

**DOKTORI (PhD) ÉRTEKEZÉS**

**Karancsiné Pusztai Anita**

**A célzott terápia hatásai az arthritisek társbetegségeire és  
azok biomarkereire**

**DEBRECENI EGYETEM**

**KLINIKAI ORVOSTUDOMÁNYOK DOKTORI ISKOLA**

**Debrecen, 2023**

**DOKTORI (PhD) ÉRTEKEZÉS**

**A célzott terápia hatásai az arthritisek társbetegségeire és  
azok biomarkereire**

**Karancsiné Pusztai Anita**

**Témavezető: Prof. Dr. Szűcs Gabriella**



**DEBRECENI EGYETEM  
KLINIKAI ORVOSTUDOMÁNYOK DOKTORI ISKOLA  
Debrecen, 2023**

## Tartalomjegyzék

1. AZ ÉRTEKEZÉSBEN ELŐFORDULÓ RÖVIDÍTÉSEK JEGYZÉKE .....	4
2. BEVEZETÉS .....	7
3. IRODALMI ÁTTEKINTÉS .....	9
<b>3.1. Autoimmun gyulladáshoz vezető tényezők kockázata</b> .....	9
3.1.1. Endothél diszfunkció és plakk-képződés .....	9
3.1.2. A korai ateroszklerózist előreléző szolubilis vaszkuláris biomarkerek jelentősége .....	10
3.1.2.1. Oxidált LDL (oxLDL) és $\beta$ 2 glikoprotein I antigének .....	11
3.1.2.2. Anti-hősokk fehérje 60 (aHSP60) .....	12
3.1.2.3. Szolubilis urokináz plazminogén aktivátor receptor (suPAR) .....	14
3.1.2.4. B-típusú natriuretikus peptid (BNP) .....	16
<b>3.2. Az angiogenezis folyamata, kapcsolata a krónikus gyulladással</b> .....	17
<b>3.3. A vaszkuláris és csont-státusz összefüggései arthritises betegekben</b> .....	19
3.3.1. A csontgyulladás mint társbetegség RA-s és SPA-s betegekben .....	19
3.3.2. A gyulladáshoz vezető tényezők és csontvesztés kapcsolata arthritises betegekben .....	20
3.3.3. A csontanyagcsere markerei és szabályozói, lehetséges szerepük az érrendszeri gyulladás folyamatában. ....	22
4. CÉLKITŰZÉS .....	26
5. BETEGEK ÉS MÓDSZEREK .....	27
<b>5.1. A vizsgált betegcsoport</b> .....	27
<b>5.2. Laboratóriumi vizsgálatok</b> .....	28
<b>5.3. A vaszkuláris patofiziológia ultrahangos vizsgálata</b> .....	29
<b>5.4. Statisztikai analízis</b> .....	30
<b>5.5. Első vizsgálat</b> .....	31
5.5.1. oxLDL/ $\beta$ 2GPI antigén komplex detektálása .....	31
5.5.2. Anti-human Hsp60 immunoglobulin G (IgG) szint meghatározása .....	32
5.5.3. Szolubilis uPAR szint mérése .....	32
5.5.4. BNP fragmentum szint meghatározása .....	32
<b>5.6. Második vizsgálat</b> .....	33
5.6.1. Csontsűrűség mérése DEXA és qCT által .....	33
5.6.2. Csontanyagcsere biomarkerek .....	33
5.6.3. Kardiovaszkuláris biomarkerek .....	34

5.6.4. Statisztikai elemzés .....	34
6. EREDMÉNYEK .....	35
<b>6.1. Első vizsgálat</b> .....	35
6.1.1. A vaszkuláris biomarkerek és egyéb paraméterek közötti összefüggések .....	35
6.1.2. A TNF $\alpha$ gátlók hatása a vaszkuláris biomarkerekre .....	40
<b>6.2. Második vizsgálat</b> .....	42
6.2.1. Vaszkuláris, csontanyagcsere biomarkerek és képző paraméterek közötti összefüggések .....	42
6.2.2. TNF-gátlók hatása a vaszkuláris és csont biomarkerek összefüggéseire.....	48
7. MEGBESZÉLÉS.....	50
8. ÖSSZEFOGLALÁS.....	59
9. SUMMARY .....	61
10. IRODALOMJEGYZÉK.....	63
<b>10.1. Hivatkozott közlemények jegyzéke</b> .....	63
<b>10.2. Saját közlemények jegyzéke</b> .....	88
11. TÁRGYSZAVAK.....	93
12. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS.....	94
13. FÜGGELÉK.....	95

# 1. AZ ÉRTEKEZÉSBEN ELŐFORDULÓ RÖVIDÍTÉSEK JEGYZÉKE

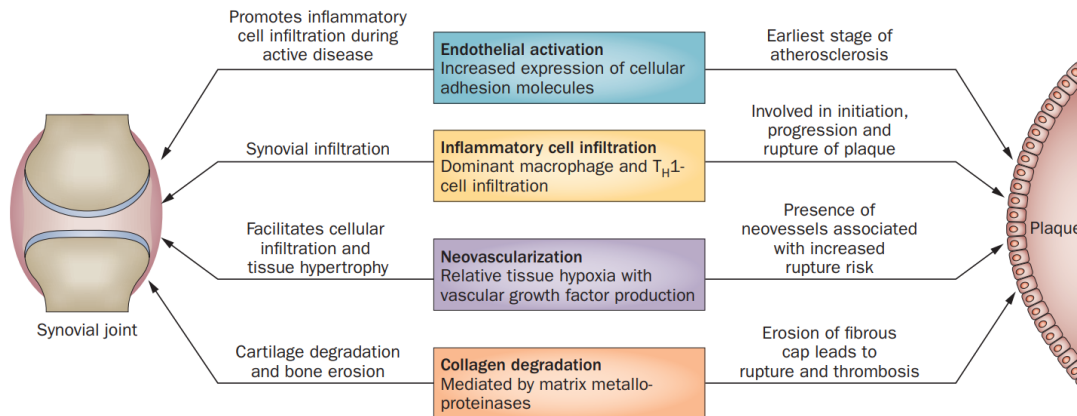
aHSP60:	anti-hősokk fehérje 60
ACPA:	anti-citrullinált protein antitest
ANG-1:	angiopoietin-1
ANG-2:	angiopoietin-2
BASDAI:	Bath Ankylosing Spondylitis Disease Activity Index
BMD:	csont ásványianyag-sűrűség
BMI:	testtömeg index
BNP:	B-típusú natriuretikus peptid
CATHK:	katepszin K
CCP:	ciklikus citrullinált peptid
CTX-I:	I. típusú kollagén C-terminális telopeptid
CZP:	certolizumab pegol
DAS28:	28-joint disease activity score (betegségaktivitási index)
DEXA:	kettős energiájú röntgenabszorpciometria
DEXFEMBMD:	DEXA combnyaki BMD
DKK-1:	Dickkopf-1
ECM:	extracelluláris mátrix
ETN:	etanercept
FMD:	arteria brachialis áramlás-mediált dilatáció
HDL-C:	magas sűrűségű lipoprotein koleszterin
hs-CRP:	magas érzékenységgű C-reaktív protein
ICAM-1:	intracelluláris adhéziós molekula 1
IMT:	arteria carotis communis intima-média vastagság
LDL-C:	alacsony sűrűségű lipoprotein koleszterin
LPS:	lipopoliszacharid
LTB4:	leukotrién B4
MCP-1:	monocita kemotaktikus fehérje 1
MMP:	mátrix metalloproteináz
NF-κB:	nukleáris faktor-kappa B

NO:	nitrogén monoxid
OC:	oszteokalcin
OPG:	oszteoprotegrin
oxLDL:	oxidált alacsony sűrűségű lipoprotein
P1NP:	I. típusú prokollagén N-terminális propeptid
PDGF-BB:	trombocita eredetű növekedési faktor BB
PGE2:	prostaglandin E2
PTH:	parathormon
PWV:	pulzushullám terjedési sebesség
QCT:	kvantitatív komputer-tomográfia
QCTTRABBMD:	QCT trabekuláris BMD
QCTTOTBMD:	QCT teljes BMD
RA:	rheumatoid arthritis
RANKL:	receptor aktivátor nukleáris faktor kappa B ligand
RF:	rheumatoid faktor
ROS:	reaktív oxigén gyök
SMC:	simaiizomsejt
SOST:	szklerosztin
SPA:	spondylitis ankylopoetica
suPAR:	szolubilis urokináz plazminogén aktivátor receptor
TC:	össz-koleszterin
TG:	triglicerid
Th:	T-helper sejt
TLR:	toll-like receptor
TNF $\alpha$ :	tumornekrózis faktor-alfa
TSP-1:	thrombospondin-1
uPA:	urokináz plazminogén aktivátor
uPAR:	urokináz plazminogén aktivátor receptor
VCAM-1:	vaszkuláris sejtadhéziós molekula 1
VEGF:	vaszkuláris endoteliális növekedési faktor

VITD3:	25-OH-D3-vitamin
VSMC:	vaszkuláris simaizomsejt
We:	vörösvértest-süllyedés
$\beta$ 2GPI:	$\beta$ 2 glikoprotein I

## 2. BEVEZETÉS

A rheumatoid arthritis (RA) és a spondylitis ankylopoetica (SPA) krónikus, progresszív gyulladással járó reumatológiai betegségek, amelyek súlyos strukturális és funkcionális károsodással járnak, és a megfelelő kezelés és gondozás hiánya esetén az életminőség romlásához vezethetnek<sup>1</sup>. Mindkét betegség diagnózisa laboratóriumi és képalkotó vizsgálatokkal, valamint a rájuk jellemző klinikai tünetek alapján történik. Az RA általában szimmetrikus ízületi gyulladás formájában jelentkezik, amely az ízületek deformációját okozhatja, míg az SPA-ban a gyulladás a sacroiliacalis ízületeket és a lumbosacralis gerincet érinti, és krónikus háti illetve derékfájdalmat okoz. Az ilyen típusú reumatológiai megbetegedések előfordulása a lakosság körében 0,3-1,5% közé tehető<sup>2</sup>. A reumatológiai betegségben szenvedők esetén nagyobb a kockázata számos társbetegség kialakulásának, melyek közül a szív- és érrendszeri, valamint csontritkulásos megbetegedések előfordulása a leggyakoribb és a legnagyobb hatású a mortalitásra<sup>3</sup>. RA betegek esetében a kardiovaszkuláris megbetegedések kockázata 1,5-2-szer magasabb<sup>4</sup> és kétszer olyan gyakran fordulnak elő a csípő- és csigolyatörések az általános populációhoz képest<sup>5</sup>. A hagyományos kockázati tényezők, mint az életkor, nem, dohányzás, magas vérnyomás, ösztrogénhiány és cukorbetegség csak részben járulnak hozzá a morbiditás és mortalitás ilyen magas arányához<sup>6</sup>. A folyamatos krónikus gyulladás egy másik kiemelkedő tényező lehet mindkét betegség kimenetelében. A gyulladással járó ingerek által kiváltott adhéziós molekulák fokozott expressziója, a proinflammatorikus citokineket kiválasztó sejtek bősége, a neovaszkularizáció folyamata és a kollagénbontó enzimek felszabadulása mind hozzájárulhatnak az ízületi csont- és porcerózióhoz, valamint az ateroszklerotikus plakk destabilizálásához<sup>7,8</sup>. Ezek a folyamatok az érfalban és az ízületben egyidejűleg is előfordulhatnak, vagy a szinoviumban termelődő mediátorok távoli, másodlagos hatást gyakorolhatnak az artériákra. (1.ábra)



*1.ábra. Az ateroszklerotikus plakk és a gyulladt rheumatoid szinovium közös kóros jellemzői*  
*Forrás helye: Skeoch, S., & Bruce, I. N. (2015). Atherosclerosis in rheumatoid arthritis: is it all about inflammation? Nature Reviews Rheumatology, 11(7), 390–400.*

A rheumatoid arthritis (RA) és a spondylitis ankylopoetica (SPA) kezelése során alkalmazott TNF $\alpha$ -gátló célzott terápiák hatására a gyulladás visszaszorítása nemcsak az alapbetegségre, hanem a társbetegségek kockázatára is jótékony hatást gyakorolhatnak. Az egyes biomarkerek alkalmazása és azok nyomon követése lehetővé teszi a betegségek korai felismerését és hatékony kezelését. A legígéretesebb biomarkerek azok, melyek szoros kapcsolatban állnak a betegség patofiziológiai mechanizmusával.

### 3. IRODALMI ÁTTEKINTÉS

#### 3.1. Autoimmun gyulladásos érrelmeszesedés kockázata

Az általános népességhez viszonyítva, a reumatológiai betegségek esetén a szív-és érrendszeri megbetegedések felelősek a halálozások 30-50%-áért<sup>39</sup>. A hagyományos kockázati tényezőkön túl, számos, a reumatológiai megbetegedésre jellemző effektor mechanizmusok, köztük a lokálisan érintett ízületekben termelődő proinflammatorikus citokinek (IL-1, IL-6, TNF $\alpha$ ), a reaktív oxigénfajták (ox-LDL) felhalmozódása, a nitrogén-monoxid (NO) megváltozott termelése és az egyes autoantitestek (ACPA, RF) jelenléte közvetve és közvetlenül is képes aktiválni az endothél sejteket, amely az endothéliális diszfunkciót, egy korai proaterogén folyamatot indít el. Az érrelmeszesedésnek ez a korai stádiuma a kardiovaszkuláris események jövőbeli kockázatának fontos markere<sup>10,11</sup>. Bár az ateroszklerotikus elváltozások hosszú ideig alakulnak ki, az aktív gyulladásos reumatológiai betegségekben szenvedőknél sokkal gyorsabb, instabilabb és törésre hajlamosabb plakk képződik<sup>12</sup>. A gyulladásos érrelmeszesedés kialakulásának megértése érdekében fontos az ateroszklerotikus léziók kezdetének, progressziójának és szakadásának patofiziológiájának megértése.

##### 3.1.1. Endothél diszfunkció és plakk-képződés

Az endothélium az érfal homeosztázisának fő szabályozója, mely kritikus szerepet játszik az érrendszeri tónus, a véralvadási állapot és simaizomsejtek proliferációjának szabályozásában<sup>13</sup>. Az endothéliális diszfunkció előzménye a sejtaktiváció, amelyet általában a proinflammatorikus citokinek (TNF $\alpha$ , IL-6) indukálnak. Ennek hatására nő az intracelluláris adhéziós molekula 1 (ICAM-1), vaszkuláris sejtadhéziós molekula 1 (VCAM-1) és az endothéliális leukocita adhéziós molekulák (pl. E-szelektin) fokozott expressziója<sup>14</sup>. Az endothélium ezzel átjárhatóbbá válik, így a lipidmolekulák és a citokinek által vonzott gyulladásos sejtek, főként monociták és T-limfociták, könnyebben bejutnak az endothéliális térbe<sup>15</sup>. Az alacsony sűrűségű lipoproteinek (LDL) felhalmozódnak a subendothéliális rétegben, ahol kémiai és oxidatív módosuláson mennek keresztül. A létrejövő oxidált LDL (oxLDL) aktiválja az endothél sejteket, valamint hozzájárul a keringő leukociták toborzásához azáltal, hogy fokozza az adhéziós molekulák expresszióját és az egyes kemokinek szekrécióját<sup>16</sup>. A monociták makrofágokká differenciálódnak, amelyek felvehetik a natív vagy módosult LDL-t, és habsejteket vagy zsírcsíkot képeznek az érfalon belül. Emellett a

makrofágok proinflammatorikus citokineket és növekedési faktorokat választanak ki, ami tovább fokozza a gyulladást<sup>17</sup>. A T-sejtek, melyek esetében elsősorban a limfocita T helper 1 (Th1) sejtek dominálnak, proinflammatorikus citokinek termelésével (TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ , IL-2, IL-6, IL-17) hozzájárulnak a vaszkuláris simaizomsejtek migrációjához, proliferációjához és a habsejtképződéshez<sup>18</sup>. A folyamat előrehaladtával a mononukleáris sejtek felhalmozódnak, a simaizomsejtek felszaporodnak és egy rostos szövet képződik, mely lefedi és stabilizálja a plakkot. Az előrehaladott elváltozásokban, a megnövekedett makrofágok száma miatt az efferocitózis folyamata hatástalanná válik, ami hozzájárul a nekrotikus mag kialakulásához. Az apoptotikus makrofágokból a metalloproteinázok (MMP) felszabadulásának stimulálása, valamint a kollagént termelő simaizomsejtek (SMC) csökkenése tovább roncsolja a rostos szövetet, ami végül a plakk szakadásához vezet, mely thrombus képződést vált ki és ezáltal artériás elzáródást okoz<sup>19</sup>.

### *3.1.2. A korai ateroszklerózist előrejelző szolubilis vaszkuláris biomarkerek jelentősége*

Korábban azt gondolták, hogy az érlemezés azért alakul ki, mert a lipid anyagok passzívan felhalmozódnak az érfalban. Azonban ma már világossá vált, hogy az érlemezés inkább az erek gyulladást okozó betegségeként tekinthető<sup>20</sup>. Az immunrendszer diszregulációja és a krónikus gyulladás fontos szerepet játszik ebben a folyamatban. Nem meglepő, hogy a gyulladást okozó reumatológiai megbetegedések, mint például az RA és SPA, nagyobb kockázatot jelentenek a kardiovaszkuláris betegségek kialakulására. Az ilyen betegségekben szenvedők klinikai kimenetelének és a reumatológiai betegek gyulladást okozó markerei között erős összefüggést tapasztaltak, mint például a vörösvértest-süllyedés (We), a magas érzékenységgel rendelkező C-reaktív protein (hs-CRP), a betegségaktivitás pontszámai, az érintett ízületek száma és a radiográfiai pontszámok<sup>21-25</sup>. A tumornekrozis faktor-alfa (TNF- $\alpha$ ) egy pleiotróp citokin, amely elősegíti a gyulladást és fontos szerepet játszik az RA és SPA kialakulásában. Ezenkívül számos klinikai és preklinikai vizsgálat támasztja alá a TNF $\alpha$  káros szerepét a szív és érrendszeri megbetegedésekben. A TNF-alfa aterogén hatásokkal rendelkezik, mint például a nitrogén-monoxid szintézis expressziójának csökkentése, a nukleáris faktor-kappa B (NF-kB) jelátviteli útvonal aktiválása és a reaktív oxigénfajták felhalmozódásának fokozódása, amelyek közvetlenül károsítják az endothéliális funkciót<sup>13,26,27</sup>. Az, hogy az RA és SPA megbetegedések során alkalmazott anti-TNF terápiának jótékony hatása lehet a kardiovaszkuláris kockázatra, nemcsak a gyulladást csökkentő hatásán, hanem azáltal, hogy gátolja a TNF $\alpha$  káros hatását az érlemezés folyamatára, ésszerű hipotézis. Azonban az, hogy ezek a hatások

fennmaradnak-e a hosszútávú kezelés során, és hogy milyen összefüggésben állnak más laboratóriumi és képzőképzési paraméterekkel, egyelőre még nem teljesen tisztázott. Ezért az első munkánkban a 12 hónapos anti-TNF hatását vizsgáltuk, olyan vaszkuláris biomarkereken, melyek részt vesznek az autoimmun mediált érgyulladás és oxidatív stressz kialakulásában.

### 3.1.2.1. Oxidált LDL (oxLDL) és $\beta$ 2 glikoprotein I antigének

A  $\beta$ 2 glikoprotein I ( $\beta$ 2-GPI) egy megközelítőleg 50 kDa molekulatömegű plazma fehérje, melyet az 1961-es években írtak le először<sup>28</sup>. Túlnyomórészt a hepatocitákban szintetizálódik és a vérben változó mennyiségben van jelen (50-55 $\mu$ g/ml)<sup>29</sup>. Szerkezetét tekintve 326 aminosavból felépülő egyláncú polipeptid, amely 5 (I-V) homológ komplement kontroll fehérje (CCP) doménba szerveződik. Az I-IV-es domén feszesen rendezett, 2 diszulfidkötéssel, az V domén viszont egy extra diszulfidkötést tartalmaz. Az V-domén két részből áll, egy erősen pozitív, 14 töltött aminosavból álló részből, és egy hidrofób, flexibilis farokból. A flexibilis hurok klasszikus TRP-LYS szekvenciákat tartalmaz, amely a fehérje negatív töltésű foszfolipidhez való rögzítéséért felelős<sup>30,31</sup>. A  $\beta$ 2-GPI zárt (kör alakú) és nyitott (J alakú) formában egyaránt létezik. A plazmában kör alakú fehérjeként van jelen, amit az I és V domén közötti kölcsönhatás biztosít. Ebben az esetben mind az N terminális (DI), mind a C terminális (DV) tartomány részben el van rejtve. Miután a kötődés bekövetkezik, a  $\beta$ 2GPI molekula kinyílik, és az I és IV domén elválik egymástól. Ennek eredményeként az I domén kötőhelyei szabadon állnak, így potenciális kötőhelyeket hoznak létre az autoantitestek számára, amelyek ellen termelődnek<sup>32</sup>. A  $\beta$ 2GPI általában a különböző negatív töltésű molekulákhoz képes kötődni, ezáltal számos biológiai folyamatban szerepet játszik. Például részt vesz az apoptotikus sejtek eltávolításában a vérkeringésből, gátolja a lipopoliszacharid (LPS) által kiváltott szöveti faktor és IL-6 expressziót monocitákon és endothéliális sejteken, valamint szerepe van az antifoszfolipid antitest (aPL) által kiváltott endothélsejtek aktiválásában. Ugyanakkor a  $\beta$ 2GPI funkcionálisan egyedülálló módon mind a komplement aktivációt, mind pedig a hemosztázis folyamatát képes mindkét irányban szabályozni<sup>33</sup>. Az 1990-es évektől vált az érdeklődés tárgyává, amikor az antifoszfolipid szindróma egyik fő antigénjeként azonosították<sup>34,35</sup>, majd 1997-ben először számoltak be arról, hogy a  $\beta$ 2GPI közvetlenül képes kötődni az oxidált LDL-hez. A kötődés specifikusan a nagy affinitású oxLDL lipid ligandumon, nevezetesen az ox-Lig1 (7-ketocholesteryl-9-carboxynonanoate) -en és ox-Lig2 (7-ketocholesteryl-12-carboxy(keto)dodecanoate) -n keresztül valósul meg. A kölcsönhatás következtében kovalens kötés alakul ki, ami egy stabil (nem disszociálható) és

patogén oxLDL/  $\beta$ 2GPI komplexet eredményez<sup>36,37</sup>. Habár az oxLDL és  $\beta$ 2GPI közötti kölcsönhatás a  $\beta$ 2GPI antioxidáns szerepét sugallja, a létrejövő komplex immunogénné válik, ami autoantitestek termelését váltja ki. Az IgG anti- $\beta$ 2GPI antitest jelenléte az oxLDL makrofág általi felvételét és intracelluláris felhalmozódását felgyorsítja az Fc $\gamma$  receptorokon keresztül. Ez tovább fokozza a habsejt képződést, valamint a scavenger CD36 és Fc $\gamma$ RI receptorok upregulációját és fokozott felszíni expresszióját eredményezi<sup>38</sup>. Emellett az oxLDL/ $\beta$ 2GPI/anti- $\beta$ 2GPI antitest komplex elősegíti az endothéliális gyulladást a TLR4 által közvetített NF- $\kappa$ B jelátviteli úton keresztül, ami egy hipergyulladásos állapot kialakulásához vezet. Ennek hatására megnövekszik a proinflammatorikus citokinek, mint például a TNF $\alpha$ , IL-6, és az IL-1 $\beta$  szekréciója, az adhéziónak pedig az intracelluláris adhéziónak (ICAM-1) és vaszkuláris sejt adhéziónak (VCAM-1), valamint a monocita kemotaktikus protein 1 (MCP-1) expressziója<sup>39</sup>. Ugyanakkor a vaszkuláris simaizomsejtek (VSMC) proaterogén aktivációját is képes indukálni, fokozva migrációs képességüket, valamint kétfázisú hatással megváltoztatni az VSMC-k proliferációját és apoptózisát<sup>40</sup>. Mindezen megfigyelések után nem meglepő, hogy a komplex jelenléte összefüggésbe hozható a koszorúér-betegség súlyosságával és a káros kimenetel 3,5-szer nagyobb kockázatával<sup>41</sup>.

### 3.1.2.2. Anti-hő sokk fehérje 60 (aHSP60)

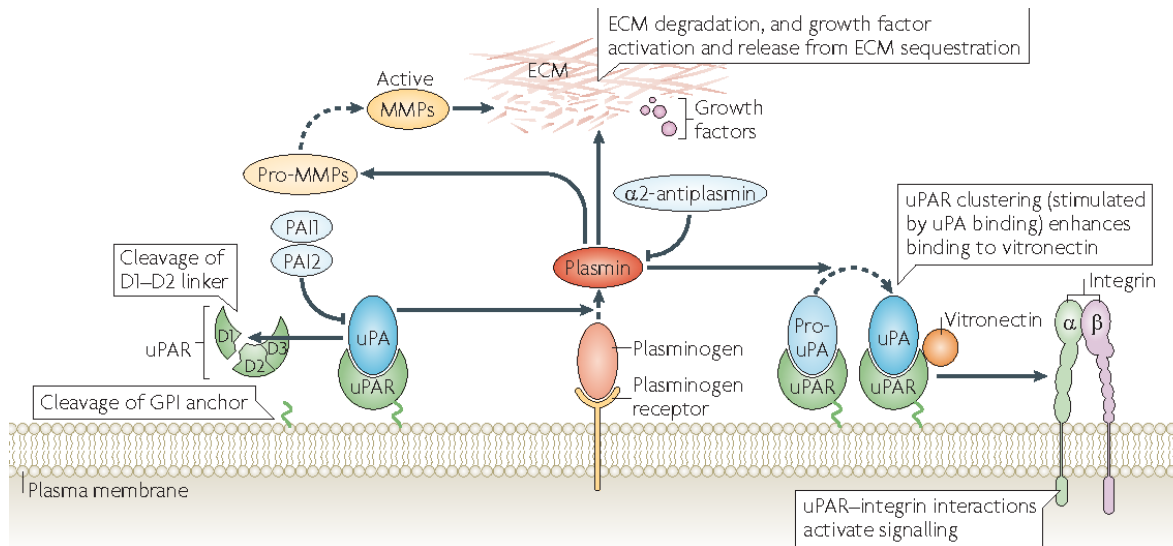
A hő sokk-fehérjék (HSP) olyan molekuláris chaperonok, melyek filogenetikailag erősen konzerváltak, és megtalálhatóak prokarióta és eukarióta sejtekben is. Alapvető szerepet játszanak a sejtek életciklusában és túlélésében<sup>42</sup>. Az elnevezésük az 1960-as évekből ered, amikor a *Drosophila* inkubációs hőmérsékletének emelésével egy addig ismeretlen fehérje fokozott géntranszkripcióját fedezték fel. Később kiderült, hogy a stressz sok más formája is ugyanezt a hatást váltja ki<sup>43</sup>. A HSP-eket molekulatömegük szerint nehéz (Hsp110, Hsp90, Hsp70, Hsp60, Hsp40) és kis molekulatömegű (sHsp) családokba sorolják<sup>44</sup>. Az egyik legtöbbet tanulmányozott hő sokk-fehérje a HSP60, amely általában chaperoninok (Cpn60) néven ismert, az emlős Hsp60-at, a mikrobakteriális mHSP65 homológot, az *Escherichia coli* homológ GroEL-t és a *Chlamydia* cHSP60-at tartalmazza<sup>45</sup>. A különböző baktériumfajok HSP60-ja 95%-nál nagyobb szekvenciahomológiát mutat, és több mint 55%-os homológiát találunk a bakteriális és humán HSP60 között mind DNS, mind fehérje szinten. Ez a tény képezi az autológ HSP60 és a kórokozók közötti kiterjedt immunológiai keresztreakciók alapját. Minden ember védő adaptív immunitást szerez a bakteriális HSP60 elleni fertőzéssel vagy

vakcinázással<sup>46</sup>. Normál, fiziológiás körülmények között alacsony szinten konstitutívan expresszálódik, és fontos szerepet játszik más fehérjék bioszintézisében, feltekeredésében, szállításában és összeállításában, valamint az intracelluláris fehérje aggregáció megakadályozásában<sup>47</sup>. Az expressziójuk jelentős mértékben megnövekedhet különféle stresszhatásokra, beleértve a fizikai és kémiai stresszt (hő, dohányzás, oxigényökök), gyulladást (gyulladásos citokinek, oxLDL, LPS) és fertőzést (*Chlamydia pneumoniae*). Ezek a fehérjék transzlokálódnak a sejtmembránon, és "vészejelzőként" szolgálnak a veleszületett és adaptív immunitás számára<sup>48</sup>. A HSP60 képes szöveti homeosztázist helyreállítani, finomhangolni a gyulladást a TLR4 és TLR2 aktivitásán keresztül<sup>49</sup>. Ezáltal elősegíti a gyulladást a B-sejteken, effektor T-sejteken és monocitákon keresztül, másrészt képes gyulladásgátló hatást kifejteni a Treg-sejteken, antiertgotipikus T-sejteken és B-sejteken. Az immunválaszra gyakorolt hatása függ a koncentrációtól, a működés helyétől és a HSP60 epitóptól (bakteriális vagy saját). Alacsony koncentrációban segíti az immunegyensúly fenntartását, míg fertőzés, szövetkárosodás vagy neoplázia esetén nagy koncentrációban fokozza a monociták és effektor T-sejtek proinflammatorikus válaszát<sup>50</sup>. A HSP60 gyulladásban betöltött szerepét először egy adjuváns arthritis modellben mutatták ki, ahol a gyulladt ízületekben mikrobakteriális HSP60 ellen irányuló infiltráló T-sejteket találtak<sup>51</sup>. Azóta HSP60-ra adott humorális immunválaszokat számos különböző autoimmun és gyulladásos betegségben is kimutatták, beleértve a 1-es típusú cukorbetegséget, gyulladásos bélbetegséget, sclerosis multiplexet, rheumatoid arthritist és Bechterew-kórt<sup>52-55</sup>. Az első megfigyelések HSP60 érlemeszesedésben betöltött proaterogén szerepére az 1990-es évekből származnak<sup>56</sup>. Ugyancsak ezt a szerepet támasztotta alá egy nagyszabású longitudinális prospektív randomizált vizsgálat, a Bruneck tanulmány, mely kimutatta, hogy a mikrobiális HSP65 elleni antitestek szintje szignifikánsan magasabb azon résztvevők esetében, akik ateroszklerotikus elváltozással rendelkeztek, szemben a lézió nélküli kontroll egyénekhez képest<sup>57</sup>. Azóta számos tanulmány mutatott ki összefüggést a HSP60-elleni antitest szintek és az ateroszklerózis mérete/progressziója között, korreláció volt megfigyelhető a nyaki verőér falvastagságával, az ateroszklerotikus szív és érrendszeri betegségekkel, valamint az érlemeszesedéssel összefüggő morbiditással és mortalitással<sup>58</sup>. Az érlemeszesedés folyamatában való részvételének alapja, hogy az egyes kockázati tényezők, pl. szabad gyökök és az oxLDL közvetlenül serkentik az artériás fal sejtjeit, ezáltal a HSP60 magas kifejeződését eredményezik<sup>59</sup>. A magas HSP szint gyulladást elősegítő hatást fejt ki azáltal, hogy az intracelluláris térbe kerülve a TLR4/CD4 receptorokhoz kötődve indukálja az adhéziós molekulák (E-szelektin, ICAM-1, VCAM-1) expresszióját<sup>60</sup>, stimulálja a VSMC-k migrációját

és proliferációját<sup>61</sup> valamint a monociták aktiválódása révén pro-inflammatorikus citokinek (TNF $\alpha$ , IL-12, IL-15) termelődését eredményezi. Ezzel egyidejűleg a makrofágok antigéneket mutatnak be a T-és B-sejteknek, amelyek a HSP elleni autoreaktív sejteket és autoantitesteket termelnek, hozzájárulva ezzel az endothél károsodáshoz és érfal gyulladáshoz<sup>59</sup>. A HSP60-specifikus T-sejtek főként Th1 fenotípusúak, proaterogén citokinek, például IFN- $\gamma$ -t, IL-12-t és TNF- $\alpha$ -t termelnek, és megzavarják az egyensúlyt a Th1 és Th2 citokinek között, hozzájárulva az intima megvastagodásához az ismert arterioszklerózisra hajlamos helyeken<sup>62</sup>.

