

Doktori (PhD) értekezés tézisei

**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

A CÉLZOTT TERÁPIA HATÁSAI AZ ARTHRITISEK TÁRSBETEGSÉGEIRE ÉS AZOK BIOMARKEREIRE

Értekezés a doktori (PhD) fokozat megszerzése érdekében
a klinikai orvostudományok tudományágban

Írta: Karancsiné Pusztai Anita okleveles biotechnológus

Készült a Debreceni Egyetem Klinikai Orvostudományok doktori iskolája
(Mozgásszervi betegségek programja) keretében

Témavezető: Prof. Dr. Szűcs Gabriella, MTA doktora

A doktori szigorlati bizottság:

elnök: Prof. Dr. Illés Árpád, MTA doktora
tagok: Dr. Kardos Zsófia, PhD
Dr. Baloghné Dr. Bereczky Zsuzsanna, PhD

A doktori szigorlat helyszíne; időpontja: Debreceni Egyetem ÁOK,
Belgyógyászati Intézet „B” épület,
tárgyaló; 2024. április. 30.; 11:00 óra

Az értekezés bírálói: Dr. Tarr Tünde, PhD
Dr. Kumánovics Gábor, PhD

A bírálóbizottság:

elnök: Prof. Dr. Illés Árpád, MTA doktora
tagok: Dr. Tarr Tünde, PhD
Dr. Kumánovics Gábor, PhD
Dr. Kardos Zsófia, PhD
Dr. Baloghné Dr. Bereczky Zsuzsanna, PhD

Az értekezés védésének helyszíne; időpontja: Debreceni Egyetem ÁOK,
Belgyógyászati Intézet „A” épület tanterem; 2024. április. 30.; 13:00 óra

1. BEVEZETÉS

1.1. Autoimmun gyulladásoos érelmeszesedés kockázata

A rheumatoid arthritis (RA) és a spondylitis ankylopoetica (SPA) krónikus, progresszív gyulladásoos reumatológiai betegségek, amelyek súlyos strukturális és funkcionális károsodással járnak és a megfelelő kezelés és gondozás hiánya esetén az életminőség romlásához vezethetnek. Az általános népességhez viszonyítva, a reumatológiai betegségek esetén nagyobb a kockázata számos társbetegség kialakulásának, melyek közül a szív- és érrendszeri megbetegedések a halálozások 30-50%-áért felelősek. Ezen megbetegedésre jellemző effektor mechanizmusok, köztük a lokálisan érintett ízületekben termelődő proinflammatorikus citokinek (IL-1, IL-6, TNF α), 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. A tumornekrózis faktor-alfa (TNF- α) egy pleiotróp citokin, amely elősegíti a gyulladást és fontos szerepet játszik az RA és SPA kialakulásában. A TNF-alfa ugyanakkor aterogén hatásokkal rendelkezik, mint például a nitrogén-monoxid szintáz expressziójának csökkentése, a nukleáris faktor-kappa B (NF-kB) jelátviteli út vonal aktiválása és a reaktív oxigénfajták felhalmozódásának fokozódása, amelyek közvetlenül károsítják az endothéliális funkciót. Az anti-TNF terápiának jótékony hatása lehet a kardiovaszkuláris kockázatra, nemcsak a gyulladás visszaszorítása révén, hanem azért, hogy gátolja a TNF α káros hatását az érelmeszesedés folyamatára. Az első munkánkban a 12 hónapos anti-TNF hatását vizsgáltuk, olyan vaszkuláris biomarkereken, melyek részt vesznek az autoimmun mediált érgyulladás és oxidatív stressz kialakulásában és amelyek emelkedett koncentrációja kimutatható különböző arthritises betegségekben.

A β 2 glikoprotein I (β 2-GPI) egy plazma fehérje, amely közvetlenül képes kötődni az oxidált LDL-hez, létrehozva egy stabil és patogén oxLDL/ B2GPI komplexet. Az ellen termelődő IgG anti- β 2GPI antitest jelenlétében felgyorsul a makrofágok oxLDL felvétele, valamint a scavenger CD36 és Fc γ RI receptorok felszíni expressziója. Emellett az oxLDL/ β 2GPI/anti- β 2GPI komplex elősegíti az endothéliális gyulladásoos

választ a TLR4 által közvetített NF- κ B jelátviteli úton keresztül, valamint fokozza a vaszkuláris simaizomsejtek migrációs képességét. A komplex jelenléte összefüggésbe hozható a koszorúér-betegség súlyosságával és a káros kimenetel 3,5-szer nagyobb kockázatával.

