0,1713
<b>DAS28-OB</b>	-0,2495*	-0,2741*	-0,1625
<b>DAS28-CRP</b>	-0,2238	0,2500*	-0,0882

Istotność statystyczna współczynników korelacji: \*  $p < 0,05$

W analizie regresji wielorakiej potwierdzono występowanie odwrotnej zależności pomiędzy DAS28-OB a CETP u kobiet (rycina 21.). Wykazano także odwrotną zależność pomiędzy DAS28-OB a LCAT w całej grupie badanej ( $\beta = -0,2812$ ,  $p < 0,05$ ) (rycina 22.).



Rycina 21. CETP a DAS28-OB u kobiet ( $\beta = -0,2554$ ,  $p < 0,05$ )

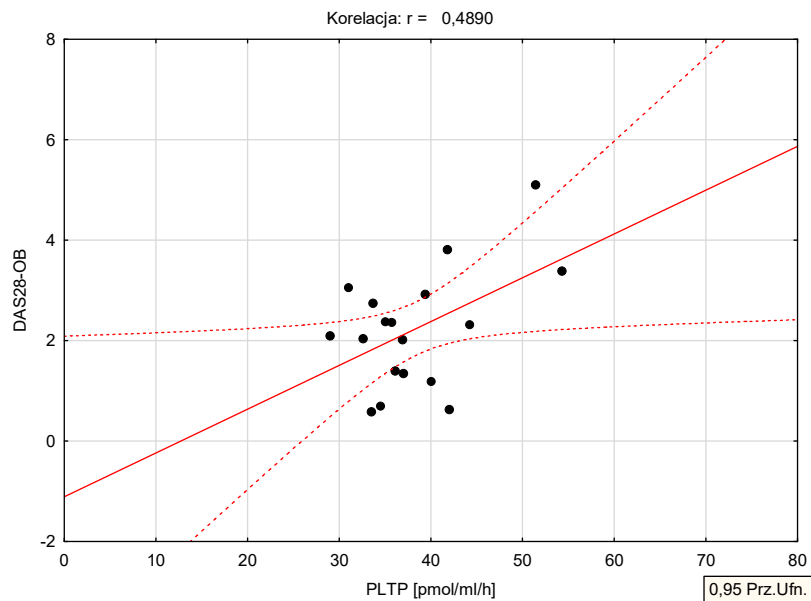


Rycina 22. LCAT a DAS28-OB ( $\beta = -0,2812$ ,  $p < 0,05$ )

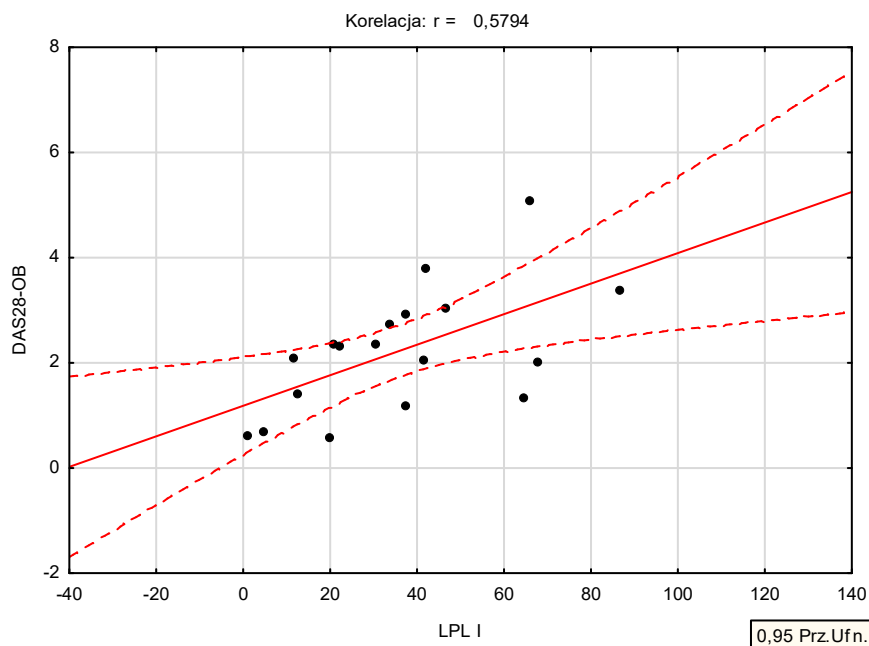
Z kolei w grupie chorych z ustalonym rozpoznaniem seronegatywnej postaci RZS w analizie regresji potwierdzono dodatnią zależność między stężeniem PLTP a DAS28-CRP ( $\beta = 0,5674$ ,  $p < 0,05$ ).



W teście U Manna-Whitney'a u chorych z prawidłowym poziomem parametrów zapalnych wykazano istotne różnice dotyczące badanych białek pomiędzy pacjentami z DAS28-OB większym lub mniejszym od 3,2. U pacjentów z wartością OB poniżej 5 mm/h, wśród chorych z DAS28-OB  $\geq 3,2$  wykazano istotnie większą aktywność PLTP ( $p < 0,01$ ) i stężenie LPL ( $p < 0,05$ ) w porównaniu do chorych z DAS28-OB poniżej 3,2. W analizie regresji wielorakiej u pacjentów z CRP  $< 5$  mg/l oraz OB  $< 5$  mm/h wykazano dodatnią korelację pomiędzy aktywnością PLTP a wartością DAS28-OB (rycina 23.), a także korelację między stężeniem LPL a wartością DAS28-OB i DAS28-CRP (rycina 24.).



Rycina 23. PLTP a wartość DAS28-OB u chorych z CRP  $< 5$  mg/l oraz OB  $< 5$  mm/h ( $\beta = 0,4890$ ,  $p < 0,05$ )



Rycina 24. LPL a wartość DAS28-OB u chorych z CRP < 5 mg/l oraz OB < 5 mm/h ( $\beta = 0,5794$ ,  $p < 0,05$ )

#### 4.10 Model regresji logistycznej

W analizie współczynników korelacji porządku rang Spearmana nie wykazano zależności pomiędzy aktywnością CETP i PLTP czy stężeniem LPL i LCAT a średnią dawką glikokortykosteroidów przyjmowanych w ciągu trzech miesięcy poprzedzających oznaczenia. Z uwagi na dużą niejednorodność grupy badanej pod względem rodzaju, czasu stosowania oraz schematu dawkowania leków modyfikujących przebieg choroby i NLPZ, nie analizowano związku pomiędzy oznaczanymi białkami a stosowaniem leków innych niż GKS.

Zależności pomiędzy badanymi białkami oraz aktywnością RZS analizowano następnie w modelu regresji logistycznej. Uwzględniono wpływ potencjalnych czynników zakłócających takich jak wiek, płeć, BMI, palenie papierosów, obecność czynnika reumatoidalnego lub przeciwciał antytrulinowych, otyłość, zaburzenia lipidowe oraz terapia (konwencjonalnymi lub biologicznymi) LMPCh, GKS, NLPZ i statynami.

W analizie jednoczynnikowej wykazano związek pomiędzy dużą/umiarkowaną aktywnością RZS oraz następującymi czynnikami: LCAT > Q75 ( $p < 0,01$ ), BMI, otyłością, leczeniem bLMPCh i GKS ( $p < 0,05$ ). W analizie wieloczynnikowej wykazano zależność dużej/umiarkowanej aktywności choroby od stosowania bLMPCh (OR = 0,182, 95% CI

0,045-0,744,  $p < 0,05$ ) oraz obecności przeciwciał antycytrulinowych (OR = 3,943, 95% CI 1,330-11,688,  $p < 0,05$ ).

Z kolei w wieloczynnikowej analizie zależności badanych parametrów białkowych od aktywności choroby, wykazano zależność LCAT > Q75 od dużej/umiarkowanej aktywności choroby (OR = 0,465, 95% CI 0,222-0,976,  $p < 0,05$ ).

#### 4.11 Oznaczone parametry białkowe jako potencjalne wskaźniki wykrywalności i aktywności RZS

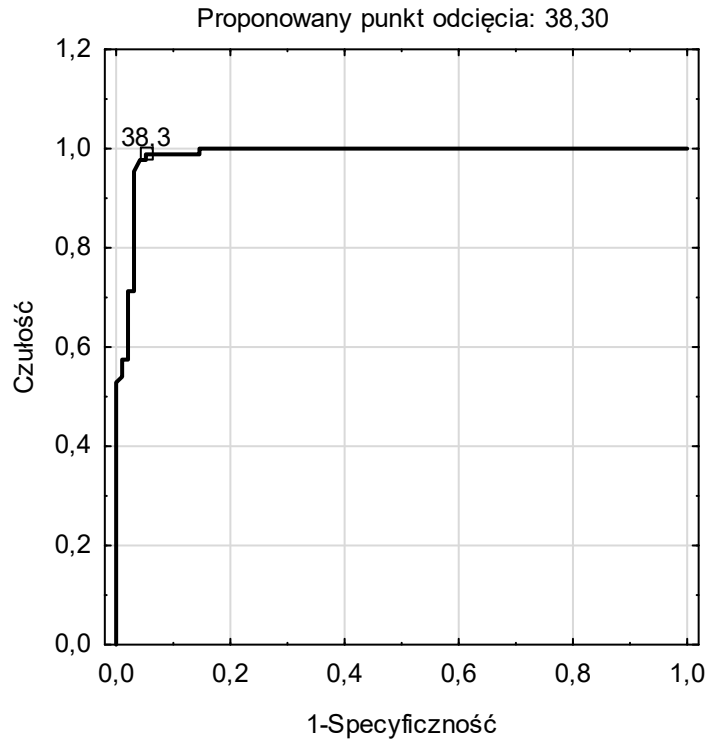
W związku z obserwowaną istotnie mniejszą aktywnością CETP i PLTP, a także istotnie mniejszym stężeniem LPL i LCAT w grupie badanej w porównaniu do grupy kontrolnej, oceniono badane białka jako potencjalne wskaźniki RZS. Określono czułość, swoistość i dokładność badanych parametrów w detekcji RZS w badanej populacji (tabela 38).

Przeprowadzono analizę krzywych ROC (*ang. Receiver Operating Characteristic*) dla badanych białek jako destymulantów występowania RZS. Wykazano dużą czułość (99-100%) i swoistość (93-98%) LCAT, CETP i PLTP w różnicowaniu pomiędzy chorymi na RZS a osobami zdrowymi. Pod tym względem mniej przydatne okazała się LPL (tabela 36.). Poniżej wyznaczonych na krzywych ROC punktów odcięcia ryzyko występowania choroby było istotnie większe (ryciny 25. i 26.).

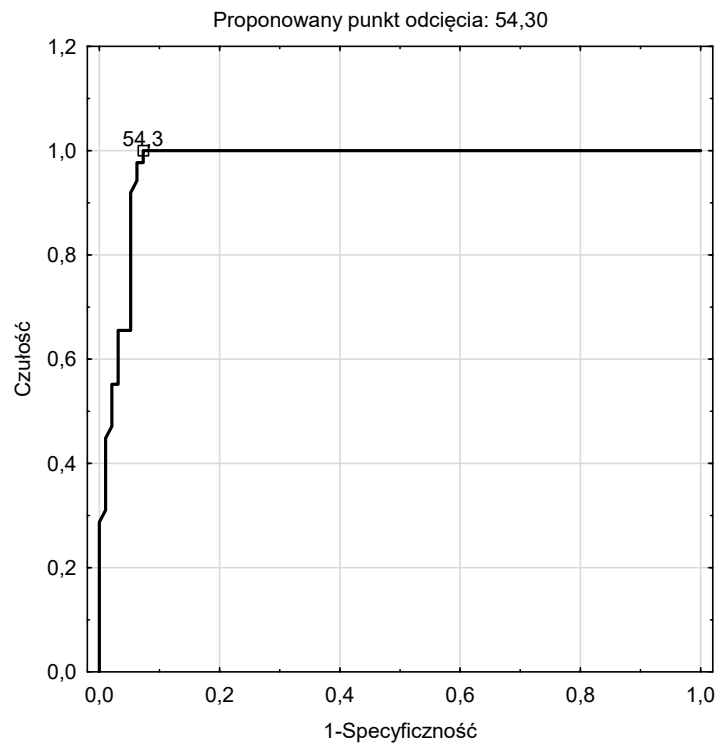
Tabela 36. Czuość, swoistość, dokładność i punkty odcięcia dla aktywności CETP i PLTP oraz stężeń LCAT i LPL w różnicowaniu pomiędzy osobami zdrowymi i chorymi na RZS

	<b>Punkt odcięcia</b>	<b>Czułość</b>	<b>Swoistość</b>	<b>1-Swoistość</b>	<b>PPV</b>	<b>NPV</b>	<b>ACC</b>
<b>LCAT</b>	0,38	1,000	0,984	0,016	0,988	1,000	0,993
<b>CETP</b>	38,3	0,989	0,948	0,052	0,945	0,989	0,967
<b>PLTP</b>	54,3	1,000	0,927	0,073	0,926	1,000	0,962
<b>LPL</b>	46,6	0,840	0,871	0,129	0,895	0,806	0,853

ACC – *ang. accuracy*, dokładność, NPV – *ang. negative predictive value*, wartość predykcyjna wyniku ujemnego, PPV – *ang. positive predictive value*, wartość predykcyjna wyniku dodatniego



Rycina 25. Krzywa ROC dla CETP jako wskaźnika występowania RZS. AUC – *ang. area under curve*, pole pod krzywą ROC = 0,986 (95% CI 0,971-1,000;  $p < 0,001$ )



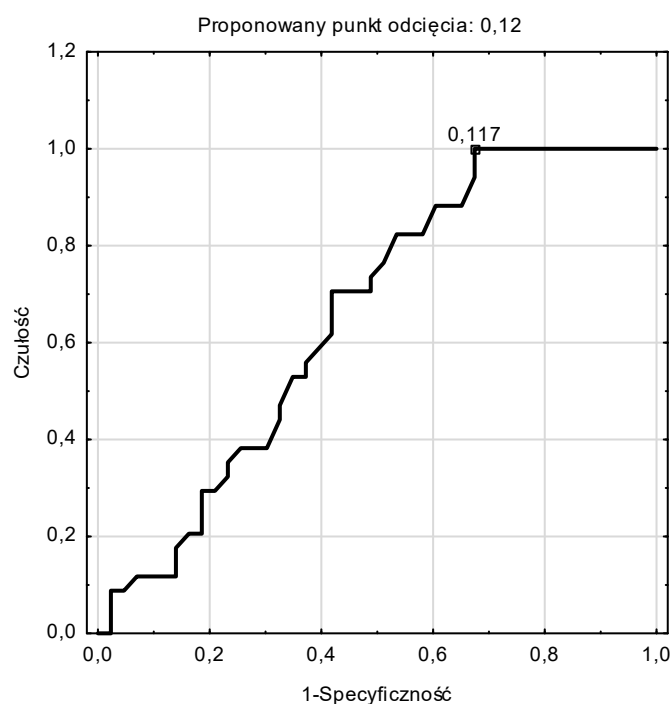
Rycina 26. Krzywa ROC dla PLTP jako wskaźnika występowania RZS. AUC – *ang. area under curve*, pole pod krzywą ROC = 0,974 (95% CI 0,952-0,997;  $p < 0,001$ )

W związku z obserwowanymi istotnie mniejszym stężeniem LCAT w grupie chorych z DAS28-OB  $\geq 3,2$  w porównaniu do pacjentów z DAS28-OB  $< 3,2$  oraz wynikami analizy wieloczynnikowej, oceniono LCAT jako potencjalny wskaźnik aktywności choroby. Dla wyznaczonego metodą Youdena punktu odcięcia wykazano jednak niewielką swoistość i dokładność LCAT w różnicowaniu pomiędzy pacjentami z dużą/umiarkowaną aktywnością oraz małą aktywnością/remisją choroby (tabela 37., rycina 27.).

Tabela 37. Czulość, swoistość, dokładność i punkt odcięcia dla stężeń LCAT w różnicowaniu pomiędzy dużą/umiarkowaną aktywnością oraz małą aktywnością/remisją RZS

	Punkt odcięcia	Czulość	Swoistość	1-Swoistość	PPV	NPV	ACC
<b>LCAT</b>	0,12	1,000	0,326	0,674	0,540	1,000	0,623

ACC – ang. *accuracy*, dokładność, NPV – ang. *negative predictive value*, wartość predykcyjna wyniku ujemnego, PPV – ang. *positive predictive value*, wartość predykcyjna wyniku dodatniego



Rycina 27. Krzywa ROC dla LCAT jako wskaźnika RZS o dużej/umiarkowanej aktywności. AUC – ang. *area under curve*, pole pod krzywą ROC = 0,654 (95% CI 0,533-0,776;  $p < 0,05$ )

## 5. Dyskusja

Ryzyko sercowo-naczyniowe jest zwiększone u chorych na RZS dwukrotnie w porównaniu do populacji ogólnej, a zdarzenia sercowo-naczyniowe są główną przyczyną zgonów w tej grupie chorych [10,12–14]. Głównym czynnikiem ryzyka tzw. twardych punktów końcowych takich jak zawał mięśnia sercowego, udar mózgu czy nagły zgon sercowy jest hipercholesterolemia, a w szczególności zwiększone stężenie LDL-C [232].

W przedstawionej pracy wykazano istotne różnice w stężeniach lipidów i białek przekształcających lipidy, a także w aktywności białek transportujących lipidy, pomiędzy badaną grupą pacjentów z ustalonym rozpoznaniem RZS i kontrolną grupą osób zdrowych. Liczne odmienności w wartościach oznaczanych parametrów stwierdzono także wewnątrz grupy badanej po jej podziale na podgrupy ze wskaźnikiem DAS28 większym lub mniejszym od 3,2. Wyniki przeprowadzonej analizy statystycznej wskazują na zaburzenia homeostazy białek odpowiedzialnych za metabolizm lipidów, możliwą rolę CETP w „paradoksie lipidowym” oraz potencjalne immunologiczne funkcje badanych białek u chorych na RZS.

### 5.1 Zaburzenia lipidowe u chorych na RZS

W prezentowanym badaniu w grupie pacjentów z ustalonym rozpoznaniem RZS stwierdzono, że aktywność CETP i PLTP oraz stężenia LPL i LCAT są istotnie mniejsze w porównaniu do grupy kontrolnej ( $p < 0,001$ ). W grupie badanej wykazano istotnie większe stężenie LDL-C w porównaniu do grupy kontrolnej. Porównując kobiety z grupy badanej i kontrolnej, stwierdzono istotnie większe stężenie TC, non-HDL-C i LDL-C w grupie badanej. Nie obserwowano podobnych różnic wśród mężczyzn.

Oprócz zahamowania aktywności lub zmniejszenia stężenia oznaczanych białek, w grupie badanej obserwowano brak naturalnych zależności pomiędzy stężeniem LCAT i aktywnością PLTP, a także pomiędzy stężeniami LCAT i LPL, występujących u zdrowych osób z grupy kontrolnej. Ponadto, choć u kobiet z grupy kontrolnej wykazano dodatnią korelację LPL ze wskaźnikiem TC/HDL oraz LDL/HDL, zależności tych nie obserwowano w grupie badanej. Obserwacje te wskazują na „rozprężenie” układu naturalnych zależności pomiędzy białkami odpowiadającymi za transport i przekształcanie lipidów u chorych na RZS.

U pacjentów chorych na RZS stężenia lipidów zmieniają się zależnie od fazy choroby: przedklinicznej, aktywnej lub nieaktywnej w wyniku zastosowania terapii [49]. W prezentowanym badaniu u chorych na RZS wykazano różnice w lipidogramie zależnie od aktywności choroby, dodatkowo stwierdzając występowanie różnic zależnie od płci. U kobiet

z grupy badanej w porównaniu do kobiet z grupy kontrolnej istotnie częściej obserwowano profil lipidowy związany ze zwiększonym ryzykiem rozwoju miażdżycy. Po uwzględnieniu aktywności choroby, istotnie większe stężenie TC ( $p < 0,01$ ), LDL-C ( $p < 0,05$ ) i non-HDL-C ( $p < 0,05$ ) stwierdzono u pacjentek z DAS28-OB  $< 3,2$  (nieaktywną chorobą) w porównaniu do pacjentek z DAS28-OB  $\geq 3,2$  (aktywną chorobą). Jak wcześniej wspomniano, stosunkowo małe stężenie TC i LDL-C u chorych z aktywnym RZS związane z istotnie zwiększonym ryzykiem zawału mięśnia sercowego określa się mianem „paradoksu lipidowego” [50].

W dostępnych badaniach dowiedziono, że duża aktywność choroby może maskować ilościowe zaburzenia lipidowe, które ujawniają się po zastosowaniu skutecznej terapii przeciwzapalnej [39,49]. Wykazano, że ryzyko sercowo-naczyniowe jest większe u chorych z aktywnym RZS w porównaniu do chorych z nieaktywnym RZS i profilem lipidowym tradycyjnie uznanym za pro-miażdżycowy [50]. Także chorzy na RZS z małym stężeniem LDL stanowią grupę zagrożoną zwiększonym ryzykiem miażdżycy tętnic wieńcowych. U pacjentów ze stężeniem LDL-C  $< 70$  mg/dl wykazano 4-krotnie większe wartości CAC (*ang. coronary artery calcium score*, tomograficzny wskaźnik uwapnienia tętnic wieńcowych) w porównaniu do osób z grupy kontrolnej z podobnym stężeniem LDL-C [233]. Co więcej, w jednym z badań wykazano, że choć duża aktywność choroby koreluje ze zmniejszeniem stężenia TC, HDL-C i LDL-C, to jednocześnie koreluje ze zwiększeniem stężenia ox-LDL. Pacjenci z małym stężeniem LDL-C mogą prezentować duże wartości wskaźnika ox-LDL/LDL, co może przekładać się na duże ryzyko sercowo-naczyniowe [234].

W przedstawionej pracy wykazano przy pomocy analizy regresji wielorakiej występowanie zależności pomiędzy CETP i TC ( $\beta = 0,4421$ ,  $p < 0,001$ ); CETP i LDL-C ( $\beta = 0,4093$ ,  $p < 0,001$ ) oraz CETP i non-HDL-C ( $\beta = 0,4295$ ,  $p < 0,001$ ) u kobiet z grupy badanej. Korelacje te świadczą o istotnej roli CETP w metabolizmie lipoprotein o działaniu miażdżycorodnym, wśród których najważniejszą rolę odgrywa cholesterol LDL. W związku ze stwierdzonymi zależnościami nasuwa się hipoteza, że CETP bierze udział w regulacji stężenia lipidów zależnej od aktywnej lub nieaktywnej fazy RZS.