### 3.1.2.3. Szolubilis urokináz plazminogén aktivátor receptor (suPAR)

Az urokináz plazminogén aktivátor receptor (uPAR) a limfocita antigén 6 (Ly-6) fehérjék szupercsaládjának egy tagja, amelynek molekulatömege 55-60 kDa. Erősen glikolizált polipeptidről van szó, amely egy glikozil-foszfatidil-inozitol (GPI) horgonyon keresztül kapcsolódik a sejtmembránhoz<sup>63</sup>. A szerkezete három doménből áll (D1-D3), amelyeket két rövid linker-régió köt össze. A plazmamembránon történő mobilitását a transzmembrán domén hiánya teszi lehetővé, így elhelyezkedése a sejt funkcionális állapotától függ<sup>64,65</sup>. Különböző sejteken expresszálódik, beleértve az immunológiailag aktív sejteket, endothelsejteket, simaizomsejteket és bizonyos tumorsejteket<sup>66</sup>. Az uPAR expresszióját különböző citokinek (TNF- $\alpha$ , IL-6) és növekedési faktorok (fibroblaszt és epidermális növekedési faktorok) képesek szabályozni<sup>67</sup>. Legújabb tanulmányok kimutatták, hogy fontos szerepet játszik az érbetegségek patogenezisében, mivel számos fiziológiai útvonal szabályozásával befolyásolja azok kialakulását<sup>68</sup>. Funkcióját tekintve, az uPAR egyrészt képes a plazminogén aktivációs rendszer szabályozására, a szerin proteáz urokináz plazminogén aktivátor (uPA) megkötése által. A keletkezett plazmin nélkülözhetetlen a fibrinolízis folyamatában, bizonyos mátrix metalloproteázokat (MMP3, MMP9, MMP12 és MMP13), és növekedési faktorokat (bFGF, VEGF, HGF, TGF- $\beta$ ) aktivál, ami az extracelluláris mátrix (ECM) és a jelátviteli útvonalak irányított átalakulását eredményezi<sup>69-71</sup>. Másrészt az uPAR közvetlen kölcsönhatásba lép a vitronektinnel, számos transzmembrán receptorral, például az integrinokkal vagy G-protein-kapcsolt receptorok (GPCR) családjával. Az idáig leírt 42 kölcsönhatásba lépő fehérjével képes elősegíteni az sejt-ECM kölcsönhatásokat, valamint a sejten belüli jelátviteli kaszkádok elindítását, amelyek sejtadhéziót, sejt migrációt, differenciálódást, proliferálódást idéznek elő<sup>65,72-74</sup>. (2.ábra)



2. ábra. uPAR működése és szabályozása a plazminogén aktivációs rendszerben.

*Forrás helye: Smith, H. W., & Marshall, C. J. (2010). Regulation of cell signalling by uPAR. Nature Reviews Molecular Cell Biology, 11(1), 23–36.*

Az uPAR a gyulladásos stimulációs során, az egyes citokinek (pl. TNF $\alpha$ ) hatására felszabadul a sejtekből, és az immunrendszer aktivációjától függően, különböző koncentrációban kimutathatóvá válik a vizeletben, plazmában, szérumban és cerebrospinális folyadékban<sup>74,75</sup>. A suPAR hasításért felelős enzimek, különböző proteázok (plazmin, metalloproteinázok, elasztázok, uPA,) és foszfolipázok (pl. GPI-specifikus foszfolipáz-C), melyek a hasítás helyétől függően, a suPAR három különböző formáját generálják (suPAR D1-D3, suPAR D2D3 és suPAR D1)<sup>76</sup>. A suPAR különböző fragmensei befolyásolják a suPAR által indukált jelátvitel irányát és eltérő módon vesznek részt a gyulladásos sejtek migrációjának, adhéziójának folyamatában, illetve az uPA megkötése által, az uPAR kompetitív inhibitoraként működve képesek gátolni az uPAR, uPA által közvetített proteolízist<sup>74,77,78</sup>. A suPAR számos betegséghez társul, beleértve a hepatitiszt, vesebetegséget, bizonyos fertőző betegségeket (HIV, tuberkulózis), cukorbetegséget, rákot és reumatológiai betegségeket.<sup>79</sup> Kimutatták, hogy erős előrejelzője az érlemeszesedésnek és az endothél diszfunkciónak, valamint szignifikánsan összefügg a koszorúér-betegség és iszkémiás stroke kockázatával<sup>80–82</sup>. Előnye a hagyományos akut fázisú fehérjékkel szemben, hogy szintje nem függ a napi változástól, független a testtömeg indextől, éhgyomori állapottól, hormonszintektől, valamint rendkívül stabilnak bizonyul a többszöri fagyasztási-olvasztási ciklus után is<sup>67,80</sup>. Ezért a klinikai rutinban egyre többet alkalmazzák prognosztikai biomarkerként.

#### 3.1.2.4. B-típusú natriuretikus peptid (BNP)

A natriuretikus peptidek (NP) olyan polipeptid mediátorok családját alkotják, amelyek evolúciósan konzerváltak és számos hatást fejtenek ki az egész szervezetben. Kulcsfontosságú szerepet játszanak az elektrolitok és vízháztartás homeosztázisának szabályozásában, valamint ellensúlyozzák a szív- és érrendszerre gyakorolt kedvezőtlen hatásokat a szívelégtelenség során a szimpatikus idegrendszerre (SNS) és renin-angiotenzin-aldoszteron rendszerre (RAAS) kifejtett ellentétes hatásuk révén<sup>81,82</sup>. A család három jól jellemzett hormont foglal magába: a B-típusú natriuretikus peptidet (BNP), a pitvari natriuretikus peptidet (ANP), és a C-típusú natriuretikus peptidet (CNP)<sup>83</sup>. Az elsőként az 1988-as években izolált BNP-t eredetileg agyi natriuretikus peptidként nevezték el<sup>87</sup>. A neve később megváltozott, mint kiderült, elsősorban a kamrai szívizomsejtek termelik térfogat-tágulás vagy nyomástúlterhelés esetén a kamrai szívizom elégtelenség során<sup>84,85</sup>. A B-típusú natriuretikus peptid preprohormonként (pre-proBNP) szintetizálódik, és további módosulások eredményeként prohormon proBNP-re hasad. Az endoproteázok a proBNP-t egy biológiailag aktív 32 aminosavból álló C-terminális fragmentummá, BNP-vé és egy inaktív 76 aminosavból álló N-terminális fragmentummá, az NT-proBNP-vé hasítják<sup>86,87</sup>. A véráramba jutó BNP a funkcionális aktivitását a szisztémás keringésben lévő endopeptidázokkal és célsejtek felszínén lévő nagy affinitású receptorokkal (NPR receptor) való kölcsönhatás révén fejt ki<sup>88</sup>. Ennek hatásai közé tartozik az értágulat, diurézis, a szív-és érizomsejtek növekedésének, valamint a renin és aldoszteron termelésének gátlása<sup>85</sup>. Szintjének emelkedése javítja a szívizom relaxációját, és fontos szerepet játszik a kamratérfogat akut növekedésre adott válaszában<sup>89</sup>. Az évek során a BNP-k vérszintje hasznos diagnosztikai és prognosztikai eszközzé vált számos szív és érrendszeri betegségben, beleértve a pangásos szívelégtelenséget, szívinfarktust és a koszorúér szindrómákat<sup>90</sup>. Az utóbbi időben egyre több bizonyíték szolgál arra, hogy a natriuretikus peptidek hatásai nemcsak a térfogat szabályozására korlátozódnak, hanem szerepet játszanak a helyi immunitás kialakításában. Az NP-receptorok lokalizációja különböző immunszervekben és -sejtekben (makrofágok, dendritikus sejtek, T-limfociták) és az, hogy az egyes immunszabályozó szerek szabályozzák expressziójukat és aktivitásukat, azt mutatja, hogy szerepük van az adaptív és veleszületett immunrendszer működésében<sup>91</sup>. Erre példa, a BNP plazmaszintjének jelentős emelkedése akut kardiális allograft kilökődés epizódja során, valamint olyan esetekben amikor a gyulladás jelentősen hozzájárul a betegség patogeneziséhez, például akut szívizomgyulladásban vagy szepszisben<sup>92,93</sup>. Ma és munkatársai egyértelműen bebizonyították, hogy az újszülött patkány kamrai szívsejtek tenyészteteiben az egyes proinflammatorikus citokinek, mint a TNF $\alpha$  és IL-

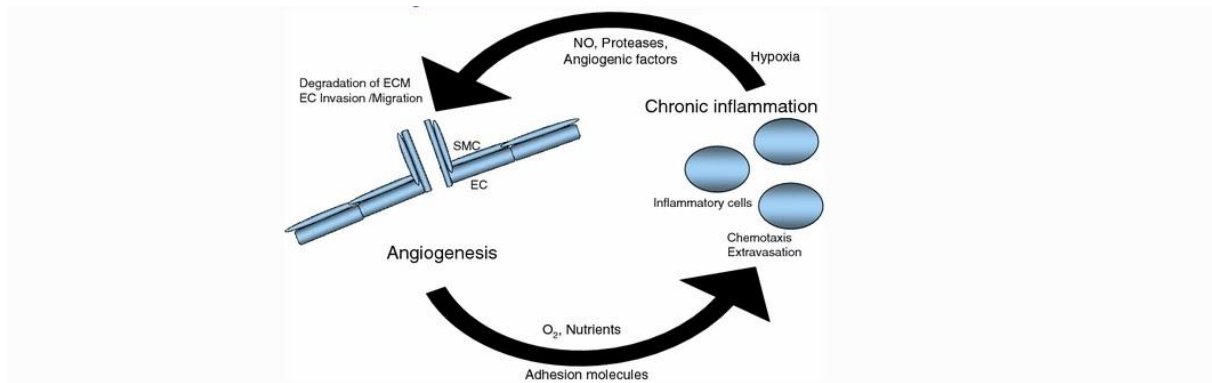
1 $\beta$  felelősek a fokozott BNP szintéziséért és szekrécióért. Ezt a hatást a p38 jelátvitelt használó útvonalon keresztül szabályozzák<sup>94</sup>. Emellett a BNP képes szabályozni az egyes fő gyulladási molekulák termelődését, így például nagymértékben serkenti reaktív oxigén- és nitrogénfajok (ROS és RNS) termelését NADPH oxidázon keresztül, jelentősen növelve ezekben a sejtekben a NO<sub>2</sub> felszabadulását. Hozzájárul a leukotrién B<sub>4</sub> (LTB<sub>4</sub>) és a prosztaglandin E<sub>2</sub> (PGE<sub>2</sub>) növekedéséhez, az arachidonsav felszabadulása által<sup>95</sup>. A létrejövő PGE<sub>2</sub> hatékonyan gátolja a dendritikus sejtek általi IL-12, TNF- $\alpha$  felszabadulását, és képes fokozni az IL-10 makrofágok termelését<sup>96</sup>. A BNP hatása ezáltal kettős, proinflammatorikus hatást fejt ki a ROS, RNS, NO<sub>2</sub>, LTB<sub>4</sub> termelés szabályozásán keresztül, miközben az antiinflammatorikus hatást támogatja a PGE<sub>2</sub> és IL-10 szintjének növelésével. Ezek az eredmények arra utalnak, hogy a proinflammatorikus citokinek és a keringő natriuretikus peptidek szintjei között erős kapcsolat van a különböző gyulladási ingerekre adott válaszként, és hogy a gyulladás kulcsfontosságú közvetítő lehet a szív endokrin funkcióinak zavarában, ami alátámasztja azt a hipotézist, hogy az autoimmun betegek esetében jellemző gyulladási folyamatok összefüggésben állnak a kardiovaszkuláris kockázattal<sup>97</sup>. Ezt az állítást támasztják alá azok a megfigyelések, melyek emelkedett BNP-szintről számoltak be számos autoimmun megbetegedésben, úgy, mint a rheumatoid arthritisben, spondylitis ankylopoeticában, szisztémás lupus erythematosusban és szisztémás szklerózisban<sup>98–101</sup>.

### 3.2. Az angiogenezis folyamata, kapcsolata a krónikus gyulladással

Az érlemezésedés specifikus körülményei között szerepel az oxidatív stressz, a gyulladás és az intima megvastagodás, amelyek hipoxiás állapotot idéznek elő az artériákban. Ennek eredményeként az oxigén diffúzió a lumenből elégtelenné válik, ami fokozott véredényképződést (angiogenezist) vált ki a gyulladt szöveten belül<sup>102,103</sup>. Az angiogén faktorok megjelenése növeli az endothéliális felületet, ami az érfal megvastagodásához és a gyulladási sejtek migrációjához vezet, elősegítve ezzel a plakk progresszióját<sup>104,105</sup>. A létrejövő neokapillárisok törékenysége pedig instabilitást okoz és thromboemboliás eseményekhez vezet<sup>106</sup>. Az angiogenezisben szerepet játszó faktorok közül, a *vaszkuláris endothéliális növekedési faktor (VEGF)* a gyulladási angiogenezis kulcsfontosságú szabályozója, melynek expresszióját elsősorban a hipoxia által indukálható faktorok (HIF) és a gyulladási folyamatokra jellemző proinflammatorikus citokinek (pl. TNF $\alpha$ ) indukálják. A VEGF közvetlenül stimulálja az angiogenezist, és nélkülözhetetlen az endothél sejtek migrációjához és proliferációjához, valamint elősegíti a gyulladási sejtek szaporodását azáltal,

hogy serkenti a természetes ölüsejtek adhézióját és a monocita kemotaxist<sup>107-109</sup>. Az *angiopoietin-1* (*Ang-1*) a Tie2 receptorhoz kötődik, gátolja az endothéliális apoptózist, indukálja az új erek képződését, csökkenti az erek permeabilitását. A VEGF-ANG-Tie2 rendszer közötti kölcsönhatás az erek stabilizálásának szempontjából fontos tényező<sup>110</sup>. Ezzel szemben, gyulladás során, az *angiopoietin-2* (*Ang-2*) az angiopoietin-1 antagonistájaként működik közös receptorhoz való kötődésük révén, gátolja az ér érését és destabilizálja az endothéliumot<sup>111-113</sup>. A *trombocita eredetű növekedési faktor BB* (*PDGF-BB*) szintén serkenti az angiogenezist, elősegíti a simaizomsejt proliferációt és az extracelluláris mátrix (ECM) szintézisét<sup>114</sup>. A *thrombospondin-1* (*TSP-1*) az extracelluláris mátrixban található glikoprotein, amely többdoménos szerkezete révén, képes különböző ligandumokkal, pl. citokinekkal, az ECM komponenseivel, növekedési faktorokkal, proteázokkal kölcsönhatásba lépni, ezáltal szabályozni aktivitásukat. Az angiogenezis hatékony endogén inhibitoraként a TSP-1 gátolja az endothélsjtek migrációját és proliferációját, elősegíti a vaszkuláris simaizomsejtek proliferációját és migrációját, hozzájárul az apoptózishoz, valamint az VEGF aktivitásának antagonizálásához<sup>115-117</sup>.

Az angiogenezis kritikus szerepet játszik számos gyulladásos autoimmun betegségben, például rheumatoid arthritisben, spondylitis ankylopoeticában, szisztémás lupus erythematosusban, szisztémás szklerózisban, pikkelysömörben és az érlemeszesedésben<sup>118-120</sup>. Az angiogenezis és a krónikus gyulladás ugyanazon molekuláris események által váltódhatnak ki, így szorosan összefüggenek. A hipoxia mint közös inger, a növekedési faktorok fokozott termelését, valamint az egyes immunsejtek és makrofágok felhalmozódását eredményezi<sup>121-123</sup>. Számos gyulladásos állapotban a citokin és kemokin felszabadulása az endothélsjtek aktiválását eredményezi, míg az immunsejtek közvetlenül vagy közvetve felszabadíthatják az angiogén mediátorokat<sup>121,124,125</sup>. Az angiogenezis azonban fenntartja a gyulladást, mivel biztosítja a tápanyagokat és az oxigént a sejtek metabolikus igényeihez. (3.ábra)



3.ábra. A krónikus gyulladás és angiogenezis kapcsolata. Forrás hely: Costa, C., Incio, J., & Soares, R. (2007). *Angiogenesis and chronic inflammation: cause or consequence? Angiogenesis*, 10(3), 149–166.

Az összefüggést alátámasztja, hogy a rheumatoid arthritis (RA) és az spondylitis ankylopoetica (SPA) betegségben szerepet játszó TNF $\alpha$  magas szintje nemcsak az endothéliális diszfunkció kialakulásához, hanem az angiogenezis folyamatában is részt vesz, ugyanis közvetlen hatással van az endothelsejtek migrációjára, proliferációjára és az új erek képződésére<sup>126,127</sup>.

### 3.3. A vaszkuláris és csont-státusz összefüggései arthritises betegekben

#### 3.3.1. A csonttrikulás mint társbetegség RA-s és SPA-s betegekben

A csont egy dinamikus szövet, melyet a csontképző sejtek (oszteoblasztok) által közvetített csontlerakódás és a csontlebontó sejtek (oszteoklasztok) általi csontfelszívódás határoz meg. Normál fiziológias körülmények között a két folyamat közötti egyensúlyt a koordinált jelátviteli mechanizmusok szabályozzák<sup>128</sup>. A csonttrikulás a csontremodelláció gyakori rendellenesége, mely során felborul az egyensúly a csontfelszívódás és csontképződés között. A folyamat eredménye egy csökkent ásványianyagsűrűségű és szilárdságú csont lesz, mely megnövekedett törési kockázattal jár együtt<sup>129</sup>. A gyulladást a csonttrikulás lehetséges kockázati tényezőjeként azonosították a reumatológiai ízületi megbetegedések során.

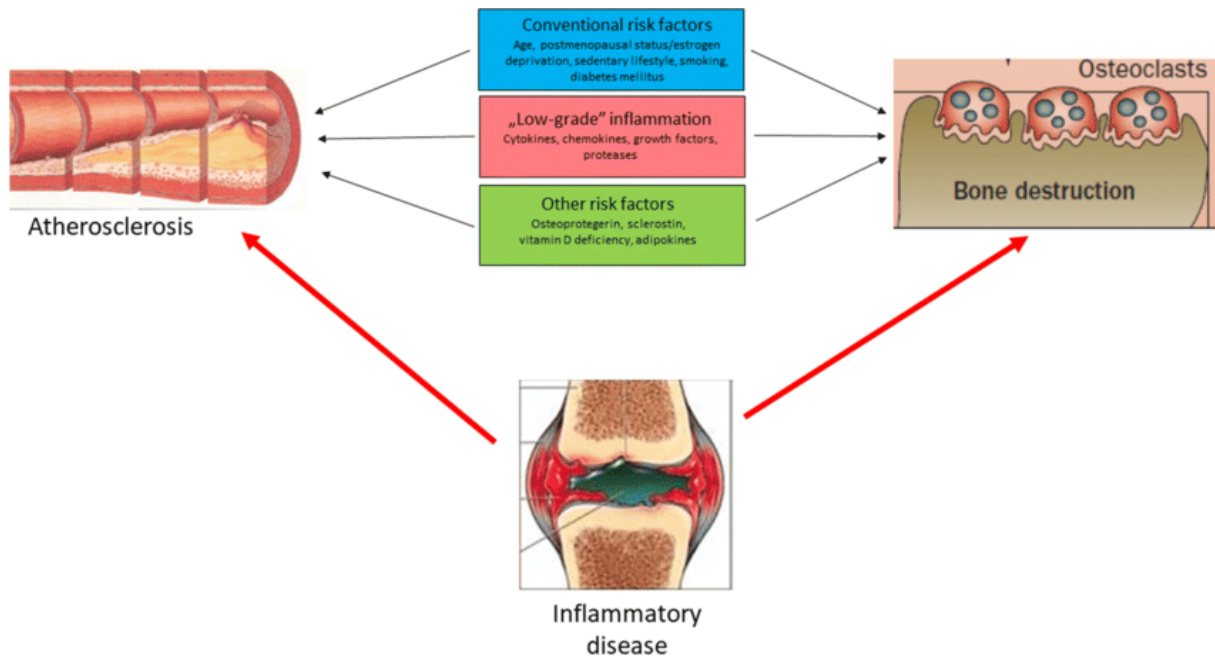
Rheumatoid arthritisben szenvedő betegeknél gyakran jelentkezik a csontvesztés, különösen az ízület körül (periartikuláris). Az ízületi csontterózió fő kiváltó oka a szinovitis, mely a gyulladást elősegítő citokineken, elsődlegesen a TNF $\alpha$ -n keresztül a fő oszteoklaszt differenciációs faktor, a RANKL szintézisét indukálja, eltolva ezzel az egyensúlyt a

csontfelszívódás irányába<sup>130</sup>. Az autoantitestek, mint például a rheumatoid faktor (RF) és az anti-citrullinált fehérje (ACPA), szintén hozzájárulnak a csonttritkulás kialakulásához<sup>131</sup>. Klinikai vizsgálatok támasztják alá, hogy a régóta fennálló RA betegek esetében a teljes csípő- és combnyak BMD-je csökkent az egészséges kontroll betegcsoportéhoz képest, csaknem kétszeres kockázatot jelentve a csigolya-és csípőtörésekre<sup>5</sup>. Magának a gyulladásnak a csontokra gyakorolt hatását tükrözi, hogy a felgyorsult csontvesztés összefüggést mutatott a magas betegségaktivitással<sup>132</sup>.

A spondylitis ankylopoetikában (SPA) szenvedő betegeknél a gyulladás és új csontképződés az axiális ízületeket és csigolyaközi tereket érinti, általában azokon a helyeken, ahol a szalagok és/vagy ínak kötődnek a csonthoz. Patofiziológiájában a gyulladás és csontosodás együttesen szerepet játszik, új csontképződményeket hoz létre a gerinc bizonyos területein, mely a betegségre jellemző gyulladásos hátfájást és a gerincmozgások korlátozottságát okozza<sup>133</sup>. Az SPA betegek esetében az axiális csonttritkulás előfordulása magas, még a betegség korai stádiumában és enyhe progresszió esetén is, amely az esetek 4-18%-ában csigolyatörést is okozott<sup>134</sup>. Az SPA-ban jelentkező osteoporózis kialakulásához hozzájárulhat a krónikus gyulladás és immobilizáció, amelyek a mozgáskorlátozottság és gerincfájdalom következményei lehetnek.

### *3.3.2. A gyulladásos érelmeszesedés és csontvesztés kapcsolata arthritises betegeknél*

A szív- és érrendszeri betegségeknek és a csontvesztésnek számos közös kockázati tényezői léteznek, ide tartozik például az ülő életmód, a dohányzás, az öregedés, az ösztrogénhiány, valamint a cukorbetegség<sup>6</sup>. Az arthritises betegek esetében a krónikus gyulladás szintén jelentős tényező lehet mindkét betegség kialakulásában. A gyulladásos folyamatokhoz kapcsolódó adhéziós molekulák fokozott expressziója, a proinflammatorikus citokineket kiválasztó sejtek bősége, a neovaszularizáció folyamata, valamint a kollagénbontó enzimek felszabadulása, mind hozzájárulhat az ízületek csont- és porc eróziójához, valamint az ateroszklerotikus plakkok instabilitásához. Ezek az összefüggések azt sugallják, hogy a közös patológiás mechanizmusok összekapcsolhatják ezeknek a betegségeknek a kialakulását arthritisen. Ezt támasztja alá azon megfigyelés, hogy RA betegeknél az osteoporotikus törések után nagyobb a szív- és érrendszeri betegségek kockázata, függetlenül a hagyományos kardiovaszkuláris kockázati tényezőktől<sup>5</sup>.



4.ábra A gyulladás, érlemezés és csonttrikulás kapcsolata. Forrás hely: Szekanecz, Z., Ratterman, H. G., Pethő, Z., & Lems, W. F. (2019). Common mechanisms and holistic care in atherosclerosis and osteoporosis. *Arthritis Research & Therapy*, 21(1), 15.

Az artériák simaizomsejtjei a gyulladással ingerek hatására, képessé válnak oszteoblasztokká differenciálódni, és olyan csontsejtekre jellemző különböző fehérjéket termelni, mint az oszteokalcin, RANKL, oszteoprotegerin és csontmorfologiai fehérje (BMP) hozzájárulva ezzel az érlemezés folyamatához<sup>135</sup>. Csontszinten ugyanezek a gyulladással ingerek az oszteoklasztok differenciálódását serkentik, ami a csontvesztést és az egyes törések kialakulását eredményezi<sup>136</sup>. (4.ábra) A C-reaktív fehérje és a gyulladást elősegítő citokinek fontos szerepet játszanak a csontfelszívódás és az érlemezés kialakulásában. Az emelkedett TNF $\alpha$ , IL-6 és CRP szintek összefüggésbe hozhatók a nem traumás eredetű osteoporotikus törésekkel és a szívinfarktussal<sup>137</sup>.

Habár az egyes csonttrikulásos megbetegedésekre alkalmazott terápiáknak kedvező kardiovaszkuláris hatásai lehetnek és fordítva, az egyes vasoaktív szereknek jó hatásai lehetnek a csontra, a gyulladással ízületi megbetegedések során, magának az alapbetegségnek a kezelése is javíthatja a társbetegségek kialakulásának kockázatát. A jelenleg alkalmazott TNF $\alpha$ -gátló terápiák megelőzhetik a betegséggel összefüggő szisztémás csontvesztést, valamint csökkenthetik a szív- és érrendszeri betegségek kialakulásának kockázatát<sup>138,139</sup>.

### 3.3.3. A csontanyagcsere markerei és szabályozói, lehetséges szerepük az érrelmeszesedés folyamatában.

A csont folyamatos megújulása az építő és bontó folyamatok dinamikus egyensúlyán alapul, amely során az oszteoblasztok és oszteoklaszok által termelt, valamint a csontállomány elbomlásából származó anyagok kerülnek a vérbe. Az ilyen biomarkerek mérésével következtetni lehet a megújulás adott fázisának aktivitására. Több epidemiológiai tanulmány utal arra, hogy kapcsolat van a károsodott csontanyagcsere és a vaszkuláris meszesedés között. A meszesedés folyamatát olyan tényezők szabályozhatják, amelyek ismertek a csontmegújulásban játszott szerepükről<sup>135,136</sup>. A továbbiakban a vizsgált csontmarkerek ezen kettős szerepére fókuszálunk annak érdekében, hogy megértsük a csontvesztés patofiziológiáját és annak összefüggését az érrendszeri károsodással.

#### *Csontképző biomarkerek*

A csontok legnagyobb mennyiségben előforduló fehérjéje az I-es típusú kollagén, amely a csontok 90%-át alkotja. A szérumban *I-es típusú prokollagén N-terminális propeptid (PINP)* biomarker a kollagén szintézis során keletkezik az oszteoblasztok által, és koncentrációja tükrözi az új csontképződés mennyiségét<sup>140</sup>. Az *oszteokalcin (OC)* az oszteoblasztok által szintetizált fehérje, mely a karboxilációs folyamatokon keresztül kerül a véráramba<sup>141</sup>. Hagyományos marker a csonttritkulásban kialakuló csontképződés sebességének értékelésére<sup>142</sup>. Az OC nem csak a csontok által termelődik, hanem a vaszkuláris simaizomsejtek is képesek kifejezni<sup>143</sup>. Egy kutatás kimutatta, hogy az OC közvetlenül befolyásolja a Wnt által vezérelt VSMC meszesedés folyamatát, ami hozzájárulhat az érrendszeri betegségek kialakulásához<sup>144</sup>. Az érrelmeszesedésben beöltött szerepe azonban nem ismert.

#### *Csontreszorpciós biomarkerek*

Az *I. típusú kollagén C-terminális telopeptid (CTX-I)* az I-es típusú kollagént tartalmazó piridinium-keresztkötések lebomlásának terméke<sup>145</sup>. A katepszin K nevű enzim termeli, mely az oszteoklaszt eredetű csontlebontás fontos kulcsenzime<sup>146</sup>. Emelkedett szintje, megnövekedett oszteoklaszt aktivitást és a helyi csontteróziót tükröz<sup>147</sup>. Egyes tanulmányok azt sugallják, hogy a szérumban CTX-szintek előre jelezhetik a carotis falának megvastagodását az

idős populációban, azonban a szív- és érrendszeri betegségekkel való összefüggése még nem tisztázott<sup>148</sup>.

A *katepszin K (CATHK)* egy cisztein proteáz, mely fontos szerepet játszik az oszteoklasztok működésében és a csontmátrix fehérjekomponenseinek lebontásában. Hatékonyan képes lebontani az I-es és II-es típusú kollagént, és az extracelluláris mátrix glikoproteint, az oszteonektint<sup>149,150</sup>. Az egyes proinflammatorikus citokinekre (TNF $\alpha$ , IL-1 $\beta$ ) adott válaszként felelős az oszteoklasztok általi csontreszorpcióért és a fibroblasztok által közvetített porcpusztulásért<sup>151</sup>. Emelkedett expresszióját mutatták ki az SPA és RA betegségek esetében, fokozott szérumszintje szignifikánsan korrelált az ízületi károsodással<sup>152,153</sup>. A katepszin K-ról ismert, hogy a plakk képződésben részt vevő sejtek közül a simaizomsejtek, makrofágok és endothélsejtek is expresszálják<sup>154</sup>, emelkedett szintje összefüggésben áll a koszorúér-betegség kialakulásával<sup>155</sup>. Az instabil ateroszklerotikus plakkokban felgyorsíthatja az érlemeszesedés folyamatát és a plakk instabilitását okozhatja<sup>156</sup>.