A *hősokk fehérje 60 (HSP60)* normál, fiziológias körülmények között alacsony szinten konstitutívan expresszálódik, és fontos szerepet játszik az egyes fehérjék bioszintézisében. Az expressziója jelentős mértékben megnövekedhet különféle stresszhatásokra. A HSP60 képes szöveti homeosztázist helyreállítani, finomhangolni a gyulladást a TLR4 és TLR2 aktivitásán keresztül. Alacsony koncentrációban segíti az immunegyensúly fenntartását. Az egyes kockázati tényezők, pl. szabad gyökök és az oxLDL közvetlenül serkentik az artériás fal sejtjeit, ezáltal a HSP60 magas kifejeződését eredményezik. A HSP60 az intracelluláris térbe kerülve a TLR4/CD4 receptorokhoz kötődve indukálja az adhéziós molekulák expresszióját, stimulálja a VSMC-k migrációját és proliferációját, valamint a monociták aktiválódása révén proinflammatorikus citokinek 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 endothel károsodáshoz és érfal gyulladáshoz.

Az *urokináz plazminogén aktivátor receptor (uPAR)* egy erősen glikozilált polipeptid amely egy glikozil-foszfatidil-inozitol (GPI) horgonyon keresztül kapcsolódik a sejtmembránhoz. Funkcióját tekintve, egyrészt képes a plazminogén aktivációs rendszer szabályozására, másrészt elősegíti a sejt-ECM kölcsönhatásokat, valamint a sejten belüli jelátviteli kaszkádok elindítását, amelyek sejtadhéziót, sejt migrációt, differenciálódást, proliferálódást idéznek elő. Az uPAR a hasításáért felelős enzimek, különböző proteázok és foszfolipázok melyek a hasítás helyétől függően, a suPAR három különböző formáját generálják. A suPAR különböző fragmentjei befolyásolják a suPAR által indukált jelátvitel irányát és eltérő módon vesznek részt a gyulladáshoz vezető sejtek migrációjának, adhéziójának folyamatában, illetve az uPA megkötése által, az uPAR kompetitív inhibitoraként működve képesek gátolni az uPAR, uPA által közvetített proteolízist. Kimutatták, hogy suPAR erős előrejelzője az érlemezésedésnek és az endothel diszfunkciójának, valamint szignifikánsan összefügg a koszorúér-betegség és iszkémiás stroke kockázatával.

A *B-típusú natriuretikus peptidet (BNP)* elsősorban a kamrai szívműködés termelik térfogat-tágulás vagy nyomástürelhelés esetén a kamrai szívműködés elégtelenség során. Szintjének emelkedése javítja a szívműködés relaxációját. Emellett a BNP képes szabályozni az egyes fő gyulladáshoz kapcsolódó molekulák termelését, így például nagymértékben serkenti reaktív oxigén- és nitrogénfajok (ROS és RNS) termelését, hozzájárul a leukotrién B4 (LTB4) és a prosztaglandin E2 (PGE2) növekedéséhez. A létrejövő PGE2 hatékonyan gátolja a dendritikus sejtek általi IL-12, TNF- α felszabadulását, és képes fokozni az IL-10 makrofágok termelését. A BNP hatása ezáltal kettős, proinflammatorikus hatást fejt ki a ROS, RNS, NO₂, LTB4 termelés szabályozásán keresztül, miközben az antiinflammatorikus hatást támogatja a PGE2 és IL-10 szintjének növelésével.