Co więcej, w świetle przytoczonych danych wydaje się, że za zwiększone ryzyko sercowo-naczyniowe u chorych na RZS w odpowiadają nie tylko ilościowe, ale także jakościowe zmiany w zakresie lipoprotein. Jednym z czynników regulujących strukturę i funkcje lipoprotein jest CETP. U chorych na RZS w kilku pracach wykazano związek CETP z pro-miażdżycowymi zmianami w strukturze i właściwościach lipoprotein oraz ze zwiększonym ryzykiem sercowo-naczyniowym [147,149,161]. Być może zmniejszenie aktywności CETP u chorych na RZS, choć związane z zmniejszeniem stężeniem LDL-C,

przyczynia się jednocześnie do jakościowych zmian lipoprotein ostatecznie prowadzących do zwiększenia ryzyka sercowo-naczyniowego w ramach paradoksu lipidowego.

Oprócz stężenia LDL-C, kolejnym ważnym czynnikiem warunkującym ryzyko sercowo-naczyniowe jest stężenie TG. W prezentowanej pracy stwierdzono dodatnią zależność pomiędzy aktywnością CETP i stężeniem TG u kobiet z grupy badanej i kontrolnej. Podobną zależność obserwowano w innej pracy, przeprowadzonej wśród kobiet chorych na cukrzycę [235]. W badaniu na modelu mysim, u osobników płci żeńskiej wykazano udział CETP w metabolizmie TG poprzez zwiększanie zależnej od estrogenu wątrobowej syntezy TG [236]. Z kolei u osobników płci męskiej stwierdzono, że CETP zmniejsza katabolizm TG za pośrednictwem receptorów androgenowych [237]. Wyniki prac na modelach zwierzęcych wskazują na odmienne mechanizmy działania CETP u obu płci. W mechanizmach tych ważną rolę odgrywają receptory dla hormonów płciowych. Niezależnie od odmiennych szlaków działania na TG, u obu płci CETP prowadzi do hipertriglicydemii.

W przedstawionej pracy nie wykazano jednak istotnych różnic w stężeniach TG, ani w stężeniach TC, LDL-C czy non-HDL-C, pomiędzy mężczyznami z grupy badanej i kontrolnej. U mężczyzn z grupy badanej, w przeciwieństwie do kobiet z grupy badanej, wykazano ujemną korelację pomiędzy aktywnością CETP a stężeniami LDL-C i non-HDL-C. Zależności te są odwrotne względem opisywanych dotychczas w literaturze korelacji pomiędzy aktywnością CETP a stężeniem LDL cholesterolu, stanowiących podstawę do badań nad skutecznością inhibitorów CETP w prewencji zdarzeń sercowo-naczyniowych [212,213]. W związku z uzyskanymi wynikami nasuwa się hipoteza, że stosowanie inhibitorów CETP u mężczyzn chorych na RZS może wiązać się z efektem odwrotnym do zamierzonego, tj. zwiększeniem stężenia cholesterolu LDL. Zagadnienie to wymaga dalszych badań.

## **5.2 CETP i PLTP a odwrotny transport cholesterolu u chorych na RZS**

Kolejnym mechanizmem odpowiadającym za zwiększone ryzyko miażdżycy u chorych na RZS jest nieprawidłowe funkcjonowanie HDL, pomimo ich prawidłowego stężenia w surowicy. Parametrem dobrze odzwierciedlającym funkcję HDL jest CEC (*ang. cholesterol efflux capacity*, zdolność do odbierania cholesterolu z komórek). U chorych na RZS oraz toczeń rumieniowaty układowy stwierdzono zmniejszenie wskaźnika CEC w porównaniu do zdrowych osób z grupy kontrolnej. U pacjentów z ustalonym rozpoznaniem toczenia wykazano upośledzenie CEC zależne od białka ABCG1 oraz ABCA1, niezależne od aktywności choroby. Z kolei u pacjentów z ustalonym rozpoznaniem RZS, zmniejszenie CEC



mediowanego przez białko ABCG1 zależało od aktywności choroby. W obu grupach chorych stopień upośledzenia CEC był niezależny od stężenia HDL-C we krwi [238].

Odwrotny transport cholesterolu jest główną funkcją przeciwmiażdżycową HDL-C. Dowiedziono, że proces zapalny upośledza ją na etapie transportu cholesterolu z wątroby do żółci także przy prawidłowym stężeniu HDL-C. U gryzoni z indukowaną endotoksemią wykazano zmniejszoną wątrobową ekspresję białek transportowych z rodziny ABC (*ang. adenosine triphosphate (ATP)-binding cassette*, kasetta transportująca trójfosforan adenozyne), odpowiedzialnych za wypływ cholesterolu z komórki. W modelu endotoksemii *in vitro* indukowanej podaniem lipopolisacharydu stwierdzono zmniejszenie przepływu cholesterolu z ludzkich makrofagów do apoAI oraz zmniejszenie ekspresji ABCA1, białka transportującego cholesterol [239].

U chorych na RZS z dużą aktywnością choroby wykazano, że zdolność HDL do przechwytywania cholesterolu z komórek jest mniejsza niż u chorych z małą aktywnością choroby lub remisją. Stwierdzono odwrotne zależności pomiędzy wypływem cholesterolu z komórek a wartością wskaźnika DAS28 oraz OB. Jednocześnie zdolność HDL do promowania wypływu cholesterolu z komórek odwrotnie korelowała z ich funkcją antyoksydacyjną. Upośledzenie funkcji HDL może być jednym z mechanizmów przyczyniających się do zwiększenia ryzyka sercowo-naczyniowego u chorych na RZS niezależnie od stężenia HDL-C [207]. CETP promuje transport estrów cholesterolu, głównie z cząsteczek HDL do chylomikronów, LDL, IDL i VLDL oraz transport triglicerydów w odwrotnym kierunku. Zagadnieniem wykraczającym poza ramy obecnego badania i zasługującym na dalsze badania jest analiza jakościowa lipoprotein u chorych na RZS w powiązaniu ze zmianami w aktywności CETP.

PLTP reguluje strukturę i stężenie HDL poprzez transport fosfolipidów pomiędzy cząsteczkami HDL oraz transport fosfolipidów z innych lipoprotein do HDL [170]. Obserwowana u zdrowych mężczyzn z grupy kontrolnej ujemna korelacja pomiędzy aktywnością PLTP i stężeniem HDL jest zbieżna z danymi z literatury [171]. Z kolei w grupie badanej, u której obserwowano małą aktywność PLTP, nie stwierdzono podobnej zależności; wykazano natomiast dodatnią korelację pomiędzy aktywnością PLTP i stężeniem TC. PLTP hamuje katabolizm VLDL i w konsekwencji zwiększa stężenia cholesterolu i triglicerydów we krwi. Zmiany indukowane przez PLTP mogą odpowiadać obrazowi dyslipidemii aterogenicznej (hipertriglicydemii, hipo-HDL-emii i obecności małych, gęstych LDL) [175,177]. W świetle danych pochodzących z badań przeprowadzonych na modelach zwierzęcych, zmniejszenie aktywności PLTP u chorych na RZS może być wyrazem

przewlekłej reakcji adaptacyjnej organizmu, zmierzającej do przeciwdziałania ilościowym zaburzeniom lipidowym prowadzącym do rozwoju miażdżycy [178,179,192].

### **5.3 Wpływ procesu zapalnego na stężenie i funkcje HDL u chorych na RZS**

CETP, PLTP i LCAT to główne białka związane z odwrotnym transportem cholesterolu i metabolizmem HDL. CETP katalizuje transport estrów cholesterolu z HDL do LDL w zamian za triglicerydy. PLTP ułatwia usuwanie cholesterolu z komórek, transportuje fosfolipidy i wolny cholesterol z lipoprotein bogatych w triglicerydy do HDL oraz fosfolipidy pomiędzy cząsteczkami HDL. Z kolei LCAT katalizuje estryfikację wolnego cholesterolu na powierzchni HDL, regulując jego funkcje poprzez wpływ na konformację cząsteczek HDL [240].

Obserwowane w przedstawionej pracy zmniejszenie aktywności CETP i PLTP oraz stężenia LCAT u chorych na RZS pośrednio wskazuje na upośledzenie funkcji HDL niezależne od prawidłowego stężenia HDL-C. Odwrotny transport cholesterolu, związany ściśle z funkcją HDL, odgrywa kluczową rolę w zapobieganiu kumulacji cholesterolu w makrofagach. Wysunięta obecnie hipoteza o dysfunkcji HDL jest zgodna z większością obserwacji dotyczących upośledzenia odwrotnego transportu cholesterolu w warunkach reakcji zapalnej [241]. Wynikające z działania cytokin prozapalnych zmniejszenie syntezy apoAI, głównej proteiny wchodzącej w skład HDL, przyczynia się do zarówno do ilościowych, jak i jakościowych zaburzeń HDL-C [242]. Zmiana konformacji HDL w przebiegu stanu zapalnego prowadzi do upośledzenia przechwytywania przez HDL cholesterolu pochodzącego z komórek obwodowych. Kierunek transportu cholesterolu przez HDL może się wręcz odwrócić; HDL zamiast odbierać cholesterol z tkanek obwodowych i przekazywać do wątroby może dostarczać cholesterol do komórek, a w szczególności do makrofagów obecnych w przestrzeni podśródbłonkowej ściany naczyń. Na pogorszenie przepływu cholesterolu i fosfolipidów z makrofagów do HDL wpływa dodatkowo związana ze stanem zapalnym zmniejszona ekspresja ABCA1, ABCG1, SR-B1 oraz apoE w makrofagach [241,243–245].

Cytokiny prozapalne zmniejszają syntezę oraz aktywność LCAT, co prowadzi do zmniejszenia konwersji cholesterolu do estrów cholesterolu wewnątrz HDL. Działanie LCAT jest niezbędne do zmiany konformacji HDL z formy dyskoidalnej do kulistej, warunkującej zdolność HDL do przenoszenia cholesterolu. Cytokiny związane z reakcją zapalną zmniejszają także aktywność CETP. Prowadzi to do zmniejszenia transportu cholesterolu z

HDL do lipoprotein bogatych w apoB, i tym samym do upośledzenia transportu cholesterolu z tkanek obwodowych do wątroby [241,246]. Obserwowane w obecnym badaniu zmniejszenie aktywności CETP i stężenia LCAT u chorych na RZS może być bezpośrednim następstwem działania cytokin prozapalnych.

Oprócz udziału w eliminacji nadmiaru cholesterolu z organizmu, inną ważną rolą HDL jest zapobieganie utlenianiu LDL, prowadzącego do zwiększenia jego pro-miażdżycowego potencjału. Głównym enzymem związanym z HDL odpowiadającym za hamowanie utleniania LDL jest paraoksonaza. W aktywnym stanie zapalnym jej aktywność zmniejsza się [242]. U chorych na RZS wykazano zmniejszenie aktywności paraoksonazy i zdolności HDL do ochrony LDL przed utlenieniem, a nawet udział HDL w utlenianiu LDL [247–249].

U pacjentów z chorobami zapalnymi bezwzględne wartości stężeń lipidów mogą nie odzwierciedlać zwiększonego ryzyka miażdżycy. Funkcjonalne, pro-miażdżycowe zmiany w zakresie LDL i HDL mogą odpowiadać za zwiększone ryzyko sercowe-naczyniowe u chorych na RZS z prawidłowym lub zmniejszonym stężeniem lipidów w surowicy [241].

#### **5.4 Białka odpowiedzialne za transport i przekształcanie lipidów a aktywność RZS**

W prezentowanej pracy stwierdzono występowanie licznych korelacji pomiędzy stężeniem oznaczanych białek a parametrami zapalenia. Wszystkie białka korelowały ujemnie z leukocytozą. Ponadto wykazano ujemne korelacje pomiędzy CETP i LCAT a wartością OB. Z tego powodu pogłębiono analizę w poszukiwaniu zależności pomiędzy aktywnością CETP i PLTP oraz stężeniami LPL i LCAT a aktywnością RZS wyrażoną DAS-28-OB.

Stosowane w praktyce klinicznej wskaźniki DAS28-OB i DAS28-CRP są walidowanymi narzędziami oceny aktywności choroby u chorych na RZS. Wskaźnik DAS28-CRP cechuje się jednak nieco mniejszą czułością w wykrywaniu aktywnej choroby. W porównaniu do DAS28-OB, DAS28-CRP częściej wskazuje na remisję, małą aktywność choroby oraz dobrą odpowiedź na leczenie [230,231]. Z tego powodu w badaniu posłużono się wskaźnikiem DAS28-OB.

##### **5.4.1 Białko transportujące estry cholesterolu (CETP)**

Podobnie jak w przedstawionej pracy, Ferraz-Amaro i wsp. wykazali istotnie mniejszą aktywność CETP ( $\beta = -10,82$ , 95% CI  $-19,56-2,07$  pmol/3h;  $p < 0.05$ ) u chorych na RZS w porównaniu do grupy kontrolnej. Oprócz różnic w aktywności CETP, różnice dotyczyły także stężeń CETP ( $\beta = -0,85$ , 95% CI  $-1,64-0,05$   $\mu\text{g/ml}$ ;  $p < 0.05$ ). Aktywność CETP odwrotnie

korelowała ze wskaźnikiem ryzyka sercowo-naczyniowego SCORE ( $\beta = -4.7$ , 95% CI  $-9.3-0.02$  pmol/3h;  $p < 0.05$ ) [160].

Inaczej niż w prezentowanym badaniu, Ferraz-Amaro różnice pomiędzy chorymi na RZS a grupą kontrolną przypisali wpływowi GKS. W grupie badanej aktywność i stężenie CETP były istotnie mniejsze u pacjentów leczonych GKS w porównaniu do chorych nieprzyjmujących GKS ( $\beta = -8.98$ , 95%CI  $-14.55-3.41$  pmol/3 h;  $p = 0.00$ ;  $\beta = -0.77$ , 95%CI  $-1.46-0.08$   $\mu\text{g/ml}$ ;  $p < 0.05$ ). Zarówno dzienna dawka GKS, jak i średnia dzienna dawka GKS w ciągu poprzedzających badanie 3 miesiące odwrotnie korelowały z aktywnością i stężeniem CETP [160].

W prezentowanym badaniu, w analizie korelacji rang Spearmana u kobiet z rozpoznaniem RZS wykazano ujemną korelację CETP z DAS28-OB, DAS28-CRP i VAS ogólnego stanu zdrowia. Występowanie odwrotnej zależności pomiędzy DAS28-OB a CETP ( $\beta = -0,2554$ ,  $p < 0,05$ ) potwierdzono w analizie regresji wielorakiej. W podgrupie kobiet z seronegatywną postacią choroby wykazano ujemną korelację między CETP a VAS ogólnego stanu zdrowia. Wyniki te wskazują, że przyczyną obniżenia aktywności CETP jest aktywny proces zapalny.

#### **5.4.2 Białko transportujące fosfolipidy (PLTP)**

Z przeglądu dostępnych baz bibliotecznych (PubMed, Scopus, EMBASE) wynika, że dotychczas opublikowano jedynie dwie prace dotyczące PLTP u chorych na RZS. W jednej z nich obserwowano zwiększone stężenie PLTP w płynie stawowym chorych na RZS w porównaniu do pacjentów z chorobą zwyrodnieniową stawów, przy prawidłowym stężeniu PLTP we krwi. Zwiększone stężenie PLTP w zapalnym płynie stawowym korelowało ze zwiększonym stężeniem cytokin prozapalnych. Wykazano bezpośredni prozapalny wpływ PLTP na podobne do fibroblastów synowioocyty, niezależny od funkcji PLTP związanych z transportem lipidów [181]. Drugie badanie przeprowadzono na komórkach uzyskanych od chorych na RZS. Stwierdzono nad-ekspresję genu PLTP w synowiocytach wrażliwych na apoptozę indukowaną przez TRAIL, przy braku takiej nad-ekspresji w niewrażliwych synowiocytach. Zwiększona wrażliwość synowiocytów na apoptozę indukowaną przez TRAIL wiąże się z cięższym przebiegiem RZS [200].

Przedstawiona obecnie praca jest pierwszym badaniem dotyczącym aktywności PLTP we krwi chorych na RZS. Stwierdzono dodatnią korelację PLTP z LOS ( $p < 0,01$ ), LBS i VAS ogólnego stanu zdrowia u pacjentów z seronegatywną postacią choroby ( $p < 0,05$ ), a także dodatnią korelację PLTP z LBS i DAS28-OB u mężczyzn ( $p < 0,05$ ). W analizie

regresji wielorakiej wykazano natomiast dodatnią zależność pomiędzy aktywnością PLTP a DAS28-CRP w grupie chorych z ustalonym rozpoznaniem seronegatywnej postaci RZS ( $\beta = 0,5674$ ,  $p < 0,05$ ). Nie potwierdzono jednak zależności pomiędzy aktywnością choroby a aktywnością PLTP w analizie regresji wieloczynnikowej. Być może na wynik wpływ miała stosunkowo mała liczebność grupy mężczyzn oraz chorych z seronegatywną postacią choroby objętych badaniem (po kilkanaście osób).

Niemniej, na podstawie uzyskanych wyników wydaje się, że PLTP może odgrywać istotną rolę w zapaleniu stawów w przebiegu RZS, przede wszystkim u mężczyzn oraz u chorych z ustalonym rozpoznaniem seronegatywnej postaci choroby. W świetle braku silnych korelacji pomiędzy PLTP a stężeniami lipidów w grupie badanej, do wyjaśnienia pozostaje tak głęboki spadek aktywności PLTP u chorych na RZS. Na tle pozostałych badanych białek, w przypadku PLTP wykazano szczególnie liczne korelacje pomiędzy jego aktywnością a liczbą bolesnych i obrzękniętych stawów. Być może PLTP pełni u chorych na RZS funkcje immunologiczne związane raczej z miejscowym niż uogólnionym procesem zapalnym. Zagadnienie to wymaga dalszych badań.

### **5.4.3 Lipaza lipoproteinowa (LPL)**

Lipaza lipoproteinowa jest kluczowym enzymem hydrolizującym triglicerydy. Jej niedobór, wrodzony lub nabyty, prowadzi do hipertriglicydemii. Dowiedzono, że proces zapalny może być jednym z czynników odpowiadających za zmniejszenie stężenia oraz aktywności LPL. Wykazano związek pomiędzy zwiększonym stężeniem IFN-gamma oraz zmniejszoną aktywnością LPL [250]. U chorych na toczeń zwiększone stężenie IL-1, IL-6 oraz TNF-alfa związane było jednocześnie ze zwiększonym stężeniem CRP oraz zmniejszoną aktywnością LPL [251].

Dotychczas przeprowadzono tylko kilka badań nad rolą LPL u chorych na RZS. W jednym z nich wykazano istotnie mniejsze stężenie ( $p < 0,01$ ) i aktywność ( $p < 0,01$ ) LPL u chorych na RZS w porównaniu do zdrowych osób z grupy kontrolnej. Nie stwierdzono zależności pomiędzy stężeniem LPL oraz stężeniem lipidów, wykazano natomiast odwrotną zależność pomiędzy stężeniem LPL i CRP ( $\beta = -0,54$ ,  $p < 0,05$ ). Na granicy istotności statystycznej były zależności obserwowane pomiędzy stężeniem LPL i haptoglobiny ( $\beta = -0,48$ ,  $p = 0,087$ ) oraz IL-6 ( $\beta = -0,52$ ,  $p = 0,061$ ). W teście obciążenia lipidami stężenie oraz aktywność LPL po 6 godzinach były istotnie mniejsze u chorych na RZS w porównaniu do grupy kontrolnej, przy braku istotnych różnic w stężeniu triglicerydów pomiędzy dwiema grupami [252].

Pomimo głębokiej różnicy w stężeniu LPL pomiędzy grupą kontrolą i badaną ( $p < 0,001$ ), w prezentowanej pracy nie wykazano korelacji pomiędzy stężeniem LPL i parametrami aktywności RZS czy parametrami lipidowymi w grupie badanej. Mechanizmy, w których dochodzi do zmniejszenia stężenia LPL u chorych na RZS nie są poznane i zasługują na dalsze badania.

#### **5.4.4 Acylotransferaza lecytynowo-cholesterolowa (LCAT)**

Proces zapalny prowadzi do zmniejszenia stężenia LCAT, co skutkuje zmniejszeniem formacji estrów cholesterolu. Prowadzi to do zmniejszenia formacji prawidłowych cząsteczek HDL oraz zmniejszenia klirensu cholesterolu za pośrednictwem HDL. Zwiększenie stężenia lipoprotein bogatych w triglicerydy towarzyszące infekcjom oraz procesom zapalnym o innej etiologii może prowadzić do zwiększenia zawartości triglicerydów w HDL, co może przyspieszać klirens HDL [241].

Tanimoto i wsp. wykazali istotnie obniżoną aktywność LCAT oraz paraoksonazy 1 u chorych na RZS w porównaniu do populacji osób zdrowych. Podobnie jak w prezentowanej pracy, obie grupy nie różniły się istotnie w zakresie stężenia HDL. Co ciekawe, Tanimoto i wsp. wykazali różnice pomiędzy grupami w zakresie stężeń apoAI oraz apoAII, wchodzących w skład HDL. Tym samym dowiedli występowania u chorych na RZS jakościowych zaburzeń HDL pomimo braku zaburzeń ilościowych, oraz wysunęli hipotezę na temat ich związku ze zwiększonym ryzykiem miażdżycy. Mniejszą aktywność LCAT w grupie badanej autorzy przypisali mniejszym stężeniom apoAI, stanowiących kofaktor dla LCAT [248]. W innej pracy dowiedziono, że aktywność LCAT może być hamowana przez ox-LDL w mechanizmie bezpośrednim, a także pośrednim, poprzez wiązanie apoAI [253].

LCAT katalizuje przemianę formy dyskoidalnej HDL do formy kulistej, w ten sposób regulując funkcje HDL [254]. W jednym z badań wykazano związek pomiędzy zmniejszeniem LCAT a zmianą właściwości HDL na prozapalne u chorych na RZS. W porównaniu do osób zdrowych, obserwowano u nich istotnie mniejszą aktywność LCAT ( $p = 0,001$ ). Najmniejszą aktywność LCAT wykazano u chorych z aktywnym RZS i była ona związana z prozapalnym profilem HDL [206].