#### *A csontforgalom szabályozói*

A *receptor aktivátor nukleáris faktor kappa B ligand (RANKL)* és receptora a RANK a TNF családba tartoznak, a csontok átalakulásának kulcsfontosságú szabályozói, melyek nélkülözhetetlenek az oszteoklasztok kialakulásában és aktiválásában<sup>161,157</sup>. Az *oszteoprotegerin (OPG)* a RANKL oldható csali receptoraként működik, megvédi a csontot a túlzott csontfelszívódástól a RANKL-hez való kötődéssel. A RANKL/OPG arány a csontreszorpció döntő meghatározója, aránya fontos a csonttömeg és csontváz integritás szempontjából<sup>158,159</sup>. A RANK/RANKL/OPG rendszer szabályozását számos tényező befolyásolja, beleértve a hormonokat (D-vitamin, ösztrogén), citokineket (TNF $\alpha$ , IL-1, IL6, IL-17) és transzkripciós faktorokat<sup>160</sup>. Ezenkívül az OPG szabályozásában a Wnt/ $\beta$ -katenin jelátvitel is szerepet játszik<sup>161</sup>. A RANKL mind az aktivált CD4+ és CD8+ T-sejteken expresszálódik, amely megmagyarázza, hogy az autoimmun betegségek miért eredményeznek lokális és szisztémás csontvesztést<sup>162</sup>. Egyre több bizonyíték áll rendelkezésre arra vonatkozóan, hogy a RANKL/OPG rendszer hozzájárulhat a vaszkuláris meszesedés kialakulásához az ateroszklerotikus helyeken. A RANKL elősegíti a vaszkuláris simaizomsejtek (VSMC) patológiás differenciálódását oszteoblaszt fenotípusú sejtekké a csont morfogenetikai fehérje (BMP) expresszióján keresztül.

A *Dickkopf-1 (DKK-1)* nevű molekula a Wnt jelátviteli útvonal természetes gátlója, ami fontos szerepet játszik a csontképződésben. Emelkedett szintje RA és SPA betegek esetében prognosztikai marker lehet<sup>163–166</sup>. A DKK-1 keresztköti az alacsony sűrűségű lipoprotein receptor- kapcsolt fehérje 5/6-ot (LRP5/6) a kremen transzmembránfehérjével, gátolva ezzel a Wnt általi aktivitást, ami a csontképződést és differenciálódást blokkolja<sup>167</sup>. Ugyanakkor elősegíti a csontfelszívódást azáltal, hogy felerősíti a makrofág kolónia stimuláló faktor expresszióját, ami az oszteoklasztok aktivitásában játszik szerepet<sup>168</sup>. A DKK-1 expressziójának kulcsfontosságú induktorának a TNF $\alpha$ -t tartják számon<sup>169</sup>. A közelmúltban, számos tanulmány kimutatta, hogy az endothéltől és vérlemezkékből származó DKK-1 hozzájárulhat az ateroszklerotikus léziók progressziójához azáltal, hogy elősegíti az endothél aktivációt, leukocita migrációt és a gyulladást<sup>170,171</sup>. Koncentrációja szignifikánsan korrelált a carotis plakkok jelenlétével és a koszorúér meszesedéssel<sup>172</sup>. Emiatt magas szérumszintje összefüggést mutathat szívinfarktusbán<sup>173</sup>, iszkémiás strokeban<sup>174</sup> és stabil angin pectoris<sup>175</sup> betegségben.

A *szklerosztin (SOST)* egy glikoprotein, amelyet főként oszteociták szekretálnak<sup>176</sup>. Az SOST azonos funkciót tölt be, mint a DKK-1, mivel gátolja a Wnt/ $\beta$ -katenin jelátvitelt, amely fontos a csontképződés szempontjából<sup>177</sup>. Szerepe van az oszteoklasztok által közvetített oszteoblaszt csontképződés gátlásában, valamint a RANKL szekréciójának serkentésében, ami egy fokozott csontreszorpciót generál<sup>178</sup>. Expresszióját különböző tényezők befolyásolják, beleértve az ösztrogénhiányt, mechanikai ingereket, D-vitamint, mellékpajzsmirigy hormont (PTH) és a prosztaglandin E<sub>2</sub>-t<sup>179</sup>. Kimutatták, hogy gyulladással állapot során az egyes proinflammatorikus citokinek szabályozzák a szklerosztin expresszióját<sup>180</sup>, ugyanakkor a DKK-1 is képes közvetlenül stimulálni az oszteociták SOST termelését<sup>181</sup>. Magasabb szérumszintjét RA esetében számos tanulmány igazolta<sup>180,182</sup>. Szerepe az érrendszeri homeosztázisban nem egyértelmű, de korábbi tanulmányok kimutatták, hogy az SOST artériás merevségének független prediktora lehet egészséges felnőtteknél<sup>183</sup>, pozitív korrelációt mutat a koszorúér meszesedésével a nem dialízált vesebetegeknél<sup>184</sup>, valamint a carotis-femorális pulzushullám terjedési sebességgel (PWV) a posztmenopauzális csonttrikulásban<sup>185</sup>.

A mellékpajzsmirigy által termelt *parathormon (PTH)* egy 84 aminosavból álló fehérje, mely a vérben lévő alacsony kalcium szint hatására szabadul fel. A PTH egy G-protein-kapcsolt receptoron, az 1-es típusú PTH receptoron (PTH1R) keresztül hat<sup>186</sup>. A kalcium homeosztázis fő szabályozója, ezáltal fontos szerepet játszik a csontanyagcserében. A PTH aktiválja a csonttréteg sejtjeit, csökkenti az oszteoblasztok apoptózisát és serkenti az oszteoblasztok aktivitását a növekedési faktorok fokozása révén<sup>187</sup>. A PTH1R receptort az

oszteoblasztok, oszteociták mellett a T-limfociták is expresszálják. Kimutatták, hogy a csontvelői CD8+ T-sejteken keresztül növeli a Wnt-jelátviteli aktivitást, ezáltal serkentve az oszteoblasztok differenciálódását<sup>188</sup>. A PTH-receptorok jelenléte kimutatható a szív- és érrendszeri sejtekben is, ami a PTH szerepére utalhat az ezen betegségek patofiziológiájában. Számos klinikai vizsgálat mutatott ki összefüggést a szérumban lévő PTH és a beszűkült koszorúerek száma, a magasvérnyomás, a nyaki verőér (carotis) merevség között<sup>189</sup>, azonban a PTH pontos szerepe az érlemezésben további kutatásokkal kell tisztázni.

A *25-OH-D3-vitamin (D3-vitamin)* egy szteroid hormon, fontos szerepet játszik a csont- és kalcium-anyagcserében. Szintézisét elsősorban a PTH szabályozza<sup>190</sup>. D-vitamin hiány esetén csökkent ásványianyag-sűrűség, nagyobb csontforgalom és a törések számának növekedése figyelhető meg<sup>191</sup>. Emellett a 25-OH-D3-vitamin immunmoduláló hatással rendelkezik, elnyomja az adaptív immunitást azáltal, hogy gátolja számos proinflammatorikus citokin termelődését, serkenti a Th2 limfociták hatását, szabályozza az antigénprezentáló sejteket, csökkenti a B-sejtek proliferációját és differenciálódását<sup>192</sup>. Hiányát összefüggésbe hozták az RA és SPA kialakulásának fokozott kockázatával<sup>193,194</sup>. A D-vitamin érvédő hatással is rendelkezik, csökkenti a gyulladásos folyamatokat, javítja az endothél diszfunkciót és gátolja a vaszkuláris simaizomsejtek proliferációját. Alacsony szintje az érlemezésben megfigyelhető koszorúér-meszesedések kialakulásának fokozott kockázatával jár<sup>195</sup>.

## 4. CÉLKITŰZÉS

### Első vizsgálat

RA és SPA betegek bevonásával, olyan vaszkuláris biomarkereket vizsgáltunk (oxLDL/ $\beta$ 2GPI komplex, aHsp60, suPAR, BNP fragmens), melyek részt vehetnek az autoimmun-mediált érgyulladás és oxidatív stressz kialakulásában.

- Meghatároztuk az anti-TNF terápia hatását a biomarkerek szérumszinjére 6 és 12 hónappal a kezelés megkezdése után
- Összefüggéseket kerestünk a vaszkuláris biomarkerek, valamint a betegségaktivitás (DAS28/BASDAI), a szisztémás gyulladás markerei (CRP, We), a lipidparaméterek (TC, TG, HDL-C, LDL-C), az egyes autoantitestek (RF, ACPA) és a vaszkuláris fiziológiai ultrahang vizsgálat (IMT, FMD, PWV) értékei között.

### Második vizsgálat

A második vizsgálat során munkacsoportunk két korábbi tanulmányának adatait vettük alapul. Az adatok ugyanazon betegcsoport, ugyanabban az időpontban mért érrendszeri<sup>196,197</sup>, csont státusz<sup>198,199</sup> eredményeit tartalmazták, amelyeket új szempontok szerint elemeztünk. A célunk az volt, hogy meghatározzuk a csont és vaszkuláris markerek közötti összefüggéseket, valamint, hogy az anti-TNF terápia hatásának vizsgálatával összehasonlítsuk a kezelés előtti és utáni adatokat, hogy meghatározzuk a csont és érrendszeri állapotok közötti kapcsolatot. Az általunk alkalmazott statisztikai analízisek a következők voltak:

- Keresztmetszeti vizsgálat során az értékek közötti lineáris kapcsolat nagyságát és irányát elemeztük
- Egyváltozós- és többváltozós regressziós analízissel az egyes értékek közötti ok-okozati összefüggéseket értékeltük
- Általános lineáris modell (GLM) ismételt méréses varianciaanalízissel (RM-ANOVA)
  - két független tényező hatását vizsgáltuk a folyamatosan függő változóra
- Ismételt méréses multifaktoriális varianciaanalízis (MANOVA) segítségével egy vagy több független változó két vagy több függő változóra gyakorolt hatását vizsgáltuk.

## 5. BETEGEK ÉS MÓDSZEREK

### 5.1. A vizsgált betegcsoport

A vizsgálatba bevont betegek a Debreceni Egyetem Klinikai Központ, Reumatológiai Klinika szakrendeléseiről kerültek bevonásra. Beválasztási kritérium volt az RA betegek ACR (American College of Rheumatology) illetve SPA betegek ASAS (Assessment of Spondyloarthritis International Society) kritériumok alapján történő diagnosztizálása. A bevonás előfeltétele volt a korábbi DMARD, illetve biológiai terápia hatástalansága vagy olyan mellékhatása, ami a terápia megváltoztatását indokolta, valamint a folyamatosan fennálló ízületi gyulladás, amit az RA betegek esetében a DAS28 $>5,2$  feletti, SPA betegek esetében a BASDAI $>4$  feletti betegségaktivitási index értéke is igazolt.

Kizárási kritériumok közé a kezeletlen magasvérnyomás ( $>140/90$  Hgmm), pangásos szívelégtelenség, cukorbetegség, az RA és SPA-n kívüli egyéb gyulladásos betegség, infekció, illetve vesebetegség megléte tartozott. Egyik beteg sem részesült aszpirin, klopidogrel, heparin, warfarin vagy vazoaktív gyógyszeres kezelésben. A betegek nem szenvedtek elsődleges csontritkulásban az RA vagy SPA diagnosztizálásuk előtt. Azon betegek, akik korábban D-vitamint, illetve kalciumot kaptak, legalább 3 hónappal a terápia megkezdése előtt már nem kaptak további gyógyszeres kiegészítést. A magasvérnyomással rendelkező betegek legalább 6 hónappal a vizsgálat megkezdése előtt stabilizálódott betegséggel, ennek megfelelő gyógyszeres kezelésben részesültek, melyek esetében az anti-TNF terápiás kezelés során nem történt változtatás.

A vizsgálatba összesen 53 beteg került bevonásra, 34 nő és 19 férfi, akiknek átlag életkoruk  $52,0\pm 12,1$  (tartomány: 24-83) év, a diagnózis felállításakor az átlagéletkor  $43,5\pm 12,1$  (tartomány: 23-62) év, a betegség átlag időtartama pedig  $8,5\pm 7,9$  (tartomány: 1-44) év volt. Kiinduláskor az RA és SPA betegek átlag DAS28 értéke  $5,00\pm 0,86$ , az átlag BASDAI értéke pedig  $5,79\pm 1,19$  volt. A rájuk vonatkozó főbb jellemzőket az *1. táblázat* foglalja össze.

A 36 RA beteg közül 20 beteg etanercept (ETN) terápiában (50mg/hét), 16 beteg certolizumab pegol (CZP) terápiában (400 mg a 0., 2. és 4. héten majd 2 hetente 200mg) részesült. Közülük 18 ETN terápiában, 13 CZP terápiában részesülő RA beteg methotrexáttal kombinációban, a többi beteg monoterápiaként kapta a biológiai terápiát. A 17 SPA beteg 50mg/hét ETN monoterápiában részesült. Kiegészítő alacsony dózisú metilprednizol kezelést ( $<6$ mg/nap) 12 RA és 2 SPA beteg kapott. A kezeléseket minden esetben a korábbi terápia kimosási idejét figyelembe véve, az előírt szűrővizsgálatok után kezdtük meg. A vizsgálatokat a terápia megkezdése előtt, valamint a kezelés utáni 6. és 12. hónapban végeztük el. A Helsinki

Deklarációnak megfelelően a betegek a megfelelő írásbeli és szóbeli tájékoztatást követően a beleegyező nyilatkozat aláírásával hozzájárulásukat adták a vizsgálatban való részvételhez. A tanulmányt a Magyar Tudományos Akadémia Tudományetikai Bizottsága jóváhagyta (jóváhagyási szám: 14804-2/2011/EKU)

1. táblázat. A vizsgálatba bevont betegek jellemzői

	RA	SPA	Teljes
Esetszám	36	17	53
Nő: férfi	31:5	3:14	34:19
Életkor (átlag±SD) (tartomány), év	55.9±9.8 (35-83)	43.6±12.4 (24-72)	52.0±12.1 (24-83)
Betegség fenállása (átlag±SD) (tartomány), év	9.1±8.3 (1-44)	7.2±7.0 (1-26)	8.5±7.9 (1-44)
Menopauza állapot (nők száma)	25	1	26
Menopauza fenállása, év	11,0±7,6	23,0	12,0±7,8
Menopauza hormonpótlás (nők száma)	7	1	8
BMI (átlag±SD), kg/m <sup>2</sup>	29,3±3,6	31,1±3,8	29,9±3,7
Elhízás (BMI>30 kg/m <sup>2</sup> )	17	11	28
Dohányzás (jelenlegi)	7	7	14
Posztív kardiovaszkuláris előzmény	8	1	9
Cukorbetegség	3	1	4
Magas vérnyomás betegség	17	4	21
Osteoporoticus eredetű törés	10	7	17
Kortikoszteroid használat (átlag±SD)	3,8±5,9	0,6±0,9	2,8±5,1
RF pozitivitás, darabszám (%)	26 (72)	-	-
ACPA pozitivitás, darabszám (%)	21 (58)	-	-
DAS28 (kezdőérték) (átlag±SD)	5.00±0.86	-	-
BASDAI (kezdőérték) (átlag±SD)	-	5.79±1.19	-
Kezelés (ETN, CZP)	20 ETN, 16 CZP	17 ETN	37 ETN, 16 CZP

Rövidítések. ACPA: anti-citrullinált protein antitest; BASDAI: Bath Ankylosing Spondylitis Disease Activity Index; BMI: testtömeg-index; CZP: certolizumab-pegol; DAS28: 28-joint disease activity score; ETN: etanercept; RF: reumatoid faktor; RA: reumatoid arthritis; SD: szórás; SPA: spondylitis ankylopoetica.

## 5.2. Laboratóriumi vizsgálatok

Az egyes vizitek alkalmával a rutin laborvizsgálatok részeként éhgyomri vérvétel során meghatározott összkoleszterin (TC), triglicerid (TG), alacsony sűrűségű lipoprotein koleszterin (LDL-C), magas sűrűségű lipoprotein koleszterin (HDL-C) értékeket rögzítettük. A magas szenzitivitású CRP (hsCRP; normál≤5mg/l) és IgM típusú reumatoid faktor (RF; normál≤50

IU/ml) szinteket, CRP és RF reagenseket használva (Dialab) kvantitatív nephelometriával (Cobas Mira Plus-Roche), az anticiklikus citrullinált peptid antitest (ACPA/aCCP) szérumszintjét egy második generációs RA-immunoszken CCP2 ELISA teszt segítségével (Euro Diagnostica; normal  $\leq 25$  IU/ml) határoztuk meg.

### **5.3. A vaszkuláris patofiziológia ultrahangos vizsgálat**

*Az arteria branchialis áramlás mediált dilatáció (FMD)* meghatározása az endothéliális diszfunkció non-invazív értékelésének hatékony eszköze. Mérését képzett szonográfus segítségével, egy 30 perces pihenőt követően a jobb karon 10 MHz-es lineáris transzducerrel (ultrahangos rendszer: HP Sonos 5500), EKG-kapuzás mellett végeztük el. A brachialis artéria hosszanti B-módban készített metszetét a könyökhajlat felett nyertük. Az alkaron elhelyezett vérnyomásmérő mandzsetta segítségével reaktív hyperaemiát idéztünk elő úgy, hogy egy 4,5 perces időtartamra szupraszisztolés nyomást hoztunk létre, majd hirtelen felengedtük. A deflációt követően a maximális áramlásnövekedés következtében kialakult átmérőváltozást 90 másodpercig folyamatosan digitálisan rögzítettük. Az áramlási sebességet, a kiindulási átmérőt, valamint az FMD-t offline módban detektáltuk. Az FMD értéket a kiindulási (nyugalmi) állapottól való eltérés százalékában fejeztük ki.

A kétoldali *arteria carotis communis intima-média vastagság (IMT)* az érlelmeszesedés megbízható markere korai stádiumban. A ccIMT meghatározása során, duplex ultrahangos vizsgálattal (HP Sonos 5500, 10 MHz lineáris transzducer) a jobb és bal oldali arteria carotis communisról rögzített, hosszanti, nagy felbontású B-módú ultrahangmetszet készült, melyek R hullám szinkronizálással kerültek rögzítésre. Az offline méréseket 10 mm-re proximálisan a carotis bulbustól a transzducertől távolabb eső érfalon végeztük el. Az IMT meghatározásához a lument határoló első (lumen-intima határ) és a második (média-adventitia határ) echogén vonalak közötti távolságot mértük és 10 mérés átlagát vettük mindkét oldalon. A ccIMT értékeit mm-ben adtuk meg.

*A pulzushullám terjedési sebességgel (PWV)* az artériás érfali merevséget jellemezhetjük. Méréséhez a TensioClinic arteriográf rendszert (Tensiomed Ltd, Budapest, Magyarország) alkalmaztuk. Az arteriográf a kezdeti vérnyomásmérés után a felkarra helyezett mandzsettát 35 Hgmm-es szisztolés nyomásérték fölé fújta. A működési elve azon alapszik, hogy a szívből kilépő pulzushullám visszaverődik az aorta faláról minden diszkontinuitásnál, ezért egy második visszavert hullám keletkezik, ami késői szisztolés csúcsként jelenik meg. A második hullám a perifériális erek tónusától és az aorta rugalmasságától függő idő elteltével az első

hullámra rakódik. A pulzushullám analízise során az elsődleges és visszavert nyomáshullám rögzítésre kerül. A két nyomáshullám időbeli különbségéből, valamint a szeméremcsont felső része (symphysis) és a szegycsont (fossa jugularis) közötti távolságból számoltuk ki a PWV értéket, melyet m/s-ben fejeztünk ki.

#### 5.4. Statisztikai analízis

A statisztikai elemzést az SPSS 22.0 verzió (IBM) szoftverrel végeztük el. Az egyes csoportok közötti nominális változókat a Pearson-féle khí-négyzet próbával vagy Fisher teszttel értékeltük, és a változók százalékos megoszlását adtuk meg. A folytonos változókat kétmintás t-próbával és Wilcoxon próbával hasonlítottuk össze, az értékeket átlag $\pm$ SD-ként jellemeztük. Az egyes összefüggéseket a Pearson-féle vagy Spearman-féle korrelációs elemzés határozta meg.

Az egyváltozós és többváltozós regresszióanalízis során a függő és független változók közötti ok-okozati kapcsolatot modelleztük, mely során a függő változónak a kardiovaszkuláris- vagy csont biomarkereket, független változónak az egyéb klinikai, laboratóriumi és képalkotói paramétereket vettük. A kapott táblázatban szereplő standardizált  $\beta$  koefficiens ( $\beta$ ) a kapcsolat szorosságát 0 és 1/0 és -1 közötti értékkel határozza meg. A legerősebb kapcsolatot a függő változóval az 1/-1-hez legközelebbi érték adja meg. A nem standardizált  $\beta$  (B) érték megadja a függő változó egy egységnyi változása során bekövetkezett változást a független változóban. Az OR95%-os konfidencia (95%CI) intervallum az a tartományt, amely 95% valószínűséggel tartalmazza az ismeretlen adatra jellemző értéket. A valószínűségi szintet  $p < 0,05$  értéktől tekintjük szignifikánsnak. A többváltozós regresszióanalízis során a lépcsőzetes módszert alkalmaztuk, mellyel megvizsgáltuk, hogy mely független változók gyakorolnak tényleges hatást a függő változóra. A módszer lényege, hogy a program egyszerre csak egy változót helyez a képletbe, azt, amelynek a legnagyobb a standard regressziós koefficiense, majd megvizsgálja, hogy a már beépített változók közül, melyik eliminálható úgy, hogy a determinációs együttható értéke ne csökkenjen

Általános lineáris modell (GLM) ismételt méréses varianciaanalízis (RM-ANOVA) során két független tényező hatását vizsgáltuk a folyamatosan függő változóra. A teszt részletezi a független változó hatásait a függő változóra, a független és függő változók közötti kölcsönhatásokat, valamint a független változók közötti kölcsönhatásokat. A táblázatban szereplő F-arányszám (F) és szignifikancia érték (p), a független változók hatását mutatja meg a függő változóra. Az F-arányszám ebben az esetben nem informatív, de a p érték

meghatározásához szükséges. A  $p$  érték  $<0,05$  értékét tekintjük szignifikánsnak. A parciális eta-négyzet ( $\eta^2$ ) megmutatja, hogy az egyes hatásokban hány százalékos a szórás, és az milyen hatást képes kifejteni. Értéke 0,01 esetén gyenge, 0,06-nál közepes, 0,14-nél pedig erős hatást bizonyít.

## 5.5. Első vizsgálat

### *Szolubilis vaszkuláris biomarker szint mérések*

A klinikai vizitek során, reggel 8-10 óra közötti éhgyomori vérvétel alkalmával egy vákuumos vérvételi cső (piros, natív, gélmentes BD#367815) került levételre. Egy órás szobahőmérsékleten történő alvadás után, 1200g-on 20 percig centrifugáltuk. A keletkezett felülúszót eppendorf csövekbe pipettázva felhasználásig  $-70\text{C}^\circ$ -on tároltuk.

#### 5.5.1. oxLDL/ $\beta$ 2GPI antigén komplex detektálása

Az egyes minták oxLDL/  $\beta$ 2GPI komplex mennyisége meghatározását a Corgenix AtherOx® ELISA teszt kit (Corgenix, Broomfield, CO, USA) segítségével végeztük el a gyártó által meghatározott protokoll alapján. A meghatározás az indirekt enzimhez kötött immunszorbiens próba (ELISA) módszerén alapszik. A pozitív és negatív kontrollokat, valamint a betegek szérummintáinak 1:100-as hígítását olyan anti-human monoklonális antitesttel bevont mikrolemezen inkubáltuk 60 percig, szobahőmérsékleten ( $18-26\text{C}^\circ$ ) melyek közvetlenül csak a komplexet képező  $\beta$ 2GPI ellen irányulnak. Az inkubálás által lehetővé vált, hogy a mintákban lévő oxLDL/ $\beta$ 2GPI komplex reakcióba lépjen az immobilizált antitesttel. A meg nem kötött szérum fehérjéket mosással távolítottuk el, majd biotinnal konjugált anti-human apoB100 monoklonális antitestet adtunk minden egyes mintához, amely komplexet képzett a már megkötött antigénnel. Újabb inkubálás és mosási lépést követően, torma-peroxidázzal (HRP) konjugált streptavidin (SA) jelzőenzimet adtunk a rendszerhez, amely komplexet képzett a megkötött biotinnal konjugált antitesttel. Inkubálás és mosást követően a kötött HRP-SA konjugátumot tetrametil-benzidin és hidrogén-peroxid kromogén szubsztát hozzáadásával vizsgáltuk. A szubsztát bontása során kialakuló szín az oxLDL/ $\beta$ 2GPI antigén komplex szérum koncentrációjával arányos intenzitást mutatott. A kapott színintenzitást értékét spektrofotométer (ELISA-reader) segítségével 450 nm-en határoztuk meg.

### *5.5.2. Anti-human Hsp60 immunoglobulin G (IgG) szint meghatározása*

A HSP-60 család fehérjével reagáló IgG-típusú antitesteket ELISA módszer segítségével határoztuk meg. Első lépésként az ELISA mikrotiter lemezeket 0,1 µg/mélyedés mennyiségű rekombináns humán HSP60-val [rekombináns humán hsp60 (StressGen, SPP-740, Victoria, Kanada)] vontuk be. A mosást és blokkolást (PBS, 0,5% zselatin) követően, az egyes mikrolemez mélyedéseket 100µl szérum mintával inkubáltuk 1:500-as arányban hígítva PBS-sel, amely 0,5% zselatint és 0,05% Tween 20-at tartalmazott. Az anti-HSP60 antitestek megkötését γ-lánc specifikus anti-humán IgG-peroxidáz jelzett antitestek (Sigma, St. Louis, MO, USA) és o-fenilén-diamin (Sigma) segítségével határoztuk meg. Az optikai denzitást 490nm-en mértük (referencia 620nm). Ez alapján kapott értékeket kapott adatokat az ehhez a standardhoz tartozó AU/ml értékre számoltuk.

### *5.5.3. Szolubilis uPAR szint mérése*

A suPAR szint méréséhez a suPARnostic® Quick Triage tesztet (Virogates A/s, Birkerød, Denmark) alkalmaztuk, amely az oldalirányú áramlású immunoassay elvén alapszik. A rendszer 2 immobilizált antitest zónával rendelkezik, egy monoklonális patkány és arany-konjugált egér antitesteket tartalmazóval, amelyek egy nitrocellulóz membránra vannak kikötve. Az egyes betegektől származó 10 µl szérummintát 100µl mennyiségű a gyártó által előállított futtató pufferrel (PBS puffer, pH 7.2 saját adalékkal és 0,05%-os Bronidox® tartalmú) elegyítettük. Alapos vortex és keverést követően 60 µl mennyiségű hígított mintát helyeztünk a teszt eszközre. A 20 perces inkubálás során a minta reakcióba lép az arany-konjugált anti-suPAR antitestekkel és a nitrocellulóz membránon keresztül vándorol. Az arany-konjugátumot tartalmazó suPAR minta a tesztvonalon kötődik, a nem suPAR-hoz kötött antitest a kontroll vonalon. Az eredményeket a suPARnostic® Quick Test Reader (Virogates) segítségével határoztuk meg amely a kvantitatív eredményeket 2-15 ng/ml suPAR kimutatási intervallumba határozta meg.

### *5.5.4. BNP fragmens szint meghatározása*

A meghatározáshoz az enzimhez kötött immunszorbiens próba (ELISA) módszert alkalmaztuk, a BNP fragmens ELISA teszt kit segítségével (Biomedica, Bécs), a gyártó által meghatározott protokollt követve. Első lépésként a 150 µl futtató puffer, 30 µl szérum/konroll/standard minta, valamint 50µl konjugátum (szintetikus BNP fragmens- torna-peroxidáz) elegyét vittünk fel poliklonális anti-BNP antitest fragmens bevonatú mikrotiter

lemezre. Szorosan lefedve egy éjszakán keresztül (16-25 óra) inkubáltuk 4C °-on sötétben. A mosópufferrel történő átmosás után, 200µl TMB (tetrametil-benzidin) szubsztrátot adtunk minden egyes mélyedésbe. A TMB-szubsztrát hozzáadását követően 20 percig inkubáltuk, szobahőmérsékleten (18-26 C°) sötétben tartva, mely során a peroxidáz lebontotta a szubsztrátot, aminek eredményeként a hasított szubsztrátból kék színű oldatot kaptunk. A leállító 50 µl STOP oldat (kénsav) hozzáadása után a mikrotiter lemezen található minták értékeit ELISA reader segítségével 450 nm-en (referencia 630nm-en) határoztuk meg.

## 5.6. Második vizsgálat

A második vizsgálatban ugyanezen betegcsoport korábbi vizsgálatainak már publikált eredményeit elemeztük új szempontok alapján.

### 5.6.1. Csontsűrűség mérése DEXA és qCT által

A munkacsoportunk egy korábbi tanulmánya során<sup>199</sup>, az 53 arthritisztes beteg esetében, kettős energiájú röntgenabszorpciometria (DEXA) segítségével megtörtént az ágyéki gerinc (L1-L4) és combcsont területének ásványanyag sűrűség (BMD) mérése. A méréseket a LUNAR Prodigy (GE-Lunar Corp., Madison, WI, USA) denzitométerrel, ugyanaz a két tapasztalt technikus végezte el a betegeken, a vizsgálat 3 különböző időpontjában. Az eredmények g/cm<sup>2</sup> számolva, az azonos nemű fiatal ember csontjának átlag ásványianyag tartalmához viszonyított, T-score értékkel kerültek kifejezésre. A kapott érték alapján, a WHO megállapított kritériuma szerint a csontritkulás T-score  $\leq 2,5$  SD értéknél lett meghatározva. A térfogati csontok ásványianyag-sűrűségének meghatározása a teljes területen, valamint a kortikális és trabekuláris régióban a perifériás kvantitatív komputer-tomográfia (pQCT) (Stratec XCT-2000. Stratec Medizintechnik Gmb H, Pforzheim, Németország) alkalmazásával, a betegek domináns alkar ultradistalis régiójának vizsgálatával történt meg. Az adatelemzést az XCT 6.00 szoftver (Stratec) végezte el. A mérőmaszk sugara és küszöbsűrűsége 269 mg/mm<sup>3</sup> volt. A BMD értékek mg/mm<sup>3</sup> értékben lettek kifejezve.

### 5.6.2. Csontanyagcsere biomarkerek

Az egyes vizitek során, a reggeli éhgyomori vérvétel alkalmával levett mintákból, az ELISA módszer segítségével, a következő biomarkerek meghatározása történt meg: szérum kalcium (Ca; Roche Diagnostics; normál, 2,1–2,6 mmol/l); foszfát (P; Roche Diagnostics; normál, 0,8–1,45 mmol/l); parathyreoid hormon (PTH; Roche Diagnostics; normál, 1,6–6,9

pmol/l); 25-OH-D3 vitamin (DiaSorin; normál,  $\geq 75$  nmol/l); oszteokalcin (OC; Roche Diagnostics; normál,  $< 41$   $\mu\text{g/l}$ ), I.-es típusú prokollagén N-terminális propeptid (P1NP; Roche Diagnostics; normál,  $< 75$   $\mu\text{g/l}$ ), I.-es típusú kollagén C-terminális telopeptid (CTX-1; Roche Diagnostics; normál,  $< 0.57$   $\mu\text{g/l}$ ), oszteoprotegerin (OPG; Biomedica; medián, 2,7 pmol/l), szklerosztin (SOST; Biomedica; medián, 24,14 pmol/l), Dickkopf-1 fehérje (DKK-1; Biomedica; medián, 36 pmol/l), szolubilis receptor aktivátor nukleáris faktor kappa B ligand (sRANKL; Biomedica; medián, 0,14 pmol/l), and katepszin-K (cathK; Biomedica; medián, 8,7 pmol/l). Ezen értékek munkacsoportunk egy korábbi tanulmányában publikációra kerültek<sup>198</sup>

### 5.6.3. Kardiovaszkuláris biomarkerek

Munkacsoportunk korábbi tanulmány során, a következő vaszkuláris szérum biomarkerek kerültek meghatározásra az ELISA módszer segítségével, az anti-TNF kezelés megkezdése előtt, majd 6 és 12 hónappal azt követően: vaszkuláris endothéliális növekedési faktor (VEGF; V-Plex, Meso Scale Diagnostics; pg/ml), vérlemezke eredetű növekedési faktor (PDGF-BB; DuoSet ELISA, R&D Systems; pg/ml), angiopoietin-1 (Ang-1; DuoSet ELISA, R&D Systems; pg/ml), angiopoietin-2 (Ang-2; QuantiKine ELISA, R&D Systems; pg/ml) és thrombospondin-1 (TSP-1; DuoSet ELISA, R&D Systems; ng/ml).<sup>197</sup>

### 5.6.4. Statisztikai elemzés

Ismételt méréses multifaktoriális varianciaanalízis (MANOVA), egy vagy két, vagy több függő változóra gyakorolt hatásának statisztikai szignifikanciájának tesztelésére alkalmazott módszer. A vizsgálat során a függő változóknak, az egymással korrelációban lévő csont és vaszkuláris biomarkereket vettük. Az RM-ANOVA-hoz hasonlóan a F-arányszám (F) és szignifikancia érték (p), a független változók hatását mutatja meg a függő változóra. A p érték  $< 0,05$  értékét tekintjük szignifikánsnak. A parciális eta-négyzet ( $\eta^2$ ) értéke 0,01 esetén gyenge, 0,06-nál közepes, 0,14-nél pedig erős hatást bizonyít.