1.2. Az angiogenezis folyamata, kapcsolata a krónikus gyulladással

Az érlelmeszesedés specifikus körülményei között szerepel az oxidatív stressz, a gyulladás és az intima megvastagodás, amelyek hipoxiás állapotot idéznek elő az artériákban, ezáltal fokozott véredényképződést (angiogenezist) váltanak ki a gyulladt szöveten belül. Az angiogén faktorok megjelenése növeli az endotheliális felületet, ami az érfa megvastagodásához és a gyulladáshoz vezet, elősegítve ezzel a plakk progresszióját. Az angiogenezisben szerepet játszó faktorok közül, a *vaszkuláris endotheliális növekedési faktor (VEGF)* közvetlenül stimulálja az angiogenezist. Az *angiopoietin-1 (Ang-1)* a Tie2 receptorhoz kötődik, gátolja az endotheliális apoptózist, indukálja az új erek képződését, csökkenti az erek permeabilitását. Az *angiopoietin-2 (Ang-2)* az angiopoietin-1 antagonistájaként működik, gátolja az ér érését és destabilizálja az endotheliális sejteket. A *trombocita eredetű növekedési faktor BB (PDGF-BB)* serkenti az angiogenezist, elősegíti a simaizomsejt proliferációt és az extracelluláris mátrix (ECM) szintézisét. A *thrombospondin-1 (TSP-1)* angiogenezis hatékony endogén inhibitora. Az angiogenezis és a krónikus gyulladás ugyanazon molekuláris események által váltódhatnak ki, így szorosan összefüggenek. A TNF α magas szintje nemcsak az endotheliális diszfunkció kialakulásához, hanem az angiogenezis folyamatában is részt vesz, ugyanis közvetlen hatással van az endothelsejtek migrációjára, proliferációjára és az új erek képződésére.

1.3. A vaszkuláris és csont-státusz összefüggései arthritises betegekben

A reumatológiai betegségben szenvedők esetén nagyobb a kockázata számos társbetegség kialakulásának, melyek közül a szív- és érrendszeri, valamint csonttritkulásos megbetegedések előfordulása a leggyakoribb és a legnagyobb hatású a mortalitásra. A hagyományos kockázati tényezőkön túl, a folyamatos krónikus gyulladás egy másik kiemelkedő tényező lehet mindkét betegség kimenetelében. A gyulladásos folyamatokhoz kapcsolódó adhéziós molekulák fokozott expressziója, a proinflammatorikus citokinek kiválasztó sejtek bősége, a neovaszkularizáció 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 patológias mechanizmusok összekapcsolhatják ezeknek a betegségeknek a kialakulását az arthritisen. A jelenleg alkalmazott TNF α -gátló terápiák megelőzhetik a betegséggel összefüggő szisztémás csontvesztést, valamint csökkenthetik a szív- és érrendszeri betegségek kialakulásának kockázatát. A meszesedés folyamatát olyan tényezők is szabályozhatják, amelyek ismertek a csontmegújulásban játszott szerepükről.

A szérum *I-es típusú prokollagén N-terminális propeptid (PINP)* biomarker és az *oszteokalcin (OC)* az oszteoblasztok által szintetizált fehérjék. Hagyományos markerek a csonttritkulásban kialakuló csontképződés sebességének értékelésére. Az OC közvetlenül befolyásolja a Wnt által vezérelt VSMC meszesedés folyamatát.

Az *I. típusú kollagén C-terminális telopeptid (CTX-I)* emelkedett szintje, megnövekedett oszteoklaszt aktivitást és a helyi csonteróziót tükröz. A CTX-szintek előre jelezhetik a carotis falának megvastagodását az idős populációban. A *katepszin K (CATHK)* egy cisztein proteáz, felelős az oszteoklasztok általi csontreszorpcióért és a fibroblasztok által közvetített porcpusztulásért. Az instabil ateroszklerotikus plakkokban felgyorsíthatja az érlemeszesedés folyamatát és a plakk instabilitását okozhatja.

A *receptor aktivátor nukleáris faktor kappa B ligand (RANKL)* és receptora a RANK nélkülözhetetlenek az oszteoklasztok kialakulásában és aktiválásában. Az *osteoprotegerin (OPG)* a RANKL oldható csali receptoraként működik, megvédi a csontot a túlzott csontfelszívódástól a RANKL-hez való kötődéssel. A RANKL/OPG aránya a csontreszorpció döntő meghatározója, aránya fontos a csonttömeg és csontváz