W przedstawionej pracy wykazano ujemną korelację LCAT z DAS28-OB i DAS28-CRP u chorych z ustalonym rozpoznaniem seropozytywnej postaci choroby ( $p < 0,05$ ). Przy pomocy analizy regresji wielorakiej wykazano odwrotną zależność pomiędzy DAS28-OB a LCAT w całej grupie badanej ( $\beta = -0,2812$ ,  $p < 0,05$ ). Co więcej, w wieloczynnikowej analizie zależności badanych parametrów białkowych od aktywności choroby, potwierdzono

zależność LCAT > Q75 od dużej/umiarkowanej aktywności choroby (OR = 0,465, 95% CI 0,222-0,976,  $p < 0,05$ ). W świetle uzyskanych wyników oraz danych z literatury wydaje się, że LCAT może być ogniwem łączącym stan zapalny i nieprawidłową funkcję HDL u chorych na RZS. Zagadnienie to wymaga dalszych badań.

## **5.5 Potencjalne przyczyny zmniejszenia aktywności i stężeń białek związanych z transportem i przekształcaniem lipidów u chorych na RZS**

Biorąc pod uwagę stwierdzone w prezentowanej pracy istotnie mniejszą aktywność CETP i PLTP oraz mniejsze stężenia LPL i LCAT u chorych na RZS względem osób bez ustalonego rozpoznania RZS ( $p < 0,001$ ), nasuwa się pytanie, czy zmiany te świadczą o upośledzeniu homeostazy białek odpowiedzialnych za metabolizm lipidów, czy może są wyrazem adaptacji organizmu do przewlekłego procesu zapalnego.

### **5.5.1 Zmniejszenie syntezy białek na skutek działania cytokin prozapalnych**

Jedną z przyczyn obserwowanych zmian może być zmniejszenie syntezy omawianych białek w warunkach stanu zapalnego. W modelu zwierzęcym wykazano związek pomiędzy zwiększonym stężeniem LPS i cytokin prozapalnych a zmniejszonym stężeniem CETP w surowicy, tkance tłuszczowej, mięśniu sercowym oraz mięśniach szkieletowych. Zdaniem autorów badania, zmiany te mogą być mechanizmem adaptacyjnym przeciwdziałającym utracie HDL. Obserwowane w stanie zapalnym zwiększenie stężenia TG może prowadzić do zwiększenia wymiany estrów cholesterolu za TG pomiędzy HDL i VLDL za pośrednictwem CETP i prowadzić do zwiększonego katabolizmu HDL. Zachowanie odpowiednio dużego stężenia HDL w krążeniu jest istotne pod kątem ochrony przed toksycznym efektem LPS oraz dowozu cholesterolu do komórek obwodowych biorących udział w odpowiedzi przeciwzapalnej i naprawie uszkodzonych tkanek [255]. Podanie LPS myszom powoduje reakcję pod postacią zmniejszenia stężenia CETP. Dochodzi do niej w mechanizmie bezpośrednim, a także pośrednim, związanym ze wzrostem stężenia endogennego kortyzolu [256]. Podobny związek ze stanem zapalnym obserwowano w przypadku LCAT. Zwiększone stężenie cytokin prozapalnych wiązało się ze zmniejszeniem aktywności LCAT w surowicy oraz stężenia LCAT mRNA w wątrobie u myszy [257].

Według niektórych autorów, zaburzenia metabolizmu lipidów indukowane przez cytokiny prozapalne mogą należeć do mechanizmów odporności wrodzonej, ukierunkowanych na szybkie zwalczanie przyczyny ostrego stanu zapalnego. Do potencjalnych korzyści wynikających ze zmniejszenia stężenia CETP, LPL i LCAT w stanie

zapalnym zalicza się: konkurencję lipoprotein z wirusami o receptory komórkowe, neutralizację wirusów przez apolipoproteiny, znakowanie pasożytów przez lipoproteiny jako cel dla komórek układu odpornościowego, udział apolipoprotein w lizie pasożytów, redystrybucję składników odżywczych do komórek biorących udział w odpowiedzi układu odpornościowego i naprawie uszkodzonych komórek, a także wiązanie czynników toksycznych przez lipoproteiny [258]. Hipotezę o korzystnych efektach zmniejszenia ekspresji białek związanych z metabolizmem lipidów w ostrym stanie zapalnym wydają się potwierdzać wyniki badania przeprowadzonego na modelu zwierzęcym. W mysim modelu sepsy większa ekspresja CETP związana była z gorszą przeżywalnością na skutek zmian w profilu lipoprotein i osłabienia ich ochronnego, przeciwzapalnego działania [259].

Reakcja ostrej fazy chroni organizm przed ostrym uszkodzeniem. Jeżeli jednak czynnik wywołujący reakcję zapalną utrzymuje się przewlekle, może poprzez cytokiny prozapalne powodować zmniejszenie stężenia HDL i wzrost stężenia bogatych w triglicerydy VLDL, a konsekwencji prowadzić do rozwoju miażdżycy [260]. Już w 1999 roku R. Ross na łamach *New England Journal of Medicine* uznał miażdżycę za chorobę zapalną [261]. Na związek pomiędzy przewlekłym stanem zapalnym a miażdżycą wskazują wyniki licznych badań [26,69–72].

### **5.5.2 Redystrybucja białek do tkanek objętych zapaleniem**

W świetle danych literaturowych odnośnie do immunologicznych funkcji CETP i PLTP, kolejną potencjalną przyczyną obserwowanego zmniejszenia aktywności tych białek we krwi chorych na RZS może być redystrybucja CETP i PLTP do tkanek objętych aktywnym procesem zapalnym. W jedynym badaniu, w którym oznaczono którekolwiek z omawianych białek w płynie stawowym, wykazano istotnie większą aktywność PLTP w płynie stawowym chorych na RZS w porównaniu do płynu stawowego pobranego od osób z chorobą zwyrodnieniową stawów, przy podobnym składzie lipidowym. U chorych na RZS stwierdzono ponadto istotnie większą aktywność PLTP w płynie stawowym w porównaniu do krwi obwodowej ( $p < 0.0001$ ). Aktywność PLTP korelowała ze stężeniem cytokin prozapalnych w płynie stawowym. Rekombinowany PLTP (pozbawiony funkcji związanych z transportem lipidów) powodował *in vitro* zwiększenie stężenia cytokin prozapalnych oraz proliferacji podobnych do fibroblastów synowocytów. Autorzy badania wysunęli hipotezę, że PLTP poprzez wiązanie z ABCA1 oraz szlak JAK/STAT miejscowo w stawie pobudza proces zapalny i proliferację błony maziowej, niezależnie od funkcji związanych z transportem lipidów. Zaznaczyli jednocześnie, że w świetle dostępnej literatury, pro- lub



przeciwpalny efekt zależy od lokalizacji (wewnątrz stawu vs w krążeniu) oraz rodzaju komórki (synowioocyty vs makrofagi) [181].

Zwiększona aktywność PLTP w stawach objętych zapaleniem może wynikać ze zmniejszonej lokalnej ekspresji ABCA1, białka odpowiedzialnego za wypływ cholesterolu z komórki. Nadekspresja ABCA1 związana jest ze zwiększonym wiązaniem PLTP i apoAI do powierzchni komórkowych. PLTP i apoAI współzawodniczą o wiązanie z ABCA1 i przechwytywanie lipidów z komórek, przy czym PLTP pośredniczy w transporcie lipidów z komórki do lipoprotein [262]. W mysim modelu RZS dowiedziono związku pomiędzy procesem zapalnym i zwiększoną akumulacją cholesterolu w komórkach szpiku oraz zmniejszoną ekspresją genów ABCA1 [263]. W innym badaniu wykazano hamujący wpływ surowicy pobranej od chorych na RZS na ekspresję ABCA1, związany ze zwiększoną akumulacją lipidów w makrofagach i formacją komórek piankowatych [264]. Niedobór ABCA1 i nadmiar cholesterolu w komórkach szpiku u myszy związane są z aktywacją inflammasomów NLRP3, prowadzącej do zwiększonej akumulacji komórek zapalnych i rozwoju „NETozy” (neutrofilowych sieci zewnątrzkomórkowych) w blaszce miażdżycowej [265]. Inhibitory COX-2 powodują zmniejszenie, a metotreksat zwiększenie ekspresji ABCA1 [266]. Zagadnienie związku PLTP ze stanem zapalnym oraz ekspresją białka ABCA1 wymaga dalszych badań.

### **5.5.3 Sekwestracja białek przez autoprzeciwciała**

Inną możliwą przyczyną obniżenia badanych parametrów białkowych u chorych na RZS jest sekwestracja badanych białek na powierzchni ściany naczyń przez autoprzeciwciała. Najwięcej dostępnych danych dotyczy przeciwciał skierowanych przeciwko LPL. Z uwagi na związek podwyższonego stężenia CRP z obecnością przeciwciał anti-LPL jedna z hipotez zakłada, że proces zapalny może powodować hamowanie aktywności LPL poprzez syntezę tych przeciwciał. Uważa się, że przeciwciała anti-LPL wiążą się z LPL obecną na powierzchni komórek śródbłona naczyń, co prowadzi do zmniejszenia aktywności LPL i zmniejszenia katabolizmu triglicerydów, a w konsekwencji do rozwoju hipertriglicydemii i miażdżycy [251,267]. Przeciwciała te nie są swoiste dla chorób reumatologicznych [268]. Częstość ich występowania wynosi 10% w zespole Sjogrena, 2,8-13% w RZS, 35-42% w twardzinie układowej, 40-43% w zapaleniu skórno-mięśniowym i wielomięśniowym oraz 38-67% w toczeniu rumieniowatym układowym [268–271].

U chorych na twardzinę układową dominuje uszkodzenie w zakresie mikrokrążenia, ale dochodzi także do makroangiopatii związanej z dyslipidemią. U osób z ustalonym

rozpoznanem twardziny układowej stwierdzono związek pomiędzy obecnością przeciwciał przeciwko LPL a zwiększonym stężeniem triglicerydów, większym nasileniem zmian skórnych, częstszym zajęciem płuc i serca oraz częstszym występowaniem przeciwciał przeciwko topoizomerazie I [269].

Z kolei u chorych na toczeń rumieniowaty układowy wykazano istotną zależność pomiędzy obecnością przeciwciał anti-LPL, a zajęciem nerek [272]. Stwierdzono u nich ponadto związek pomiędzy obecnością przeciwciał przeciwko LPL a zwiększonym stężeniem triglicerydów ( $p < 0,05$ ) [268,270]. Wykazano dodatnie korelacje pomiędzy mianem przeciwciał anti-LPL a stężeniem CRP ( $\beta = 0,56$ ,  $p < 0,001$ ), wartością OB ( $\beta = 0,55$ ,  $p < 0,001$ ), wartością wskaźnika SLEDAI ( $\beta = 0,45$ ,  $p < 0,001$ ), mianem przeciwciał anti-dsDNA ( $\beta = 0,52$ ,  $p < 0,001$ ) oraz mianem przeciwciał antykardiolipinowych w klasie IgG ( $\beta = 0,25$ ,  $p < 0,05$ ). Stwierdzono także ujemne korelacje pomiędzy mianem przeciwciał anti-LPL oraz całkowitą aktywnością hemolityczną układu dopełniacza ( $\beta = -0,34$ ,  $p < 0,01$ ). Autorzy badania dowiedli, że przeciwciała anti-LPL mogą stanowić nowy czynnik przyczyniający się do rozwoju miażdżycy u chorych na toczeń, znajdujący się na skrzyżowaniu szlaków procesu zapalnego, odpowiedzi układu odpornościowego i dyslipoproteinemii [270]. W innym badaniu przeprowadzonym u chorych na toczeń potwierdzono związek pomiędzy obecnością przeciwciał anti-LPL a dużą aktywnością choroby wyrażoną wskaźnikiem SLEDAI oraz obecnością blaszek miażdżycowych w badaniu USG [273].

Literatura dotycząca zagadnienia przeciwciał anti-LPL u chorych na RZS jest skąpa. W jedynym dostępnym badaniu nad zależnością subklinicznej miażdżycy od anti-LPL u chorych na RZS, nie dowiedziono istnienia takiej zależności ( $p = 0,57$ ). Chorzy na RZS z blaszkami miażdżycowymi wykazanymi przy pomocy USG byli istotnie starsi oraz mieli istotnie wyższe stężenie cholesterolu całkowitego i LDL w porównaniu do chorych na RZS bez subklinicznej miażdżycy. Warto natomiast zwrócić uwagę na małą częstość występowania przeciwciał anti-LPL w grupie chorych na RZS w porównaniu do grupy kontrolnej (2,8% vs 1,9%,  $p = 0,74$ ) – istotnie mniejszą, niż w badaniu Reichlina i wsp. (13%) oraz stosunkowo niewielką liczbę osób anti-LPL-pozytywnych w grupie badanej [271].

W literaturze opisano także pojedyncze przypadki nabytego niedoboru LCAT na skutek obecności przeciwciał anti-LCAT u dotychczas zdrowych osób [274–278]. We wszystkich opisanych przypadkach stwierdzano dyslipidemię, objawiającą się przede wszystkim jako głęboki niedobór HDL-C. Część przypadków przebiegała dodatkowo z zespołem nerczycowym i wykazaną w biopsji nefropatią błoniastą z towarzyszącymi złogami lipidów i komórek piankowatych oraz potwierdzoną obecnością LCAT w ścianie kłębuszków

nerkowych. Objawy nerkowe i dyslipidemia wycofywały się samoistnie lub pod wpływem leczenia glikokortykosteroidami. Spontaniczne remisje dotyczyły pacjentów ze zmniejszoną aktywnością LCAT w surowicy, a leczenia glikokortykosteroidami wymagali przede wszystkim chorzy, u których stwierdzano niewykrywalną aktywność LCAT w surowicy. Co ciekawe, prawie u nikogo z nabytym niedoborem LCAT nie stwierdzono zmętnienia rogówki, opisywanego jako charakterystyczny i często pierwszy objaw uwarunkowanego rodzinnie niedoboru LCAT, i wydaje się, że może to być objaw różnicujący pomiędzy dwiema postaciami choroby. Większość opisanych przypadków nabytego niedoboru LCAT dotyczyła populacji japońskiej; pojedyncze przypadki dotyczyły osób z ustalonym rozpoznaniem choroby autoimmunologicznej (zespołu Sjögrena albo sarkoidozy) lub choroby nowotworowej (raka piersi albo chłoniaka) [278]. Jak wynika z przeglądu literatury, jak dotąd nie badano populacji chorych z RZS pod kątem obecności przeciwciał skierowanych przeciwko LCAT, ani przeciwko CETP i PLTP. Zagadnienie to może stanowić ciekawy kierunek przyszłych badań.

## **5.6 Inne choroby związane ze zmniejszeniem aktywności i stężenia oznaczanych białek**

Zdaniem niektórych autorów, LCAT stanowi potencjalny cel interwencji farmakologicznych ukierunkowanych na leczenie dyslipidemii i zmniejszenie ryzyka sercowo-naczyniowego [279]. Do innych niż RZS chorób związanych z miażdżycą oraz zmniejszeniem aktywności LCAT należy przewlekła choroba nerek [279]. U hemodializowanych chorych oprócz zwiększonego stężenia TG, zmniejszonego stężenia HDL oraz zmniejszonej aktywności LCAT wykazano niezmienną aktywność CETP i PLTP. Dysregulacja w zakresie CETP i PLTP nie była zatem czynnikiem odpowiedzialnym za zmniejszone stężenie HDL u chorych na schyłkową niewydolność nerek [240].

Z kolei u chorych na cukrzycę, którzy podobnie do chorych na RZS wykazują duże ryzyko sercowo-naczyniowe i zwiększoną częstość występowania dyslipidemii, wykazano zmniejszoną aktywność LPL przy zwiększonej aktywności CETP oraz PLTP [280,281]. U pacjentów z ustalonym rozpoznaniem akromegalii stwierdzono natomiast mniejszą aktywność LCAT, CETP i PLTP w porównaniu do grupy kontrolnej ( $p < 0,01$ ). W analizie regresji wieloczynnikowej wykazano niezależne ujemne zależności pomiędzy stężeniem IGF-1 (*ang. insulin-like growth factor 1*, insulinopodobny czynnik wzrostu 1) oraz aktywnością LCAT, CETP oraz PLTP. U chorych na akromegalię, podobnie jak u chorych na RZS, zmniejszenie aktywności białek związanych z metabolizmem lipidów i wynikające z niego upośledzenie

odwrotnego transportu cholesterolu może przyczyniać się do zwiększonego ryzyka sercowo-naczyniowego [282].

### 5.7 Badane białka jako kandydaci na markery RZS

Pacjenci z rozpoznaniem RZS wykazywali mniejszą aktywność CETP i PLTP, a także stężenie LPL i LCAT w porównaniu do grupy kontrolnej ( $p < 0.001$ ). W literaturze dostępnych jest jedynie kilka prac dotyczących zależności pomiędzy CETP i PLTP a występowaniem RZS i jego aktywnością, a ich wyniki są rozbieżne. W jednym z nich, podobnie jak w przedstawionej pracy, wykazano zmniejszoną aktywność i stężenie CETP u 101 chorych na RZS (vs 115 z grupy kontrolnej), ale nie wykazano zależności pomiędzy aktywnością i stężeniem CETP a aktywnością RZS. Zmniejszenie aktywności CETP korelowało ze zwiększonym ryzykiem sercowo-naczyniowym w skali SCORE. Inaczej niż w przedstawionej pracy, różnice pomiędzy grupą badaną i kontrolną dotyczyły jedynie chorych przyjmujących glikokortykosteroidy w ostatnich trzech miesiącach [160]. W dwóch pozostałych pracach badających zależność pomiędzy CETP i RZS wykazano zwiększoną aktywność CETP u chorych na RZS [147,161]. Przeprowadzono je jednak na mniejszych grupach chorych (odpowiednio 44 i 33 osób z ustalonym rozpoznaniem RZS vs 33 i 13 osób zdrowych). W odniesieniu do zagadnienia roli PLTP u chorych na RZS, w dwóch dotychczas przeprowadzonych badaniach oceniono stężenie lub ekspresję tego białka. Dotychczas nie oceniano aktywności PLTP u chorych na RZS.

Stwierdzone w prezentowanej pracy różnice pomiędzy grupą badaną i kontrolną, a także pomiędzy grupą chorych z  $DAS28 \geq 3,2$  lub  $< 3,2$ , stały się podstawą do pogłębienia analizy statystycznej. W analizie krzywych ROC wykazano dużą czułość (99-100%), swoistość (93-98%) i dokładność (96-99%) LCAT, CETP i PLTP w różnicowaniu pomiędzy grupą chorych na RZS a grupą osób zdrowych ( $AUC_{CETP} = 0,986$  (95% CI 0,971-1,000;  $p < 0,001$ );  $AUC_{PLTP} = 0,974$  (95% CI 0,952-0,997;  $p < 0,001$ )). Najmniej przydatne pod tym względem okazała się LPL (czułość 84%, swoistość 87%, dokładność 85%).

W przeprowadzonej obecnie analizie zestawiono chorych na RZS i osoby zdrowe. Jak wspomniano wcześniej, obniżenie aktywności oznaczanych białek może być skutkiem działania cytokin prozapalnych niezależnie od przyczyny stanu zapalnego, redystrybucji białek do tkanek objętych miejscowym zapaleniem czy ich sekwestracji przez autoprzeciwciała obecne w ścianie naczyń. W celu lepszego scharakteryzowania przydatności badanych białek jako markerów RZS, podobną analizę należałoby przeprowadzić w grupach chorych z przewlekłym stanem zapalnym o innej etiologii.

Ze względu na wykazaną w analizie regresji wieloczynnikowej różnicującą wartość stężenia LCAT (Q75) pomiędzy grupą chorych na RZS z  $DAS28 \geq 3,2$  lub  $< 3,2$ , przeprowadzono analizę krzywej ROC dla LCAT w grupie badanej. Punkt odcięcia wyznaczono metodą Youdena. Przy czułości 100% wykazano jednak niewielką swoistość (33%) i dokładność (62%) LCAT jako parametru różnicującego pomiędzy pacjentami z dużą/umiarkowaną aktywnością oraz małą aktywnością/remisją choroby. Przedstawiona praca jest pierwszym badaniem oceniającym zależność stężenia LCAT od aktywności choroby u pacjentów z ustalonym rozpoznaniem RZS i zagadnienie to wymaga dalszych badań.

### **5.8 Mocne strony i ograniczenia badania**

Przedstawiona praca jest jednym z pionierskich badań nad rolą białek związanych z transportem i przekształcaniem lipidów u chorych na RZS. Do mocnych stron pracy należy ścisły dobór grupy badanej i kontrolnej pod względem płci, wieku i BMI. Główną wartością badania jest jednoczasowa ocena lipidów, białek związanych z ich metabolizmem oraz klinicznych i laboratoryjnych parametrów zapalenia u chorych ze zróżnicowaną aktywnością RZS.

Praca ma także kilka ograniczeń. Ocena aktywności CETP i PLTP *in vitro* może nie odpowiadać ich aktywności *in vivo*. W przedstawionym badaniu dokonano oceny aktywności CETP i PLTP oraz stężeń LPL i LCAT, ale nie przeprowadzono oznaczeń stężeń CETP i PLTP, ani aktywności LPL i LCAT. Grupa mężczyzn objętych badaniem była stosunkowo niewielka. Ponadto, w grupie kontrolnej mężczyzn nie oceniono stężenia LCAT oraz LPL. Przeprowadzona ocena lipidogramu nie uwzględniała stężeń subfrakcji lipidów. Badanie miało charakter przekrojowy i nie dokonano oceny badanych parametrów u tych samych chorych przed i po leczeniu przeciwzapalnym, a grupa badana była bardzo zróżnicowana pod względem stosowanych terapii.

W celu lepszego scharakteryzowania roli CETP, PLTP, LCAT i LPL w RZS, w przyszłości potrzebne są prospektywne i długoterminowe badania na większych i bardziej jednorodnych pod względem stosowanego leczenia grupach chorych. Wskazana byłaby jednoczasowa ocena aktywności choroby, stężeń frakcji i subfrakcji lipidów, stężeń i aktywności badanych białek we krwi oraz w płynie stawowym, a także ocena ultrasonograficznych objawów miażdżycy.