## 6. EREDMÉNYEK

### 6.1. Első vizsgálat

A vizsgálat során bevont 53 beteg (36 RA, 17 SPA) 12 hónapos etanercept (ETN)/ certolizumab pegol (CZP) terápiában részesült. A vizsgálatokat a terápia megkezdése előtt, valamint a kezelés utáni 6. és 12. hónapban végeztük el. A TNF $\alpha$  gátló terápia a betegségaktivitást jelentősen csökkentette mindkét betegcsoportban. Az RA betegek (n=36) esetén az ETN és CZP terápia a DAS28 kezdő értékéhez ( $5,00\pm 0,86$ ) képest szignifikáns aktivitás csökkenést eredményezett a 6. hónap ( $3,13\pm 0,84$ ;  $p<0,001$ ) és a 12. hónap ( $3,02\pm 0,96$ ;  $p<0,001$ ) után. Az SPA betegek (n=17) BASDAI alapértéke ( $5,79\pm 1,19$ ) szintén szignifikánsan csökkent a 6 hónapos ( $2,00\pm 1,03$ ;  $p<0,001$ ) és a 12.hónapos ( $1,86\pm 1,04$ ;  $p<0,001$ ) kezelés hatására.

#### 6.1.1. A vaszkuláris biomarkerek és egyéb paraméterek közötti összefüggések

A vaszkuláris biomarkerek 2 időpontban (0 és 12. hónap) mért értékeit a Pearson-féle korrelációs elemzéssel vetettük össze az egyes vizitek során kapott lipidparaméterek (TC, TG, LDL-C, HDL-C), autoantitestek (ACPA, RF), gyulladásozó paraméterek (CRP, We) értékeivel, képalkotó paraméterekkel (FMD, IMT, PWV), valamint a bevonás időpontjában rögzített betegek kórtörténetével.

Ez alapján a lipidparaméterek közül, a kezelés megkezdése előtti értékek esetében, az oxLDL/ $\beta$ 2GPI komplex erős korrelációt mutatott a teljes koleszterinnel (TC-0) ( $R=0,532$ ;  $p<0,001$ ) és az LDL koleszterinnel (LDL-C-0) ( $R= 0,648$ ;  $p<0,001$ ). Az aHSP60, a suPAR és a BNP szintjének a terápia megkezdése előtt mért értéke ugyancsak erős korrelációt mutatott a kezdeti triglicerid (TG-0) ( $R=0,462$ ,  $p=0,040$ ;  $R=0,382$ ,  $p=0,028$ ;  $R=0,303$ ,  $p=0,041$ ) értékekkel. (2.táblázat)

2. táblázat. Pearson-féle korrelációs analízis eredményei a vaszkuláris biomarkerek és a lipidparaméterek között.

	TG-0	TG-12	LDL-C 0	LDL-C 12	HDL-C 0	HDL-C 12	TC-0	TC-12
<b>oxLDL/<math>\beta</math>2 GPI-0</b>	NS	NS	<b>R=0,648</b> <b>p&lt;0,001</b>	NS	NS	NS	<b>R=0,532</b> <b>p&lt;0,001</b>	
<b>aHsp60-0</b>	<b>R=0,462</b> <b>p=0,040</b>	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
<b>suPAR-0</b>	<b>R=0,382</b> <b>p=0,028</b>	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
<b>BNP-0</b>	<b>R=0,303</b> <b>p=0,041</b>	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS

Rövidítések. aHSP60: anti-hősokkfehérje 60; BNP: B-típusú natriuretikus peptid; LDL-C: alacsony sűrűségű lipoprotein koleszterin; HDL-C: magas sűrűségű lipoprotein koleszterin; NS: nem szignifikáns; oxLDL/ $\beta$ 2GPI: oxidált LDL/  $\beta$ 2 glikoprotein I; p: szignifikancia értéke; R: korrelációs együttható; suPAR: szolubilis urokináz plazminogén aktivátor receptor; TC: összkoleszterin; TG: triglicerid.

Az RA specifikus autoantitestek elemzése során, két esetben találunk összefüggést. Egyrészt a suPAR kezdeti értéke korrelált az ACPA (R=0,613; p<0,001) és RF (R=0,413; p=0,024) kezdeti értékekkel, valamint a BNP kezdő szintje mutatott szignifikanciát az ACPA (R=0,591; p<0,001) és RF (R=0,479;p=0,004) kezdeti szintje között. Továbbá, a 12.hónapban mért BNP értékek esetében korrelációs összefüggést találtunk a CRP kezdeti (R=0,372; p=0,010) és 12 hónapban (R=0,356; p=0,014) mért értéke között (3.táblázat).

Az egy éves terápia után mért BNP értéke szignifikáns összefüggést mutatott a betegek életkorával a diagnózis felállításakor (R=0,330; p=0,023). (nem ábrázolt)

Egyik vaszkuláris biomarker sem korrelált a betegségaktivitással (DAS28, BASDAI), valamint a vörösvértest-süllyedés (We) értékeivel. (nem ábrázolt)

3. táblázat. Pearson-féle korrelációs analízis eredményei a vaszkuláris biomarkerek és az egyes laboratóriumi értékek között.

	CRP-0	CRP-12	RF-0	RF-12	ACPA-0	ACPA-12
oxLDL/ $\beta$ 2GPI-0	NS	NS	NS	NS	NS	NS
oxLDL/ $\beta$ 2GPI-12	NS	NS	NS	NS	NS	NS
aHsp60-0	NS	NS	NS	NS	NS	NS
aHsp60-12	NS	NS	NS	NS	NS	NS
suPAR-0	NS	NS	<b>R=0,413</b> <b>p=0,024</b>	NS	<b>R=0,613</b> <b>p&lt;0,001</b>	NS
suPAR-12	NS	NS	NS	NS	NS	NS
BNP-0	NS	NS	<b>R=0,479</b> <b>p=0,004</b>	NS	<b>R=0,591</b> <b>p&lt;0,001</b>	NS
BNP-12	<b>R=0,372</b> <b>p=0,010</b>	<b>R=0,356</b> <b>p=0,014</b>	NS	NS	NS	NS

Rövidítések. ACPA: anti-citrullinált protein antitest; aHSP60: anti-hősokkfehérje 60; BNP: B-típusú natriuretikus peptid; CRP: C reaktív-protein; NS: nem szignifikáns; oxLDL/ $\beta$ 2GPI: oxidált LDL/  $\beta$ 2 glikoprotein I; p: szignifikancia értéke; R: korrelációs együttható; RF: reumatoid faktor; suPAR: szolubilis urokináz plazminogén aktivátor receptor;

A képalkotó paraméterek közül, a kezdeti aHSP60 értéke korrelált a 12. hónapban mért FMD ( $R=-0,380$ ,  $p=0,022$ ) és kezdeti PWV ( $R=0,564$ ,  $p=0,040$ ) értékeivel. A kezdő suPAR és 12.hónapban mért suPAR a PWV-12 ( $R=0,390$ ,  $p=0,045$ ;  $R=0,393$ ,  $p=0,042$ ) értékeivel, míg a kezdeti BNP szintje a terápia megkezdése előtti IMT ( $R=0,375$ ,  $p=0,016$ ) értékeivel mutatott szignifikáns összefüggést. (4.táblázat)

4.táblázat. Pearson-féle korrelációs analízis eredményei a vaszkuláris biomarkerek és a képalkotói paraméterek között.

	FMD-0	FMD-12	IMT-0	IMT-12	PWV-0	PWV-12
oxLDL/ $\beta$ 2GPI-0	NS	NS	NS	NS	NS	NS
oxLDL/ $\beta$ 2GPI-12	NS	NS	NS	NS	NS	NS
aHsp60-0	NS	<b>R=-0,380</b> <b>p=0,022</b>	NS	NS	<b>R=0,564</b> <b>p=0,040</b>	NS
aHsp60-12	NS	NS	NS	NS	NS	NS
suPAR-0	NS	NS	NS	NS	NS	<b>R=0,390</b> <b>p=0,045</b>
suPAR-12	NS	NS	NS	NS	NS	<b>R=0,393</b> <b>p=0,042</b>
BNP-0	NS	NS	<b>R=0,375</b> <b>p=0,016</b>	NS	NS	NS
BNP-12	NS	NS	NS	NS	NS	NS

Rövidítések. aHSP60: anti-hő sokkfehérje 60; BNP: B-típusú natriuretikus peptid; FMD: arteria branchialis áramlás mediált dilatáció; IMT: arteria carotis communis intima-média vastagság; NS: nem szignifikáns; oxLDL/ $\beta$ 2GPI: oxidált LDL/ $\beta$ 2 glikoprotein I; p: szignifikancia értéke; R: korrelációs együttható; suPAR: szolubilis urokináz plazminogén aktivátor receptor; PWV: pulzushullám terjedési sebesség.

Végül az egyes vaszkuláris biomarkereket is korreláltattuk egymással. Eredményként egy esetben találtunk pozitív korrelációt, a BNP kezdeti szintje (BNP-0) és a suPAR kezdeti (suPAR-0) szintje között (R=0,427, p=0,013). (5.táblázat)

5.táblázat. Pearson-féle korrelációs analízis eredményei a kiindulási vaszkuláris biomarkerek értékei között.

	oxLDL/ $\beta$ 2GPI-0	aHsp60-0	suPAR-0	BNP-0
oxLDL/ $\beta$ 2GPI-0	NS	NS	NS	NS
aHsp60-0	NS	NS	NS	NS
suPAR-0	NS	NS	NS	<b>R=0,427</b> <b>p=0,013</b>
BNP-0	NS	NS	<b>R=0,427</b> <b>p=0,013</b>	NS

Rövidítések. aHSP60: anti-hő sokkfehérje 60; BNP: B-típusú natriuretikus peptid; NS: nem szignifikáns; oxLDL/ $\beta$ 2GPI: oxidált LDL/ $\beta$ 2 glikoprotein I; p: szignifikancia értéke; R: korrelációs együttható; suPAR: szolubilis urokináz plazminogén aktivátor receptor.

Az egyváltozós és többváltozós regresszióanalízis eredményét a 6.táblázat foglalja össze. Az értékelések során a kezdeti és 12. hónapban mért értékeket vetettük össze. Az egyváltozós analízis esetében a suPAR kezdeti értéke (suPAR-0) a triglicerid kezdeti értékével (TG-0), míg a suPAR 12. hónapban mért értéke (suPAR-12) a CRP 12. hónapban mért értékével (CRP-12) mutatott összefüggést. A BNP kezdeti értékét (BNP-0) a triglicerid kezdeti értéke (TG-0), míg a BNP 12. hónapban mért értékét a betegségkezdeti életkor, a CRP kezdeti (CRP-0) és 12. hónapban mért értéke (CRP-12) határozta meg (p<0,05). Az oxLDL/ $\beta$ 2GPI komplex és a HSP60 esetében szignifikáns hatás nem volt kimutatható a független változókkal.

6. táblázat. Az egyváltozós és többváltozós regresszióanalízis eredményei

Függő változó	Független változó	Egyváltozós analízis				Többváltozós analízis			
		$\beta$	p	B	95%CI	$\beta$	p	B	95%CI
suPAR-0	TG-0	0,382	0,028	8,314	0,948-15,680	NS			
suPAR-12	CRP-12	0,525	0,002	0,991	0,402-1,580	NS			
BNP-0	TG-0	0,303	0,041	185,5 59	8,242-362,788	NS			
BNP-12	Kezdő életkor	0,330	0,023	14,16 1	2,007-26,316	NS			
	CRP-0	0,372	0,010	8,995	2,263-15,728	0,316	0,028	7,46	0,843- 14,077
	CRP-12	0,356	0,014	19,01 9	4,020-34,018	NS			

Rövidítések. BNP: B-típusú natriuretikus peptid; CRP: C reaktív protein; suPAR: szolubilis urokináz plazminogén aktivátor receptor; TG: triglicerid;  $\beta$ : standardizált  $\beta$  koefficiens; p: szignifikancia; B: nem standardizált  $\beta$  érték; 95%CI: OR95%-os konfidencia; NS: nem szignifikáns.

A többváltozós regresszió analízis során, a lépcsőzetes többszörös analízist alkalmazva azt vizsgáltuk, hogy mely független változók gyakorolnak tényleges hatást a függő változóra. Eredményként egyetlen esetben találtunk szignifikanciát, a BNP 12 hónapban mért értéke (BNP-12) és a CRP kezdeti értéke (CRP-0) között ( $p=0,028$ ). Ennek egyik magyarázata lehet a multikollinearitás, mely során a független változók egymással szoros korrelációban vannak, nem függetlenek egymástól, ezért önállóan nem magyarázzák a függő változó változásait. (6.táblázat)

Az 7.táblázat az általános lineáris modell ismételt méréses varianciaanalízis (GLM RM-ANOVA) szignifikanciát ( $p<0,05$ ) mutató eredményeit foglalja össze, mely során egyszerre két független tényező hatását vizsgáltuk a folyamatosan függő változóra. A statisztikai elemzés eredményeként az oxLDL/ $\beta$ 2GPI komplex szintjének 12 hónapos változása (oxLDL/ $\beta$ 2GPI0-12) összefüggés mutatott az anti-TNF terápia és a DAS28/BASDAI kezdő értékének (DAS28/BASDAI-0) együttes hatásával. Az aHSP60 (aHSP60 0-12) és a suPAR (suPAR 0-12) szintjének egy éves kezelés során bekövetkező változását pedig a kezelés és az IMT kezdeti értéke (IMT-0) határozta meg. A parciális éta négyzet (parciális  $\eta^2$ ) mind a három esetben 0,14 feletti érték, mely bizonyítja, hogy a változók közötti erős hatás áll fenn. (7.táblázat)

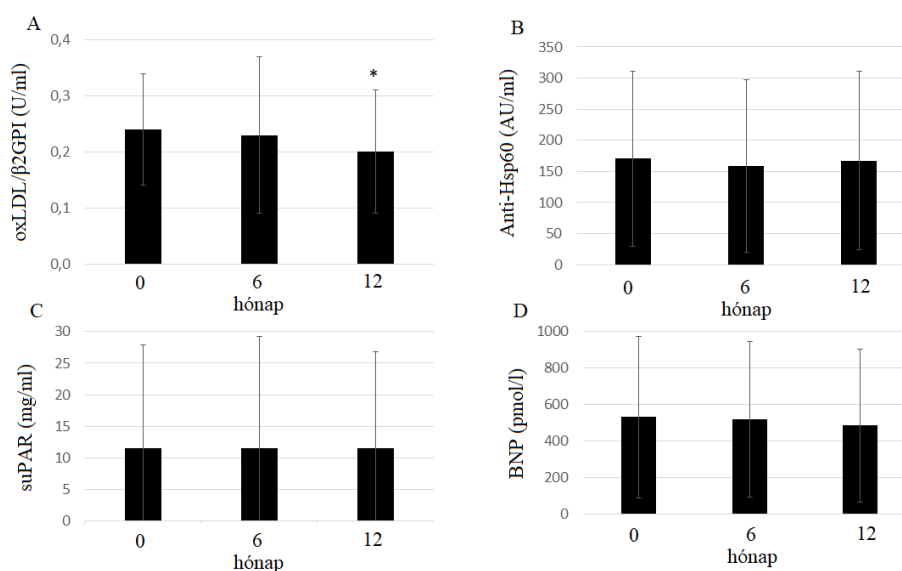
7. táblázat. Általános lineáris modell ismételt méréses varianciaanalízis (GLM RM-ANOVA) eredményei

Függő változó	Hatás	F	P	Parciális $\eta^2$
oxLDL/ $\beta$ 2GPI 0-12	Kezelés* DAS28/BASDAI-0	6,617	0,14	0,155
aHsp60 0-12	Kezelés * IMT-0	6,533	0,015	0,161
suPAR 0-12	Kezelés * IMT-0	4,294	0,041	0,177

Rövidítések. oxLDL/ $\beta$ 2GPI: oxidált LDL/  $\beta$ 2 glikoprotein I; aHSP60: anti-60 kilodalton molekulatömegű hőszokkfehérje 60; suPAR: szolubilis urokináz plazminogén aktivátor receptor; DAS28:28-joint disease activity score; BASDAI: Bath Ankylosing Spondylitis Disease Activity Index; IMT: arteria carotis communis intima-média vastagság.

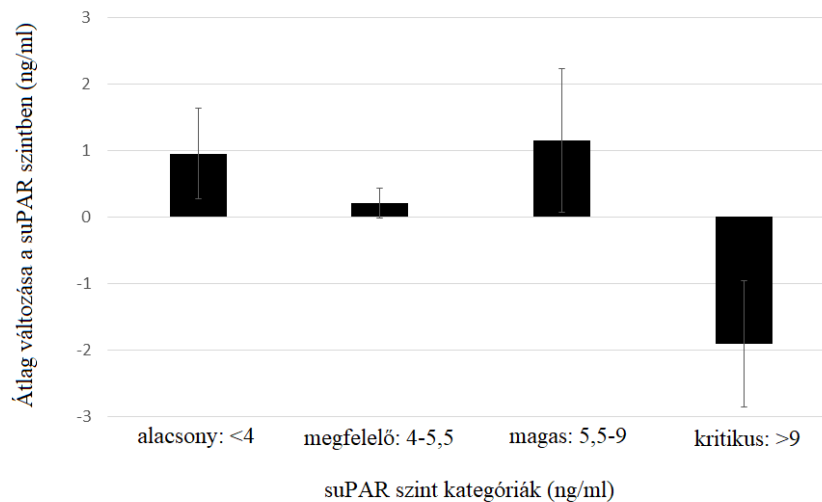
### 6.1.2. A TNF $\alpha$ gátlók hatása a vaszkuláris biomarkerekre

Az együttes betegcsoportot (RA+SPA) vizsgálva, az oxLDL/ $\beta$ 2GPI keringő szintjének alapértéke (0,24 $\pm$ 0,10 U/ml) szignifikánsan csökkent a 12 hónapos anti-TNF terápia hatására (0,20 $\pm$ 0,11 U/ml; p=0,014). Az anti-HSP60 antitest szint nem változott 6 hónappal (158,6 $\pm$ 138,6 AU/ml), valamint 12 hónappal (167,3 $\pm$ 143,3 AU/ml) a kezelés után összehasonlítva a kezdeti értékkel (170,3 $\pm$ 140,4 AU/ml). A suPAR kezdeti szintje (11,5 $\pm$ 16,4 ng/ml) nem változott szignifikánsan 6 hónappal (11,3 $\pm$ 17,7 ng/ml) illetve 12 hónappal (10,3 $\pm$ 15,3 ng/ml) a kezelés után, ahogy a BNP fragmens kezdő értéke (530,8 $\pm$ 441,8 pmol/l) sem mutatott jelentős változást 6. hónappal (518,2 $\pm$ 422,4 pmol/l) illetve 12.hónappal (484,1 $\pm$ 418,2 pmol/l) később. (5.ábra)



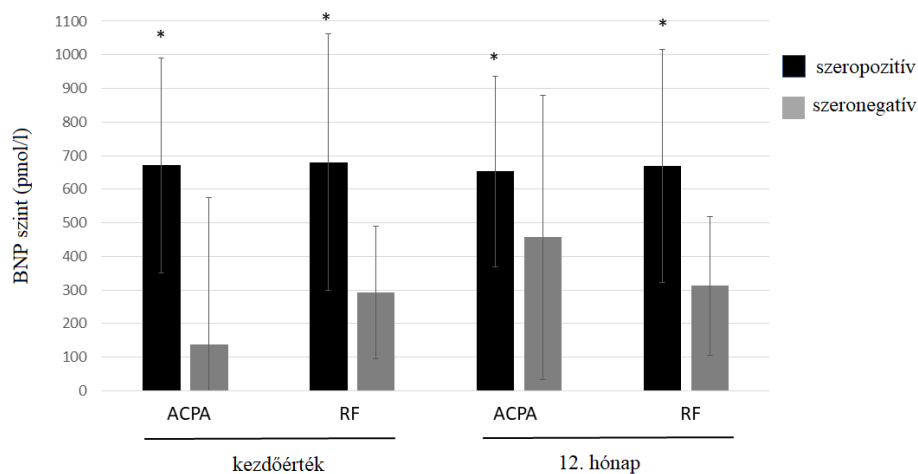
5.ábra. A vaszkuláris biomarkerek változása 12 hónapos anti-TNF terápia hatására.

Az egyes biomarkerek további elemzése során, a suPAR szint esetében, a betegeket 4 különböző csoportba osztottuk, a gyártó által meghatározott szérummintákra vonatkozó referenciatartományok szerint. Ezek alapján, kezdeti suPAR szintekre vonatkozóan, a betegek 21,1% (11 beteg) alacsony (<4 ng/ml), 36,4% (20 beteg) megfelelő (4-5,5 ng/ml), 9,1% (5 beteg) magas (5,5-9 ng/ml), 33,3% (17 beteg) kritikus (>9 ng/ml) csoportba került. A kategóriákat egyesével vizsgálva, azon RA betegek esetében, akiknek a kezdeti suPAR értéke kritikus volt, szignifikáns csökkenés volt megfigyelhető az egy éves kezelés során. (>9 ng/ml) ( $p=0,04$ ) (6.ábra)



6.ábra. Az egyes suPAR kategóriák szintjének változása az egy éves kezelés hatására.

A szérum BNP szint, a betegcsoport egészét nézve, nem változott jelentősen az egy éves anti-TNF kezelés a hatására. Azonban a szeropozitivitás összehasonlítása során, a következő összefüggéseket találtuk mind a kezdeti mind a kezelés utáni értékekben. Az ACPA pozitív betegekben, szemben az ACPA negatív betegekkel, szignifikánsan emelkedett BNP szint volt megfigyelhető (kezdő érték:  $670,6 \pm 323,0$  versus  $138,0 \pm 436,4$  pmol/l;  $p=0,030$  és a 12. hónap:  $652,9 \pm 283,2$  versus  $456,5 \pm 423,1$  pmol/l;  $p=0,021$ ) mindkét időpont esetén. Ugyanez az összefüggés kimutatható volt RF pozitív betegek esetében is, ahol BNP szint szignifikáns emelkedett volt az RF negatív betegekéhez képest (kezdő érték:  $680,6 \pm 381,6$  szemben  $292,9 \pm 198,3$  pmol/l;  $p=0,007$  és a 12. hónap:  $668,9 \pm 346,5$  szemben  $312,2 \pm 207,0$  pmol/l;  $p=0,001$ ) a kezdeti és az egy éves kezelés után. (7.ábra)



7.ábra. A BNP szint változása a különböző ACPA és RF szerotípusú RA betegek esetében.

## 6.2. Második vizsgálat

Az első vizsgálatban is szereplő, ugyanazon betegcsoport vaszkuláris<sup>196,197</sup> és csontanyagcsere<sup>198,199</sup>, képalkotó- valamint laboratóriumi paraméterei a munkacsoportunk korábbi munkáinak eredményeként publikációra kerültek. Jelen tanulmány során ezen adatokat új szempontok alapján elemeztük újra, mely során a csont-és érrendszeri állapot közötti kapcsolatok felmérésére összpontosítottunk.

### 6.2.1. Vaszkuláris, csontanyagcsere biomarkerek és képalkotó paraméterek közötti összefüggések

A vaszkuláris és csont képalkotó paraméterek eredményeinek összevetése során, a következő összefüggéseket találtuk. Az IMT értéke változóan és fordítottan korrelált a QCT mérések által meghatározott teljes és trabekuláris BMD-vel a különböző időpontokban ( $p < 0,05$ ). Hasonlóan a 12. hónapban mért PWV fordított korrelációját figyeltük meg a QCT alkalmával mért teljes BMD értékével ( $R = -0,333$ ,  $p = 0,033$ ).

A vaszkuláris képző- és csont laboratóriumi biomarkerek esetében az FMD és az oszteoprotegerin (OPG) a különböző időpontokban pozitív összefüggést mutatott. Az IMT esetében pozitív korrelációt a szklerosztinnal (SOST), míg fordított összefüggést az oszteokalcin (OC), I-es típusú prokollagén N-terminális polipeptid (P1NP) és a D3-vitamin (VITD3) esetében találtunk. ( $p < 0,05$ )

A vaszkuláris laboratóriumi biomarkerek a következő csont képző- illetve laboratóriumi paraméterekkel mutatott összefüggést. A vérlemezke eredetű növekedési faktor BB (PDGF-BB) a DEXA combnyaki BMD értékével pozitívan korrelált különböző időpontokban. Az angiopoietin 1 (Ang1), angiopoietin 2 (Ang2) és PDGF-BB pozitív összefüggést mutatott a dickkopf-1 fehérjével (DKK-1). Ezenkívül az Ang2 pozitív korrelációt mutatott az OPG szintjével és fordítottan a receptor aktivátor nukleáris faktor kappa ligand (RANKL) szintjével. A thrombospondin-1 (TSP1) az OPG és SOST szintjével, míg a BNP a C-terminális telopeptid (CTX) és OC értékével mutatott összefüggést. A korrelációs elemzés eredményeit a 8. táblázat foglalja össze.

8. táblázat. Szignifikáns összefüggések a vaszkuláris és csont biomarkerek, valamint a képző paraméterek között

Vaszkuláris biomarkerek	Csont biomarkerek	R-érték	p-érték
<b>Vaszkuláris képzői vs csont képzői módszerek paraméterei</b>			
IMT-0	QCTTOTBMD-12	- 0.314	0.046
IMT-0	QCTTRABBMD-0	- 0.355	0.023
IMT-6	QCTTOTBMD-0	- 0.395	0.011
IMT-6	QCTTOTBMD-12	- 0.387	0.012
IMT-6	QCTTRABBMD-0	- 0.496	0.001
IMT-6	QCTTRABBMD-12	- 0.339	0.030
IMT-12	QCTTOTBMD-0	- 0.437	0.004
IMT-12	QCTTOTBMD-12	- 0.543	<0.001
IMT-12	QCTTRABBMD-0	- 0.366	0.019
IMT-12	QCTTRABBMD-12	- 0.442	0.004
PWV-12	QCTTOTBMD-12	- 0.333	0.033

Vaszkuláris biomarkerek	Csont biomarkerek	R-érték	p-érték
<b>Vaszkuláris képzőanyag paraméterek vs csont laboratóriumi biomarkerek</b>			
FMD-0	OPG-0	0.343	0.041
FMD-6	OPG-6	0.460	0.002
FMD-6	OPG-0	0.503	0.001
IMT-0	SOST-0	0.346	0.039
IMT-12	SOST-12	0.347	0.023
IMT-12	OC-12	- 0.307	0.032
<b>Vaszkuláris képzőanyag paraméterek vs csont laboratóriumi biomarkerek-folytatás</b>			
IMT-12	PINP-12	- 0.293	0.041
IMT-12	VITD3-0	- 0.337	0.018
PWV-6	PTH-6	0.306	0.036
PWV-12	CATHK-0	0.376	0.013
PWV-12	CATHK-12	0.352	0.021
<b>Vaszkuláris laboratóriumi biomarkerek vs csont képzőanyag paraméterek</b>			
PDGF-BB-0	DEXFEMBMD-0	0.385	0.043
PDGF-BB-0	DEXFEMBMD-12	0.434	0.021
<b>Vaszkuláris laboratóriumi biomarkerek vs csont laboratóriumi paraméterek</b>			
ANG1-0	DKK1-0	0.669	<0.001
ANG1-6	DKK1-6	0.513	0.039
ANG2-0	DKK1-0	0.467	0.018
ANG2-0	OPG-0	0.486	0.014
ANG2-6	OPG-6	0.486	0.014
ANG2-6	RANKL-6	- 0.440	0.028
ANG2-12	OPG-12	0.698	<0.001
PDGF-BB-0	DKK1-0	0.545	0.005
PDGF-BB-12	DKK1-12	0.516	0.008
TSP1-0	OPG-0	0.589	0.002
TSP1-0	SOST-0	0.466	0.019
TSP1-0	SOST-12	0.457	0.022
BNP-0	CTX-0	0.289	0.048
BNP-12	CTX-0	0.374	0.010
BNP-12	OC-12	0.321	0.028

Rövidítések. Ang1: angiopoietin1, Ang2: angiopoietin2, BMD: csont ásványianyag-sűrűség, BNP: B-típusú natriuretikus peptid, CATHK: katepszin K, CTX: C-terminális telopepid, DEXFEMBMD: DEXA combnyaki BMD, DKK1: dickkopf-1 fehérje, FMD: arteria branchialis áramlás mediált dilatáció, IMT: arteria carotis communis intima-média vastagság, OC: oszteokalcin, OPG: oszteoprotegerin, PDGF-BB: vérlemezke eredetű növekedési faktor BB,

*P1NP: I-es típusú prokollagén N-terminális propeptid, PTH: parahyreoid hormon, PWV: pulzushullám terjedési sebesség, QCTTOTBMD: QCT teljes BMD, QCTTRABBMD: QCT trabekuláris BMD, RANKL: receptor aktivátor nukleáris faktor kappa B ligand, SOST: szklerosztin, TSP1: thrombospondin-1, VITD3: D3-vitamin*

Az egyváltozós és többváltozós regresszióanalízis során a vaszkuláris és csont állapot közötti ok-okozati kapcsolatot modelleztük. Az összefüggések közül a többváltozós regresszióanalízis által is megerősített eredményeket a *9.táblázat* foglalja össze. Ezek alapján az FMD kezdeti értéke és az OPG kezdeti értéke között ( $p=0,026$ ), az IMT és SOST 12.hónapban mért értékei között pozitív összefüggést ( $p=0,014$ ), míg az IMT6 és kezdeti OC értéke között fordított összefüggést találtunk ( $p=0,032$ ). A PWV esetében mindhárom időpontban meghatározó független változót igazolt. A kezdeti PWV értéke a kezdeti VITD3-mal ( $p=0,042$ ), a 6.hónapban mért PWV a PTH-6-tal ( $p=0,047$ ) míg a 12.hónapban mért PWV a kezdeti katepszinnal (CATHK-0) mutatott összefüggést ( $p=0,013$ ). Ezenkívül a kezdeti QCT trabekuláris BMD fordítottan kapcsolódott az IMT kezdeti ( $p=0,023$ ) és 6-hónapban mért értékéhez ( $p=0,002$ ), míg a QCT teljes BMD szintén fordítottan az IMT értékéhez a 12.hónapban ( $p=0,011$ ). Másrészt, amikor a csont státusz vaszkuláris paraméterek szerinti meghatározóit elemeztük, mind az egyváltozós, mind a többváltozós elemzések arra utaltak, hogy a PDGF-BB pozitívan asszociált a DEXA femoralis BMD-hez ( $p=0,036$ ), míg az IMT fordítottan korrelált a QCT teljes BMD-vel ( $p<0,001$ ) (*9.táblázat*).