integritás szempontjából. A RANKL elősegíti a vaszkuláris simaizomsejtek (VSMC) patológiás differenciálódását oszteoblaszt fenotípusú sejtekké a csont morfogenetikai fehérje (BMP) expresszióján keresztül. A *Dickkopf-1 (DKK-1)* a Wnt jelátviteli útvonal természetes gátlója, ezáltal a csontképződést és differenciálódást blokkolja. Elősegíti a csontfelszívódást azáltal, hogy felerősíti a makrofág kolónia stimuláló faktor expresszióját, ami az oszteoklasztok aktivitásában játszik szerepet. A DKK-1 hozzájárulhat az ateroszklerotikus léziók progressziójához azáltal, hogy elősegíti az endothel aktivációt, leukocita migrációt és a gyulladást. Koncentrációja szignifikánsan korrelál a carotis plakkok jelenlétével és a koszorúér meszesedéssel. A *sclerostin (SOST)* egy glikoprotein, melynek szerepe van az oszteoklasztok által közvetített oszteoblaszt csontképződés gátlásában, valamint a RANKL szekréciójának serkentésében, ami egy fokozott csontreszorpciót generál. Az SOST artériás merevségének független prediktora lehet egészséges felnőtteknél, valamint pozitív korrelációt mutat a koszorúér meszesedésével a nem dializált vesebetegeknél, valamint a carotis-femorális pulzushullám terjedési sebességgel (PWV) a posztmenopauzális csontritkulásban. A mellékpajzsmirigy által termelt *parathormon (PTH)* a kalcium homeosztázis fő szabályozója, aktiválja a csontréteg sejtjeit, csökkenti az oszteoblasztok apopózist és serkenti az oszteoblasztok aktivitását a növekedési faktorok fokozása révén. Számos klinikai vizsgálat mutatott ki összefüggést a szérum PTH és a beszűkült koszorúerek száma, a magasvérnyomás, a carotis merevség között. A *25-OH-D3-vitamin (D3-vitamin)* egy szteroid hormon, fontos szerepet játszik a csont- és kalcium-anyagcserében. D-vitamin hiány esetén csökkent ásványianyag-sűrűség, nagyobb csontfárgalom és a törések számának növekedése figyelhető meg. Emellett immunmoduláló hatással rendelkezik, gátolja számos proinflammatorikus citokin termelődését, serkenti a Th2 limfociták hatását, szabályozza az antigénprezentáló sejteket, csökkenti a B-sejtek proliferációját és differenciálódását. A D-vitamin érvédő hatással is rendelkezik, csökkenti a gyulladást okozó folyamatokat, javítja az endothel diszfunkciót és gátolja a vaszkuláris simaizomsejtek proliferációját.

2. CÉLKITŰZÉSEK

Első vizsgálat

RA és SPA betegek bevonásával, olyan vaszkuláris biomarkereket vizsgáltunk (oxLDL/ β 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 szérumszínjére 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, csont státusz 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 mérésekre 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.

3. BETEGEK ÉS MÓDSZEREK

3.1. 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 vazóaktív 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 terápias 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 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 (<6mg/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)

3.2. Laboratóriumi vizsgálatok

Az egyes vizitek alkalmával a rutin laborvizsgálatok részeként éhgyomri vérvétel során meghatározott összcholeszterin (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 rheumatoid 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) szérumszínjét egy második generációs RA-immunoszen CCP2 ELISA teszt segítségével (Euro Diagnostica; normál≤25 IU/ml) határoztuk meg.

3.3. A vaszkuláris patofiziológia ultrahangos vizsgálat

Az *arteria branchialis áramlás mediált dilatációt (FMD)* és a kétoldali *arteria carotis communis intima-média vastagságot (IMT)* egy 10 MHz-es lineáris transzducer (ultrahangos rendszer: HP Sonos 5500) segítségével, az eszköz alkalmazási előírásának megfelelően, a nemzetközi mérési módszerek alapján mértük. Az FMD értéket a kiindulási (nyugalmi) állapottól való eltérés százalékában fejeztük ki, míg a ccIMT értékeit mm-ben adtuk meg.

A *pulzushullám terjedési sebesség (PWV)* méréséhez a TensioClinic arteriográf rendszert (TensioMed Ltd, Budapest, Magyarország) alkalmaztuk. A PWV értéket, m/s-ben fejeztük ki.

3.4. Statisztikai analízis

A statisztikai elemzést az SPSS 22.0 verzió (IBM) szoftverrel végeztük el. Az egyes csoportok közötti nominális változókat a Pearson-féle khi-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. 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

Általános lineáris modell (GLM) ismételt méréses varianciaanalízis (RM-ANOVA) során két független tényező hatását vizsgáltuk a folyamatosan függő változóra. A p érték $< 0,05$ értékét tekintjük szignifikánsnak. A parciális eta-négyzet (η^2) értéke 0,01 esetén gyenge, 0,06-nál közepes, 0,14-nél pedig erős hatást bizonyít.