## 6. Wnioski

1. Większe, w porównaniu do osób zdrowych, stężenia cholesterolu LDL i non-HDL u chorych na RZS w okresie remisji lub małej aktywności choroby mogą odpowiadać za przyspieszony rozwój miażdżycy w tych grupach chorych.
2. Chorzy w aktywnej fazie RZS mogą wykazywać prawidłowe stężenia lipidów, pomimo ich zaburzonej funkcji. Niedoszacowanie ryzyka sercowo-naczyniowego przez tradycyjne wskaźniki może wynikać z braku uwzględnienia jakościowych zaburzeń lipidowych, a w szczególności pro-zapalnych zmian w zakresie HDL i LDL.
3. U chorych na RZS dochodzi do istotnych zmian w metabolizmie lipidów i lipoprotein związanych ze zmniejszeniem aktywności białek transportujących lipidy (CETP i PLTP) oraz stężeń białek przekształcających lipidy (LPL i LCAT).
4. Zmniejszenie aktywności CETP może odpowiadać za zmniejszenie stężenia cholesterolu LDL i non-HDL u chorych z aktywnym RZS i tzw. paradoks lipidowy.
5. Niedobory LCAT, CETP i PLTP oraz związane z nimi nieprawidłowe funkcjonowanie HDL mogą stanowić ogniwo łączące nasilenie stanu zapalnego ze zwiększonym ryzykiem sercowo-naczyniowym u chorych na RZS.
6. Z uwagi na dużą czułość i swoistość w różnicowaniu chorych na RZS od osób zdrowych, CETP, PLTP i LCAT mogą być kandydatami na markery występowania RZS, co wymaga dalszych badań.
7. LCAT może być kandydatem na białkowy marker aktywności choroby u pacjentów z ustalonym rozpoznaniem RZS. Zagadnienie to wymaga dalszych badań.

## 7. Piśmiennictwo

1. Scott DL, Wolfe F, Huizinga TWJ. Rheumatoid arthritis. *Lancet* 2010; 376: 1094–108.
2. Ilchev P, Śliwczyński A, Czeleko T, Sierocka A, Tłustochowicz M, Tłustochowicz W, et al. Epidemiology of Rheumatoid Arthritis (RA) in rural and urban areas of Poland – 2008–2012. *Ann Agric Environ Med* 2016; 23: 350–356.
3. Myasoedova E, Davis J, Matteson EL, Crowson CS. Is the epidemiology of rheumatoid arthritis changing? Results from a population-based incidence study, 1985-2014. *Ann Rheum Dis* 2020; 79: 440–444.
4. Rantalaiho V, Kautiainen H, Järvenpää S, Korpela M, Malmi T, Hannonen P, et al. Failure in longterm treatment is rare in actively treated patients with rheumatoid arthritis, but may be predicted by high health assessment score at baseline and by residual disease activity at 3 and 6 months: the 5-year followup results of the randomized clinical NEO-RACo trial. *J Rheumatol* 2014; 41: 2379–2385.
5. Prince FHM, Bykerk VP, Shadick NA, Lu B, Cui J, Frits M, et al. Sustained rheumatoid arthritis remission is uncommon in clinical practice. *Arthritis Res Ther* 2012; 14: R68.
6. Willey VJ, Kopenski F, Lawless GD, Manoussakis SB. Beyond the myths: Finding benefit design solutions that address the true costs of high healthcare use. *Am J Manag Care* 2008; 14: S252-263.
7. Weinblatt ME, Kuritzky L. RAPID: rheumatoid arthritis. *J Fam Pract* 2007; 56: S1-7.
8. Dadoun S, Zeboulon-Ktorza N, Combescure C, Elhai M, Rozenberg S, Gossec L, et al. Mortality in rheumatoid arthritis over the last fifty years: systematic review and meta-analysis. *Jt Bone Spine* 2013; 80: 29–33.
9. Gonzalez A, Kremers HM, Crowson CS, Nicola PJ, Davis JM, Therneau TM, et al. The widening mortality gap between rheumatoid arthritis patients and the general population. *Arthritis Rheum* 2007; 56: 3583–3587.
10. Meune C, Touzé E, Trinquart L, Allanore Y. Trends in cardiovascular mortality in patients with rheumatoid arthritis over 50 years: a systematic review and meta-analysis of cohort studies. *Rheumatology (Oxford)* 2009; 48: 1309–1313.
11. Peters MJL, Van Halm VP, Voskuyl AE, Smulders YM, Boers M, Lems WF, et al. Does rheumatoid arthritis equal diabetes mellitus as an independent risk factor for cardiovascular disease? A prospective study. *Arthritis Care Res* 2009; 61: 1571–1579.
12. Solomon DH, Goodson NJ, Katz JN, Weinblatt ME, Avorn J, Setoguchi S, et al. Patterns of cardiovascular risk in rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 2006; 65: 1608–1612.
13. Aviña-Zubieta JA, Choi HK, Sadatsafavi M, Etminan M, Esdaile JM, Lacaille D. Risk of cardiovascular mortality in patients with rheumatoid arthritis: a meta-analysis of observational studies. *Arthritis Care Res* 2008; 59: 1690–1697.
14. Bacani AK, Gabriel SE, Crowson CS, Heit JA, Matteson EL. Noncardiac vascular disease in rheumatoid arthritis: increase in venous thromboembolic events? *Arthritis Rheum* 2012; 64: 53–61.
15. Low ASL, Symmons DPM, Lunt M, Mercer LK, Gale CP, Watson KD, et al. Relationship

between exposure to tumour necrosis factor inhibitor therapy and incidence and severity of myocardial infarction in patients with rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 2017; 76: 654-660.

16. Gabriel SE. Cardiovascular Morbidity and Mortality in Rheumatoid Arthritis. *Am J Med* 2008; 121: S9-14.

17. Giles JT, Szklo M, Post W, Petri M, Blumenthal RS, Lam G, et al. Coronary arterial calcification in rheumatoid arthritis: comparison with the Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis. *Arthritis Res Ther* 2009; 11: R36.

18. Ambrosino P, Lupoli R, di Minno A, Tasso M, Peluso R, di Minno MND. Subclinical atherosclerosis in patients with rheumatoid arthritis: a meta-analysis of literature studies. *Thromb Haemost* 2015; 113: 916–930.

19. Kerola AM, Kauppi MJ, Kerola T, Nieminen TVM. How early in the course of rheumatoid arthritis does the excess cardiovascular risk appear? *Ann Rheum Dis* 2012; 71: 1606–1615.

20. Boyer JF, Gourraud PA, Cantagrel A, Davignon JL, Constantin A. Traditional cardiovascular risk factors in rheumatoid arthritis: a meta-analysis. *Jt Bone Spine* 2011; 78: 179–183.

21. Meissner Y, Zink A, Kekow J, Rockwitz K, Liebhaber A, Zinke S, et al. Impact of disease activity and treatment of comorbidities on the risk of myocardial infarction in rheumatoid arthritis. *Arthritis Res Ther* 2016; 18: 183.

22. 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; 76: 17-28.

23. 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. *Arthritis Care Res* 2013; 65: 712–717.

24. Van Breukelen-van der Stoep DF, Van Zeben D, Klop B, Van de Geijn GJM, Janssen HJW, Meulen N van der, et al. Marked underdiagnosis and undertreatment of hypertension and hypercholesterolaemia in rheumatoid arthritis. *Rheumatology (Oxford)* 2016; 55: 1210–1216.

25. Ghosh-Swaby OR, Kuriya B. Awareness and perceived risk of cardiovascular disease among individuals living with rheumatoid arthritis is low: results of a systematic literature review. *Arthritis Res Ther* 2019; 21: 33.

26. del Rincon ID, Williams K, Stern MP, Freeman GL, Escalante A. High incidence of cardiovascular events in a rheumatoid arthritis cohort not explained by traditional cardiac risk factors. *Arthritis Rheum* 2001; 44: 2737–2745.

27. Arts EEA, Popa CD, Den Broeder AA, Donders R, Sandoo A, Toms T, et al. Prediction of cardiovascular risk in rheumatoid arthritis: performance of original and adapted SCORE algorithms. *Ann Rheum Dis* 2016; 75: 674–680.

28. D'Agostino RB, Vasan RS, Pencina MJ, Wolf PA, Cobain M, Massaro JM, et al. General cardiovascular risk profile for use in primary care: the Framingham heart study. *Circulation* 2008; 117:



743–753.

29. Turesson C, Matteson EL. Cardiovascular risk factors, fitness and physical activity in rheumatic diseases. *Curr Opin Rheumatol* 2007; 19: 190–196.
30. Gremese E, Ferraccioli G. The metabolic syndrome: the crossroads between rheumatoid arthritis and cardiovascular risk. *Autoimmun Rev* 2011; 10: 582–589.
31. Gabriel SE, Crowson CS. Risk factors for cardiovascular disease in rheumatoid arthritis. *Curr Opin Rheumatol* 2012; 24: 171–176.
32. Hippisley-Cox J, Coupland C, Brindle P. Development and validation of QRISK3 risk prediction algorithms to estimate future risk of cardiovascular disease: prospective cohort study. *BMJ* 2017; 357: 2099.
33. Young LE. Commentary: QRISK underestimated risk of cardiovascular disease in general practice patients; Framingham score overestimated risk. *Evid Based Nurs* 2008; 11: 91.
34. Crowson CS, Gabriel SE, Semb AG, Van Riel PLCM, Karpouzas G, Dessein PH, et al. Rheumatoid arthritis-specific cardiovascular risk scores are not superior to general risk scores: a validation analysis of patients from seven countries. *Rheumatology (Oxford)* 2017; 56: 1102–1110.
35. Fausto S, Marina C, Marco DC, Marika T, Valentina L, Andrea B, et al. The expanded risk score in rheumatoid arthritis (ERS-RA): performance of a disease-specific calculator in comparison with the traditional prediction scores in the assessment of the 10-year risk of cardiovascular disease in patients with rheumatoid arthritis. *Swiss Med Wkly* 2018; 148: w14656.
36. Corrales A, Vegas-Revenga N, Atienza-Mateo B, Corrales-Selaya C, Prieto-Peña D, Rueda-Gotor J, et al. Combined use of QRISK3 and SCORE as predictors of carotid plaques in patients with rheumatoid arthritis. *Rheumatology (Oxford)* 2020; doi: 10.1093/rheumatology/keaa718.
37. Solomon DH, Greenberg J, Curtis JR, Liu M, Farkouh ME, Tsao P, et al. Derivation and internal validation of an expanded cardiovascular risk prediction score for rheumatoid arthritis: a consortium of rheumatology researchers of North America registry study. *Arthritis Rheumatol* 2015; 67: 1995–2003.
38. Hansildaar R, Vedder D, Baniaamam M, Tausche AK, Gerritsen M, Nurmohamed MT. Cardiovascular risk in inflammatory arthritis: rheumatoid arthritis and gout. *Lancet Rheumatol* 2021; 3: e58-e70.
39. 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 (Oxford)* 2014; 53: 2143–2154.
40. Ruscitti P, Cipriani P, Liakouli V, Iacono D, Pantano I, Margiotta DPE, et al. Subclinical and clinical atherosclerosis in rheumatoid arthritis: results from the 3-year, multicentre, prospective, observational GIRRCS (Gruppo Italiano di Ricerca in Reumatologia Clinica e Sperimentale) study. *Arthritis Res Ther* 2019; 21: 204.
41. Nguyen USDT, Zhang Y, Lu N, Niu J, Felson D, Lavalley MP, et al. The smoking paradox in the

development of myocardial infarction among rheumatoid arthritis patients. 2015 ACR/ARHP Annual Meeting; abstract number 2168.

42. Stavropoulos-Kalinoglou A, Metsios GS, Koutedakis Y, Kitas GD. Obesity in rheumatoid arthritis. *Rheumatology (Oxford)* 2011; 50: 450–462.

43. Arcaro G, Zamboni M, Rossi L, Turcato E, Covi G, Armellini F, et al. Body fat distribution predicts the degree of endothelial dysfunction in uncomplicated obesity. *Int J Obes* 1999; 23: 936–942.

44. Stavropoulos-Kalinoglou A, Metsios GS, Panoulas VF, Douglas KMJ, Nevill AM, Jamurtas AZ, et al. Associations of obesity with modifiable risk factors for the development of cardiovascular disease in patients with rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 2009; 68: 242–245.

45. Escalante A, Haas RW, Del Rincón I. Paradoxical effect of body mass index on survival in rheumatoid arthritis: role of comorbidity and systemic inflammation. *Arch Intern Med* 2005; 165: 1624–1629.

46. Bray GA. Don't throw the baby out with the bath water. *Am J Clin Nutr.* 2004; 79: 347–349.

47. van Halm VP, Nielen MMJ, Nurmohamed MT, van Schaardenburg D, Reesink HW, Voskuyl AE, et al. Lipids and inflammation: serial measurements of the lipid profile of blood donors who later developed rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 2007; 66: 184–188.

48. Toms TE, Panoulas VF, Douglas KMJ, Nightingale P, Smith JP, Griffiths H, et al. Are lipid ratios less susceptible to change with systemic inflammation than individual lipid components in patients with rheumatoid arthritis? *Angiology.* 2011; 62: 167–175.

49. Choy E, Sattar N. Interpreting lipid levels in the context of high-grade inflammatory states with a focus on rheumatoid arthritis: A challenge to conventional cardiovascular risk actions. *Ann Rheum Dis* 2009; 68: 460–469.

50. 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; 70: 482–487.

51. González-Gay MA, González-Juanatey C. Inflammation and lipid profile in rheumatoid arthritis: bridging an apparent paradox. *Ann Rheum Dis* 2014; 73: 1281–1284.

52. Zhang J, Chen L, Delzell E, Muntner P, Hillegass WB, Safford MM, et al. The association between inflammatory markers, serum lipids and the risk of cardiovascular events in patients with rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 2014; 73: 1301–1308.

53. Jagpal A, Navarro-Millán I. Cardiovascular co-morbidity in patients with rheumatoid arthritis: a narrative review of risk factors, cardiovascular risk assessment and treatment. *BMC Rheumatol* 2018; 2: 10.

54. DeMizio DJ, Geraldino-Pardilla LB. Autoimmunity and inflammation link to cardiovascular disease risk in rheumatoid arthritis. *Rheumatol Ther* 2020; 7: 19–33.

55. Suciú CF, Prete M, Ruscitti P, Favoino E, Giacomelli R, Perosa F. Oxidized low density lipoproteins: the bridge between atherosclerosis and autoimmunity. Possible implications in

accelerated atherosclerosis and for immune intervention in autoimmune rheumatic disorders. *Autoimmun Rev* 2018; 17: 366–375.

56. Skeoch S, Williams H, Cristinacce P, Hockings P, James J, Alexander Y, et al. Evaluation of carotid plaque inflammation in patients with active rheumatoid arthritis using 18F-fluorodeoxyglucose PET-CT and MRI: a pilot study. *Lancet* 2015; 385: S91.

57. Lindhardsen J, Ahlehoff O, Gislason GH, Madsen OR, Olesen JB, Torp-Pedersen C, et al. The risk of myocardial infarction in rheumatoid arthritis and diabetes mellitus: a Danish nationwide cohort study. *Ann Rheum Dis* 2011; 70: 929–934.

58. Arts EEA, Fransen J, Broeder AAD, 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; 74: 998–1003.

59. Myasoedova E, Chandran A, Ilhan B, Major BT, Michet CJ, Matteson EL, et al. The role of rheumatoid arthritis (RA) flare and cumulative burden of RA severity in the risk of cardiovascular disease. *Ann Rheum Dis* 2016; 75: 560–565.

60. Arts EE, Fransen J, Den Broeder AA, van Riel PLCM, Popa CD. Low disease activity (DAS28 $\leq$ 3.2) reduces the risk of first cardiovascular event in rheumatoid arthritis: a time-dependent Cox regression analysis in a large cohort study. *Ann Rheum Dis* 2017; 76: 1693-1699.

61. Triantafyllias K, De Blasi M, Hoffmann I, Thomaidis T, Drees P, Schwarting A. The count of tender rather than swollen joints correlates with aortic stiffness in patients with rheumatoid arthritis. *Springerplus* 2016; 5: 428.

62. 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* 2015; 67: 1449–1455.

63. 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; 78: 335-341.

64. Mahmoudi M, Aslani S, Fadaei R, Jamshidi AR. New insights to the mechanisms underlying atherosclerosis in rheumatoid arthritis. *Int J Rheum Dis*. 2017; 20: 287–297.

65. Cambridge G, Acharya J, Cooper JA, Edwards JC, Humphries SE. Antibodies to citrullinated peptides and risk of coronary heart disease. *Atherosclerosis*. 2013; 228: 243–246.

66. Tomasson G, Aspelund T, Jonsson T, Valdimarsson H, Felson DT, Gudnason V. Effect of rheumatoid factor on mortality and coronary heart disease. *Ann Rheum Dis* 2010; 69: 1649–1654.

67. Crilly MA, Clark HJ, Kumar V, Scott N, MacDonald AG, Williams DJ. Relationship between arterial stiffness and Stanford health assessment questionnaire disability in rheumatoid arthritis patients without overt arterial disease. *J Rheumatol* 2010; 37: 946–952.

68. Raterman HG, Voskuyl AE, Simsek S, Schreurs MWJ, van Hoogstraten IMW, Peters MJL, et al.

Increased progression of carotid intima media thickness in thyroid peroxidase antibodies-positive rheumatoid arthritis patients. *Eur J Endocrinol* 2013; 169: 751–757.

69. Mahmoudi M, Aslani S, Fadaei R, Jamshidi AR. New insights to the mechanisms underlying atherosclerosis in rheumatoid arthritis. *Int J Rheum Dis* 2017; 20: 287–297.

70. Nurmohamed MT, Heslinga M, Kitas GD. Cardiovascular comorbidity in rheumatic diseases. *Nat Rev Rheumatol* 2015; 11: 693–704.

71. Adawi M, Firas S, Blum A. Rheumatoid arthritis and atherosclerosis. *Isr Med Assoc J* 2019; 21: 460–463.

72. Sattar N, McCarey DW, Capell H, McInnes IB. Explaining how “high-grade” systemic inflammation accelerates vascular risk in rheumatoid arthritis. *Circulation* 2003; 108: 2957–2963.

73. López-Longo FJ, Oliver-Miñarro D, de la Torre I, de Rábago EGD, Sánchez-Ramón S, Rodríguez-Mahou M, et al. Association between anti-cyclic citrullinated peptide antibodies and ischemic heart disease in patients with rheumatoid arthritis. *Arthritis Care Res* 2009; 61: 419–424.

74. Sokolove J, Brennan MJ, Sharpe O, 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; 65: 1719–1724.

75. Hjeltnes G, Hollan I, Førre, Wiik A, Mikkelsen K, Agewall S. Anti-CCP and RF IgM: Predictors of impaired endothelial function in rheumatoid arthritis patients. *Scand J Rheumatol* 2011; 40: 422–427.

76. Sokolove J, Bromberg R, Deane KD, Lahey LJ, Derber LA, Chandra PE, et al. Correction: autoantibody epitope spreading in the pre-clinical phase predicts progression to rheumatoid arthritis. *PLoS One* 2012; 7: e35296.

77. Spinelli FR, Pecani A, Ciciarello F, Colasanti T, Franco M Di, Miranda F, et al. Association between antibodies to carbamylated proteins and subclinical atherosclerosis in rheumatoid arthritis patients. *BMC Musculoskelet Disord* 2017; 18: 214.

78. George J, Afek A, Gilburd B, Levy Y, Blank M, Kopolovic J, et al. Atherosclerosis in LDL-receptor knockout mice is accelerated by immunization with anticardiolipin antibodies. *Lupus* 1997; 6: 723–729.

79. George J, Harats D, Gilburd B, Afek A, Shaish A, Kopolovic J, et al. Adoptive transfer of  $\beta$ 2-glycoprotein i-reactive lymphocytes enhances early atherosclerosis in LDL receptor-deficient mice. *Circulation* 2000; 102: 1822–1827.

80. Ridker PM, Buring JE, Shih J, Matias M, Hennekens CH. Prospective study of C-reactive protein and the risk of future cardiovascular events among apparently healthy women. *Circulation* 1998; 98: 731–733.

81. Goodson NJ, Symmons DPM, Scott DGI, Bunn D, Lunt M, Silman AJ. Baseline levels of C-reactive protein and prediction of death from cardiovascular disease in patients with inflammatory polyarthritis: a ten-year followup study of a primary care-based inception cohort. *Arthritis Rheum*

2005; 52: 2293–2299.

82. Del Rincón I, Williams K, Stern MP, Freeman GL, O’Leary DH, Escalantel A. Association between carotid atherosclerosis and markers of inflammation in rheumatoid arthritis patients and healthy subjects. *Arthritis Rheum* 2003; 48: 1833–1840.
83. Semb AG, Rollefstad S, Provan SA, Kvien TK, Strandén E, Olsen IC, et al. Carotid plaque characteristics and disease activity in rheumatoid arthritis. *J Rheumatol* 2013; 40: 359–368.
84. Hannawi S, Haluska B, Marwick TH, Thomas R. Atherosclerotic disease is increased in recent-onset rheumatoid arthritis: a critical role for inflammation. *Arthritis Res Ther* 2007; 9: R116.
85. Ridker PM. Cardiology Patient Page. C-reactive protein: a simple test to help predict risk of heart attack and stroke. *Circulation* 2003; 108: e81-85.
86. Ramji DP, Davies TS. Cytokines in atherosclerosis: key players in all stages of disease and promising therapeutic targets. *Cytokine Growth Factor Rev* 2015; 26: 673–685.
87. Desrumaux C, Lagrost L. Plasma phospholipid transfer protein (PLTP) as an emerging determinant of the adaptive immune response. *Cell Mol Immunol* 2018; 15: 1077–1079.
88. Lundberg AM, Hansson GK. Innate immune signals in atherosclerosis. *Clin Immunol* 2010; 134: 5–24.
89. Chimenti MS, Triggianese P, Conigliaro P, Candi E, Melino G, Perricone R. The interplay between inflammation and metabolism in rheumatoid arthritis. *Cell Death Dis* 2015; 6: e1887.
90. Danesh J, Kaptoge S, Mann AG, Sarwar N, Wood A, Angleman SB, et al. Long-term interleukin-6 levels and subsequent risk of coronary heart disease: two new prospective studies and a systematic review. *PLoS Med* 2008; 5: e78.
91. 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; 35: 578-589.
92. Cugno M. Cardiovascular events and survival in rheumatoid arthritis: Effects of anti-tumor necrosis factor-alpha treatment. *Transl Res* 2011; 157: 6–9.
93. Maradit-Kremers H, Crowson CS, Nicola PJ, Ballman K V., 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; 52: 402–411.
94. Dalbeni A, Giollo A, Tagetti A, Atanasio S, Orsolini G, Cioffi G, et al. Traditional cardiovascular risk factors or inflammation: which factors accelerate atherosclerosis in arthritis patients? *Int J Cardiol* 2017; 236: 488-492.
95. Sanjadi M, Rezvanie Sichanie Z, Totonchi H, Karami J, Rezaei R, Aslani S. Atherosclerosis and autoimmunity: a growing relationship. *Int J Rheum Dis* 2018; 21: 908–921.
96. Gerli R, Schillaci G, Giordano A, Bocci EB, Bistoni O, Vaudo G, et al. CD4+CD28- T lymphocytes contribute to early atherosclerotic damage in rheumatoid arthritis patients. *Circulation* 2004; 109: 2744–2748.