9.táblázat. A vaszkuláris és csont állapot meghatározása többváltozós regresszióanalízissel

Függő változó	Független változó	Egyváltozós analízis				Többváltozós analízis			
		$\beta$	p	B	95%CI	B	p	B	95%CI
<b>Vaszkuláris állapot meghatározása a csont biomarkereivel</b>									
FMD-0	OPG-0	0.343	0.041	0.620	0.027– 1.213	0.356	0.026	0.674	0.088– 1.259
IMT-0	QCTTRABBM D-0	- 0.35 5	0.023	- 0.01 2	- 0.022 – - 0.002	- 0.35 5	0.023	- 0.01 2	- 0.022 – - 0.002
IMT-6	OC-0	- 0.40 0	0.005	- 0.00 5	- 0.009 – - 0.002	- 0.30 0	0.032	- 0.00 3	- 0.006 – - 0
IMT-6	QCTTRABBM D-0	- 0.49 6	0.001	- 0.01 7	- 0.027 – - 0.007	- 0.44 0	0.002	- 0.01 5	- 0.025 – - 0.006
IMT-12	SOST-12	0.347	0.023	0.001	0–0.001	0.379	0.014	- 0.00 1	0–0.002
IMT-12	QCTTOTBMD -12	- 0.54 3	<0.00 1	- 0.03 6	- 0.055 – - 0.018	- 0.39 0	0.011	- 0.02 4	- 0.041 – - 0.006
PWV-0	VITD3-0	- 0.31 6	0.042	0.016	0.001– 0.032	- 0.31 6	0.042	0.016	0.001– 0.032
PWV-6	PTH-6	0.306	0.036	0.310	0.021– 0.599	0.275	0.047	0.278	0.004– 0.553
PWV-12	CATHK-0	0.376	0.013	0.103	0.023– 0.182	0.376	0.013	0.103	0.023– 0.182
<b>Csont állapot meghatározása a vaszkuláris biomarkerekkel</b>									
DEXFEMBM D-12	PDGF-BB-0	0.434	0.021	0	NS	0.357	0.036	0	NS
QCTTOTBM D-12	IMT-12	- 0.54 3	<0.00 1	- 8.09 3	- 12.14 9– - 4.037	- 0.54 3	<0.00 1	- 8.09 3	- 12.14 9– - 4.037

Rövidítések. BMD: csont ásványianyag-sűrűség, CATHK: katepszin K, CTX: C-terminális telopepid, DEXFEMBM: DEXA combnyaki BMD, FMD: arteria branchialis áramlás mediált dilatáció, IMT: arteria carotis communis intima-média vastagság, OC: oszteokalcin, OPG: oszteoprotegerin PDGF-BB: vérlemezke eredetű növekedési faktor BB, PINP: I-es típusú prokollagén N-terminális propeptid, PTH: parahyreoid hormon, PWV: pulzushullám terjedési

sebesség, QCTTOTBMD: QCT teljes BMD, QCTTRABBMD: QCT trabekuláris BMD SOST: szklerosztin, VITD3: D3-vitamin

A 10.táblázat az általános lineáris modell ismételt méréses varianciaanalízis (GLM RM-ANOVA) eredményeit foglalja össze, mely során az ér- és csontmarkerek laboratóriumi- és képalkotó paraméterei, mint függő változók, két független determináns általi 12 hónapos változását vizsgáltuk. Az elemzés során csak az IMT, mint függő változó hozott eredményeket. Ebben a vonatkozásban az IMT szintjének 12 hónapos (IMT 0-6-12) illetve a 6. és 12. hónap közötti (IMT 6-12) változására az anti-TNF terápia kombinált hatást fejt ki a kezdeti oszteokalcinnal (p=0,045 és p=0,038). Az IMT teljes (0-6-12) és IMT 0-6. hónap között a P1NP-vel (p=0,036 és p=0,024), valamint az IMT szintjének 6 és 12 hónapos változására a D3-vitaminnal (p=0,041). Ez mindhárom esetben fordított összefüggést mutatott.

10.táblázat. Általános lineáris modell (GLM) ismételt mérésű varianciaanalízis (RM-ANOVA) teszt szignifikáns eredményei, amely meghatározza a kezelés és más független változók hatását az IMT-re, mint függő változóra

Függő változó	Hatás	F	p	Parciális $\eta^2$
IMT 0-6-12	kezelés * OC-0(inv)	3.357	0.045	0.147
IMT 6-12		4.598	0.038	0.103
IMT 0-6-12	kezelés * P1NP-0(inv)	3.623	0.036	0.157
IMT 0-6		5.471	0.024	0.120
IMT 6-12	Kezelés * VITD3-0(inv)	4.459	0.041	0.100

Rövidítések. IMT: arteria carotis communis intima-média vastagság, OC: oszteokalcin, P1NP: I.-es típusú prokollagén N-terminális propeptid, VITD3: D3-vitamin

Két egymással korreláló vaszkuláris és csontmarker kovariáns determinánsainak értékelésére a MANOVA módszert alkalmaztuk. Eredményeink alapján a kiindulási betegségaktivitás (DAS28/BASDAI) szignifikáns hatást gyakorolt a 12.hónapban mért IMT és QCT trabekuláris BMD (p=0,028), a PWV és QCT trabekuláris BMD között (p=0,042), valamint a 6.hónapban mért Ang2 és RANKL közötti fordított összefüggésekre. Az OC és a BNP közötti pozitív korrelációra a 12.hónapban a kezdeti CRP gyakorolt szignifikáns hatást (p=0,031). A betegségaktivitás anti-TNF terápiával összefüggő változásainak hatásait vizsgálva a különböző biomarkereken azt találtuk, hogy a kiindulási állapot és a 12 hónap közötti DAS28

(0-12) vagy BASDAI (0-12) szignifikáns hatást gyakorolt az IMT és szklerosztin ( $p=0,021$ ), valamint a PWV és katepszin K közötti pozitív összefüggésekre ( $p=0,021$ ) (11.táblázat).

11. táblázat. Az általános lineáris modell (GLM) többváltozós varianciaanalízis (MANOVA) teszt szignifikáns eredményei

Függő változó	Hatás	F	p	Parciális $\eta^2$
IMT-12 és QCTTRABBMD-12 (inv)	DAS28-0/ BASDAI-0	3.962	0.028	0.185
PWV-12 és QCTTRABBMD-12 (inv)	DAS28-0/ BASDAI-0	3.482	0.042	0.166
ANG2-6 és RANKL-6 (inv)	DAS28-0/ BASDAI-0	4.748	0.021	0.322
OC-12 és BNP-12 (poz)	CRP-0	3.764	0.031	0.146
IMT-12 és SOST-12	$\Delta$ DAS28 0–12/ $\Delta$ BASDAI 0–12	4.271	0.021	0.176
PWV-12 és CATHK-12	$\Delta$ DAS28 0–12/ $\Delta$ BASDAI 0–12	4.243	0.021	0.175

Rövidítések. ANG2: angiopoietin2, BASDAI: Bath Ankylosing Spondylitis Disease Activity Index, BNP: B-típusú natriuretikus peptid, CRP: C reaktív-protein, DAS28: 28-joint disease activity score, IMT: arteria carotis communis intima-média vastagság, inv: fordított, OC: oszteocalcin, poz: pozitív, PWV: pulzushullám terjedési sebesség, QCTTRABBMD: QCT trabekuláris BMD, RANKL: receptor aktivátor nukleáris faktor kappa B ligand

#### 6.2.2. TNF-gátlók hatása a vaszkuláris és csont biomarkerek összefüggéseire

Végezetül az anti-TNF terápia hatását vizsgáltuk a gyulladással járó érrendszeri és csont interakciókra. Ezen célból összevetettük a kezdeti és 12 hónap után mért érrendszeri és csont biomarkerek összefüggéseinek mintázatait. Az egy- és többváltozós elemzések során a kezdeti oszteoprotegerin az FMD-vel, a D3-vitamin a PWV-vel, valamint a PDGF-BB a DEXA femoralis BMD-vel mutatott korrelációt. Ezen összefüggések a 12 hónapos kezelés után nem voltak kimutathatóak (9.táblázat). Ezzel ellentétben az egy éves kezelés után, szemben az alapvonal értékeivel, a következő összefüggéseket találtuk. Az osteocalcin, CTX, P1NP és az IMT, valamint a katepszin K (CATHK) és PWV 12 hónapos értékei között találtunk szignifikáns korrelációt az egy éves kezelést követően. A képalkotói paraméterek estében pedig az IMT vagy PWV és a QCT teljes BMD között találtunk szignifikáns összefüggéseket (9.táblázat).

Számos esetben találunk olyan korrelációkat, mely során az egyes kiindulási vaszkuláris biomarkerek képesek voltak meghatározni az egy éves terápia utáni csont állapotát, valamint ugyanez volt érvényes visszafelé is (*9.táblázat*). A MANOVA analízisben, a betegség aktivitása vagy a betegség aktivitásban bekövetkezett változások, valamint a kiindulási CRP értékei több korrelációt határoztak meg a 12 hónap után kezelt betegek érrendszeri- és csont biomarkerei között (*11.táblázat*). Ezen megfigyelések alátámasztják azt a hipotézist, miszerint az anti-TNF kezelés képes befolyásolni a vaszkuláris-csont kölcsönhatásokat.

## 7. MEGBESZÉLÉS

Az első vizsgálatunk célja az volt, hogy olyan vaszkuláris biomarkereket vizsgáljunk, melyek kapcsolatban állnak a gyulladásos folyamatokkal, és szerepet játszanak az endothéliális diszfunkció és a plakk kialakulásában. Emelkedett szintjük igazolt az egyes arthritises megbetegedésben. Egy másik célpontunk az volt, hogy megvizsgáljuk az anti-TNF terápia hatását a biomarkerek szérumszintjére 6 és 12 hónappal a kezelés megkezdése után. Emellett, összefüggéseket kerestünk a szisztémás gyulladás markerei, a betegségaktivitási indexek, a lipidparaméterek, az autoantitestek és a vaszkuláris képalkotói vizsgálat értékei között, RA és SPA betegek esetében. A munkacsoportunk korábban publikálta azon eredményeit, amelyek az IMT, FMD, és PWV ultrahangos vizsgálatok értékeinek TNF $\alpha$ -gátló kezelés hatására bekövetkező változásait mutatták be<sup>196</sup>.

Az oxLDL/ $\beta$ 2GPI komplexum emelkedett szintjét először az antifoszfolipid szindróma (APS) és a szisztémás lupus erythematosus (SLE) betegségekben írták le<sup>200</sup>. Később kimutatták a magasabb koncentrációját a szisztémás szklerózis (SSc) és a reumatoid arthritis (RA) betegségekben is<sup>201</sup>. Jelen vizsgálatunkban a RA és SPA betegekben az oxLDL/ $\beta$ 2GPI komplex szintjének egy éves anti-TNF terápia utáni változását vizsgáltuk. Eredményeink azt mutatták, hogy a 12 hónapos kezelés szignifikánsan csökkentette a komplex szérum szintjét a teljes betegcsoportban. Ez az első olyan tanulmány, amely a oxLDL/ $\beta$ 2GPI komplex változását vizsgálja az anti-TNF terápia hatására RA és SPA betegekben. Ugyanakkor számos tanulmány bizonyította, hogy a komplex nemcsak az egyes reumatológiai megbetegedések esetében magasabb, hanem emelkedett szintjük összefüggésbe hozható a megnövekedett akut koronária megbetegedések és egyéb vaszkuláris károsodások kialakulásának kockázatával<sup>41,202–206</sup>. A jelen tanulmányban vizsgált összefüggés alapján feltételezhető, hogy a terápia hatására bekövetkező szignifikáns csökkenés, nagy valószínűséggel vezet az egyes kardiovaszkuláris szövődmények kockázatának csökkenéséhez is. Ennek érdekében hosszabb távú követést tervezünk végezni. Emellett összefüggéseket találtunk a komplex kezdeti értékei és az egyes lipidek (TC, LDL) kezdeti értékei között. Bár a gyulladásos paraméterek, a betegségaktivitás és a képalkotó értékek között nem sikerült összefüggést kimutatni, a statisztikai elemzés (RM-ANOVA) eredményei alapján az 1 éves kezelés hatására bekövetkező oxLDL/ $\beta$ 2GPI komplex 12 hónapos változását a betegségaktivitás (DAS28/BASDAI) kezdeti értékei határozzák meg. Ennek következtében az egyes betegek kezdeti betegségaktivitás értéke alapján előre jelezhető az anti-TNF terápia hatására bekövetkező oxLDL/ $\beta$ 2GPI komplex változása egy éves időtávon.

Az autoimmun betegségekben megemelkedett anti-HSP (aHSP) antitestek szintjével kapcsolatban az első jelentések 1991-ben jelentek meg, amikor Jarjour és munkatársai a különböző reumatológiai és egyéb gyulladós betegek szérumában magasabb aHSP60 antitest szinteket találtak a normál kontroll csoporthoz képest<sup>207</sup>. Habár az antitestek magasabb szintje az érlemeszesedés során a rosszabb kimenetel előjelzőjeként szolgál, a RA és SPA betegek esetében mégsem volt kimutatható összefüggés a betegség aktivitásával vagy progressziójával<sup>52,208</sup>. Ezzel szemben az eddigi tanulmányok azt mutatják, hogy az aHSP-k potenciálisan képesek csillapítani vagy szabályozni a gyulladós válaszokat, így az autoimmunitás szabályozó homeosztázisának fontos résztvevőinek tekinthetők. Ezt támasztják alá azon megfigyelések, melyek során az adjuváns ízületi gyulladós patkány modellekben a HSP60-nal történő immunizálás nem váltott ki ízületi gyulladást, ami mellett a szérum TNF $\alpha$  szint csökkenése és fokozott IL-4 termelés volt megfigyelhető<sup>51,209,210</sup>. Juvenilis idiopatiás ízületi gyulladásban szenvedő gyermekek esetében, a betegség kezdetén mért HSP60 elleni T-sejt reaktivitás szignifikánsan emelkedett volt, és ez pozitívan korrelált a betegség remissziójával<sup>211</sup>. Jelen tanulmányunkban az anti-TNF gátló kezelés egy éves hatását vizsgáltuk az anti-HSP60 koncentráció szintjére. Tudomásunk szerint nem volt korábbi vizsgálat, amely a biológiai terápia által bekövetkezett változást vizsgálta volna RA vagy SPA betegeknél. Habár jelen eredményeink szerint a biológiai terápia nem változtatta meg szignifikánsan az anti-HSP60 szintjét a 12 hónapos kezelés után, a kezdeti anti-HSP60 szintjének egy éves kezelés során bekövetkező változását a kezelés és az IMT kezdeti értéke képes volt meghatározni. A kezdeti anti-HSP60 szinteket összevetve a kezdeti betegségaktivitási index értékeivel (DAS28/BASDAI), a kezdeti CRP vagy We értékeivel nem találtunk összefüggést. Ezen eredmények összhangban állnak az eddigi tanulmányokkal, miszerint az aHSP60 antitest szintje nem tükrözi a gyulladós állapotot autoimmun reumatológiai betegek esetében.<sup>52,208</sup> Ugyanakkor a kezdeti értékek korreláltak az endothelsejtek kóros működését tükröző kezdeti PWV, FMD és triglicerid szintekkel.

Az immunrendszer aktiválódása és a gyulladós válasz kialakulása a suPAR (szolubilis urokináz aktivátor receptor) koncentrációjának emelkedéséhez vezet, melyet értékes indikátorként írtak le számos gyulladós reumatológiai megbetegedésben, köztük rheumatoid arhritisben, szisztémás szklerózisban és a szisztémás lupus erythematosusban<sup>80,212–214</sup>. A fent említett betegségek patogenezisében az uPA/uPAR kölcsönhatása elősegíti a betegség progresszióját, mivel serkenti a citokinek, kemokinek, növekedési faktorok és MMP-k (metalloproteinázok) szekrécióját. Ennek következtében fokozott pericelluláris proteolízist eredményez, ami fontos tényezője a csont- és porcdegradációnak. Emellett a gyulladós

immunsejtek infiltrációja és az ízületi szövetek proliferációja is szerepet játszik az ízületek patofiziológiás elváltozásaiban<sup>215-217</sup>. Jelen tanulmányban összehasonlítottuk a kezdeti suPAR szinteket a kezdeti betegségaktivitási index értékeivel (DAS28/BASDAI), valamint a kezdeti CRP vagy We értékeivel, és nem találtunk összefüggést a suPAR szintje és a kezdeti gyulladás mértéke között. Szeropozitív rheumatoid arthritis (RA) betegeknél a suPAR érték és az RF és ACPA értékek közötti korreláció kimutatható volt a terápia megkezdése előtt, ami a suPAR prognosztikai biomarkerként való szerepére utal. A suPAR magasabb erozív aktivitását tükrözi az a tanulmány is, amely RA betegek esetében szignifikánsan magasabb suPAR értéket mutatott ki azon betegeknél, akiknél legalább 4 ízület érzékenysége/duzzanata volt.<sup>213</sup> Az anti-TNF terápia hatását a suPAR értékre csak kevés tanulmány vizsgálta. Egy 8 hetes adalimumab kezelés során, a terápiára jól reagáló RA betegek esetében a suPAR szint szignifikánsan csökkent a kezelés hatására<sup>218</sup>. Egy másik tanulmányban az infliximab kezelés nem hozott szignifikáns változást a suPAR szintekben azoknál a betegeknél, akik gyermekkori gyulladásos bélbetegségben (IBD) szenvedtek<sup>219</sup>. Az anti-TNF terápia esetünkben nem csökkentette a suPAR szintet a 12 hónapos kezelés mellett, amikor a teljes betegcsoportot vizsgáltuk. A betegek suPAR szintjük alapján történő kategorizálás után viszont szignifikáns csökkenést figyeltünk meg azon betegek esetében, akiknél a kiindulási suPAR szint kritikusan magas volt. A korrelációs- és regresszióanalízis azt mutatta, hogy a 12 hónapban mért suPAR és CRP értékek között összefüggés van, ami arra utal, hogy azon esetekben, amikor az egy éves terápia ellenére a CRP értéke magas marad, a suPAR értéke ugyancsak magasnak bizonyul. A suPAR egyre több figyelmet kap, mint az új ígéretes biomarker a kardiovaszkuláris megbetegedésekhez kapcsolódóan, emelkedett szintje összefüggést mutat a koszorúér-betegség és iszkémiás stroke kockázatával<sup>220</sup>. A vizsgálatunk során korrelációt találtunk a pangásos szívelégtelenség egyik fontos biomarkere, a kezdeti BNP és kezdeti suPAR szintek között. Ugyanakkor arteria carotis communis intima-média vastagság (cIMT) kezdeti értéke a kezelés hatásával képes volt meghatározni a suPAR 12 hónapos változását a kezelés hatására.

A B-típusú natriuretikus peptid (BNP) és N-terminális pro B-típusú natriuretikus peptid (NT-proBNP) olyan prognosztikai biomarkerek, amelyeket rutinszerűen alkalmaznak a szívelégtelenség, koszorúér megbetegedések és az aortabillentyű szűkületének diagnosztizálása során. Az NT-proBNP inaktív és passzívan távozik a szervezetből, míg a BNP biológiai aktivitása aktív. Azonban diagnosztikai értékük hasonló, ezért mindkét markert relevánsnak tekintjük a korábbi kutatási eredmények tekintetében. A szívizom fokozott feszülése a szintézisük és felszabadulásuk fő kiváltó oka, azonban egyre több adat támasztja alá, hogy a gyulladás során is fokozódik a termelésük<sup>97</sup>. A magasabb NT-proBNP szint kimutatható egyes

autoimmun betegségekben, valamint a RA betegség esetében az aktív betegeknél magasabb BNP szintet figyeltek meg, mint a közepesen aktív vagy jól kontrollált betegeknél<sup>198,221</sup>. Emellett a betegség időtartama, a gyulladáshoz kapcsolódó markerek (TNF $\alpha$ , IL-6, CRP, We), valamint a betegség aktivitási pontszáma mind összefüggésben állt az NT-proBNP szintjével, ami ugyancsak a gyulladás és szívizomstressz közötti kapcsolatra utal<sup>222-224</sup>. Ebben a tanulmányban arra fókuszáltunk, hogy meghatározzuk az anti-TNF terápia hatását a BNP szintre egy éves kezelés során RA és SPA betegeknél. Az eddigi kutatások eredményei nem egységesek. Egyes tanulmányok azt mutatták, hogy a TNF gátlók hatékonyan csökkentették az NT-proBNP szintjét RA és SPA betegeknél<sup>225,226</sup>, míg mások nem tapasztaltak szignifikáns változást a TNF terápia hatására<sup>221</sup>. Azonban, a BNP fragmensek vizsgálatát még nem végezték el ezekben a betegségekben. Saját vizsgálatunkban megállapítottuk, hogy az anti-TNF terápia nem mutatott szignifikáns változást a BNP értékek vonatkozásában a teljes csoportot nézve. Eredményeink nem támasztják alá, hogy ezek a célzott terápiák védelmet nyújtanának a szívelégtelenséggel szemben. Azonban, szeropozitív betegeknél magasabb BNP szintet tapasztaltunk a szeronegatív betegekhez képest. Az NT-proBNP és a CRP közötti kapcsolatot számos esetben tanulmányozták. Egy norvég longitudinális vizsgálat összefüggést mutatott ki az NT-proBNP és CRP között mind kiinduláskor, mind 10 év után.<sup>227</sup> Jelen tanulmányban a korrelációs- és regresszióanalízis kimutatta a BNP kezdeti szintje és a CRP kezdeti és 12.hónapban mért szintje közötti összefüggést. A többszörös regresszióanalízis eredményei azt sugallják, hogy a kezdeti gyulladás mértéke előre jelezheti, hogy a BNP szint hogyan változik majd az egy éves kezelés után. Számos tanulmány vizsgálta a natriuretikus peptidek és az érlelmeszesedés közötti kapcsolatot. Kimutatták például, hogy az NT-proBNP szintje emelkedett azon normál bal kamrai funkciójú betegeknél, akik koszorúér-erlelmeszesedésben szenvednek, valamint a BNP expresszióját humán koszorúér-explantátumokban, ami arra utal, hogy képes lokálisan felszabadulni a koszorúerekből.<sup>228,229</sup> Jelen vizsgálat során, szignifikáns összefüggéseket találunk a lipidparaméterek közül a triglicerid, a vaszkuláris képalkotó paraméterek közül az IMT-vel, valamint a betegek életkora és a BNP kezdeti szintje között. Ezek az eredmények felvetik annak a lehetőségét, hogy a BNP és az akut fázis markerek közötti kapcsolat közvetlen lehet az érlelmeszesedés és gyulladás kapcsolatán keresztül.

A második vizsgálat során munkacsoportunk két korábbi tanulmányának adatait vettük alapul. Az adatok ugyanazon betegcsoport, ugyanabban az időpontban mért érrendszeri<sup>196,197</sup>, csont státusz<sup>198</sup> eredményeit tartalmazták, amelyeket új szempontok szerint elemeztünk. A célunk az volt, hogy meghatározzuk a csont és vaszkuláris markerek közötti összefüggéseket,

valamint, hogy az anti-TNF terápia hatásának vizsgálatával összehasonlítsuk a kezelés előtti és utáni adatokat, hogy meghatározzuk a csont és érrendszeri állapotok közötti kapcsolatot.

Az arthritisben megfigyelhető kardiovaszkuláris és csont betegségek magasabb előfordulása összefüggésbe hozható a krónikus szisztémás gyulladással 10,11,22–25,118–120,230–234. Az ezen megfigyelések alapján végzett számos tanulmány vizsgálta az RA és SPA betegségek során alkalmazott célzott terápiák hatását az egyes érrendszeri és csont biomarkerekre 196–198,235–237. Azonban csak nagyon kevés esetben vizsgálták ezen markerek együttes változását egy utánkövetéses vizsgálat keretein belül. Néhány példa közé tartozik egy RA-s beteget vizsgáló longitudinális vizsgálat, mely kimutatta, hogy azok a betegek, akiknél osteoporotikus törés alakult ki, nagyobb volt a kockázata a későbbi szív-és érrendszeri betegségek kialakulásának 234.

Az arthritisben szenvedők érlelmeszesedésének és csontvesztésének kimutatására számos képalkotó vizsgálat és laboratóriumi marker áll rendelkezésre. A kvantitatív komputertomográfia (qCT) és a kettős energiájú röntgenabszorpciometria (DEXA) segítségével határozható meg az egyes csontok ásványianyag-sűrűsége (BMD). A vaszkuláris fiziológiás ultrahangos vizsgálatok során kapott IMT érték az érlelmeszesedés, az FMD az endotheliális diszfunkció és a PWV az artériás érfali merevség megbízható markere. Az érlelmeszesedés és a csontitkulás gyulladással összefüggő folyamatait számos molekuláris marker kapcsolja össze, mint például a szisztémás gyulladás biomarkerei (CRP, We), a proinflammatorikus citokinek, az egyes csontanyagcsere biomarkerei (PTH, VITD3, OC, P1NP, CTX-I, SOST, DKK-1, sRANKL, CATHK) és a vaszkuláris mediátorok (VEGF, PDGF-BB, Ang-1, Ang-2, TSP-1) 111,114,120,158,167,178,187,238,239

Az RA és SPA betegségek esetében a gyulladást elősegítő molekulák, például a CRP, a proinflammatorikus citokinek (IL-6, IL-1, TNF $\alpha$ ) emelkedett szintje kulcsszerepet játszik a szív- és érrendszeri, valamint a csontitkulásos megbetegedések patogenezisében. 234 A TNF $\alpha$  képes befolyásolni a csontok szerkezetét és átépülését, kedvezőtlenül hat a csontszövetre az oszteoklasztok képződésének serkentése által. 240 Az érlelmeszesedés patológiájában a TNF $\alpha$  emelkedett szintje hozzájárul az endothél kóros aktivációjához, a vaszkuláris simaizomsejtek migrációjához és proliferációjához, valamint a koleszterin érfali felhalmozódásához, melyek az ateroszklerotikus plakkok növekedéséhez vezetnek. 13,26,27 Ezek alapján az RA és SPA kezelésére alkalmazott célzott terápiák, mint például a TNF $\alpha$ -gátló etanercept és certolizumab pegol a krónikus gyulladás csökkentése által, előnyös hatásúak lehetnek ezen társbetegségek kialakulására. Korábbi tanulmányokban munkacsoportunk publikálta az egyéves anti-TNF terápia külön érrendszerre és csontállapotra gyakorolt hatását 197,198. Azonban nagyon kevés

tanulmányt találtunk a szakirodalomban, amely egyszerre vizsgálta volna az RA és SPA betegek kezelésére alkalmazott anti-TNF terápia hatását a csont- és vaszkuláris laboratóriumi biomarkerekre és képalkotó paraméterekre.

Statisztikai elemzésünk során, a legrelevánsabb szignifikáns korreláció, melyek egymáshoz viszonyítva fordított összefüggés mutattak, a különböző időpontokban mért IMT és QCT, valamint a PWV és combnyak BMD paraméterek között volt kimutatható. Ezek az eredmények azt sugallják, hogy a tartós szisztémás gyulladás egyszerre hat a csontokra és az erekre, és az egy éves terápia nemcsak a gyorsan változó gyulladásos markerek, hanem a strukturális paraméterek esetében is egymással összefüggő változást hozhat. Az FMD és oszteoprotegerin (OPG) közötti pozitív összefüggést a korrelációs és regresszió analízis eredményeink is megerősítették. Emellett a PWV és IMT számos csontmarkerrel mutatott összefüggést. Az angiogén biomarkerek esetében is számos korreláció volt kimutatható a csont markerekkel, így például a trombocita eredetű növekedési faktor BB (PDGF-BB) pozitív összefüggés mutatott a combnyak BMD értékével.

A regressziós analízis során az ok-okozati összefüggéseket vizsgáltuk az egyes képalkotó és laboratóriumi markerek között. A korrelációs analízis során kimutatott kiindulási FMD és OPG értékek közötti összefüggést megerősítettük regressziós analízisünkkel. Az oszteoprotegerin melyről ismert, hogy a csontokban a RANKL-hoz kötődve fontos szerepe van az oszteoklasztogenezis gátlásában<sup>178</sup>, összefüggésbe hozták a vaszkuláris meszesedés mértékével is. Az endothelsejtek és vaszkuláris simaizomsejtek is képesek az OPG termelésére, amely hozzájárul a szubklinikai érlemeszesedés kialakulásához azáltal, hogy endothéliális diszfunkciót, kóros endothél aktivációt és simaizom proliferációt indukál.<sup>242,243</sup> Az oszteoprotegerin magas szintje tehát egy magasabb vaszkuláris kockázatot jelezhet előre RA és SPA betegségben.

A szklerosztin (SOST) és IMT értékek között a 12. hónapban pozitív összefüggést találtunk. A legújabb tanulmányok szerint arterioszklerotikus körülmények között a vaszkuláris simaizomsejtek olyan fenotípusos átmenetet hozhatnak létre az oszteoblasztok irányába, amelyek képesek bizonyos csontmarkerek, így például a szklerosztin kifejezésére<sup>244</sup>. Egyes vizsgálatok az SOST emelkedett szintjét mutatták ki szöveti szinten érlemeszesedésben, azonban egyelőre nem világos, hogy védő szerepe van-e ebben a folyamatban vagy egy rosszabb prognózis kimenetelét jelzi előre<sup>245</sup>. A MANOVA elemzésünk eredménye alapján, a betegségaktivitás egy éves szintjének változása képes volt befolyásolni az IMT és szklerosztin közötti összefüggést a 12. hónapban. Ez arra utal, hogy a gyulladásnak kulcsfontosságú szerepe lehet a két marker összefüggésében.

A kutatásunk során vizsgáltuk az angiogenezisre jellemző markerek és a csontszövet változásai közötti összefüggést. Megállapítottuk, hogy a kezdeti PDGF-BB szint és a 12 hónap utáni DEXA combnyak BMD pozitív összefüggést mutatnak egymással. A PDGF-BB jelentős szerepet játszik az angiogenezis elősegítésében érlemeszesedés során<sup>114</sup>, emellett szabályozó tényezőként ismert a csontszövet helyreállításában és regenerációjában<sup>246</sup>. A legújabb kutatások kimutatták, hogy a PDGF-BB képes fokozni a simaizomsejtek migrációját, ezáltal hozzájárulva az érlemeszesedés kialakulásához.