3.5. 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 óráas szobahőmérsékleten történő alvás után, 1200g-on 20 percig centrifugáltuk. A keletkezett felülúszót eppendorf csövekbe pipettázva felhasználásig – 70C°-on tároltuk.

3.5.1. oxLDL/ β 2GPI antigén komplex detektálása

Az egyes minták oxLDL/ β 2GPI komplex mennyisége meghatározását a Corgenix AtherOx® ELISA teszt kit (Corgenix, Broomfield, CO, USA) segítségével végeztük el a gyártó által meghatározott protokoll alapján. A kapott színintenzitás értékét spektrofotométer (ELISA-reader) segítségével 450 nm-en határoztuk meg.

3.5.2. 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. 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.

3.5.3. Szolubilis uPAR szint mérése

A suPAR szint méréséhez a suPARnostic® Quick Triage tesztet (Virogates A/s, Birkerød, Denmark) alkalmaztuk. Az eredményeket a suPARnostic® Quick Test Reader (Virogates) segítségével értékeltük, amely a kvantitatív eredményeket 2-15 ng/ml suPAR kimutatási intervallumba határozta meg.

3.5.4. 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. A minták értékeit ELISA reader segítségével 450 nm-en (referencia 630nm-en) határoztuk meg.

3.6. Második vizsgálat

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

3.6.1. Csontsűrűség mérése DEXA és qCT által

A munkacsoportunk egy korábbi tanulmánya során, 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/cm² 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 GmbH, Pforzheim, Németország) alkalmazásával, a betegek domináns alkar ultradistalis régiójának vizsgálatával történt meg. Az adatelemzést az XCT 6.00 szoftver (Stratec) végezte el. A BMD értékek mg/mm^3 értékben lettek kifejezve. A mérőmaszk sugara és küszöbsűrűsége $269 \text{ mg}/\text{mm}^3$ volt.

3.6.2. 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, $2,1\text{--}2,6 \text{ mmol/l}$); foszfát (P; Roche Diagnostics; normál, $0,8\text{--}1,45 \text{ mmol/l}$); parathyroid hormon (PTH; Roche Diagnostics; normál, $1,6\text{--}6,9 \text{ pmol/l}$); 25-OH-D3 vitamin (DiaSorin; normál, $\geq 75 \text{ nmol/l}$); oszteokalcin (OC; Roche Diagnostics; normál, $< 41 \text{ }\mu\text{g/l}$), I-es típusú prokollagén N-terminális propeptid (PINP; Roche Diagnostics; normál, $< 75 \text{ }\mu\text{g/l}$), I-es típusú kollagén C-terminális telopeptid (CTX-I; Roche Diagnostics; normál, $< 0,57 \text{ }\mu\text{g/l}$), oszteoprotegerin (OPG; Biomedica; medián, $2,7 \text{ pmol/l}$), szklerosztin (SOST; Biomedica; medián, $24,14 \text{ pmol/l}$), Dickkopf-1 fehérje (DKK-1; Biomedica; medián, 36 pmol/l), szolubilis receptor aktivátor nukleáris faktor kappa B ligand (sRANKL; Biomedica; medián, $0,14 \text{ pmol/l}$), and katepszin-K (cathK; Biomedica; medián, $8,7 \text{ pmol/l}$). Ezen értékek munkacsoportunk egy korábbi tanulmányában publikációra kerültek.

3.6.3. 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), angiotensin-1(Ang-1; DuoSet ELISA, R&D Systems; pg/ml), angiotensin-2 (Ang-2;

QuantiKine ELISA, R&D Systems; pg/ml) és thrombospondin-1 (TSP-1; DuoSet ELISA, R&D Systems; ng/ml).

3.6.4. Statisztikai elemzés

Ismételt mérések multifaktoriális varianciaanalízis (MANOVA), 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 (η^2) értéke 0,01 esetén gyenge, 0,06-nál közepes, 0,14-nél pedig erős hatást bizonyít.

4. EREDMÉNYEK

4.1. 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 α 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.

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

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

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

Az egyváltozós és többváltozós regresszióanalízis 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/ β 2GPI komplex és a HSP60 esetében szignifikáns hatás nem volt kimutatható a független változókkal.

A többváltozós regresszió analízis eredményként egyetlen esetben találtunk szignifikanciát, A BNP 12 hónapban mért értéke (BNP-12) és a CRP kezdeti értéke (CRP-0) között ($p=0,028$).