97. Winchester R, Giles JT, Nativ S, Downer K, Zhang HZ, Bag-Ozbek A, et al. Association of elevations of specific T cell and monocyte subpopulations in rheumatoid arthritis with subclinical coronary artery atherosclerosis. *Arthritis Rheumatol* 2016; 68: 92–102.
98. Hill JM, Zalos G, Halcox JPJ, Schenke WH, Waclawiw MA, Quyyumi AA, et al. Circulating endothelial progenitor cells, vascular function, and cardiovascular risk. *N Engl J Med* 2003; 348: 593–600.
99. Herbrig K, Haensel S, Oelschlaegel U, Pistrosch F, Foerster S, Passauer J. Endothelial dysfunction in patients with rheumatoid arthritis is associated with a reduced number and impaired function of endothelial progenitor cells. *Ann Rheum Dis* 2006; 65: 157–163.
100. Totoson P, Maguin-Gaté K, Prati C, Wendling D, Demougeot C. Mechanisms of endothelial dysfunction in rheumatoid arthritis: lessons from animal studies. *Arthritis Res Ther* 2014; 16: 202.
101. Grundy SM, Brewer HB, Cleeman JI, Smith SC, Lenfant C. Definition of metabolic syndrome: report of the National Heart, Lung, and Blood Institute/American Heart Association conference on scientific issues related to definition. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2004; 24: e13-18.
102. Liu Y, Hazlewood GS, Kaplan GG, Eksteen B, Barnabe C. Impact of obesity on remission and disease activity in rheumatoid arthritis: a systematic review and meta-analysis. *Arthritis Care Res* 2017; 69: 157–165.
103. Hotamisligil GS, Arner P, Caro JF, Atkinson RL, Spiegelman BM. Increased adipose tissue expression of tumor necrosis factor- $\alpha$  in human obesity and insulin resistance. *J Clin Invest* 1995; 95: 2409–2415.
104. Carbone F, Bonaventura A, Liberale L, Paolino S, Torre F, Dallegri F, et al. Atherosclerosis in rheumatoid arthritis: promoters and opponents. *Clin Rev Allergy Immunol* 2020; 58: 1–14.
105. Ruscitti P, Di Benedetto P, Berardicurti O, Liakouli V, Carubbi F, Cipriani P, et al. Adipocytokines in rheumatoid arthritis: the hidden link between inflammation and cardiometabolic comorbidities. *J Immunol Res* 2018; 2018: 8410182 (e-Collection). doi: 10.1155/2018/8410182.
106. Albert MA, Glynn RJ, Ridker PM. Effect of physical activity on serum C-reactive protein. *Am J Cardiol* 2004; 93: 221–225.
107. Metsios GS, Stavropoulos-Kalinoglou A, Van Zanten JJCSV, Nightingale P, Sandoo A, Dimitroulas T, et al. Individualised exercise improves endothelial function in patients with rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 2014; 73: 748–751.
108. Katz P, Margaretten M, Trupin L, Schmajuk G, Yazdany J, Yelin E. Role of sleep disturbance, depression, obesity, and physical inactivity in fatigue in rheumatoid arthritis. *Arthritis Care Res* 2016; 68: 81–90.
109. Boo S, Oh H, Froelicher ES, Suh C-H. Knowledge and perception of cardiovascular disease risk among patients with rheumatoid arthritis. *PLoS One* 2017;12: e0176291.
110. Heliovaara M, Aho K, Aromaa A, Knekt P, Reunanen A. Smoking and risk of rheumatoid arthritis. *J Rheumatol* 1993; 20: 1830–1835.

111. Padyukov L, Suva C, Stolt P, Alfredsson L, Klareskog L. A gene-environment interaction between smoking and shared epitope genes in HLA-DR provides a high risk of seropositive rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 2004; 50: 3085–3092.
112. Kalpakcioglu B, Şenel K. The interrelation of glutathione reductase, catalase, glutathione peroxidase, superoxide dismutase, and glucose-6-phosphate in the pathogenesis of rheumatoid arthritis. *Clin Rheumatol* 2008; 27: 141–145.
113. Matthey DL, Brownfield A, Dawes PT. Relationship between pack-year history of smoking and response to tumor necrosis factor antagonists in patients with rheumatoid arthritis. *J Rheumatol* 2009; 36: 1180–1187.
114. Sugiyama D, Nishimura K, Tamaki K, Tsuji G, Nakazawa T, Morinobu A, et al. Impact of smoking as a risk factor for developing rheumatoid arthritis: a meta-analysis of observational studies. *Ann Rheum Dis* 2010; 69: 70–81.
115. Saag KG, Cerhan JR, Kolluri S, Ohashi K, Hunninghake GW, Schwartz DA. Cigarette smoking and rheumatoid arthritis severity. *Ann Rheum Dis* 1997; 56: 463–469.
116. Roelsgaard IK, Ikdahl E, Rollefstad S, Wibetoe G, Esbensen BA, Kitas GD, et al. Smoking cessation is associated with lower disease activity and predicts cardiovascular risk reduction in rheumatoid arthritis patients. *Rheumatology (Oxford)* 2020; 59: 1997–2004.
117. Torkamani A, Topol EJ, Schork NJ. Pathway analysis of seven common diseases assessed by genome-wide association. *Genomics* 2008; 92: 265–272.
118. Vallvé JC, Paredes S, Girona J, Uliaque K, Ribalta J, Hurt-Camejo E, et al. Tumor necrosis factor- $\alpha$  -1031 T/C polymorphism is associated with smaller and more proatherogenic low density lipoprotein particles in patients with rheumatoid arthritis. *J Rheumatol* 2008; 35: 1697–1703.
119. Palomino-Morales R, Gonzalez-Juanatey C, Vazquez-Rodriguez TR, Miranda-Fillooy JA, Llorca J, Martin J, et al. Interleukin-6 gene -174 promoter polymorphism is associated with endothelial dysfunction but not with disease susceptibility in patients with rheumatoid arthritis. *Clin Exp Rheumatol* 2009; 27: 964–970.
120. Paakkanen R, Lokki ML, Seppänen M, Tierala I, Nieminen MS, Sinisalo J. Proinflammatory HLA-DRB1\*01-haplotype predisposes to ST-elevation myocardial infarction. *Atherosclerosis* 2012; 221: 461–466.
121. Baghdadi LR, Woodman RJ, Shanahan EM, Mangoni AA. The impact of traditional cardiovascular risk factors on cardiovascular outcomes in patients with rheumatoid arthritis: a systematic review and meta-analysis. *PLoS One* 2015; 10: e0117952.
122. Roubille C, Richer V, Starnino T, McCourt C, McFarlane A, Fleming P, et al. The effects of tumour necrosis factor inhibitors, methotrexate, non-steroidal anti-inflammatory drugs and corticosteroids on cardiovascular events in rheumatoid arthritis, psoriasis and psoriatic arthritis: a systematic review and meta-analysis. *Ann Rheum Dis* 2015; 74: 480–489.
123. del Rincón I, Battafarano DF, Restrepo JF, Erikson JM, Escalante A. Glucocorticoid dose

thresholds associated with all-cause and cardiovascular mortality in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheumatol* 2014; 66: 264–272.

124. Micha R, Imamura F, Wyler Von Ballmoos M, Solomon DH, Hernán MA, Ridker PM, et al. Systematic review and meta-analysis of methotrexate use and risk of cardiovascular disease. *Am J Cardiol* 2011; 108: 1362–1370.

125. 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; 45: 461–464.

126. 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; 64: 2836–2846.

127. McCoy SS, Crowson CS, Maradit-Kremers H, Therneau TM, Roger VL, Matteson EL, et al. Longterm outcomes and treatment after myocardial infarction in patients with rheumatoid arthritis. *J Rheumatol* 2013; 40: 605–610.

128. Skeoch S, Bruce IN. Atherosclerosis in rheumatoid arthritis: Is it all about inflammation? *Nat Rev Rheumatol* 2015; 11: 390–400.

129. Giacomelli R, Afeltra A, Alunno A, Bartoloni-Bocci E, Berardicurti O, Bombardieri M, et al. Guidelines for biomarkers in autoimmune rheumatic diseases - evidence based analysis. *Autoimmun Rev* 2019; 18: 93–106.

130. Johnson TM, Register KA, Schmidt CM, O'Dell JR, Mikuls TR, Michaud K, et al. Correlation of the multi-biomarker disease activity score with rheumatoid arthritis disease activity measures: a systematic review and meta-analysis. *Arthritis Care Res* 2019; 71: 1459–1472.

131. van Vollenhoven RF, Bolce R, Hambarzumyan K, Saevarsdottir S, Forslind K, Petersson IF, et al. Brief report: enhancement of patient recruitment in rheumatoid arthritis clinical trials using a multi-biomarker disease activity score as an inclusion criterion. *Arthritis Rheumatol* 2015; 67: 2855–2860.

132. Peabody JW, Strand V, Shimkhada R, Lee R, Chernoff D. Impact of rheumatoid arthritis disease activity test on clinical practice. *PLoS One* 2013; 8: e63215.

133. Ma MHY, Defranoux N, Li W, Sasso EH, Ibrahim F, Scott DL, et al. A multi-biomarker disease activity score can predict sustained remission in rheumatoid arthritis. *Arthritis Res Ther* 2020; 22: 158.

134. Brahe CH, Østergaard M, Johansen JS, Defranoux N, Wang X, Bolce R, et al. Predictive value of a multi-biomarker disease activity score for clinical remission and radiographic progression in patients with early rheumatoid arthritis: a post-hoc study of the OPERA trial. *Scand J Rheumatol* 2019; 48: 9–16.

135. Hagen M, Englbrecht M, Haschka J, Reiser M, Kleyer A, Hueber A, et al. Cost-effective tapering algorithm in patients with rheumatoid arthritis: combination of multibiomechanical disease activity score and autoantibody status. *J Rheumatol* 2019; 46: 460–466.

136. Curtis JR, Xie F, Chen L, Saag KG, Yun H, Muntner P. Biomarker-related risk for myocardial



infarction and serious infections in patients with rheumatoid arthritis: a population-based study. *Ann Rheum Dis* 2018; 77: 386–392.

137. Fleischmann R. Value of the multibiomarker disease activity score to predict remission in RA: What does the evidence show? *J Rheumatol* 2019; 46: 443–446.

138. Krabbe S, Bolce R, Brahe CH, Døhn UM, Ejbjerg BJ, Hetland ML, et al. Investigation of a multi-biomarker disease activity score in rheumatoid arthritis by comparison with magnetic resonance imaging, computed tomography, ultrasonography, and radiography parameters of inflammation and damage. *Scand J Rheumatol* 2017; 46: 353–358.

139. Markusse IM, Dirven L, van den Broek M, Bijkerk C, Han KH, Roday HK, et al. A multibiomarker disease activity score for rheumatoid arthritis predicts radiographic joint damage in the BeSt study. *J Rheumatol* 2014; 41: 2114–2119.

140. Yamashita S, Hirano K, Sakai N, Matsuzawa Y. Molecular biology and pathophysiological aspects of plasma cholesteryl ester transfer protein. *Biochim Biophys Acta* 2000; 1529: 257–275.

141. C B Hesler, T L Swenson ART. Purification and characterization of a human plasma cholesteryl ester transfer protein. *J Biol Chem* 1987; 262: 2275–2282.

142. Qiu X, Mistry A, Ammirati MJ, Chrnyk BA, Clark RW, Cong Y, et al. Crystal structure of cholesteryl ester transfer protein reveals a long tunnel and four bound lipid molecules. *Nat Struct Mol Biol* 2007; 14: 106–113.

143. Wang Y, van der Tuin S, Tjeerdema N, van Dam AD, Rensen SS, Hendrikx T, et al. Plasma cholesteryl ester transfer protein is predominantly derived from Kupffer cells. *Hepatology* 2015; 62: 1710–1722.

144. Drayna D, Jarnagin AS, McLean J, Henzel W, Kohr W, Fielding C, et al. Cloning and sequencing of human cholesteryl ester transfer protein cDNA. *Nature* 1987; 327: 632–634.

145. Ray KK, Ditmarsch M, Kallend D, Niesor EJ, Suchankova G, Upmanyu R, et al. The effect of cholesteryl ester transfer protein inhibition on lipids, lipoproteins, and markers of HDL function after an acute coronary syndrome: the dal-ACUTE randomized trial. *Eur Heart J* 2014; 35: 1792–1800.

146. Montecucco F, Favari E, Norata GD, Ronda N, Nofer JR, Vuilleumier N. Impact of systemic inflammation and autoimmune diseases on apoA-i and HDL plasma levels and functions. *Handb Exp Pharmacol* 2015; 224: 455–482.

147. Botta E, Meroño T, Saucedo C, Martín M, Tetzlaff W, Sorroche P, et al. Associations between disease activity, markers of HDL functionality and arterial stiffness in patients with rheumatoid arthritis. *Atherosclerosis* 2016; 251: 438–444.

148. Yadav R, Liu Y, Kwok S, Hama S, France M, Eatough R, et al. Effect of extended-release niacin on high-density lipoprotein (HDL) functionality, lipoprotein metabolism, and mediators of vascular inflammation in statin-treated patients. *J Am Heart Assoc* 2015; 4: e001508.

149. Oliveira HCF, de Faria EC. Cholesteryl ester transfer protein: the controversial relation to atherosclerosis and emerging new biological roles. *IUBMB Life* 2011; 63: 248–257.

150. Tanigawa H, Billheimer JT, Tohyama JI, Zhang YZ, Rothblat G, Rader DJ. Expression of cholesteryl ester transfer protein in mice promotes macrophage reverse cholesterol transport. *Circulation* 2007; 116: 1267–1273.
151. Carvalho LSF, Virginio VWM, Panzoldo NB, Figueiredo VN, Santos SN, Modolo RGP, et al. Elevated CETP activity during acute phase of myocardial infarction is independently associated with endothelial dysfunction and adverse clinical outcome. *Atherosclerosis* 2014; 237: 777–783.
152. Zeller M, Masson D, Farnier M, Lorgis L, Deckert V, Pais de Barros JP, et al. High serum cholesteryl ester transfer rates and small high-density lipoproteins are associated with young age in patients with acute myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol* 2007; 50: 1948–1955.
153. Cazita PM, Barbeiro DF, Moretti AIS, Quintão ECR, Soriano FG. Human cholesteryl ester transfer protein expression enhances the mouse survival rate in an experimental systemic inflammation model: a novel role for CETP. *Shock* 2008; 30: 590–595.
154. Pirillo A, Catapano AL, Norata GD. HDL in infectious diseases and sepsis. *Handb Exp Pharmacol* 2015; 224: 483–508.
155. Trinder M, Genga KR, Kong HJJ, Blauw LL, Lo C, Li X, et al. Cholesteryl ester transfer protein influences high-density lipoprotein levels and survival in sepsis. *Am J Respir Crit Care Med* 2019; 199: 854–862.
156. Grion CMC, Cardoso LTQ, Perazolo TF, Garcia AS, Barbosa DS, Morimoto HK, et al. Lipoproteins and CETP levels as risk factors for severe sepsis in hospitalized patients. *Eur J Clin Invest* 2010; 40: 330–338.
157. Schwartz GG, Olsson AG, Abt M, Ballantyne CM, Barter PJ, Brumm J, et al. Effects of dalcetrapib in patients with a recent acute coronary syndrome. *N Engl J Med* 2012; 367: 2089–2099.
158. Cannon CP, Shah S, Dansky HM, Davidson M, Brinton EA, Gotto AM, et al. Safety of anacetrapib in patients with or at high risk for coronary heart disease. *N Engl J Med* 2010; 363: 2406–2415.
159. Robins SJ, Lyass A, Brocica RW, Massaro JM, Vasan RS. Plasma lipid transfer proteins and cardiovascular disease. The Framingham Heart Study. *Atherosclerosis* 2013; 228: 230–236.
160. Ferraz-Amaro I, Gonzalez-Gay MA, Garcia-Dopico JA, Diaz-Gonzalez F. Cholesteryl ester transfer protein in patients with rheumatoid arthritis. *J Rheumatol* 2013; 40: 1040–1047.
161. 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: e0164564.
162. Day JR, Albers JJ, Lofton-Day CE, Gilbert TL, Ching AFT, Grant FJ, et al. Complete cDNA encoding human phospholipid transfer protein from human endothelial cells. *J Biol Chem* 1994; 269: 9388–9391.
163. Beamer LJ. Crystal structure of human BPI and two bound phospholipids at 2.4 angstrom resolution. *Science* 1997; 276: 1861–1864.

164. Yazdanyar A, Quan W, Jin W, Jiang XC. Liver-specific phospholipid transfer protein deficiency reduces high-density lipoprotein and non-high-density lipoprotein production in mice. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2013; 33: 2058–2064.
165. Jiang XC, Bruce C. Regulation of murine plasma phospholipid transfer protein activity and mRNA levels by lipopolysaccharide and high cholesterol diet. *J Biol Chem* 1995; 270: 17133–17138.
166. Lee-Rueckert M, Vikstedt R, Metso J, Ehnholm C, Kovanen PT, Jauhiainen M. Absence of endogenous phospholipid transfer protein impairs ABCA1-dependent efflux of cholesterol from macrophage foam cells. *J Lipid Res* 2006; 47: 1725–1732.
167. Desrumaux CM, Mak PA, Boisvert WA, Masson D, Stupack D, Jauhiainen M, et al. Phospholipid transfer protein is present in human atherosclerotic lesions and is expressed by macrophages and foam cells. *J Lipid Res* 2003; 44: 1453–1461.
168. Kawano K, Qin SC, Lin M, Tall AR, Jiang XC. Cholesteryl ester transfer protein and phospholipid transfer protein have nonoverlapping functions in vivo. *J Biol Chem* 2000; 275: 29477–29481.
169. Huuskonen J, Olkkonen VM, Jauhiainen M, Ehnholm C. The impact of phospholipid transfer protein (PLTP) on HDL metabolism. *Atherosclerosis* 2001; 155: 269–281.
170. Settasatian N, Duong MN, Curtiss LK, Ehnholm C, Jauhiainen M, Huuskonen J, et al. The mechanism of the remodeling of high density lipoproteins by phospholipid transfer protein. *J Biol Chem* 2001; 276: 26898–26905.
171. Chen X, Sun A, Mansoor A, Zou Y, Ge J, Lazar JM, et al. Plasma PLTP activity is inversely associated with HDL-C levels. *Nutr Metab* 2009; 6: 49.
172. Jiang XC. Phospholipid transfer protein: its impact on lipoprotein homeostasis and atherosclerosis. *J Lipid Res* 2018; 59: 764–771.
173. Manavalan APC, Kober A, Metso J, Lang I, Becker T, Hasslitz K, et al. Phospholipid transfer protein is expressed in cerebrovascular endothelial cells and involved in high density lipoprotein biogenesis and remodeling at the blood-brain barrier. *J Biol Chem* 2014; 289: 4683–4698.
174. Vuletic S, Dong W, Wolfbauer G, Tang C, Albers JJ. PLTP regulates STAT3 and NFκB in differentiated THP1 cells and human monocyte-derived macrophages. *Biochim Biophys Acta* 2011; 1813: 1917–24.
175. Lagrost L. Plasma phospholipid transfer protein: a multifaceted protein with a key role in the assembly and secretion of apolipoprotein B-containing lipoproteins by the liver. *Hepatology* 2012; 56: 415–418.
176. Tzotzas T, Desrumaux C, Lagrost L. Plasma phospholipid transfer protein (PLTP): review of an emerging cardiometabolic risk factor. *Obes Rev* 2009; 10: 403–411.
177. Moerland M, Samyn H, Van Gent T, Van Haperen R, Dallinga-Thie G, Grosveld F, et al. Acute elevation of plasma PLTP activity strongly increases pre-existing atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2008; 28: 1277–1282.

178. Jiang XC, Qin S, Qiao C, Kawano K, Lin M, Skold A, et al. Apolipoprotein B secretion and atherosclerosis are decreased in mice with phospholipid-transfer protein deficiency. *Nat Med* 2001; 7: 847–852.
179. Jiang XC, Tall AR, Qin S, Lin M, Schneider M, Lalanne F, et al. Phospholipid transfer protein deficiency protects circulating lipoproteins from oxidation due to the enhanced accumulation of vitamin E. *J Biol Chem* 2002; 277: 31850–31856.
180. Schlitt A, Liu J, Yan D, Mondragon-Escorpizo M, Norin AJ, Jiang XC. Anti-inflammatory effects of phospholipid transfer protein (PLTP) deficiency in mice. *Biochim Biophys Acta* 2005; 1733: 187–191.
181. Audo R, Deckert V, Daien CI, Che H, Elhmioui J, Lemaire S, et al. PhosphoLipid transfer protein (PLTP) exerts a direct pro-inflammatory effect on rheumatoid arthritis (RA) fibroblasts-like-synoviocytes (FLS) independently of its lipid transfer activity. *PLoS One* 2018; 13: e0193815.
182. Cheung MC, Vaisar T, Han X, Heinecke JW, Albers JJ. Phospholipid transfer protein in human plasma associates with proteins linked to immunity and inflammation. *Biochemistry* 2010; 49: 7314–7322.
183. Tuomainen AM, Hyvärinen K, Ehlers PI, Mervaala E, Leinonen M, Saikku P, et al. The effect of proatherogenic microbes on macrophage cholesterol homeostasis in apoE-deficient mice. *Microb Pathog* 2011; 51: 217–224.
184. Levels JHM, Pajkrt D, Schultz M, Hoek FJ, van Tol A, Meijers JCM, et al. Alterations in lipoprotein homeostasis during human experimental endotoxemia and clinical sepsis. *Biochim Biophys Acta* 2007; 1771: 1429–1438.
185. Kirschning CJ, Au-Young J, Lamping N, Reuter D, Pfeil D, Seilhamer JJ, et al. Similar organization of the lipopolysaccharide-binding protein (LBP) and phospholipid transfer protein (PLTP) genes suggests a common gene family of lipid-binding proteins. *Genomics* 1997; 46: 416–425.
186. Vesey CJ, Kitchens RL, Wolfbauer G, Albers JJ, Munford RS. Lipopolysaccharide-binding protein and phospholipid transfer protein release lipopolysaccharides from gram-negative bacterial membranes. *Infect Immun* 2000; 68: 2410–2417.
187. Gautier T, Lagrost L. Plasma PLTP (phospholipid-transfer protein): an emerging role in “reverse lipopolysaccharide transport” and innate immunity. *Biochem Soc Trans* 2011; 39: 984–988.
188. Gautier T, Klein A, Deckert V, Desrumaux C, Ogier N, Sberna AL, et al. Effect of plasma phospholipid transfer protein deficiency on lethal endotoxemia in mice. *J Biol Chem* 2008; 283: 18702–18710.
189. Deckert V, Lemaire S, Ripoll PJ, De Barros JPP, Labbé J, Borgne CC Le, et al. Recombinant human plasma phospholipid transfer protein (PLTP) to prevent bacterial growth and to treat sepsis. *Sci Rep* 2017; 7: 3053.
190. Yu Y, Cui Y, Zhao Y, Liu S, Song G, Jiao P, et al. The binding capability of plasma phospholipid

transfer protein, but not HDL pool size, is critical to repress LPS induced inflammation. *Sci Rep* 2016; 6: 20845.