A regressziós analízisünk további összefüggéseket tárt fel a csont- és érrendszeri képző paraméterek között. Megállapítottuk, hogy a qCT trabekuláris BMD kiinduláskor és a teljes BMD 12 hónap után fordítottan korrelált a kiindulási, illetve 12 hónapos IMT-vel. Emellett a 12 hónapos IMT fordított összefüggést mutatott a QCT teljes BMD-vel 12 hónap után. Ezek az eredmények további bizonyítékként szolgálnak arra, hogy a gyulladással csontvesztés és érlemeszesedés kialakulása között szoros kapcsolat áll fenn.

A vaszkuláris képző paraméterek közül a PWV az artériás merevség mérőszáma, az egyik legkorábbi markere az artériák falában bekövetkező szerkezeti és funkcionális változásoknak.<sup>247</sup> Értéke összefüggést mutat az artéria plakk általi beszűkülésével. Vizsgálatunk során a 12. hónapban mért PWV a kezdeti katepszin K (CATHK) értékét határozta meg. A katepszin K az instabil plakkokban magas szinten expresszálódik,<sup>248</sup> és termelése szorosan összefügg az érfalon belüli gyulladással kapcsolatos folyamatokkal. Az elasztin és kollagén bontása révén fontos szerepet játszik az artériák extracelluláris mátrixának átalakításában és az ateroszklerotikus plakkok destabilizálásában.<sup>249,250</sup> Ezen kapcsolatot a MANOVA elemzésünk is megerősítette, mely során a betegségaktivitási indexek (DAS28/BASDAI) értékeinek egy éves változása befolyásolta a 12. hónapban mért PWV és CATHK közötti kapcsolatot.

A D3-vitamin számos fiziológiai és kóros folyamatot szabályoz, és érvédő hatása révén fontos szerepet játszik a korai endothél aktiváció szakaszától a plakk kialakulásáig. Alacsony szintje összefügg a koszorúér meszesedések fokozott kockázatával<sup>195</sup>. Tanulmányunkban megerősítette, hogy a kezdeti PWV és D3-vitamin között szignifikánsan fordított ok-okozati kapcsolat áll fenn.

Az RM-ANOVA elemzés során megállapítottuk, hogy az egyéves biológiai kezelés összefügg az IMT változásaival a terápia során, amelyet a különböző csont biomarkerek kiindulási szintjeivel (OC, P1NP, VITD3) kombinálva értünk el. Az összefüggés mindig fordított volt. Az alacsony OC, P1NP és VITD3 szintek ismertek a csökkent csontforgalom és a törések számának növekedése előrejelzésében. Ezek a megfigyelések további bizonyítékok

arra, hogy a csökkent csontsűrűség összefügg a megnövekedett ateroszklerotikus érrendszeri rendellenességek előfordulásával<sup>251</sup>.

A MANOVA elemzés feltárta, hogy a betegség aktivitása vagy a szisztémás gyulladás (CRP), valamint ezek anti-TNF gátlóhoz kapcsolódó változásai a kezdeti állapot és az egy éves kezelés között befolyásolhatják bizonyos csont-és érrendszeri biomarkerek közötti kapcsolatot. Eredményeink alapján a kezdeti DAS28/BASDAI értékek az egyes csont és érrendszeri képző paraméterek közül fordítottan befolyásolta a 12 hónapban mért IMT, valamint PWV és a QCT trabekuláris BMD közötti összefüggéseket. Ugyancsak fordítottan befolyásolta az angiogenezis folyamatában szerepet játszó angiopoietin 2 és RANKL csontmarker közötti kapcsolatot a 6 hónapban. A betegségaktivitási indexek 1 éves változása az előzőekben leírt 12 hónapban mért IMT és szklerosztin, valamint a PWV és katepszik-K közötti kapcsolatot befolyásolta. A CRP kezdeti szintje a csontképződésre jellemző oszteokalcin és az egyes szív-és érrendszeri betegségek prognosztikai markereként használt BNP közötti összefüggést befolyásolta a 12.hónapban. Ezen összefüggések alapján, az egy éves terápia jelentős hatással lehet az érrendszeri és csont kölcsönhatásokra

Eredményeink alapján a TNF gátlóval kezelt RA és SPA betegek esetében számos olyan csontmarkert találtunk, amely képes volt meghatározni a vaszkuláris állapotot a 12 hónapos kezelés után, és ugyanez fordítva is igaz volt. Emellett a szisztémás gyulladás és az arthritises betegségaktivitás is képes volt befolyásolni az érrendszeri és csont markerek közötti kapcsolatot. Az RA-ANOVA és MANOVA elemzések során leírt egyes hatások alapján, a kezdeti magas gyulladásos státusz számos kapcsolatot teremthet az érrendszeri és csont markerek között, ezek gyakrabban észlelhetők kiinduláskor, mint az egy éves kezelést követően. Ennek egyik magyarázata lehet, hogy az egy éves terápiát követően a gyulladásos alapfolyamat mértéke csökken, ami a gyulladásban szereplő molekulák, sejtek aktivitásának a megváltozásával jár, ami befolyásolja ezen gyulladásos szereplők hatását a vaszkuláris és csontrendszerre is.

Az RA és SPA betegek vizsgálata során mindkét vizsgálatnak számos erőssége mellett bizonyos korlátai is vannak. Az alacsony betegszám miatt a legtöbb esetben a vegyes kohorsz csoportot kellett alapul venni az értékelések során, ami azt jelentette, hogy nem volt lehetőség az RA és SPA betegcsoportok közötti összehasonlításra. Hasonlóképpen, az etanercept és certolizumab pegol biológiai terápiák hatékonyságának összehasonlítására sem volt lehetőségünk az alacsony betegszám miatt. A vizsgálat során hiányzott a kontrollcsoport is, ami

további nehézségeket okozott az eredmények értelmezésében. Ráadásul, a vizsgált markerek többsége klinikailag nem validált, ami megnehezítette az eredmények mindennapi gyakorlati relevanciájának értékelését.

## 8. ÖSSZEFOGLALÁS

A reumatológiai megbetegedések esetében nagyobb a kockázata számos társbetegség kialakulásának<sup>3</sup>. A jelenleg alkalmazott TNF $\alpha$ -gátló terápiák segíthetnek megelőzni a betegséggel kapcsolatos szisztémás csontvesztést, valamint csökkenthetik a szív- és érrendszeri betegségek kialakulásának kockázatát.

Az **első vizsgálat** során az RA és SPA betegségek etanercept/ certolizumab pegol terápiáinak egy éves hatását vizsgáltuk olyan szolubilis vaszkuláris biomarkereken (oxLDL/ $\beta$ 2GPI komplex, suPAR, aHSP60, BNP fragmens), amelyek magas szintje a gyulladással összefüggő érlelmeszesedés kialakulásával kapcsolatosak. Ez az első olyan vizsgálat, amely hosszútávon vizsgálta ezen biomarkerek anti-TNF terápia hatására történő változását ezen betegségekben.

Eredményeink a következőkben foglalhatóak össze:

1. Az RA és SPA betegek teljes csoportjában megfigyelhető volt a szignifikáns csökkenés az oxLDL/ $\beta$ 2GPI komplex szintjében az egy éves anti-TNF terápia hatására. Emellett a kritikusan magas suPAR szinttel rendelkező betegeknél is hasonló hatást tapasztalunk. A bekövetkező csökkenés nagy valószínűséggel vezet az egyes kardiovaszkuláris szövődmények kockázatának csökkenéséhez.
2. RF és ACPA szeropozitivitás magasabb suPAR és BNP szinttel társult, ami egy rosszabb prognózis kimenetelét jelezheti előre.
3. Megerősítettük az egyes biomarkerek az érrendszer patofiziológiai elváltozásaival való összefüggését. Eredmények alapján, mind a 4 biomarker korrelációt mutatott valamelyik kiindulási lipidparaméterrel, valamint a vaszkuláris ultrahang vizsgálat számos esetben mutatott összefüggést az általunk vizsgált biomarkerekkel.
4. A regressziós analízis eredménye alapján, a CRP és triglicerid fontos előrejelzők lehetnek a BNP és suPAR szintekre vonatkozóan a kezelés előtt vagy után 12 hónappal.
5. A varianciaanalízis eredményei alapján, a betegségaktivitás vagy IMT jelentősen befolyásolhatja az anti-TNF kezelés hatásait az oxLDL/ $\beta$ 2GPI komplex, aHsp60 és suPAR változásaira.

A **második vizsgálat** során munkacsoportunk két korábbi tanulmányának eredményeit használtuk fel. Mindkét tanulmány ugyanabban a klinikai vizsgálatban értékelte a

vaszkuláris<sup>196,197</sup> és csont biomarkerek<sup>198,199</sup> egy éves anti-TNF-terápia hatását RA és SPA betegekben. Ez az első olyan vizsgálat, amely egyszerre vizsgálta az érrendszeri- és csontok állapotát biológiai szerekkel kezelt ízületi gyulladással betegeknek.

Eredményeink a következőkben foglalhatóak össze:

1. A csont- és érrendszeri paraméterek közötti kapcsolatot elemző korrelációs elemzése során megfigyeltük, hogy az IMT és qCT paraméterek, valamint a PWV és combnyaki BMD értékei között szignifikánsan fordított összefüggések állnak fenn különböző időpontokban. Lényeges ezáltal, hogy nemcsak a gyulladással biomarkerek közötti összefüggéseket figyeltük meg, hanem a strukturális markerek között is.
2. Az FMD és OPG között pozitív összefüggést mutattunk ki. Az eredményeink azt mutatják, hogy az OPG és FMD közötti kapcsolat az anti-TNF terápia előtt és után is fennáll, ami tovább bizonyítja az OPG biomarkerként betöltött szerepét a vaszkuláris kockázat és prognózis meghatározásában.
3. Az IMT és PWV számos csontmarkerrel összefüggött. A vaszkuláris biomarkerek közül a PDGF-BB pozitívan korrelációt mutatott a combnyaki BMD-vel, valamint több angiogén marker kapcsolódott számos csont biomarkerhez.
4. A regressziós analízisünk során számos olyan csontmarkert találtunk, amelyek képesek voltak megjósolni az érrendszeri állapotot a 12 hónapos kezelés után, és ugyanez fordítva is igaz volt. Emellett összefüggést találtunk a DEXA által értékelt femoralis BMD és a PDGF-BB között, valamint a qCT által meghatározott egyes BMD értékek és az IMT között.
5. Az RM-ANOVA elemzésünk eredményei alapján, az egyéves biológiai kezelés a különböző csont biomarkerek kiindulási szintjeivel (OC, P1NP, VITD3) kombinálva, képes volt előre jelezni az IMT változásait a terápia során. Az elemzés megerősítette, hogy a kezdeti csökkent csontsűrűség az érrendszeri rendelleneségek megnövekedett előfordulását okozhatja.
6. A MANOVA elemzés feltárta, hogy a betegség aktivitása (DAS28/BASDAI) vagy a szisztémás gyulladás (CRP), valamint ezek anti-TNF gátlóhoz kapcsolódó változásai a kezdeti állapot és az egy éves kezelés között befolyásolhatják bizonyos csont- és érrendszeri biomarkerek közötti kapcsolatot. Ez alapján az ízületi gyulladás mind a kardiovaszkuláris mind a csonttritkulással megbetegedéseket már a betegség korai szakaszában fokozza.

## 9. SUMMARY

Rheumatological diseases are associated with a higher risk of developing a number of co-morbidities.<sup>3</sup> Current TNF $\alpha$  inhibitor therapies may help prevent systemic bone loss associated with the disease and reduce the risk of developing cardiovascular disease.

In the **first study**, we investigated the effect of one year of etanercept/certolizumab pegol therapies for RA and SPA diseases on soluble vascular biomarkers (oxLDL/ $\beta$ 2GPI complex, suPAR, aHSP60, BNP fragments), whose elevated levels are associated with the development of inflammation-related atherosclerosis. This is the first study to investigate the long-term changes of these biomarkers in response to anti-TNF therapy in these diseases.

Our results are summarised below:

1. A significant reduction in oxLDL/ $\beta$ 2GPI complex levels was observed in the whole group of RA and SPA patients after one year of anti-TNF therapy. In addition, a similar effect was observed in patients with critically high suPAR levels. The resulting reduction is likely to lead to a reduction in the risk of certain cardiovascular complications.
2. RF and ACPA seropositivity were associated with higher suPAR and BNP levels, which may predict a worse prognosis.
3. We confirmed the association of certain biomarkers with pathophysiological changes in the vasculature. According to these results, all 4 biomarkers showed correlation with one of the baseline lipid parameters, and vascular ultrasound examination showed correlation with several of the biomarkers we investigated.
4. Based on the results of the regression analysis, CRP and triglyceride may be important predictors of BNP and suPAR levels 12 months before or 12 months after treatment.
5. Based on the results of analysis of variance, disease activity or IMT may significantly influence the effects of anti-TNF treatment on changes in oxLDL/ $\beta$ 2GPI complex, aHsp60 and suPAR.

In the **second study**, we used the results of two previous studies of our working group. Both of them evaluated the vascular<sup>196,197</sup> and bone biomarkers<sup>198,199</sup> in a one-year anti-TNF therapy of RA and SPA patients. This is the first study to simultaneously assess vascular and bone status in patients with arthritis treated with biological agents. Several vascular and bone imaging and laboratory parameters were evaluated to better understand possible interactions.

Our results are summarised below:

1. In a correlation analysis of the relationship between bone and vascular parameters, we observed significant inverse correlations between IMT and qCT parameters and PWV and femoral neck BMD at different time points. Crucially, we observed correlations not only between inflammatory biomarkers but also between structural markers.
2. We found a positive correlation between FMD and OPG. Our results show that the association between OPG and FMD persists before and after anti-TNF therapy, further demonstrating the role of OPG as a biomarker in determining vascular risk and prognosis.
3. IMT and PWV were associated with a number of bone markers. Among the vascular biomarkers, PDGF-BB showed a positive correlation with femoral neck BMD, and several angiogenic markers were associated with several bone biomarkers.
4. Our regression analysis found a number of bone markers that were able to predict vascular status after 12 months of treatment, and the reverse was also true. In addition, we found a correlation between femoral BMD assessed by DXA and PDGF-BB, as well as between some BMD values assessed by qCT and IMT.
5. Based on the results of our RM-ANOVA analysis, the one-year biological treatment combined with baseline levels of different bone biomarkers (OC, P1NP, VITD3) was able to predict changes in IMT during therapy. The analysis confirmed that initial reduced bone density may be associated with an increased incidence of vascular abnormalities.
6. The MANOVA analysis revealed that disease activity (DAS28/BASDAI) or systemic inflammation (CRP) and their changes associated with anti-TNF inhibitor between baseline and after one year of treatment may influence the relationship between certain bone and vascular biomarkers. This suggests that arthritis increases both cardiovascular and osteoporotic disease early in the course of the disease.

## 10. IRODALOMJEGYZÉK

### 10.1. Hivatkozott közlemények jegyzéke

1. Atkinson MD, Brophy S, Siebert S, et al. Protocol for a population-based Ankylosing Spondylitis (PAS) cohort in Wales. *BMC Musculoskelet Disord.* 2010;11(1):197. doi:10.1186/1471-2474-11-197
2. Akhondi H, Varacallo M. *Rheumatoid Arthritis And Ankylosing Spondylitis.*; 2022.
3. Braun J, Krüger K, Manger B, Schneider M, Specker C, Trappe HJ. Cardiovascular Comorbidity in Inflammatory Rheumatological Conditions. *Dtsch Arztebl Int.* Published online March 24, 2017. doi:10.3238/arztebl.2017.0197
4. Liao KP. Cardiovascular disease in patients with rheumatoid arthritis. *Trends Cardiovasc Med.* 2017;27(2):136-140. doi:10.1016/j.tcm.2016.07.006
5. Ni Mhuirheartaigh O, Crowson CS, Gabriel SE, Roger VL, Melton LJ, Amin S. Fragility Fractures Are Associated with an Increased Risk for Cardiovascular Events in Women and Men with Rheumatoid Arthritis: A Population-based Study. *J Rheumatol.* 2017;44(5):558-564. doi:10.3899/jrheum.160651
6. Laroche M, Pécourneau V, Blain H, et al. Osteoporosis and ischemic cardiovascular disease. *Joint Bone Spine.* 2017;84(4):427-432. doi:10.1016/j.jbspin.2016.09.022
7. Skeoch S, Bruce IN. Atherosclerosis in rheumatoid arthritis: is it all about inflammation? *Nat Rev Rheumatol.* 2015;11(7):390-400. doi:10.1038/nrrheum.2015.40
8. Shoenfeld Y, Gerli R, Doria A, et al. Accelerated Atherosclerosis in Autoimmune Rheumatic Diseases. *Circulation.* 2005;112(21):3337-3347. doi:10.1161/CIRCULATIONAHA.104.507996
9. Targońska-Stepniak B, Piotrowski M, Zwolak R, Drelich-Zbroja A, Majdan M. Prospective assessment of cardiovascular risk parameters in patients with rheumatoid arthritis. *Cardiovasc Ultrasound.* 2018;16(1):18. doi:10.1186/s12947-018-0136-9
10. Libby P. Role of Inflammation in Atherosclerosis Associated with Rheumatoid Arthritis. *Am J Med.* 2008;121(10):S21-S31. doi:10.1016/j.amjmed.2008.06.014

11. Steyers C, Miller F. Endothelial Dysfunction in Chronic Inflammatory Diseases. *Int J Mol Sci*. 2014;15(7):11324-11349. doi:10.3390/ijms150711324
12. Aubry MC, Maradit-Kremers H, Reinalda MS, Crowson CS, Edwards WD, Gabriel SE. Differences in atherosclerotic coronary heart disease between subjects with and without rheumatoid arthritis. *J Rheumatol*. 2007;34(5):937-942.
13. Ursini F, Leporini C, Bene F, et al. Anti-TNF-alpha agents and endothelial function in rheumatoid arthritis: a systematic review and meta-analysis. *Sci Rep*. 2017;7(1):5346. doi:10.1038/s41598-017-05759-2
14. Liao JK. Linking endothelial dysfunction with endothelial cell activation. *Journal of Clinical Investigation*. 2013;123(2):540-541. doi:10.1172/JCI66843
15. Skeoch S, Bruce IN. Atherosclerosis in rheumatoid arthritis: is it all about inflammation? *Nat Rev Rheumatol*. 2015;11(7):390-400. doi:10.1038/nrrheum.2015.40
16. Hahn BH, Grossman J, Chen W, McMahon M. The pathogenesis of atherosclerosis in autoimmune rheumatic diseases: Roles of inflammation and dyslipidemia. *J Autoimmun*. 2007;28(2-3):69-75. doi:10.1016/j.jaut.2007.02.004
17. Lauper K, Gabay C. Cardiovascular risk in patients with rheumatoid arthritis. *Semin Immunopathol*. 2017;39(4):447-459. doi:10.1007/s00281-017-0632-2
18. Matsuura E, Atzeni F, Sarzi-Puttini P, Turiel M, Lopez LR, Nurmohamed MT. Is atherosclerosis an autoimmune disease? *BMC Med*. 2014;12(1):47. doi:10.1186/1741-7015-12-47
19. Libby P, Geng YJ, Aikawa M, et al. Macrophages and atherosclerotic plaque stability. *Curr Opin Lipidol*. 1996;7(5):330-335. doi:10.1097/00041433-199610000-00012
20. Libby P, Ridker PM, Hansson GK. Progress and challenges in translating the biology of atherosclerosis. *Nature*. 2011;473(7347):317-325. doi:10.1038/nature10146
21. Harb TS, Zareba W, Moss AJ, et al. Association of C-reactive protein and serum amyloid A with recurrent coronary events in stable patients after healing of acute myocardial infarction. *Am J Cardiol*. 2002;89(2):216-221. doi:10.1016/S0002-9149(01)02204-4
22. Stephen Kaptoge, Emanuele Di Angelantonio, Gordon Lowe, et al. C-reactive protein concentration and risk of coronary heart disease, stroke, and mortality: an individual

- participant meta-analysis. *The Lancet*. 2010;375(9709):132-140. doi:10.1016/S0140-6736(09)61717-7
23. Maradit-Kremers H, Nicola PJ, Crowson CS, et al. Raised erythrocyte sedimentation rate signals heart failure in patients with rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis*. 2006;66(1):76-80. doi:10.1136/ard.2006.053710
  24. Nurmohamed MT, Heslinga M, Kitas GD. Cardiovascular comorbidity in rheumatic diseases. *Nat Rev Rheumatol*. 2015;11(12):693-704. doi:10.1038/nrrheum.2015.112
  25. Rho YH, Chung CP, Oeser A, et al. Inflammatory mediators and premature coronary atherosclerosis in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum*. 2009;61(11):1580-1585. doi:10.1002/art.25009
  26. Ross R. Atherosclerosis — An Inflammatory Disease. *New England Journal of Medicine*. 1999;340(2):115-126. doi:10.1056/NEJM199901143400207
  27. Sorokin A V, Mehta NN. The relationship between TNF-alpha driven inflammation, lipids, and endothelial function in rheumatoid arthritis: a complex puzzle continues. *Cardiovasc Res*. 2022;118(1):10-12. doi:10.1093/cvr/cvab190
  28. Schultze HE, Heide K, Haupt H. *Über Ein Bischer Unbekanntes Niedermolekularis B2-Globulins Des Human Serums*. . Vol 48: 719. Naturwissenschaften.; 1961.
  29. Rioche M, Masseyeff R. *Synthesis of Plasma Beta 2 Glycoprotein I by Human Hepatoma Cells in Tissue Culture*. Vol 21: 420–3. Biomedicine; 1974.
  30. Lozier J, Takahashi N, Putnam FW. Complete amino acid sequence of human plasma beta 2-glycoprotein I. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 1984;81(12):3640-3644. doi:10.1073/pnas.81.12.3640
  31. Bouma B. Adhesion mechanism of human beta 2-glycoprotein I to phospholipids based on its crystal structure. *EMBO J*. 1999;18(19):5166-5174. doi:10.1093/emboj/18.19.5166
  32. de GROOT PG, MEIJERS JCM.  $\beta$ 2-Glycoprotein I: evolution, structure and function. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*. 2011;9(7):1275-1284. doi:10.1111/j.1538-7836.2011.04327.x

33. McDonnell T, Wincup C, Buchholz I, et al. The role of beta-2-glycoprotein I in health and disease associating structure with function: More than just APS. *Blood Rev.* 2020;39:100610. doi:10.1016/j.blre.2019.100610
34. McNeil HP, Simpson RJ, Chesterman CN, Krilis SA. Anti-phospholipid antibodies are directed against a complex antigen that includes a lipid-binding inhibitor of coagulation: beta 2-glycoprotein I (apolipoprotein H). *Proceedings of the National Academy of Sciences.* 1990;87(11):4120-4124. doi:10.1073/pnas.87.11.4120
35. Galli M, Barbui T, Comfurius P, et al. Anticardiolipin antibodies (ACA) directed not to cardiolipin but to a plasma protein cofactor. *The Lancet.* 1990;335(8705):1544-1547. doi:10.1016/0140-6736(90)91374-J
36. Kobayashi K, Matsuura E, Liu Q, et al. A specific ligand for beta(2)-glycoprotein I mediates autoantibody-dependent uptake of oxidized low density lipoprotein by macrophages. *J Lipid Res.* 2001;42(5):697-709.
37. Liu Q, Kobayashi K, Furukawa J ichi, et al.  $\omega$ -Carboxyl variants of 7-ketocholesteryl esters are ligands for  $\beta$ 2-glycoprotein I and mediate antibody-dependent uptake of oxidized LDL by macrophages. *J Lipid Res.* 2002;43(9):1486-1495. doi:10.1194/jlr.M20063-JLR200
38. Matsuura E, Kobayashi K, Matsunami Y, Lopez LR. The immunology of atherothrombosis in the antiphospholipid syndrome: Antigen presentation and lipid intracellular accumulation. *Autoimmun Rev.* 2009;8(6):500-505. doi:10.1016/j.autrev.2008.12.018
39. Zhang G, Cai Q, Zhou H, et al. OxLDL/ $\beta$ 2GPI/anti- $\beta$ 2GPI Ab complex induces inflammatory activation via the TLR4/NF- $\kappa$ B pathway in HUVECs. *Mol Med Rep.* 2020;23(2):148. doi:10.3892/mmr.2020.11787
40. Wang T, Zhou H, Chen Y, Zhang P, Wang T. The biphasic effects of the oxLDL/ $\beta$ 2GPI/anti- $\beta$ 2GPI complex on VSMC proliferation and apoptosis. *Cell Signal.* 2019;57:29-44. doi:10.1016/j.cellsig.2019.02.002
41. Greco TP, Conti-Kelly AM, Anthony JR, et al. Oxidized-LDL/ $\beta$  Glycoprotein I Complexes Are Associated With Disease Severity and Increased Risk for Adverse Outcomes in Patients With Acute Coronary Syndromes. *Am J Clin Pathol.* 2010;133(5):737-743. doi:10.1309/AJCP88WVRDRDFBAS

42. Cheng MY, Hartl FU, Martin J, et al. Mitochondrial heat-shock protein hsp60 is essential for assembly of proteins imported into yeast mitochondria. *Nature*. 1989;337(6208):620-625. doi:10.1038/337620a0
43. Ritossa F. Discovery of the heat shock response. *Cell Stress Chaperones*. 1996;1(2):97. doi:10.1379/1466-1268(1996)001<0097:DOTHSR>2.3.CO;2
44. PROHASZKA Z. Immunological aspects of heat-shock proteins?the optimum stress of life. *Mol Immunol*. 2004;41(1):29-44. doi:10.1016/j.molimm.2004.02.001
45. Alard JE, Dueymes M, Youinou P, Jamin C. Modulation of endothelial cell damages by anti-Hsp60 autoantibodies in systemic autoimmune diseases. *Autoimmun Rev*. 2007;6(7):438-443. doi:10.1016/j.autrev.2007.01.012
46. Young RA, Elliott TJ. Stress proteins, infection, and immune surveillance. *Cell*. 1989;59(1):5-8. doi:10.1016/0092-8674(89)90861-1
47. Amarjeet S., Diksha P., Bimlesh K., Sachin K. S. Heat shock proteins: knowledge so far and its future prospects . *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*. 2016;9(5).
48. Duan Y, Tang H, Mitchell-silbaugh K, Fang X, Han Z, Ouyang K. Heat Shock Protein 60 in Cardiovascular Physiology and Diseases. *Front Mol Biosci*. 2020;7. doi:10.3389/fmolb.2020.00073
49. Coelho V, Faria AMC. HSP60: Issues and Insights on Its Therapeutic Use as an Immunoregulatory Agent. *Front Immunol*. 2012;2. doi:10.3389/fimmu.2011.00097
50. Quintana FJ, Cohen IR. The HSP60 immune system network. *Trends Immunol*. 2011;32(2):89-95. doi:10.1016/j.it.2010.11.001
51. Eden W van, Tholet JER, Zee R van der, et al. Cloning of the mycobacterial epitope recognized by T lymphocytes in adjuvant arthritis. *Nature*. 1988;331(6152):171-173. doi:10.1038/331171a0
52. Ulusoy H, Akgol G, Gulkesen A, et al. Serum heat-shock protein-65 antibody levels are elevated but not associated with disease activity in patients with rheumatoid arthritis and ankylosing spondylitis. *Open Access Rheumatol*. 2018;Volume 10:55-60. doi:10.2147/OARRR.S162512

53. Chiba S, Yokota S ichi, Yonekura K, et al. Autoantibodies against HSP70 family proteins were detected in the cerebrospinal fluid from patients with multiple sclerosis. *J Neurol Sci.* 2006;241(1-2):39-43. doi:10.1016/j.jns.2005.10.009
54. Horváth L. Antibodies against different epitopes of heat-shock protein 60 in children with type 1 diabetes mellitus. *Immunol Lett.* 2002;80(3):155-162. doi:10.1016/S0165-2478(01)00336-4
55. Wick G, Knoflach M, Xu Q. Autoimmune and Inflammatory Mechanisms in Atherosclerosis. *Annu Rev Immunol.* 2004;22(1):361-403. doi:10.1146/annurev.immunol.22.012703.104644
56. Xu Q, Dietrich H, Steiner HJ, et al. Induction of arteriosclerosis in normocholesterolemic rabbits by immunization with heat shock protein 65. *Arterioscler Thromb.* 1992;12(7):789-799. doi:10.1161/01.ATV.12.7.789
57. Willeit J, Kiechl S. Prevalence and risk factors of asymptomatic extracranial carotid artery atherosclerosis. A population-based study. *Arterioscler Thromb.* 1993;13(5):661-668. doi:10.1161/01.ATV.13.5.661
58. Rodríguez-Iturbe B, Johnson R. Heat shock proteins and cardiovascular disease. *Physiol Int.* 2018;105(1):19-37. doi:10.1556/2060.105.2018.1.4
59. Xu Q. Role of Heat Shock Proteins in Atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2002;22(10):1547-1559. doi:10.1161/01.ATV.0000029720.59649.50
60. Kol A, Bourcier T, Lichtman AH, Libby P. Chlamydial and human heat shock protein 60s activate human vascular endothelium, smooth muscle cells, and macrophages. *Journal of Clinical Investigation.* 1999;103(4):571-577. doi:10.1172/JCI5310
61. Zhao Y, Zhang C, Wei X, et al. Heat shock protein 60 stimulates the migration of vascular smooth muscle cells via Toll-like receptor 4 and ERK MAPK activation. *Sci Rep.* 2015;5(1):15352. doi:10.1038/srep15352
62. Zhou X, Paulsson G, Stemme S, Hansson GK. Hypercholesterolemia is associated with a T helper (Th) 1/Th2 switch of the autoimmune response in atherosclerotic apo E-knockout mice. *Journal of Clinical Investigation.* 1998;101(8):1717-1725. doi:10.1172/JCI1216

63. Ploug M, Ellis V. Structure-function relationships in the receptor for urokinase-type plasminogen activator Comparison to other members of the Ly-6 family and snake venom  $\alpha$ -neurotoxins. *FEBS Lett.* 1994;349(2):163-168. doi:10.1016/0014-5793(94)00674-1
64. Czekay RP, Wilkins-Port CE, Higgins SP, et al. PAI-1: An Integrator of Cell Signaling and Migration. *Int J Cell Biol.* 2011;2011:1-9. doi:10.1155/2011/562481
65. Smith HW, Marshall CJ. Regulation of cell signalling by uPAR. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2010;11(1):23-36. doi:10.1038/nrm2821
66. Edsfeldt A, Nitulescu M, Grufman H, et al. Soluble Urokinase Plasminogen Activator Receptor is Associated With Inflammation in the Vulnerable Human Atherosclerotic Plaque. *Stroke.* 2012;43(12):3305-3312. doi:10.1161/STROKEAHA.112.664094
67. Enocsson H, Sjöwall C, Wetterö J. Soluble urokinase plasminogen activator receptor—A valuable biomarker in systemic lupus erythematosus? *Clinica Chimica Acta.* 2015;444:234-241. doi:10.1016/j.cca.2015.02.031
68. Fuhrman B. The urokinase system in the pathogenesis of atherosclerosis. *Atherosclerosis.* 2012;222(1):8-14. doi:10.1016/j.atherosclerosis.2011.10.044
69. Paland N, Fuhrman B. The Importance of the Urokinase-Type Plasminogen Activator and Its Receptor for the Development and Progression of Atherosclerosis. In: *Role of Proteases in Cellular Dysfunction.* Springer New York; 2014:263-277. doi:10.1007/978-1-4614-9099-9\_14
70. Estreicher A, Mühlhauser J, Carpentier JL, Orci L, Vassalli JD. The receptor for urokinase type plasminogen activator polarizes expression of the protease to the leading edge of migrating monocytes and promotes degradation of enzyme inhibitor complexes. *Journal of Cell Biology.* 1990;111(2):783-792. doi:10.1083/jcb.111.2.783
71. Lijnen HR. Plasmin and Matrix Metalloproteinases in Vascular Remodeling. *Thromb Haemost.* 2001;86(07):324-333. doi:10.1055/s-0037-1616230
72. Behrendt N. The urokinase receptor (uPAR) and the uPAR-associated protein (uPARAP/Endo180): membrane proteins engaged in matrix turnover during tissue remodeling. *Biol Chem.* 2004;385(2). doi:10.1515/BC.2004.031