Az általános lineáris modell ismételt mérése varianciaanalízis (GLM RM-ANOVA) szignifikancia ($p<0,05$) során egyszerre két független tényező hatását vizsgáltuk a folyamatosan függő változóra. A statisztikai elemzés eredményeként az oxLDL/ β 2GPI komplex szintjének 12 hónapos változása (oxLDL/ β 2GPI0-12) összefüggést 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 eta négyzet

(parciális η^2) mind a három esetben 0,14 feletti érték, mely bizonyítja, hogy a változók közötti erős hatás áll fenn.

4.1.2. A TNFa gátlók hatása a vaszkuláris biomarkerekre

Az együttes betegcsoportot (RA+SPA) vizsgálva, az oxLDL/ β 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.

Az egyes biomarkerek további elemzése során, a suPAR szint esetében, a betegeket 4 különböző csoportba osztottuk, a gyártó által meghatározott széruminutakra 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) ($p=0,04$).

A szérum BNP szint, a betegcsoport egészét nézve, nem változott jelentősen az egy éves anti-TNF kezelés 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 betegekéhez képest, 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.

4.2. Második vizsgálat

Az első vizsgálatban is szereplő, ugyanazon betegcsoport vaszkuláris és csontanyagcsere képalkotó- valamint laboratóriumi paraméterei már 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.

4.2.1. 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 képalkotó- 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 képalkotó- 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.

Az egyváltozós és többváltozós regresszióanalízis során a vaszkuláris és csont állapot közötti ok-okozati kapcsolatot modelleztük. A többváltozós regresszióanalízis 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 ($p<0,001$).

Az általános lineáris modell ismételt mérések varianciaanalízis (GLM RM-ANOVA) 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 PINP-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.

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 szklerozsin ($p=0,021$), valamint a katepszin K közötti pozitív összefüggésekre ($p=0,021$).

4.2.2. TNF-gátlók hatása a vaszkuláris és csont biomarkerek összefüggéseire

Végezetül az anti-TNF terápia hatását vizsgáltuk a gyulladásozó érrendszeri és csont interakciókra. Ezen célból összevetettük a kezdeti és 12 hónap után mért érrendszeri és csont biomarkerek összefüggéseinek mintázatait. Az egy- és többváltozósozó elemzések során a kezdeti oszteoprotegerin az FMD-vel, a D3-vitamin a PWV-vel és a PDGF-BB a DEXA femoralis BMD-vel mutatott korrelációt. Ezen összefüggések a 12 hónapos kezelés után nem voltak kimutathatóak. 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 képkalkotói paraméterek estében pedig az IMT vagy PWV és a QCT teljes BMD között találtunk szignifikáns összefüggéseket az egy éves kezelést követően.

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. 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.

5. DISZKUSSZIÓ

Az első vizsgálatunk célja az volt, hogy olyan vaszkuláris biomarkereket vizsgáljunk, melyek kapcsolatban állnak a gyulladási 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 α -gátló kezelés hatására bekövetkező változásait mutatták be.

Az oxLDL/ β 2GPI komplexum emelkedett szintjét kimutatták az antifoszfolipid szindróma (APS), szisztémás lupus erythematosus (SLE), szisztémás szklerózis (SSc) és a rheumatoid arthritis (RA) betegségekben. Jelen vizsgálatunkban a RA és SPA betegekben az oxLDL/ β 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/ β 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. 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 gyulladási 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/ β 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/ β 2GPI komplex változása egy éves időtávon.

Az autoimmun betegségekben megemelkedett anti-HSP (aHSP) antitestek szintjét számos tanulmány igazolta. Az antitestek magasabb szintje az érlelmeszedés során a rosszabb kimenetel előjelzőjeként szolgál, a RA és SPA betegek esetében ezidáig nem volt kimutatható összefüggés a betegség aktivitásával vagy progressziójával. 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 gyulladásos állapotot autoimmun reumatológiai betegek esetében. Ugyanakkor a kezdeti értékek korreláltak az endotheljeltek kóros működését tükröző kezdeti PWV, FMD és triglicerid szintekkel.