191. Ogier N, Klein A, Deckert V, Athias A, Bessède G, Le Guern N, et al. Cholesterol accumulation is increased in macrophages of phospholipid transfer protein-deficient mice: normalization by dietary alpha-tocopherol supplementation. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2007; 27: 2407–2412.

192. Yan D, Navab M, Bruce C, Fogelman AM, Jiang XC. PLTP deficiency improves the anti-inflammatory properties of HDL and reduces the ability of LDL to induce monocyte chemotactic activity. *J Lipid Res* 2004; 45: 1852–1858.

193. Pussinen PJ, Metso J, Malle E, Barlage S, Palosuo T, Sattler W, et al. The role of plasma phospholipid transfer protein (PLTP) in HDL remodeling in acute-phase patients. *Biochim Biophys Acta* 2001; 1533: 153–163.

194. Barlage S, Fröhlich D, Böttcher A, Jauhiainen M, Müller HP, Noetzel F, et al. ApoE-containing high density lipoproteins and phospholipid transfer protein activity increase in patients with a systemic inflammatory response. *J Lipid Res* 2001; 42: 281–290.

195. Cheung MC, Brown BG, Marino Larsen EK, Frutkin AD, O'Brien KD, Albers JJ. Phospholipid transfer protein activity is associated with inflammatory markers in patients with cardiovascular disease. *Biochim Biophys Acta* 2006; 1762: 131–137.

196. Valenta DT, Ogier N, Bradshaw G, Black AS, Bonnet DJ, Lagrost L, et al. Atheroprotective potential of macrophage-derived phospholipid transfer protein in low-density lipoprotein receptor-deficient mice is overcome by apolipoprotein AI overexpression. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2006; 26: 1572–1578.

197. Valenta DT, Bulgrien JJ, Bonnet DJ, Curtiss LK. Macrophage PLTP is atheroprotective in LDLr-deficient mice with systemic PLTP deficiency. *J Lipid Res* 2008; 49: 24–32.

198. Vuletic S, Taylor BA, Tofler GH, Chait A, Marcovina SM, Schenck K, et al. SAA and PLTP activity in plasma of periodontal patients before and after full-mouth tooth extraction. *Oral Dis* 2008; 14: 514–519.

199. Vuletic S, Peskind ER, Marcovina SM, Quinn JF, Cheung MC, Kennedy H, et al. Reduced CSF PLTP activity in Alzheimer's disease and other neurologic diseases; PLTP induces ApoE secretion in primary human astrocytes in vitro. *J Neurosci Res* 2005; 80: 406–413.

200. Audo R, Hegglin A, Severac D, Dantec C, Combe B, Hahne M, et al. Identification of genes regulating TRAIL-induced apoptosis in rheumatoid arthritis fibroblasts-like synoviocytes. *Genes Immun* 2015; 16: 462–469.

201. Beigneux AP, Allan CM, Sandoval NP, Cho GW, Heizer PJ, Jung RS, et al. Lipoprotein lipase is active as a monomer. *Proc Natl Acad Sci USA* 2019; 116: 6319–6328.

202. Kersten S. Physiological regulation of lipoprotein lipase. *Biochim Biophys Acta* 2014; 1841: 919–933.

203. Skoczyńska A. Lipoprotein lipase (LPL) in the pathogenesis of atherosclerosis. *Postepy Hig Med*

Dosw 1998; 52: 347-365.

204. Piper DE, Romanow WG, Gunawardane RN, Fordstrom P, Masterman S, Pan O, et al. The high-resolution crystal structure of human LCAT. *J Lipid Res* 2015; 56: 1711–1719.
205. Ossoli A, Simonelli S, Vitali C, Franceschini G, Calabresi L. Role of LCAT in atherosclerosis. *J Atheroscler Thromb* 2016; 23: 119–127.
206. Charles-Schoeman C, Watanabe J, Lee YY, Furst DE, Amjadi S, Elashoff D, et al. Abnormal function of high-density lipoprotein is associated with poor disease control and an altered protein cargo in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 2009; 60: 2870–2879.
207. Charles-Schoeman C, Lee YY, Grijalva V, Amjadi S, FitzGerald J, Ranganath VK, et al. Cholesterol efflux by high density lipoproteins is impaired in patients with active rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 2012; 71: 1157–1162.
208. Rosso LG, Lhomme M, Meroño T, Sorroche P, Catoggio L, Soriano E, et al. Altered lipidome and antioxidative activity of small, dense HDL in normolipidemic rheumatoid arthritis: relevance of inflammation. *Atherosclerosis* 2014; 237: 652–660.
209. Popa C, Van Tits LJH, Barrera P, Lemmers HLM, Van Den Hoogen FHJ, Van Riel PLCM, et al. Anti-inflammatory therapy with tumour necrosis factor alpha inhibitors improves high-density lipoprotein cholesterol antioxidative capacity in rheumatoid arthritis patients. *Ann Rheum Dis* 2009; 68: 868–872.
210. Nissen SE, Tardif J-C, Nicholls SJ, Revkin JH, Shear CL, Duggan WT, et al. Effect of torcetrapib on the progression of coronary atherosclerosis. *N Engl J Med* 2007; 356: 1304–1316.
211. Barter PJ, Caulfield M, Eriksson M, Grundy SM, Kastelein JJP, Komajda M, et al. Effects of torcetrapib in patients at high risk for coronary events. *N Engl J Med*. 2007; 357: 2109–2122.
212. HPS3/TIMI55–REVEAL Collaborative Group. Effects of anacetrapib in patients with atherosclerotic vascular disease. *N Engl J Med* 2017; 377: 1217–1227.
213. Zhou J, Zhang Q, Wang Y, Gao P, Chen D. The effect and safety of anacetrapib in the treatment of dyslipidemia: a systematic review and meta-analysis. *Postgrad Med* 2018; 130: 129–136.
214. Vasan RS, Pencina MJ, Robins SJ, Zachariah JP, Kaur G, D’Agostino RB, et al. Association of circulating cholesteryl ester transfer protein activity with incidence of cardiovascular disease in the community. *Circulation* 2009; 120: 2414–2420.
215. Corsetti JP, Ryan D, Rainwater DL, Moss AJ, Zareba W, Sparks CE. Cholesteryl ester transfer protein polymorphism (TaqIB) associates with risk in postinfarction patients with high C-reactive protein and high-density lipoprotein cholesterol levels. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2010; 30: 1657–1664.
216. Boekholdt SM, Kuivenhoven JA, Wareham NJ, Peters RJG, Jukema JW, Luben R, et al. Plasma levels of cholesteryl ester transfer protein and the risk of future coronary artery disease in apparently healthy men and women: the prospective EPIC (European Prospective Investigation into Cancer and nutrition)-Norfolk population study. *Circulation* 2004; 110: 1418–1423.

217. Borggreve SE, Hillege HL, Dallinga-Thie GM, De Jong PE, Wolffenbuttel BHR, Grobbee DE, et al. High plasma cholesteryl ester transfer protein levels may favour reduced incidence of cardiovascular events in men with low triglycerides. *Eur Heart J* 2007; 28: 1012–1018.
218. Niesor EJ, Magg C, Ogawa N, Okamoto H, Von Der Mark E, Matile H, et al. Modulating cholesteryl ester transfer protein activity maintains efficient pre- $\beta$ -HDL formation and increases reverse cholesterol transport. *J Lipid Res* 2010; 51: 3443–3454.
219. Corsetti JP, Ryan D, Moss AJ, Zareba W, Sparks CE. NAD(P)H oxidase polymorphism (C242T) and high HDL cholesterol associate with recurrent coronary events in postinfarction patients. *Atherosclerosis* 2008; 196: 461–468.
220. Schlitt A, Blankenberg S, Bickel C, Lackner KJ, Heine GH, Buerke M, et al. PLTP activity is a risk factor for subsequent cardiovascular events in CAD patients under statin therapy: the AtheroGene Study. *J Lipid Res* 2009; 50: 723–729.
221. Schlitt A, Bickel C, Thumma P, Blankenberg S, Rupprecht HJ, Meyer J, et al. High plasma phospholipid transfer protein levels as a risk factor for coronary artery disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2003; 23: 1857–1862.
222. de Vries R, Dallinga-Thie GM, Smit AJ, Wolffenbuttel BHR, Van Tol A, Dullaart RPF. Elevated plasma phospholipid transfer protein activity is a determinant of carotid intima-media thickness in type 2 diabetes mellitus. *Diabetologia* 2006; 49: 398–404.
223. Cavusoglu E, Marmur JD, Chhabra S, Chopra V, Eng C, Jiang XC. Relation of baseline plasma phospholipid transfer protein (PLTP) activity to left ventricular systolic dysfunction in patients referred for coronary angiography. *Atherosclerosis* 2009; 207: 261–265.
224. Cavusoglu E, Marmur JD, Chhabra S, Hojjati MR, Yanamadala S, Chopra V, et al. Elevated baseline plasma phospholipid protein (PLTP) levels are an independent predictor of long-term all-cause mortality in patients with diabetes mellitus and known or suspected coronary artery disease. *Atherosclerosis* 2015; 239: 503–508.
225. Vergeer M, Boekholdt SM, Sandhu MS, Ricketts SL, Wareham NJ, Brown MJ, et al. Genetic variation at the phospholipid transfer protein locus affects its activity and high-density lipoprotein size and is a novel marker of cardiovascular disease susceptibility. *Circulation* 2010; 122: 470–477.
226. Dullaart RPF, van Tol A, Dallinga-Thie GM. Phospholipid transfer protein, an emerging cardiometabolic risk marker: Is it time to intervene? *Atherosclerosis* 2013; 228: 38–41.
227. <https://www.mp.pl/interna/table/B16.16.1-4>.
228. <https://www.poruszycswiat.pl>.
229. <http://www.4s-dawn.com/HAQ/HAQ-DI.html>.
230. Matsui T, Kuga Y, Kaneko A, Nishino J, Eto Y, Chiba N, et al. Disease Activity Score 28 (DAS28) using C-reactive protein underestimates disease activity and overestimates EULAR response criteria compared with DAS28 using erythrocyte sedimentation rate in a large observational cohort of rheumatoid arthritis patients in Japan. *Ann Rheum Dis* 2007; 66: 1221–1226.

231. Wells G, Becker JC, Teng J, Dougados M, Schiff M, Smolen J, et al. Validation of the 28-joint Disease Activity Score (DAS28) and European League Against Rheumatism response criteria based on C-reactive protein against disease progression in patients with rheumatoid arthritis, and comparison with the DAS28 based on erythrocyte sedimentation rate. *Ann Rheum Dis* 2009; 68: 954–960.
232. Mach F, Baigent C, Catapano AL, Koskina KC, Casula M, Badimon L, et al. 2019 ESC/EAS guidelines for the management of dyslipidaemias: lipid modification to reduce cardiovascular risk. *Atherosclerosis* 2019; 290: 140–205.
233. 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; 71: 1426–1436.
234. Fernández-Ortiz AM, Ortiz AM, Pérez S, Toledano E, Abásolo L, González-Gay MA, et al. Effects of disease activity on lipoprotein levels in patients with early arthritis: can oxidized LDL cholesterol explain the lipid paradox theory? *Arthritis Res Ther* 2020; 22: 213.
235. Russo GT, Horvath K V., Di Benedetto A, Giandalia A, Cucinotta D, Asztalos B. Influence of menopause and cholesteryl ester transfer protein (CETP) TaqIB polymorphism on lipid profile and HDL subpopulations distribution in women with and without type 2 diabetes. *Atherosclerosis* 2010; 210: 294–301.
236. Palmisano BT, Le TD, Zhu L, Lee YK, Stafford JM. Cholesteryl ester transfer protein alters liver and plasma triglyceride metabolism through two liver networks in female mice. *J Lipid Res* 2016; 57: 1541–1551.
237. Palmisano BT, Anozie U, Yu S, Neuman JC, Zhu L, Edington EM, et al. Cholesteryl ester transfer protein impairs triglyceride clearance via androgen receptor in male mice. *Lipids* 2021; 56: 17–29.
238. Ronda N, Favari E, Borghi MO, Ingegnoli F, Gerosa M, Chighizola C, et al. Impaired serum cholesterol efflux capacity in rheumatoid arthritis and systemic lupus erythematosus. *Ann Rheum Dis* 2014; 73: 609–614.
239. Reilly MP, McGillicuddy FC, de la Moya ML, Hinkle CC, Joshi MR, Chiquoine EH, et al. Inflammation impairs reverse cholesterol transport in vivo. *Circulation* 2009; 119: 1135–1145.
240. Pahl M V., Ni Z, Sepassi L, Moradi H, Vaziri ND. Plasma phospholipid transfer protein, cholesteryl ester transfer protein and lecithin:cholesterol acyltransferase in end-stage renal disease (ESRD). *Nephrol Dial Transplant* 2009; 24: 2541–2546.
241. Feingold KR, Grunfeld C. The effect of inflammation and infection on lipids and lipoproteins. [Updated 2019 Jan 8]. In: Feingold KR, Anawalt B, Boyce A, et al. *Endotext*. South Dartmouth (MA): MDText.com, Inc.; 2000.
242. Khovidhunkit W, Kim MS, Memon RA, Shigenaga JK, Moser AH, Feingold KR, et al. Effects of infection and inflammation on lipid and lipoprotein metabolism: Mechanisms and consequences to the host. *J. Lipid Res* 2004; 45: 1169–1196.



243. Feingold KR, Grunfeld C. The acute phase response inhibits reverse cholesterol transport. *J Lipid Res* 2010; 51: 682–684.
244. Charles-Schoeman C, Lee YY, Grijalva V, Amjadi S, FitzGerald J, Ranganath VK, et al. Cholesterol efflux by high density lipoproteins is impaired in patients with active rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 2012; 71: 1157–1162.
245. Zimetti F, Vuono S De, Gomaraschi M, Adorni MP, Favari E, Ronda N, et al. Plasma cholesterol homeostasis, HDL remodeling and function during the acute phase reaction. *J Lipid Res* 2017; 58: 2051–2060.
246. Pussinen PJ, Mattila K. Periodontal infections and atherosclerosis: Mere associations? *Curr Opin Lipidol* 2004; 15: 583–588.
247. Isik A, Koca SS, Ustundag B, Celik H, Yildirim A. Paraoxonase and arylesterase levels in rheumatoid arthritis. *Clin Rheumatol* 2007; 26: 342–348.
248. Tanimoto N, Kumon Y, Suehiro T, Ohkubo S, Ikeda Y, Nishiya K, et al. Serum paraoxonase activity decreases in rheumatoid arthritis. *Life Sci* 2003; 72: 2877–2885.
249. Hahn BH, Grossman J, Chen W, McMahan M. The pathogenesis of atherosclerosis in autoimmune rheumatic diseases: roles of inflammation and dyslipidemia. *J Autoimmun* 2007; 28: 69–75.
250. Ehnholm C, Aho K, Huttunen JK, Kostianen E, Mattila K, Pakkarainen J, et al. Effect of interferon on plasma lipoproteins and on the activity of postheparin plasma lipases. *Arteriosclerosis* 1982; 2: 68–73.
251. de Carvalho JF, Bonfá E, Borba EF. Systemic lupus erythematosus and “lupus dyslipoproteinemia”. *Autoimmun Rev* 2008; 7: 246–250.
252. Wållberg-Jonsson S, Dahlén G, Johnson O, Olivecrona G, Rantapää-Dahlqvist S. Lipoprotein lipase in relation to inflammatory activity in rheumatoid arthritis. *J Intern Med* 1996; 240: 373–380.
253. Bielicki JK, Forte TM, McCall MR. Minimally oxidized LDL is a potent inhibitor of lecithin:cholesterol acyltransferase activity. *J Lipid Res* 1996; 37: 1012–1021.
254. Zannis VI, Chroni A, Krieger M. Role of apoA-I, ABCA1, LCAT, and SR-BI in the biogenesis of HDL. *J Mol Med* 2006; 84: 276–294.
255. Hardardóttir I, Moser AH, Fuller J, Fielding C, Feingold K, Grünfeld C. Endotoxin and cytokines decrease serum levels and extra hepatic protein and mRNA levels of cholesteryl ester transfer protein in Syrian hamsters. *J Clin Invest* 1996; 97: 2585–2592.
256. Masucci-Magoulas L, Moulin P, Jiang XC, Richardson H, Walsh A, Breslow JL, et al. Decreased cholesteryl ester transfer protein (CETP) mRNA and protein and increased high density lipoprotein following lipopolysaccharide administration in human CETP transgenic mice. *J Clin Invest* 1995; 95: 1587–1594.
257. Ly H, Francone OL, Shigenaga JK, Moser AH, Grunfeld C, Feingold KR. Endotoxin and TNF lead to reduced plasma LCAT activity and decreased hepatic LCAT mRNA levels in Syrian hamsters.

- J Lipid Res 1995; 36: 1254–1263.
258. Feingold KR, Hardardóttir I, Grunfeld C. Beneficial effects of cytokine induced hyperlipidemia. *Z Ernährungswiss* 1998; 37: 66–74.
259. Dusuel A, Deckert V, Pais de Barros JP, van Dongen K, Choubley H, Charron E, et al. Human CETP lacks lipopolysaccharide transfer activity, but worsens inflammation and sepsis outcomes in mice. *J Lipid Res* 2020 [Online ahead of print]. doi: 10.1194/jlr.RA120000704.
260. Esteve E, Ricart W, Fernández-Real JM. Dyslipidemia and inflammation: an evolutionary conserved mechanism. *Clin Nutr* 2005; 24: 16–31.
261. Ross R. Atherosclerosis - an inflammatory disease. *N Engl J Med* 1999; 340: 115–126.
262. Oram JF, Wolfbauer G, Vaughan AM, Tang C, Albers JJ. Phospholipid transfer protein interacts with and stabilizes ATP-binding cassette transporter A1 and enhances cholesterol efflux from cells. *J Biol Chem* 2003; 278: 52379–52385.
263. Dragoljevic D, Kraakman MJ, Nagareddy PR, Ngo D, Shihata W, Kammoun HL, et al. Defective cholesterol metabolism in haematopoietic stem cells promotes monocyte-driven atherosclerosis in rheumatoid arthritis. *Eur Heart J* 2018; 39: 2158–2167.
264. 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* 2013; 238: 1192–1197.
265. Westerterp M, Fotakis P, Ouimet M, Bochem AE, Zhang H, Molusky MM, et al. Cholesterol efflux pathways suppress inflammasome activation, NETosis, and atherogenesis. *Circulation* 2018; 138: 898–912.
266. Reiss AB, Coomes E, Chan ESL. Methotrexate in atherogenesis and cholesterol metabolism. *Cholesterol* 2011; 2011: 503028. doi: 10.1155/2011/503028.
267. Rodrigues C, Bonfá E, Carvalho J. Review on anti-lipoprotein lipase antibodies. *Clin Chim Acta* 2010; 411: 1603–1605.
268. Reichlin M, Fesmire J, Quintero-Del-Rio AI, Wolfson-Reichlin M. Autoantibodies to lipoprotein lipase and dyslipidemia in systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 2002; 46: 2957–2963.
269. Kodera M, Hayakawa I, Komura K, Yanaba K, Hasegawa M, Takehara K, et al. Anti-lipoprotein lipase antibody in systemic sclerosis: association with elevated serum triglyceride concentrations. *J Rheumatol* 2005; 32: 629–636.
270. De Carvalho JF, Borba EF, Viana VST, Bueno C, Leon EP, Bonfá E. Anti-lipoprotein lipase antibodies: a new player in the complex atherosclerotic process in systemic lupus erythematosus? *Arthritis Rheum* 2004; 50: 3610–3615.
271. Pereira I, Laurindo I, Burlingame R, Anjos L, Viana V, Leon E, et al. Auto-antibodies do not influence development of atherosclerotic plaques in rheumatoid arthritis. *Jt Bone Spine* 2008; 75: 416–421.
272. Reichlin M. Serological correlations with nephritis in systemic lupus erythematosus. *Clin*

Immunol 2005; 117: 12–14.

273. Fesmire J, Wolfson-Reichlin M, Reichlin M. Effects of autoimmune antibodies anti-lipoprotein lipase, anti-low density lipoprotein, and anti-oxidized low density lipoprotein on lipid metabolism and atherosclerosis in systemic lupus erythematosus. *Rev Bras Reumatol* 2010; 50: 545–551.

274. Takahashi S, Hiromura K, Tsukida M, Ohishi Y, Hamatani H, Sakurai N, et al. Nephrotic syndrome caused by immune-mediated acquired LCAT deficiency. *J Am Soc Nephrol* 2013; 24: 1305–1312.

275. Akiko T, Okura T, Nagao T, Kukida M, Enomoto D, Miyoshi K, et al. A case of acquired lecithin:cholesterol acyltransferase deficiency with sarcoidosis that remitted spontaneously. *CEN Case Reports* 2016; 5: 192–196.