73. Blasi F, Sidenius N. The urokinase receptor: Focused cell surface proteolysis, cell adhesion and signaling. *FEBS Lett.* 2010;584(9):1923-1930. doi:10.1016/j.febslet.2009.12.039
74. Thunø M, Macho B, Eugen-Olsen J. suPAR: the molecular crystal ball. *Dis Markers.* 2009;27(3):157-172. doi:10.3233/DMA-2009-0657
75. Chavakis T, Willuweit AK, Lupu F, Preissner KT, Kanse SM. Release of soluble urokinase receptor from vascular cells. *Thromb Haemost.* 2001;86(2):686-693.
76. Saleem MA. What is the Role of Soluble Urokinase-Type Plasminogen Activator in Renal Disease? *Nephron.* 2018;139(4):334-341. doi:10.1159/000490118
77. Masucci MT, Pedersen N, Blasi F. A soluble, ligand binding mutant of the human urokinase plasminogen activator receptor. *J Biol Chem.* 1991;266(14):8655-8658.
78. Furlan F, Orlando S, Laudanna C, et al. The soluble D2D388-274 fragment of the urokinase receptor inhibits monocyte chemotaxis and integrin-dependent cell adhesion. *J Cell Sci.* 2004;117(14):2909-2916. doi:10.1242/jcs.01149
79. Ploug M, Rønne E, Behrendt N, Jensen AL, Blasi F, Danø K. Cellular receptor for urokinase plasminogen activator. Carboxyl-terminal processing and membrane anchoring by glycosyl-phosphatidylinositol. *J Biol Chem.* 1991;266(3):1926-1933.
80. Vasarhelyi B, Toldi G, Balog A. The Clinical Value of Soluble Urokinase Plasminogen Activator Receptor (suPAR) Levels in Autoimmune Connective Tissue Disorders. *EJIFCC.* 2016;27(2):122-129.
81. de Angelis E, Pecoraro M, Rusciano M, Ciccarelli M, Popolo A. Cross-Talk between Neurohormonal Pathways and the Immune System in Heart Failure: A Review of the Literature. *Int J Mol Sci.* 2019;20(7):1698. doi:10.3390/ijms20071698
82. Lee CYW, Burnett JC. Natriuretic peptides and therapeutic applications. *Heart Fail Rev.* 2007;12(2):131. doi:10.1007/s10741-007-9016-3
83. Epstein FH, Levin ER, Gardner DG, Samson WK. Natriuretic Peptides. *New England Journal of Medicine.* 1998;339(5):321-328. doi:10.1056/NEJM199807303390507
84. Sudoh T, Kangawa K, Minamino N, Matsuo H. A new natriuretic peptide in porcine brain. *Nature.* 1988;332(6159):78-81. doi:10.1038/332078a0

85. Daniels LB, Maisel AS. Natriuretic Peptides. *J Am Coll Cardiol.* 2007;50(25):2357-2368. doi:10.1016/j.jacc.2007.09.021
86. Moe GW. B-type natriuretic peptide in heart failure. *Curr Opin Cardiol.* 2006;21(3):208-214. doi:10.1097/01.hco.0000221582.71619.84
87. de Lemos JA, McGuire DK, Drazner MH. B-type natriuretic peptide in cardiovascular disease. *The Lancet.* 2003;362(9380):316-322. doi:10.1016/S0140-6736(03)13976-1
88. Ashley KE, Galla JM, Nicholls SJ. Brain Natriuretic Peptides as Biomarkers for Atherosclerosis. *Prev Cardiol.* 2008;11(3):172-176. doi:10.1111/j.1751-7141.2008.08578.x
89. Potter LR. Natriuretic peptide metabolism, clearance and degradation. *FEBS Journal.* 2011;278(11):1808-1817. doi:10.1111/j.1742-4658.2011.08082.x
90. Charpentier J, Luyt CE, Fulla Y, et al. Brain natriuretic peptide: A marker of myocardial dysfunction and prognosis during severe sepsis. *Crit Care Med.* 2004;32(3):660-665. doi:10.1097/01.CCM.0000114827.93410.D8
91. P. Casserly B, H. Sears E, J. Gartman E. The Role of Natriuretic Peptides in Inflammation and Immunity. *Recent Pat Inflamm Allergy Drug Discov.* 2010;4(2):90-104. doi:10.2174/187221310791163125
92. Ogawa T, de Bold AJ. Brain Natriuretic Peptide Production and Secretion in Inflammation. *J Transplant.* 2012;2012:1-7. doi:10.1155/2012/962347
93. Masters RG, Davies RA, Veinot JP, Hendry PJ, Smith SJ, de Bold AJ. Discoordinate Modulation of Natriuretic Peptides During Acute Cardiac Allograft Rejection in Humans. *Circulation.* 1999;100(3):287-291. doi:10.1161/01.CIR.100.3.287
94. Ma KK, Ogawa T, de Bold AJ. Selective upregulation of cardiac brain natriuretic peptide at the transcriptional and translational levels by pro-inflammatory cytokines and by conditioned medium derived from mixed lymphocyte reactions via p38 MAP kinase. *J Mol Cell Cardiol.* 2004;36(4):505-513. doi:10.1016/j.yjmcc.2004.01.001
95. Chiurchiù V, Izzi V, D'Aquilio F, Carotenuto F, di Nardo P, Baldini PM. Brain Natriuretic Peptide (BNP) regulates the production of inflammatory mediators in human THP-1 macrophages. *Regul Pept.* 2008;148(1-3):26-32. doi:10.1016/j.regpep.2008.02.009

96. Harizi H, Juzan M, Pitard V, Moreau JF, Gualde N. Cyclooxygenase-2-Issued Prostaglandin E<sub>2</sub> Enhances the Production of Endogenous IL-10, Which Down-Regulates Dendritic Cell Functions. *The Journal of Immunology*. 2002;168(5):2255-2263. doi:10.4049/jimmunol.168.5.2255
97. Dimitroulas T, Giannakoulas G, Karvounis H, Garyfallos A, Settas L, Kitis G. B-type natriuretic peptide in rheumatic diseases: A cardiac biomarker or a sophisticated acute phase reactant? *Autoimmun Rev*. 2012;11(12):837-843. doi:10.1016/j.autrev.2012.02.018
98. Armstrong DJ, Gardiner P v, O’Kane MJ. Rheumatoid arthritis patients with active disease and no history of cardiac pathology have higher brain natriuretic peptide (BNP) levels than patients with inactive disease or healthy control subjects. *Ulster Med J*. 2010;79(2):82-84.
99. Yağcı R, Totan Y, Özlük E, Özyurt H, Akbay G, Ekşioğlu M. Serum levels of natriuretic peptides in patients with Behcet’s disease. *Clin Rheumatol*. 2008;27(9):1153-1158. doi:10.1007/s10067-008-0886-0
100. Karadag O, Calguneri M, Yavuz B, et al. B-type natriuretic peptide (BNP) levels in female systemic lupus erythematosus patients: what is the clinical significance? *Clin Rheumatol*. 2007;26(10):1701-1704. doi:10.1007/s10067-007-0575-4
101. Elshamy HA, Ibrahim SE, Farouk HM, Moustafa AA, Aly IM, Osman WM. N-Terminal pro-brain natriuretic peptide in systemic sclerosis: new insights. *European Journal of Dermatology*. 2011;21(5):686-690. doi:10.1684/ejd.2011.1423
102. Marsch E, Sluimer JC, Daemen MJAP. Hypoxia in atherosclerosis and inflammation. *Curr Opin Lipidol*. 2013;24(5):393-400. doi:10.1097/MOL.0b013e32836484a4
103. Sluimer JC, Daemen MJ. Novel concepts in atherogenesis: angiogenesis and hypoxia in atherosclerosis. *J Pathol*. 2009;218(1):7-29. doi:10.1002/path.2518
104. Moreno PR, Purushothaman M, Purushothaman KR. Plaque neovascularization: defense mechanisms, betrayal, or a war in progress. *Ann N Y Acad Sci*. 2012;1254(1):7-17. doi:10.1111/j.1749-6632.2012.06497.x

105. Chaparro M, Sanz-Cameno P, Trapero-Marugán M, García-Buey L, Moreno-Otero R. Mechanisms of angiogenesis in chronic inflammatory liver disease. *Ann Hepatol.* 2007;6(4):208-213. doi:10.1016/S1665-2681(19)31900-3
106. Michel JB, Martin-Ventura JL, Nicoletti A, Ho-Tin-Noé B. Pathology of human plaque vulnerability: Mechanisms and consequences of intraplaque haemorrhages. *Atherosclerosis.* 2014;234(2):311-319. doi:10.1016/j.atherosclerosis.2014.03.020
107. Kiselyov A, Balakin K v, Tkachenko SE. VEGF/VEGFR signalling as a target for inhibiting angiogenesis. *Expert Opin Investig Drugs.* 2007;16(1):83-107. doi:10.1517/13543784.16.1.83
108. Koch AE, Harlow LA, Haines GK, et al. Vascular endothelial growth factor. A cytokine modulating endothelial function in rheumatoid arthritis. *J Immunol.* 1994;152(8):4149-4156.
109. Walsh DA, Pearson CI. Angiogenesis in the pathogenesis of inflammatory joint and lung diseases. *Arthritis Res.* 2001;3(3):147. doi:10.1186/ar292
110. Davis S, Aldrich TH, Jones PF, et al. Isolation of Angiopoietin-1, a Ligand for the TIE2 Receptor, by Secretion-Trap Expression Cloning. *Cell.* 1996;87(7):1161-1169. doi:10.1016/S0092-8674(00)81812-7
111. Marrelli A, Cipriani P, Liakouli V, et al. Angiogenesis in rheumatoid arthritis: A disease specific process or a common response to chronic inflammation? *Autoimmun Rev.* 2011;10(10):595-598. doi:10.1016/j.autrev.2011.04.020
112. Thurston G. Role of Angiopoietins and Tie receptor tyrosine kinases in angiogenesis and lymphangiogenesis. *Cell Tissue Res.* 2003;314(1):61-68. doi:10.1007/s00441-003-0749-6
113. Maisonpierre PC, Suri C, Jones PF, et al. Angiopoietin-2, a Natural Antagonist for Tie2 That Disrupts in vivo Angiogenesis. *Science (1979).* 1997;277(5322):55-60. doi:10.1126/science.277.5322.55
114. Camaré C, Pucelle M, Nègre-Salvayre A, Salvayre R. Angiogenesis in the atherosclerotic plaque. *Redox Biol.* 2017;12:18-34. doi:10.1016/j.redox.2017.01.007

115. Zhang K, Li M, Yin L, Fu G, Liu Z. Role of thrombospondin-1 and thrombospondin-2 in cardiovascular diseases (Review). *Int J Mol Med*. Published online February 20, 2020. doi:10.3892/ijmm.2020.4507
116. Bornstein P. Thrombospondins function as regulators of angiogenesis. *J Cell Commun Signal*. 2009;3(3-4):189-200. doi:10.1007/s12079-009-0060-8
117. Lawler PR, Lawler J. Molecular Basis for the Regulation of Angiogenesis by Thrombospondin-1 and -2. *Cold Spring Harb Perspect Med*. 2012;2(5):a006627-a006627. doi:10.1101/cshperspect.a006627
118. Distler JHW. Angiogenesis and vasculogenesis in systemic sclerosis. *Rheumatology*. 2006;45(Supplement 3):iii26-iii27. doi:10.1093/rheumatology/kei295
119. Liu J, Wang X, Yang X, Yan Q, Wang S, Han W. Investigating the role of angiogenesis in systemic lupus erythematosus. *Lupus*. 2015;24(6):621-627. doi:10.1177/0961203314556293
120. Elshabrawy HA, Chen Z, Volin M v, Ravella S, Virupannavar S, Shahrara S. The pathogenic role of angiogenesis in rheumatoid arthritis. *Angiogenesis*. 2015;18(4):433-448. doi:10.1007/s10456-015-9477-2
121. Semenza GL, Shimoda LA, Prabhakar NR. Regulation of gene expression by HIF-1. *Novartis Found Symp*. 2006;272:2-8; discussion 8-14, 33-36.
122. Murdoch C, Muthana M, Lewis CE. Hypoxia Regulates Macrophage Functions in Inflammation. *The Journal of Immunology*. 2005;175(10):6257-6263. doi:10.4049/jimmunol.175.10.6257
123. Costa C, Incio J, Soares R. Angiogenesis and chronic inflammation: cause or consequence? *Angiogenesis*. 2007;10(3):149-166. doi:10.1007/s10456-007-9074-0
124. Naldini A, Carraro F. Role of Inflammatory Mediators in Angiogenesis. *Current Drug Target -Inflammation & Allergy*. 2005;4(1):3-8. doi:10.2174/1568010053622830
125. Benelli R, Lorusso G, Albin A, Noonan D. Cytokines and Chemokines as Regulators of Angiogenesis in Health and Disease. *Curr Pharm Des*. 2006;12(24):3101-3115. doi:10.2174/138161206777947461

126. Leibovich SJ, Polverini PJ, Shepard HM, Wiseman DM, Shively V, Nuseir N. Macrophage-induced angiogenesis is mediated by tumour necrosis factor- $\alpha$ . *Nature*. 1987;329(6140):630-632. doi:10.1038/329630a0
127. Fajardo LF, Kwan HH, Kowalski J, Prionas SD, Allison AC. Dual role of tumor necrosis factor-alpha in angiogenesis. *Am J Pathol*. 1992;140(3):539-544.
128. Feng X, McDonald JM. Disorders of Bone Remodeling. *Annual Review of Pathology: Mechanisms of Disease*. 2011;6(1):121-145. doi:10.1146/annurev-pathol-011110-130203
129. Johnell O, Kanis J. Epidemiology of osteoporotic fractures. *Osteoporosis International*. 2005;16(S02):S3-S7. doi:10.1007/s00198-004-1702-6
130. Schett G, Gravallese E. Bone erosion in rheumatoid arthritis: mechanisms, diagnosis and treatment. *Nat Rev Rheumatol*. 2012;8(11):656-664. doi:10.1038/nrrheum.2012.153
131. Iseme RA, Mcevoy M, Kelly B, Agnew L, Walker FR, Attia J. Is osteoporosis an autoimmune mediated disorder? *Bone Rep*. 2017;7:121-131. doi:10.1016/j.bonr.2017.10.003
132. Fardellone P, Séjourné A, Paccou J, Goëb V. Bone Remodelling Markers in Rheumatoid Arthritis. *Mediators Inflamm*. 2014;2014:1-5. doi:10.1155/2014/484280
133. Neidhart M, Baraliakos X, Seemayer C, et al. Expression of cathepsin K and matrix metalloproteinase 1 indicate persistent osteodestructive activity in long-standing ankylosing spondylitis. *Ann Rheum Dis*. 2009;68(8):1334-1339. doi:10.1136/ard.2008.092494
134. Mermerci Başkan B, Pekin Doğan Y, Sivas F, Bodur H, Özoran K. The relation between osteoporosis and vitamin D levels and disease activity in ankylosing spondylitis. *Rheumatol Int*. 2010;30(3):375-381. doi:10.1007/s00296-009-0975-7
135. Reyes-García R, Rozas-Moreno P, Muñoz-Torres M. Cardiovascular disease and bone metabolism. *Endocrinología y Nutrición (English Edition)*. 2011;58(7):353-359. doi:10.1016/j.endoen.2011.05.002
136. Leli C, Pasqualini L, Vaudo G, Gaggioli S, Scarponi AM, Mannarino E. Carotid intima-media thickness and bone turnover: the role of C-terminal telopeptide of type I collagen. *Intern Emerg Med*. 2010;5(2):127-134. doi:10.1007/s11739-010-0356-y

137. Szekanecz Z, Raterman HG, Pethő Z, Lems WF. Common mechanisms and holistic care in atherosclerosis and osteoporosis. *Arthritis Res Ther.* 2019;21(1):15. doi:10.1186/s13075-018-1805-7
138. Szentpétery Á, Horváth Á, Gulyás K, et al. Effects of targeted therapies on the bone in arthritides. *Autoimmun Rev.* 2017;16(3):313-320. doi:10.1016/j.autrev.2017.01.014
139. Ursini F, Leporini C, Bene F, et al. Anti-TNF-alpha agents and endothelial function in rheumatoid arthritis: a systematic review and meta-analysis. *Sci Rep.* 2017;7(1):5346. doi:10.1038/s41598-017-05759-2
140. Mentzel J, Kynast T, Kohlmann J, et al. Reduced Serum Levels of Bone Formation Marker P1NP in Psoriasis. *Front Med (Lausanne).* 2021;8. doi:10.3389/fmed.2021.730164
141. Moser SC, van der Eerden BCJ. Osteocalcin—A Versatile Bone-Derived Hormone. *Front Endocrinol (Lausanne).* 2019;9. doi:10.3389/fendo.2018.00794
142. Kuo TR, Chen CH. Bone biomarker for the clinical assessment of osteoporosis: recent developments and future perspectives. *Biomark Res.* 2017;5(1):18. doi:10.1186/s40364-017-0097-4
143. Millar SA, Patel H, Anderson SI, England TJ, O’Sullivan SE. Osteocalcin, Vascular Calcification, and Atherosclerosis: A Systematic Review and Meta-analysis. *Front Endocrinol (Lausanne).* 2017;8. doi:10.3389/fendo.2017.00183
144. Rashdan NA, Sim AM, Cui L, et al. Osteocalcin Regulates Arterial Calcification Via Altered Wnt Signaling and Glucose Metabolism. *Journal of Bone and Mineral Research.* 2020;35(2):357-367. doi:10.1002/jbmr.3888
145. Szulc P, Naylor K, Hoyle NR, Eastell R, Leary ET. Use of CTX-I and PINP as bone turnover markers: National Bone Health Alliance recommendations to standardize sample handling and patient preparation to reduce pre-analytical variability. *Osteoporosis International.* 2017;28(9):2541-2556. doi:10.1007/s00198-017-4082-4
146. Inui T, Ishibashi O, Inaoka T, et al. Cathepsin K Antisense Oligodeoxynucleotide Inhibits Osteoclastic Bone Resorption. *Journal of Biological Chemistry.* 1997;272(13):8109-8112. doi:10.1074/jbc.272.13.8109

147. Chopin F, Garnero P, le Henanff A, et al. Long-term effects of infliximab on bone and cartilage turnover markers in patients with rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis.* 2007;67(3):353-357. doi:10.1136/ard.2007.076604
148. Leli C, Pasqualini L, Vaudo G, Gaggioli S, Scarponi AM, Mannarino E. Carotid intima-media thickness and bone turnover: the role of C-terminal telopeptide of type I collagen. *Intern Emerg Med.* 2010;5(2):127-134. doi:10.1007/s11739-010-0356-y
149. Dai R, Wu Z, Chu HY, et al. Cathepsin K: The Action in and Beyond Bone. *Front Cell Dev Biol.* 2020;8. doi:10.3389/fcell.2020.00433
150. Hou WS, Li Z, Gordon RE, et al. Cathepsin K Is a Critical Protease in Synovial Fibroblast-Mediated Collagen Degradation. *Am J Pathol.* 2001;159(6):2167-2177. doi:10.1016/S0002-9440(10)63068-4
151. Hummel KM, Petrow PK, Franz JK, et al. Cysteine proteinase cathepsin K mRNA is expressed in synovium of patients with rheumatoid arthritis and is detected at sites of synovial bone destruction. *J Rheumatol.* 1998;25(10):1887-1894.
152. Skoumal M, Haberhauer G, Kolarz G, Hawa G, Woloszczuk W, Klingler A. Serum cathepsin K levels of patients with longstanding rheumatoid arthritis: correlation with radiological destruction. *Arthritis Res Ther.* 2005;7(1):R65. doi:10.1186/ar1461
153. Neidhart M, Baraliakos X, Seemayer C, et al. Expression of cathepsin K and matrix metalloproteinase 1 indicate persistent osteodestructive activity in long-standing ankylosing spondylitis. *Ann Rheum Dis.* 2009;68(8):1334-1339. doi:10.1136/ard.2008.092494
154. Hofnagel O, Robenek H. Cathepsin K: boon or bale for atherosclerotic plaque stability? *Cardiovasc Res.* 2008;81(2):242-243. doi:10.1093/cvr/cvn343
155. Li X, Li Y, Jin J, et al. Increased Serum Cathepsin K in Patients with Coronary Artery Disease. *Yonsei Med J.* 2014;55(4):912. doi:10.3349/ymj.2014.55.4.912
156. Zhao H, Qin X, Wang S, Sun X, Dong B. Decreased cathepsin K levels in human atherosclerotic plaques are associated with plaque instability. *Exp Ther Med.* 2017;14(4):3471-3476. doi:10.3892/etm.2017.4935

157. Tobeiha M, Moghadasian MH, Amin N, Jafarnejad S. RANKL/RANK/OPG Pathway: A Mechanism Involved in Exercise-Induced Bone Remodeling. *Biomed Res Int.* 2020;2020:1-11. doi:10.1155/2020/6910312
158. Jones DH, Kong YY, Penninger JM. Role of RANKL and RANK in bone loss and arthritis. *Ann Rheum Dis.* 2002;61(Supplement 2):32ii-3239. doi:10.1136/ard.61.suppl\_2.ii32
159. Yuan Y, Chen X, Zhang L, et al. The roles of exercise in bone remodeling and in prevention and treatment of osteoporosis. *Prog Biophys Mol Biol.* 2016;122(2):122-130. doi:10.1016/j.pbiomolbio.2015.11.005
160. Hofbauer LC, Heufelder AE. Role of receptor activator of nuclear factor- $\kappa$ B ligand and osteoprotegerin in bone cell biology. *J Mol Med.* 2001;79(5-6):243-253. doi:10.1007/s001090100226
161. Glass DA, Bialek P, Ahn JD, et al. Canonical Wnt Signaling in Differentiated Osteoblasts Controls Osteoclast Differentiation. *Dev Cell.* 2005;8(5):751-764. doi:10.1016/j.devcel.2005.02.017
162. Geusens P. The role of RANK ligand/osteoprotegerin in rheumatoid arthritis. *Ther Adv Musculoskelet Dis.* 2012;4(4):225-233. doi:10.1177/1759720X12438080
163. Wang SY, Liu YY, Ye H, et al. Circulating Dickkopf-1 is correlated with bone erosion and inflammation in rheumatoid arthritis. *J Rheumatol.* 2011;38(5):821-827. doi:10.3899/jrheum.100089
164. GARNERO P, TABASSI NCB, VOORZANGER-ROUSSELOT N. Circulating Dickkopf-1 and Radiological Progression in Patients with Early Rheumatoid Arthritis Treated with Etanercept. *J Rheumatol.* 2008;35(12):2313-2315. doi:10.3899/jrheum.080356
165. Ali DA, Esmail DM, Mohammed HA, Yonis RL, El-Sharaby RM. Serum Dickkopf-1 as a potential prognostic marker in patients with rheumatoid arthritis. *Egyptian Rheumatology and Rehabilitation.* 2021;48(1):42. doi:10.1186/s43166-021-00088-9
166. Klavdianou K, Liossis SN, Daoussis D. Dkk1: A key molecule in joint remodelling and fibrosis. *Mediterr J Rheumatol.* 2017;28(4):174-182. doi:10.31138/mjr.28.4.174

167. Mao B, Wu W, Davidson G, et al. Kremen proteins are Dickkopf receptors that regulate Wnt/ $\beta$ -catenin signalling. *Nature*. 2002;417(6889):664-667. doi:10.1038/nature756
168. Ahmed SF, Fouda N, Abbas AA. Serum Dickkopf-1 Level in Postmenopausal Females: Correlation with Bone Mineral Density and Serum Biochemical Markers. *J Osteoporos*. 2013;2013:1-7. doi:10.1155/2013/460210
169. Diarra D, Stolina M, Polzer K, et al. Dickkopf-1 is a master regulator of joint remodeling. *Nat Med*. 2007;13(2):156-163. doi:10.1038/nm1538
170. Ueland T, Otterdal K, Lekva T, et al. Dickkopf-1 Enhances Inflammatory Interaction Between Platelets and Endothelial Cells and Shows Increased Expression in Atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2009;29(8):1228-1234. doi:10.1161/ATVBAHA.109.189761
171. Chae WJ, Ehrlich AK, Chan PY, et al. The Wnt Antagonist Dickkopf-1 Promotes Pathological Type 2 Cell-Mediated Inflammation. *Immunity*. 2016;44(2):246-258. doi:10.1016/j.immuni.2016.01.008
172. Kim KI, Park KU, Chun EJ, et al. A Novel Biomarker of Coronary Atherosclerosis: Serum DKK1 Concentration Correlates with Coronary Artery Calcification and Atherosclerotic Plaques. *J Korean Med Sci*. 2011;26(9):1178. doi:10.3346/jkms.2011.26.9.1178
173. Goliash G, Wiesbauer F, Kastl SP, et al. Premature myocardial infarction is associated with low serum levels of Wnt-1. *Atherosclerosis*. 2012;222(1):251-256. doi:10.1016/j.atherosclerosis.2012.02.017
174. He XW, Wang E, Bao YY, et al. High serum levels of sclerostin and Dickkopf-1 are associated with acute ischaemic stroke. *Atherosclerosis*. 2016;253:22-28. doi:10.1016/j.atherosclerosis.2016.08.003
175. Ueland T, Otterdal K, Lekva T, et al. Dickkopf-1 Enhances Inflammatory Interaction Between Platelets and Endothelial Cells and Shows Increased Expression in Atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2009;29(8):1228-1234. doi:10.1161/ATVBAHA.109.189761

176. Moester MJC, Papapoulos SE, Löwik CWGM, van Bezooijen RL. Sclerostin: Current Knowledge and Future Perspectives. *Calcif Tissue Int.* 2010;87(2):99-107. doi:10.1007/s00223-010-9372-1
177. Baron R, Rawadi G. Targeting the Wnt/ $\beta$ -Catenin Pathway to Regulate Bone Formation in the Adult Skeleton. *Endocrinology.* 2007;148(6):2635-2643. doi:10.1210/en.2007-0270
178. Wijenayaka AR, Kogawa M, Lim HP, Bonewald LF, Findlay DM, Atkins GJ. Sclerostin Stimulates Osteocyte Support of Osteoclast Activity by a RANKL-Dependent Pathway. *PLoS One.* 2011;6(10):e25900. doi:10.1371/journal.pone.0025900
179. Suen PK, Qin L. Sclerostin, an emerging therapeutic target for treating osteoporosis and osteoporotic fracture: A general review. *J Orthop Translat.* 2016;4:1-13. doi:10.1016/j.jot.2015.08.004
180. Gharbia O, Hegazy A, Elhelaly R, ElGhaweet A. Serum sclerostin in rheumatoid-induced osteoporosis. *Egyptian Rheumatology and Rehabilitation.* 2020;47(1):22. doi:10.1186/s43166-020-00015-4
181. Heiland GR, Zwerina K, Baum W, et al. Neutralisation of Dkk-1 protects from systemic bone loss during inflammation and reduces sclerostin expression. *Ann Rheum Dis.* 2010;69(12):2152-2159. doi:10.1136/ard.2010.132852
182. Wafa H, Raja A, Dhia K, Nada B, Imene Z, Montacer KM. Risk factors associated with bone loss and occurrence of fragility fractures in rheumatoid arthritis patients. *The Egyptian Rheumatologist.* 2019;41(1):1-5. doi:10.1016/j.ejr.2018.01.004
183. Gaudio A, Fiore V, Rapisarda R, et al. Sclerostin is a possible candidate marker of arterial stiffness: Results from a cohort study in Catania. *Mol Med Rep.* 2017;15(5):3420-3424. doi:10.3892/mmr.2017.6390
184. Morena M, Jaussent I, Dupuy AM, et al. Osteoprotegerin and sclerostin in chronic kidney disease prior to dialysis: potential partners in vascular calcifications. *Nephrology Dialysis Transplantation.* 2015;30(8):1345-1356. doi:10.1093/ndt/gfv081
185. Hampson G, Edwards S, Conroy S, Blake GM, Fogelman I, Frost ML. The relationship between inhibitors of the Wnt signalling pathway (Dickkopf-1(DKK1) and sclerostin),

- bone mineral density, vascular calcification and arterial stiffness in post-menopausal women. *Bone*. 2013;56(1):42-47. doi:10.1016/j.bone.2013.05.010
186. Wojda SJ, Donahue SW. Parathyroid hormone for bone regeneration. *Journal of Orthopaedic Research®*. 2018;36(10):2586-2594. doi:10.1002/jor.24075
187. Wein MN, Kronenberg HM. Regulation of Bone Remodeling by Parathyroid Hormone. *Cold Spring Harb Perspect Med*. 2018;8(8):a031237. doi:10.1101/cshperspect.a031237
188. Pacifici R. Role of T cells in the modulation of PTH action: physiological and clinical significance. *Endocrine*. 2013;44(3):576-582. doi:10.1007/s12020-013-9960-8
189. Goettsch C, Iwata H, Aikawa E. Parathyroid Hormone. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2014;34(7):1333-1335. doi:10.1161/ATVBAHA.114.303637
190. F. Holick M. Vitamin D: Evolutionary, Physiological and Health Perspectives. *Curr Drug Targets*. 2011;12(1):4-18. doi:10.2174/138945011793591635
191. Lips P, van Schoor NM. The effect of vitamin D on bone and osteoporosis. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab*. 2011;25(4):585-591. doi:10.1016/j.beem.2011.05.002
192. Menezes AR, Lamb MC, Lavie CJ, DiNicolantonio JJ. Vitamin D and atherosclerosis. *Curr Opin Cardiol*. 2014;29(6):571-577. doi:10.1097/HCO.0000000000000108
193. Cai G, Wang L, Fan D, et al. Vitamin D in ankylosing spondylitis: Review and meta-analysis. *Clinica Chimica Acta*. 2015;438:316-322. doi:10.1016/j.cca.2014.08.040
194. Kostoglou-Athanassiou I, Athanassiou P, Lyraki A, Raftakis I, Antoniadis C. Vitamin D and rheumatoid arthritis. *Ther Adv Endocrinol Metab*. 2012;3(6):181-187. doi:10.1177/2042018812471070
195. Stojanovic OI, Lazovic M, Lazovic M, Vuceljic M. Association between atherosclerosis and osteoporosis, the role of vitamin D. *Archives of Medical Science*. 2011;2:179-188. doi:10.5114/aoms.2011.22066
196. Végh E, Kerekes G, Pusztai A, et al. Effects of 1-year anti-TNF- $\alpha$  therapy on vascular function in rheumatoid arthritis and ankylosing spondylitis. *Rheumatol Int*. 2020;40(3):427-436. doi:10.1007/s00296-019-04497-0