Az immunrendszer aktiválódása és a gyulladásos válasz kialakulása a szolubilis urokináz aktivátor receptor (suPAR) koncentrációjának emelkedéséhez vezet, melyet értékes indikátorként írtak le számos gyulladásos reumatológiai megbetegedésben. 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. Az anti-TNF terápia hatását a suPAR értékre csak kevés tanulmány vizsgálta. 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. A vizsgálatunk során korrelációt találtunk a pangásos szívelégtelenség egyik fontos biomarkere, a kezdeti BNP és kezdeti suPAR szintek között. Valamint az 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. A magasabb NT-proBNP szint kimutatható egyes autoimmun betegségekben, valamint a RA betegség esetében az aktív betegeknel magasabb BNP szintet figyeltek meg, mint a közepesen aktív vagy jól kontrollált betegeknel. Egyes tanulmányok azt mutatták, hogy a TNF gátlók hatékonyan csökkentették az NT-proBNP szintjét RA és SPA betegeknel, míg mások nem tapasztaltak szignifikáns változást a TNF terápia hatására. 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 betegeknel magasabb BNP szintet tapasztaltunk a szeronegatív betegekhez képest. Az NT-proBNP és a CRP közötti kapcsolatot számos esetben tanulmányozták. 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 kutatás vizsgálta a natriuretikus peptidek és az érlemeszesedés közötti kapcsolatot. Számos tanulmány vizsgálta a natriuretikus peptidek és az érlemeszesedés közötti kapcsolatot. Jelen vizsgálat során, szignifikáns összefüggéseket találunk a

lipidparaméterek közül a triglicerid, a vaszkuláris képzőanyag 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, csont státusz 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 gyulladásos folyamatokkal. Az ezen megfigyelések alapján végzett számos tanulmány vizsgálta az RA és SPA betegségek során alkalmazott célzott terápiák hatását az egyes érrendszeri és csont biomarkerekre. Azonban csak nagyon kevés esetben vizsgálták ezen markerek együttes változását egy utánkövetéses vizsgálat keretein belül. Az RA és SPA betegségek esetében a gyulladást elősegítő molekulák, például a CRP, a proinflammatorikus citokinek (IL-6, IL-1, TNF α) emelkedett szintje kulcsszerepet játszik a szív- és érrendszeri, valamint a csonttritkulásos megbetegedések patogenezisében. A TNF α képes befolyásolni a csontok szerkezetét és átépülését, valamint kedvezőtlenül hat a csontszövetre az oszteoklasztok képződésének serkentése által. Az érlelmeszesedés patológiájában a TNF α emelkedett szintje hozzájárul az endothél káros aktivációjához, a vaszkuláris simaizomsejtek migrációjához és proliferációjához, valamint a koleszterin érfali felhalmozódásához, melyek az ateroszklerotikus plakkok növekedéséhez vezetnek. Ezek alapján az RA és SPA kezelésére alkalmazott célzott terápiák, mint például a TNF α -gátló etanercept és certolizumab pegol a krónikus gyulladás csökkentése által, előnyös hatásúak lehetnek ezen társbetegségek kialakulására.

Statisztikai elemzésünk során, a legrelevánsabb szignifikáns korreláció, melyek egymáshoz viszonyítva fordított összefüggés mutattak, a különböző időpontokban mért IMT és QCT, betegek esetén 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 gyulladási 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 képző és laboratóriumi markerek között. A korrelációs analízis során kimutatott kiindulási FMD és OPG értékek közötti összefüggést megerősítettük a regressziós analízisünkkel is. Az oszteoprotegerint melyről ismert, hogy a csontokban a RANKL-hoz kötődve fontos szerepe van az oszteoklasztogenezis gátlásában, összefüggésbe hozták a vaszkuláris meszesedés mértékével is. Az oszteoprotegerin magas szintje 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. 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 érlelmeszesedés során, emellett szabályozó tényezőként ismert a csontszövet helyreállításában és regenerációjában.

A regressziós analízisünk további összefüggéseket tárt fel a csont- és érrendszeri képzőanyag 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 gyulladáscsökkentés és érrelmeszesedés kialakulása között szoros kapcsolat áll fenn.

A vaszkuláris képzőanyag paraméterek közül a PWV 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, és termelése szorosan összefügg az érfalon belüli gyulladáscsökkentő folyamatokkal. 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. 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.

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 angiopietin 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 vascularis 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.