276. Shoji K, Morita H, Ishigaki Y, Rivard CJ, Takayasu M, Nakayama K, et al. Lecithin-cholesterol acyltransferase (LCAT) deficiency without mutations in the coding sequence: a case report and literature review. *Clin Nephrol* 2011; 76: 323–329.

277. Simonelli S, Gianazza E, Mombelli G, Bondioli A, Ferraro G, Penco S, et al. Severe high-density lipoprotein deficiency associated with autoantibodies against lecithin: cholesterol acyltransferase in non-Hodgkin lymphoma. *Arch Intern Med* 2012; 172: 179–181.

278. Ishibashi R, Takemoto M, Tsurutani Y, Kuroda M, Ogawa M, Wakabayashi H, et al. Immune-mediated acquired lecithin-cholesterol acyltransferase deficiency: a case report and literature review. *J Clin Lipidol* 2018; 12: 888–897.

279. Calabresi L, Simonelli S, Conca P, Busnach G, Cabibbe M, Gesualdo L, et al. Acquired lecithin: cholesterol acyltransferase deficiency as a major factor in lowering plasma HDL levels in chronic kidney disease. *J Intern Med* 2015; 277: 552–561.

280. de Vries R, Borggreve SE, Dullaart RPF. Role of lipases, lecithin:cholesterol acyltransferase and cholesteryl ester transfer protein in abnormal high density lipoprotein metabolism in insulin resistance and type 2 diabetes mellitus. *Clin Lab* 2003; 49: 601–613.

281. Borggreve SE, De Vries R, Dullaart RPF. Alterations in high-density lipoprotein metabolism and reverse cholesterol transport in insulin resistance and type 2 diabetes mellitus: role of lipolytic enzymes, lecithin:cholesterol acyltransferase and lipid transfer proteins. *Eur J Clin Invest* 2003; 33: 1051–1069.

282. Beentjes JAM, Van Tol A, Sluiter WJ, Dullaart RPF. Low plasma lecithin:cholesterol acyltransferase and lipid transfer protein activities in growth hormone deficient and acromegalic men: role in altered high density lipoproteins. *Atherosclerosis* 2000; 153: 491–498.

## 8. Streszczenie

### 8.1 Streszczenie w języku polskim

**Wprowadzenie:** Reumatoidalne zapalenie stawów (RZS) związane jest z przewlekłym stanem zapalnym oraz zwiększonym ryzykiem sercowo-naczyniowym. Pomimo zmniejszonego stężenia cholesterolu obserwowanego w aktywnym RZS, wiąże się ono ze szczególnie dużym ryzykiem incydentów sercowo-naczyniowych i zgonów, co określa się mianem paradoksu lipidowego. Rola białek odpowiedzialnych za metabolizm lipidów w zaburzeniach lipidowych i aktywności zapalnej u chorych na RZS nie została dotychczas dobrze poznana. **Cel:** Celem pracy było określenie, czy białko transportujące estry cholesterolu (CETP) i białko transportujące fosfolipidy (PLTP) oraz lipaza lipoproteinowa (LPL) i acylotransferaza lecytynowo-cholesterolowa (LCAT) związane są z występowaniem RZS oraz z aktywnością stanu zapalnego i zaburzeniami lipidowymi u pacjentów z ustalonym rozpoznaniem tej choroby. **Materiał i metody:** W badaniu udział wzięło 97 chorych na RZS i 97 zdrowych osób, dobranych do pacjentów z grupy badanej pod względem płci, wieku i BMI. Stężenia lipidów oznaczono przy pomocy metod enzymatycznych. Aktywność CETP i PLTP zbadano przy pomocy spektrofluorymetrii, a stężenie LPL i LCAT przy pomocy metod immunoenzymatycznych. U chorych na RZS określono aktywność choroby przy pomocy wskaźnika DAS28-OB. **Wyniki:** U chorych z rozpoznaniem RZS wykazano istotnie mniejszą aktywność CETP i PLTP oraz stężenie LPL i LCAT w porównaniu do grupy kontrolnej ( $p < 0,001$ ). W analizie regresji wielorakiej, u kobiet z grupy badanej, stwierdzono występowanie zależności pomiędzy CETP i TC ( $\beta = 0,4421$ ,  $p < 0,001$ ); CETP i LDL-C ( $\beta = 0,4093$ ,  $p < 0,001$ ) oraz CETP i non-HDL-C ( $\beta = 0,4295$ ,  $p < 0,001$ ). ( $p < 0,001$ ). W analizie krzywych ROC stwierdzono dużą czułość (99-100%), swoistość (93-98%) i dokładność (96-99%) LCAT, CETP i PLTP w różnicowaniu pomiędzy grupą chorych na RZS a grupą osób zdrowych (AUC<sub>CETP</sub> = 0,986 (95% CI 0,971-1,000;  $p < 0,001$ ); AUC<sub>PLTP</sub> = 0,974 (95% CI 0,952-0,997;  $p < 0,001$ )). Z kolei w analizie wieloczynnikowej z uwzględnieniem wpływu czynników zakłócających wykazano zależność LCAT > Q75 od dużej/umiarkowanej aktywności choroby (OR = 0,465, 95% CI 0,222-0,976,  $p < 0,05$ ). **Wnioski:** U chorych na RZS dochodzi do zaburzeń homeostazy białek odpowiedzialnych za metabolizm lipidów. Zmniejszenie aktywności CETP może odpowiadać za zmniejszenie stężenia cholesterolu LDL i non-HDL u chorych z aktywnym RZS i tzw. paradoks lipidowy. CETP, PLTP i LCAT mogą być kandydatami na wskaźniki występowania RZS. LCAT może dodatkowo być kandydatem na białkowy marker aktywności RZS, co wymaga dalszych badań.

**Słowa kluczowe:** RZS, aktywność choroby, CETP, PLTP, LPL, LCAT

## 8.2 Abstract (streszczenie w języku angielskim)

**Background:** Rheumatoid arthritis (RA) is associated with chronic inflammation and increased cardiovascular risk. Despite decreased cholesterol levels observed in active RA, it has been associated with an especially high risk of cardiovascular events and mortality, which is called the lipid paradox. The role of proteins responsible for lipid metabolism in lipid disturbances and disease activity in RA patients has not yet been established. **Aim:** The aim of the study was to determine whether cholesteryl ester transfer protein (CETP), phospholipid transfer protein (PLTP), lipoprotein lipase (LPL) and lecithin:cholesterol acyltransferase (LCAT) may be associated with disease activity and lipid pattern disturbances in patients with an established diagnosis of RA. **Methods:** Ninety-seven patients diagnosed with RA and 97 sex-, age- and BMI-matched healthy controls were included in the study. Lipids concentrations were determined enzymatically. CETP and PLTP activities were measured spectrofluorimetrically. LPL and LCAT concentrations were measured immunoenzymatically. Disease activity was assessed in RA patients using DAS28-OB. **Results:** Patients diagnosed with RA displayed lower CETP, PLTP, LPL and LCAT in comparison to the control group ( $p < 0,001$ ). In multiple regression analysis associations between CETP and TC ( $\beta = 0,4421$ ,  $p < 0,001$ ); CETP and LDL-C ( $\beta = 0,4093$ ,  $p < 0,001$ ), as well as CETP and non-HDL-C ( $\beta = 0,4295$ ,  $p < 0,001$ ) were found in women from the control group. In ROC analysis, LCAT, CETP and PLTP had high sensitivity (99-100%), specificity (93-98%) and accuracy (96-99%) in distinguishing between RA patients and controls (( $AUC_{CETP} = 0,986$  (95% CI 0,971-1,000;  $p < 0,001$ );  $AUC_{PLTP} = 0,974$  (95% CI 0,952-0,997;  $p < 0,001$ )). In multivariable regression analysis adjusted for confounding factors, association between LCAT  $> Q75$  and high/moderate RA activity was shown (OR = 0,465, 95% CI 0,222-0,976,  $p < 0,05$ ). **Conclusion:** In patients with RA, homeostasis of proteins associated with lipid metabolism is disrupted. Low CETP activity may be responsible for low LDL and non-HDL and "lipid paradox" in patients with active RA. CETP, PLTP i LCAT may be candidate markers of RA incidence. LCAT may also be a candidate marker of RA activity, which warrants further study.

**Keywords:** RA, disease activity, CETP, PLTP, LPL, LCAT

## 9. Wykaz skrótów

ABC - *ang. adenosine triphosphate (ATP)-binding cassette*, kasetta transportująca trójfosforan adenozyne

ABC-1 - *ang. adenosine triphosphate (ATP)-binding cassette transporter-1*, kasetta transportująca trójfosforan adenozyne 1

ABCA1 - *ang. adenosine triphosphate (ATP) binding cassette A1*, białko A1 wiążące trójfosforany adenozyne

ABCG1 - *ang. adenosine triphosphate (ATP) binding cassette G1*, białko G1 wiążące trójfosforany adenozyne

ACC - *ang. accuracy*, dokładność

ACR - *ang. American College of Rheumatology*, Amerykańskie Kolegium Reumatologiczne

$\alpha$ -T -  $\alpha$ -tokoferol

APC - *ang. antigen presenting cell*, komórka prezentująca antygen

apoA1 - apolipoproteiny A1

apoB - apolipoproteiny B

apoE - apolipoproteiny E

apoJ - apolipoproteiny J

AUC - *ang. area under curve*, pole pod krzywą

BCR - *ang. B cell receptor*, receptor dla limfocytów B

BLp - *ang. apoB-containing lipoprotein*, lipoproteiny zawierające apoB

BMI - *ang. body-mass index*, wskaźnik masy ciała

BPI - *ang. bactericidal/permeability-increasing protein*, białko bakteriobójcze/zwiększające przepuszczalność

CAC - *ang. coronary artery calcium score*, (tomograficzny) wskaźnik uwapnienia tętnic wieńcowych

CDAI - *ang. clinical disease activity index*, kliniczny wskaźnik aktywności choroby

CE - *ang. cholesteryl ester*, estry cholesterolu

CEC - *ang. cholesterol efflux capacity*, zdolność do odbierania cholesterolu z komórek

CETP - *ang. cholesteryl ester transfer protein*, białko transportujące estry cholesterolu

CI - *ang. confidence interval*, przedział ufności

CRP - *ang. C-reactive protein*, białko C-reaktywne

DAS28 - *ang. disease activity score 28*, wskaźnik aktywności choroby 28

EDTA - *ang. ethylene diamine tetraacetic*, kwas etylenodiaminotetraoctowy

ERS-RA - *ang. expanded cardiovascular risk prediction score for rheumatoid arthritis*, rozszerzony wskaźnik predykcyjny ryzyka sercowo-naczyniowego dla chorych na reumatoidalne zapalenie stawów

EULAR - *ang. European League Against Rheumatism*, Europejska Liga Przeciw Reumatyzmowi

FC - *ang. free (non-esterified) cholesterol*, wolny (niezestryfikowany) cholesterol

FRS - *ang. Framingham risk score*, wskaźnik ryzyka [sercowo-naczyniowego] Framingham

GKS - glikokortykosteroidy

GM-CSF - *ang. granulocyte-macrophage colony-stimulating factor*, czynnik stymulujący tworzenie kolonii granulocytów i makrofagów

HAQ - *ang. health assessment questionnaire*, kwestionariusz oceny zdrowia

HDL - *ang. high-density lipoprotein*, lipoproteiny o dużej gęstości

HDL-C - *ang. high-density lipoprotein cholesterol*, cholesterol HDL

HDL-CE - *ang. HDL-cholesteryl ester*, estry cholesterolu HDL

HL - *ang. hepatic lipase*, lipaza wątrobowa

HLA-DRB1\*01 - *ang. human leukocyte antigens DRB1\*01*, ludzkie antygeny leukocytarne DRB1\*01

HR - *ang. hazard ratio*, współczynnik ryzyka

IDL - *ang. intermediate density lipoprotein*, lipoproteiny o pośredniej gęstości

IFN- $\gamma$  - interferon gamma

IGF-1 - *ang. insulin-like growth factor 1*, insulinopodobny czynnik wzrostu 1

IL - interleukina

IP-10 - *ang. interferon gamma-induced protein 10*, białko 10 indukowane przez interferon gamma

JAK2/STAT3 - *ang. Janus kinase 2/signal transducer and activator of transcription 3*, kinaza janusowa 2/białko przekazujące sygnał i aktywujące transkrypcję

LBP - *ang. lipopolysaccharide binding protein*, białko wiążące lipopolisacharyd

LBS - liczba bolesnych stawów

LCAT - *ang. lecithin: cholesterol acetyltransferase*, acylotransferaza lecytinowo-cholesterolowa

LDL - *ang. low-density lipoprotein*, lipoproteiny o małej gęstości

LDL-C - *ang. low-density lipoprotein cholesterol*, cholesterol LDL

LDLR - *ang. LDL receptor*, receptor dla LDL

LEU - liczba leukocytów

LMPCh - leki modyfikujące przebieg choroby

LOS - liczna obrzękniętych stawów

LPL - lipaza lipoproteinowa

LPS - lipo polisacharyd

LRP - *ang. LDL receptor-like protein*, białko podobne do receptora LDL

LT- $\alpha$  - limfotoksyna alfa

LYMPH – liczba limfocytów

MBDA - *ang. multi-biomarker disease activity*, panel markerów aktywności choroby

MCP-1- *ang. monocyte chemoattractant protein-1*, białko chemotaktyczne monocytów 1

MHC - *ang. major histocompatibility complex*, główny układ zgodności tkankowej

MMP - *ang. matrix metalloproteinase*, metaloproteinaza macierzy pozakomórkowej

NEU – liczba neutrofilów

NF $\kappa$ B - *ang. nuclear factor kappa-B*, czynnik jądrowy kappa B

NK - *ang. natural killer*, nieswoiste komórki limfoidalne, „urodzeni” zabójcy

NKT - *ang. natural killer T-cells*, limfocyty NKT

NLPZ - niesterydowe leki przeciwzapalne

Non-HDL-C – *ang. non-HDL cholesterol*, cholesterol non-HDL

NPV - *ang. negative predictive value*, wartość predykcyjna wyniku ujemnego

NT - nadciśnienie tętnicze

OB - odczyn Biernackiego, szybkość opadania erytrocytów

OR - *ang. odds ratio*, iloraz szans

Ox-LDL - *ang. oxidized low density lipoprotein*, utlenione lipoproteiny o małej gęstości

PAF-AH - *ang. platelet-activating factor-acetylhydrolase*, acetyl-hydrolaza czynnika aktywującego płytki krwi

PChN - przewlekła choroba nerek

PLTP - *ang. phospholipid transfer protein*, białko transportujące fosfolipidy

PON-1 - paraoksonaza 1

PPV - *ang. positive predictive value*, wartość predykcyjna wyniku dodatniego

pre $\beta$ -HDL – frakcja pre $\beta$  HDL

QRisk - *ang. QRESEARCH cardiovascular risk algorithm*, algorytm ryzyka sercowo-naczyniowego QRESEARCH

RANKL - *ang. receptor activator for nuclear factor  $\kappa$  B ligand*, ligand aktywatora receptora jądrowego czynnika  $\kappa$  B



RANTES - *ang. regulated on activation, normal T-cell expressed and secreted*, inaczej chemokina CCL5

RAPID3 - *ang. routine assessment of patient index data 3*, rutynowa ocena indeksowanych danych pacjenta, wersja 3

ROC - *ang. receiver operating characteristic*, wykres krzywej ROC

RZS - reumatoidalne zapalenie stawów

SAA - surowiczy amyloid A

SBP - *ang. systolic blood pressure*, skurczowe ciśnienie tętnicze

SCORE - *ang. systemic coronary risk evaluation*, skala oceny ryzyka sercowo-naczyniowego

SD - *ang. standard deviation*, odchylenie standardowe

SDAI - *ang. simplified activity index*, uproszczony wskaźnik aktywności choroby

SD-LDL - *ang. small, dense LDL*, małe, gęste LDL

sPLA2 - *ang. secretory phospholipase A2*, wydzielnicza fosfolipaza A2

SRB1 - *ang. scavenger receptor class B type 1*, receptor zmiatający klasy B typu 1

TARGET – *ang. Treatments Against RA and Effects on FDG-PET/CT*, badanie kliniczne

TC - *ang. total cholesterol*, cholesterol całkowity

TCR - *ang. T cell receptor*, receptor komórek T

TNF - *ang. tumor necrosis factor*, czynnik martwicy nowotworów

TNF- $\alpha$  - *ang. tumor necrosis factor alpha*, czynnik martwicy nowotworów alfa

TNF-R1 - *ang. tumor necrosis factor receptor 1*, receptor czynnika martwicy nowotworów 1

TLR - *ang. toll-like receptor*, receptor „toll-like”

TRAIL - *ang. tumor necrosis factor-related apoptosis inducing-ligand*, ligand indukujący apoptozę związany z czynnikiem martwicy nowotworów

Treg - komórki T regulatorowe

TRU - toczeń rumieniowaty układowy

VAS - *ang. visual analogue scale*, wizualna skala analogowa

VCAM - *ang. vascular cell adhesion molecule 1*, cząsteczka adhezyjna komórek naczyniowych 1

VLDL - *ang. very low density lipoprotein*, lipoproteiny o bardzo małej gęstości

## 10. Wykaz tabel

Tabela 1. Charakterystyka wskaźników ryzyka sercowo-naczyniowego stosowanych u chorych na RZS [27,28,32,34–36,38]

Tabela 2. Zmiany CRP i lipidogramu zależnie od fazy i leczenia RZS [49]

Tabela 3. Związek adipocytokin z miażdżycą i RZS [105]

Tabela 4. Wpływ CETP na rozwój miażdżycy [149]

Tabela 5. Funkcje PLTP [169]

Tabela 6. Charakterystyka demograficzna grupy badanej

Tabela 7. Dane dotyczące statusu serologicznego w grupie badanej (RZS seropozytywne – z obecnością czynnika reumatoidalnego i/lub przeciwciał antytrulinowych; RZS seronegatywne – bez obecności czynnika reumatoidalnego ani przeciwciał antytrulinowych)

Tabela 8. Dane dotyczące czasu trwania i wieku w momencie rozpoznania choroby podstawowej w grupie badanej

Tabela 9. Charakterystyka demograficzna grupy kontrolnej

Tabela 10. Struktura demograficzna grupy badanej i kontrolnej

Tabela 11. Wskaźnik masy ciała (BMI) w grupie badanej i kontrolnej

Tabela 12. Częstość stosowania używek oraz występowania nieprawidłowego wskaźnika masy ciała (BMI) i zaburzeń lipidowych w grupie badanej i kontrolnej

Tabela 13. Częstość występowania zaburzeń lipidowych z podziałem na płeć w grupie badanej i kontrolnej

Tabela 14. Stężenia lipidów w grupie badanej i kontrolnej

Tabela 15. Aktywność białek transportujących lipidy w grupie badanej i kontrolnej

Tabela 16. Stężenie LPL i LCAT u kobiet w grupie badanej i kontrolnej

Tabela 17. Współczynniki zależności liniowych pomiędzy aktywnością CETP a stężeniem lipidów w grupie badanej i kontrolnej

Tabela 18. Współczynniki zależności liniowych pomiędzy aktywnością PLTP a stężeniem lipidów w grupie badanej i kontrolnej

Tabela 19. Współczynniki zależności liniowych między stężeniem LPL a stężeniem lipidów oraz wskaźnikami ryzyka miażdżycy u kobiet w grupie badanej i kontrolnej

Tabela 20. Współczynniki zależności liniowych między stężeniem LCAT a stężeniem lipidów oraz wskaźnikami ryzyka miażdżycy u kobiet w grupie badanej i kontrolnej

Tabela 21. Współczynniki korelacji liniowych pomiędzy oznaczanymi białkami w grupie badanej

Tabela 22. Współczynniki korelacji liniowych pomiędzy oznaczanymi białkami w grupie kontrolnej

Tabela 23. Parametry procesu zapalnego w grupie badanej i kontrolnej

Tabela 24. Współczynniki zależności liniowych pomiędzy oznaczanymi białkami a parametrami procesu zapalnego w obu grupach

Tabela 25. Liczba chorych w podgrupach określonych zależnie od aktywności choroby

Tabela 26. Wartość DAS28-OB w grupie badanej w zależności od płci

Tabela 27. Wartość DAS28-OB w grupie badanej w zależności postaci RZS

Tabela 28. Stężenia lipidów w grupie badanej u chorych z DAS28-OB  $< i \geq 3,2$

Tabela 29. Aktywność CETP i PLTP oraz stężenie LPL i LCAT u chorych z DAS28-OB  $< i \geq 3,2$

Tabela 30. Współczynniki korelacji liniowych pomiędzy aktywnością CETP a parametrami związanymi z aktywnością choroby z uwzględnieniem płci

Tabela 31. Współczynniki korelacji liniowych pomiędzy aktywnością CETP a parametrami związanymi z aktywnością choroby z uwzględnieniem serologicznej postaci RZS

Tabela 32. Współczynniki korelacji liniowych pomiędzy aktywnością PLTP a parametrami związanymi z aktywnością RZS z uwzględnieniem płci

Tabela 33. Współczynniki korelacji liniowych pomiędzy aktywnością PLTP a parametrami związanymi z aktywnością choroby z uwzględnieniem serologicznej postaci RZS

Tabela 34. Współczynniki korelacji liniowych pomiędzy stężeniem LPL a parametrami związanymi z aktywnością choroby z uwzględnieniem serologicznej postaci RZS

Tabela 35. Współczynniki korelacji liniowych pomiędzy stężeniem LCAT a parametrami związanymi z aktywnością choroby z uwzględnieniem serologicznej postaci RZS

Tabela 36. Czulość, swoistość, dokładność i punkty odcięcia dla aktywności CETP i PLTP oraz stężeń LCAT i LPL w różnicowaniu pomiędzy osobami zdrowymi i chorymi na RZS

Tabela 37. Czulość, swoistość, dokładność i punkt odcięcia dla stężeń LCAT w różnicowaniu pomiędzy dużą/umiarkowaną aktywnością oraz małą aktywnością/remisją RZS

## 11. Wykaz rycin

Rycina 1. Odwrotna zależność pomiędzy stężeniem CRP i lipidów [39]

Rycina 2. Zależność pomiędzy ryzykiem sercowo-naczyniowym a stężeniem cholesterolu całkowitego lub LDL u chorych na RZS; zacienione obszary oznaczają 95% CI [50]

Rycina 3. Czynniki ryzyka sercowo-naczyniowego w RZS [39,54]

Rycina 4. Związek RZS z miażdżycą [38]