197. Balogh E, Végh E, Kerekes G, et al. Effects of one-year anti-TNF- $\alpha$  therapy on biomarkers of angiogenesis and functional vascular parameters in arthritides. *Rheumatology and Orthopedic Medicine*. 2019;4(2). doi:10.15761/ROM.1000169
198. Gulyás K, Horváth Á, Végh E, et al. Effects of 1-year anti-TNF- $\alpha$  therapies on bone mineral density and bone biomarkers in rheumatoid arthritis and ankylosing spondylitis. *Clin Rheumatol*. 2020;39(1):167-175. doi:10.1007/s10067-019-04771-3
199. Juhász B, Gulyás K, Horváth Á, et al. Peripheral quantitative computed tomography in the assessment of bone mineral density in anti-TNF-treated rheumatoid arthritis and ankylosing spondylitis patients. *BMC Musculoskelet Disord*. 2021;22(1):817. doi:10.1186/s12891-021-04708-5
200. Lopez D, Garcia-Valladares I, Palafox-Sanchez CA, et al. Oxidized Low-Density Lipoprotein/ $\beta_2$ -Glycoprotein I Complexes and Autoantibodies to oxLig-1/ $\beta_2$ -Glycoprotein I in Patients with Systemic Lupus Erythematosus and Antiphospholipid Syndrome. *Am J Clin Pathol*. 2004;121(3):426-436. doi:10.1309/2AUE6HD4W6TLEUU5
201. Matsuura E, Hughes GRV, Khamashta MA. Oxidation of LDL and its clinical implication. *Autoimmun Rev*. 2008;7(7):558-566. doi:10.1016/j.autrev.2008.04.018
202. Bassi N, Ghirardello A, Iaccarino L, et al. OxLDL/ $\beta_2$ GPI–anti-oxLDL/ $\beta_2$ GPI complex and atherosclerosis in SLE patients. *Autoimmun Rev*. 2007;7(1):52-58. doi:10.1016/j.autrev.2007.06.003
203. Bassi N, Zampieri S, Ghirardello A, et al. OxLdl/ $\beta_2$ gpi Complex And Anti-oxldl/ $\beta_2$ gpi In Sle: Prevalence And Correlates. *Autoimmunity*. 2009;42(4):289-291. doi:10.1080/08916930902828247
204. Matsuura E, Kobayashi K, Inoue K, Lopez LR, Shoenfeld Y. Oxidized LDL/ $\beta_2$ -glycoprotein I complexes: new aspects in atherosclerosis. *Lupus*. 2005;14(9):736-741. doi:10.1191/0961203305lu2211oa
205. Matsuura E, Kobayashi K, Koike T, Shoenfeld Y, Khamashta MA, Hughes GRV. Atherogenic autoantigen: oxidized LDL complexes with  $\beta_2$ -glycoprotein I. *Immunobiology*. 2003;207(1):17-22. doi:10.1078/0171-2985-00214

206. Lopez LR, Kobayashi K, Matsunami Y, Matsuura E. Immunogenic Oxidized Low-density Lipoprotein/ $\beta$ 2-glycoprotein I Complexes in the Diagnostic Management of Atherosclerosis. *Clin Rev Allergy Immunol*. 2009;37(1):12-19. doi:10.1007/s12016-008-8096-8
207. Jarjour WN, Jeffries BD, Davis JS, Welch WJ, Mimura T, Winfield JB. Autoantibodies to Human Stress Proteins. A Survey of Various Rheumatic and Other Inflammatory Diseases. *Arthritis Rheum*. 1991;34(9):1133-1138. doi:10.1002/art.1780340909
208. Bodnár N, Szekanecz Z, Prohászka Z, et al. Anti-mutated citrullinated vimentin (anti-MCV) and anti-65kDa heat shock protein (anti-hsp65): New biomarkers in ankylosing spondylitis. *Joint Bone Spine*. 2012;79(1):63-66. doi:10.1016/j.jbspin.2011.03.010
209. Mantej J, Polasik K, Piotrowska E, Tukaj S. Autoantibodies to heat shock proteins 60, 70, and 90 in patients with rheumatoid arthritis. *Cell Stress Chaperones*. 2019;24(1):283-287. doi:10.1007/s12192-018-0951-9
210. Shi XL, Wang LP, Feng X, et al. Inhibition of adjuvant-induced arthritis by nasal administration of novel synthetic peptides from heat shock protein 65. *BMC Musculoskelet Disord*. 2014;15(1):253. doi:10.1186/1471-2474-15-253
211. Prakken ABJ, van Eden W, Rijkers GT, et al. Autoreactivity to human heat-shock protein 60 predicts disease remission in oligoarticular juvenile rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum*. 1996;39(11):1826-1832. doi:10.1002/art.1780391108
212. Legány N, Toldi G, Distler JHW, et al. Increased plasma soluble urokinase plasminogen activator receptor levels in systemic sclerosis: possible association with microvascular abnormalities and extent of fibrosis. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (CCLM)*. 2015;53(11). doi:10.1515/cclm-2015-0079
213. Toldi G, Bekő G, Kádár G, et al. Soluble urokinase plasminogen activator receptor (suPAR) in the assessment of inflammatory activity of rheumatoid arthritis patients in remission. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (CCLM)*. 2013;51(2):327-332. doi:10.1515/cclm-2012-0221
214. Toldi G, Szalay B, Bekő G, et al. Plasma soluble urokinase plasminogen activator receptor (suPAR) levels in systemic lupus erythematosus. *Biomarkers*. 2012;17(8):758-763. doi:10.3109/1354750X.2012.728623

215. Dinesh P, Rasool M. uPA/uPAR signaling in rheumatoid arthritis: Shedding light on its mechanism of action. *Pharmacol Res.* 2018;134:31-39. doi:10.1016/j.phrs.2018.05.016
216. Milner JM, Patel A, Rowan AD. Emerging roles of serine proteinases in tissue turnover in arthritis. *Arthritis Rheum.* 2008;58(12):3644-3656. doi:10.1002/art.24046
217. Yang YH, Carmeliet P, Hamilton JA. Tissue-Type Plasminogen Activator Deficiency Exacerbates Arthritis. *The Journal of Immunology.* 2001;167(2):1047-1052. doi:10.4049/jimmunol.167.2.1047
218. Koga T, Okada A, Kawashiri S, et al. Soluble urokinase plasminogen activator receptor as a useful biomarker to predict the response to adalimumab in patients with rheumatoid arthritis in a Japanese population. *Clin Exp Rheumatol.* 29(5):811-815.
219. Kolho KL, Valtonen E, Rintamäki H, Savilahti E. Soluble urokinase plasminogen activator receptor suPAR as a marker for inflammation in pediatric inflammatory bowel disease. *Scand J Gastroenterol.* 2012;47(8-9):951-955. doi:10.3109/00365521.2012.699549
220. Persson M, Östling G, Smith G, et al. Soluble Urokinase Plasminogen Activator Receptor. *Stroke.* 2014;45(1):18-23. doi:10.1161/STROKEAHA.113.003305
221. Nguyen THP, Fagerland MW, Deyab G, et al. Antirheumatic therapy is not associated with changes in circulating N-terminal pro-brain natriuretic peptide levels in patients with autoimmune arthritis. *PLoS One.* 2021;16(6):e0253793. doi:10.1371/journal.pone.0253793
222. Solus J, Chung CP, Oeser A, et al. Amino-terminal fragment of the prohormone brain-type natriuretic peptide in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.* 2008;58(9):2662-2669. doi:10.1002/art.23796
223. Mirjafari H, Welsh P, Verstappen SMM, et al. N-terminal pro-brain-type natriuretic peptide (NT-pro-BNP) and mortality risk in early inflammatory polyarthritis: results from the Norfolk Arthritis Registry (NOAR). *Ann Rheum Dis.* 2014;73(4):684-690. doi:10.1136/annrheumdis-2012-202848
224. Targońska-Stepniak B, Majdan M. Amino-terminal pro-brain natriuretic peptide as a prognostic marker in patients with rheumatoid arthritis. *Clin Rheumatol.* 2011;30(1):61-69. doi:10.1007/s10067-010-1622-0

225. Heslinga SC, Sijl AM, Boer K, Halm VP, Nurmohamed MT. Tumor Necrosis Factor Blocking Therapy and Congestive Heart Failure in Patients with Inflammatory Rheumatic Disorders: A Systematic Review. *Curr Med Chem.* 2015;22(16):1892-1902. doi:10.2174/0929867322666150209160701
226. Peters MJL, Welsh P, McInnes IB, et al. Tumour necrosis factor blockade reduces circulating N-terminal pro-brain natriuretic peptide levels in patients with active rheumatoid arthritis: results from a prospective cohort study. *Ann Rheum Dis.* 2010;69(7):1281-1285. doi:10.1136/ard.2009.119412
227. Provan SA, Angel K, Odegard S, Mowinckel P, Atar D, Kvien TK. The association between disease activity and NT-proBNP in 238 patients with rheumatoid arthritis: a 10-year longitudinal study. *Arthritis Res Ther.* 2008;10(3):R70. doi:10.1186/ar2442
228. Barbato E, Rubattu S, Bartunek J, et al. Human coronary atherosclerosis modulates cardiac natriuretic peptide release. *Atherosclerosis.* 2009;206(1):258-264. doi:10.1016/j.atherosclerosis.2009.01.033
229. Casco VH, Veinot JP, de Bold MLK, Masters RG, Stevenson MM, de Bold AJ. Natriuretic Peptide System Gene Expression in Human Coronary Arteries. *Journal of Histochemistry & Cytochemistry.* 2002;50(6):799-809. doi:10.1177/002215540205000606
230. Schett G, Gravallesse E. Bone erosion in rheumatoid arthritis: mechanisms, diagnosis and treatment. *Nat Rev Rheumatol.* 2012;8(11):656-664. doi:10.1038/nrrheum.2012.153
231. Provan SA, Olsen IC, Austad C, Haugeberg G, Kvien TK, Uhlig T. Calcium supplementation and inflammation increase mortality in rheumatoid arthritis: A 15-year cohort study in 609 patients from the Oslo Rheumatoid Arthritis Register. *Semin Arthritis Rheum.* 2017;46(4):411-417. doi:10.1016/j.semarthrit.2016.07.011
232. Staa TP van, Geusens P, Bijlsma JWJ, Leufkens HGM, Cooper C. Clinical assessment of the long-term risk of fracture in patients with rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.* 2006;54(10):3104-3112. doi:10.1002/art.22117
233. LEMS WF, DIJKMANS BAC. Should we look for osteoporosis in patients with rheumatoid arthritis? *Ann Rheum Dis.* 1998;57(6):325-327. doi:10.1136/ard.57.6.325

234. Ni Mhuirheartaigh O, Crowson CS, Gabriel SE, Roger VL, Melton LJ, Amin S. Fragility Fractures Are Associated with an Increased Risk for Cardiovascular Events in Women and Men with Rheumatoid Arthritis: A Population-based Study. *J Rheumatol*. 2017;44(5):558-564. doi:10.3899/jrheum.160651
235. Krieckaert CLM, Nurmohamed MT, Wolbink G, Lems WF. Changes in bone mineral density during long-term treatment with adalimumab in patients with rheumatoid arthritis: a cohort study. *Rheumatology*. 2013;52(3):547-553. doi:10.1093/rheumatology/kes320
236. Vis M, Wolbink GJ, Lodder MC, et al. Early changes in bone metabolism in rheumatoid arthritis patients treated with infliximab. *Arthritis Rheum*. 2003;48(10):2996-2997. doi:10.1002/art.11292
237. Vis M, Havaardsholm EA, Haugeberg G, et al. Evaluation of bone mineral density, bone metabolism, osteoprotegerin and receptor activator of the NF B ligand serum levels during treatment with infliximab in patients with rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis*. 2006;65(11):1495-1499. doi:10.1136/ard.2005.044198
238. Szekanecz Z, Koch AE. Mechanisms of Disease: angiogenesis in inflammatory diseases. *Nat Clin Pract Rheumatol*. 2007;3(11):635-643. doi:10.1038/ncprheum0647
239. Westra J, de Groot L, Plaxton SL, et al. Angiotensin-2 is highly correlated with inflammation and disease activity in recent-onset rheumatoid arthritis and could be predictive for cardiovascular disease. *Rheumatology*. 2011;50(4):665-673. doi:10.1093/rheumatology/keq378
240. Schurigt U. Role of Cysteine Cathepsins in Joint Inflammation and Destruction in Human Rheumatoid Arthritis and Associated Animal Models. In: *Innovative Rheumatology*. InTech; 2013. doi:10.5772/53710
241. Delgado-Frías E, López-Mejías R, Genre F, et al. Relationship between endothelial dysfunction and osteoprotegerin, vitamin D, and bone mineral density in patients with rheumatoid arthritis. *Clin Exp Rheumatol*. 33(2):241-249.
242. Aoki A, Murata M, Asano T, et al. Association of serum osteoprotegerin with vascular calcification in patients with type 2 diabetes. *Cardiovasc Diabetol*. 2013;12(1):11. doi:10.1186/1475-2840-12-11

243. Adanaş Aydın G, Turan Özsoy HG. The Relationship of Osteoprotegerin with Cardiovascular Risk Factors in Women with and Without Polycystic Ovary Syndrome. *Medical Bulletin of Haseki*. 2020;58(3):274-280. doi:10.4274/haseki.galenos.2020.5840
244. Zhu D, Mackenzie NCW, Millán JL, Farquharson C, MacRae VE. The Appearance and Modulation of Osteocyte Marker Expression during Calcification of Vascular Smooth Muscle Cells. *PLoS One*. 2011;6(5):e19595. doi:10.1371/journal.pone.0019595
245. Novo-Rodríguez C, García-Fontana B, Luna-Del Castillo JDD, et al. Circulating levels of sclerostin are associated with cardiovascular mortality. *PLoS One*. 2018;13(6):e0199504. doi:10.1371/journal.pone.0199504
246. Sun J, Jiang X, Luo J, Zhao L, Xu Z, Xiao W. Effect of platelet-derived growth factor (PDGF-BB) and bone morphogenic protein 2 (BMP-2) transfection of rBMSCs compounded with platelet-rich plasma on adipogenic differentiation. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*. 2021;54(2). doi:10.1590/1414-431x20209944
247. Kim HL, Kim SH. Pulse Wave Velocity in Atherosclerosis. *Front Cardiovasc Med*. 2019;6. doi:10.3389/fcvm.2019.00041
248. Zhao H, Qin X, Wang S, Sun X, Dong B. Decreased cathepsin K levels in human atherosclerotic plaques are associated with plaque instability. *Exp Ther Med*. 2017;14(4):3471-3476. doi:10.3892/etm.2017.4935
249. Hofnagel O, Robenek H. Cathepsin K: boon or bale for atherosclerotic plaque stability? *Cardiovasc Res*. 2008;81(2):242-243. doi:10.1093/cvr/cvn343
250. Li X, Li Y, Jin J, et al. Increased Serum Cathepsin K in Patients with Coronary Artery Disease. *Yonsei Med J*. 2014;55(4):912. doi:10.3349/ymj.2014.55.4.912
251. West SL, O'Donnell E. Cardiovascular disease and bone loss—new research in identifying common disease pathophysiologies and predictors. *AME Med J*. 2018;3:42-42. doi:10.21037/amj.2018.03.08

## 10.2. Saját közlemények jegyzéke



**DEBRECENI  
EGYETEM**

**DEBRECENI EGYETEM  
EGYETEMI ÉS NEMZETI KÖNYVTÁR**  
H-4002 Debrecen, Egyetem tér 1, Pf.: 400  
Tel.: 52/410-443, e-mail: publikaciok@lib.unideb.hu

Nyilvántartási szám: DEENK/489/2023.PL  
Tárgy: PhD Publikációs Lista

Jelölt: Karancsiné Pusztai Anita  
Doktori Iskola: Klinikai Orvostudományok Doktori Iskola  
MTMT azonosító: 10057638

### A PhD értekezés alapjául szolgáló közlemények

1. **Karancsiné Pusztai, A.**, Hamar, A. B., Czókolyová, M., Gulyás, K., Horváth, Á., Végh, E., Pethő, Z., Szamosi, S., Balogh, E., Bodnár, N., Bodoki, L., Szentpétery, Á., Bhattoa, H. P., Kerekes, G., Juhász, B., Szekanecz, É., Hódosi, K., Domján, A., Szántó, S., Raterman, H. G., Lems, W. F., Szekanecz, Z., Szűcs, G.: Associations of vascular and bone status in arthritis patients.  
*Sci. Rep.* 11, 1-10, 2021.  
DOI: <http://dx.doi.org/10.1038/s41598-021-99071-9>  
IF: 4.996
2. **Karancsiné Pusztai, A.**, Hamar, A. B., Horváth, Á., Gulyás, K., Végh, E., Bodnár, N., Kerekes, G., Czókolyová, M., Bodoki, L., Hódosi, K., Domján, A., Nagy, G., Szöllősi, I., Lopez, L. R., Matsuura, E., Prohászka, Z., Szántó, S., Szűcs, G., Nagy, Z., Shoenfeld, Y., Szekanecz, Z., Szamosi, S.: Soluble vascular biomarkers in rheumatoid arthritis and ankylosing spondylitis: effects of one-year anti-TNF-[alfa] therapy.  
*J. Rheumatol.* 48 (6), 821-828, 2021.  
DOI: <http://dx.doi.org/10.3899/jrheum.200916>  
IF: 5.346

### További közlemények

3. Kacsáncsi, D., Fagyas, M., Horváth, Á., Végh, E., **Karancsiné Pusztai, A.**, Czókolyová, M., Soós, B., Szabó, A. Á., Hamar, A. B., Pethő, Z., Bodnár, N., Kerekes, G., Hódosi, K., Szamosi, S., Szűcs, G., Papp, Z., Szekanecz, Z.: Effect of tofacitinib therapy on angiotensin converting enzyme activity in rheumatoid arthritis.  
*Front. Med.* 10, 1-8, 2023.  
DOI: <http://dx.doi.org/10.3389/fmed.2023.1226760>  
IF: 3.9 (2022)





4. Kerekes, G., Czókolyová, M., Hamar, A. B., **Karancsiné Pusztai, A.**, Tajti, G., Katkó, M., Végh, E., Pethő, Z., Bodnár, N., Horváth, Á., Soós, B., Szamosi, S., Hascsi, Z., Harangi, M., Hódosi, K., Panyi, G., Seres, T., Szűcs, G., Szekanecz, Z.: Effects of 1-year tofacitinib therapy on angiogenic biomarkers in rheumatoid arthritis.  
*RHEUMATOLOGY*. 62 (SI3), SI304-SI312, 2023.  
DOI: <http://dx.doi.org/10.1093/rheumatology/kead502>  
IF: 5.5 (2022)
5. Soós, B., Fagyas, M., Horváth, Á., Végh, E., **Karancsiné Pusztai, A.**, Czókolyová, M., Csongrádi, A., Hamar, A. B., Pethő, Z., Bodnár, N., Kerekes, G., Hódosi, K., Szekanecz, É., Szamosi, S., Szántó, S., Szűcs, G., Papp, Z., Szekanecz, Z.: Angiotensin Converting Enzyme Activity in Anti-TNF-Treated Rheumatoid Arthritis and Ankylosing Spondylitis Patients.  
*Front. Med.* 8, 1-11, 2022.  
DOI: <http://dx.doi.org/10.3389/fmed.2021.785744>  
IF: 3.9
6. Czókolyová, M., Hamar, A. B., **Karancsiné Pusztai, A.**, Tajti, G., Végh, E., Pethő, Z., Bodnár, N., Horváth, Á., Soós, B., Szamosi, S., Szentpéteri, A., Seres, I., Harangi, M., Paragh, G., Kerekes, G., Bodoki, L., Domján, A., Hódosi, K., Seres, T., Panyi, G., Szekanecz, Z., Szűcs, G.: Effects of One-Year Tofacitinib Therapy on Lipids and Adipokines in Association with Vascular Pathophysiology in Rheumatoid Arthritis.  
*Biomolecules*. 12, 1-22, 2022.  
DOI: <http://dx.doi.org/10.3390/biom12101483>  
IF: 5.5
7. Soós, B., Hamar, A. B., **Karancsiné Pusztai, A.**, Czókolyová, M., Végh, E., Szamosi, S., Pethő, Z., Gulyás, K., Kerekes, G., Szántó, S., Szűcs, G., Christians, U., Klawitter, J., Seres, T., Szekanecz, Z.: Effects of tofacitinib therapy on arginine and methionine metabolites in association with vascular pathophysiology in rheumatoid arthritis: a metabolomic approach.  
*Front. Med.* 9, 1-16, 2022.  
DOI: <http://dx.doi.org/10.3389/fmed.2022.1011734>  
IF: 3.9
8. Czókolyová, M., **Karancsiné Pusztai, A.**, Végh, E., Horváth, Á., Szentpéteri, A., Hamar, A. B., Szamosi, S., Hódosi, K., Domján, A., Szántó, S., Kerekes, G., Seres, I., Harangi, M., Paragh, G., Szekanecz, É., Szekanecz, Z., Szűcs, G.: Changes of Metabolic Biomarker Levels upon One-Year Anti-TNF- $\alpha$  Therapy in Rheumatoid Arthritis and Ankylosing Spondylitis: associations with Vascular Pathophysiology.  
*Biomolecules*. 11 (10), 1-15, 2021.  
DOI: <http://dx.doi.org/10.3390/biom11101535>  
IF: 6.064





9. Hamar, A. B., Szekanecz, Z., **Karancsiné Pusztai, A.**, Czókolyová, M., Végh, E., Pethő, Z., Bodnár, N., Gulyás, K., Horváth, Á., Soós, B., Bodoki, L., Bhattoa, H. P., Nagy, G., Tajti, G., Panyi, G., Szekanecz, É., Domján, A., Hódosi, K., Szántó, S., Szűcs, G., Szamosi, S.: Effects of one-year tofacitinib therapy on bone metabolism in rheumatoid arthritis. *Osteoporosis Int.* 32 (8), 1621-1629, 2021.  
DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s00198-021-05871-0>  
IF: 5.071
10. Juhász, B., Gulyás, K., Horváth, Á., Végh, E., **Karancsiné Pusztai, A.**, Szentpétery, Á., Pethő, Z., Bodnár, N., Hamar, A. B., Bodoki, L., Bhattoa, H. P., Szekanecz, É., Hódosi, K., Domján, A., Szamosi, S., Horváth, C., Szántó, S., Szűcs, G., Raterman, H. G., Lems, W. F., FitzGerald, O., Szekanecz, Z.: Peripheral quantitative computed tomography in the assessment of bone mineral density in anti-TNF-treated rheumatoid arthritis and ankylosing spondylitis patients. *BMC Musculoskelet. Disord.* 22 (1), 1-9, 2021.  
DOI: <http://dx.doi.org/10.1186/s12891-021-04708-5>  
IF: 2.562
11. Hamar, A. B., Hascsi, Z., **Karancsiné Pusztai, A.**, Czókolyová, M., Végh, E., Pethő, Z., Gulyás, K., Soós, B., Kerekes, G., Szekanecz, É., Hódosi, K., Szántó, S., Szűcs, G., Seres, T., Szekanecz, Z., Szamosi, S.: Prospective, simultaneous assessment of joint and vascular inflammation by PET/CT in tofacitinib-treated patients with rheumatoid arthritis: associations with vascular and bone status. *RMD Open.* 7 (3), 1-10, 2021.  
DOI: <http://dx.doi.org/10.1136/rmdopen-2021-001804>  
IF: 5.806
12. Gulyás, K., Horváth, Á., Végh, E., **Karancsiné Pusztai, A.**, Szentpétery, Á., Pethő, Z., Váncsa, A., Bodnár, N., Csomor, P., Hamar, A. B., Bodoki, L., Bhattoa, H. P., Juhász, B., Nagy, Z., Hódosi, K., Karosi, T., FitzGerald, O., Szűcs, G., Szekanecz, Z., Szamosi, S., Szántó, S.: Effects of 1-year anti-TNF-[alfa] therapies on bone mineral density and bone biomarkers in rheumatoid arthritis and ankylosing spondylitis. *Clin. Rheumatol.* 39 (1), 167-175, 2020.  
DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s10067-019-04771-3>  
IF: 2.98
13. Végh, E., Kerekes, G., **Karancsiné Pusztai, A.**, Hamar, A. B., Szamosi, S., Váncsa, A., Bodoki, L., Pogácsás, L., Balázs, F., Hódosi, K., Domján, A., Szántó, S., Nagy, Z., Szekanecz, Z., Szűcs, G.: Effects of 1-year anti-TNF- $\alpha$  therapy on vascular function in rheumatoid arthritis and ankylosing spondylitis. *Rheumatol. Int.* 40 (3), 427-436, 2020.  
DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s00296-019-04497-0>  
IF: 2.631





14. Balogh, E., **Karacsiné Pusztai, A.**, Hamar, A. B., Végh, E., Szamosi, S., Kerekes, G., McCormick, J., Biniécka, M., Szántó, S., Szűcs, G., Nagy, Z., Fearon, U., Veale, D. J., Szekanecz, Z.: Autoimmune and angiogenic biomarkers in autoimmune atherosclerosis. *Clin. Immunol.* 199, 47-51, 2019.  
DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.clim.2018.12.011>  
IF: 3.368
15. Horváth, Á., Végh, E., **Karacsiné Pusztai, A.**, Pethő, Z., Hamar, A. B., Czókolyová, M., Bhattoa, H. P., Nagy, G., Juhász, B., Hódosi, K., Domján, A., Szekanecz, Z., Szűcs, G., Szamosi, S.: Complex assessment of bone mineral density, fracture risk, vitamin D status and bone metabolism in Hungarian systemic sclerosis patients. *Arthritis Res. Ther.* 21 (1), 1-10, 2019.  
IF: 4.103
16. Balogh, E., Végh, E., Kerekes, G., **Karacsiné Pusztai, A.**, Hamar, A. B., Hódosi, K., Szamosi, S., Vánca, A., Csomor, P., Bodoki, L., Pogácsás, L., Balázs, F., Tar, I., McCormick, J., Biniécka, M., Fearon, U., Lundberg, K., Kharlamova, N., Szántó, S., Szűcs, G., Nagy, Z., Veale, D. J., Szekanecz, Z.: Effects of one-year anti-TNF-[alfa] therapy on biomarkers of angiogenesis and functional vascular parameters in arthritides. *Rheumatol. Orthop. Med.* 4, 1-8, 2019.  
DOI: <http://dx.doi.org/10.15761/ROM.1000169>
17. Pólska, S., Besenyei, T., Végh, E., Hamar, A. B., **Karacsiné Pusztai, A.**, Vánca, A., Bodnár, N., Szamosi, S., Csumita, M., Kerekes, G., Szabó, Z., Nagy, Z., Szűcs, G., Szántó, S., Zahuczky, G., Nagy, L., Szekanecz, Z.: Gene expression analysis of vascular pathophysiology related to anti-TNF treatment in rheumatoid arthritis. *Arthritis Res. Ther.* 21 (1), 94, 2019.  
IF: 4.103
18. Pál, I., **Karacsiné Pusztai, A.**, Csomor, P., Szekanecz, Z.: Rheumatoid arthritises biobankkal szerzett tapasztalataink: 204 beteg biológiai mintáinak és klinikai adatainak összevetése. *Orvosi Hetilap.* 158 (7), 279-286, 2017.  
DOI: <http://dx.doi.org/10.1556/650.2017.30650>  
IF: 0.322
19. Hamar, A. B., **Karacsiné Pusztai, A.**, Szántó, S., Szekanecz, Z.: A tirozinkináz-gátlás lehetőségei rheumatoid arthritisen. *Immunol. Szle.* 8 (3), 4-21, 2016.
20. Rákóczi, É., Perge, B., Végh, E., Csomor, P., **Karacsiné Pusztai, A.**, Szamosi, S., Bodnár, N., Szántó, S., Szűcs, G., Szekanecz, Z.: Evaluation of the immunogenicity of the 13-valent conjugated pneumococcal vaccine in rheumatoid arthritis patients treated with etanercept. *Joint Bone Spine.* 83 (6), 675-679, 2016.  
DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jbspin.2015.10.017>  
IF: 3.329





21. Pethő, Z., Jakab, É., Kalina, E., Balogh, Á., **Karancsiné Pusztai, A.**, Gulyás, K., Horváth, Á., Szekanez, Z., Bhattoa, H. P.: Vitamin D status in men with psoriatic arthritis: a case-control study.  
*Osteoporosis Int.* 26 (7), 1965-1970, 2015.  
DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s00198-015-3069-2>  
IF: 3.445

**A közlő folyóiratok összesített impakt faktora: 76,826**

**A közlő folyóiratok összesített impakt faktora (az értekezés alapján szolgáló közleményekre): 10,342**

A DEENK a Jelölt által az iDEa Tudóstérbe feltöltött adatok bibliográfiai és tudományometriai ellenőrzését a tudományos adatbázisok és a Journal Citation Reports Impact Factor lista alapján elvégezte.

Debrecen, 2023.10.31.



## **11. TÁRGYSZAVAK**

rheumatoid arthritis, spondylitis ankylopoetica, anti-TNF terápia, vaszkuláris biomarkerek, csont biomarkerek, gyulladás, érlemeszesedés, csonttrikulás, angiogenezis

rheumatoid arthritis, ankylosing spondylitis, anti-TNF therapy, vascular biomarkers, bone biomarkers, inflammation, atherosclerosis, osteoporosis, angiogenesis

## 12. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Hálás szívvel mondok köszönetet a témavezetőmnek *Prof. Dr. Szűcs Gabriellának, valamint Prof. Dr. Szekanecz Zoltánnak*, akik megteremtették a lehetőséget, hogy kutatói munkámat végezhessem. Köszönöm az évek során nyújtott szakmai és emberi segítségüket.

Ez a PhD nem lehetne sikeres a Debreceni Egyetem Reumatológiai Tanszék dolgozói nélkül, akik értékes segítségükkel hozzájárultak ezen munkám létrejöttéhez. Nagyra tartom és köszönöm, hogy a kutatás során segítségemre voltak: *Dr. Szamosi Szilvia, Prof. Dr. Szántó Sándor, Dr. Gulyás Katalin, Dr. Horváth Ágnes, Dr. Bodnár Nóra, Dr. Végh Edit, Dr. Pethő Zsófia, Dr. Balogh Emese és Dr. Hamar Attila*.

Különös köszönet illeti a tanszéken dolgozó nővéreknek és szakdolgozóknak, akik hatalmas segítségemre voltak a vizsgálat ideje alatt.

Hálával tartozom az egyes laboratóriumi mérések és képalkotói vizsgálatokban részt vevő kollégáknak: *Dr. Nagy Gábornak, Szöllősi Ibolyának, Dr. Kerekes Györgynek, Dr. Bhattoa Harjit Pálnak*, valamint szeretném megköszönni *Hodosi Katalinnak*, aki a statisztikai elemzések során volt nagy segítségemre.

Köszönettel tartozom *Dr. Domján Andreának*, aki szakmai tapasztalatával és tanácsaival nagy segítségemre volt a kutatás koordinálásában.

A vizsgálatainkban részt vevő betegeinknek is kiemelt köszönet jár.

Köszönettel tartozok, *Dr. Markovics Arnoldnak*, aki rengeteg szakmai tanáccsal látott el munkám során.

Hálás vagyok családomnak, legfőképpen *férjemnek és gyermekeimnek*, akik végig támogatták a doktori disszertációm megírását.

## **13. FÜGGELÉK**

Az értekezés alapjául szolgáló saját közlemények.