6. ÖSSZEFOGLALÁS

A reumatológiai megbetegedések esetében nagyobb a kockázata számos társbetegség kialakulásának, melyek közül a szív- és érrendszeri, valamint csontritkulásos megbetegedések előfordulása a leggyakoribb. A folyamatos krónikus gyulladás, az egyes hagyományos kockázati tényezőkön túl, kiemelkedő tényező lehet, amely mindkét társbetegség kialakulásához hozzájárulhat. A TNF α egy gyulladást elősegítő citokin, mely kulcsszerepet játszik az egyes reumatológiai megbetegedések patogenezisében, ugyanakkor emelkedett szintje káros hatással lehet az érlemezésedés és a csontvesztés folyamatára. A jelenleg alkalmazott TNF α -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/ β 2GPI komplex, suPAR, aHSP60, BNP fragmens), amelyek magas szintje a gyulladással összefüggő érlemezésedés kialakulásával kapcsolatosak, és amelyek emelkedett koncentrációja kimutatható különböző arthritises betegségekben. 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/ β 2GPI komplex szintjében az egy éves anti-TNF terápia hatására. Emellett a kritikusán 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/ β 2GPI komplex, aHsp60 és suPAR változásaira.

A **második vizsgálat** során munkacsoportunk két korábbi tanulmányának eredményeit használtuk fel. Mindkét tanulmány ugyanabban a klinikai vizsgálatban értékelt a vaszkuláris^{196,197} és csont biomarkerek^{198,199} 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 gyulladásos betegekénél. A vizsgálatban számos vaszkuláris és csont képalkotói és laboratóriumi paramétert értékeltünk, hogy jobban megérthessük a lehetséges kölcsönhatásokat.

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 gyulladásos 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 okozhatják
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 csontritkulásos megbetegedéseket már a betegség korai szakaszában fokozza.

7. 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 nővéreknél és szakdolgozóknál, akik hatalmas segítségemre voltak a vizsgálat ideje alatt.

Hálával tartozom az egyes laboratóriumi mérések és képpalkotói 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. Köszönettel tartozok, *Dr. Markovics Arnoldnak*, aki rengeteg szakmai tanáccsal látott el munkám során.

A vizsgálatainkban részt vevő betegeinknek is kiemelt köszönet jár.

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



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

- 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
- 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

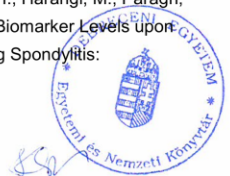
További közlemények

- 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)



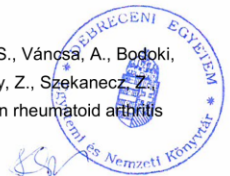


4. Kerekes, G., Czókolyová, M., Hamar, A. B., **Karancsiné Pusztai, A.**, Tajti, G., Katkó, M., Végh, E., Pethő, Z., Bodnár, N., Horváth, Á., Soós, B., Szamosi, S., Hascsi, Z., Harangi, M., Hódosi, K., Panyi, G., Seres, T., Szűcs, G., Szekanez, Z.: Effects of 1-year tofacitinib therapy on angiogenic 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., Szekanez, É., Szamosi, S., Szántó, S., Szűcs, G., Papp, Z., Szekanez, 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., Szekanez, 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., Szekanez, 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., Szekanez, É., Szekanez, Z., Szűcs, G.: Changes of Metabolic Biomarker Levels upon One-Year Anti-TNF- α 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., Szekanez, 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., Szekanez, 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., Szekanez, É., Hódosi, K., Domján, A., Szamosi, S., Horváth, C., Szántó, S., Szűcs, G., Raterman, H. G., Lems, W. F., Fitzgerald, O., Szekanez, 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., Szekanez, É., Hódosi, K., Szántó, S., Szűcs, G., Seres, T., Szekanez, 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., Vánca, 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., Szekanez, 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., Vánca, A., Bodoki, L., Pogácsás, L., Balázs, F., Hódosi, K., Domján, A., Szántó, S., Nagy, Z., Szekanez, Z., Szűcs, G.: Effects of 1-year anti-TNF- α 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., Biniacka, M., Szántó, S., Szűcs, G., Nagy, Z., Fearon, U., Veale, D. J., Szekanez, 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., Szekanez, 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., Biniacka, M., Fearon, U., Lundberg, K., Kharlamova, N., Szántó, S., Szűcs, G., Nagy, Z., Veale, D. J., Szekanez, 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., Szekanez, 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., Szekanez, 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., Szekanez, Z.: A tirozinkináz-gátlás lehetőségei rheumatoid arthritiszben. *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., Szekanez, 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 alapjául 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.