Rycina 5. Mechanizmy immunologiczne biorące udział w patogenezie miażdżycy [88]

Rycina 6. Mechanizmy immunologiczne biorące udział w patogenezie RZS [89]

Rycina 7. Rola CETP w transporcie cholesterolu [148]

Rycina 8. PLTP i metabolizm lipoprotein

Rycina 9. Modulacja polaryzacji limfocytów T pomocniczych w kierunku prozapalnego fenotypu Th1 przez PLTP za pośrednictwem IL-18 [181]

Rycina 10. Zapalenie a zmiany jakościowe cząsteczki HDL [39]

Rycina 11. Rola CETP i PLTP w metabolizmie HDL [169]

Rycina 12. Potencjalne pozytywne i negatywne skutki inhibicji PLTP [172]

Rycina 13. Aktywność CETP w grupie badanej (B) oraz kontrolnej (K)

Rycina 14. Aktywność PLTP w grupie badanej (B) oraz kontrolnej (K)

Rycina 15. Stężenie LPL w grupie badanej (B) oraz kontrolnej (K)

Rycina 16. Stężenie LCAT w grupie badanej (B) oraz kontrolnej (K)

Rycina 17. CETP a TC w analizie regresji wielorakiej u kobiet z grupy badanej ( $\beta = 0,4421$ ,  $p < 0,001$ )

Rycina 18. CETP a LDL w analizie regresji wielorakiej u kobiet z grupy badanej ( $\beta = 0,4093$ ,  $p < 0,001$ )

Rycina 19. CETP a non-HDL-C w analizie regresji wielorakiej u kobiet z grupy badanej ( $\beta = 0,4295$ ,  $p < 0,001$ )

Rycina 20. Zależność między DAS28-OB i DAS28-CRP w grupie badanej w analizie regresji wielorakiej ( $\beta = 0,9461$ ,  $p < 0,001$ )

Rycina 21. CETP a DAS28-OB u kobiet ( $\beta = -0,2554$ ,  $p < 0,05$ )

Rycina 22. LCAT a DAS28-OB ( $\beta = -0,2812$ ,  $p < 0,05$ )

Rycina 23. PLTP a wartość DAS28-OB u chorych z CRP  $< 5$  mg/l oraz OB  $< 5$  mm/h ( $\beta = 0,4890$ ,  $p < 0,05$ )

Rycina 24. LPL a wartość DAS28-OB u chorych z CRP  $< 5$  mg/l oraz OB  $< 5$  mm/h ( $\beta = 0,5794$ ,  $p < 0,05$ )

Rycina 25. Krzywa ROC dla CETP jako wskaźnika RZS. AUC – ang. *area under curve*, pole pod krzywą ROC = 0,986 (95% CI 0,971-1,000;  $p < 0,001$ )

Rycina 26. Krzywa ROC dla PLTP jako wskaźnika RZS. AUC – ang. *area under curve*, pole pod krzywą ROC = 0,974 (95% CI 0,952-0,997;  $p < 0,001$ )

Rycina 27. Krzywa ROC dla LCAT jako wskaźnika RZS o dużej/umiarkowanej aktywności. AUC – ang. *area under curve*, pole pod krzywą ROC = 0,654 (95% CI 0,533-0,776;  $p < 0,05$ )

## 12. Załączniki

### 12.1 Kryteria RZS według EULAR i ACR z 2010 roku [227]

**Oceniana populacja** (u kogo należy przeprowadzić ocenę w kierunku RZS?): pacjenci, u których:

- 1) występuje klinicznie jawne zapalenie błony maziowej  $\geq 1$  stawu (obrzęk)
- 2) zapalenia błony maziowej nie można lepiej wyjaśnić inną chorobą<sup>a</sup>.

Poniższe kryteria są przeznaczone dla pacjentów ocenianych po raz pierwszy. Ponadto, jako chorych na RZS należy klasyfikować pacjentów z nadżerkami typowymi dla RZS<sup>b</sup> lub z długotrwałą chorobą (także nieaktywną [leczoną albo nieleczoną]), którzy wcześniej spełniali poniższe kryteria (o czym świadczą dane z historii choroby).

**Kryteria klasyfikacyjne RZS** (dodać liczbę punktów z każdej kategorii [A–D];

wynik  $\geq 6$  pkt = pewne rozpoznanie RZS)<sup>c</sup>

#### **A. zajęcie stawów<sup>d</sup>**

1 duży staw <sup>e</sup>	0 pkt
2–10 dużych stawów	1 pkt
1–3 małych stawów <sup>f</sup> (z zajęciem dużych stawów albo bez)	2 pkt
4–10 małych stawów (z zajęciem dużych stawów albo bez)	3 pkt
>10 stawów <sup>g</sup> (w tym $\geq 1$ mały staw)	5 pkt

#### **B. serologia (konieczny jest wynik $\geq 1$ testu)<sup>h</sup>**

RF i ACPA ujemne	0 pkt
RF lub ACPA obecne w niskim mianie	2 pkt
RF lub ACPA obecne w wysokim mianie	3 pkt

#### **C. wskaźniki ostrej fazy (konieczny jest wynik $\geq 1$ testu)**

stężenie CRP w normie i OB w normie	0 pkt
stężenie CRP zwiększone lub OB przyspieszone	1 pkt

#### **D. czas trwania objawów<sup>i</sup>**

<6 tyg.	0 pkt
$\geq 6$ tyg.	1 pkt

<sup>a</sup> Rozpoznanie różnicowe może obejmować takie choroby jak toczeń rumieniowaty układowy, łuszczycowe zapalenie stawów i dna.

<sup>b</sup> Nadżerki (zdefiniowane jako przerwanie ciągłości warstwy korowej kości) uwidocznione na RTG stawów rąk i stóp w  $\geq 3$  oddzielnych stawach spośród stawów międzypaliczkowych bliższych, śródrečno-paliczkowych, stawów nadgarstka (liczone jako 1 staw) oraz śródstopno-paliczkowych

<sup>c</sup> Pacjentów z wynikiem  $< 6$  pkt. nie klasyfikuje się jako chorych na RZS, ale mogą oni spełnić kryteria w późniejszym czasie (niekoniecznie jednocześnie), podczas kolejnej oceny.

<sup>d</sup> Zajęcie stawu oznacza obrzęk lub tkliwość w trakcie badania; można je potwierdzić, wykazując zapalenie błony maziowej za pomocą badań obrazowych. Nie uwzględnia się stawów międzypaliczkowych dalszych, stawu nadgarstkowo-śródrečznego I i stawu śródstopno-paliczkowego I (są one typowo zajęte w chorobie zwyrodnieniowej stawów).

<sup>e</sup> stawy: ramienny, łokciowy, biodrowy, kolanowy, skokowy

<sup>f</sup> stawy: śródrečno-paliczkowe, międzypaliczkowe bliższe, śródstopno-paliczkowe II–V, międzypaliczkowy kciuka i stawy nadgarstka

<sup>g</sup> Oprócz  $\geq 1$  małego stawu mogą być zajęte inne małe stawy, duże stawy lub stawy niewymienione jako małe lub duże (np. skroniowo-żuchwowy, barkowo-obończykowy, mostkowo-obończykowy itd).

<sup>h</sup> Wynik „ujemny” oznacza wartości (wyrażone w jednostkach międzynarodowych [IU]) nieprzekraczające górnej granicy normy (ggn) dla danego testu w danym laboratorium; „niskie miano” = wartości przekraczające ggn  $\leq 3$ -krotnie; „wysokie miano” = wartości przekraczające ggn  $> 3$ -krotnie.

<sup>i</sup> Podany przez pacjenta czas trwania podmiotowych lub przedmiotowych objawów zapalenia błony maziowej (np. ból, obrzęk, tkliwość) stawów zajętych klinicznie w chwili oceny pacjenta (niezależnie od tego, czy jest leczony).

ACPA – przeciwciała przeciwko cytrulinowanym peptydom, CRP – białko C-reaktywne, OB – odczyn Biernackiego, RF – czynnik reumatoidalny

---

## 12.2 Zgoda na udział w badaniu

### OŚWIADCZENIE BADANEGO

#### zgoda na udział w badaniu

Nazwisko i imię .....Data urodzenia.....

Adres zamieszkania.....

Temat badania: Ocena metabolizmu lipidów oraz roli białek CETP i PLTP zależnie od aktywności choroby u chorych z rozpoznany reumatoidalnym zapaleniem stawów.

Niniejszym oświadczam, że zostałem szczegółowo poinformowany/-a o celach i zasadach przeprowadzania badania, a także o spodziewanych korzyściach i ryzyku związanym z moim udziałem w badaniu.

Zostałem/-em poinformowany/-a o możliwości odstąpienia od udziału w badaniu na każdym jego etapie.

Potwierdzam, iż zostałem/-am poinformowany/-a o możliwości zadawania pytań prowadzącemu eksperyment celem uzyskania na nie odpowiedzi.

Wyrażam świadomą i dobrowolną zgodę na swój udział w badaniu.

.....  
Data i podpis badanego

.....  
Data i podpis badacza



## 12.3 Zgoda na przetwarzanie danych osobowych

### OŚWIADCZENIE BADANEGO zgoda na przetwarzanie danych osobowych

Nazwisko i imię .....Data urodzenia.....

Adres zamieszkania.....

Temat badania: Ocena metabolizmu lipidów oraz roli białek CETP i PLTP zależnie od aktywności choroby u chorych z rozpoznany reumatoidalnym zapaleniem stawów.

Niniejszym oświadczam, że zostałem szczegółowo poinformowany/-a o celach i zasadach przeprowadzania badania, a także o spodziewanych korzyściach i ryzyku związanym z moim udziałem w badaniu.

Wyrażam świadomą i dobrowolną zgodę na przetwarzanie moich danych osobowych w związku z moim udziałem w badaniu, w niezbędnym do tego zakresie.

.....  
Data i podpis badanego

.....  
Data i podpis badacza

## 12.4 Ankieta

Wrocław, data .....

### Dane podstawowe

Imię i nazwisko .....Wiek (lat).....Płeć K / M

Masa ciała (kg) ..... Wzrost (cm) ..... Nr telefonu.....

### Styl życia

Alkohol: ..... jednostek standardowych / miesiąc (1 jednostka = 1 kieliszek wódki lub 1 lampka wina lub 1 piwo)

Palenie papierosów: obecnie nie / tak ..... papierosów/dzień; jeśli rzucono to ile lat temu .....  
w przeszłości nie / tak; łącznie ..... paczkolet (1 paczkolet = 1 rok palenia ok. 1 paczki dziennie)

Aktywność fizyczna (liczba treningów 30-40 min. / tydzień) 0 1 2 3 4 5 >5

Dieta: zróżnicowana/monotonna

Zawartość:    tłuszczu w diecie: wysoka/niska            mięsa w diecie: wysoka/niska  
                  ryb w diecie: wysoka/niska                    warzyw w diecie: wysoka/niska  
                  owoców w diecie: wysoka/niska            tłuszczu w diecie: wysoka/niska  
                  soli w diecie: wysoka/niska                    cukru w diecie: wysoka/niska  
                  potraw mącznych w diecie: wysoka/niska    tłuszczu w diecie: wysoka/niska

Spożycie potraw: smażonych: rzadko/często/codziennie    duszonych: rzadko/często/codziennie  
                          gotowanych: rzadko/często/codziennie    surowych: rzadko/często/codziennie

### Wywiad chorobowy

Rozpoznanie zasadnicze: RZS / inne .....Wiek zachorowania.....

Inne choroby reumatologiczne: nie / tak .....

Hiperlipidemia w wywiadzie: nie / tak .....

Hiperlipidemia w rodzinie: nie / tak .....

Choroby wątroby: nie / stłuszczenie / marskość / inne .....

Choroby układu krążenia: nie / miażdżyca / choroba wieńcowa / przebyty zawał serca (...razy)  
miażdżyca tętnic obwodowych (chromanie przestankowe) / nadciśnienie tętnicze / przebyty udar  
niedokrwienny mózgu / TIA (...razy)

Cukrzyca: nie / tak    typu ..... leki doustne / insulina

Choroby towarzyszące - inne

Przyjmowane leki (dawki)

Statyny nie / tak

preparat ..... dawka średnia (mg)..... czas leczenia.....

Fibraty nie / tak

preparat ..... dawka średnia (mg)..... czas leczenia.....

Inne

Leczenie choroby podstawowej

NLPZ obecnie nie / tak – lek i dawka .....; w przeszłości nie / tak

preparat ..... dawka średnia (mg)..... czas leczenia.....

preparat ..... dawka średnia (mg)..... czas leczenia.....

preparat ..... dawka średnia (mg)..... czas leczenia.....

GKS w przeliczeniu na prednizon obecnie nie / tak – dawka .....; w przeszłości nie / tak

postać p.o. dawka średnia (mg)..... czas leczenia..... skuteczność tak / nie

postać i.v. dawka średnia (mg)..... czas leczenia..... skuteczność tak / nie

działania niepożądane.....

kLMPCh

- MTX obecnie nie / tak – dawka .....; w przeszłości nie / tak

postać p.o. dawka średnia (mg)..... czas leczenia..... skuteczność tak / nie

postać s.c. dawka średnia (mg)..... czas leczenia..... skuteczność tak / nie

działania niepożądane.....

- LEF obecnie nie / tak – dawka .....; w przeszłości nie / tak

dawka średnia (mg)..... czas leczenia..... skuteczność tak / nie

działania niepożądane.....

- SSZ obecnie nie / tak – dawka .....; w przeszłości nie / tak

dawka średnia (mg)..... czas leczenia..... skuteczność tak / nie

działania niepożądane.....

- Inne kLMPCh

**bLMPCh**

Lek stosowany obecnie: .....okres leczenia.....

dawka sumaryczna .....skuteczność tak / nie .....

działania niepożądane.....

**Leki biologiczne stosowane w przeszłości:**

- lek..... czas leczenia.....dawka sumaryczna .....skuteczność tak / nie

działania niepożądane.....

- lek..... czas leczenia.....dawka sumaryczna .....skuteczność tak / nie

działania niepożądane.....

**DOLEGLIWOŚCI OBECNE**

VAS ogólnego stanu zdrowia (mm)..... VAS bólu stawów (mm).....

Czas trwania sztywności porannej (min.) .....VAS nasilenia sztywności porannej (mm).....

**BADANIE FIZYKALNE**

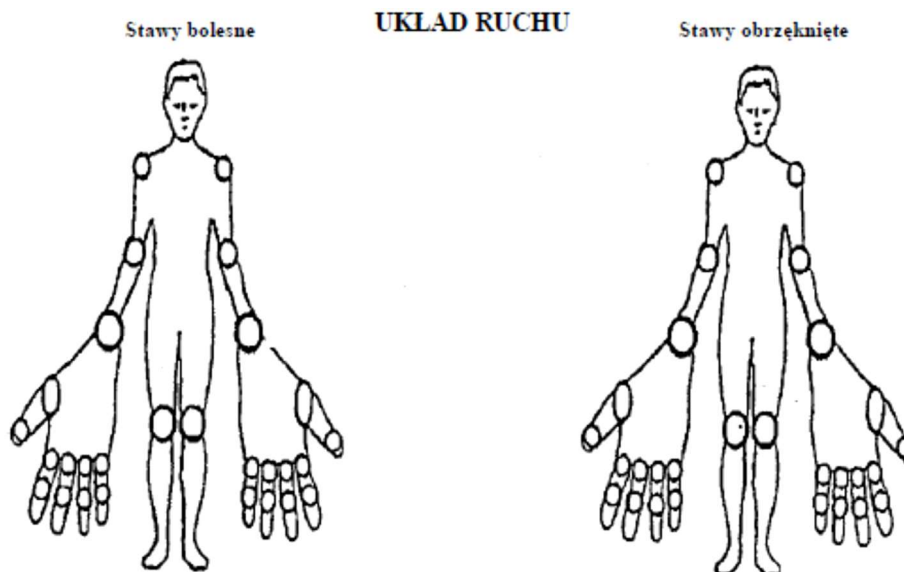
WHR.....LOS ..... LBS .....

**WYNIKI BADAŃ I WSKAŹNIKI**

CRP (mg/dl) ..... OB (mm/h) .....DAS – 28 – CRP ..... DAS – 28 – OB. ....

Cholesterol całkowity (mg/dl) ..... SCORE..... BMI.....

## 12.5 Formularz do oceny wskaźnika DAS28



Sztywność poranna (zaznacz czy dotyczy stawów obwodowych lub kręgosłupa) ..... (h)

Liczba obrzękniętych stawów z 28 możliwych ..... oraz z (66 jeśli LZS i/lub wczesne zapalenie stawów)

Liczba bolesnych stawów z 28 możliwych ..... oraz z (68 jeśli LZS i/lub wczesne zapalenie stawów)

Wartość DAS 28 = .....

### Wizualna skala analogowa ogólnego stanu zdrowia



## 12.6 Kwestionariusz HAQ [228]

# HAQ KWESTIONARIUSZ STANU ZDROWIA

Imię i Nazwisko

Data

Poniższy kwestionariusz pozwoli dowiedzieć się, jak choroba wpływa na Pani/Pana możliwości funkcjonowania w życiu codziennym. Dodatkowo uwagi proszę zapisać na odwrocie strony.

### UBIERANIE SIĘ I DBANIE O WYGLĄD

Czy był(a) Pan/Pani w stanie:	Bez żadnej trudności	Z pewną trudnością	Z dużą trudnością	Niezdolny do zrobienia
ubrać się samodzielnie, łącznie z zawiązaniem sznurowadeł i zapięciem guzików?				
umyć samodzielnie włosy?				

### WSTAWANIE

Czy był(a) Pan/Pani w stanie:	Bez żadnej trudności	Z pewną trudnością	Z dużą trudnością	Niezdolny do zrobienia
wstać z krzesła bez poręczy?				
położyć się do łóżka i wstać?				

### JEDZENIE

Czy był(a) Pan/Pani w stanie:	Bez żadnej trudności	Z pewną trudnością	Z dużą trudnością	Niezdolny do zrobienia
pokroić mięso na talerzu?				
podnieść pełną szklankę do ust?				
otworzyć nowy karton mleka?				

### CHODZENIE

Czy był(a) Pan/Pani w stanie:	Bez żadnej trudności	Z pewną trudnością	Z dużą trudnością	Niezdolny do zrobienia
chodzić po płaskim terenie na zewnątrz?				
wejść po pięciu schodach?				

### PROSZĘ ZAZNACZYĆ TE PRZYRZĄDY LUB POMOCE, KTÓRYCH ZWYKLE UŻYWA PAN/PANI PRZY WYKONYWANIU POWYŻSZYCH CZYNNOŚCI:

<input type="checkbox"/> laska	<input type="checkbox"/> kule
<input type="checkbox"/> przyrządy używane do ubierania się (np. haczyk do zapinania guzików, inne)	<input type="checkbox"/> specjalne krzesło
<input type="checkbox"/> chodzik	<input type="checkbox"/> wózek inwalidzki
<input type="checkbox"/> specjalnie przystosowane przybory do gotowania lub jedzenia	inne (wymień): _____

### PROSZĘ ZAZNACZYĆ TE CZYNNOŚCI, PRZY WYKONYWANIU KTÓRYCH ZWYKLE POTRZEBUJE PAN/PANI CZYJEJŚ POMOCY:

<input type="checkbox"/> ubieranie się i dbanie o wygląd	<input type="checkbox"/> jedzenie
<input type="checkbox"/> wstawanie	<input type="checkbox"/> chodzenie

# HAQ KWESTIONARIUSZ STANU ZDROWIA

PROSZĘ ZAZNACZYĆ ODPOWIEDŹ, KTÓRA NAJLEPIEJ OPISUJE PANA/PANI MOŻLIWOŚCI FUNKCJONOWANIA W ŻYCIU CODZIENNYM W CIĄGU MINIONEGO TYGODNIA.

## HIGIENA

Czy był(a) Pan/Pani w stanie:	Bez żadnej trudności	Z pewną trudnością	Z dużą trudnością	Niezdolny do zrobienia
umyć się i wytrześć?	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>
wykąpać się w wannie?	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>
usiąść na sedesie i wstać?	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>

## SIĘGANIE

Czy był(a) Pan/Pani w stanie:	Bez żadnej trudności	Z pewną trudnością	Z dużą trudnością	Niezdolny do zrobienia
sięgnąć po ok. 2 kg przedmiot znajdujący się tuż nad głową i zdjąć go?	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>
schylić się aby podnieść odzież z podłogi?	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>

## CHWYTANIE

Czy był(a) Pan/Pani w stanie:	Bez żadnej trudności	Z pewną trudnością	Z dużą trudnością	Niezdolny do zrobienia
otworzyć drzwi w samochodzie?	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>
otworzyć ponownie wcześniej otwarty słoik?	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>
odkręcić i zakręcić kran?	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>

## CZYNNOŚCI

Czy był(a) Pan/Pani w stanie:	Bez żadnej trudności	Z pewną trudnością	Z dużą trudnością	Niezdolny do zrobienia
złatwiać różne sprawy, robić zakupy?	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>
wsiąść do samochodu i wysiąść?	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>
wykonywać prace domowe np.: (odkurzanie, prace w ogrodzie)	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>

PROSZĘ ZAZNACZYĆ TE PRZYRZĄDY LUB POMOCE, KTÓRYCH ZWYKLE UŻYWA PAN/PANI PRZY WYKONYWANIU POWYŻSZYCH CZYNNOŚCI:

<input type="checkbox"/> podwyższony sedes	<input type="checkbox"/> poręcz przy wannie
<input type="checkbox"/> krzesło do wanny	<input type="checkbox"/> przybory z długą rączką do sięgania
<input type="checkbox"/> otwieracz do słoików (otwartych wcześniej)	<input type="checkbox"/> przybory z długą rączką w łazience (np. szozotka do ciała)
inne (wymienić): _____	

PROSZĘ ZAZNACZYĆ TE CZYNNOŚCI, PRZY WYKONYWANIU KTÓRYCH ZWYKLE POTRZEBUJE PAN/PANI CZYJEJŚ POMOCY:

<input type="checkbox"/> higiena	<input type="checkbox"/> chwytanie i otwieranie czegoś
<input type="checkbox"/> sięganie po coś	<input type="checkbox"/> złatwanie spraw i wykonywanie prac domowych

PROSZĘ ZAZNACZYĆ PIONOWĄ KRESKĄ TO MIEJSCE NA PONIŻSZEJ LINII, KTÓRE POKAZUJE NASILENIE BÓLU SPOWODOWANEGO CHOROBA W MINIONYM TYGODNIU

